



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي



Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة العربي التبسي - تبسة
Université Laarbi Tebessi – Tébessa
Faculté des Sciences Exactes et Sciences de la Nature et de la Vie
Département de biologie appliquée

Domaine : sciences de la nature et de la vie

Filière : sciences biologiques

Option : microbiologie appliquée

Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de

MASTER

Intitulé :

**Etude du potentiel probiotique et technologique
des bactéries lactiques autochtones**

Présenté par : **MECHERI Fadhila, AZZOUZI Imène et KHENOUF Fella**

Devant le jury

Président	Mr. MENASRIA Taha	– M.A.A. Univ. Laarbi Tebessi (Tébessa)
Promoteur	Mr. MECHAI Abdelbasset	– M.C.A. Univ. Laarbi Tebessi (Tébessa)
Co-promoteur	Mme. MECHAI-DEBABZA Manel	– M.C.A. Univ. Laarbi Tebessi (Tébessa)
Examineur	Mme. CHADI Hafidha	– M.A.A. Univ. Laarbi Tebessi (Tébessa)

Année universitaire : **2018 / 2019**

Dédicaces

Je dédie ce mémoire à :

Ma très chère mère, qui m'a soutenu et encouragé durant ces années d'études. Recevez à travers ce travail, aussi modeste soit-il, l'expression de mes chaleureux sentiments et de mon éternelle gratitude.

Mon très cher père, qui n'a jamais cessé de m'épauler pour que je puisse atteindre mes objectifs. Que vous trouvez ici le témoignage de ma profonde reconnaissance.

Mes deux chères sœurs qui ont été pour moi des exemples de persévérance et de générosité. Merci d'être toujours là pour moi.

Mes tantes, mes oncles, mes cousins et cousines, qui m'ont donné de l'amour et de la vivacité.

Mes deux chers meilleurs amis Hadjer et Bassem, pour leur soutien moral infini et leurs conseils précieux tout au long de mon parcours universitaire.

A tous ceux que j'aime et ceux qui m'aiment.

Fadhila.

Dédicaces

Je dédie ce travail de fin d'études à :

*A mes parents AZZOUZI Lamine et NASSI Fatiha
A mes frères Abderrahmane, Abd-Allah et mes sœurs Aouatef,
Samiha, Djahida, Leila.*

*A mes neveux et nièces Sadjia, Mouda ,Wadouf ; Aicha, Dana,
Sondess, Zeineb, Hadjer, Anes, Moaiz, Monaim et Odai. Vous
vous avez dépensé pour moi sans compter.*

*En reconnaissance de toutes les sacrifices consenties par tous et
chacun de vous pour me permettre d'atteindre cette étape de ma
vie.*

*Avec toute ma tendresse à mes amies intimes Nacira, Hassina,
Saida, Ahlem, Fatiha et Ibtissem.*

*Avec mes meilleurs vœux pour plus de succès à mes camarades de
la promotion de microbiologie 2018/2019.*

*A tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour que ce projet
soit réalisé je vous dis merci.*

Imène.

Dédicaces

Je dédie ce modeste mémoire

A mes très chers parents que dieu les garde, pour leur soutien et leur amour infini, et je les souhaite tout le bonheur et la santé,

A mes frères Mohamed et Ibrahim.

A toute ma grande famille.

A mes amis.

A mes collègues de promotion de master.

Fella.

Remerciements

Avant tout, nous remercions "ALLAH" Le Tout Puissant qui nous a donné le courage, la volonté et la force pour accomplir ce modeste travail. Merci de nous avoir éclairé le chemin de la réussite.

Nous adressons nos plus vifs remerciements à Dr. MECHAI Abdelbasset, maître de conférences A à l'Université de Tébessa, pour nous avoir proposé ce sujet, pour ses conseils scientifiques judicieux et son suivi durant la période de la réalisation de ce travail malgré ses charges professionnelles.

Nos reconnaissants remerciements à Dr. MECHAI-DEBABZA Manel, maître de conférences A à l'Université de Tébessa, pour son aide et collaboration.

Nous sommes particulièrement reconnaissantes à Mr. MENASRIA Taha, maître assistant A à l'Université de Tébessa, d'avoir accepté de juger notre travail en tant que président ainsi que, Mme. CHADI Hafidha, maître assistant A à l'Université de Tébessa, de bien vouloir évaluer et examiner ce mémoire.

Nos plus sincères gratitudees à Mme KOUCHE Moufida et M^{lle} GUEBLI Ouarda pour nous avoir accueillies au sein des laboratoires et nous avoir donné les moyens de mener à bout cette étude.

Nos très spéciaux remerciements reviennent à nos familles et nos amies pour leurs encouragements et leur compréhension.

Finalement, nous remercions tous ceux ou celles qui ont contribué de près ou de loin à l'accomplissement de ce mémoire.

A vous tous, un grand Merci.

ملخص

الهدف من هذه الدراسة هو عزل بكتيريا اللبن من منتجات لبنية مختلفة ، ثم اختبار قدرتها البروبايوتيكية والتكنولوجية مثل القدرة على التخمير ، هدم البروتينات و الفاعلية المضادة للميكروبات .بدأ هذه العمل بعزل سلالات ذات تفاعل ايجابي مع صبغة غرام ، غير مالكة لأنزيم الكتالاز من 5 عينات من الحليب الخام و 6 عينات من منتجات الألبان الحرفية من شمال شرق الجزائر [تبسة ، بئر مقدم ، عين الزرقاء و الكويف] ، 36 منها وُجهت لاختبارات القدرة الحمضية ، تحليل البروتينات و الفاعلية المضادة للجراثيم ضد بعض البكتيريا الدلالية المسببة للأمراض. ركز اختبار التخمير على مراقبة الرقم الهيدروجيني للحليب منزوع الدسم باستخدام مقياس الأس الهيدروجيني .تم إجراء اختبار القدرة على التحليل البروتيني عن طريق تقدير ظهور هالة تحلل البروتينات حول سلالة التحلل البروتيني ، بينما تم البحث عن القدرة المضادة للميكروبات في السلالات بواسطة طريقة الانتشار عبر الثقوب . أظهر اختبار التخمير تبايناً في انخفاض الرقم الهيدروجيني مع مرور الزمن بين السلالات المدروسة ، و كانت قياسات الرقم الهيدروجيني محصورة بين 4.28 و 5.81 مع تخثر للحليب بعد حوالي 26 ساعة من التحضين في 37 درجة مئوية. كانت قدرة التحلل البروتيني ملحوظة للغاية بالنسبة للسلالات 07 و 12 و 22 و 23 و 24 و 26 حيث ظهر قطر منطقة انحلال البروتينات محصوراً بين 15 إلى 19 مم ، لكن على الرغم من هذه النتائج ، لم تُظهر بعض السلالات أية هالة لتحلل البروتين .كشفت اختبار القوة المضادة للميكروبات عن مناطق تثبيط واضحة بأقطار تتراوح بين 05 و 25 مم. السلالة الملحوظة لنشاطها المثبط كانت السلالة 23 ، حيث تراوح قطر منطقة التثبيط ما بين 20 و 25 مم ضد جميع السلالات الدلالية الممرضة. أخيراً ، سمحت هذه الدراسة بتقييم و فهم الإمكانيات الحيوية و التكنولوجية للبكتيريا اللبنة المعزولة من منتجات الألبان المحلية لولاية تبسة.

الكلمات المفتاحية : البكتيريا اللبنة ، منتجات الألبان ، الجزائرية ، قوة التخمير ، قوة تحليل البروتين ، القوة المضادة للميكروبات ، تبسة.

Abstract

The objective of this study is to isolate lactic acid bacteria from different dairy products, and then test their probiotic and technological ability such as the acidifying power, the proteolytic power and the antimicrobial power. This work began with the isolation of 50 Gram (+), catalase (-) strains from 5 samples of raw milk and 6 samples of artisanal dairy products from northeastern Algeria [Tebessa, Bir Mokadem, Ain Zerga and El-Kouif], 36 of which were destined for the tests of acidification, proteolysis and antimicrobial activity against some pathogenic indicator bacteria. The acidification test focused on pH monitoring of skimmed milk using a pH meter. The proteolytic power test was performed by estimating the appearance of a proteolysis halo around the proteolytic strain, however the antimicrobial power of the strains was sought by the well diffusion method. The acidification test showed a variation of the pH decrease between the studied strains as time went by; the pH measurements marked an interval of acidification between 4.28 and 5.81 with a coagulation of milk after about 26 hours of incubation at 37 °C. The proteolytic power was very remarkable for strains 07, 12, 22, 23, 24 and 26 where the diameter of the proteolysis zone was about 15 to 19 mm, but despite these results some strains did not even present a halo of proteolysis. The antimicrobial test revealed clear zones of inhibition with diameters between 05 and 25 mm. The strain which was remarkable for its inhibitory activity was strain 23, which diameter of the zone of inhibition was between 20 and 25 mm against all pathogenic indicator strains. Finally, this study allowed the evaluation and the understanding of the probiotic and technological potential of lactic acid bacteria isolated from the local dairy products of the wilaya of Tebessa.

Key words: lactic acid bacteria, dairy product, Algerian, acidifying power, proteolytic power, antimicrobial activity, Tebessa.

Résumé

L'objectif de cette étude était d'isoler des bactéries lactiques provenant de différents produits laitiers, puis tester leur aptitude probiotique et technologique tel que le pouvoir acidifiant, protéolytique et antimicrobien. On a isolé 50 souches Gram (+), catalase (-) à partir de 5 échantillons de lait cru et 6 échantillons de produits laitiers artisanaux provenant du Nord-est algérien [Tébessa, Bir Mokadem, Aïn Zerga et El-Kouif] dont 36 d'entre elles ont été destinées aux tests d'acidification, de protéolyse et du pouvoir antimicrobien contre quelques bactéries pathogènes indicatrices. Le test d'acidification a porté sur le suivi de pH du lait écrémé à l'aide d'un pH mètre. Le test du pouvoir protéolytique a été réalisé par l'estimation de l'apparition d'un halo de protéolyse autour de la souche protéolytique, cependant le pouvoir antimicrobien des souches a été recherché par la méthode de diffusion en puits. Le test d'acidification a montré une variation de l'abaissement de pH en fonction du temps entre les souches étudiées, les mesures de pH ont marqué un intervalle d'acidification entre 4,28 et 5,81 avec une coagulation du lait après jusqu'à 26 heures d'incubation à 37°C. Le pouvoir protéolytique a été très remarquable pour les souches 07, 12, 22, 23, 24 et 26 où le diamètre de la zone de protéolyse était d'environ 15 à 19 mm, mais malgré ces résultats certaines souches n'ont même pas présenté un halo de protéolyse. Le test du pouvoir antimicrobien a révélé des zones claires d'inhibition avec des diamètres entre 05 et 25 mm. La souche qui a été remarquable par son activité inhibitrice était la souche 23 dont le diamètre de la zone d'inhibition été entre 20 et 25 mm contre toutes les souches pathogènes indicatrices. Enfin, cette étude a permis d'évaluer et comprendre le potentiel probiotique et technologique des bactéries lactiques isolées des produits laitiers locaux de la wilaya de Tébessa.

Mots clés : bactéries lactiques, produit laitier, algérien, pouvoir acidifiant, pouvoir protéolytique, pouvoir antimicrobien, Tébessa.

TABLE DES MATIERES

Dédicaces.....	<i>i</i>
Remerciements.....	<i>iv</i>
ملخص.....	<i>v</i>
Abstract.....	<i>vi</i>
Résumé.....	<i>vii</i>
Table des matières.....	<i>viii</i>
Liste des abréviations.....	<i>xii</i>
Liste des figures.....	<i>xiii</i>
Liste des tableaux.....	<i>xv</i>
Introduction.....	1

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I : LES BACTERIES LACTIQUES.....	5
1. Définition.....	5
2. Origine et habitat.....	5
3. Génétique des bactéries lactiques.....	5
4. Taxonomie.....	5
5. Classification.....	6
6. Caractéristiques généraux.....	8
6.1. Caractères morphologiques.....	8
6.2. Caractères biochimiques et physiologiques.....	9
6.3. Caractères immunologiques.....	9
6.4. Caractères structuraux.....	9
7. Exigences nutritionnelles des bactéries lactiques.....	9
7.1. Exigences en vitamines.....	9
7.2. Exigences en sucres azotés.....	10
7.3. Influence des cations.....	10

8. Caractéristiques des principaux genres.....	10
8.1. Genre <i>Lactobacillus</i>	10
8.2. Genre <i>Lactococcus</i>	11
8.3. Genre <i>Streptococcus</i>	11
8.4. Genre <i>Enterococcus</i>	11
8.5. Genres <i>Leuconostoc</i> , <i>Oenococcus</i> et <i>Weissella</i>	11
8.6. Genres <i>Pediococcus</i> et <i>Tetragenococcus</i>	12
8.7. Genre <i>Bifidobacterium</i>	12
9. Principales voies métaboliques des bactéries lactiques.....	13
9.1. Voie homofermentaire (la voie d'Embden-Meyerhoff-Pathway).....	13
9.2. Voie hétérofermentaire (la voie des pentoses-phosphates).....	13
CHAPITRE II : APPLICATIONS INDUSTRIELLES DES BACTERIES LACTIQUES.....	15
1. Aptitude probiotique.....	15
1.1. Définition.....	15
1.2. Les micro-organismes probiotiques.....	15
1.3. Critères de sélection des souches probiotiques.....	15
1.4. Effet bénéfique pour la santé.....	17
1.5. La bioconservation par les bactéries lactiques et les bactériocines.....	17
2. Aptitude technologique.....	17
2.1. Aptitude acidifiante.....	17
2.2. Aptitude protéolytique.....	18
2.3. Aptitude lipolytique.....	18
2.4. Aptitude aromatisante.....	18
2.5. Aptitude texturante.....	19
2.6. Activité antimicrobienne.....	19
CHAPITRE III : LES PRODUITS LAITIERS ALGERIENS.....	21
1. Définition générale du lait.....	21
2. Caractéristiques générales.....	21
3. Caractéristique du lait selon les espèces.....	22
3.1. Lait de vache.....	22
3.2. Lait de chèvre.....	22

3.3. Lait de brebis.....	22
4. Quelques produits laitiers artisanaux.....	23
4.1. <i>Lben</i>	23
4.2. <i>Klila</i>	23
4.3. <i>Jben</i>	23
4.4. <i>Zebda et Smen</i>	23

PARTIE EXPERIMENTALE

CHAPITRE I : MATERIEL ET METHODES.....	26
1. Objectif de l'étude.....	26
2. Lieu de l'étude.....	26
3. Matériel.....	26
3.1. Matériel biologique.....	26
3.2. Milieux de culture.....	27
3.3. Produits chimiques et réactifs.....	27
3.4. Matériel non biologique et appareillage.....	27
4. Méthodes.....	27
4.1. Provenance des échantillons.....	27
4.2. Préparation des dilutions décimales.....	29
4.3. Isolement, purification et identification des bactéries lactiques.....	30
4.3.1. Isolement des bactéries lactiques.....	31
4.3.2. Purification des bactéries lactiques.....	31
4.3.3. Identification des bactéries lactiques.....	31
4.3.3.1. Caractères morphologiques et culturaux.....	31
4.3.3.2. Test de catalase.....	31
4.4. Conservation à courte durée des souches lactiques.....	32
4.5. Profil fermentaire des sucres.....	32
4.6. Caractères technologiques recherchés.....	32
4.6.1. Pouvoir acidifiant.....	32
4.6.2. Pouvoir protéolytique.....	32
4.6.3. Activité antimicrobienne des isolats.....	33

CHAPITRE II : RESULTATS.....	36
1. Phase de pré-identification des souches lactiques.....	36
1.1. La provenance des souches, leurs codes de références et les souches lactiques testées.....	36
1.2. Aspect macroscopique des isolats.....	39
1.3. Test de catalase.....	39
1.4. Aspect microscopique.....	39
2. Profil de fermentation des sucres.....	42
3. Les résultats des tests probiotiques et technologiques.....	44
3.1. Pouvoir acidifiant.....	44
3.2. Pouvoir protéolytique.....	48
3.3. Pouvoir antimicrobien.....	51
CHAPITRE III : DISCUSSION.....	59
1. Pouvoir acidifiant.....	59
2. Pouvoir protéolytique.....	60
3. Pouvoir antimicrobien.....	62
Conclusion et perspectives.....	65
Références bibliographiques	
Glossaire	
Annexes	

Liste des abréviations

ADN : Acide désoxyribonucléique	Lb. : <i>Lactobacillus</i>
AMY : Amygdaline	Lc. : <i>Lactococcus</i>
ARA : Arabinose	Ln. : <i>Leuconostoc</i>
ARN : Acide ribonucléique	µl : Microlitre
ARNr : Acide Ribonucléique Ribosomique	MAN : Mannose
ATCC : American Type Culture Collection	MEL : Melibiose
ATP : Adénosine triphosphate	MH : Müller Hinton
BN : Bouillon nutritif	ml : Millilitre
°C : degré Celsius	mm : Millimètre
CO₂ : Dioxyde de carbone	MRS : gélose Man-Rogosa-Sharpe
EMP : Embden-Meyerhoff-Pathway	NaCl : Chlorure de Sodium
En. : <i>Enterococcus</i>	N°S : Numéro de la souche
EPS : Exopolysaccharide	pH : Potentiel d'hydrogène
FBA : Fructose-biphosphate-aldolase	PFGE : Pulsed Field Gel Electrophoresis
g : grammes	Rep-PCR : Repetitive element sequence-based Polymerase Chain Reaction
g/l : grammes par litre	RHA : Rhamnose
G+C% : ratio guanine/cytosine	RFLP : Restriction Fragment Length Polymorphism
GLU : Glucose	SAC : Saccharose
GN : Gélose nutritive	Sc. : <i>Streptococcus</i>
GRAS : Generally Regarded As Safe	SOR : Sorbitol
H₂O₂ : peroxyde d'hydrogène	Tps : Temps
IgA : Immunoglobuline A	tr/min : tours par minute
INO : Inositol	V/V : Volume par volume
LAB : Lactic Acid Bacteria	

Liste des figures

Numéro de la figure	Titre de la figure	Page
Figure 1	Arbre consensus, basé sur l'analyse comparative des séquences ARNr, montrant les principaux groupes phylogénétiques de bactéries lactiques à faible % G+C et les genres Gram positifs non reliés <i>Bifidobacterium</i> et <i>Propionibacterium</i> .	06
Figure 2	Différentes formes microscopiques de bactéries lactiques obtenues au laboratoire de microbiologie appliquée de l'université d'Oran.	07
Figure 3	La localisation géographique des lieux des laiteries et des fermes dont les échantillons ont été obtenus par rapport au chef lieu de la wilaya de Tébessa.	28
Figure 4	Préparation des dilutions décimales.	29
Figure 5	Protocole adapté pour chaque échantillon de lait/produit laitier de l'isolement jusqu'à la purification et la conservation des souches.	30
Figure 6	Schéma de la méthode de diffusion en puits.	34
Figure 7	Aspect macroscopique des colonies de bactéries lactiques cultivées sur le milieu M17.	39
Figure 8	Aspect macroscopique des colonies de bactéries lactiques cultivées sur le milieu MRS.	39
Figure 9	Distribution des pourcentages des souches lactiques isolées.	40
Figure 10	Aspect microscopique des bactéries lactiques en forme de coque.	40
Figure 11	Aspect microscopique des bactéries lactiques en forme de bacille et diplobacille.	40
Figure 12	Aspect microscopique des bactéries lactiques en forme de cocci en chaînettes et en tétrades.	41
Figure 13	Aspect microscopique des bactéries lactiques en forme de coccobacille en paires et en chaînettes.	41
Figure 14	Apparition d'un halo clair de protéolyse autour des inoculas bactériens 22, 23 et 24.	48
Figure 15	Les zones d'inhibition de la croissance de la souche pathogène indicatrice <i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853 par les extraits des bactéries lactiques.	55
Figure 16	Les zones d'inhibition de la croissance de la souche pathogène	55

	indicatrice <i>E. coli</i> <i>ESBL-Es42</i> par les extraits des bactéries lactiques.	
Figure 17	Les zones d'inhibition de la croissance de la souche pathogène indicatrice <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Sta 100</i> par les extraits des bactéries lactiques.	56
Figure 18	Les zones d'inhibition de la croissance de la souche pathogène indicatrice <i>Staphylococcus</i> <i>Sta 101</i> par les extraits des bactéries lactiques.	56
Figure 19	Les zones d'inhibition de la croissance de la souche pathogène indicatrice <i>E.coli</i> ATCC 25992 par les extraits des bactéries lactiques.	57
Figure 20	Les zones d'inhibition de la croissance de la souche pathogène indicatrice <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25293 par les extraits des bactéries lactiques.	57

Liste des tableaux

Numéro du tableau	Titre du tableau	Page
Tableau 1	Les souches pathogènes indicatrices et leurs codes de référence/leurs profils de résistance aux antibiotiques.	26/27
Tableau 2	Les catégories des échantillons testés en fonction de la région et la localisation géographique des laiteries/fermes dont ils ont été obtenus.	27/28
Tableau 3	La provenance des souches lactiques testées, leurs codes de référence, les dilutions et les numéros des boîtes de leurs cultures et les géloses sur lesquelles elles ont été conservées.	36/37
Tableau 4	Distribution des souches des bactéries lactiques en fonction de leur morphologie, leur Gram et leur mode de regroupement.	41/42
Tableau 5	Résultats de l'identification du profil fermentaire des sucres des souches lactiques de la première série.	43
Tableau 6	Résultats de l'identification du profil fermentaire des sucres des souches lactiques de la deuxième série.	43
Tableau 7	Résultats de l'identification du profil fermentaire des sucres des souches lactiques de la troisième série.	44
Tableau 8	Les résultats chiffrés de l'évolution du pH de l'inoculum lait écrémé/souche lactique au cours du temps (série 1).	45
Tableau 9	Les résultats chiffrés de l'évolution du pH de l'inoculum lait écrémé/souche lactique au cours du temps (série 2).	46
Tableau 10	Les résultats chiffrés de l'évolution du pH de l'inoculum lait écrémé/souche lactique au cours du temps (série 3).	47
Tableau 11	Représentation de la présence/absence d'un halo clair de protéolyse et son diamètre des souches lactiques testées (série 1).	49
Tableau 12	Représentation de la présence/absence d'un halo clair de protéolyse et son diamètre des souches lactiques testées (série 2).	50
Tableau 13	Représentation de la présence/absence d'un halo clair de protéolyse et son diamètre des souches lactiques testées (série 3).	51
Tableau 14	Représentation des diamètres de la zone d'inhibition des extraits des bactéries lactiques envers les souches pathogène indicatrices (série 1).	52
Tableau 15	Représentation des diamètres de la zone d'inhibition des extraits des bactéries lactiques envers les souches pathogène indicatrices (série 2).	54

INTRODUCTION

Introduction

Les bactéries lactiques ont été utilisées par l'humanité depuis des siècles en raison de leurs propriétés technologiques et de leur capacité à améliorer les propriétés organoleptiques des aliments **(Benreguieg, 2015)**.

Les bactéries lactiques sont généralement reconnues comme étant saines, de statut "GRAS" (Generally Recognized As Safe) et jouent un rôle important dans la fermentation et la conservation des aliments, que ce soit en tant que microflore naturelle ou comme cultures ajoutées sous des conditions contrôlées. Elles sont largement employées dans la préparation de nombreux aliments fermentés (yaourts, laits fermentés, fromages, etc.). En plus de leur rôle technologique, la contribution la plus importante de l'ajout de ces souches au produit est l'amélioration de sa qualité (saveur et texture) et son innocuité par l'intermédiaire de l'allongement de sa durée de vie et de l'inhibition de la flore compétitive d'altération et des bactéries pathogènes **(Mechai, 2009)**.

Ces bactéries sont des micro-organismes de catégorie alimentaire qui jouent un rôle essentiel dans la fermentation des matières premières animales et végétales. Elles occupent des niches écologiques extrêmement variées. Leur capacité à fermenter les hydrates de carbone et, à un moindre degré, de dégrader les protéines et les lipides mène à la synthèse d'une large gamme de composés, tels que les acides organiques, les peptides, les composés antimicrobiens et aromatiques et les exopolysaccharides **(Hadeif, 2012)**.

