



DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par

M^{elle} LIDRICI NARIMANE

M^{elle} BELMADI ASMAA

Pour l'obtention du diplôme de

MASTER EN BIOLOGIE

Spécialité: Microbiologie fondamentale

THÈME

**Isolement et caractérisation des bactéries
lactiques à partir du smen traditionnel
Algérien**

DEVANT LE JURY

Mme. CHOUGRANI Fadela	Professeur	Université de Mostaganem	Président
Mr. CHERIGUENE Abderrahim	Professeur	Université de Mostaganem	Encadreur
Mr. ZABOURI Younes	MAA	Université de Mostaganem	Examineur

Année universitaire : 2019 -2020

{بِسْمِ اللّٰهِ الرَّحْمٰنِ الرَّحِیْمِ}

".....نَرْفَعُ دَرَجَاتٍ مِّنْ نَّشَأٍ وَفَوْقَ كُلِّ ذِي

عِلْمٍ عَلِيمٌ....."

(سورة يوسف/الآية 76)

Remerciement

Au début et avant tout, le remerciement et louange à Dieu le tout puissant, de nous avoir donné le courage, la santé, la volonté et la patience pour achever ce modeste travail.

Nos sincères remerciements et notre profonde gratitude s'adressent à notre encadreur

M^rCHERIGUENE Abderrahim, qui a accepté nous encadrer.

On remercie infiniment M^{lle}BOUCHIBANE Malika notre Co-encadreur pour sa grande patience, ses encouragements, son aide et ses conseils judicieux, durant la réalisation du présent travail.

Nous remercions les membres du jury qui ont bien voulu accepter de juger notre modeste travail et de nous honorer : Présidente : Mme. CHOUGRANI Fadela et Examineur : Mr. ZABOURI Younes.

Nous tenons à remercier l'ensemble du personnel travaillant au laboratoire de Microbiologie, au personnel de notre faculté, du directeur jusqu'au les agents de sécurité.

Nos plus vifs remerciements à nos parents, nos familles, et nos amies.

Enfin nous adressons nos sincères remerciements à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail

MERCI

NARIMANE & ASMAA

Dédicaces

Louange à Dieu, le tout puissant qui m'a donné la force et le courage d'avoir accomplir ce travail, dédier à :

A mes très chers parents : Mohamed et Aichasource de mon bonheur : Je vous remercie du fond du cœur pour tout le soutien, tout l'amour, tous les conseils et toute la patience dont vous avez fait preuve durant mes études. Merci beaucoup ma mère et mon père, je vous aime beaucoup et Alahykhalikomeliya.

A mes frères: Mohamed Said, Linda, Sabrina, Meryem, Razika, Abd Elrazak, Abd Elsater

Avoir des frères c'est un cadeau pour le cœur ! Merci pour votre amour, votre soutien infaillible. Je vous remercie, pour votre support d'encouragements. Que Dieu les gardes pour moi.

A mon cher grand père, Alahyrahmo

A ma chère grand-mère, Merci d'être toujours à mes côtés et votre grand amour pour moi .que dieu lui donne une longue vie.

A mes chères amies: Hayat, Asmaa, Khadra et Nassima. Merci pour tous les bons moments que nous avons partagés.

A ma famille Lidrici et surtout mon oncle Ahmed. Merci pour votre soutien sans faille.

A mon binôme et chère amie Asmaa, avec qui j'ai partagé des moments difficiles et des moments agréables le long de ce travail.

A mes collègues : Asmaa, Wafaa, Sara, Zahra, Merci pour votre patience avec moi et pour votre gentillesse à toute épreuve.

A tous mes proches et tout qui me connais.

Enfin à tous ceux qui aiment la science et la recherche.



Nary

Dédicace

Avant toute chose je tiens à remercier Dieu le plus puissant pour m'avoir donnée la force afin de réaliser ce travail que je dédie particulièrement à :

Mon cher papa

A celui qui m'a toujours encouragé et soutenu durant toutes mes années d'étude, merci pour ton amour et la confiance totale

A ma chère maman

A celle qui matant bercer, tant donné et tant enseigné, toi qui m'a guidé dans le droit chemin, toi qui m'as appris que rien n'est impossible

A

Mon frère Amar

A

*Mes chères sœurs : **Fouzia, Naima, Fatima, Rahma, Nourelhoda, Malika***

A

Mes chères amies : Malika Belmadi, Narimane Lidrici, somia Ali cherif, Ahlem Ali chirif, Malika Zbalah, Malika Smail, Wassila cherif, hayat Ikhlef pour tous les bons moments que nous avons partagés

A

Tous mes enseignants

A

Tous ceux qui sont chers et que j'ai omis involontairement de citer.



Asmaa

Table de matière

Liste des principales abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Résumé

Abstract

ملخص

Introduction01

Partie I : Rappels bibliographiques

I. Les bactéries lactiques.....03

I.1 Définition des bactéries lactiques.....03

I.2 Principales caractéristiques.....04

I.3 Origine et habitat.....04

I.4 Taxonomie et classification04

I.5 Caractéristiques des principaux genres des bactéries lactiques.....05

I.5.1 Le genre *Lactobacillus*.....05

I.5.2 Le genre *Carnobacterium*.....05

I.5.3 Le genre *Lactococcus*.....06

I.5.4 Les genres *Streptococcus* et *Enterococcus*.....06

I.5.5 Les genres *Pediococcus* et *Tetragenococcus*.....07

I.5.6 Le genre <i>Leuconostoc</i>	07
I.5.7 Le genre <i>Weissella</i>	07
I.5.8 Le genre <i>Oenococcus</i>	07
I.5.9 Le genre <i>Bifidobacterium</i>	08
I.6 Métabolisme de bactéries lactiques.....	08
I.6.1 Métabolisme du sucre.....	08
I.6.1.1 La fermentation homolactique.....	08
I.6.1.2 La fermentation hétérolactique.....	09
I.6.2 Le métabolisme du citrate.....	11
I.7 Les aptitudes technologiques.....	13
I.7.1. Activité acidifiante.....	13
I.7.2. Activité protéolytique.....	13
I.7.3. Activité lipolytique.....	13
I.7.4 Activité aromatisant.....	14
I.8. Application industrielles des bactéries lactiques.....	14
I.8.1. Dans le domaine alimentaire.....	14
I.8.2. Dans le domaine de santé.....	15
II. Smen	16
II.1. Définition.....	16
II.2. Procédé de préparation du Smen.....	17
II.3. Caractéristiques physico-chimiques et microbiologiques du Smen.....	17
II.3.2. Caractéristiques physico-chimiques.....	17

II.3.2. Caractéristiques microbiologiques.....	18
--	----

Partie II : Matériel et méthodes

II. Objectif.....	20
II.1. Matériel.....	20
II.1.1. Matériel biologique.....	20
II.1.2. Matériel non biologique.....	20
II.2. Méthodes.....	20
II.2.1. Echantillonnage.....	20
II.2.2. Techniques d'études des bactéries lactiques.....	21
II.2.3. Technique d'isolement et purification des bactéries lactiques.....	22
II.2.3.1. Préparation de la solution mère et des dilutions décimales.....	22
II.2.3.2. Purification.....	24
II.2.3.3. Conservation des souches isolées.....	24
II.2.3.4. Identification de souches isolées.....	24
II.2.4. Etude des aptitudes technologiques des isolats.....	25
II.2.4.1. Etude de l'activité acidifiante.....	25
II.2.4.2. Etude de l'activité protéolytique.....	26
II.2.4.3. Etude de l'activité texturant.....	26

Partie III : Résultats et discussion

I. Résultats de l'identification des isolats.....	27
I. 1 Résultats de la caractérisation morphologique.....	27
I. 2 Caractérisation physiologiques et biochimiques	28
I.3 Résultats du profil fermentaire.....	33

I.4 Répartition des souches obtenues dans chaque échantillon.....	37
I.5 Résultats des aptitudes technologiques.....	40
I.5.1 Résultats de l'activité acidifiante.....	40
I.5.2 Résultats de l'activité protéolytique.....	41
I.5.3 Résultats de l'activité texturant.....	42
Conclusion et perspectives.....	43

Références Bibliographiques

Annexes

Liste des principales abréviations

LAB	Bactéries lactiques
MRS	Man-Rogosa et Sharp
NaCl	Chlorure de sodium
M17	gélose de Terzaghi
NaOH	Hydroxyde de sodium
pH	Potentiel d'hydrogène
BCP	Pourpre de bromocrésol
G	Gramme
H	Heure
L	Litre
ml	Millilitre
Min	Minute
%	Pourcentage
°C	Degré celsius
µm	Micromètre
H₂O₂	Peroxyde d'hydrogène
V	Volume
°D	Acidité Dornic
CO₂	Dioxyde de carbone
ADH	Arginine d'hydrolase
T°	Température
ADP	Adénosine di phosphate
ARNr	Acide ribonucléique ribosomique
ATP	Adénosine triphosphate
MSE	Mayeux Sandine et Elliker
EPS	Exopolysaccharides
Spp	Sous espèce
Lb	<i>Lactobacillus</i>
Lc	<i>Lactococcus</i>
Leu	<i>Leuconostoc</i>

Liste des figures

Figures	Titres	Pages
01	Les principales voies fermentaires des hexoses chez les bactéries lactiques	10
02	Métabolisme du citrate chez les bactéries lactiques	12
03	Procédure expérimentale	22

Liste des tableaux

Tableaux	Titres	Pages
01	Comparaison physico-chimiques du Smen traditionnel Algérien avec le Smentraditionnel Marocain	18
02	Échantillonnage	21
03	Les milieux et les conditions de cultures	23
04	Le nombre d'isolats sélectionnés après l'étude macroscopique et microscopique	27
05	Critères biochimiques et physiologiques des isolats	28
06.07 et 08	Critères biochimiques et physiologiques des isolats	30-31
09	Critères biochimiques et physiologiques des isolats	32
10	Résultats d'identification des souches isolées par la fermentation des sucres	33-34
11	Résultats d'identification des souches isolées par la fermentation des sucres	35-36
12	Répartition des souches isolées selon leur ordre de dominance	37-38
13	Activité acidifiante des souches testées	40
14	Activité protéolytiques des souches testées	41
15	Résultats de l'activité texturant	42

Résumé

La microflore microbienne du lait cru et des produits laitiers traditionnels, composée essentiellement de bactéries lactiques, ces dernières jouent un rôle important dans les caractéristiques organoleptiques des produits laitiers fermentés.

Smen est un produit laitier traditionnel très consommé par la population Algérienne, Ce travail s'intéresse à identifier la flore lactique isolée de ce produit traditionnel puis étudier quelques aptitudes technologiques des souches identifiées.

Les souches lactiques ont été isolées à partir de trois échantillons d'un produit laitier traditionnel collectés de différentes régions « El Sahara, Djelfa et Jijel » et identifiées phénotypiquement sur la base des tests physiologiques et biochimiques ainsi que sur la base de leurs profils fermentaires par les galeries API 20 E et API 50CHL. En ce qui concerne les aptitudes technologiques, trois activités ont été effectuées : Activité acidifiante, protéolytique et texturant.

L'identification a révélé la présence des genres suivants : *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc* et *Enterococcus*.

Les résultats des aptitudes technologiques montrent que seulement les souches du genre *Leuconostoc* ont la capacité de produire des exopolysaccharides et les souches des autres genres testées présentent une bonne activité acidifiante avec des valeurs variées de (18 à 110.20 °D) et une bonne activité protéolytique (Zone de la lyse variée de 5 à 7mm).

Mots clés : Smen, Bactéries lactiques, Aptitudes technologiques.

Abstract

The microbial microflora of raw milk traditional dairy products composed mainly of lactic acid bacteria, the latter play an important role in the organoleptic characteristics of fermented dairy products.

Smen is a traditional dairy product widely consumed by the Algerian population. This work is interested in identifying the lactic flora isolated from this traditional product and then studying some technological aptitudes of the identified strains.

Lactic strains were isolated from three samples of a traditional dairy product collected from different regions « El Sahara, Djelfa and Jijel » and identified phenotypically on the basis of physiological and biochemical tests as well as on the basis of their fermentation profiles by API 20 E and API 50 CHL galleries. With regard to technological aptitudes, three activities were carried out: Acidifying, proteolytic and texturizing activity.

Identification revealed the presence of the following genera: *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc* and *Enterococcus*.

The results of the technological aptitudes show that only the strains of the genus *Leuconostoc* have the capacity to produce exopolysaccharides and the strains of the other genera tested show good acidifying activity with varying values of (18 to 110.20 °D) and good proteolytic activity (zone lysis varied from 5 to 7 mm).

Keywords: Smen, Lactic acid bacteria, technological skills.