Une grande variété de produits laitiers fermentés sont préparés traditionnellement en Algérie dont le but est la bio-préservation du lait pour utilisation ultérieure, ces produits font partie d'héritage algérien et ont une grande importance culturelle, médicinale et économique, ils ont été développés sur une longue période avec les compétences des femmes rurales les produits laitiers traditionnels algériens importants qui ont la signification commerciale sont : *Rayeb, L'ben, K'lila, Zebda* et *J'ben* **(Maghnia, 2011)**.

Dans ce contexte, leur utilisation semble pertinente pour améliorer la digestibilité et/ou prolonger la durée de vie des produits laitiers fermentés **(Benreguieg, 2015)**.

Devant ce constat, nous contribuons à :

- la réalisation d'une collection de souches isolées à partir des produits laitiers artisanaux de la région de Tébessa.
- l'étude de leurs caractéristiques phénotypiques pour déterminer leur potentiel probiotique et technologique.

La présentation des résultats de ce travail sera précédée d'une synthèse bibliographique reprenant des connaissances actuelles sur les bactéries lactiques, leur potentiel probiotique et

technologique et les produits laitiers Algériens sur lesquels on va baser nos expérimentations. La seconde partie du manuscrit présente le matériel et les méthodes utilisés pour réaliser ce travail ainsi que les résultats obtenus. Enfin, une conclusion générale résumera les principales acquisitions de ce travail avec une présentation des principales perspectives envisagées pour la poursuite de cette thématique de recherche.

PARTIE I :
SYNTHÈSE
BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I : Les bactéries lactiques

CHAPITRE I : LES BACTERIES LACTIQUES

1. Définition

Les bactéries lactiques sont un groupe hétérogène de microorganismes produisant de l'acide lactique comme produit principal du métabolisme. Elles sont non pigmentées, aérobie/anaérobie facultatives, Gram-positif, catalase négatives à l'exception de certains genres à pseudo-catalase et tolérantes à des pH acides. Leur forme peut être coccoïde, coccobacillaire, ou bacillaire. Elles sont généralement mésophiles. Sur la base des caractéristiques de fermentation, les bactéries lactiques sont homofermentaires ou hétérofermentaires (**Dortu, 2008**).

2. Origine et habitat

Les bactéries lactiques sont généralement associées aux habitats riche en nutriments, comme divers produits alimentaires (lait, viande, boisson, végétaux), mais d'autres sont aussi membres de la flore normale de la bouche, l'intestin et le vagin des mammifères (**Salminen, 2004 ; Carina Audisio et al., 2010**).

3. Génétique des bactéries lactiques

Le matériel génétique des bactéries lactiques est organisé en deux structures : le chromosome et les plasmides.

Les plasmides peuvent être perdues spontanément par la bactérie dans les conditions défavorables (température élevée, privations nutritionnelles) ou éliminées par des traitements chimiques. Cette possibilité de perdre spontanément des plasmides explique l'instabilité des propriétés technologiques, due à l'apparition variante ayant perdu certains gènes et donc certaines fonctions métaboliques. Ainsi, la perte du plasmide codant pour la protéase de paroi rend la bactérie peu protéolytique, et entraîne une croissance ralentie des germes et une acidification faible du lait (**Mami, 2013**).

4. Taxonomie

La taxonomie des bactéries lactiques repose sur l'identification phénotypique basée sur les tests morphologiques, physiologiques et biochimiques. Néanmoins, ces méthodes conventionnelles ont leurs limites, notamment dans le cas de variations du phénotype par la présence ou l'absence d'un plasmide codant pour des fonctions métaboliques. Par conséquent, les méthodes moléculaires s'avèrent indispensables car elles sont plus fiables pour une classification couvrant des niveaux d'identification allant de la famille à l'espèce. De plus, les informations obtenues avec les méthodes moléculaires sont utiles pour le concept de phylogénie (**Hassaine, 2013**).

5. Classification

Traditionnellement, les bactéries lactiques ont été classées sur la base des propriétés phénotypiques : la morphologie, le mode de fermentation du glucose, la croissance à différentes températures, l'isomère de l'acide lactique produit et la fermentation des différents hydrates de carbone. Cependant, les études basées sur la comparaison des séquences de l'ARN ribosomal 16S ont montré que certains taxons générés sur la base de la caractérisation phénotypique ne concordent pas avec les relations phylogénétiques suggérées. Ainsi, certaines espèces ne sont pas faciles à distinguer par des caractéristiques phénotypiques. Par conséquent, Les méthodes de typage moléculaire telles que l'électrophorèse en champ pulsé (PFGE), la réaction de polymérisation en chaîne utilisant des éléments répétés (rep-PCR), ainsi que la méthode de (RFLP) sont extrêmement précieux pour la caractérisation et la détection des bactéries lactiques (**Boumediene, 2013**).

La figure (01) représente la relation phylogénétique entre les différents genres des bactéries lactiques en se basant sur la comparaison des séquences d'ARNr 16S :

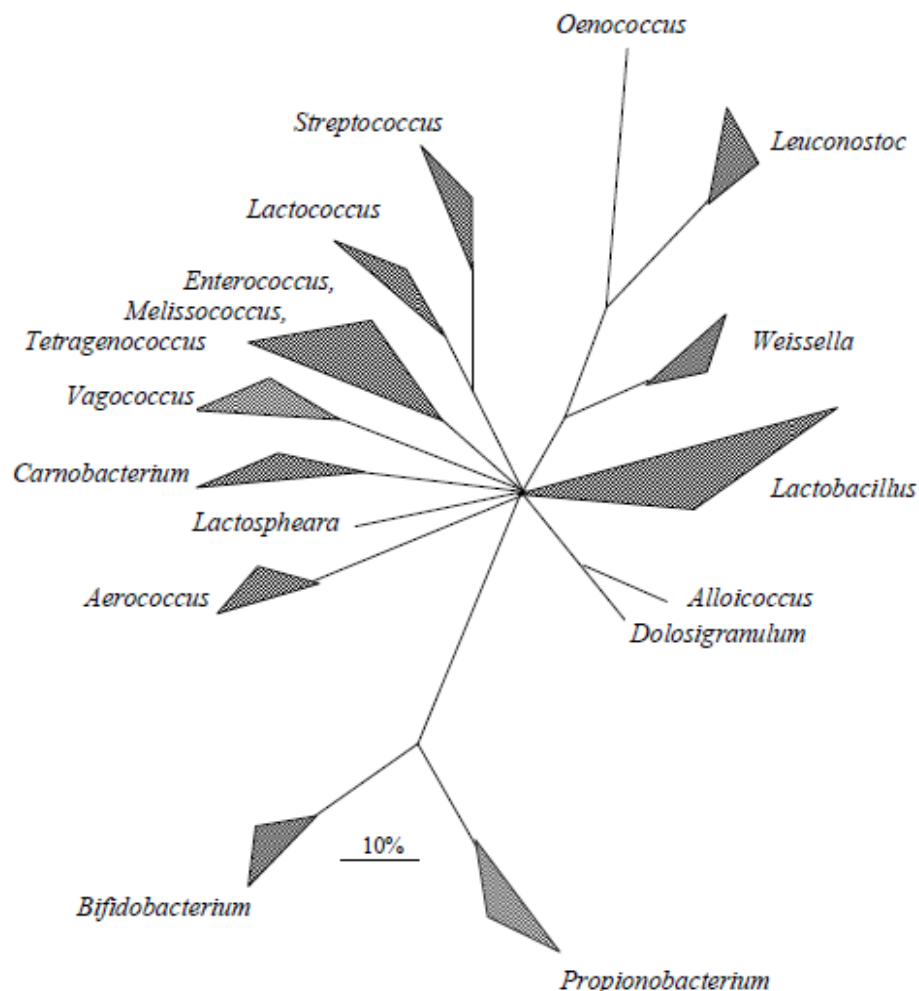


Figure 1 : Arbre consensus, basé sur l'analyse comparative des séquences ARNr, montrant les principaux groupes phylogénétiques de bactéries lactiques à faible % G+C et les genres Gram positifs non reliés *Bifidobacterium* et *Propionibacterium* (**Holzappel et al., 2001**).

Actuellement, les bactéries lactiques regroupent treize genres bactériens différents ; *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Leuconostoc*, *Lactococcus*, *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Carnobacterium*, *Oenococcus*, *Weissella*, *Aerococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus* (Carine et Tonart, 2009).

6. Caractéristiques générales

Selon Sneath *et al.*, (1986), les bactéries lactiques sont regroupées suivant une taxonomie basée sur :

6.1. Caractères morphologiques

- **La forme** : des cellules microbiennes représentent souvent un caractère distinctif de l'espace et du genre bactériens (coques ou bâtonnets), tel qu'il est mentionné dans la figure (02) représente les différentes formes microscopiques des bactéries lactiques obtenues au laboratoire de microbiologie appliquée de l'université d'Oran par Saidi (2005).

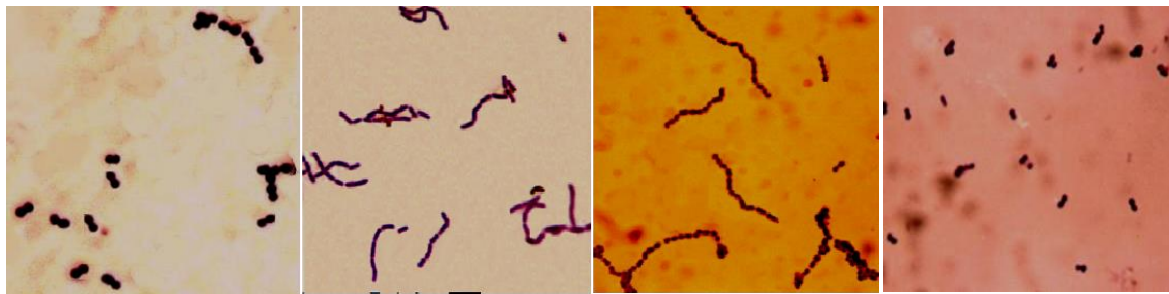


Figure 2 : différentes formes microscopiques de bactéries lactiques obtenues au laboratoire de microbiologie appliquée de l'université d'Oran par Saidi (2005). De gauche – droite, Diplocoques (*Leuconostoc* sp.), (*Lactobacillus* sp.), streptocoques et diplocoques (*Lactococcus lactis* sp.).

- **Le diamètre cellulaire** : est un caractère plus stable que la longueur cellulaire.
- **La mobilité** : est une caractéristique rare chez les bactéries lactiques qui sont généralement non mobiles, sauf dans certains cas où elles possèdent des flagelles péritriches.
- **La sporulation** : toutes les bactéries lactiques sont non sporulées.
- La présence d'inclusions cellulaires, corpuscules métachromatiques ou de vultine, est un caractère distinctif de certaines espèces du genre *Lactobacillus* homofermentaires strict.

6.2. Caractères biochimiques et physiologiques

Regroupent : La quantité et la configuration de l'acide lactique produit, la température de croissance minimale, optimale et maximale, la tolérance à l'oxygène et au chlorure de sodium, production de gaz et d'arôme, la production d'ammoniaque à partir de l'arginine, la capacité d'hydrolyser l'esculine ou de résister aux sels biliaires et à différentes valeurs de pH (**Luquet et de Roissard, 1994**).

6.3. Caractères immunologiques

La réaction immunologique se traduit par l'agglutination des cellules bactériennes ou par la précipitation à l'interface antigène-antisérum (**de Roissard et Luquet, 1994**).

La sérologie a été utilisée pour la classification et l'identification des Streptocoques, depuis que **Lancefield (1933)**, propose les premiers groupements. Les groupes sérologiques comme le cas des streptocoques lactiques qui sont rangés dans le groupe sérologique N.

6.4. Caractères structuraux

- L'analyse de ces composés cellulaires est entrain de devenir un instrument essentiel non seulement pour la classification mais aussi pour l'identification des bactéries.
- Les recherches chimiotaxonomiques réalisées sur les bactéries ont contribué de façon fondamentale à expliquer les relations génétiques intra et inter spécifiques (**Mami, 2013**).

7. Exigences nutritionnelles des bactéries lactiques

Les bactéries lactique sont très exigeantes du point de vue nutritionnelle Elles requièrent plusieurs substrats complexes azotés, phosphatés et soufrés mais aussi des facteurs de croissances comme les vitamines et les cations (**Mami, 2013**).

7.1. Exigences en vitamines

Vis-à-vis des vitamines, toutes les espèces de lactobacilles présentent une exigence absolue pour le pantothénate de calcium (Vitamine B5) et la riboflavine (vitamine B5) (Sauf pour *Lb. revis* qui nécessite la thiamine -vitamine B1 et l'acide folique), de plus *Lb. lactis*, *Lb. bulgaricus* et *Lb. acidophiles* exigent la cobalamine (vitamine B12), *Lb. helverticus* exige la pyridoxine (Vitamine B6), *Lb. acidophiles* l'acide folique, *Lb. casei* la pyridoxine et l'acide folique. Les lactocoques ont une exigence en niacine et en acide pantothénique Les streptocoques thermophiles ont une exigence

absolue en acide pantothéniques et en riboflavine leur croissance est stimulée par la thiamine et la niacine la biotine et la pyridoxine (**Luquet et de Roissard, 1994**).

7.2. Exigences en sucres azotés

Chez certaines souches des lactocoques, la production d'acide dans le lait peut être stimulée par le mélange, adénine, guanine, uracile et xanthine. Dans les milieux synthétiques, les lactobacilles exigent la présence d'adénine, de cytosine, de désoxyguanosine, de guanine, de thymidine et d'uracile (**Law et Kolstad, 1988**).

7.3. Influence des cations

- ✓ Le manganèse permet la stimulation de la croissance de *Lactococcus lactis*. Cet ion serait indispensable pour la croissance de *Lb. helveticus* et essentiel pour celle de *Lb. lactis* et *Lb. delbrueckii* ; il est nécessaire aussi pour :
 - La structure et le fonctionnement des enzymes, dont l'ARN polymérase.
 - La détoxification des cellules mises en présence de l'oxygène.
- ✓ Le potassium joue un rôle important dans la régulation du pH intracellulaire. Cet ion est exigé pour la croissance de *Lb. helveticus*, *En. faecalis* et *Lb. casei*.
- ✓ Le sodium, quant à lui, exerce un effet sélectif sur les différentes espèces de bactéries lactiques (**Luquet et de Roissard ; 1994**).

8. Caractéristiques des principaux genres

8.1. Genre *Lactobacillus*

Lactobacillus est le genre principal de la famille des *Lactobacillaceae*, il contient de nombreuses espèces qui sont des agents de fermentation lactique intervenant dans de nombreuses industries ou qui sont rencontrées comme contaminants. Il s'agit de bacilles longs et fins (parfois incurvés) souvent groupés en chaînes, immobiles, asporulés, catalase négative, se développent à un optimum de température situé entre 30 et 40°C. Les lactobacilles ont des exigences nutritionnelles très complexes en acides aminés, en vitamines, en acides gras, en nucléotides, en glucides et en minéraux (**Khalid et Marth, 1990 ; Leclerc et al., 1994**).

Le genre *Lactobacillus* a été subdivisé par Orla-Jensen en trois groupes et cette classification est encore utilisée en milieu industriel (**Tamime, 2002 ; Guiraud et Rosec, 2004**) :

Groupe I « *Thermobacterium* » : comprend les lactobacilles homofermentaires thermophiles qui se développent à 45°C mais pas à 15°C. Les espèces les plus fréquentes dans l'alimentation (lait, yaourt, fromage) sont *Lb. helveticus*, *Lb. delbrueckii*, *Lb. acidophilus*.

Groupe II « *Streptobacterium* » : regroupe les lactobacilles homofermentaires mésophiles et peuvent être occasionnellement hétérofermentaires en fonction du substrat. Les espèces les plus fréquentes dans l'alimentation sont *Lb. casei*, *Lb. curvatus*, *Lb. sake* et *Lb. plantarum*.

Groupe III « *Betabacterium* » : ce sont des lactobacilles hétérofermentaires. Il comporte les espèces *Lb. fermentum*, *Lb. brevis* et *Lb. sanfransisco*.

Actuellement, le genre *Lactococcus* comprend cinq espèces, *Lactococcus lactis* est l'espèce la plus connue avec ses trois sous-espèces : *Lc. lactis* ssp. *lactis*, *Lc. lactis* ssp. *cremoris* et *Lc. lactis* ssp. *hordniae* (Pot et al., 1996 ; Pot, 2008).

8.2. Genre *Lactococcus*

Le genre *Lactococcus* (streptocoque du groupe N) représente les streptocoques dits « lactique », car ils sont associés à de nombreuses fermentations alimentaires et ne possèdent aucun caractère pathogène. Les produits végétaux constituent leur réservoir principal, mais ils sont largement présents dans le lait et les produits laitiers (Pilet et al., 2005).

Les lactocoques se présentent sous forme de coques en paire ou en chaînes de longueur variable. Ce sont des bactéries anaérobies facultatives homofermentaires ne produisant que de l'acide lactique L(+), Quelques espèces produisent des exopolysaccharides et des bactériocines (Tamime, 2002).

8.3. Genre *Streptococcus*

Schleifer & Kilper-Balz (1987) ont proposé de subdiviser le genre *Streptococcus* en 4 genres. Il s'agit de *Streptococcus* sensu stricto, *Lactococcus*, *Vagococcus* et *Enterococcus*.

Le genre *Sreptococcus sensu stricto* comprend la majorité des espèces et en particulier :

- Le groupe pyogènes : comprend 5 espèces α et/ou β hémolytique, pathogènes pour l'homme et/ou les animaux.
- Le groupe oralis comprend : *Sc. viridans*, *Sc. mitior*, *Sc. intermedius*, *Sc. pneumoniae* souvent α hémolytiques pathogènes opportunistes.
- Le groupe des autres streptocoques et en particulier *Sc. salivarius* subsp. *salivarius* qui est étroitement apparenté à *Sc. thermophilus*. C'est la raison pour laquelle Farrow et Collins, (1984) proposent de considérer *Sc. thermophilus* comme sous espèce de *Sc. salivarius*. Cette proposition était renforcée par les résultats d'étude de l'hybridation ADN / ADN (Axelsson, 1998).

La seule espèce de streptocoques qui soit utilisée en technologie alimentaire est *Streptococcus thermophilus* qui a été incluse dans le groupe des « autres streptocoques », mais ensuite transféré au groupe des streptocoques oraux à cause de leur degré d'homologie avec l'ADN de *Streptococcus salivarius* (Stiles et Holzapfel, 1997).

Streptococcus thermophilus se différencie par son habitat (lait et produits laitiers) et son caractère non pathogène. La résistance à la température, la capacité de croître à 52°C et le nombre limité des hydrates de carbones permettent de distinguer les *Sc. thermophilus* de la plupart des autres streptocoques (Haddie, 1986 ; Pilet *et al.*, 2005).

8.4. Genre *Enterococcus*

Ce genre regroupe les streptocoques fécaux qui représentent une hémolyse de type λ et β et qui appartiennent au groupe D. Ce sont des commensaux de l'intestin. Les espèces rencontrées dans l'alimentation sont essentiellement *En. faecalis* et les espèces proches. Les entérocoques sont des coques qui peuvent être mobiles, homofermentaires, généralement différenciés par la fermentation de l'arabinose et le sorbitol, ils croissent entre 10°C et 45°C (Tamime, 2002 ; Ho *et al.*, 2007).

8.5. Genres *Leuconostoc*, *Oenococcus* et *Weissella*

Ils ressemblent les coques lenticulaires en paires ou en chainettes mésophiles, qui possèdent un caractère hétérofermentaire marqué, avec production d'acide lactique (isomère D), de CO₂ et d'éthanol. Les caractéristiques telles que l'hydrolyse de l'esculine, la formation de dextrans, les conditions de croissance, la capacité à croître à différents pH et température, l'assimilation de citrate et/ou malate permettent la différenciation entre les genres *Leuconostoc* et *Weissella* (Pilet *et al.*, 1998 ; Ho *et al.*, 2007).

Actuellement, le genre *Leuconostoc* comprend quatorze espèces, ils sont également anaérobies facultatifs et exigeants au point de vue nutritionnel et leur croissance est toujours lente. Le développement des leuconostoc entraîne souvent l'apparition d'une viscosité dans le milieu grâce à la production des exopolysaccharides. Les leuconostoc principalement *Ln. mesenteroides* ssp. *cremoris* et *Ln. lactis* sont utilisés en association avec les lactocoques dans l'industrie laitière pour produire en plus de l'acide lactique et le CO₂, des substances aromatiques telles que le diacétyle et l'acétoïne à partir des citrates du lait (Hassan et Frank, 2001 ; Guiraud, 2003 ; Ogier *et al.*, 2008).

Récemment, l'espèce *Leuconostoc oenos* isolée de vins a été classée dans un nouveau genre, *Oenococcus oeni* et certaines espèces de lactobacilles hétérofermentaires ont été groupées avec *Leuconostoc paramesenteroides* dans le nouveau genre *Weissella* (Stiles et Holzapfel, 1997).

8.6. Genres *Pediococcus* et *Tetragenococcus*

Les *Pediococcus* sont des coques homofermentaires dont la particularité est le regroupement en tétrade. Ils sont mésophiles, le plus souvent incapable d'utiliser le lactose, et leur développement nécessite la présence de divers facteurs de croissance. Certaines espèces se distinguent par leur capacité à se développer à des teneurs en sels très élevées, comme *Pediococcus halophilus*, renommé *Tetragenococcus halophilus* et *Tetragenococcus muriaticus* qui tolère jusqu'à 18% de NaCl (Pilet *et al.*, 2005).

Les espèces de *Tetragenococcus* ont un rôle crucial dans la fabrication des produits alimentaires à concentration élevée en sel comme les sauces de soja, alors que les pediocoques sont parfois utilisés comme levains lactiques pour les charcuteries (Guiraud et Rosec, 2004 ; Tosukhowong *et al.*, 2005).

8.7. Genre *Bifidobacterium*

Le genre *Bifidobacterium* est considéré comme faisant partie du groupe des bactéries lactiques grâce à la similarité de ses propriétés physiologiques et biochimiques et à sa présence dans le même habitat écologique, tel que le tube gastro-intestinal. Ces microorganismes sont phylogénétiquement sans rapport avec ces dernières. Ils sont davantage liés au phylum *Actinobacteria* (anciennement *Actinomycètes*) des bactéries Gram positif dont l'ADN est à haut pourcentage de G+C%. Les bifidobactéries se caractérisent par leur forme très irrégulière souvent en forme V mais pouvant être coccoïdes, la présence d'une enzyme, la fructose-6-phosphate phosphocétolase, celle-ci leur permet de fermenter les hexoses en produisant de l'acide acétique et de l'acide lactique. Leur température de croissance varie de 36°C à 43°C (Axelsson, 2004 ; Pilet *et al.*, 2005 ; Ho *et al.*, 2007).

9. Principales voies métaboliques des bactéries lactiques

9.1. Voie homofermentaire (la voie d'Embden-Meyerhoff-Pathway)

Les bactéries lactiques homofermentaires comprennent les espèces de lactocoques, pédiocoques, ainsi que certains lactobacilles. Cette voie conduit dans des conditions optimales de croissance à la production de deux molécules de lactate et deux molécules d'ATP par molécule de glucose consommée (**Thompson et Gentry-Weeks., 1994**).

La fructose-1,6-bisphosphate aldolase (FBA), est une enzyme clé présente chez toutes les espèces homofermentaires et indispensable au fonctionnement de la voie EMP (**Thompson et Gentry-Weeks., 1994**)

9.2. Voie hétérofermentaire (la voie des pentoses-phosphates)

Les bactéries lactiques qui fermentent le glucose en produisant, en plus de l'acide lactique de l'acétate, de l'éthanol et du CO₂ sont dites hétérofermentaires (**Thompson et Gentry-Weeks., 1994**). Les groupes principaux de bactéries présentant ce type de métabolisme sont les leuconostocs et certains lactobacilles.