ملخص

البكتيريا الميكروبية للحليب الخام و منتجات الألبان التقليدية، المكونة أساسا من بكتيريا حمض اللاكتيك، تلعب الأخيرة دورا مهما في الخصائص الحسية لمنتجات الألبان المخمرة.

سمن هو منتج ألبان تقليدي يستهلك على نطاق واسع من قبل السكان الجزائريين، و يهتم هذا العمل بالتعرف على النباتات اللبنة المعزولة عن هذا المنتج التقليدي و ثم دراسة بعض القدرات التكنولوجية للسلاطات المحددة.

تم عزل سلاطات اللاكتيك من ثلاث عينات من منتج ألبان تقليدي تم جمعها من مناطق مختلفة "الصحراء و الجلفة و جيجل" وتم التعرف على النمط الظاهري على أساس الاختبارات الفسيولوجية و الكيميائية الحيوية و كذلك على أساس ملامح التخمر الخاصة بهم معارض API 20 E و API 50 CHL. فيما يتعلق بالقدرات التكنولوجية، تم تنفيذ ثلاثة أنشطة: نشاط التخمير، التحلل و البروتين.

كشفت التعرف عن وجود الأجناس التالية: *Lactococcus* و *Lactobacillus* و *Leuconostoc* و *Enterococcus*.

تظهر نتائج القدرات التكنولوجية أن سلاطات جنس *Leuconostoc* فقط لديها القدرة على إنتاج السكريات الخارجية و أن سلاطات الأجناس الأخرى التي تم اختبارها تظهر نشاط تخمير جيد بقيم متفاوتة (18 إلى D°110.20) و نشاط جيد للبروتين (المنطقة يختلف التحلل من 5 إلى 7 مم).

الكلمات المفتاحية: سمن، بكتيريا حمض اللاكتيك، المهارات التكنولوجية.

Introduction

Introduction

Les bactéries lactiques ont toujours occupé une place importante parmi les auxiliaires de fabrication alimentaire. Leurs caractères variés et leurs multiples propriétés sont largement exploités dans notre alimentation quotidienne, que ce soit dans les produits laitiers (yaourt, fromage, Smen), ou dans d'autres produits comme la viande, les végétaux et les céréales.

Elles sont responsables de la fermentation des produits alimentaires, c'est pourquoi on les appelle aussi « ferments lactiques ». Elles s'agissent des souches des bactéries non pathogènes ou non toxigènes. Elles assurent non seulement des caractéristiques particulières d'arômes et des textures mais aussi une bonne sécurité sanitaire alimentaire. Cette sécurité est favorisée grâce à la production d'acides organiques (acides lactiques et acétiques) qui font baisser le pH dans le milieu (**Carine et al., 2009**). Elles sont impliquées dans un grand nombre de fermentations spontanées de produits alimentaires (**Stiles et al., 1997**).

Elles sont principalement utilisées en tant que starter dans les produits alimentaires fermentés, permettent de développer certaines caractéristiques organoleptiques et d'augmenter la durée de conservation (**Abee, 1995 ; Hugenholtz et al., 1999**).

Toutefois, dans l'industrie laitière les souches lactiques sont sélectionnées sur la base de leurs propriétés technologiques (production de l'acide lactique, production d'arôme, activité protéolytique et cinétique de croissance), et leurs caractéristiques fonctionnelles (**Tamime, 2002; Molin, 2008**).

En Algérie, comme dans les différents autres pays du monde, on retrouve différents types des produits laitiers, dont le mode de fabrication découle de l'héritage culturel de la population transmis d'une génération à une autre. On note parmi ces produits : L'ben, Raïb, Smen, J'ben ...etc (**Lahsaoui, 2009**).

Le Smen est un produit laitier fermenté traditionnel et un ingrédient essentiel dans la cuisine algérienne. C'est un agrégat de matière grasse d'origine animal (beurre fermier) dont il a subi par la suite un lavage, salage et malaxage, puis conditionné dans des pots hermétiquement fermé et entreposés dans un endroit frais et obscur à température ambiante (**El Marrakchi et al, 1986; Sakili et Issouel, 2003**).

L'objectif de ce travail vise dans un premier temps à isoler des souches lactiques à partir d'un produit laitier traditionnel « Smen », ensuite à identifier les souches isolées afin de tester leurs aptitudes technologiques.

Introduction

Notre présent manuscrit est scindé en trois chapitres :

- Le premier chapitre, il s'agit de rappels bibliographiques sur les bactéries lactiques les principales caractéristiques du produit laitier traditionnel « Smen »
- Dans le deuxième chapitre nous exposons les techniques qui ont été effectuées par les chercheurs.
- Le troisième chapitre est consacré à la présentation des résultats et discussion les données qui ont été obtenues par les chercheurs.

Ce travail a été réalisé dans les conditions de l'épidémie de Covid 19.

Partie I :
Rappel bibliographique

Ce travail a été réalisé dans les conditions de l'épidémie de Covid 19.

I. Les bactéries lactiques

I.1. Définition

Les bactéries lactiques sont décrites pour la première fois par Orla Jensen au début du vingtième siècle. Elles sont de très anciens micro-organismes, utilisées pour la fermentation des aliments depuis plus de 4000 ans, sans pour autant comprendre la base scientifique de leur utilisation (**Drider et Prevost, 2009**). Elles sont des bactéries à Gram positif qui produisent de l'acide lactique comme produit principal de leur métabolisme. Elles regroupent 12 genres dont les plus étudiés sont *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* et *Bifidobacterium*. (**Luis et al., 2009**).

I.2. Principales caractéristiques

Les bactéries lactiques sont des cellules procaryotes ayant la forme : de coque, de bacille ou de coccobacille, hétérotrophes et chimio-organotrophes, immobiles, a sporulées, anaérobies mais aérotolérantes (micro-aérophiles). Elles sont dépourvues de nombreuses activités enzymatiques comme la catalase, la nitrate réductase et le cytochrome oxydase, aussi elles ne produisent pas d'indole ni acide sulfhydrique et certaines espèces hydrolysent la caséine. En raison de leur faible capacité biosynthétique, ces bactéries ont des exigences nutritionnelles complexes en ce qui concerne les acides aminées, les peptides, les vitamines, les sels, les acides gras et les glucides fermentescibles (**Dellagio et al., 1994**). Les milieux de culture sont complexes et dits «riches ». Donc Il est difficile d'obtenir de bons milieux sélectifs. Seul l'abaissement du pH sera souvent utilisé comme agent de sélection (**Doguiet Koffi- Denis, 2010**). Elles ont également une activité aromatique très importante d'où leur utilisation en agroalimentaire (**Leveau et al., 1991**).

Elles sont généralement mésophiles mais certaines sont psychrotolérantes ou thermotolérantes. Elles possèdent des tolérances très variables vis-à-vis du NaCl et possèdent de faibles activités protéolitiques et lipolytiques (**Caplice et Fitzgerald, 1999**). Les bactéries lactiques utilisées dans l'alimentation sont considérées comme non pathogènes et se font attribuer le qualificatif anglo-saxon d'organismes GRAS « Generally Recognized As Safe ». Cependant, quelques espèces du genre *Streptococcus* et *Enterococcus* sont considérées comme des pathogènes opportunistes (**Collins et Aguirre, 1993**).

Ces microorganismes produisent de nombreux métabolites aux propriétés antimicrobiennes tels que les acides organiques, le peroxyde d'hydrogène et les bactériocines (**Dortu et Thanart, 2009**).

Elles peuvent être divisées en deux groupes homofermentaires et hétérofermentaires basées sur les produits fabriqués à partir de la fermentation du glucose.

Homofermentaires : L'acide lactique est le seul produit de la fermentation du glucose.

Hétérofermentaires : La fermentation du glucose aboutit à la formation d'acide lactique et d'autres composés : éthanol, CO₂ et autres acides organiques (**Priyanka et parakash, 2009**).

I.3. Origine et habitat :

Les bactéries lactiques sont ubiquistes : Elles sont retrouvées dans différentes niches écologiques comme le lait et les produits laitiers, les végétaux, la viande, le poisson, les muqueuses humaines et animales ainsi que dans le tractus digestif, ce qui explique leur température de croissance hétérogène (**Mayo et al., 2010; Klein et al., 1998**).

La source originale des bactéries lactiques est constituée par les plantes vertes, et suite à des processus d'évolution et d'adaptation, ces bactéries ont colonisées d'autres environnements et se trouvent ainsi dans divers habitats, tant que ceux-ci réunissent les conditions adéquates pour satisfaire leurs besoins nutritifs (**Fenton, 1987; Kelly et al., 1998; Carr et al., 2002**). De cette manière le lait auquel les LAB peuvent accéder à travers le corps de l'animal, les excréments ou les végétaux, est devenu un habitat caractéristique des bactéries lactiques, et ainsi elles se trouvent associées à divers produits laitiers fermentés (**Dellaglio et al., 1994**).

I.4. Taxonomie et classification

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 (**DeRoissart et Luquet, 1994; Holzapfel et al., 2001**).

Les bactéries lactiques appartiennent au phylum des *Firmicutes*, à la classe des *Bacilli* et à l'ordre des *Lactobacillales* (**De Vos et al., 2009**). Cet ordre comporte 33 genres repartis entre six familles qui sont : *Lactobacillaceae*, *Aerococcaceae*, *Carnobacteriaceae*, *Enterococaceae*, *Leuconostocaceae* et *Streptococaceae*. Ces genres classés sur la base d'analyse phylogénétiques des séquences de l'ARNr 16S (**Ludwig et al., 2009**)

I.5. Caractéristiques des principaux genres de bactéries lactiques

Parmi les genres des bactéries lactiques, il existe seulement douze genres qui sont utilisés dans le domaine de la biotechnologie, il s'agit de :

I.5.1. Le genre *Lactobacillus*

Ce genre est le genre principal de la famille des *lactobacillaceae*, il contient de nombreuses espèces qui sont 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, se développant à un optimum de température situé entre 30 et 40°C. (Khalid et Marth, 1990 ; Leclerc et al., 1994).

Les espèces du *Lactobacillus* sont subdivisées en trois groupes, selon leur type fermentaire :

- 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* (Tamime, 2002)

I.5.2. Le genre *Carnobacterium*

Ce genre comprend 4 espèces, *C. divergens*, *C. piscicola*, *C. mobile* et *C. gallinarum* qui ont été isolées à partir des produits carnés ou des produits de la mer (Grant et Peterson, 1991; Mauguin et Novel, 1994). Les espèces de ce genre sont généralement en forme de bâtonnets (bacilles courtes, parfois incurvés) isolées ou en paires, psychrotolérantes, elles se développent à pH 9 mais pas à 4,5 et incapables de croître à une concentration de NaCl 8% (Hammes et Hertel, 2006).

I.5.3. Le genre *Lactococcus*

Le genre *Lactococcus* comprend des bactéries de forme cocci ou ovoïdes associées en paires ou chainettes de taille variée entre 0.5 à 1.5 µm de diamètre. Elles sont homofermentaires qui produisent l'acide lactique L(+) à partir de glucose. Elles sont toutes mésophiles avec une température optimale de croissance variant de 28 à 34 °C et leurs pH optimale varies de 6.0-6.5, aussi elles sont développent généralement à 4% de NaCl (**Bouadjaib, 2013**). Ce genre est un habitat typique des plantes, des animaux et de leurs produits (**Ababsa, 2012**).

Actuellement, ce genre comprend cinq espèce, *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**).

I.5.4. Les genres *Streptococcus* et *Enterococcus*

Le genre *Streptococcus* comprend essentiellement des espèces d'origine humaines ou animales dont certaines sont pathogènes comme *S. pyogenes* et *S. agalactiae*, d'autre sont impliquées dans la formation de la plaque dentaire (*S. mutans*). (**Bouadjaib, 2013**).

L'espèce *Streptococcus thermophilus* c'est la seule espèce utilisée dans les industries alimentaires, se distingue par rapport les autres par son caractère non pathogène et elle est très rencontrées dans le lait et ses dérivés.

Le genre *Enterococcus* rassemble la plupart des espèces du groupe sérologique D et comprend notamment les espèces anciennement désignées sous le terme « *Streptococcus fécaux* », comme *Enterococcus faecalis* et *Enterococcus faecium*. Il se caractérise par le développement à une température allant de 10 à 45°C, l'aptitude à croitre en présence de 6,5% de NaCl, à pH 9,6 et la résistance aux facteurs de l'environnement. L'habitat de ce genre est très varié, il se trouve dans l'intestin de l'homme et les animaux, les produits végétaux, le sol et les produits laitiers (**Giraffa et al., 1997**).

I.5.5. Le genre *Pediococcus* et *Tetragenococcus*

Les *Pediocoques* sont uniformément sphérique et jamais ovoïdes ou allongées. Ils diffèrent de toutes les autres bactéries lactiques par une division alternée dans deux directions perpendiculaires, ce qui entraîne la formation de tétrades (**Holzappel et Wood, 2014**). Ces bactéries sont facultativement aérobies (microaérophiles) et produisent de l'acide lactique

comme principal produit final de la fermentation du glucose par la voie d'Embden Meyerhof Parnas (Lahtinen et al., 2012). Leur température de croissance optimale est de 25 à 35 °C. 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).

I.5.6. Le genre *Leuconostoc*

Les *Leuconostocs* sont des bactéries ovoïdes, associées en paires ou en des chaînes courtes (Lahtinem et al., 2012). Elles sont exigeantes du point de vue nutritionnel et leur croissance est toujours lente. Leur température optimale de croissance est de 20 à 30°C (Bjorkroth et al., 2009). Elles sont chimio-organotrophe, nécessitent pour se développer des milieux riches comportant des facteurs de croissance complexes et en acides aminés (Lahtinem et al., 2009).

Ce genre est caractérisé par un métabolisme hétérofermentaire. Il produit de l'acide lactique, le CO₂ et l'éthanol, Elles ne possèdent ni catalase, ni cytochrome, et ne produisent pas du NH₃ à partir de l'arginine. Les espèces du genre *Leuconostoc* sont non hémolytiques et non photogènes (Bjorkroth et al., 2009; Kihal, 1996).

I.5.7. Le genre *Weissella*

Les cellules de ce genre sont ovoïdes ou bâtonnets à extrémités rondes qui s'associent en paires ou en chaînes courtes. Elles sont immobiles et hétérofermentaires. La température optimale de croissance est de 15 °C, mais quelques espèces peuvent croître entre 42 °C et 45 °C (Garrity et al., 2008 ; Vos et al., 2009) .

I.5.8. Le genre *Oenococcus*

Ce sont des bactéries de forme ellipsoïdale à sphérique, avec un arrangement en paire ou en chaînette, non hémolytiques et généralement non protéolytiques. Elles exigent un milieu riche en acides aminés et en facteurs de croissance. Elles sont acidophiles capable de se croître à un pH 4,8 et à une température variée entre 20 à 30 °C (Bjorkroth et Holzappel, 2006 ; Zhang et cai., 2014).

I.5.9. Le genre *Bifidobacterium*

Les espèces de ce genre se caractérisent par leur forme, elles présentent des cellules en forme Y. Elles possèdent des propriétés physiologiques et biochimiques similaires pour les autres genres des bactéries lactiques, sont dépourvues de la catalase et anaérobies mais quelques espèces tolèrent l'O₂ dans la présence ou non du CO₂. Elles dégradent le saccharose en produisant de l'acide acétique et l'acide lactique sans production du gaz. Le glucose est dégradé exclusivement et particulièrement par la fructose-6-phosphoketolase(F6PPK). (Mattarelli et Biavati, 2014). Leur isolement nécessite des conditions spécifiques (Sacardovi, 1986; Payne et al., 1999 ; Hadadji et al., 2005). Les conditions optimales de croissance des bifidobactéries d'origine humaine se situent à une température comprise entre 37°C à 41°C, et des valeurs de pH entre 6.5 et 7. (Hadadji, 2007).

I.6. Métabolisme des bactéries lactiques

I.6.1. Métabolisme du sucre

Les bactéries lactiques utilisent la fermentation lactique pour dégrader les glucides et synthétiser de l'énergie sous forme d'ATP. Il existe deux voies de la Fermentation lactique :

I.6.1.1. La fermentation homolactique

La fermentation homolactique constituée la voie de la glycolyse (également appelée voie d'Embden-Meyerhof) qui conduit à la conversion de 2 molécules de pyruvate en 2 molécules de lactate. Divers hexoses (glucides à 6 carbones), comme le glucose, le fructose, le mannose, le galactose, le lactose ou le saccharose peuvent être oxydés par cette voie. La fermentation homolactique apporte un gain net de 2 ATP par molécule du glucose oxydée. Cette voie est réalisée par les bactéries dites homofermentaires, appartenant aux genres *Lactococcus*, *Lactobacillus* (comme *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus lactis*), *Streptococcus* et *thermobactérium* comme *Thermobactérium yoghurti*.

I.6.1.2. La fermentation hétérolactique

Dans la fermentation hétérolactique en plus de l'acide lactique, les produits finaux de cette fermentation sont également le CO₂, l'éthanol, et en plus faible proportion selon le substrat initial oxydé, l'acide acétique et le glycérol. Des hexoses et certains pentoses (glucides à 5 carbones), peuvent être utilisés comme substrat initial. Cette fermentation conduit à l'obtention d'une seule molécule d'ATP à partir d'une seule molécule du glucose. Les bactéries appartenant aux genres *Leuconostoc* et certains genres de *Lactobacillus*, sont dites les bactéries hétérofermentaires (**Dridier et Prévost, 2009**).

Les deux voies de la fermentation citées précédemment sont représentées dans la figure 01.

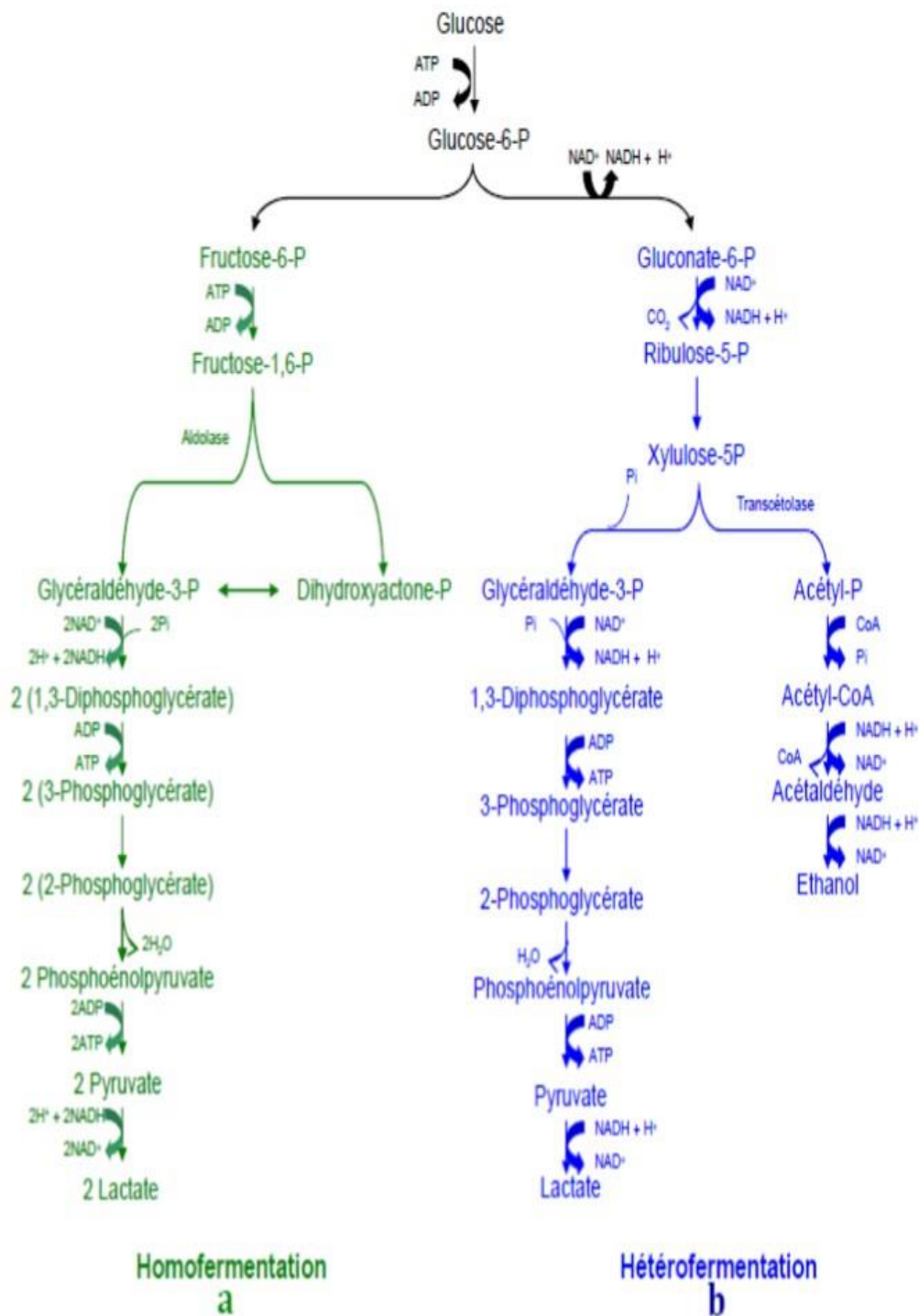


Figure 01 : Les principales voies fermentaires des hexoses chez les bactéries lactiques (Makhloufi, 2012).

I.6.2. Le métabolisme du citrate

L'acide citrique est utilisé par de nombreuses espèces des genres *Streptococcus* (*Streptococcus thermophilus*), *Lactococcus* (*Lc. lactis* subsp. *lactis biovardiacetylactis*), *Enterococcus* (*En. faecium*), *Pediococcus*, *Leuconostoc* (*Ln. lactis*, *Ln. cremoris*) et *Lactobacillus* (*Lb. plantarum*, *Lb. casei*). Cependant il ne peut être dégradé qu'en présence d'un substrat fermentescible et d'une source d'azote (**Bekhouche, 2006**)

Le pyruvate peut résulter du catabolisme des citrates en présence d'une source d'énergie comme le lactose. Les concentrations élevées en pyruvates sont en relation étroite avec la capacité de la bactérie à transporter le citrate dans la cellule puis le transformer en pyruvate. Les voies métaboliques du citrate ont été mises en évidence par (**Collins et al, 1972**).

La première enzyme impliquée dans le métabolisme du citrate est le citrate perméase qui permet le transport de celui-ci vers l'intérieur de la cellule. Cette enzyme est fonctionnelle au pH inférieur à 6 et son optimum est à pH 5. A l'intérieur de la cellule, le citrate est transformé en acétate et en oxaloacétate par la citrate-lyase (Citratase). Oxaloacétate produit au cours de ses réactions du catabolisme est ensuite converti en pyruvate et CO₂ par une oxaloacétate-décarboxylase (**Bourel et al., 2001; Salminen et al., 2004; Alexander, 2008**).

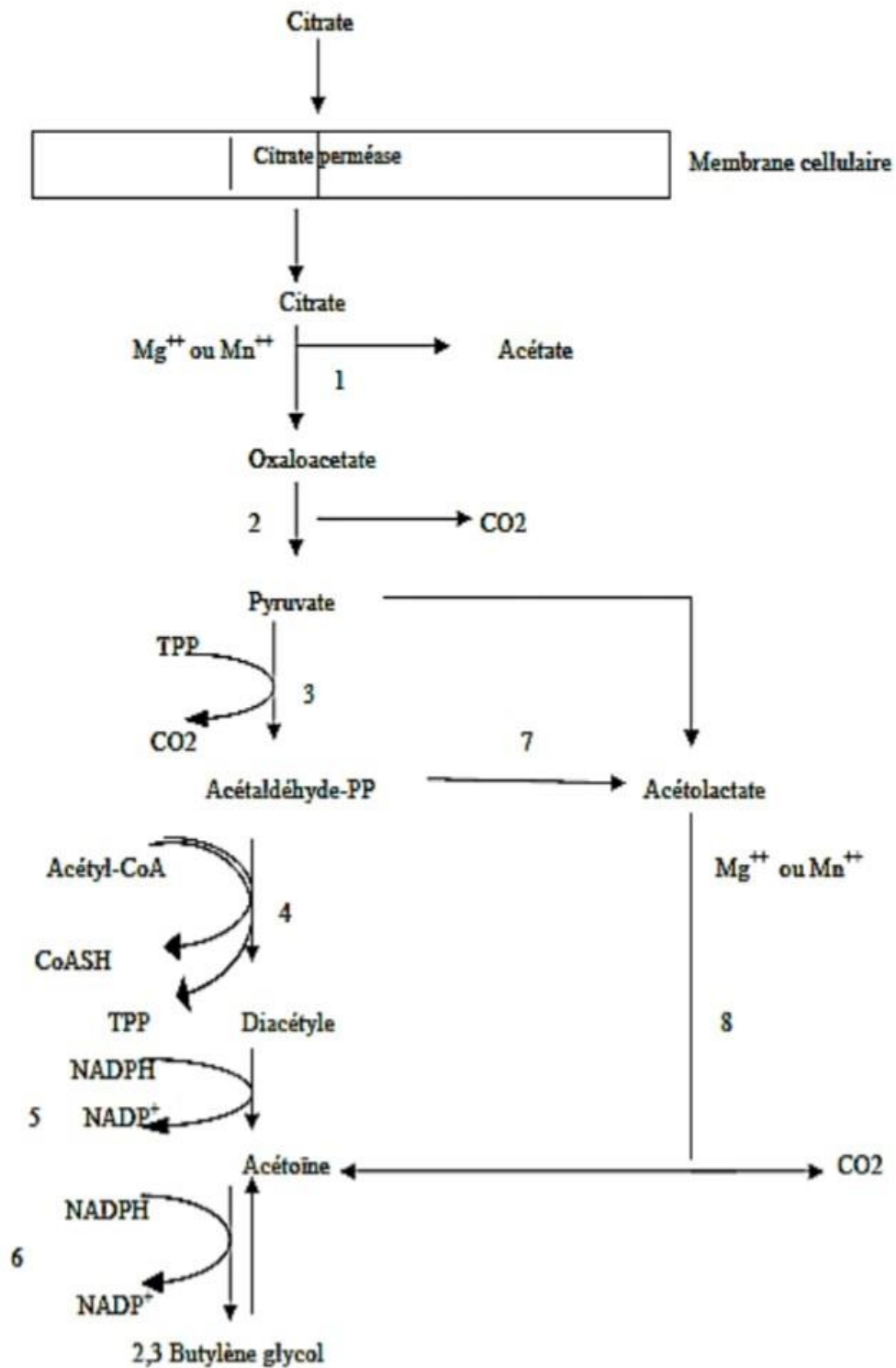


Figure 02 : Métabolisme du citrate chez les bactéries lactiques (Cogan, 1981).