La D-xylulose-5-phosphate phosphocétolase, enzyme spécifique à la voie hétérofermentaire. Le métabolisme hétérofermentaire est deux fois moins énergétique que le métabolisme homofermentaire puisqu'une mole de glucose conduit à la production d'une mole de lactate, d'éthanol, de CO₂ et d'un seul ATP (**Hadef, 2012 ; Boumediene, 2013**).

Chapitre II :
Applications
industrielles des
bactéries lactiques

CHAPITRE II : APPLICATIONS INDUSTRIELLES DES BACTERIES LACTIQUES

1. Aptitude probiotique

1.1. Définition

Les probiotiques sont définis comme des micro-organismes vivant qui lorsqu'ils sont ingérés en quantité appropriés ont un effet bénéfique sur la santé de l'hôte (FAO., 2001) ils contiennent uniquement les microorganismes non pathogènes (Makhloufi., 2012).

1.2. Les micro-organismes probiotiques

Les probiotiques sont principalement des bactéries et des levures, présentes ou non dans la microflore intestinale résidente. Les principaux germes utilisés et étudiés sont : *Lactobacillus*, *Streptococcus* et *Bifidobacterium* qui appartiennent au groupe des bactéries lactiques, mais aussi *Enterococcus*, *Escherichia*, *Propionibacterium*, *Bacillus* et des levures (Gomez et Malcata, 1999).

1.3. Critères de sélection des souches probiotiques

Il est nécessaire de connaître le genre et l'espèce de la souche utilisée car les effets probiotiques sont spécifiques à la souche microbienne. La non pathogénicité (innocuité) des souches est un critère très important, les souches ayant le statut GRAS (Generally Regarded As Safe) sont d'ailleurs à favoriser. Toutefois, le critère de viabilité ou de survie demeure essentiel dans la sélection des probiotiques qui doivent parvenir vivantes au site de leur action, à savoir l'intestin, et donc résister aux différents mécanismes de défense de l'hôte (Percival, 1997 ; Lamoureux, 2000 ; Millette *et al.*, 2008).

Les bactéries étant administrées par voie orale, il faut qu'elles franchissent les obstacles majeurs du transit digestif : le pH acide, les sels biliaries, les enzymes pancréatiques...etc (Percival, 1997 ; Lamoureux, 2000 ; Millette *et al.*, 2008).

1.3.1. La résistance à l'acidité gastrique

La survie des bactéries dans le suc gastrique dépend de leur capacité à tolérer les bas pH, quelques auteurs proposent que les souches probiotiques doivent résister à un pH de 2.5 dans un milieu de culture pendant quatre heures (Ammor et Mayo, 2007).

1.3.2. La résistance aux sels biliaires

Les bactéries qui survivent aux conditions acides de l'estomac doivent alors faire face à l'action détergente des sels biliaires libérés dans le duodénum après ingestion des repas gras. Les bactéries peuvent réduire l'effet émulsifiant des sels biliaires en les hydrolysant avec des hydrolases, de ce fait diminuant leur solubilité (**Gu et al., 2008**).

1.3.3. L'adhésion aux cellules épithéliales

En plus du pouvoir d'adhésion aux cellules épithéliales de l'intestin, les probiotiques peuvent se fixer au mucus qui recouvre les entérocytes ou aux divers microorganismes que l'on retrouve dans le tractus gastro-intestinal (**Lamoureux, 2000**).

1.3.4. La production des substances antimicrobiennes

Les bactéries lactiques synthétisent des molécules à action bactéricide/bactériostatique comme les acides organiques, le peroxyde d'hydrogène, le dioxyde de carbone, le diacétyle et les bactériocines. Ces mécanismes antimicrobiens ont été exploités pour améliorer la préservation des aliments (**Labioui et al., 2005**).

1.3.5. La résistance aux antibiotiques

Les bactéries lactiques sont naturellement résistantes à beaucoup d'antibiotiques grâce à leur structure et physiologie. Dans la plus part des cas la résistance n'est pas transmissible, cependant, il est possible que le plasmide codant pour la résistance aux antibiotiques soit transféré à d'autres espèces et genre. (**Denohue, 2004**).

Avant de lancer une culture probiotique, il est important de vérifier que les souches bactériennes impliquées ne comportent pas de gènes transmissibles de résistance aux antibiotiques (**Ammor et Mayo, 2007**).

1.3.6. Critères technologiques

Selon **Saarela et al., (2000)**, ces critères sont :

- Bonnes propriétés sensorielles ;
- Résistance aux phages ;
- Viabilité durant le traitement technologique ;

- Stabilité dans le produit et durant le stockage.

1.4. Effet bénéfique pour la santé

Les effets bénéfiques attribués aux probiotiques sont nombreux, mais les preuves confirmant ces allégations sont encore rares. Les principaux effets rapportés dans la littérature sont :

- Ils participent à l'activation de l'immunité et à la réduction d'allergies chez les sujets à risque.
- La résistance à l'acide gastrique et à la bile, permet aux probiotiques de survivre dans le tube digestif où réside une partie de l'immunité
- Les probiotiques participent au développement du système immunitaire chez le nourrisson et l'améliorent chez la personne âgée en augmentant le nombre de phagocytes et de lymphocytes Natural killer, premières défenses contre un agent exogène.
- Ils agissent également sur l'immunité en colonisant le tractus intestinal, réalisant ainsi « un effet barrière » empêche d'une part la colonisation de l'épithélium par des pathogènes et renforce d'autre part l'immunité au niveau des muqueuses intestinales en augmentant la production d'IgA et de mucus, défenses locales au niveau des muqueuses (**Makhloufi., 2012**).

1.5. La bioconservation par les bactéries lactiques et les bactériocines

La bio-conservation (ou bio-préservation) implique l'utilisation des conservateurs naturels et/ou biologiques. Ces conservateurs ont généralement une origine microbienne ou font partie des structures intrinsèques de l'aliment et contribuent à sa conservation (lysozyme de l'œuf, immunoglobulines et lactoferrine du lait, etc.). Plus précisément, la bio-préservation utilise des microorganismes antagonistes ainsi que leurs métabolites (acides organiques, peroxyde d'hydrogène, diacétyle, bactériocines, etc.) pour inhiber ou détruire les microorganismes indésirables dans les aliments (**Rodgers, 2001**).

2. Aptitude technologique

2.1. Aptitude acidifiante

La fonction acidifiante constitue la propriété métabolique la plus recherchée des bactéries lactiques utilisées dans les industries alimentaires. Elle se manifeste par la production de l'acide lactique à partir de la fermentation des hydrates de carbone au cours de la croissance bactérienne (**Mäyrä- Mäkinen et Bigret, 2004 ; Monnet et al., 2008**).

Les conséquences, d'ordre physico-chimique et microbiologique, peuvent se résumer ainsi par (Béal *et al.*, 2008) :

- Accumulation d'acide lactique participant à la saveur des aliments fermentés ;
- Abaissement progressif du pH des milieux de culture et des matrices alimentaires ;
- Limitation des risques de développement des flores pathogène et d'altération dans les produits finaux ;
- Déstabilisation des micelles de caséines, coagulation des laits et participation à la synérèse.

2.2. Aptitude protéolytique

La croissance jusqu'à des densités cellulaires permettant aux bactéries lactiques d'assurer les fonctions de fermentation repose sur un système protéolytique capable de satisfaire tous les besoins en acides aminés en hydrolysant les protéines. Les bactéries lactiques démontrent des potentialités différentes, liées à leur équipement enzymatique, pour l'utilisation de la fraction azotée. Les lactobacilles présentent généralement une activité protéolytique plus prononcée que les lactocoques (Donkor *et al.*, 2007 ; Monnet *et al.*, 2008 ; Roudj *et al.*, 2009).

2.3. Aptitude lipolytique

Les propriétés lipolytiques sont généralement faibles chez les bactéries lactiques, les lactocoques sont considérés comme plus lipolytiques que *Streptococcus thermophilus* et les lactobacilles. Elles peuvent cependant présenter un intérêt pour certaines applications fromagères (Béal *et al.*, 2008).

D'une manière générale on distingue les estérases qui hydrolysent de façon préférentielle les esters formés avec les acides gras à chaîne courte et les lipases qui sont actives sur des substrats émulsifiés contenant des acides gras à chaîne longue, ces enzymes sont impliquées dans l'hydrolyse de mono, di, et triglycérides (Béal *et al.*, 2008 ; Serhan *et al.*, 2009).

2.4. Aptitude aromatisante

Les bactéries lactiques sont capables de produire de nombreux composés aromatiques (tels que : l' α -acétolactate, l'acétaldéhyde, le diacétyle, l'acétoïne et 2,3-butanediol, l'éthanol, l'acétate, le formiate, ...etc.) principalement à partir du lactose, du citrate, des acides aminés et des matières grasses. Cette fonctionnalité est particulièrement importante lors de l'élaboration des laits

fermentés, des fromages frais, crèmes et beurre, dont l'arôme principal est lié à cette activité microbienne (**Bourgeois et Larpent, 1996 ; Gerrit et al., 2005 ; Cholet, 2006**).

2.5. Aptitude texturante

La capacité des bactéries lactiques à synthétiser des exopolysaccharides (EPS) joue un rôle important pour la consistance et la rhéologie des produits transformés. Les *Lb. delbrueckii ssp. bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus* produisant des EPS sont utilisés dans la fabrication des yaourts, ceci afin d'améliorer la texture, éviter la synérèse et augmenter la viscosité des produits finis (**Leroy et De Vuyst, 2004 ; Ho et al., 2007**).

2.6. Activité antimicrobienne

Les bactéries lactiques produisent une variété de composés antimicrobiens qui sont utilisés dans la fermentation et la bioconservation des aliments (**Labioui et al., 2005**).

Les acides organiques, comme l'acide lactique, l'acide acétique ou l'acide propionique, élaborés lors de la fermentation des glucides, peuvent inhiber des levures, des moisissures et des bactéries.

Le peroxyde d'hydrogène produit par les bactéries lactiques s'accumule dans l'environnement et peut inhiber certains microorganismes. Les bactéries lactiques hétérofermentaires synthétisent du dioxyde de carbone comme métabolite secondaire. Son accumulation dans le milieu extérieur crée une anaérobiose qui s'avère toxique pour certains microorganismes aérobies présents dans l'aliment. Le diacétyle peut inhiber la croissance des bactéries à Gram négatif, des levures et moisissures (**Alakomi et al., 2000 ; Ammor et al., 2006**).

Les bactériocines ont une activité inhibitrice dirigée contre les bactéries proches de la souche productrice et leur spectre d'action est généralement étroit. Les plus connues sont : la nisine, la diplococcine, l'acidophiline et la bulgaricane (**Ogunbanwo et al., 2003 ; Dortu et Thonart, 2009**).

Chapitre III :

Les produits laitiers algériens

CHAPITRE III : LES PRODUITS LAITIERS ALGERIENS

1. Définition générale du lait

Le lait est un liquide complexe sécrété par les mammifères et destiné à l'alimentation du jeune animal naissant. L'origine de ses constituants est à la fois la synthèse réalisée au sein des cellules mammaires, à partir d'éléments sanguins tels que les acides gras et triglycérides, les protéines provenant d'acides aminés et le lactose provenant du glucose et de la filtration sélective de certains composants sanguins (sels minéraux). L'intérêt provient de la qualité de ses protéines, de ses lipides et de ses vitamines, en particulier, sa richesse en calcium. La composition du lait varie beaucoup d'une espèce à l'autre et reflète les besoins nutritionnels spécifiques de chaque espèce. Il existe, cependant ; des similitudes dans la composition des laits d'une même espèce (**Mahé, 1996**).

2. Caractéristiques générales

Le lait apparaît comme un liquide opaque blanc mat plus ou moins jaunâtre selon la teneur en β carotènes de la matière grasse. Il a une odeur peu marquée mais reconnaissable. Le lait ne contient qu'un seul type de glucide, le lactose, susceptible de se dégrader en acide lactique. Le lait est généralement considéré par les spécialistes de la santé et de la nutrition comme un aliment très complet, équilibré en nutriments, riche en minéraux et contenant presque toutes les vitamines, à l'exception notable, des vitamines liposolubles A et D pour le lait écrémé. Les matières grasses laitières sont toutefois riches en acides gras saturés et contiennent des acides gras trans. Le minéral manquant le plus significatif est le fer, qui doit faire l'objet d'un complément (**Brulé, 1997**).

Le lait est un liquide physiologique extrêmement fragile à l'état naturel (lait cru) car il renferme des germes dont le nombre et la nature dépendent (**Bourdier et Luquet, 1981**) :

- de la propreté des animaux,
- de l'hygiène des personnes qui le recueillent,
- de la propreté des ustensiles servant à la traite (machine à traire, seaux, tanks),
- de la température de conservation,
- et du temps de conservation avant transformation.

3. Caractéristique du lait selon les espèces

3.1. Lait de vache

C'est le lait qui a été le plus étudié et qui sert de référence. Le lait de vache est le lait produit par la vache pour alimenter son veau. En raison de sa valeur symbolique le lait de vache est un aliment très largement consommé sur l'ensemble de la planète et l'être humain est le seul mammifère qui continue à se nourrir de lait à l'âge adulte pour une moyenne de 25 grammes par jour grâce à la pratique de l'élevage. Il contient, comme tous les laits, des matières grasses et des protéines), de nombreux minéraux comme le calcium et le phosphore, des vitamines et spécifiquement de l'hormone de croissance du veau. Le lait de vache peut être plus ou moins transformé, et forme la principale matière première de l'industrie laitière mondiale (**Bendimerad, 2013**).

3.2. Lait de chèvre

Le lait de chèvre est plus blanc que le lait de vache à cause de l'absence de β -carotène, Il est caractérisé par une saveur particulière et un goût plus relevé que celui du lait de vache, en grande partie due à certains acides gras libres et à la lipolyse du lait (**Chilliard, 1997 ; Jaubert, 1997 ; Morgan et al., 2001**).

3.3. Lait de brebis

A l'observation visuelle, il est d'une couleur blanche nacré ou porcelaine, avec une opacité blanche plus marquée que celle des laits de vache et de chèvre. Il a une saveur riche à cause de son taux de matière grasse élevé et de la lipolyse qui peut avoir lieu (**Bendimerad, 2013**).

Comparé aux laits de vache et chèvre, la plupart des laits de brebis analysés ont des teneurs plus élevées en matière solide, matière grasse et protéique, lactose et minéraux. Ainsi, généralement, moins de lait de brebis que de vache est nécessaire pour fabriquer une même quantité de fromage. Le lait de brebis est un des laits les plus riches en protéines avec 12.6 g/l en moyenne- et en matière grasse, avec en moyenne 70-75 g/l. En particulier, il contient beaucoup d' α -caséine (**Haenlein et Wendorff, 2006**).

4. Quelques produits laitiers artisanaux

4.1. *Lben*

Le *L'ben* est un des produits-phare de la transformation artisanale du lait en Algérie. Il fait l'objet, associé à d'autres mets comme le fameux couscous, d'une large consommation.

Le *L'ben* (**Tantaoui El Araki et El Marrakchi, 1987**) est le petit lait issu du barattage puis de l'écémage du *Rayeb*. Il est aussi connu sous les noms de *leben* (**Samet-Bali et al., 2010**), *iban*, ou *laban*.

4.2. *Klila*

Pour éviter sa dégradation durant la phase de stockage, le *L'ben* est chauffé modérément (55 °C - 75 °C) jusqu'à la séparation du lactosérum ; le coagulum obtenu, appelé *Klila*, fabriqué dans plusieurs régions de l'Algérie, est consommé comme un fromage frais après égouttage naturel ou à l'aide d'une pierre ; sinon, il est découpé puis séché (de 2 à 15 jours selon la saison), et ensuite utilisé après réhydratation comme un ingrédient dans des préparations culinaires. Sous sa forme déshydratée, il peut être conservé plusieurs années à température ambiante, dans des jarres en poterie ou en verre ou des sacs en peau de chèvre/mouton (**Lahsaoui, 2009 ; Boubekri et Ohta, 1996**).

4.3. *Jben*

C'est un fromage frais, traditionnel dans le Nord algérien. Cette dénomination regroupe des trajectoires technologiques très différentes, aboutissant à des produits aux caractéristiques très variées. Nous n'avons pas trouvé de publication portant sur la caractérisation du *J'ben* algérien. Traditionnellement, il y a une étape d'acidification spontanée, à température ambiante, pendant 24 h à 72 h selon la température, comme celle conduisant au *Rayeb*. Le fromage *J'ben* est fabriqué avec du lait cru de brebis ou de chèvre, acidifié spontanément et coagulé par des enzymes coagulantes d'origine végétale issues des fleurs de cardon (*Cynara cardunculus L*), d'une plante épineuse sauvage (*Cynara humilis*) ou d'artichaut (*Cynara scolymus*), ou du latex de figuier (*Ficus carica*) ou des graines de citrouille (**Nouani, 2009**).

4.4. *Zebda et Smen*

Le beurre frais *Zebda* est obtenu après barattage du *Rayeb*. Ce dernier est occasionnellement augmenté d'une quantité d'eau tiède (40-50 °C) à la fin du barattage pour favoriser l'agglomération des globules lipidiques et accroître le rendement en beurre. Les globules gras apparaissant en surface, à la suite du barattage, sont séparés par une cuillère perforée. Le beurre frais obtenu présente une consistance molle du fait de la forte concentration en eau. Le surplus de beurre produit est transformé en beurre rancie *Smen* par lavage du beurre frais à l'eau tiède, saumurage, puis salage à sec (saupoudrage à la surface ; 8-10g/100g) (**Benkerroum et Tamine, 2004**).

PARTIE II :

ETUDE EXPÉRIMENTALE

Chapitre I : Matériel et méthodes

CHAPITRE I : MATERIEL ET METHODES

1. Objectif de l'étude

Ce travail a pour objectif d'évaluer le potentiel des bactéries lactiques productrices des substances probiotiques et leur effet technologique sur les produits industriels. Il vise également :

- la recherche et l'isolement des bactéries lactique à partir de différents produits laitiers algériens ;
- l'identification des bactéries lactiques isolées ;
- l'étude des activités probiotiques et technologiques des bactéries identifiées.

2. Lieu de l'étude

Toutes les expériences de cette étude ont été exécutées au niveau du laboratoire pédagogique de microbiologie de la faculté des sciences exactes et sciences de la nature et de la vie, université de Tébessa, durant la période du 04 février au 30 avril de l'année 2019.

3. Matériel

3.1. Matériel biologique

- Des produits laitiers artisanaux algériens (Klila, Dhen, Lben, Jben).
- Lait cru de : chèvre, vache et de brebis.
- Des souches pathogènes indicatrices pour le test d'activité antimicrobienne (tableau 1) :

Tableau 1 : les souches pathogènes indicatrices et leurs codes de référence/leurs profils de résistance aux antibiotiques.

Souche pathogène indicatrice	Codes de référence/profils de résistance aux antibiotiques
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25293
<i>Escherichia coli</i>	ESBL -Es42 (AMC ^R - AMX ^R - TIC ^R - CL ^I -KF ^S - CTX ^I – AZ ^S - ATM ^R - IPM ^S – AK ^I - TOB ^R - FOS ^R - TE ^S -NA ^S - CIP ^R - F ^S - COT ^R)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853
<i>Staphylococcus aureus</i>	Sta 100 MRSA (KA ^S , FOX ^R , P ^R , GEN ^S , TM ^S , E ^R , DA ^R , FO ^S , FA ^R , RA ^S , C ^R , TI ^S , OFX ^S , SXT ^S , CIP ^S)

<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25992
<i>Staphylococcus</i>	Sta 101 MRSA (KA ^S , FOX ^S , P ^R , GEN ^S , TM ^R , E ^R , DA ^R , FO ^R , FA ^R , RA ^S , C ^S , TI ^S , OFX ^S , SXT ^R , CIP ^S)

3.2. Milieux de culture

- Géloses : MRS, M17, GN (gélose nutritive), MH (Müller Hinton) et MRS additionné au lait écrémé 10%.
- Les bouillons : BN (bouillon nutritif), MRS bouillon pour l'enrichissement des bactéries lactiques.

3.3. Produits chimiques et réactifs

Produits de la coloration de Gram (violet de gentiane, Lugol, alcool, fuschine), éthanol, eau oxygénée, eau physiologique et l'huile de paraffine.

3.4. Matériel non biologique et appareillage

(Voir annexes)

4. Méthodes

4.1. Provenance des échantillons

Un total de 11 échantillons de produits laitiers artisanaux ont été obtenus des laiteries situées dans la wilaya de Tébessa, à savoir la ville de Tébessa (région El-Jorf, cité Draâ El-Imam), et des fermes suburbaines situées à El Kouif, à Aïn Zerga et à Bir Mokadem comme il est mentionné dans le tableau (01) et la figure (03).

Tableau 2 : les catégories des échantillons testés en fonction de la région et la localisation géographique des laiteries/fermes dont ils ont été obtenus :

Région des laiteries/fermes	Localisation géographique	Echantillons obtenus
Région El-Jorf (Commune de Tébessa)	2,6 km Sud-est du chef-lieu de la wilaya de Tébessa.	- 2 échantillons du Dhen de vache - 1 échantillon du Dhen de chèvre

		<ul style="list-style-type: none"> - 1 échantillon de Klila fraîche de vache - 1 échantillon de Lben
Cité Draâ El-Imam (Commune de Tébéssa)	2,2 km Est du chef-lieu de la wilaya de Tébéssa.	- 1 échantillon de Lben
Région El Kouif	30 km Nord-est du chef-lieu de la wilaya de Tébéssa.	- 1 échantillon du lait de chèvre
Région Aïn Zerga	36 km Nord du chef-lieu de la wilaya de Tébéssa.	<ul style="list-style-type: none"> - 1 échantillon du lait de chèvre - 1 échantillon du lait de brebis
Région Bir Mokadem	37 km Sud-ouest du chef-lieu de la wilaya de Tébéssa.	<ul style="list-style-type: none"> - 1 échantillon de Dhen de chèvre - 1 échantillon de Jben de chèvre

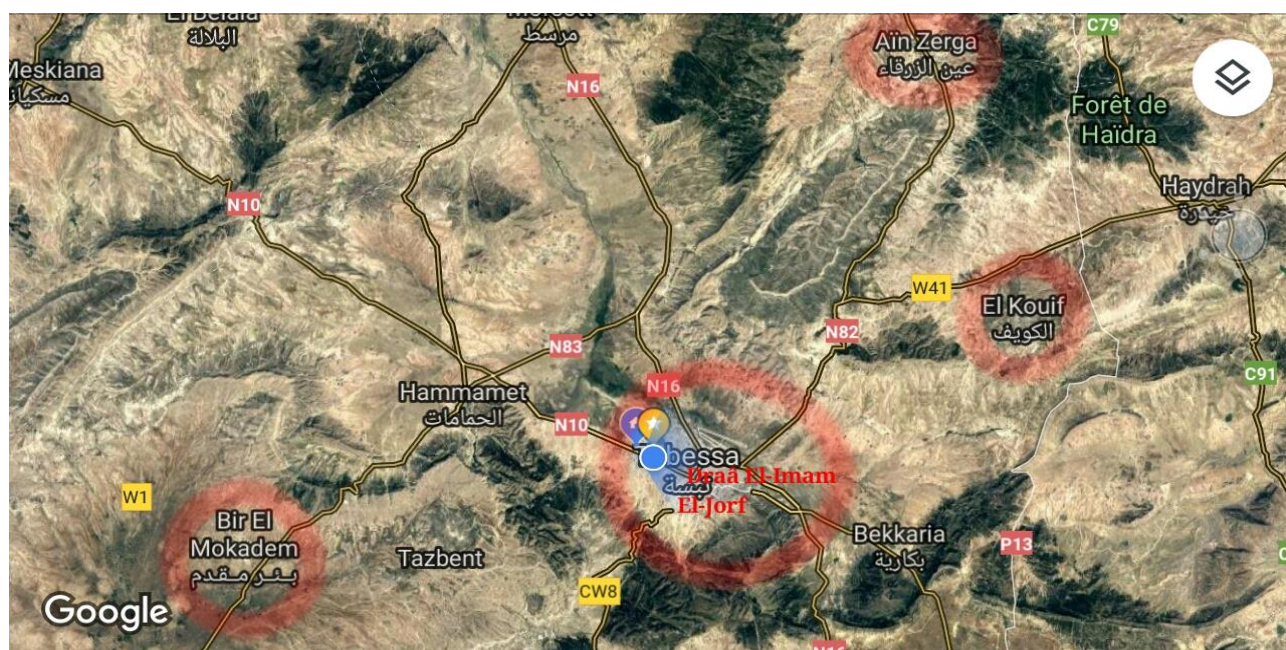


Figure 3 : la localisation géographique des lieux des laiteries et des fermes dont les échantillons ont été obtenus par rapport au chef-lieu de la wilaya de Tébéssa.