I.7. Les aptitudes technologiques

I.7.1. Activité acidifiante

La fonction acidifiante constitue la propriété métabolique la plus recherchée des bactéries lactiques utilisée dans les industries alimentaires. Elle se manifeste par l'hydrolyse du lactose grâce à la bêta-galactosidase pour produire le glucose et le galactose. Généralement le glucose provenant de cette hydrolyse sera fermenté pour produire des composés acides, du gaz carbonique ou de l'alcool. Cette production des composés acides va entraîner une baisse du pH. Cette dernière peut induire des odeurs et des goûts particuliers. De plus, l'acidification limite les risques de développement de flore pathogène au cours de la croissance. **(Dib, 2015 ; Boullouf, 2016)**

I.7.2. Activité protéolytique

Le système protéolytique des bactéries lactiques est composé des protéases associées à la paroi cellulaire, qui catalysent l'hydrolyse des protéines en peptides contenant de 7 à 16 résidus aminés **(Kamaly et Marth, 1989)**. Ces peptides sont ensuite dégradés par des endopeptidases ou exopeptidases en unités transportables d'acides aminés et de petits peptides **(Lane et Fox, 1996 ; Lynch et al., 1997)**.

Le catabolisme des acides aminés est une voie majeure dans la formation des molécules aromatiques (alcools, aldéhydes, acides organiques...), comme il peut être une source d'énergie pour certaines bactéries lactiques en cas de limitation en nutriments **(Williams et al., 2001)**.

I.7.3. Activité lipolytique :

L'activité lipolytique des bactéries lactiques est moins importante que leurs activités protéolytiques. Il paraît au travers des publications scientifiques, que les connaissances sur l'activité lipolytique de ces bactéries soient encore fragmentaires. Néanmoins, les voies métaboliques liées à la lipolyse génèrent des acides gras libres et des précurseurs d'arômes qui entrent dans la saveur globale des produits alimentaires **(Bigret, 1994)**

I.7.4. Activité aromatisant

Les bactéries lactiques sont capables de produire de nombreux composés aromatiques (tels que : l' α -acétolactate, l'acétaldéhyde, l'acétoïne et 2.3butanediol, l'éthanol, l'acétate,...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 du beurre, dont l'arôme principal est lié à cette activité (**Bourgeois et Larpent, 1996 ; Gerrit et al, 2005 ; cholet, 2006**).

I.8. Applications industrielles des bactéries lactiques :

Les bactéries lactiques présentent des activités métaboliques assez diversifiées et une capacité d'adaptation à différents environnements. Cette diversité est responsable de leur large gamme d'application à l'échelle industrielle (**Streit et al., 2008**).

I.8.1. Dans le domaine alimentaire

Les bactéries lactiques sont impliquées dans la fermentation et la bio conservation de différents aliments. Elles sont utilisées pour améliorer les caractéristiques organoleptiques des produits fermentés. Différentes actions enzymatiques (protéolyse, réduction des nitrites, dégradation des lipides) permettent l'apparition de flaveur, texture et couleur, intéressantes pour le consommateur. Comme elles sont aussi utilisées pour augmenter la durée de conservation des aliments sans l'utilisation des conservateurs chimiques grâce aux substances antimicrobiennes qu'elles secrètent, et par leur développement rapide qui permet d'assurer une maîtrise de la contamination par des organismes indésirables (**Garry et Le Gherne, 1999 ; Dortu et Thonart, 2009**).

I.8.2. Dans le domaine de la santé

L'intérêt des bactéries lactiques en matière de santé humaine a été initialement proposé au début du XXème siècle, en 1907 par le Russe Metchnikoff, selon lui les *Lactobacillus* sp. Pouvaient réduire la putréfaction intestinale en modifiant sa flore. Le rôle des bactéries lactiques sur la santé était dans le cadre des probiotiques. Les bienfaits des bactéries lactiques sont de plus en plus étudiés, certains sont bien établis d'autres restent encore controversés (**Langella et al., 2001 ; Calvez et al., 2009**).

L'extraordinaire diversité de structures des EPS en fait une classe de molécules dont les applications directes ou indirectes dans le domaine médical sont en plein essor. Le dextrane et

ses dérivés sont utilisés en laboratoire pour la purification de composés d'intérêt médical comme certaines enzymes, mais aussi comme outil thérapeutique en tant que « plasma artificiel ». Ils peuvent servir pour l'encapsulation des médicaments dans le but d'un relargage contrôlé ou en exploitation des propriétés biologiques de ces polymères. La préparation de vaccins à partir d'EPS évite l'utilisation d'extrait cellulaires et donc les effets secondaires provoqués par les métabolites tels que les lipopolysaccharides et les protéines (**Benasla, 2009**).

II. Produit laitier traditionnel « Smen »

II.1. Définition :

Le Smen est un produit laitier fermenté, fabriqué à partir du lait cru entier par des méthodes empiriques basées sur des expériences de l'ancien temps. Le beurre fermier obtenu par barattage du lait fermenté est lavé, salé, malaxé puis conditionné dans des pots en terre cuite fermés hermétiquement et entreposés dans un endroit frais et obscur à température ambiante.

Ce produit très apprécié par le consommateur pour ses qualités gustatives et diététiques, est utilisé comme additif des produits alimentaires pour remonter le goût et l'arôme de certaines recettes traditionnelles (couscous, tajine, poulet ...). Sa propriété d'aliment de forte énergie est exploitée en médecine traditionnelle pour atténuer les douleurs de la sensation du froid qui accompagne la toux, le rhumatisme et le traumatisme osseux (**Sakili et Issouel, 2003**).

II.2. Procédé de préparation du Smen :

La préparation du smen se fait à partir du beurre fermier. Elle nécessite trois étapes : un lavage, un salage et conditionnement.

Le lavage : consiste à l'élimination de tout le l'ben résiduel au niveau du beurre fermier, c'est donc une opération qui vise l'amélioration de la conservabilité du produit par l'élimination des substances nutritives pour les micro-organismes, Il se pratique à l'eau tiède puis à l'eau salé. Après cette opération le beurre lavé est salé.

Le salage : Se fait à sec avec du sel de cuisine. Cette opération est délicate car l'incorporation de ce sel être homogène .Celle-ci s'effectue en ajoutant progressivement le chlorure de sodium au beurre, et en malaxant ce lui-ci à la main. Les quantités du sel utilisées varient généralement de 100 à 120 g/kg.

Le conditionnement : Le produit ainsi obtenu est mis dans des récipients, généralement des pots en terre, qui doivent être remplis au maximum pour éviter certains accidents tels que l'oxydation. Ces récipients remplis sont hermétiquement fermés et entreposés dans un local frais, à l'abri de l'air et de la lumière. (**Chakir, 1985**).

Cette préparation fait ressortir les caractéristiques suivantes :

- Absence de tout traitement thermique.
- Le salage constituant le seul élément de conservation.
- Les conditions de stockage sont également originales (anaérobiose et température ambiante). (El Marrakchi et al., 1986 ; Sakili et Issouel, 2003).

II.3. Caractéristiques physico-chimiques et microbiologiques du smen :

II.3.1. Caractéristiques physico-chimiques

La composition du Smen est également variable ; des valeurs moyennes typiques pour les composants principaux sont les suivantes : 81% de graisse, 14% D'eau, 5%, de matière sèche non lipidique, 1.5% de chlorure et sodium. La lipolyse est le phénomène principal qui se passe dans la transformation du Smen (indice moyen d'acide : 52,3 mg KOH par g dégraissé) tandis que l'oxydation est toujours très faible (moins de 3 meq. Par kg dans 70%). (Tantoui-Elaraki et El Marrakchi, 1987).

- 1- **Composition globale** : Elle englobe trois paramètres : La teneur en eau, la teneur en extrait sec dégraissé (lactose, NaCl, protéines) et la teneur en matière grasse.
- 2- **Composition en acides gras totaux (A.G.T)** : La composition en A.G.T du smen est identique à celle du beurre. Cependant une baisse dans la teneur en acides gras à courte chaîne, en particulier l'acide butyrique, est notée. En moyenne, les acides gras saturés représentent des acides totaux et les acides gras insaturés. (Chakir, 1985).
- 3- **Degré d'hydrolyse** : L'appréciation du degré de lipolyse est réalisée globalement par titrimétrie et qualitativement par la détermination de la composition en acides gras libres (A.G.L).
- 4- **Degré d'oxydation** : L'importance de l'oxydation est évaluée par la mesure de l'indice de peroxyde et par la composition en carbonylés totaux. (El Marrakchi, 1986).

La comparaison des compositions physico-chimiques du smen traditionnel algérien avec le smen traditionnel marocain sont mentionnées dans le tableau (1)

Tableau 01 : Comparaison des compositions physico-chimiques du smen traditionnel Algérien avec le smen traditionnel Marocain (Lahsaoui, 2009 ; Latreche, 2016 et El Marrakchi et al, 1986).

Paramètres	Smen traditionnel Algérien	Smen traditionnel Marocain
Humidité (%)	14	13.7
NaCl (g/100g)	1.5	1.5
Lactose (par rapport au poids sec)	1.2	1.22
Matière grasse (g/100g)	81	81.34
Protéines (g/100g)	3.2	3.25
Lipides insaponifiables (par rapport aux lipides totaux)	0.3	0.33
Indice d'acide (mg KOH/g lipide)	52	52.34
Indice peroxyde (meq/g lipide)	3.7	3.67
ESD (%)	-	4.96

II.3.2. Caractéristiques microbiologiques

La qualité hygiénique du smen traditionnel disponible sur le marché reflète la variabilité de sa microflore et de ses processus technologiques. (Benkerroum et Tamime, 2004).

La microflore du smen évolue pendant la transformation. En effet dans le produit final, les bactéries du genre *Bacillus* prédominent. Par ailleurs les *Lactobacilles*, les levures et les moisissures ont également quelques importances. La flore lipolytique est représentée principalement par *Aeromonas*, *Bacillus*, et *Staphylococcus spp.* (Tantoui-Elaraki et ElMaraakchi, 1987).

Les espèces microbiennes du smen issues des matières premières utilisées (c'est-à-dire le beurre brut et le sel), et les divers contaminants sont invariablement introduits lors des étapes de lavage, de mélange et de conditionnement. Le niveau d'hygiène adopté par les exploitants laitiers, et la qualité de l'eau de lavage utilisée et l'état sanitaire des ustensiles sont les causes possibles de contamination du smen. Pendant la période de la maturation, cette microflore changera en fonction des paramètres physico-chimiques et d'autres facteurs écologiques du produit. **(Benkerroum et Tamime, 2004).**

Partie II :
Matériel et méthodes

Ce travail a été réalisé dans les conditions de l'épidémie de Covid 19 qui ne nous a pas permis de mener des travaux expérimentaux, et nous étions dans l'obligation de compiler des travaux scientifiques similaires sur notre sujet et faire une synthèse de leur travaux.

II. Objectif

L'objectif de notre étude vise dans un premier temps à isoler des souches lactiques à partir d'un produit laitier artisanal « Smen », ensuite à identifier les souches isolées afin de tester leurs aptitudes technologiques.