4.2. Préparation des dilutions décimales

A l'aide d'une pipette stérile 1 ml de la phase aqueuse est prélevé et introduit dans un tube à essai contenant 9 ml d'eau physiologique stérile, ainsi s'obtient la dilution 10^{-2} . Les dilutions 10^{-3} jusqu'à 10^{-6} sont obtenues de la même manière comme il est mentionné dans la figure (04) (Idoui *et al.*, 2009).

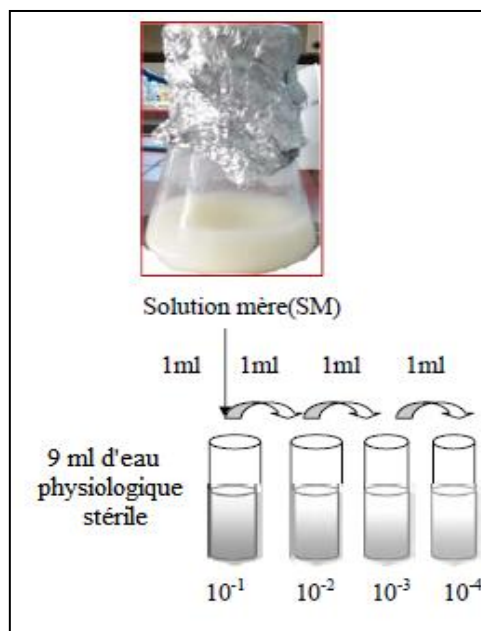


Figure 4 : préparation des dilutions décimales.

4.3. Isolement, purification et identification des bactéries lactiques

La figure (05) suivante représente le protocole adapté de l'isolement jusqu'à la purification et la conservation des souches lactique.

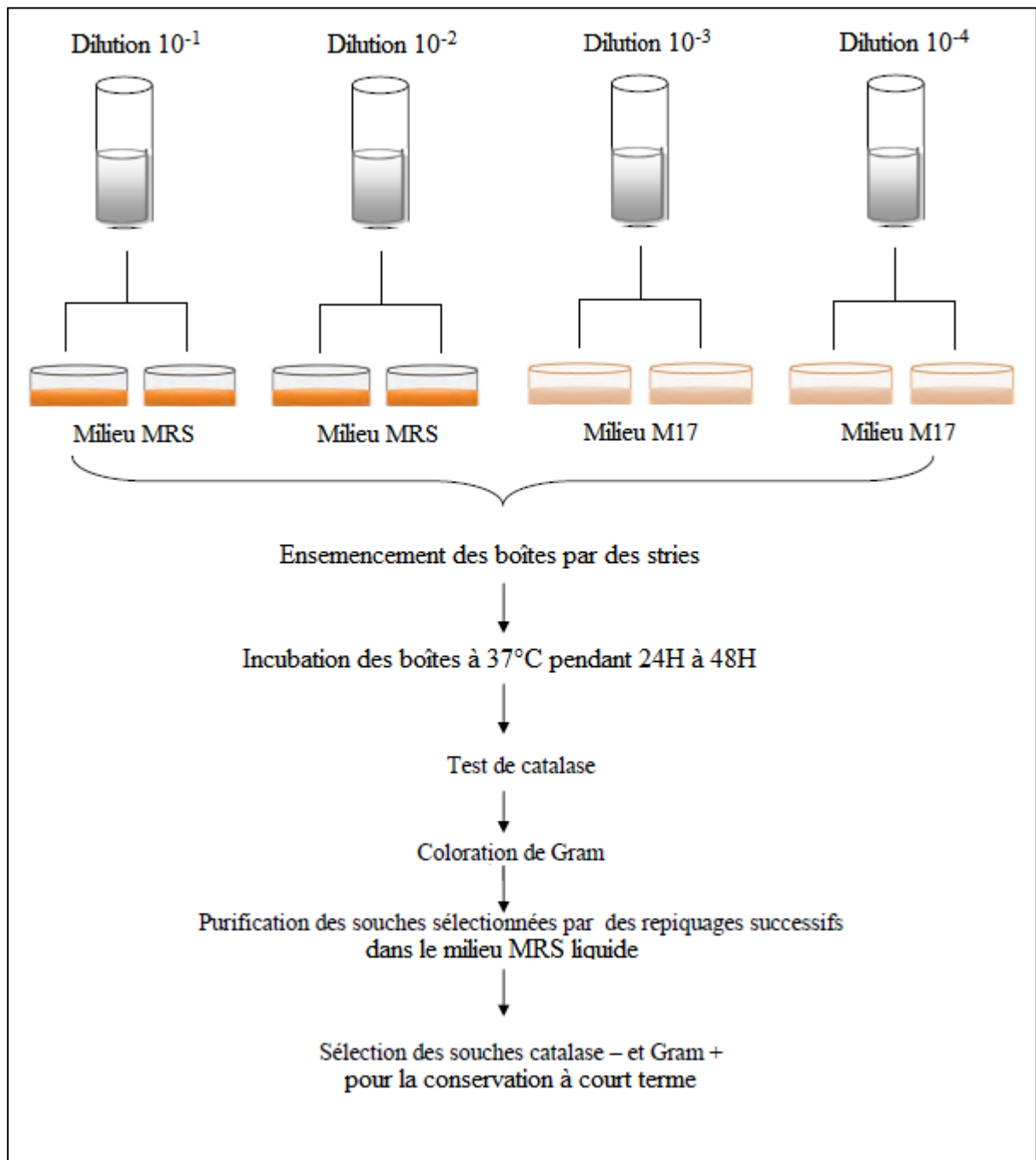


Figure 5 : protocole adapté pour chaque échantillon de lait/produit laitier de l'isolement jusqu'à la purification et la conservation des souches.

4.3.1. Isolement des bactéries lactiques

A partir de l'échantillon, nous avons effectué initialement des dilutions décimales allant de 10^{-1} à 10^{-6} .

Après plusieurs essais, seules les dilutions 10^{-3} , 10^{-4} et 10^{-5} sont retenues pour ensemercer les milieux de cultures solides M17 et MRS coulés en boîtes de Pétri. Ces dilutions permettent de repérer des colonies suffisamment séparées.

Les temps et les températures d'incubation sont adaptés à chaque genre :

- Incubation à 30°C pendant 48h pour l'isolement des espèces du genre *Streptococcus* sur M17.
- Incubation à 37°C pendant 72h pour l'isolement des espèces du genre *Lactobacillus* (Leveau *et al.*, 1991).

Pour chaque échantillon de lait, l'observation des colonies est réalisée simultanément pour toutes les dilutions.

4.3.2. Purification des bactéries lactiques

Après incubation, une colonie est prélevée de la surface puis réensemencée dans un bouillon MRS à 30°C 24 à 48h. Des passages successifs et alternes bouillon /gélose sont effectués pour purifier la souche (Boumediene, 2013).

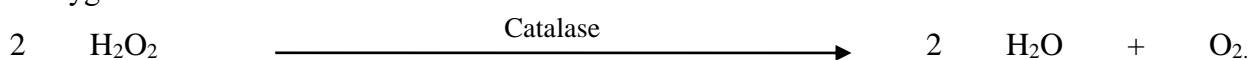
4.3.3. Identification des bactéries lactiques

4.3.3.1. Caractères morphologiques et culturels

- **Aspect macroscopique** : observation sur boîte de Pétri : l'aspect de colonie, la couleur...etc (Boumediene, 2013).
- **Aspect microscopique** : après l'examen macroscopique des colonies sur gélose MRS et dans le but d'écartier tout ce qui ne peut pas être une bactérie lactique, les isolats ont été soumis à la coloration de Gram, celle-ci permet de différencier les bactéries à Gram positif de celles à Gram négatif, les bâtonnets, les coques et le mode de regroupement. (Benreguiég, 2015).

4.3.3.2. Test de catalase

La catalase est une enzyme qui a la propriété de décomposer l'eau oxygénée avec dégagement d'oxygène.



La technique consiste à déposer sur une culture jeune sur gélose une goutte de l'eau oxygénée. Si la souche examinée possède une catalase, on observe un dégagement immédiat de bulles gazeuses (Leveau *et al.*, 1991).

4.4. Conservation à courte durée des souches lactiques

Sur un milieu M17 ou MRS incliné, les souches sont ensemencées puis incubées à 30°C pendant 24h et conservées au réfrigérateur à 4°C. Un repiquage doit être réalisé toutes les quatre semaines (Boumediene, 2013).

4.5. Profil fermentaire des sucres

Il s'agit d'apprécier l'aptitude des souches à métaboliser divers composés, en particulier des sucres. La faculté d'une bactérie à utiliser comme source d'énergie la dégradation d'un glucide s'accompagne généralement de la production d'acide qui conduit à l'abaissement du pH dans le milieu (Leveau *et al.*, 1991).

La technique consiste à ensemencer les souches testées dans des tubes correspondants aux différents sucres et renfermant comme indicateur de pH le rouge de phénol, puis incubés aux températures appropriées pendant 2 à 3 jours. Le virage du milieu du rouge au jaune indique l'acidification du milieu, donc dégradation du sucre (Carbannelle *et al.*, 1990).

4.6. Caractères technologiques recherchés

4.6.1. Pouvoir acidifiant

La mesure de l'activité acidifiante consiste à suivre l'évolution du pH des différentes cultures en fonction du temps.

On commence par la préparation de lait écrémé à 10% des flacons de capacité 250 ml. Après stérilisation et refroidissement à la température d'ensemencement, chaque flacon est ensemencé par une culture lactique (V/ 100V). Après incubation à 37°C, à un intervalle du temps 2h, 6h et 24h (Hadeif, 2012).

4.6.2. Pouvoir protéolytique

Pour déterminer l'activité protéolytique des bactéries lactiques, la gélose MRS additionnée de lait écrémé à 10% a été coulée, solidifiée et séchée puis des disques de papier Wattman

stérile ont été déposés en surface de la gélose. Chaque disque reçoit un volume de 20 μ l d'une culture jeune. Après une incubation à 37° C pendant 24h, la protéolyse est révélée par des zones claires autour des disques (**Hadef, 2012**).

4.6.3. Activité antimicrobienne des isolats

- **Méthode de diffusion en puits**

Cette méthode consiste à :

- 1- les souches productrices de substances inhibitrices sont cultivées dans du milieu MRS liquide et incubées pendant 48 heures ;
- 2- après incubation, le milieu est centrifugé (8000 tr/min pendant 10 min) et le surnageant est conservé à 4°C ;
- 3- dans une boîte de Pétri contenant du Müller Hinton solide et ensemencé par la souche test, des puits (de 6 mm de diamètre) sont réalisés avec un emporte-pièce ;
- 4- ces puits recevront 100 μ l du surnageant brut de la culture lactique à tester ;
- 5- les boîtes sont incubées pendant 24 h à 30°C ;
- 6- les puits entourés d'une zone claire d'inhibition de la souche test et ayant un diamètre supérieur à 2 mm sont considérées comme positives (figure 06) (**Boumediene, 2013**).

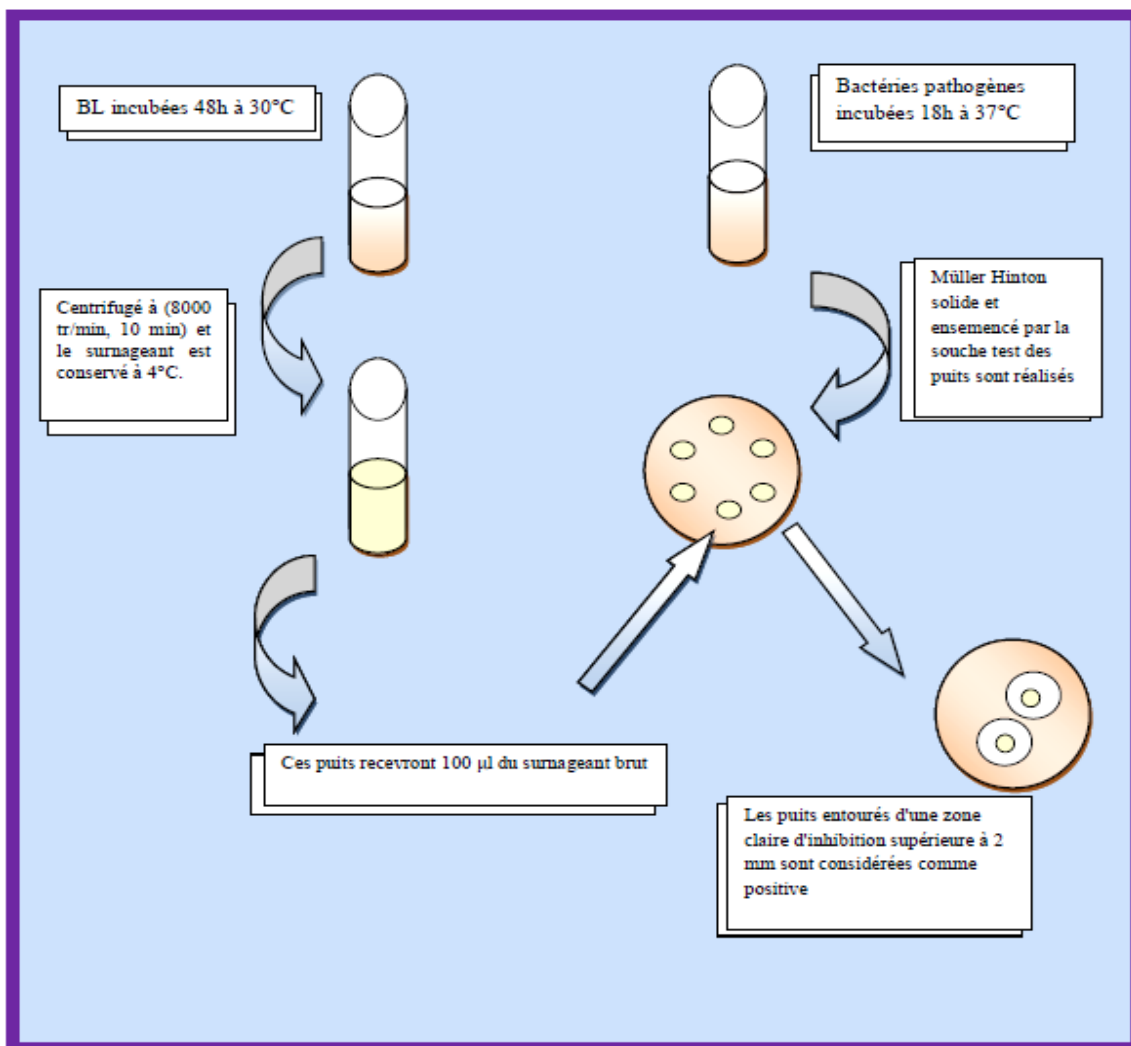


Figure 6 : schéma de la méthode de diffusion en puits.

Chapitre II : Résultats

CHAPITRE II : RESULTATS

1. Phase de pré-identification des souches lactiques

L'objet de cette phase était la pré-identification des souches lactiques isolées des produits laitiers locaux, essentiellement le Lben, le lait de chèvre, le Dhen de chèvre, le Dhen de vache, le lait de brebis, la Klila fraîche et le Jben de chèvre.

La culture de ces souches a été effectuée sur gélose MRS et M17 par les procédures phénotypiques conventionnelles basées sur les tests morphologiques, physiologiques et biochimiques.

On a exclusivement étudié les isolats Gram positif et catalases négatifs.

1.1. La provenance des souches, leurs codes de références et les souches lactiques testées

- On a pu conserver **50** souches lactiques issues des échantillons suivants :
 - 2 échantillons de Lben
 - 2 échantillons de lait de chèvre
 - 2 échantillons de Dhen de chèvre
 - 2 échantillons de Dhen de vache
 - 1 échantillon de lait de brebis
 - 1 échantillon de Klila fraîche
 - 1 échantillon de Jben de chèvre
- Seulement **36** souches ont été testées et identifiées. Elles seront démontrées dans le tableau ci-dessous (à raison de **12** souches par série de tests).

Le tableau (02) représente la provenance des souches lactiques testées, leurs codes de référence, les dilutions et les numéros des boîtes de leurs cultures et les géloses sur lesquelles elles ont été conservées.

Tableau 3 : présentation des souches lactiques testées en fonction de leurs provenances, leurs codes de référence, les dilutions et les numéros des boîtes de leurs cultures et les géloses sur lesquelles elles ont été conservées.

N° de la souche dans les tests	Provenance des souches	Ordre chronologique de l'échantillon	Code de référence	Dilution de l'échantillonnage	N° de la boîte conservée	La gélose de la culture
01	Dhen de vache	2 ^{ème} échantillon	DH(V)*	10 ⁻¹	1	MRS
02	Dhen de vache	2 ^{ème} échantillon	DH(V)*	10 ⁻¹	2	MRS
03	Dhen de vache	2 ^{ème} échantillon	DH(V)*	10 ⁻²	3	MRS
04	Dhen de vache	2 ^{ème} échantillon	DH(V)*	10 ⁻²	4	MRS
05	Dhen de vache	1 ^{er} échantillon	DH(V)	10 ⁻¹	1	MRS
06	Dhen de vache	1 ^{er} échantillon	DH(V)	10 ⁻¹	2	MRS
07	Dhen de vache	1 ^{er} échantillon	DH(V)	10 ⁻⁴	3	M17
08	Dhen de vache	1 ^{er} échantillon	DH(V)	10 ⁻⁴	4	M17
09	Lait de brebis	(le seul échantillon)	L.BR	10 ⁻³	1	M17
10	Lait de brebis	(le seul échantillon)	L.BR	10 ⁻³	2	M17
11	Lait de brebis	(le seul échantillon)	L.BR	10 ⁻⁴	3	M17
12	Lait de brebis	(le seul échantillon)	L.BR	10 ⁻⁴	4	M17
13	Lait de chèvre	1 ^{er} échantillon	L.CH	10 ⁻¹	2	MRS
14	Lait de chèvre	1 ^{er} échantillon	L.CH	10 ⁻²	3	MRS
15	Dhen de chèvre	1 ^{er} échantillon	DH	10 ⁻¹	2	MRS
16	Lait de chèvre	1 ^{er} échantillon	L.CH	10 ⁻³	1	M17
17	Lait de chèvre	1 ^{er} échantillon	L.CH	10 ⁻³	2	M17

18	Lait de chèvre	1 ^{er} échantillon	L.CH	10 ⁻⁴	3	M17
19	Jben de chèvre	(le seul échantillon)	J(CH)	10 ⁻³	2	M17
20	Jben de chèvre	(le seul échantillon)	J(CH)	10 ⁻⁴	3	M17
21	Jben de chèvre	(le seul échantillon)	J(CH)	10 ⁻⁴	4	M17
22	Dhen de vache	2 ^{ème} échantillon	DH(V)*	10 ⁻³	1	M17
23	Dhen de vache	2 ^{ème} échantillon	DH(V)*	10 ⁻⁴	3	M17
24	Dhen de vache	1 ^{er} échantillon	DH(V)	10 ⁻³	1	M17
25	Lben	2 ^{ème} échantillon	LBEN(N)	10 ⁻³	1	M17
26	Lben	2 ^{ème} échantillon	LBEN(N)	10 ⁻³	2	M17
27	Lben	2 ^{ème} échantillon	LBEN(N)	10 ⁻⁴	3	M17
28	Lben	2 ^{ème} échantillon	LBEN(N)	10 ⁻⁴	4	M17
29	Lben	1 ^{er} échantillon	LBEN(A)	10 ⁻⁴	3	M17
30	Lben	1 ^{er} échantillon	LBEN(A)	10 ⁻⁴	4	M17
31	Lben	2 ^{ème} échantillon	LBEN(N)	10 ⁻²	3	MRS
32	Klila fraîche	(le seul échantillon)	KL(F)	10 ⁻¹	1	MRS
33	Klila fraîche	(le seul échantillon)	KL(F)	10 ⁻¹	2	MRS
34	Klila fraîche	(le seul échantillon)	KL(F)	10 ⁻²	3	MRS
35	Klila fraîche	(le seul échantillon)	KL(F)	10 ⁻²	4	MRS
36	Lben	2 ^{ème} échantillon	LBEN(N)	10 ⁻¹	1	MRS

1.2. Aspect macroscopique des isolats

L'examen macroscopique des colonies poussant sur gélose M17 et sur gélose MRS nous a révélé que les souches lactiques pures sont en général des colonies de tailles variables (2 à 3 mm de diamètre), d'une forme ronde à contours régulier et d'une couleur blanche crème ou laiteuse (figure 7 et figure 8).



Figure 7 : aspect macroscopique des colonies de bactéries lactiques cultivées sur le milieu M17.

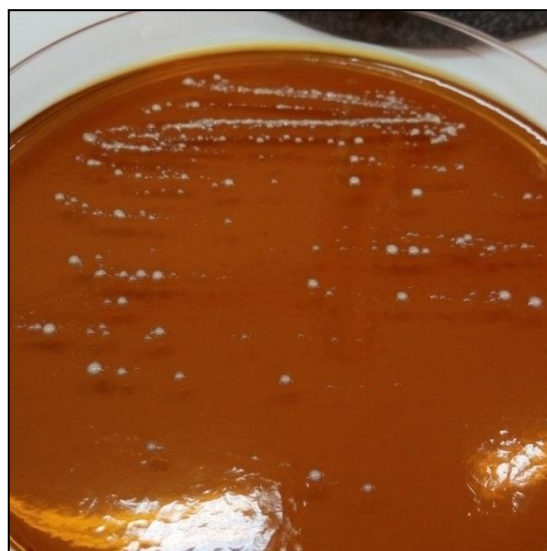


Figure 8 : aspect macroscopique des colonies de bactéries lactiques cultivées sur le milieu MRS.

1.3. Test de catalase

Lors de l'ajout d'une goutte de H_2O_2 sur une lame contenant une colonie représentative des bactéries lactiques, il n'y aurait pas une effervescence témoignant le contact d'une bactérie catalase (+) avec le H_2O_2 , ce qui s'explique que ces bactéries ne possèdent pas une activité catalasique.

1.4. Aspect microscopique

Après la coloration de Gram, l'aspect microscopique des souches a révélé trois formes de cellules : cocci, coccobacille et bacille (figure 10, figure 11, figure 12, figure 13). La figure 09 montre la distribution des pourcentages des souches lactiques isolées.

Les résultats de la coloration de Gram des 36 souches seront illustrés dans le tableau 3.