II.1. Matériel

II.1.1. Matériel biologique

Les échantillons des produits laitiers traditionnels qui ont été utilisés pour l'isolement :

- Smen préparé à base du lait de chamelle (**Kacem et al., 2006**).
- D'han préparé à base du lait de brebis (**Idoui et al., 2009**).
- Beurre préparé à base du lait de vache (**Guetouache et al., 2018**).

Les souches de bactéries lactiques qui ont été isolées pour testées leurs aptitudes technologiques.

II.1.2. Matériel non biologique

Tous les milieux de culture et les réactifs qui ont été utilisés (Voir l'annexe).

II.2. Méthodes

II.2.1. Échantillonnage

L'échantillonnage a été effectué dans des conditions aseptiques selon les règles d'hygiène et d'asepsies recommandées en microbiologie.

Les échantillons ont été prélevés à partir des produits laitiers traditionnels « Smen, D'han et beurre », et ils ont été préparés à base du lait de chamelle, brebis et vache. Ils ont été pris à partir des différentes régions de la wilaya d'Alger (Tableau 02).

Tableau 02: Échantillonnage

Echantillon	Région		Nombre des échantillons analysés	Origine	Références
Smen	SAHARA	Ain-Safra	4	Lait de chamelle	(Kacem et al., 2006).
		Mograr	5		
		Bechar	5		
		Saida	6		
D'han	JIJEL	Beni Yadjis	3	Lait de brebis	(Idoui et al., 2009).
		Sayda-Zguiwartan			
Beurre	DJELFA	EL Malha	1	Lait de vache	(Guétouache et al., 2018).

II.2.2. Techniques d'étude des bactéries lactiques

D'après les articles que nous avons étudiés et consultés, les différentes étapes de la méthodologie suivie sont schématisées sur la figure ci-dessous

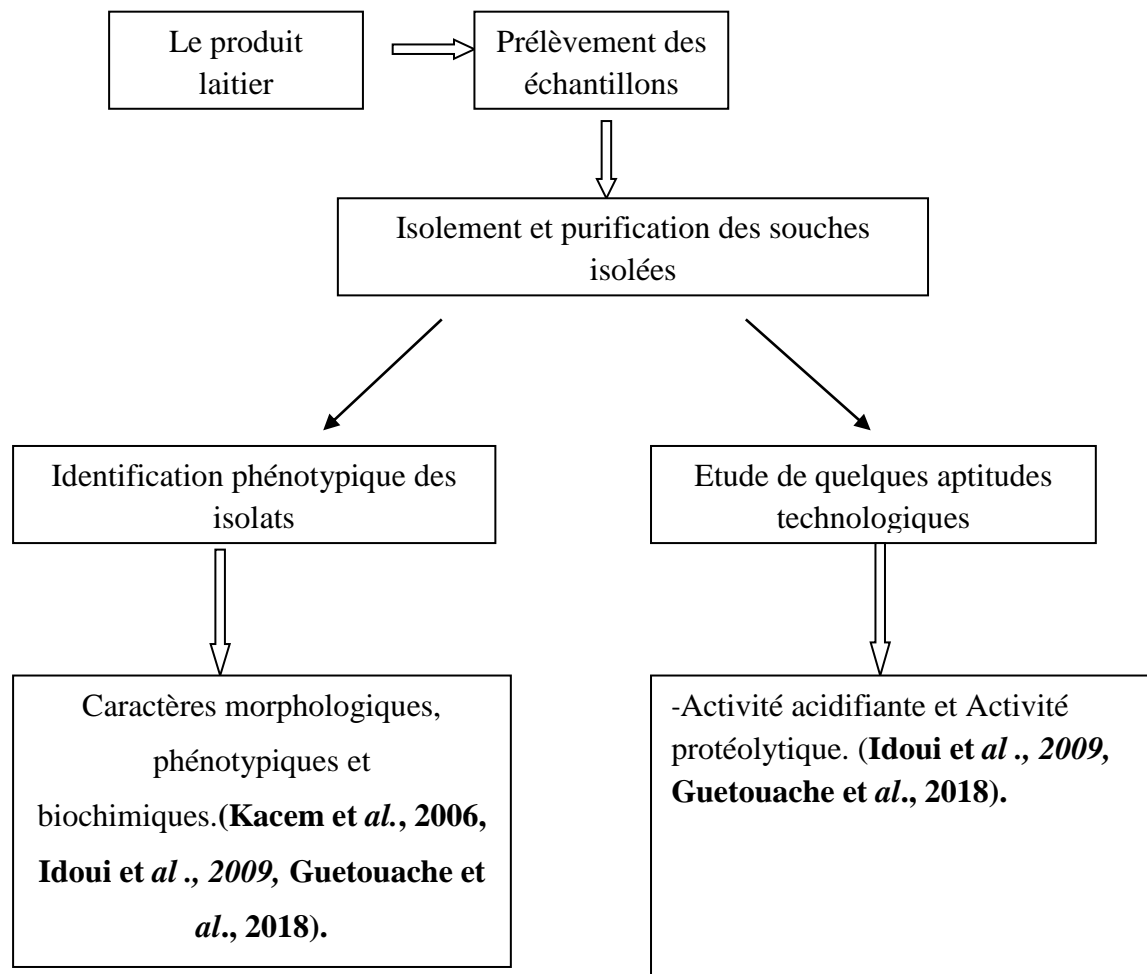


Figure 03: Procédure expérimentale

II.2.3. Technique d'isolement et purification des bactéries lactiques

II.2.3.1. Préparation de la solution mère et des dilutions décimales

10 ml de chaque échantillon du smen et du beurre ont été mélangés dans 90 ml d'eau physiologique (0.85% NaCL). Après homogénéisation, les échantillons ont été chauffés à 45 °C et centrifugés à 3000 tr / min pendant 15 min. (Idoui et al., 2009). Puis une série de la dilution décimale de 1/10 à été préparée jusqu'à 10^{-6} , ensuite les deux dernières dilutions 10^{-5} et 10^{-6} ont étéensemencées en masse et par étalement sur des milieux spécifiques. Les milieux et les conditions de cultures qui ont été utilisés pour isoler les souches désirées sont mentionnés dans le tableau (03).

Tableau 03 : Les milieux et les conditions de cultures.

Milieux utilisés	Souches Recherchées	Incubation	Produit	Références
Gélose MRS ajustée à pH 5,4 avec l'acétate de sodium	<i>Lactobacillus</i>	30°C pdt 48 à 72 h en anaérobiose.	Smen	(Kacem et al., 2006).
Gélose M17	<i>Lactococcus</i>	30°C pdt 48 h		
Sodium Azide Leuconostoc agar (SALA)	<i>Leuconostoc</i>	21°C pdt 72 h		
citrate azide agar (CAA)	<i>Enterococcus</i>	37°C pdt 72h		
M17	<i>Enterococcus</i>	45°C pdt 48hen aérobiose	Beurre traditionnel	(Guetouache et al., 2018).
Elliker	<i>Lactococcus</i>	30 °C pdt 48hen aérobiose		
MSE	<i>Leuconostoc</i>	21°C pdt en aérobiose		
MRS	<i>Pediococcus</i>	30 °C pdt48h en aérobiose		
MRS	<i>Lactobacillus Mésophiles</i>	30 °C pdt24 à 48h en anaérobiose		
MRS	<i>Lactobacillus Thermophiles</i>	45 °C pdt 24à 48h en anaérobiose		
M17	<i>Lactococcus</i>	32°C pdt 24h en anaérobiose	D'han	(Idoui et al ., 2009).
MRS	<i>Lactobacillus</i>			

II.2.3.2. Purification

La purification a été réalisée par des repiquages successifs sur bouillon et gélose des milieux cités précédemment jusqu'à l'obtention des colonies de mêmes tailles et mêmes formes. (Guetouache et al., 2018).

II.2.3.3. Conservation des souches isolées

La méthode de la conservation à long terme des souches purifiées a été faite sur les milieux liquides MRS et M17 contenant 30 % de glycérol et stockés à une température de -20 °C. (Matharaet al., 2004) citée par (Guetouache et al., 2018).

II.2.3.4. Identification des souches isolées

L'identification des souches isolées par (Kacem et al., 2006) a été faite par l'étude macroscopique (forme, taille,...), microscopique (mode de regroupement, coloration du Gram), et par l'étude des tests physiologiques et biochimiques suivants :

- Le test catalase a été mis en évidence par l'utilisation d'eau oxygénée (3% H₂O₂).
- La détermination du gaz à partir du glucose, test de croissance à 15, 40, 45°C et thermorésistance, croissance en présence de diverse concentration NaCl (4, 6.5, 8 and 10%) et croissance sur pH 3.9 et 9.6 ont été évalués par l'ensemencement des souches à tester sur les milieux liquides (MRS, M17).
- La détermination du type de l'acide lactique L ou D a été réalisée par l'utilisation du kit enzymatique (Roche diagnostic, Mannheim, Germany) suivant les instructions du manufacture.

Les souches de *lactocoque* à savoir (*Lactococcus*, *Enterococcus* et *Leuconostoc*) ont été identifiées par la galerie API 20 STREP (API-System, S.A., La Balme Les Grottes, Montalieu-Vercieu, France). Les souches de lactobacilles ont été caractérisées selon les critères de **Kandler and Weiss (1986)**, **Schillinger et Lüke (1989)**, par la recherche de l'arginine dihydrolase (ADH) et la production de l'acétoïne. Pour la détermination de la dégradation de l'arginine dihydrolase, les souches purifiées ont été ensemencées sur milieu MRS additionné par (3 g/l arginine et 2 g/l citrate de sodium à la place de citrate d'ammonium. Et la détection de la production d'acétoïne a été mise en évidence par le test Voges-Proskauer sur milieu MRS liquide.

Les galeries API 50 CH stripset API 50 CHL medium (API-System, S.A., La Balme Les Grottes, Montalieu-Vercieu, France) ont été utilisées pour établir le profil fermentaire des souches de *Lactobacillus* isolées, les deux galeries ont été ensemencées par les souches à

tester et incubées à 37°C pendant 48 h à 72 h. Les lectures des galeries à été faite par l'utilisation du logiciel API web. (Kacem *et al.*, 2006)

Pour les tests d'identification cités précédemment, des tests similaires ont été utilisés pour identifier les souches isolées par (Guetouache *et al.*, 2018). Sauf pour la méthode qui se diffère d'un test à un autre, par exemple le test de l'argininedihydrolase à été réalisé sur le milieu M16BPC. Et le test du profil fermentaire a été recherché sur le milieu MRS-BCP (BCP 0.17 g/l), pour ce test un total de 20 sucres ont été utilisés à savoir : Arabinose, Xylose, Galactose, Fructose, Mannitol, Sorbitol, Cellubiose, Maltose, Lactose, Melibiose, Saccharose, Tréhalose, Esculine, Mannose, Rhamnose, Ribose, Sucrose, et Raffinose. Les souches isolées ont été inoculées sur des tubes contient le milieu MRS-BCP additionné par des solutions sucrées précédemment cités (chaque tube contient un seul type du sucre à raison de 1%, ensuite les tubes ont été recouverts par une à deux gouttes huile de paraffine et incubés pendant 24 à 48 h. cette méthode décrite par (Carr *et al.*, 2002) et citée par (Guetouache and Guessas, 2015) et (Guetouache *et al.*, 2018).

L'identification des souches isolées par (Idoui *et al.*, 2009) a été basées sur les critères de Bergey's Manuel, Holt *et al.* (1994), Sharpe (1979) et Kimoto *et al.*, (2004). Le type fermentaire (homofermentaire ou bien hétérofermentaire) a été déterminé par l'ensemencement des souches sur le milieu (Gibson –Abdelmalek, 1945). Le test d'hémolyse a été recherché per l'ensemencement des souches isolées sur la gélose au sang de cheval. Et pour le test de sherman, chaque souche a été ensemencée sur le lait écrémé au bleu de méthylène à 0.1 % et 0.3%. Pour le test d'utilisation de citrate, le milieu Kempler and Mc Kay (1980) a été ensemencé par les souches à tester.

II.2.4. Etude des aptitudes technologiques des isolats

II.2.4.1. Etude de l'activité acidifiante

Les souches isolées et identifiées par Guetouache *et al.*, (2018) ont été testées pour leur activité acidifiante, cette activité a été déterminée par l'étude de l'évolution du pH et de l'acidité au cours du temps . Dans un premier temps chaque souche a été ensemencée sur milieu MRS liquide et incubée pendant 18h. Puis le lait écrémé reconstitué (12%) additionné par 0.3% d'extrait de levure a été inoculé par 1% de la culture d'une nuit de la souche à tester et incubé à 30°C pendant 24h. La mesure de l'acidité et du pH a été faite à différents intervalles du temps (6, 12 et 24 h). le pH a été mesuré à l'aide d'un pH mètre et l'acidité dornic a été déterminée selon la méthodes décrite par Accolas *et al.*, (1977) citée par Guetouache *et al.*, (2018) et Idoui *et al.*, (2009) , par le titrage de la soude NaOH (N/9) en

présence de phénolphtaléine à 1% jusqu'au virage de la couleur au rose pâle. Cette acidité a été déterminée par l'application de la formule suivante :

$$\text{Acidité (°D)} = V \text{ NaOH} \times 10$$

Où :

V NaOH: Volume de NaOH utilisé pour titrer l'acide lactique contenu dans le lait fermenté.

la mise en évidence de l'activité acidifiante des souches isolées par (**Idoui et al., 2009**) a été déterminée par le même protocole cité précédemment.

II.2.4.2. Etude de l'activité protéolytique

L'activité protéolytique des souches qui ont été isolées et identifiées par **Idoui et al., (2009)** a été étudiée sur milieu YMA additionné du lait écrémé à 1%. Chaque souche a été ensemencée sur ce milieu et incubée à 30°C pendant 24h. Cette activité a été évaluée par la mesure le diamètre des zones d'éclaircissement autour des colonies. (**Vuillemard et al., 1986**) citée par (**Idoui et al., 2009**) .

Les souches isolées par **Guetouache et al., (2018)** ont été testées pour leur activité protéolytique par l'application d'une technique décrite par (**Jiniet al., 2011**). Les souches isolées ont été ensemencées sur la gélose MRS additionnée du lait écrémé 2% et incubées à 37°C pendant 3 jours. A la fin d'incubation les diamètres des zones d'éclaircissement entourées par les souches ont été mesurés.

II.2.4.3. Activité texturant

Seulement les souches isolées par **Idoui et al ., (2009)** ont été testées pour leur capacité à synthétiser des exopolysaccharides par la méthode décrite par (**Leveau et al., 1991**). Les souches à tester ont été ensemencées sur les géloses hypersaccharosées, Les souches *Lactobacillus* sont été ensemencées sur gélose MRS additionnées par 20 g/l de saccharose et les souches (*Lactococcus* et *Leuconostoc*) ont été ensemencées sur gélose M17 (20 g/l saccharose). Après incubation pendant 16 à 24h, la production des exopolysaccharides a été révélée par la formation des colonies mucoïdes sur les géloses utilisées.

Partie III :

Résultats et discussion

Dans ce chapitre nous exposons les résultats des travaux menés par les auteurs et ces dans la partie expérimentale.

I. Résultats de l'identification des isolats

Les isolats ont été identifiés par les procédures phénotypiques basées sur les tests morphologiques, physiologiques et biochimiques.

I. 1. Résultats de la caractérisation morphologique

L'examen macroscopique a été réalisé à l'œil nu sur les milieux liquides et solides. L'observation sur les milieux liquides a révélé l'apparition d'un trouble au fond du tube et les cultures obtenues sur gélose sont apparues de petite taille, de forme circulaire ou lenticulaire, avec une couleur blanchâtre et d'un pourtour régulier

L'observation microscopique a montrée que les colonies isolées sont Gram positif, apparaissant sous différents modes d'associations et sont immobiles à l'état frais.

Après effectuer l'examen de la recherche de la catalase et la caractérisation morphologique, Les colonies qui sont apparues Gram positif, catalases négatifs ont été sélectionnées pour l'identification par des tests biochimiques et pour déterminer leurs aptitudes technologiques.

Les isolats qui ont été trouvés dans chaque échantillon et qui sont présumées comme bactéries lactiques sont représentés dans le tableau (04)

Tableau 04 : Le nombre d'isolats sélectionnés après l'étude macroscopique et microscopique

Echantillon	Nombre d'isolats	Référence
Smen collecté de La région EL SAHARA	181 souches	(Kacem et al., 2006)
Beurre traditionnel collecté de la région Djelfa	79 souches	(Guetouache et al., 2018)
D'han collecté de la région JIJEL	26 souches	(Idoui et al., 2009)

I. 2 Caractérisation physiologiques et biochimiques

Les résultats des tests qui ont été réalisés pour l’identification des isolats sélectionnés sont illustrés dans les tableaux (05, 06, 07, 07, 08 et 09)

Les résultats de l’identification biochimiques des souches qui ont été isolées à partir de l’échantillon collecté de la région Djelfa sont représentés dans le tableau (05).

Les résultats de l’identification biochimiques des souches qui ont été isolées à partir de l’échantillon collecté de la région JIJEL sont représentés dans les tableaux (06, 07 et 08).

Les résultats des souches qui ont été isolées à partir de l’échantillon collecté de la région EL SAHARA sont représentés dans le tableau (09).

Tableau 05: Critères biochimiques et physiologiques des isolats. (Guetouache et al., 2018).

Critères		Les souches isolées							
		G1	G2	G3	G4	G5	G6	G7	G8
Nombre des souches isolées		12	18	15	05	10	10	05	05
Production du gaz à partir du glucose		-	+	-	+	-	-	+	-
Hydrolyse d’ADH		-	-	+	+	+	-	-	-
Hydrolyse de Citrate		V	V	V	V	V	V	V	V
Production d’acétoïne		V	-	V	V	-	-	-	-
Production Dextrane		-	-	-	-	-	-	+	-
Croissance à différente température	10°C	-	-	-	-	+	+	-	+
	15°C	+	+	-	+	+	+	+	DR
	37°C	-	+	DR	+	-	-	-	+
	40°C	-	-	+	-	DR	-	-	+
	45°C	-	-	+	-	-	-	-	+

Croissance à différent pH	4	+	+	+	+	+	+	-	-
	6.5	+	+	+	+	+	+	+	+
	9.5	-	-	-	-	-	-	-	+
Croissance à différente concentration de NaCl	2	+	+	+	+	+	+	V	+
	4	DR	-	-	+	+	-	V	+
	6.5	-	DR	DR	-	-	-	-	+
	10	-	-	-	-	-	-	-	+
	12	-	-	-	-	-	-	-	DR

(+) : test positif, (-) : test négatif ; DR : réaction retardée ; V : variable

Selon **Guetouache et al., (2018)**, l'identification des isolats au niveau du genre a été faite par la comparaison des divers caractères phénotypiques de chaque isolat. Au niveau du genre, les isolats ont été répartis en 4 genres : *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc* et *Enterococcus*.

Les souches nommées « **G1, G2, G3, G4** » ont été identifiées probablement comme des *Lactobacillus* sur la base de leur forme et des caractères suivants: Les 4 souches multiplient dans un pH compris entre 4 à 6.5 et n'ont pas pu croître à une concentration élevée de NaCl. Concernant la mise en culture de ces souches à différentes températures 10, 15, 37, 40 et 45, Les résultats obtenus montrent que les souches nommées « **G1, G2, G4** » sont capables de croître à une basse température alors que la souche « **G3** » elle est thermophile et incapable de croître à une température 10, 15 et 37. Les quatre souches « **G1, G2, G3, G4** » sont incapables de se multiplier à la température de 10 °C. La plupart des lactobacilles se multiplie dans une gamme de températures comprise entre 15 °C et 42 °C.

Les résultats du test de la production du gaz à partir du glucose indiquent que seulement les deux souches nommées « **G2, G4** » sont hétérofermentaires et qui possèdent la capacité de produire du gaz.

Les deux souches codées « **G5 et G6** » ont été identifiées comme des *Lactococcus*, ils ont signalé que les deux souches possèdent les mêmes caractéristiques comme les souches « **G1, G2, G3, G4** » citées précédemment sauf que ces deux souches ont poussées à une température de 10 °C. Et sont homofermentaires.

Pour les genres *Enterococcus* et *Leuconostoc* seulement une seule souche a été trouvée dans chaque genre, la souche codée **G7** a été rattaché au genre *Leuconostoc* selon ces critères : Le résultat de la production dextrane est positif, elle est hétérofermentaire et elle a poussée à pH 6.5 et à une température 15 °C, incapable de dégrader l'arginine.

La souche **G8** appartient au genre *Enterococcus* puisque le résultat est positif pour la majorité des tests qui ont été réalisés sauf pour les trois tests suivant : Hydrolyse de ADH, production dextrans et d'acétoïne.

Tableau 06: Critères biochimiques et physiologiques des isolats. (Idoui *et al.*, 2009)

Critères		Les souches isolées											
		SB 3	SB 7	SB 12	SB 4	SB 11	SB 9	SB 10	SB 8	SB 5	SB 13	SB 14	SB 15
Type de fermentation		H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
Hydrolyse d'ADH		-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Type d'hémolyse		Y	y	y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y
Production d'acétoïne		-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
Test réductase		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Test du lait de Sherman	0.1% Bleu de méthylène	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	0.3% bleu de méthylène	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Croissance à différente température	10 °C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	40 °C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	45 °C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Croissance à différente concentration de NaCl	4.5 %	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	6.5 %	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+	-	-

Tableau 07 : Critères biochimiques et physiologiques des isolats. (Idoui et al., 2009)

Critères		Les souches isolées										
		SB 22	SB 17	SB 26	SB 19	SB 24	SB 21	SB 1	SB 23	SB 20	SB 25	SB 18
Type de fermentation		het	het	het	het	het	het	het	het	het	het	het
Hydrolyse d'ADH		-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-
Citratase		+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
Croissance à différente température	10°C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	40°C	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
	45°C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Tableau 08 : Critères biochimiques et physiologiques des isolats. (Idoui et al., 2009)

Critères		Les souches isolées	
		SB 16	SB 2
Type de fermentation		H	H
Hydrolyse d'ADH		+/_	+
Croissance à différentes T	15 °C	+	+
	45 °C	-	-
Croissance à Différentes Concentrations de NaCl	4.5	+	+
	6.5	-	-

Les souches isolées par Idoui et al., (2009), ont été classées en trois genres suivants : *Lactococcus*, *Leuconostoc* et *Lactobacillus*. Le genre *Lactococcus* concerne les souches nommées « SB3, SB7, SB4, SB11, SB9, SB10, SB8 , SB13, SB14, SB15 », toutes ces souches sont de type gamma hémolytique et sont homofermentaires., se caractérisent par leurs croissances à une température variée entre 10 à 40 °C et par leurs tolérances à une

concentration 4 % de NaCl sauf pour les trois souches codées par « **SB4, SB9,SB13** » n’ont pas pu pousser dans cette concentration, elles ont poussées à une concentration 6.5% de NaCl.

Toutes les souches qui ont été identifiées comme des *Lactococcus* possèdent la capacité de dégrader l’arginine à l’exception des souches **SB3, SB7, SB12** qui sont incapable de l’hydrolyser

Concernant le test du lait de Sherman, ce test a été réalisé seulement sur les souches du genre *Lactococcus*, les résultats obtenus sur ce test ont révélé que toutes les souches testées ont l’habilité de croitre sur un lait de (0,1% et 0.3%) de bleu de méthylène.

L’étude des caractères biochimiques et physiologiques des souches nommées « SB22, SB17, SB26, SB19, SB24, SB21, SB1, SB23, SB20, SB25, SB18 » a montré que ces souches présentent des ressemblances avec les caractéristiques biochimique du genre *Leuconostoc*, donc les souches ont été attribuées au ce genre.

Parmi les souches isolées par **Idoui et al., (2009)**, seulement les souches **SB16, SB2** ont été rattachées au genre *Lactobacillus*, ces deux souches sont identiques et possèdent les mêmes caractères : elles sont homofermentaires , elles ont poussées à 15 et n’ont pas toléré une concentration de 6,5% de NaCl..

Tableau 09: Critères biochimiques et physiologiques des isolats. (**Kacem et al., 2006**)

Critères		Les souches isolées			
		Groupe 1	Groupe 2	Groupe 3	Groupe 04
Nombre des souches isolées		40 Lacto	35 entero	85 Lb	21 Ln
Croissance à différente température	10	-	+	-	-
	15	+	+	+	+
	40	+	+	-	-
	45	-	+	-	-
Croissance à différent pH	4	+	+	+	+
	6.5	-	+	-	-
	9.6	-	+	-	-

D’après l’utilisation des tests d’identifications morphologiques et biochimiques classiques, les souches isolées par **Kacem et al., (2006)** à partir de l’échantillon du Smen collecté de la région El SAHARA ont été identifiées probablement aux genres suivants :

Lactobacillus : les souches appartiennent au groupe 03

Enterococcus : les souches appartiennent au groupe 02

Lactococcus : les souches appartiennent au groupe 01

Leuconostoc : les souches appartiennent au groupe 04.

Des résultats similaires ont été trouvés pour les souches isolées par (**Guetouache et al., 2018**).