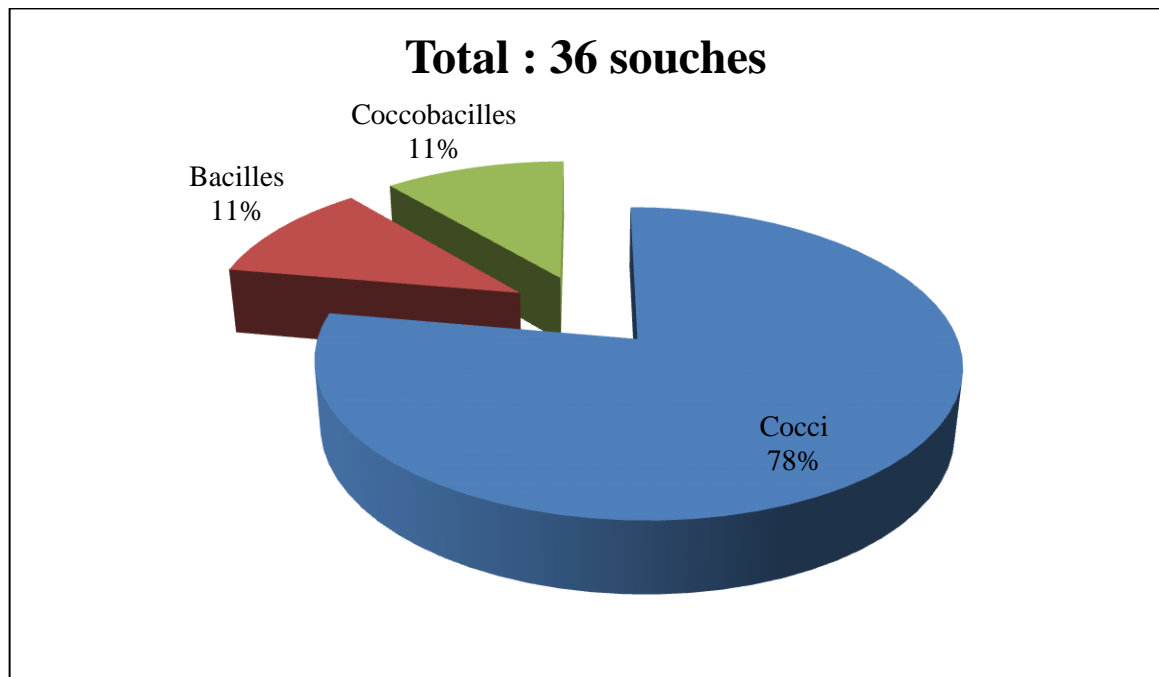


Figure 9 : distribution des pourcentages des souches lactiques isolées.

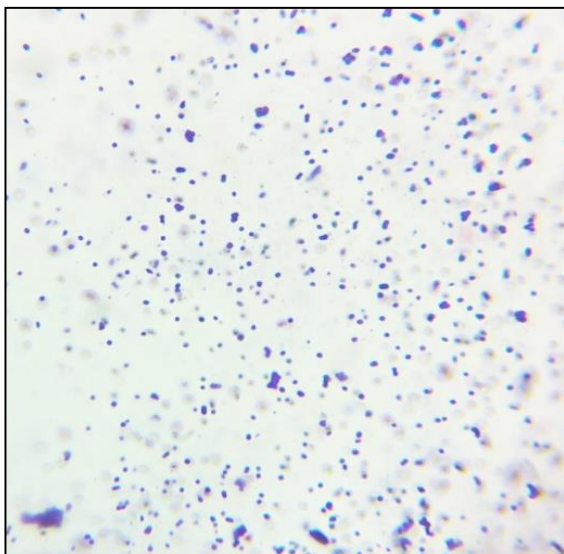


Figure 10 : aspect microscopique des bactéries lactiques en forme de coque.



Figure 11 : aspect microscopique des bactéries lactiques en forme de bacille et diplobacille.



Figure 12 : aspect microscopique des bactéries lactiques en forme de cocci en chaînettes et en tétrades.

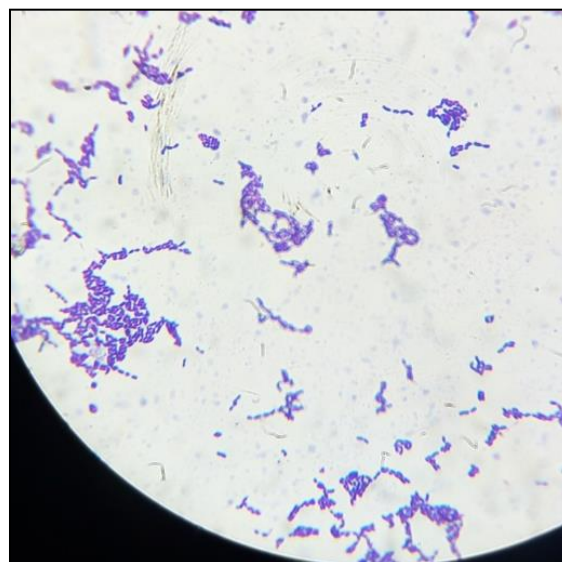


Figure 13 : aspect microscopique des bactéries lactiques en forme de coccobacille en paires et en chaînettes.

Tableau 4 : distribution des souches des bactéries lactiques en fonction de leur morphologie, leur Gram et leur mode de regroupement.

Morphologie	Numéro de la souche lactique	Mode de regroupement des bactéries
Bacille	01	Regroupées en amas et en paires
	02	Regroupées en amas et en chaînettes
	03	Regroupées en amas, en chaînettes et en paires
	04	Regroupées en amas, en chaînettes et en paires
Coccobacille	05	Regroupées en amas et en chaînettes
	06	Regroupées en amas
	07	Regroupées en amas, en chaînettes et en paires
	08	Regroupées en amas
Cocci	09	Regroupées en amas et en paires
	10	Regroupées en amas, en chaînettes et en paires
	11	Regroupées en amas et en paires
	12	Regroupées en amas et en paires
	13	Regroupées en amas et en paires
	14	Regroupées en amas et en paires
	15	Regroupées en chaînettes et en paires

	16	Regroupées en paires
	17	Regroupées en amas et en paires
	18	Regroupées en amas et en paires
	19	Regroupées en amas, en chaînettes et en tétrades
	20	Regroupées en amas, en chaînettes et en tétrades
	21	Regroupées en tétrades
	22	Regroupées en paires et en tétrades
	23	Regroupées en amas
	24	Regroupées en amas et en tétrades
	25	Regroupées en amas et en paires
	26	Regroupées en amas, en chaînettes et en paires
	27	Regroupées en amas
	28	Regroupées en amas et en paires
	29	Regroupées en amas
	30	Regroupées en amas et en paires
	31	Regroupées en chaînettes et en paires
	32	Regroupées en amas, en paires et en tétrades
	33	Regroupées en amas, en paires et en tétrades
	34	Regroupées en amas, en paires et en tétrades
	35	Regroupées en amas, en paires et en tétrades
	36	Regroupées en chaînettes

2. Profil de fermentation des sucres

Dans le but de reconnaître le profil de fermentation des sucres des souches lactiques testées, on a eu recours à les diviser en trois séries à raison de 12 souches par série des tests d'identification. Les résultats de cette identification seront mentionnés dans les tableaux (04), (05) et (06).

Tableau 5 : résultats du profil fermentaire des souches lactiques de la première série.

N° de la souche	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA
01	+	+	-	+	-	+	-	+	+
02	+	-	-	-	-	-	-	+	+
03	-	-	-	-	-	-	-	-	+
04	+	-	-	-	-	-	-	-	+
05	+	+	-	-	+	+	+	+	+
06	-	-	-	-	-	-	-	-	+
07	+	-	-	-	-	+	-	-	+
08	+	-	-	-	-	+	-	-	+
09	+	+	-	-	+	+	-	-	+
10	+	-	-	-	-	+	-	-	+
11	+	-	-	-	-	+	-	+	-
12	+	-	-	-	-	+	-	-	+

Tableau 6 : résultats du profil fermentaire des souches lactiques de la deuxième série.

N° de la souche	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA
15	+	+	-	-	+	+	+	+	+
16	+	+	-	-	+	+	-	+	+
17	+	+	-	+	+	+	-	+	+
18	+	+	-	-	+	+	-	+	+
19	+	-	-	-	+	+	-	+	+
20	+	-	-	-	+	-	-	+	+
21	+	-	-	-	+	-	-	-	-
22	+	+	-	-	-	+	-	+	+
23	+	+	-	+	+	+	-	+	+
24	+	-	-	-	+	+	-	+	+

Tableau 7 : résultats du profil fermentaire des souches lactiques de la troisième série.

N° de la souche	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA
26	+	-	-	-	-	+	-	-	-
27	+	-	-	-	-	+	-	-	-
28	-	-	-	-	+	-	+	+	+
29	-	-	-	-	-	-	-	-	-
30	+	+	-	-	-	+	-	-	-
31	+	-	-	-	-	+	-	-	-
32	+	-	-	-	-	+	-	-	-
33	+	-	-	-	+	-	-	-	-
34	+	-	-	-	+	-	-	-	+
35	+	-	-	-	+	-	+	+	+

3. Les résultats des tests probiotiques et technologiques

3.1. Pouvoir acidifiant

Le pouvoir acidifiant est l'un des principales activités des bactéries lactiques. Les résultats des variations de pH et de coagulation des inoculas lait écrémé/souche lactique seront illustrés dans les tableaux (07, 08 et 09) à raison de chaque série de test par tableau de résultats.

Tableau 8 : les résultats chiffrés de l'évolution du pH de l'inoculum lait écrémé/souche lactique au cours du temps (série 1).

Tps N° S	T 0 (après 0 h)	T 1 (après 2 h)	T 2 (après 4 h)	T 3 (après 16 h)	T 4 (après 18 h)	T 5 (après 20h)	T 6 (après 22 h)
01	6,83	6,65	-	5,18	Acidification + coagulation	Acidification + coagulation	Acidification + coagulation
02	6,83	6,64	-	5,13	(le lait a coagulé)	Acidification + coagulation	Acidification + coagulation
03	6,83	6,66	-	5,04	Acidification + coagulation	Acidification + coagulation	Acidification + coagulation
04	6,83	6,66	-	5,00	Acidification + coagulation	Acidification + coagulation	Acidification + coagulation
05	6,83	6,70	-	5,78	-	-	-
06	6,83	6,70	-	5,37	Acidification + coagulation	Acidification + coagulation	Acidification + coagulation
07	6,83	6,77	-	5,63	Acidification + coagulation	Acidification + coagulation	Acidification + coagulation
08	6,83	6,76	-	5,66	Acidification + coagulation	Acidification + coagulation	Acidification + coagulation
09	6,83	6,74	-	5,81	Acidification + coagulation	Acidification + coagulation	Acidification + coagulation
10	6,83	6,75	-	5,86	-	-	-
11	6,83	6,76	-	5,86	-	-	-
12	6,83	6,75	-	5,58	Acidification + coagulation	Acidification + coagulation	Acidification + coagulation

- Le pH du lait avant l'inoculation des souches lactique était de 6,83 à 11 : 00.
- les pH des inoculas (1 à 4, 6 à 9 et 12) se sont diminués après chaque 2 heures de mesure et ils ont coagulé après 22 heures d'incubation,

Tableau 9 : les résultats chiffrés de l'évolution du pH de l'inoculum lait écrémé/souche lactique au cours du temps (série 2).

Tps N° S	T 0 (après 0 h)	T 1 (après 2 h)	T 2 (après 4 h)	T 3 (après 18 h)	T 4 (après 20h)	T 5 (après 22 h)
13	7,25	7,17	6,89	5,70	5,55	Acidification + coagulation
14	7,25	7,18	7,13	5,49	Acidification + coagulation	Acidification + coagulation
15	7,25	7,17	6,86	4,92	Acidification + coagulation	Acidification + coagulation
16	7,25	7,18	7,14	5,99	5,78	5,74
17	7,25	7,18	7,11	5,20	Acidification + coagulation	Acidification + coagulation
18	7,25	7,18	7,15	6,00	5,89	5,82
19	7,25	7,17	7,13	5,39	Acidification + coagulation	Acidification + coagulation
20	7,25	7,18	7,05	4,80	Acidification + coagulation	Acidification + coagulation
21	7,25	7,18	7,10	5,64	Acidification + coagulation	Acidification + coagulation
22	7,25	7,16	6,84	5,09	Acidification + coagulation	Acidification + coagulation
23	7,25	7,18	7,15	5,01	Acidification + coagulation	Acidification + coagulation
24	7,25	7,18	7,02	5,89	5,82	5,74

- Le pH du lait au temps T0 était de 7,25, le suivi de pH en fonction de temps a montré que le pH des souches lactiques (13 à 15, 17, 19 à 23) se diminués juste après 2 heures d'incubation et l'activité coagulante survienne après 22 heures d'incubation, sauf pour la souche 13, la coagulation apparait après 26 heures d'incubation.

Tableau 10 : les résultats chiffrés de l'évolution du pH de l'inoculum lait écrémé/souche lactique au cours du temps (série 3).

Tps N° S	T 0 (après 0 h)	T 1 (après 2 h)	T 2 (après 4 h)	T 3 (après 6 h)	T 4 (après 24 h)	T 5 (après 26 h)	T 6 (après 28 h)
25	7,07	7,02	6,98	6,98	4,28	Acidification + Coagulation	Acidification + Coagulation
26	7,07	6,92	6,53	5,86	4,72	Acidification + Coagulation	Acidification + Coagulation
27	7,07	7,00	7,00	6,99	4,81	Acidification + Coagulation	Acidification + Coagulation
28	7,07	6,94	6,54	5,94	4,72	Acidification + Coagulation	Acidification + Coagulation
29	7,07	6,97	6,37	6,12	5,19	Acidification + Coagulation	Acidification + Coagulation
30	7,07	7,06	7,03	7,03	4,79	Acidification + Coagulation	Acidification + Coagulation
31	7,07	7,03	7,03	7,02	4,77	Acidification + Coagulation	Acidification + Coagulation
32	7,07	6,97	6,78	6,77	5,08	Acidification + Coagulation	Acidification + Coagulation
33	7,07	6,95	6,73	6,62	4,91	Acidification + Coagulation	Acidification + Coagulation
34	7,07	6,95	6,78	6,76	5,20	Acidification + Coagulation	Acidification + Coagulation
35	7,07	6,87	6,74	6,74	5,20	Acidification + Coagulation	Acidification + Coagulation
36	7,07	7,03	6,99	6,91	4,75	Acidification + Coagulation	Acidification + Coagulation

- Le pH du lait au temps T0 était de 7,07, au bout de 2 heures d'incubation, le pH de tous les flacons se diminue et la coagulation survienne après 24 heures d'incubation.

3.2. Pouvoir protéolytique

Le pouvoir protéolytique est défini par la capacité d'une bactérie à dégrader la protéine et ça se manifeste par l'apparition d'un halo clair autour de l'inoculum bactérien tel que montre la figure (14). Un majeur pourcentage des bactéries lactiques est doté de cette activité.

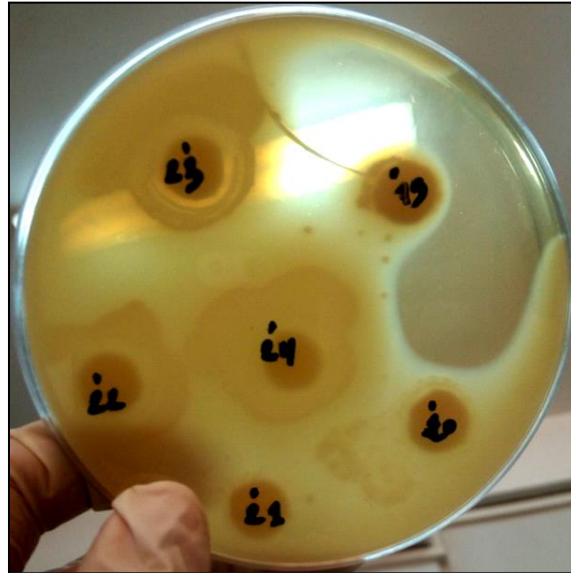


Figure 14 : apparition d'un halo clair de protéolyse autour des inoculas bactériens 22, 23 et 24.

Les résultats de ce test seront illustrés dans les tableaux (10, 11 et 12) à raison de chaque série de test par tableau de résultats.

Tableau 11 : représentation de la présence/absence d'un halo clair de protéolyse et son diamètre par millimètre des souches lactiques testées (série 1).

N° de la souche lactique	Présence ou pas d'un halo clair de protéolyse après 24 heures d'incubation	Diamètre de l'halo clair de protéolyse
01	-	/
02	-	/
03	-	/
04	-	/
05	-	/
06	-	/
07	+	18
08	+	13
09	+	14
10	+	12
11	+	12
12	+	15

- Les souches de 1 à 6 n'ont pas montré un halo clair de protéolyse après 24 heures d'incubation. Cependant, les souches de 7 à 12 se sont montrées protéolytiques, toutefois l'activité protéolytique se traduit par l'apparition d'un halo clair autour des colonies après 24 heures d'incubation.

Tableau 12 : représentation de la présence/absence d'un halo clair de protéolyse et son diamètre par millimètre des souches lactiques testées (série 2).

N° de la souche lactique	Présence ou pas d'un halo clair de protéolyse après 24 heures d'incubation	Diamètre de l'halo clair de protéolyse	Présence ou pas d'un halo clair de protéolyse après 48 heures d'incubation	Diamètre de l'halo clair de protéolyse
13	-	/	-	/
14	+	13	+	13
15	+	11	+	11
16	+	13	+	19
17	+	14	+	15
18	+	11	+	11
19	-	/	-	/
20	+	12	+	12
21	-	/	-	/
22	+	17	+	17
23	+	17	+	17
24	+	15	+	19

- Les souches de 13, 19 et 21 n'ont pas montré un halo clair de protéolyse après 24 heures d'incubation, cependant les souches 16, 17 et 24 se sont montrées protéolytique et cette activité se traduit par l'apparition d'un halo de protéolyse après 48 heures d'incubation.
- Les souches de 14, de 16 à 18, 20 et de 22 à 24 ont montré des halos clairs de protéolyse de différents diamètres après 24 et 48 heures d'incubation.

Tableau 13 : représentation de la présence/absence d'un halo clair de protéolyse et son diamètre par millimètre des souches lactiques testées (série 3).

N° de la souche lactique	Présence d'un halo clair de protéolyse après 24 heures d'incubation	Diamètre de l'halo clair de protéolyse	Présence d'un halo clair de protéolyse après 48 heures d'incubation	Diamètre de l'halo clair de protéolyse
25	-	/	+	19
26	+	15	+	15
27	-	/	+	12
28	+	7	+	13
29	-	/	-	/
30	-	/	+	11
31	-	/	-	/
32	+	9	+	14
33	-	/	+	14
34	-	/	+	15
35	-	/	-	/
36	-	/	+	13

- L'analyse des résultats illustrés dans le tableau 12 a montré que les souches 25, 27, de 29 à 31 et de 33 à 36 ne sont pas dotées d'une activité protéolytique même après 24 heures d'incubation.
- Les souches 25, 27, 30, 33, 34 et 36 ont montré un halo clair de protéolyse après 48 heures d'incubation.
- Les souches 28 et 32 ont exprimé une activité protéolytique tardive que se traduit par l'apparition d'un halo de protéolyse après 48 heures d'incubation.

3.3. Pouvoir antimicrobien

Les souches lactiques isolées de Dhen de vache, Dhen de chèvre, lait de brebis, lait de chèvre, Jben de chèvre et Lben ont été testées pour leur capacité à inhiber la croissance des bactéries pathogènes indicatrices, essentiellement : *Escherichia coli* ESBL -Es42, *Escherichia coli* ATCC

25992, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC ATCC 25293, *Staphylococcus aureus* Sta 101 et *Staphylococcus* Sta 100.

Les résultats de l'interaction entre les extraits des bactéries lactiques et les souches pathogènes indicatrices révèlent l'apparition d'une zone claire autour des puits des géloses ensemencées par les bactéries pathogènes indicatrices.

Les résultats de ce test sont illustrés dans les tableaux (13 et 14) à raison de chaque série de test par tableau de résultats.

Tableau 14 : représentation des diamètres de la zone d'inhibition des extraits des bactéries lactiques envers les souches pathogène indicatrices (série 1).

S. P. S. L.	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>E. coli</i> ESBL - Es42	<i>Staphylococcus</i> <i>aureus</i> Sta 100	<i>Staphylococcus</i> Sta 101	<i>E. coli</i> ATCC 25992	<i>Staphylococcus</i> <i>aureus</i> ATCC 25293
01	5	-	-	-	10	12
02	7	-	-	-	6	12
03	9	-	12	-	-	10
04	7	9	12	-	-	14
05	-	9	12	-	7	12
06	-	7	-	-	6	-
07	6	-	9	-	-	11
08	-	-	-	-	-	9
09	-	-	-	-	-	9
10	-	-	-	-	-	9
11	-	-	-	-	-	9
12	6	-	10	-	-	12

- **Intéraction des extraits des souches lactiques de la série 1 avec *P. aeruginosa* ATCC 27853 :**
 - Les extraits des bactéries lactiques des souches de 1 à 4, 7 et 12 ont exercé un effet inhibiteur qui s'est traduit par une zone de lyse de 9 mm de diamètre avec la souche pathogène indicatrice *P. aeruginosa* ATCC 27853.

- En revanche les extraits des bactéries lactiques des souches 5, 6 et de 8 à 11 n'ont pas présenté une zone d'inhibition de la croissance de la souche pathogène indicatrice *P. aeruginosa* ATCC 27853.
- **Interaction des extraits des souches lactiques de la série 1 avec *E. coli* ESBL-Es42 :**
 - Les extraits des bactéries lactiques des souches 4, 5 et 6 ont exercé un pouvoir inhibiteur sur pu inhiber sur la souche *E. coli* ESBL -Es42.
 - Les extraits des bactéries lactiques des souches de 1 à 3 et de 5 à 12 n'ont pas présenté une zone d'inhibition de la croissance de la souche pathogène indicatrice *E. coli* ESBL -Es42.
- **Interaction des extraits des souches lactiques de la série 1 avec *Staphylococcus aureus* Sta 100 :**
 - Les extraits des bactéries lactiques des souches 3, 4, 5, 7 et 12 ont montré une inhibition sur la souche pathogène indicatrice *Staphylococcus* Sta 100 (zone de lyse entre 7mm et 12mm). Cependant les extraits des bactéries lactiques des souches de 1, 2, 6 et de 8 à 11 n'ont présenté aucune zone d'inhibition.
- **Interaction des extraits des souches lactiques de la série 1 avec *Staphylococcus* Sta 101 :**
 - les extraits des bactéries lactiques de la série 1 n'ont pas présenté une d'inhibition de la croissance vis-à-vis de la souche pathogène indicatrice *Staphylococcus aureus* Sta 101.
- **Interaction des extraits des souches lactiques de la série 1 avec *Staphylococcus aureus* ATCC 25293 :**
 - les extraits des bactéries lactiques de la série 1 ont une activité inhibitrice (diamètre d'inhibition jusqu'à 14 mm) sur la souche pathogène indicatrice *Staphylococcus aureus* ATCC 25293 sauf l'extrait de la bactérie lactique de la souche 6.
- **Interaction des extraits des souches lactiques de la série 1 avec *E. coli* ATCC 25992 :**
 - Les résultats obtenus nous ont permis de constater que les extraits des bactéries lactiques des souches 1, 2, 5 et 6 ont une activité assez marquée (zone d'inhibition de 10 mm de diamètre) sur la souche indicatrice 38 *E. coli* ATCC 25992. Cependant les extraits des bactéries lactiques des souches de 3, 4 et de 7 à 12 ne sont pas actives vis-à-vis de la souche indicatrice *E. coli* ATCC 25992.

Tableau 15 : représentation des diamètres de la zone d'inhibition (par millimètre) des extraits des bactéries lactiques envers les souches pathogène indicatrices (série 2).

S. P. S. L.	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>E. coli</i> ESBL - Es42	<i>Staphylococcus aureus</i> Sta 100	<i>Staphylococcus aureus</i> Sta 101	<i>E. coli</i> ATCC 25992	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25293
13	20	14	16	15	15	16
14	-	-	-	-	-	-
15	16	13	13	13	13	13
16	-	-	-	-	-	-
17	-	-	-	-	-	-
18	-	-	-	-	-	-
19	-	-	-	-	-	-
20	19	16	18	18	15	18
21	-	-	-	-	-	-
22	-	-	-	-	-	-
23	25	24	23	24	21	20
24	14	14	13	19	9	13

- Les souches de bactéries lactiques 13, 15, 20, 23 et 24 ont une activité antimicrobienne que s'est traduit par l'apparition des zones de lyses allant jusqu'à 25 mm de diamètre sur les souches indicatrices *P. aeruginosa* ATCC 27853, *E. coli* Es42, *Staphylococcus aureus* Sta 100, *Staphylococcus aureus* Sta 101, *Staphylococcus aureus* ATCC 25293 et *E. coli* ATCC 25992 (figures 15, 16, 17 et 18). En revanche, les souches lactiques 14, de 16 à 19, 21 et 22 n'ont montré aucune activité sur les mêmes souches indicatrices.