D’après notre synthèse on ‘a constaté que les genres « *Lactococcus, Lactobacillus, Leuconostoc* » ont été trouvés dans les trois échantillons analysés et qui ont été collecté à partir de différentes régions, alors que le genre *Enterococcus* a été trouvés seulement dans les deux échantillons collecté de la région Djelfa et Jijel

I. 3 Résultats du profil fermentaire

Les résultats de ce test sont résumés dans le tableau (10 et 11).

Tableau 10 : Résultats d’identification des souches isolées par la fermentation des sucres.

Echantillons	Souches isolées	Arabinose	Cellulbiose	Esculin	Fructose	Galactose	Lactose	Maltose	Mannitol	Manose	Melibiose	Raffinase	Rhamnose	Ribose	Saccharose	Sorbital	Sucrose	Terhlase	Xvlose	Gluconate	Amidon	Glycérol	Inuline	Références
Beurre traditionnel collecté de la région Djelfa	G1	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	-	-	+	+	-	/	/	/	/	(Guetouache et al., 2018).
	G2	D R	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	D R	-	+	+	-	/	/	/	/	
	G3	D R	D R	-	+	+	+	+	-	D R	+	+	-	+	-	-	+	D R	D R	/	/	/	/	
	G4	+	-	D R	+	D R	+	+	-	-	+	D R	-	+	D R	D R	D R	-	D R	/	/	/	/	
	G5	-	+	-	+	+	+	+	D R	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	/	/	/	/	

	G6	D R	-	-	D R	/	/	-	-	D R	-	-	-	-	-	-	-	-	/	/	/	/	
	G7	+	D R	-	+	+	D R	+	D R	D R	D R	D R	D R	D R	+	-	+	+	D R	/	/	/	/
	G8	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	+	+	-	/	/	/	/
D'Han collecté de la région JJEL	SB 16	/	/	/	/	/	+	/	/	/	/	/	/	+	/	/	+	/	-	+	/	/	/
	SB2	/	/	/	/	/	+	/	/	/	/	/	/	+	/	/	+	/	-	+	/	/	/
	SB4	-	/	/	/	-	+	-	+	/	/	-	-	/	-	-	/	/	/	/	+	-	-
	SB5	-	/	/	/	-	+	-	+	/	/	-	-	/	+	-	/	/	/	/	+	-	-
	SB6	-	/	/	/	-	+	-	+	/	/	-	-	/	+	-	/	/	/	/	+	-	-
	SB3	-	/	/	/	-	+	+	+	/	/	-	-	/	-	-	/	/	/	/	+	-	-
	SB7	-	/	/	/	-	+	+	+	/	/	-	-	/	-	-	/	/	/	/	+	-	-
	SB8	-	/	/	/	-	+	+	+	/	/	-	-	/	-	-	/	/	/	/	+	-	-
	SB9	-	/	/	/	-	+	-	+	/	/	-	-	/	+	-	/	/	/	/	+	-	-
	SB 10	-	/	/	/	-	+	-	+	/	/	-	-	/	-	-	/	/	/	/	+	-	-
SB 11	-	/	/	/	-	+	-	+	/	/	-	-	/	+	-	/	/	/	/	+	-	-	

(Idoui et al., 2009)

(+) : test positif, (-) : test négatif ; DR : réaction retardée ; (+/-): faible croissance.

Tableau 11 : Résultats d'identification des souches isolées par la fermentation des sucres (suite).

Echantillons	Souches isolées	Arabinose	Cellulbiose	Esculin	Fructose	Galactose	Lactose	Maltose	Mannitol	Manose	Melibiose	Raffinase	Rhamnose	Ribose	Saccharose	Sorbital	Sucrose	Terhlase	Xvlose	Gluconate	Amidon	Glycérol	Inuline	Références
D'Han collecté de la région JIJEL	SB 12	-	/	/	/	-	+	-	+	/	/	-	-	/	-	-	/	/	/	/	+/-	-	-	
	SB 13	-	/	/	/	-	+	+	-	/	/	-	-	/	-	-	/	/	/	/	+	-	-	
	SB 14	-	/	/	/	-	+	-	+	/	/	-	-	/	-	-	/	/	/	/	+	-	-	
	SB 15	-	/	/	/	-	+	-	+	/	/	-	-	/	+	-	/	/	/	/	+	-	-	
	SB1	-	/	/	/	-	+	-	+	/	/	-	-	/	+	-	/	/	/	/	+	-	-	
	SB 17	-	/	/	/	-	+	-	+	/	/	-	-	/	-	-	/	/	/	/	+	-	-	
	SB1 8	-	/	/	/	-	+	+	-	/	/	-	-	/	+	-	/	/	/	/	+	-	-	
	SB 19	-	/	/	/	-	+	-	+	/	/	-	-	/	-	-	/	/	/	/	+	-	-	
	SB 20	-	/	/	/	-	+	+	+	/	/	+	-	/	+	-	/	/	/	/	+	-	-	Idoui et al., 2009)
	SB 18	-	/	/	/	-	+	-	+	/	/	+	-	/	+	-	/	/	/	/	+	-	-	

SB 21	-	/	/	/	-	+	-	+	/	/	-	-	/	+	-	/	/	/	/	+	-	-
SB 22	-	/	/	/	-	+	+	+	/	/	-	+	/	+	-	/	/	/	/	+	-	-
SB 23	-	/	/	/	-	+	-	+	/	/	-	-	/	-	-	/	/	/	/	+	-	-
SB 24	-	/	/	/	-	+	+	+	/	/	-	+	/	-	-	/	/	/	/	+	-	-
SB 25	-	/	/	/	-	+	-	+	/	/	+	-	/	+	-	/	/	/	/	+	-	-
SB 26	-	/	/	/	-	+	+	+	/	/	-	+	/	-	-	/	/	/	/	+/	-	-

L'identification des espèces a été faite par l'utilisation des galeries API 20^E et API 50 CHL, l'analyse des profils fermentaires des sucres révèle une grande diversité métabolique des carbohydrates chez les souches testées.

Concernant les souches isolées par (Guétouache et al., 2018), 8 espèces trouvés à savoir : *Lactobacillus alimentarius* (G1), *Lactobacillus plantarum* (G2), *Lactobacillus fermentum* (G3), *Lactobacillus bervis* (G4), *Lactococcus lactis* (G5), *Lactococcus cremoris* (G6), *Leuconostoc mesenteroides* (G7) et *Enterococcus faecalis*(G8).

Pour les souches isolées à partir de l'échantillon collecté de la région Jijel, 7 espèces ont été identifiées. Les souches **SB3**, **SB7**, **SB12** ont du profil similaire à celui de *Lactococcus lactis sspcremoris* alors qu'elles fermentent le mannitol et lactose et ne fermentent pas les autres sucres qui ont été utilisés.

Les souches **SB6**, **SB4**, **SB11** ont toute la même propriété de ne pas fermenté les 8 sucres suivants (Arabinose, Rhamnose, Galactose, Inulin, Sorbitol, maltose, Raffinose, Glycérol) se qui permet de les classés probablement comme étant *Lactococcus lactis ssp lactis*.

Cinq souches nommées *SB10*, *SB8*, *SB13*, *SB5*, *SB14* ont été rattachées à l'espèce *Lactococcus lactis ssp diacetylactis*.

Pour l'espèce *Lactobacillus plantarum*, deux souches ont été trouvées ces souches nommées *SB16*, *SB 2* se caractérise par la fermentation du Lactose, Ribose, Gluconate et Sucrose

Les résultats du profil fermentaire des souches suivantes : *SB17*, *SB26*, *SB19*, *SB24*, *SB21*, *SB 1*, *SB23*, *SB 20*, *SB25*, *SB18* montrent que ces souches appartiennent à trois espèces des *Leuconostoc*:

-Les souches *SB21*, *SB 1*, *SB23* appartiennent à l'espèce *Leuconostoc mesenteroides ss lactis*

-Les souches nommées *SB20*, *SB25*, *SB18* appartiennent à l'espèce *Leuconostoc mesenteroides ssp dextransicum*.

- Les souches nommées *SB17*, *SB26*, *SB19* appartiennent à l'espèce *Leuconostoc lactis*.

I.4 Répartition des souches obtenues dans chaque échantillon

Les résultats de la répartition des souches isolées selon l'ordre de dominance sont illustrés dans le tableau (12).

Tableau 12:Répartition des souches isolées selon leur ordre de dominance.

Echantillons	Genre identifiées	Espèces identifiées	(%)	Références
Beurre traditionnel collecté de la région Djelfa	<i>Lactobacillus</i> 63.29%	<i>Lactobacillus plantarum</i>	22.78 %	(Guetouache et al., 2018)
		<i>Lactobacillus fermentum</i>	18.99 %	
		<i>Lactobacillus alimentarius</i>	15.19 %	
		<i>Lactobacillus brevis</i>	06.33 %	
	<i>Lactococcus</i> 18.99%	<i>Lactococcus lactis</i>	12.66 %	
		<i>Lactococcus cremoris</i>	06.33 %	
	<i>Enterococcus</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	11.39%	

	<i>Leuconostoc</i>	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	6.33%	
D'Han collecté de la région JIJEL	<i>Lactococcus</i> 50.01%	<i>Lactococcus lactis ssp diacetylactis</i>	22.73	(Idoui et al., 2009)
		<i>Lactococcus lactis ssp lactis</i>	13.64	
		<i>Lactococcus lactis ssp cremoris SB3</i>	13.64	
	<i>Leuconostoc</i> 40.9%	<i>Leuconostoc mesenteroides ssp lactis</i>	13.64	(Idoui et al., 2009)
		<i>Leuconostoc mesenteroides ssp dextranicum</i>	13.63	
		<i>Leuconostoc lactis</i>	13.63	
	<i>Lactobacillus</i>	<i>Lactobacillus plantarum</i>	9.09	
Smen collecté de La région EL SAHARA	<i>Lactobacillus</i> 46.9%	<i>Lactobacillus plantarum</i>	22.1%	(Kacem et al., 2006)
		<i>Lactobacillus delbrueckii ssp. Bulgaricus</i> 19.3%	19.3 %	
		<i>Lactobacillus paracasei ssp. paracasei</i> 5.5%	5.5 %	
	<i>Enterococcus</i>	<i>Enterococcus faecium</i> 19.3 %	19.3 %	
	<i>Lactococcus</i> 22%	<i>Lactococcus lactis ssp. lactis biovardiacetylactis</i>	12.1 %	
		<i>Lactococcus lactis ssp. Cremoris</i>	9.9 %	
	<i>Leuconostoc</i> 11.5%	<i>Leuconostoc gelidum</i>	6.6 %	
		<i>Leuconostoc pseudomesenteroides</i>	4.9%	

L'identification des souches lactiques isolées à partir du beurre traditionnel collecté de la région Djelfa par **Guetouache et al., (2018)**, a montré la dominance du genre *Lactobacillus* (63.29%) représenté par 4 espèces dont l'espèce *Lactobacillus plantarum* est l'espèce la plus dominante. Suivis par le genre *Lactococcus* (18.99%) représenté par deux espèces, viennent ensuite les genres *Leuconostoc* (6.33%) et *Enterococcus* (11.39 %) représentés par une seule espèce.

Par contre les souches isolées à partir des du d'han collecté de la région JIJEL par **Idoui et al., (2009)** sont prédominés par le genre *Lactococcus* représenté par trois espèces soit environ (5.01%), suivis par le genre *Leuconostoc* représenté par trois espèces aussi soit 13.64% pour chaque espèce puis le genre *Lactobacillus* (9.09%) avec une seule espèce.

Par ailleurs, **Kacem et al., (2006)** ont constaté la prédominance du genre *Lactobacillus* (46.9%) représenté par 3 espèces dont l'espèce *Lactobacillus plantarum* est l'espèce la plus dominante, puis le genre *Lactococcus* avec un nombre de 2 souches soit (22%) . Ensuite les genres *Enterococcus* (19.3%) et *Leuconostoc* (11.3%).

D'après ces résultats, on a constaté que les trois échantillons qui ont été étudiés contiennent des mêmes souches lactiques et qu'il n'existe pas une grande diversité de ces souches sauf que chaque échantillon est prédominé par une espèce spéciale

I.5 Résultats des aptitudes technologiques

I.5.1 Résultats de l'activité acidifiante

Les résultats de l'activité acidifiante des souches testées isolées à partir de la région Jijel sont mentionnés dans le tableau (13).