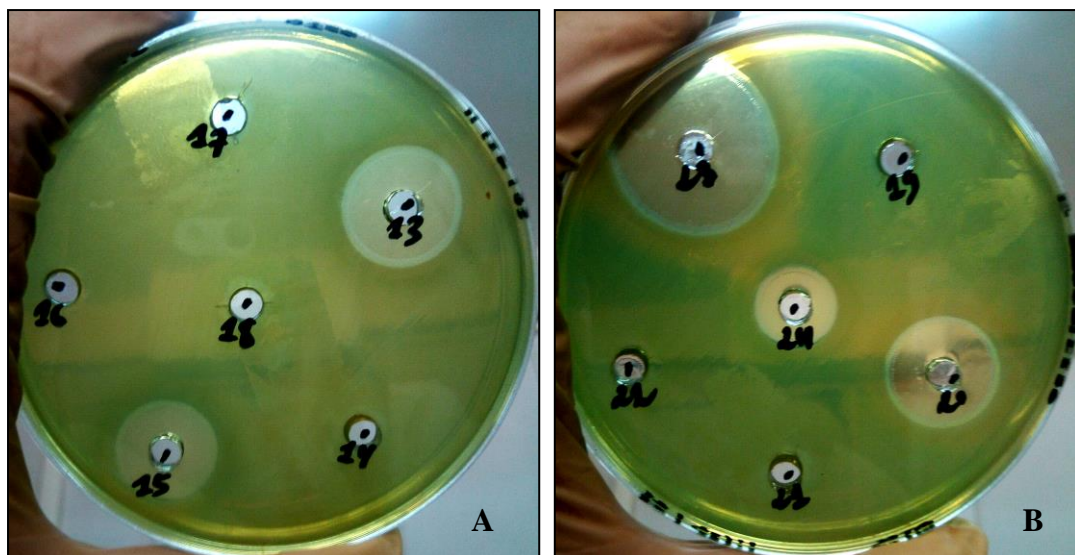


Figure 15 : les zones d'inhibition de la croissance de la souche pathogène indicatrice *P. aeruginosa* ATCC 27853 par les extraits des bactéries lactiques (série 2).

A – les extraits des bactéries lactiques des souches de 13 à 18.

B – les extraits des bactéries lactiques des souches de 19 à 24.

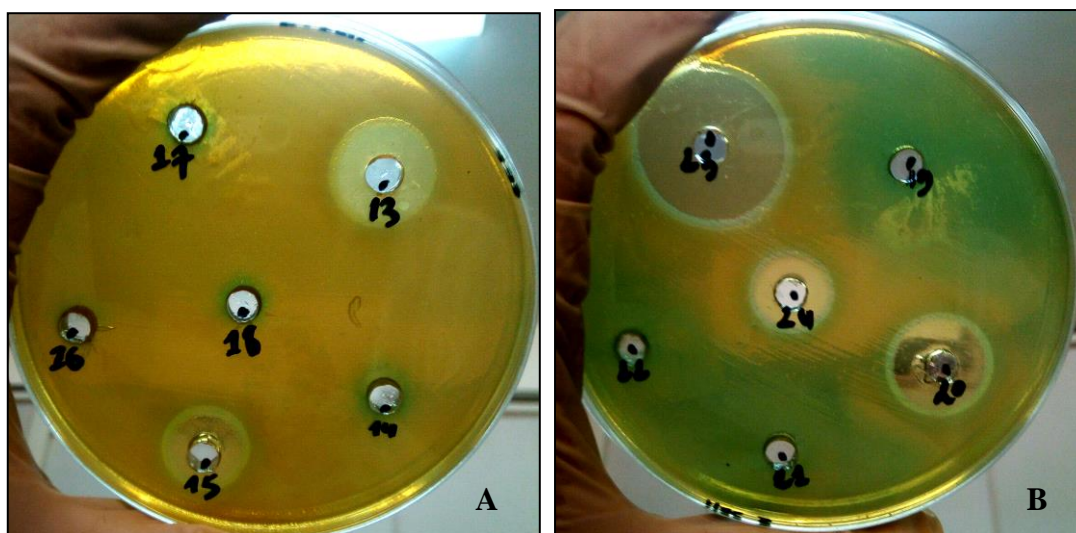


Figure 16 : les zones d'inhibition de la croissance de la souche pathogène indicatrice *E. coli* ESBL-Es42 par les extraits des bactéries lactiques (série 2).

A – les extraits des bactéries lactiques des souches de 13 à 18.

B – les extraits des bactéries lactiques des souches de 19 à 24.

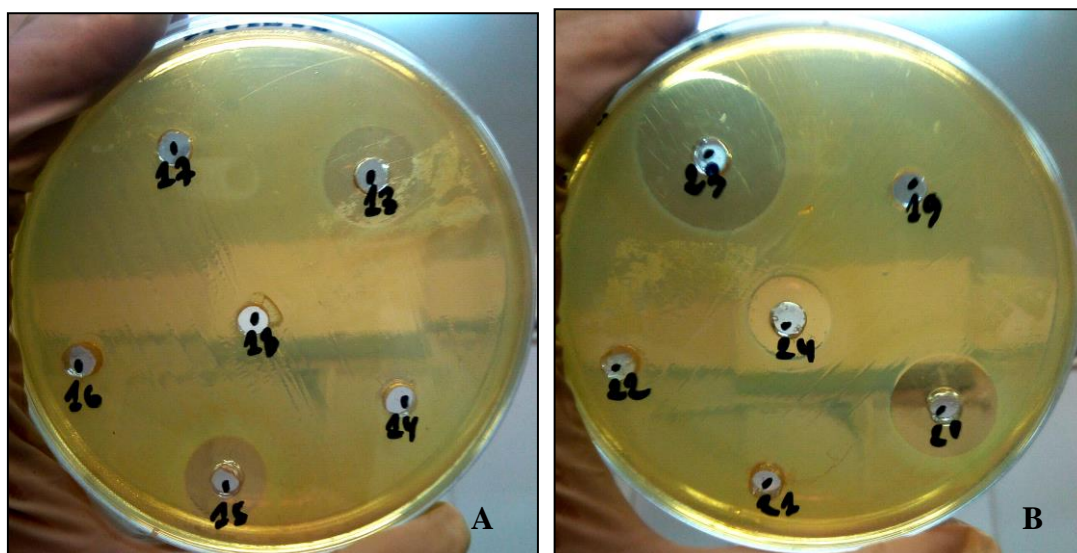


Figure 17 : les zones d'inhibition de la croissance de la souche pathogène indicatrice *Staphylococcus aureus* Sta 100 par les extraits des bactéries lactiques (série 2).

A – les extraits des bactéries lactiques des souches de 13 à 18.

B – les extraits des bactéries lactiques des souches de 19 à 24.

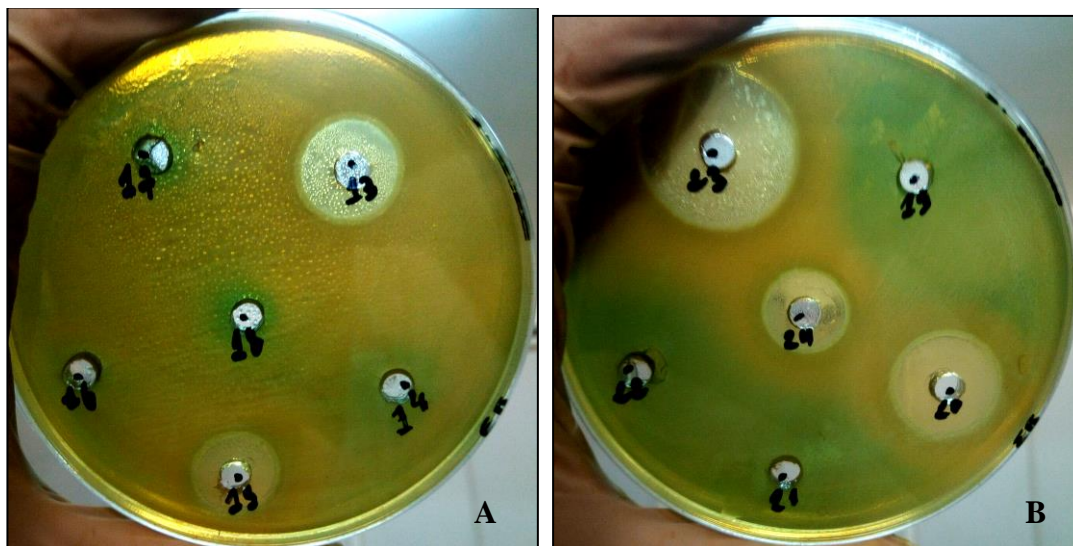


Figure 18 : les zones d'inhibition de la croissance de la souche pathogène indicatrice *Staphylococcus* Sta 101 par les extraits des bactéries lactiques (série 2).

A – les extraits des bactéries lactiques des souches de 13 à 18.

B – les extraits des bactéries lactiques des souches de 19 à 24.

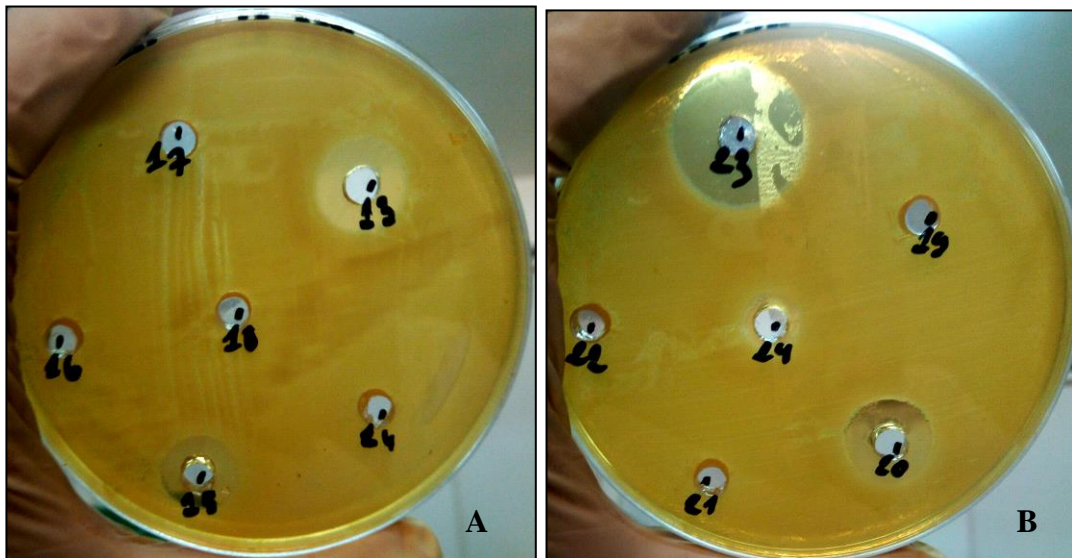


Figure 19 : les zones d'inhibition de la croissance de la souche pathogène indicatrice *E.coli* ATCC 25992 par les extraits des bactéries lactiques.

A – les extraits des bactéries lactiques des souches de 13 à 18.

B – les extraits des bactéries lactiques des souches de 19 à 24.

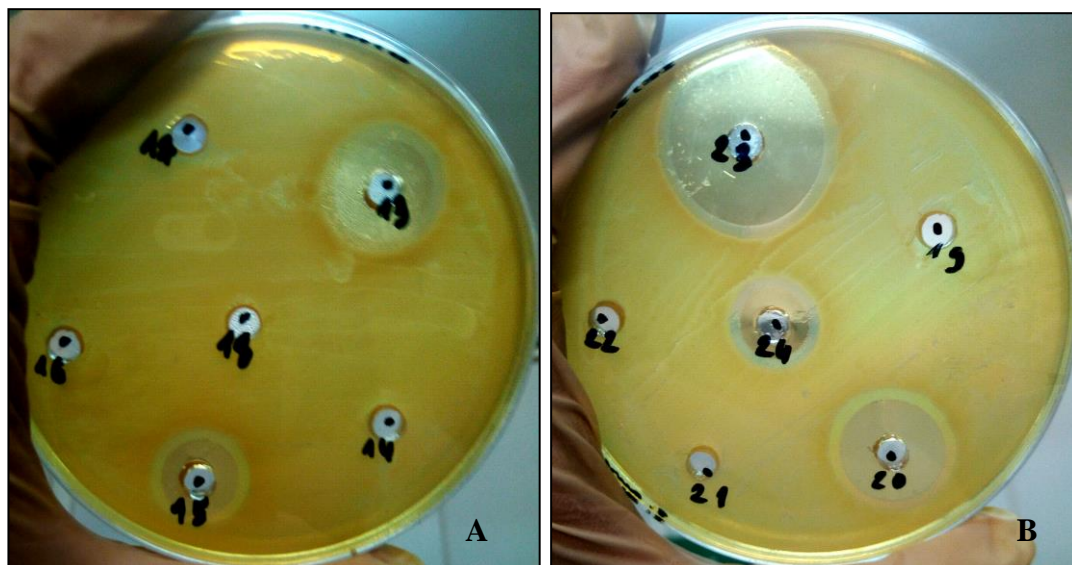


Figure 20 : les zones d'inhibition de la croissance de la souche pathogène indicatrice *Staphylococcus aureus* ATCC 25293 par les extraits des bactéries lactiques (série 2).

A – les extraits des bactéries lactiques des souches de 13 à 18.

B – les extraits des bactéries lactiques des souches de 19 à 24.

Chapitre III :

Discussion

CHAPITRE III : DISCUSSION

Au cours de dix dernières années, les travaux de recherche sur l'isolement des bactéries lactiques à partir du fromage traditionnel se sont multipliés, Les travaux de **Mechai et al. (2014)**, effectués sur les fromages traditionnels Algériens, ont montré une prédominance du genre *Lactobacillus* (50%), alors que les genres *Leuconostoc* (10%), *Pediococcus* (19%) et *Lactococcus* (21%).

Dans notre étude, et selon les critères morphologiques, physiologiques et biochimiques, 50 souches lactiques Gram positive, catalase négative montrant un profil fermentaire des sucres diversifiés ont été isolées.

Parmi les 50 souches isolées, 36 souches lactiques ont été choisis pour l'évaluation de leur potentiel probiotique et technologique (pouvoir acidifiant, protéolytique et antimicrobien).

1. Pouvoir acidifiant

Le pouvoir acidifiant des souches lactiques demeure l'une de leurs propriétés métaboliques les plus recherchées vu son intérêt en technologie laitière. La production d'acide lactique est effectivement une des principales fonctions désirées des bactéries lactiques car cet acide organique permet de concentrer et de conserver la matière sèche du lait, en intervenant comme coagulant et aussi comme antimicrobien (**Schmidt et al., 1994**).

A la lumière des résultats obtenus précédemment, nous avons pu constater que les différentes espèces voire même les souches d'une même espèce sont marquées par une grande diversité quant à leur pouvoir acidifiant. Cependant, cette diversité peut expliquer d'avantage l'importance du test de l'activité acidifiante dans la sélection des souches lactiques.

Toutefois nous avons pu constater que les souches 15, 20, 25, 26, 27, 28, 30, 31, 33 et 36 sont les plus acidifiantes, vu que le pH diminue pour atteindre des valeurs variées entre 4,28 et 4,91.

Les souches 05, 10, 11, 16, 18 et 24, n'ont pas pu coaguler le lait même après 24 heures d'incubation. En revanche les autres souches ont montré un pouvoir coagulant avant les 24 heures d'incubation.

Selon le pouvoir coagulant des souches, nous avons pu classer les souches testées en 3 catégories : souches lactiques fortement acidifiantes, souches lactiques moyennement acidifiantes, et souches lactiques faiblement acidifiantes.

- Il est judicieux de rappeler que la mesure de l'activité acidifiante d'un ensemble de souches afin de les caractériser dans le but de les comparer pose de nombreuses questions sur les conditions dans les quelles s'effectue cette mesure.

- On doit pour cela prendre en considération l'état physiologique des cellules à savoir, la croissance, la nature de métabolisme, la densité de l'inoculum, la température, la durée d'incubation, et enfin la régularité du milieu de culture.

La différence de production de l'acide lactique observé chez les souches pourrait s'expliquer par :

- L'aptitude acidifiante, caractéristique de chaque souche, liée aux aptitudes particulières qu'elle possède à dégrader les composés du milieu pour le rendre assimilables et à transporter les éléments nutritif dans le cytoplasme (**De Roissart, 1996**).
- L'existence d'une déficience du système de transport des substances nutritives ou/et des sucres fermentescibles (**Albenzino, 2001**).

Le pouvoir acidifiant des souches peut être lié soit aux capacités glycolytiques intrinsèques des souches (activité des transporteurs et des enzymes glycolytiques), soit à leurs capacités anaboliques associées à un rétrocontrôle du catabolisme, soit aux deux à la fois (**Chemlal-Kherraz, 2013**).

Le mécanisme de coagulation du lait par des bactéries lactiques peut être provoqué soit par la transformation progressive du lactose du lait en acide lactique qui provoque l'abaissement du pH et la coagulation du lait; soit par un système enzymatique ou enzymes protéolytiques qui ont la propriété de coaguler le lait (**Mami, 2013**).

Les souches ayant un profil d'acidification du lait rapide se révèlent comme étant de bonnes candidates pour l'industrie des aliments fermentés, et pourront être utilisées comme cultures starters.

De la même manière, les souches ayant montré un pouvoir d'acidification faible sont utilisées elles aussi, mais en cultures mixtes, pour d'autres propriétés importantes, par exemple une activité protéolytique élevée (**Hassaine, 2013**).

2. Pouvoir protéolytique

La protéolyse catalysée par des enzymes bactériennes est un des événements biochimiques essentiels pour la maturation du fromage. L'hydrolyse des caséines du lait modifie la texture de la pâte. Les acides aminés et les peptides libres sont précurseurs des composés responsables de l'arôme des fromages qui participent dans l'amélioration de la qualité organoleptique du produit fini.

Comme nous le verrons plus loin les enzymes protéolytiques peuvent être divisées en deux groupes :

- **les endopeptidases:** ou protéinases qui hydrolysent les liaisons peptidiques internes des protéines en libérant des peptides.

- **Les exopeptidases:** qui agissent sur les extrémités carboxyliques ou aminées des protéines ou des peptides. C'est le cas des aminopeptidases qui libèrent des acides aminés.

L'activité protéolytique des bactéries lactiques occupe une place capitale lors de la croissance de ces dernières dans lait et contribue fortement dans le développement des propriétés organoleptiques de différents produits laitiers fermentés (**Axelsson, 1998 ; Christensen et al., 1999**).

Selon **Vuillemard (1986)**, la souche est dite protéolytique si elle présente une zone de lyse de diamètre compris entre 5 et 15 mm. Par comparaison à cette donnée, la majorité de nos souches sont révélées protéolytiques dont les diamètres des zones de protéolyse étaient compris entre 7 et 19 mm.

Nos résultats nous ont permis de constater que, l'activité protéolytique la plus élevée a été observée chez les souches (07, 12, 16, 17, 22, 23, 24, 25, 26 et 34) avec un diamètre allant de 15 mm à 19 mm sur MRS additionné de 10% de lait écrémé, ces résultats sont en concordance avec ceux de (**Garcia-Ruiz et al., 1997 ; Herreros et al., 2003 ; Maghnia, 2011 ; Hedef, 2012**).

Les résultats obtenus dans ce travail montrent qu'il n'existe aucun rapport entre l'activité protéolytique et le pouvoir acidifiants des souches comme il a été suggéré par (**Cheriguene et al., 2006**).

La production d'un produit alimentaire fermenté de haute qualité dépend en partie du système protéolytique des bactéries starters, puisque les peptides et acides aminés formés ont un impact direct sur l'apparition des saveurs dans ces produits transformés (**Law et Handrikman, 1997 ; Axelsson, 1998**).

Comme mentionné dans la partie bibliographique, les différentes espèces de lactocoques et de lactobacilles se procurent des acides aminés libres, indispensables à leur croissance en mettant en jeu d'une part, des systèmes complexes d'enzymes protéolytiques produisant ces composés à partir des protéines du lait (la caséine), et d'autre part, des systèmes de transport des acides aminés ou des peptides générés (**Mechai, 1999**).

Chez les lactocoques, par exemple l'équipement en enzymes protéolytiques est constitué particulièrement des protéinases extracellulaires liées aux parois, qui dégradent les caséines en peptides. Ces derniers seront transportés à travers les enveloppes cellulaires, puis hydrolysés en acides aminés par différentes aminopeptidases, dipeptidases et tripeptidases (**Mechai, 1999**).

Chez les lactobacilles, les activités protéolytiques sont-elles aussi très diversifiées quant à leur nature et à leur niveau d'activité spécifique, et ce au niveau des espèces comme au niveau des souches d'une même espèce. Dans ce sens, la diversité de nos résultats c'est-à-dire la répartition des souches entre les différentes espèces ou à l'intérieur d'une même espèce selon leur activité protéolytique pourrait être expliquée par les différences d'équipement en enzymes protéolytiques

entre les souches. Ces différences sont elles-mêmes suffisantes pour engendrer des disparités dans les vitesses de croissance des différentes souches. Celles possédant des protéinases et des aminopeptidases liées aux enveloppes seront favorisées pour tirer leurs nutriments azotés des protéines du lait (**Mechai, 1999**).

A ces différences d'équipement en enzymes protéolytiques entre les espèces viennent s'ajouter deux facteurs majeurs modulant l'activité protéolytique. Il s'agit du milieu de culture et du stade physiologique de la croissance. En ce qui concerne le premier facteur, **Desmazeaud, (1983)** a montré que le milieu de croissance peut modifier le niveau de l'activité protéolytique des cellules. Chez l'espèce *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* par exemple, cette modification peut toucher la synthèse des enzymes ou, une fois celles-ci synthétisées, leur stabilité. Quand au deuxième facteur qui affecte aussi l'activité protéolytique, il s'agit essentiellement de la durée d'incubation, de la température et du pH du milieu.

Deroissart, (1994) a rapporté que chez les lactocoques, ce sont surtout les activités de la protéinase " soluble " et de la dipeptidase intracellulaire qui chutent lorsque le temps d'incubation est prolongé. **Larpent, (1991)** a remarqué qu'un effet analogue peut être observé surtout pour les activités aminopeptidase et carboxypeptidase chez l'espèce *Lactobacillus casei*. En revanche, chez les lactobacilles thermophilles, il a été rapporté que la température de croissance est un facteur contrôlant les activités exopeptidasiques intracellulaires. De même, il a été observé que le pH du milieu intervient chez ces bactéries pour réguler les activités spécifiques qui diminuent lorsque le pH du milieu est abaissé (**Rezgui et Zoghalmi, 2014**).

3. Pouvoir antimicrobien

L'effet inhibiteur des bactéries lactiques peut être attribué à n'importe quel facteur antibactérien produit par les souches étudiées tels que l'acide lactique, le peroxyde d'hydrogène, le diacétyle, une bactériocine ou la synergie entre certains d'entre eux (**Ennahar, 1995 ; Castano et al., 2005**). Ce type de résultats a déjà été constaté par plusieurs recherches sur d'autres bactéries lactiques d'origine laitières (**Zadi-Karam, 1998 ; Kacem, 2005 ; Dalache, 2006**).

L'apparition de l'activité antagonistique, après élimination de l'effet de l'acide lactique, confirme l'existence des autres substances antibactériennes telles que le peroxyde d'hydrogène, diacétyl et les bactériocines (**Hadef, 2012**).

Dans la présente étude, sur un total de 36 souches lactiques testées pour leur aptitude de production des agents inhibiteurs en employant la méthode de diffusion en puits, 17 souches ont présenté une activité antagoniste dirigée contre des souches indicatrices.

Ces résultats indiquent que nos bactéries lactiques sont capables de synthétiser des substances inhibitrices ayant une activité antibactérienne envers les bactéries pathogènes indicatrices.

Plusieurs facteurs peuvent avoir un effet sur l'activité antimicrobienne parmi lesquelles l'interaction entre la bactériocine et les constituants des cellules ou du milieu de croissance, de la pureté et de la concentration de l'enzyme et de la technique employée pour déterminer la sensibilité enzymatique (**Piard et Desmazaud, 1991**).

Selon **Wilson et al., (2003)**, l'important effet inhibiteur des Lactobacilles peut avoir deux origines : La première est la production d'acide lactique et /ou acétique ; en effet, les *lactobacilles* sont connus par une grande résistance aux pH acide (jusqu'à un PH voisin de 3,5) contrairement aux autres genres qui sont plus sensibles. Alors que la deuxième est que les *lactobacilles* produisent une autre substance inhibitrice active sur de nombreuses espèces.

Les lactocoques sont capables de produire deux substances majeures (acide lactique et bactériocines) responsables de l'effet antagoniste (**Bourgeois et Larpent, 1996**).

Ces résultats qui sont en concordance avec ceux de **Hadef, (2012)**, indiquent que nos bactéries lactiques sont capables de synthétiser des substances inhibitrices ayant une activité antibactérienne.

La majorité des souches sont actives sur les bactéries à gram positif mais pas tous sur les bactéries à Gram négatif. **Onda et al., (2003)** suggèrent que les bactéries Gram positif sont généralement plus sensibles à l'effet bactéricide des bactéries lactiques.

Bhunja et al., (1991) et **Parente & Ricciardi (1999)** ont montré que la présence des enzymes protéolytiques dans le milieu perturbe légèrement la sensibilité des bactéries aux bactériocines.

Dans le même contexte, plusieurs facteurs influent sur l'efficacité d'une bactériocine, notamment la composition du milieu, la température d'incubation et en particulier le pH optimum pour l'activité (**Benreguiég, 2015**).

Il ne faut pas négliger également la possibilité d'une faible solubilité de la bactériocine ou d'une dégradation irréversible de la bactériocine étant donné la longue durée d'incubation (12 h) aux pH élevés (**Mechai, 2009**).

La capacité inhibitrice *in vitro* des bactéries lactiques vis-à-vis des germes pathogènes semble être une bonne propriété probiotique, comme elle peut jouer un rôle dans la préservation de la qualité hygiénique des denrées alimentaires (**Hadef, 2012**).

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Conclusion et perspectives

Les potentialités probiotiques et technologiques naturelles des bactéries lactiques sont utilisées depuis longtemps dans la bioconservation et l'amélioration de l'état de santé des consommateurs.

De ce fait, nous avons réalisé ce travail afin d'isoler et de purifier des souches lactiques issues des produits laitiers artisanaux de la région de Tébessa dans le but d'étudier leurs capacités probiotiques et technologiques.

Dans un premier temps, notre travail a débuté par l'isolement et la purification de cinquante souches lactiques à partir de onze échantillons de produits laitiers artisanaux provenant de la région de Tébessa en Algérie dont seulement 36 souches lactiques ont été identifiées et testées.

L'identification des souches a été réalisée par la détermination des caractéristiques morphologiques et biochimiques. La totalité était des coques, des bacilles et des coccobacilles.

Dans un deuxième temps, on a sélectionné les souches à potentiel probiotique et technologique pour déterminer leur pouvoir acidifiant par la mesure de l'abaissement du pH, leur pouvoir protéolytique sur un milieu additionné du lait écrémé et leur pouvoir antimicrobien contre quelques bactéries pathogènes indicatrices par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition de leur croissance.

Les résultats des trois tests ont révélé que :

- Toutes les souches testées sont marquées par un pouvoir acidifiant non négligeable dans le lait écrémé.
- Deux tiers des souches testées ont montré une activité protéolytique importante.
- Presque la moitié des souches lactiques bioactives a marqué un effet inhibiteur dirigé contre au moins une bactérie indicatrice pathogène utilisée dans ce test.

Le nombre de bactéries lactiques isolées possédant des activités probiotiques des échantillons testés montre que le choix effectué en allant rechercher ce type de bactéries dans ces produits est un choix judicieux. Nos résultats corroborent les travaux antérieurs puisque les produits alimentaires en général, et ceux fermentés de façon artisanale en particulier, constituent une niche écologique de choix pour l'isolement de bactéries lactiques productrices de bactériocines. Ces souches qui peuvent être sélectionnées non seulement sur la base de leurs performances technologiques mais également en prenant en compte d'autres propriétés (exemple : l'aptitude à améliorer la qualité microbiologique et la stabilité du produit fini) peuvent être utilisées comme des cultures starters.

Enfin, en perspective d'avenir, il serait souhaitable de valoriser ces travaux par :

- l'identification au niveau de l'espèce par la galerie miniaturisée API 50 CHL des souches isolées ;
- l'étude à l'échelle moléculaire notamment les souches lactiques ayant présenté un pouvoir acidifiant remarquable, une activité de protéolyse et un pouvoir antimicrobien dirigé contre des souches pathogènes à Gram positive et à Gram négative ;
- la mise en évidence des agents inhibiteurs responsables de l'activité antibactérienne.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

A

Alakomi H.L., Skytta E., Saarela M., Mattila-Sandholm T., Latva-Kala K. et Helander I.M., 2000. Lactic acid permeabilizes gram-négatif bacteria by disrupting the outer membrane. *App. Env. Microbiol.* 66 (5) : 2001-2005.

Albenzio M., Corbo M. R., Rehman U. S., Fox P. F., de Angelis M., Corsetti A., Sevi A., Gobbetti M., 2001 : Microbiological and biochemical characteristics of Canestrato Pugliese cheese made from raw milk, pasteurized milk or by heating the curd in hot whey. *International Journal of Food Microbiology*, 67,35-48.

Ammor M.S. et Mayo B., 2007. Selection criteria for lactic acid bacteria to be used as functional starter cultures in dry sausage production. *Meat. Science.* 76 : 138-146.

Ammor S., Tauveron G., Dufor E. et Chevalier I., 2006. Antibacterial activity of lactic acid bacteria against spoilage and pathogenic bacteria isolated from the same meat small-scale facility 1- Screening and characterization of antibacterial compound. *Food Control.* 17 : 454-461.

Axelsson L., 2004. Classification and physiology. *In* : Lactic acid bacteria: Microbiological and functional aspects ((Salminen S., Wright A.V. et Ouwehand A.). 3e Ed., Marcel Dekker, Inc. New York. 1-66.

Axelsson, L., 1998. Lactic acid bacteria: Classification and physiology. *In*: Lactic acid bacteria. Ed. S. Salminen and A. von Wright. Marcel Deccer. p. 1-72.

B

Béal C., Marin M., Fontaine E., Fonseca F. et Obert J.P., 2008. Production et conservation des ferments lactiques et probiotiques. *In* : Bactéries lactiques, de la génétique aux ferments (Corrieu G. et Luquet F.M.). *Tec & Doc, Lavoisier.* Paris. 661-765.

Bendimerad, N., 2013. Caractérisation phénotypique technologique et moléculaire d'isolats de bactéries lactiques de laits crus recueillis dans les régions de l'Ouest Algérien. Essai de

fabrication de fromage frais type «Jben. ». Thèse de doctorat : microbiologie alimentaire. Tlemcen, Université Aboubekr Belkaid, 255p.

Benkerroum, N., et Tamime, A Y., 2004. Technology transfer of some Moroccan traditional dairy products (lben, jben and smen) to small industrial scale. *Journal of Food Microbiology* 21: 399-413.

Benreguieg, M., 2015. Propriétés Antibactériennes et Probiotiques de Bactéries Lactiques Isolées à Partir du Lait de Vache, de Chèvre et de Brebis dans la région de l'Ouest Algérien. Thèse de doctorat : microbiologie. Mostaghanem : Université Abdelhamid Ibn Badis, 181p.

Bhunja, A. K., Jonson, M. C., Ray, B., & Kalchayanand, N., 1991. Mode of action of pediocin AcH from *Pediococcus acidilactici* on sensitive bacterial strains. *Journal of Applied Bacteriology*, 70, 25–30.

Boubekri, K ., et Ohta, Y., 1996. Antimutagenicity of lactic acid bacteria from *El-Klila* cheese. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 72: 397-402.

Boumediene, K., 2013. Recherche des bactéries lactiques productrices des bactériocines et l'étude de leur effet sur des bactéries néfastes. Mémoire de magister : maîtrise de la qualité microbiologique et du développement microbien. Tlemcen : Université Abou Bekr Belkaïd, 80p.

Bourdier, J F., et Luquet, F. M., 1981. Dictionnaire Laitier. 2ème éd. augmentée. Paris.

Bourgeois C.M. et Larpent J.P., 1996. Microbiologie alimentaire : Aliments fermentés et fermentations alimentaires. *Tec & Doc, Lavoisier*. Paris. 432-704.

Bourgeois C.M. et Larpent J.P., 1996. Microbiologie alimentaire : Aliments fermentés et fermentations alimentaires. *Tec & Doc, Lavoisier*. Paris. 432-704.

Brulé, G., Lenoir, J., et Remeuf, F., 1997. La micelle de caséine et la coagulation du lait, in : Eck, A., et Gillis, J.C. Le fromage pp 7-41. Tec et Doc Lavoisier, France.

C

Carbonnelle, B., Denis, F., Mannonier, A., Binon, G & Vargiver, K., 1990. Bactériologie médicale. *Techniques visuelles*, pp.23.

Carina Audisio M. et Maria C.A., 2010. Bactiocin-like substance produced by *Lactobacillus salivarius* subsp. *Salivarius* CRL 1384 with anti- *Listeria* and anti- *salmonella* effect. *Res. J. Microbio.* 5 (7): 667-675.

Carine. D ; Tonart. P., 2009. Les bactériocines des bactéries lactiques caractéristiques et intérêts pour la bioconservation des produits alimentaires. BASE. VOLUME 13.

Carolissen-Mckay, V., Arendse, G., & Mastings, J. W., 1997. Review article. Purification of bacteriocins of lactic acid bacteria: problems and pointers. *International Journal of Food Microbiology*, 34, 1–16.

Castano C., Delors B., Fevrier A., Lehn J. M., Lehn P., and Desbat B., 2007 : Interaction de l'ADN avec un lipide cationique utilisé pour le transfert de gène, le BGTC: Etude à l'interface air/eau par BAM ET PMIRRAS, in CFCL 2007, Systèmes anisotropes Auto organisés, Pessac

Chemlal-Kherraz, D., 2013. Isolement et identification phénotypique des bactéries lactiques isolées du Tilapia du Nil (*Oreochromis niloticus*) et mise en évidence de leur potentiel probiotique. Thèse de doctorat : Sciences de l'environnement. Oran, Université d'Oran, 217p.

Chilliard, Y., 1997. Caractéristiques biochimiques des lipides du lait de chèvre : comparaison avec les laits de vache et humain. Intérêt nutritionnel du lait de chèvre. *Annales Pharmaceutiques Françaises* 59: 1-51.

Cholet O., 2006. Etude de l'écosystème fromager par une approche biochimique et moléculaire. *Institut National Agronomique Paris-Grignon. Ecole Doctorale ABIES. UMR de Génie et Microbiologie des Procédés Alimentaires INRA, INA.* 16.

D

Daba, H., Lacroix, C., Huang, J., & Simard, R. E., 1993. Influence of growth conditions on production and activity of mesenterocine 5 by a strain of *Leuconostoc mesenteroides*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 39, 166–173.

Dalache F., 2006 : Effets inhibiteurs des bactéries lactiques. Bactériocines de *Lactococcus* et d'*Enterococcus*: Mise en évidence d'un support plasmidique. *Thèse Doctorat*, Es-Senia, Oran.

De Roissard H. et Luquet F.M., 1994. Bactéries lactiques. 2volumes, Lorica Uriage, 600 p. par volume.

Denohue D.C., 2004. Safety of novel probiotic bacteria. *In: Lactic acid bacteria: microbiological and functional aspects* (Salminen S., Wright A.V. et Ouwehand A.). 3e Ed., Marcel Dekker, Inc. New York. 531-546.

Deroissart, H. B., 1994 : Les bactéries lactiques. *In-Laits et produits laitiers*, Vol. 3. (F. M. Luquet , éd.) *Technique et documentation Lavoisier, Paris*, pp. 343-407.

Desmazeaud M., 1998. Bactéries lactiques et qualité des fromages. Lab. de recherches laitières *INRA*. 1-3.

Desmazeaud, M. (1996). Les bactéries lactiques dans : L'alimentation humaine : utilisation et innocuité. *Cahiers Agricultures*, **5**, pp: 331-343.

Desmazeaud, M., 1983 : Comment les bactéries lactiques se comportent-elles dans le lait?.

Donkor O.N., Henriksson A., Vasiljevic T. et Shaha N.P., 2007. Proteolytic activity of dairy lactic acid bacteria and probiotics as determinant of growth and in vitro angiotensin converting enzyme inhibitory activity in fermented milk. *INRA, EDP Sciences*. 86 : 21-38.

Dortu C. et Thonart P., 2009. Les bactériocines des bactéries lactiques : caractéristiques et intérêts pour la bioconservation des produits alimentaires. *Biotechnol. Agron. Soc. Env.* 13 (1) : 143-154.

Dortu, C., 2008. Isolement d'une bactérie lactique produisant de la sakacin G et utilisation sur des matrices alimentaires. [En ligne]. Thèse de doctorat : sciences agronomiques et ingénierie biologique. Gembloux : Faculté Universitaire Des Sciences Agronomiques, 135p.

E

Ennahar S., Sashihara T., Sonomoto K. et Ishizaki A., 2000 : Classe IIa bacteriocins : Biosynthesis, structure et activity. *FEMS. Microbiology reviews*. 24. 85-106.

F

FAO, T. W. H. O., 2001. Probiotic definition.

Farrow, J. A. E. et Collins, M. D., 1984. ADN-base composition, ADN-ADN homology and long-chain fatty acid studies on *Streptococcus thermophilus* and *Streptococcus salivarius*. *J. Gen. Microbiol.*, 130: 357-362.

G

Gerrit S., Bart A.S. et Wim J.M.E., 2005. Flavour formation by lactic acid bacteria and biochemical flavour profiling of cheese products. *FEMS. Microbiol. Rev.* 29 : 591-610.

Gomez AMP, and Malcata FX., 1999. Bifidobacterium spp. and Lactobacillus acidophilus : biological, biochemical, technological and therapeutical properties relevant for use as probiotics. *Trends Food Sci Technol* ; 10: 139-157.

Gu R.X., Yang Z.Q., Li Z.H., Chen S.L. et Luo Z.L., 2008. Probiotic properties of lactic acid bacteria isolated from stool samples of longevous people in regions of Hotan, Xinjiang and Bama, Guangxi, China. *Anaerobe*.14 : 313-317.

Guiraud J.P. et Rosec J.P., 2004. Pratique des normes en microbiologie alimentaire. *AFNOR*. 237-251.

Guiraud J.P., 2003. Microbiologie Alimentaire. *Tec & Doc, Dunod*. Paris. 90-292.

H

Haddie J.M., 1986. Other streptococci. *In* : Bergey's manual of systematic bacteriology (Sneath P.H.A., Mair N.S., Sharpe M.E., Holt J.G.W. et Baltimore W.). 1 : 1070.

Hadef, S., 2012. Evaluation des aptitudes technologiques et probiotiques des bactéries lactiques locales. Mémoire de magister : microbiologie appliquée. Ouargla : Université Kasdi Merbah, 135p.

Haenlein, G.F.W., et Wendorff, W.L., 2006. Sheep milk. in Handbook of milk of non-bovine mammals. pp137-194, eds Park et Haenlein. Blackwell Publishing Professional.

Hassaine, O., 2013. Caractéristiques d'intérêt technologique de souches de bactéries lactiques isolées de lait camelin du sud Algérien. Thèse de doctorat : microbiologie appliquée. Oran : Université d'Oran – Es-Senia, 180p.

Hassan A.N. et Frank J.F., 2001. Starter Cultures and their use. *In*: Applied Dairy Microbiology (Marth E.H. et Steele J.L.) 2e Ed., *Marcel Dekker, Inc.* New York. 151-205.

Ho T.N.T., N. Tuan N., Deschamps A. et Caubet R., 2007. Isolation and identification of lactic acid bacteria (LAB) of the Nem Chua fermented meat product of Vietnam. *Int. Workshop on Food Safety and Processing Technology*. 134-142.

Holzappel, W.H., Haberer, P., Geisen, R., Bjorkroth, J. et Schillinger, U., 2001. Taxonomy and important feature of probiotic microorganisms in food and nutrition. *Am J Clin Nutri*. 73: 3655-3735.

I

Idoui T., Boudjerda J., Leghouchi E. et Karam N.E., 2009. Lactic acid bacteria from “Sheep’s Dhan”, a traditional butter from sheep’s milk: Isolation, identification and major technological traits. *Gr. Y. Aceites*. 60 (2) : 177-183.

J

Jaubert, G., 1997. Biochemical characteristics and quality of goat milk. CHEAM. Option Méditerranéennes. 25: 71-74.

K

Kacem M., 2005 : Bactéries lactiques d’Algérie: Isolement, identification et caractéristiques technologiques. Bactériocines produites par *Lc. lactis* et *Lb. plantarum*. *Thèse de Doctorat d’Etat*. Université d’Oran.

Khalid N.M. et Marth E.H., 1990. Lactobacilli, their enzymes and role. In: Ripening and spoilage of cheese. *Rev. Dairy Sci*. 73 : 158-167.

L

Labioui H., Elmoualdi L., El Yachioui M. et Ouhssine M., 2005. Sélection de souches de bactéries lactiques antibactériennes. *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*. 144 : 237-250.
lactobacillus sp. TGR-2 isolated from *Growol*. *Indonesian Food Nutr. Prog.* 3(2) : 29-34.

Lahsaoui,S., 2009. Etude du procédé de fabrication d'un produit laitier traditionnel algérien (Kilila). Thèse. Département d'Agronomie. Université de Batna. Algérie.

Lamoureux L., 2000. Exploitation de l'activité β -galactosidase de cultures de bifidobactéries en vue d'enrichir des produits laitiers en galacto-oligosaccharides. *National Library of Canada*. 23-47.

Lancefield R.C., 1933. A serological differentiation of human and other groups of hemolytic streptococci. *J. Exp. Med.* 57: 571–595.

Larpent, J. P., 1991 :Les ferments microbiens dans les industries agro-alimentaires: (produits laitiers et carnés). *Technique & documentation, Lavoisier, Paris*, 241p.

Law J. et Kolstad A. 1988. Proteolysis in relation to normal and accelerated cheese ripening. *Appl. Sci.* 1: 365-365.

Leclerc H., Gaillard F L. et Simonet M., 1994. Les grands groupes de bactéries. *In* Microbiologie générale : la bactérie et le monde microbien. *DOIN*. Paris. 445.

Leroy S., Lebert I., Chacornac J.P., Chevalier I. et Talon R., 2007. Identification et caractérisation de la flore d'intérêt technologique : bactéries lactiques et staphylocoques à coagulase négative. *Sci. Tec. V. Prod. Carnés.* 25 (5) : 172.

Leveau J.Y., Bouix, M. et De Roissart H.B., 1991. La flore lactique : technique d'analyse et de contrôle dans les industries agro alimentaires. *2e Ed., Tec & Doc, Lavoisier*. Paris. 3 : 2-40.

Leveau, J. V., Bouix, M. & De Roissart. H., 1991. Techniques d'analyses et de contrôle dans les industries agro-alimentaires: le contrôle micro biologique, *2^{eme} édition, Techniques & documentation, Lavoisier, Paris*,pp. 125-183.

M

Maghnia, D., 2011. Etude de potentiel technologique des bactéries lactiques isolées des aliments ferments traditionnels algériens. Mémoire de magister : microbiologie alimentaire. Oran : Université d'Oran - Es-Senia, 125p.

Mahé, S., Marteau, P., Huneau, J. F., Thuillier, F., and Tomé, D. 1994. Intestinal nitrogen and electrolyte movements following fermented milk ingestion in man. *Br J Nutr* 71, 169-180.

Makhloufi .K. M., 2012. Caractérisation d'une bactériocine produite par une bactérie lactique *Leuconostoc pseudomesenteroides* isolée du boza. Thèse de doctorat de l'université pierre et marie curie. Spécialité : microbiologie, biochimie (école doctorale iviv).

Mami, A., 2013. Recherche des bactéries lactiques productrices de bactériocines à large spectre d'action vis-à-vis des germes impliqués dans les toxi-infections alimentaires en Algérie. Thèse de doctorat : microbiologie appliquée. Oran, Université d'Oran, 176p.

Mäyrä-Mäkinen A. et Bigret M., 2004. Industrial use and production of lactic acid bacteria. *In* : Lactic acid bacteria: microbiology and functional aspects (Salminen S., Wright A.V. et Ouwehand A.). 3e Ed., Marcel Dekker, Inc. New York. 73-102.

Mechai, A. 1999 : le système protéolytique des bactéries lactiques : thèse de Magister, univéristé de Badji-Mokhtar. Annaba. 198pp.

Mechai, A., 2009. Isolement, caractérisation et purification de bactériocines produites par des bactéries lactiques autochtones: études physiologiques et biochimiques. Thèse de doctorat : biochimie. Annaba : Université Badji-Mokhtar, 186 p.

Mechai, A., Debabza, M., et Kirane, D. (2014). Screening of Technological and Probiotic Properties of Lactic Acid Bacteria Isolated from Algerian Traditional Fermented Milk Products. *International Food Research Journal*, 21(6): 2451-2457.

Millette M., Luquet F.M. et Ruiz M.T., 2008. Characterization of probiotic properties of *Lctobacillus* strains.*Dairy Sci. Technol.* 88 : 695-705.

Monnet V., Latrille E., Béal C. et Corrieu G., 2008. Croissance et propriétés fonctionnelles des bactéries lactiques. *In* : Bactéries lactiques de la génétique aux ferments (Corrieu G. et Luquet F.M.). *Tec & Doc, Lavoisier*. Paris. 512-592.

Morgan,F., Bodin,J.P.,et Gaborit,P., 2001. Lien entre le niveau de lipolyse du lait de chèvre et la qualité sensorielle des fromages au lait cru ou pasteurisé. *Lait* 81: 743-756.

N

Nouani, A., Dako, E., Morsli, A., Belhamiche, N., Belbraouet,S . , Bellal, M.M., et Dadie, A., 2009. Characterization of the purified coaguland extracts derived from artichoke flowers (*Cynara scolymus*) and from the fig tree latex (*Ficus carica*) in light of their use in the

manufacture of traditional cheeses in Algeria. *International Journal of Food Technology* 7: 20-29.

O

Ogier J.C., Casalta E., Farrokh C. et Saïhi A., 2008. Safety assessment of dairy microorganisms : The *Leuconostoc* genus. *Int. J. Food Microbiol.* 126 : 286-290.

Ogunbanwo S.T., Sanni A.I., et Onilude A.A., 2003. Characterization of bacteriocin produced by *Lactobacillus plantarum* F1 and *Lactobacillus brevis* OG1. *African.J. Biotechnol.* 2 (8) : 219-227.

Onda T., Yanagida F., Tsuji M., Shinohara T. et Yokotsuka K., 2003. Production and purification of a bacteriocin peptide produced by *Lactococcus* sp. strain GM005, isolated from Miso-paste. *Int. J. Food Microbiol.* 87 (1-2) : 153-159.

P

Parente E. & Ricciardi A., 1999. Production, recovery and purification of bacteriocins from lactic acid bacteria. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 52, 628-638.

Percival M., 1997. Choosing a probiotic supplement. *Clin.Nutr.Insights.* 6(1): 95-100.

Piard J.C et Desmazaud M., 1991. Inhibiting factors produced by Lactic acid bacteria. Oxygen metabolites and catabolism end-products. *Lait.* P: 525-541.

Pilet M.F., Magras C., Federighi M., 1998. Bactéries lactiques. *In* : Manuel de bactériologie alimentaire (Sutra L., Federighi M., Jouve J.L.). *Polytechnica.* Paris. 235-260.

Pilet M.F., Magras C., Federighi M., 1998. Bactéries lactiques. *In* : Manuel de bactériologie alimentaire (Sutra L., Federighi M., Jouve J.L.). *Polytechnica.* Paris. 235-260.

Pot B., 2008. The taxonomy of lactic acid bacteria. *In* : Bactéries lactiques de la génétique aux ferments (Corrieu G. et Luquet F.M.). *Tec & Doc, Lavoisier.* Paris.1-106.

Pot B., Devriese L.A., Uris D., Vandamme P., Haesebrouck F. et Kersters K., 1996. Phenotypic identification and differentiation of *Lactococcus* strains isolated from animals. *Syst. Appl. Microbiol.* 19 : 213-222.

R

Rezgui, B. Zoghalmi, T., 2014 : Etude des propriétés technologiques et probiotiques des souches de bactéries lactiques autochtones isolées de produits laitiers fermentés (région est algérien). Mémoire de Master. Université de Tebessa. 115pp.

Rodgers, S., 2001. Preserving non-fermented refrigerated foods with microbial cultures. *Trends Food Sci. Technol.* 12: 276-284.

Roudj S., Belkheir K., Zadi-Karam H. et Karam N.E., 2009. Protéolyse et autolyse chez deux lactobacilles isolés de lait camelin du Sud Ouest Algérien. *European. J. Sci. Res.* 34 (2) : 218-227.

S

Saarela M., Mogensen G., Fondén R., Matto J., et Mattila-Sandholm T., 2000. Probiotic bacteria: safety, functional and technological properties. *J. Biotechnol.* 84 : 197-215.

Saidi Nouredine., 2005. La microflore lactique du lait cru de chèvre local : études, microbiologique, biochimique et génétique des bactéries lactiques d'intérêt bio-préservateur. Thèse de Doctorat. Université d'Oran. 216 p.

Salminen S., Ouwehand A. et von Wright A., 2004. Lactic Acid Bacteria: Microbial and Functional Aspects, 3rd ed. *Marcel Dekker*. New York. P 375-395.

Samet-Bali, O., Bellilan, A., Ayadi, M.A., Marzouk, B., et Attia, H., 2010. A comparison of the physicochemical, microbiological and aromatic composition of traditional and industrial *Leben* in Tunisia. *International Journal of Dairy Technology* 63: 98–104.

Schleifer, K. H. et Kilpper-Balz, R., 1987. Molecular and chromotaxonomic approaches to the classification of *Sreptococci*, *Enterococci* and *Lactococci*. *Rev. Sys. Appl. Microbiol.*, 10 : 1-19.

Schmidt, H., Plaschke, B., Franke, S., Russmann, H., Schwarzkopf, A., Heesemann, J. & Karch, H., 1994a. Differentiation in virulence patterns of *Escherichia coli* possessing eae genes. *Med Microbiol Immunol* 183, 23- 31.

Schmidt, J., Tourneur, C. & Lenoir, J., 1994b. Fonctions et choix des bactéries lactiques en technologies laitières. In *Bactéries lactiques: aspects fondamentaux et technologiques*, pp. 37-54. Edited by H. De Roissart & F. Luquet. Paris, France: Lorica, Uriage.

Serhan M., Linder M., Hosri C. et Fanni J., 2008. Physic-chemical modifications and evolution of lipolysis and proteolysis during ripening of traditional Lebanese Darfiyeh cheese. *J. Dairy Res.* 88 : 1123-1130.

Sneath P.H.A., Mair N.S., Sharpe M.E. et Holt J.G., 1986. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, vol. 2. Baltimore: Williams & Wilkins.

Stiles, M.E. et Holzapfel, E.H., 1997. Lactic acid bacteria of foods and their current applications and effects. *Meat Sci.* 65: 935-948.

T

Tagg, J. R., Dajani, A. S., & Wannamaker, L. W., 1976. Bacteriocins of Gram-positive bacteria. *Bacteriological Reviews*, 40, 722–726.

Tamime A.Y., 2002. Microbiology of starter cultures. In: *Dairy microbiology handbook* (Robinson R.K.). 3e Ed., John Wiley and Sons, Inc., New York. 261-366.

Tantaoui El Araki, A., et El Marrakchi, A., 1987. Study of Moroccan dairy products *Lben* and *smen*. *Journal of Applied Microbiology* 3: 211-220.

Technique laitière, 9 (76): 11-18.

Thompson J., Gentry-Weeks C.R., 1994. Métabolisme des sucres par les bactéries lactiques. In : *Bactéries lactiques* (De Roissart H. et Luquet F.M.). *Lorica, Uriage*. 1 : 239-290.

Tosukhowong A., Nakayama J., Mizunoe Y., Sugimoto S., Fukuda D. et Sonomoto K., 2005. Reconstitution and function of *Tetragenococcus halophila* chaperonin 60 tetradecamer. *J. Biosci. Bioengin.* 99 : 30-37.

V

Vuillemard J.C., 1986. Microbiologie des aliments. Evolution de l'activité protéolytique des bactéries lactiques. *Tec & Doc, Lavoisier*. Paris. 3 : 1-65.

Z

Zadi-Karam H., 1998 : Bactéries lactiques de lait de *Camelus dromadarius* : Etude microbiologique et biochimique, caractéristiques technologiques. Elaboration de ferments lactiques mésophiles et fabrication de fromages. *Thèse de Doctorat d'Etat Université de Constantine*. 189p.

GLOSSAIRE

Glossaire

Acétoïne : c'est une molécule utilisée comme agent de saveur pour des préparations alimentaires et en parfumerie.

Acide folique : l'acide folique ou la vitamine B9 (également appelé folates) c'est une vitamine essentielle au renouvellement cellulaire ainsi qu'au développement du fœtus en cas de grossesse.

Acidification : l'acidification est une étape essentielle de la fabrication des produits laitiers, qui conduit à la coagulation acide des protéines du produit. Elle est obtenue par l'action des bactéries lactiques ou par l'addition directe d'un acidifiant.

Activité inhibitrice : l'inhibition est le ralentissement ou l'arrêt d'un mécanisme. Elle se fait sous l'effet d'un inhibiteur. L'inhibition désigne également l'affaiblissement, le blocage (annulation) d'une activité par une autre.

Aéro/anaérobie facultative : un organisme aéro-anaérobie désigne des micro-organismes, essentiellement des bactéries, vivants indifféremment en présence (respiration aérobie) ou en absence (respiration anaérobie) d'oxygène.

β-carotène : le β-carotène est la forme de carotène la plus répandue.

Bactériocine : protéine produite par une souche bactérienne qui tue d'autres souches de bactéries, habituellement étroitement apparentées.

Bio-conservation/bio-préservation : une technologie de conservation consistant à ajouter dans des aliments généralement conditionnés sous vide ou sous atmosphère protectrice des micro-organismes sélectionnés pour leurs capacités à inhiber la croissance de microorganismes indésirables.

Biotine : vitamine hydrosoluble du groupe B, existant en très petite quantité dans toutes les cellules.

Caséine : des protéines qui constituent la majeure partie des composants azotés du lait. La première phase de la fabrication du fromage est leur précipitation par adjonction d'un acide ou de présure. Le mot caséine est issu du latin caseus, « fromage ».

Catalase : enzyme capable de décomposer l'eau oxygénée en entraînant un dégagement d'oxygène; caractère biochimique permettant l'identification des souches bactériennes.

Chimiotaxonomie : établir des rapports entre la composition chimique des espèces vivantes et leur classification systématique (taxonomie)

Coque lenticulaire : forme de coque qui semble à une lentille.

Corpuscule métachromatique : organe anatomique globuleux et de taille réduite, qui a la propriété à modifier leur couleur naturelle à l'aide d'un colorant.

Culture jeune : une culture nouvelle.

Détoxication des cellules : divers phénomènes d'excrétion des molécules toxiques de l'intérieur des cellules.

Dextrane : un polymère ramifié de dextrose (glucose) de masse moléculaire très élevée, appartenant au groupe des colloïdes.

Diacétyl : une cétone liquide, volatile, jaune, à odeur de fromage ou, suivant la concentration, de transpiration fermentée (pieds sales, aisselles).

Dilution décimale : dilution au 1/10.

Electrophorèse en champs pulsé (PFGE) : technique d'électrophorèse classique en gel d'agarose ou de polyacrylamide permet de séparer des fragments d'ADN suivant leur taille. L'électrophorèse en champ électrique pulsé a permis de résoudre ce problème, en utilisant un champ électrique discontinu ou bien en modifiant périodiquement la direction du champ

Enrichissement : devenir plus riche par l'addition de nouveaux éléments.

Esculine : glucoside extrait de l'écorce du marronnier d'Inde, à action vitaminique P

Filtration sélective : un procédé de séparation physique se déroulant en phase liquide. Le but est de purifier, fractionner ou concentrer des espèces dissoutes ou en suspension dans un solvant au travers d'une membrane.

Flagelle péritriche : Le flagelle est généralement une structure assurant la mobilité d'une cellule des flagelles péritriche sont des flagelles entourant la cellule (déplacement fléchant hélicoïdal)

Hémolytique : l'hémolyse est la destruction des globules rouges (GR) libérant l'hémoglobine (Hb) dans le plasma sanguin. C'est un état physiologique normal

Hétérofermentaire: une voie qui produise outre l'acide lactique, des quantités significatives de CO₂ et d'éthanol ou d'acétate

Homofermentaire : voie qui utilise la glycolyse dans sa totalité, du glucose au pyruvate puis lactate. En condition optimale de croissance, cette voie produit deux molécules de lactate et deux molécules d'ATP par molécule de glucose consommée.

Lactoferrine : parfois dite « LF » est une glycoprotéine de la famille des transferrines qui se lie au fer et a des effets bactériostatiques et bactéricides.

Lactosérum : également appelé petit-lait ou sérum, est la partie liquide issue de la coagulation du lait. Le lactosérum est un liquide jaune-verdâtre.

Levain : le levain naturel (ou levain sauvage ou indigène) se caractérise par une flore microbienne complexe, principalement composée de bactéries lactiques mais également de levures et de moisissures.

Lipolyse : destruction des graisses, dans un organisme (opposé à lipogénèse).

Mésophile : micro-organisme ayant un optimum de croissance entre 20 et 45°C.

Méthode de diffusion en puits : une des méthodes utilisées dans le test antimicrobien 'in vitro'.

Milieu synthétique : un milieu chez lequel on a minimisé le nombre de composants chimiques afin de répondre aux exigences de culture des micro-organismes étudiés mais au plus juste.

Phase aqueuse : en chimie, une solution aqueuse est une phase liquide contenant plusieurs espèces chimiques, dont une ultramajoritaire, l'eau (H₂O, le solvant), et des espèces ultraminoritaires, les solutés ou « espèces chimiques dissoutes ».

Phylogénie : la phylogénie correspond à l'étude des liens existant entre espèces apparentées. Grâce à elle, il est possible de retracer les principales étapes de l'évolution

Potentiel probiotique : (en anglais, *probiotics* ou *PBX*) sont des micro-organismes vivants (bactéries ou levures), ajoutés comme compléments à certains produits alimentaires, et ingérés en quantité adéquate, sont censés conférer un bénéfice en matière de santé à l'hôte sain.

Potentiel technologique : le potentiel technologique s'entend comme l'évaluation des capacités des micro-organismes vivants (bactéries ou levures) d'innovation et de recherche et développement de l'aliment par leurs aptitudes acidifiantes, lipolytiques, protéolytiques, texturantes, aromatisantes, antimicrobiennes...

Probiotique : aliment contient des micro-organismes vivants (bactéries, levures...) exerçant un effet bénéfique sur l'organisme qui les ingère.

Protéolyse : Hydrolyse des protéines au cours des processus métaboliques sous l'effet d'enzymes.

Pseudo-catalase : Une oxydoréductase qui catalyse la conversion du peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène. Il est présent dans de nombreuses cellules animales. Une déficience de cette enzyme entraîne acatalasia.

Repiquage : Action qui consiste à repiquer des cellules bactériennes, fongiques ou parasitaires d'un milieu dans un autre.

REP-PCR: REP (pour Repetitive Extragenic Palindromic element). PCR est un sigle qui peut désigner : Réaction en chaîne par polymérase (de l'anglais polymerase chain reaction).

RFLP : RFLP est l'abréviation de l'expression anglaise: Restriction Fragment Length Polymorphism, une spécificité du polymorphisme, qui se traduit en français par polymorphisme de taille des fragments de restriction

Rhéologie : branche de la mécanique qui étudie la résistance des matériaux aux contraintes et aux déformations.

Sels biliaires : composés dérivés du cholestérol qui possèdent un groupement carboxyle sur leur chaîne latérale, Ils contribuent à la digestion des graisses.

Streptocoque oral : streptocoques oraux (commensaux de l'oro-pharynx) et streptocoques du groupe D (commensaux de l'intestin). Dans certaines circonstances ces bactéries commensales deviennent pathogènes opportunistes et peuvent être responsables d'infections, notamment de septicémies ou d'endocardites.

Streptocoque pyogène : également appelée **streptocoque** du groupe A, est une bactérie appartenant au genre *Streptococcus*. Il s'agit de cocci à Gram positif se présentant sous forme de chaînette

Synérèse : contraction spontanée des particules d'un gel qui se traduit généralement par la diminution du volume de la masse solide et l'expulsion progressive du liquide de constitution

Taxon : groupe dans lequel des organismes apparentés sont classés.

Technologie alimentaire : la technologie de l'alimentation est l'application de la science alimentaire et des techniques scientifiques à la sélection, la conservation, la transformation, le conditionnement, la distribution et l'utilisation des aliments en vue d'une alimentation saine et équilibrée, de bonne valeur nutritionnelle et qualité.

Transit digestif : le passage des aliments dans les voies intestinales. À la sortie de l'estomac, les aliments forment une sorte de bouillie appelée chyme qui passe le pylore pour entrer dans le duodénum. La digestion chimique se poursuit dans l'intestin grâce aux sucs biliaires, pancréatiques et intestinaux.

Typage moléculaire : classification et catégorisation moléculaire.

Volutine : un composé cristallin phosphaté (orthophosphate polymérisé, polyphosphate) contenu dans le chromoplasma (cytoplasme). Un grain de volutine contient un ensemble de granules métachromatiques.

Xanthine : base organique dérivée de la purine et qui donne sa couleur jaune à l'urine.

Zone d'inhibition : une zone où la souche microbienne ne peut pas se croître.

ANNEXES

Liste des annexes

❖ Composition des milieux de culture

• Milieu M17 (Conda®)

- Glycérophosphate de sodium.....19 g
 - Peptone de soja.....5 g
 - Extrait de bœuf.....5 g
 - Lactose.....5 g
 - Viande peptone.....2,5 g
 - Caséine peptone.....2,5 g
 - Extrait de levure.....2,5 g
 - Acide ascorbique.....0,5 g
 - Sulfate de magnésium.....0,25 g
 - Agar bactériologique.....12,25 g
- Autoclavage 121°C, 15 min.

• Milieu MRS Agar « Man-Rogosa-Sharp » (Conda®)

- Dextrose.....20 g
 - Peptone bactériologique.....10 g
 - Extrait de bœuf.....8 g
 - Acétate de sodium.....5 g
 - Extrait de levure.....4 g
 - Phosphate Dipotase.....2 g
 - Citrate d'ammonium.....2 g
 - Tween 80.....1 g
 - Sulfate de magnésium.....0,2 g
 - Manganèse sulfate.....0,25 g
 - Agar bactériologique.....10 g
- Autoclavage 121°C, 12 min.

- **MRS « Man-Rogosa-Sharp » Bouillon (Conda®)**

- Dextrose.....20 g
 - Peptone bactériologique.....10 g
 - Extrait de bœuf.....8 g
 - Acétate de sodium.....5 g
 - Extrait de levure.....4 g
 - Phosphate Dipotase.....2 g
 - Citrate d'ammonium.....2 g
 - Tween 80.....1 g
 - Sulfate de magnésium.....0,2 g
 - Manganèse sulfate.....0,25 g
- Autoclavage 121°C, 15 min.

- **Milieu Mueller Hinton Agar (Conda®)**

- Caséine acide peptone (H).....17,5 g
 - Amidon.....1,5 g
 - Infusion de bœuf.....2 g
 - Gélose bactériologique.....17 g
- Autoclavage 121°C, 12 min.

- **Gélose nutritif (Liofilchem ®)**

- Extrait de bœuf.....1 g
 - Extrait de levure.....2 g
 - Peptone.....5,0 g
 - Chlorure de sodium.....5,0 g
 - Agar.....15 g
- pH 6,8 ± 0,2 à 25°C.
- Autoclavage 121°C, 15 min.

- **Bouillon nutritif (Conda®)**

- Extrait de bœuf.....1 g
- Extrait de levure.....2 g
- Peptone.....5,0 g
- Chlorure de sodium.....5,0 g

⇒ pH $6,8 \pm 0,2$ à 25°C.

⇒ Autoclavage 121°C, 15 min.

- **Eau physiologique**

- Chlorure de sodium.....8,5 g
- Peptone.....0,5 g
- Eau distillée.....(quantité suffisante pour 1000 ml)

➤ pH = 7.

➤ Autoclavage : 120°C, 20 min.

- ❖ **Matériel non biologique et appareillage**

- Bec bunsen,
- Stérilisateur,
- Etuve,
- Centrifugeuse,
- pH mètre,
- Balance,
- Vortex,
- Verrerie (tubes à essai, fiole, erlenmeyer, bécher à 50 ml, bécher à 500 ml, flacons à 250 ml, pipettes graduées à 10 ml, tubes en verre)
- Jar d'anaérobiose,
- Micropipette (à 5 ml, à 1 ml, à 200 µl).

- ❖ **Coloration de Gram**

Un frottis fixé à la chaleur est coloré pendant une minute au *violet de cristal*; il est ensuite rincé rapidement à l'eau distillée, traité pendant une minute par une solution de *Lugol*, et de nouveau rincé rapidement à l'eau distillée. On soumet alors le frottis coloré à une étape de décoloration en le traitant avec l'éthanol 95%. Il s'agit de l'étape critique: la lame est maintenue

inclinée et en fait couler le solvant sur le frottis pendant 15 à 30 secondes seulement jusqu'à ce que le colorant cesse de s'échapper librement du frottis. Celui-ci est alors immédiatement rincé à l'eau distillée. À ce stade les cellules Gram- seront incolores, les cellules Gram+ violettes. On soumet ensuite le frottis à une contre coloration de 10 à 30 secondes à la *fushine* (ou *safranine*) pour colorer les cellules Gram- présentes. Après un bref rinçage à l'eau distillée, on sèche le frottis au buvard ou au-dessus de la flamme d'un bec Bunsen et on l'examine à l'objectif (X 100) à immersion. Avec cette coloration double, les bactéries « Gram-positif » apparaissent en violet foncé tandis que les bactéries « Gram-négatif » sont colorées en rose ou en rouge **(Benreguiég, 2015)**.



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Université Laarbi Tébessi – Tébessa

Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie

DECLARATION SUR L'HONNEUR DE LA RECTIFICATION DU MEMOIRE

Nous, soussignées,

Noms et prénom :

- MECHERI Fadhila.....
- AZZOUZI Imène.....
- KHENOUF Fella.....

Régulièrement inscrites en **master** au département de **Biologie Appliquée**

Année universitaire : **2018/2019**.

- Domaine : **Sciences de la Nature et de la Vie**
- Filière : **Sciences biologiques**
- Spécialité : **Microbiologie appliquée**

Intitulé du mémoire : **Etude du Potentiel Probiotique et Technologique des Bactéries Lactiques Autochtones.**

Attestons que notre mémoire a été corrigé dans sa totalité. Nous certifions également que toutes les fautes signalées par l'examineur et le président du jury lors de leur évaluation de ce travail ont été rectifiées.

Sous la direction du Promoteur :

Fait à Tébessa, le : 25/06/19

Dr. MECHAI Abdelbasset



Université Larbi Tébessi - Tébessa



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Larbi Tébessi - Tébessa
Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie

Déclaration sur l'honneur de non-plagiat
(à Joindre obligatoirement au mémoire, remplie et signée)

Je soussigné(e),

Nom, Prénom : MECHERI Fadila

Régulièrement inscrit(e) en Master au département : Biologie appliquée

N° de carte d'étudiant : 34.01.68.09

Année universitaire : 2018 / 2019

Domaine : Sciences de la nature et de la vie

Filière : Sciences biologiques

Spécialité : Microbiologie appliquée

Intitulé du mémoire : Etude du potentiel probiotique et technologique
des bactéries lactiques autochtones

Atteste que mon mémoire est un travail original et que toutes les sources utilisées ont été indiquées dans leur totalité. Je certifie également que je n'ai ni recopié ni utilisé des idées ou des formulations tirées d'un ouvrage, article ou mémoire, en version imprimée ou électronique, sans mentionner précisément leur origine et que les citations intégrales sont signalées entre guillemets.

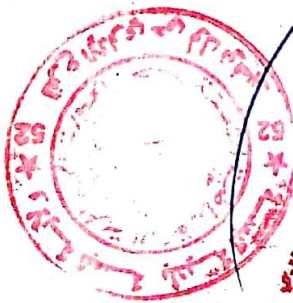
Sanctions en cas de plagiat prouvé :

L'étudiant sera convoqué devant le conseil de discipline, les sanctions prévues selon la gravité du plagiat sont :

- L'annulation du mémoire avec possibilité de le refaire sur un sujet différent ;
- L'exclusion d'une année du master ;
- L'exclusion définitive.

Fait à Tébessa, le : 10.06.19

Signature de l'étudiant(e) :



06 مارس 2019
مختار زبون المصطفى اللادي
مختار زبون المصطفى اللادي
مختار زبون المصطفى اللادي
مختار زبون المصطفى اللادي



Université Larbi Tébessi - Tébessa

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Larbi Tébessi - Tébessa
Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie

Déclaration sur l'honneur de non-plagiat
(à joindre obligatoirement au mémoire, remplie et signée)

Je soussigné(e),

Nom, Prénom : ARZOUKI IMENE

Régulièrement inscrit(e) en Master au département : Biologie appliquée

N° de carte d'étudiant : 14/134021503/2014

Année universitaire : 2018/2019

Domaine : Sciences de la nature et de la vie

Filière : Sciences appliquées

Spécialité : Microbiologie appliquée

Intitulé du mémoire :

Etude de potentiel probiotique et technobiotique des bactéries lactiques

Atteste que mon mémoire est un travail original et que toutes les sources utilisées ont été indiquées dans leur totalité. Je certifie également que je n'ai ni recopié ni utilisé des idées ou des formulations tirées d'un ouvrage, article ou mémoire, en version imprimée ou électronique, sans mentionner précisément leur origine et que les citations intégrales sont signalées entre guillemets.

Sanctions en cas de plagiat prouvé :

L'étudiant sera convoqué devant le conseil de discipline, les sanctions prévues selon la gravité du plagiat sont :

- L'annulation du mémoire avec possibilité de le refaire sur un sujet différent ;
- L'exclusion d'une année du master ;
- L'exclusion définitive.



06 مارس 2019
علاء الدين المصطفى
ويلى كريفيل
عضء المسيد: زياتي الهادي
عن مكان

Fait à Tébessa, le : 10/6/2019

Signature de l'étudiant(e) :

(Handwritten signature)



Déclaration sur l'honneur de non-plagiat
(à joindre obligatoirement au mémoire, remplie et signée)

Je soussigné(e),

Nom, Prénom : Khenaouf Fella

Régulièrement inscrit(e) en Master au département : de Biologie Appliquée

N° de carte d'étudiant : 340.1.4.6.23

Année universitaire : 2018/2019

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Microbiologie Appliquée

Intitulé du mémoire :

Etude du potentiel probiotique et Technologique
des Bactéries lactiques Autochtones

Atteste que mon mémoire est un travail original et que toutes les sources utilisées ont été indiquées dans leur totalité. Je certifie également que je n'ai ni recopié ni utilisé des idées ou des formulations tirées d'un ouvrage, article ou mémoire, en version imprimée ou électronique, sans mentionner précisément leur origine et que les citations intégrales sont signalées entre guillemets.

Sanctions en cas de plagiat prouvé :

L'étudiant sera convoqué devant le conseil de discipline, les sanctions prévues selon la gravité du plagiat sont :

- L'annulation du mémoire avec possibilité de le refaire sur un sujet différent ;
- L'exclusion d'une année du master ;
- L'exclusion définitive.

Fait à Tébessa, le : 10/06/2019

Signature de l'étudiant(e) :