Tableau 13 : Activité acidifiante des souches testées

Les souches testées	Acidité °D)					Références
	Temps					
	t= 0h	t=6h	t=12h	t=18h	t=24h	
<i>Lactococcus lactis ssp lactis SB 6</i>	18.00 ± 0.00	38.00 ± 0.07	58.20 ± 0.50	62.00 ± 1.00	90.00± 0.69	(Idoui et al., 2009)
<i>Lactococcus lactis ssp lactis SB4</i>	18.00 ± 0.00	39.00 ± 0.09	59.50 ± 0.08	65.80 ± 0.8	93.50± 0.90	
<i>Lactococcus lactis ssp lactis SB 11</i>	18.00 ± 0.00	43.00 ± 1.00	63.00 ± 0.70	70.50 ± 1.60	96.20± 0.80	
<i>Leuconostoc lactis SB 22</i>	18.00 ± 0.00	42.10 ± 1.10	65.00 ± 0.20	70.10 ± 1.50	98.50± 0.00	
<i>Leuconostoc lactis SB26</i>	18.00 ± 0.00	39.00 ± 1.00	56.00 ± 0.00	63.50 ± 1.20	90.00± 1.20	
<i>Leuconostoc lactis SB24</i>	18.00 ± 0.00	38.00 ± 0.90	56.50 ± 0.90	69.50 ± 1.30	92.00 ± 1.23	
<i>Lactococcus lactis ssp Cremoris SB3</i>	18.00 ± 0.00	39.10 ± 1.10	51.50 ± 0.80	61.00 ± 0.80	85.00 ± 1.56	
<i>Lactobacillus plantarum SB16</i>	18.00 ± 0.00	52.00 ± 1.30	69.00 ± 2.10	83.50 ± 2.10	110.20± 2.50	
<i>Lactobacillus plantarum SB2</i>	18.00 ± 0.00	56.20 ± 1.20	70.00 ± 2.30	88.00 ± 2.40	120.00± 3.10	

Idoui et al ., (2009), ont rapportés que le taux d'acidité augmente pour toute les souches testées et ils ont trouvés que les deux souches de *Lactobacillus plantarum* codées par **SB16**, **SB2** sont les souches les plus acidifiantes avec une valeur variée de 18 à 110.20 °D pour la souche **SB16** et pour la souche **SB2** l'acidité variée de 18à 120 °D. Ces résultats sont en accords avec ceux obtenus par **Idoui et Karam (2008)** qui ont signalés que la souche de *Lactobacillus plantarum* isolées du beurre traditionnel de Jijel à base du lait de vache est la plus acidifiante et la plus rapide pour la production d'acide lactique.

D'après les résultats obtenus, **Idoui et al., (2009)** ont signalés que les souches **SB6**, **SB4**, **SB11**, **SB22**, **SB26**, **SB24** atteignant (90, 93,96,98,90 et 92°D) respectivement, ont

présentés une acidité importante après 24 h. Tandis que la plus faible valeur d'acidité est enregistrée pour la souche **SB3** (85 °D).

Les résultats indiquent que les souches testées présentent une bonne activité acidifiante.

I.5.2 Résultats de l'activité protéolytique

Les résultats des souches testées pour cette activité sont représentés dans le tableau (14).

Tableau 14: Activité protéolytique des souches testées

Souches testées	Les Diamètres des zones de protéolyse (mm)	Références
<i>Lactococcus lactis ssp lactis SB 6</i>	6.6	(Idoui et al., 2009)
<i>Lactococcus lactis ssp lactis SB4</i>	6.0	
<i>Lactococcus lactis ssp lactis SB 11</i>	7.0	
<i>Leuconostoc lactis SB 22</i>	5.5	
<i>Leuconostoc lactis SB26</i>	6.1	
<i>Leuconostoc lactis SB24</i>	6.2	
<i>Lactococcus lactis ssp cremoris SB3</i>	6.5	
<i>Lactobacillus plantarum SB16</i>	6.0	
<i>Lactobacillus plantarum SB2</i>	5.5	
<i>Leuconostoc mesenteroides ssp dextranicum SB20</i>	5.0	
<i>Lactococcus lactis ssp diacetylactis SB8</i>	6.0	
<i>Lactococcus lactis ssp diacetylactis SB15</i>	6.2	
<i>Leuconostoc mesenteroides ssp lactis SB21</i>	6.0	
<i>Leuconostoc mesenteroides ssp lactis SB1</i>	5.9	

Les résultats qui ont été obtenus par **Idoui et al., (2009)** montrent que les souches étudiées ont présentés une activité protéolytique dans le milieu YMA, où le diamètre de la zone protéolytique varie entre 5 à 7mm.

Ils ont trouvé que la souche **SB 11** (*Lactococcus lactis ssp lactis*) est la plus protéolytique, alors que la souche **SB22** (*Leuconostoc lactis*) possède une faible activité et les autres souches Testées sont les moins protéolytiques.

Idoui et al ., (2009) ont rapportés que ces résultats sont similaires avec les résultats trouvés par **Idoui et Karam (2008)** qui ont montrés que les mêmes souches lactiques isolées du beurre traditionnel de Jijel à base du lait de vache

I.5.3 Résultats de l’activité texturant

Les résultats des souches testées sont présentés dans le tableau (15).

Tableau 15 : Résultats de l’activité texturant.

Souches testées	Production Exopolysacchrde	Référence
SB1	-	(Idoui et al .,2009).
SB17	-	
SB18	+	
SB19	-	
SB20	+	
SB21	-	
SB22	-	
SB23	-	
SB24	-	
SB25	+	
SB26	-	

Les résultats obtenus révèlent que seulement les trois souches **SB20, SB25, SB18** (*Leuconostoc mesenteroides ssp dextranicum*) ont la capacité de produire des exopolysaccharides. Ils ont constaté que ces souches ont une aptitude technologique texturale intéressante.

Broadbent et coll. (2003), ont rapportés que les souches lactiques produisant des EPS jouent un rôle crucial dans l’élaboration des produits laitiers

Conclusion
Et
Perspectives

Conclusion et Perspectives

L'objectif de ce travail était d'identifier des souches lactiques isolées d'un produit laitier traditionnel et tester leurs aptitudes technologiques.

Les tests d'identification qui ont été effectués ont montré que les souches isolées représentant des espèces appartenant aux genres suivants : *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Enterococcus*.

Pour les résultats des aptitudes technologiques, ils ont trouvé que seulement les souches du genre *Leuconostoc* ont la capacité de produire des exopolysaccharides par contre les autres genres présentent une bonne activité acidifiante ainsi qu'une bonne activité protéolytique.

Ils ont constaté que les trois échantillons qui ont été collectés à partir d'un produit laitier traditionnel contenant la majorité des souches les plus importantes dans l'industrie laitière.

D'après les résultats de cette étude, pour compléter ce travail sur la flore lactique du Smen nous proposons de:

- Mieux caractériser les souches isolées par l'étude d'autres propriétés technologiques comme la propriété probiotique.
- L'utilisation des techniques moléculaires pour une meilleure précision.
- Evaluation le pouvoir antimicrobien des souches lactiques.
- Faire une étude sur le pouvoir antioxydant de la flore lactique du Smen.

Références
Bibliographiques

A

- Ababsa A, 2012. Recherche de bactériocines produites par les bactéries lactique du lait. Mémoire de Magister, Université Ferhat Abbas de Sétif 1.
- Abee T., 1995. Pore-forming bacteriocins of Gram+ bacteria and self-protection mechanisms of producer organisms. *FEMS Microbiol. Lett.*, 129, 1-9.
- Accola JP., Bloquel R., Regnier J., 1977. Acidifying properties of the thermophilous lactic bacteria in relation to the manufacture of yoghurt, *Lait* .67, 1-23
- Alexander H., Grandvalet C., Guilloux-Benatier M., Remize-Barnavon F., Tourdot-Maréchal R., 2008- les bactéries lactiques en œnologie. Lavoisier, Paris, 173 pages.

B

- Bekhouche F, 2006. Bactéries lactiques du lait cru de vache et microorganismes pectinolytiques des olives noires et vertes (1. Isolement et Identification biochimique. 2.Evaluation et Optimisation de la production d'enzyme polygalacturonase).Thèse de doctorat.Université De Mentouri Constantine.
- Benasla H, 2009. Production d'exopolysaccharides par des souches de lactobacilles. Thèse de Magister en Biotechnologie. Université d'ORAN ES-Senia.
- Benkerroum N., Tamime A.Y, 2003.Technology transfer of some Moroccan traditional dairy products (lben, jben and smen) to small industrial scale,*Food Microbiology*, 21: 399–413.
- Bigret, M, 1994. Lactic acid bacteria and organoleptic properties of foods in: Novel G et Le Querler J. F. (1994). Les bactéries lactiques. 25-27. Presses universitaire de Caen, France.
- Bjorkroth J et Holzapfel W.H, 2006. Genera Leuconostoc, Oenococcus and Weissella in: The Prokaryotes. Vol 4. Springer, PP 267-319.
- Bjorkroth J.A., Holzapfel W.H. and Dicks L.M., 2009. Genus Leuconostoc. Bergey's Manual of systematic Bacteriology. The firmicutes. Second Edition. Volume Three.
- Bouadjaib S, 2013. Etude physico-chimique du produit laitier traditionnel du sud algérien « Jben».Recherche du pouvoir antimicrobien des Bactéries Lactiques.
- Boullouf A, 2016. Technologie Alimentaire, Etude du pouvoir technologique de quelques bactéries lactiques du fromage traditionnel « Bouhezza ». Technologie alimentaire, frères mentouri Constantine. Magister: 135.

- Bourel G., Henni S., Krantar K., Oraby M., Divies C et Garmyn D., 2001. Métabolisme sucre-citrate chez *Lenconostoc mesenteroides*. Le lait 81 : 75-82.
- Bourgeois C.M et Larpent J.P., 1996. Microbiologie alimentaire : Aliments fermentés et fermentations alimentaires. Tec & Doc, Lavoisier. Paris. 432-704.
- Broadbent JR, MLc Mahon DJ, Oberg CJ, Moineau S., 2003. Biochemistry genetics and applications of exopolysaccharides production in *Streptococcus thermophilus* .J.Dairy Sci. 86 (2), 407-423.

C

- Calver S., Belguesmia Y., Prévost H., Drider D et Kergourley G., 2009. Les bactériocines : de la synthèse aux applications. Bactéries lactiques : physiologie, métabolisme, génomique et applications industrielles édition : Economica. Paris.
- Caplice E., Fitzgerald G., 1999. Food fermentation: role of microorganisms in food production and preservation. Int. J. Microbiol, 50 (1-2): 131-149
- Carr F.J., Chill D., Maida N., 2002. The Lactic Acid Bacteria : A Literature Survey. Critical Rev. Microbiol. 28:281-370.
- Chakir M, 1985. Contribution à l'étude de l'évolution de la flore lactique au cours de l'élaboration du لبن et de smen. Thèse de Doctorat Vétérinaire, Institut Agronomique et vétérinaire Hassan, p108.
- 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
- Cogan, T.M, 1981. Constitutive nature of the enzymes of citrate metabolism in *Streptococcus lactis* subsp. diacetylactis. Journal of Dairy Research, 48: 489-495.
- Collins M.D et Aguirre M., 1993. Lactic acid bacteria and human clinical infection. J. Appl. Bacteriol, 75:95-107
- Collins E. B, 1972. Biosynthesis of flavour compounds by microorganisms. Journal of Dairy Science. 55 : 1022-1028

D

- De Man, J.C., Rogosa, M; et Sharpe, M.E. (1960). A medium for cultivation of Lactobacilli. J. Appl. Bacteriol. 23:130-135

Références bibliographiques

- DeRoissart, H., Luquet, F.M., 1994. Les bactéries lactiques. Uriage, Lorica, France, 1 :1- 286 pharmaceutiques. Éditions Médicales Internationales, Lavoisier p 476.
- De Vos P., Garrity G M. , Jones D., Krieg N R ., Ludwig W., Rainey F A., Schleifer K-Het Whitman W B., 2009.Bergey's manual of Systematic Bacteriology, Second Edition Volume Three: The Firmicutes. Springer Dordrecht Heidelberg London New York. 1422p.
- Dellagio F., de Roissard H., Torriani S., Curk M.C. et Janssens D., 1994. Caractéristiques générales des bactéries lactiques. In : Bactéries lactiques (De Roissard H. et Luquet F.M.). Lorica, Uriage. 1 : 25-116.
- Dib W,2015. Caractéristique et rôle probiotique des bactéries lactiques isolées à partir du lait de chèvre : effet immunomodulateur chez la souris Balb/c, ORAN. Doctorat: 188.
- Doguiet Koffi- Denis D., 2010. Biocontrôle des moisissures du genre fusarium productrices de fumonisines par sélection de bactéries lactiques autochtones de maïs. Thèse de doctorat, université Bordeaux 1,185.
- Dortu C. et Thonart P., 2009. Les bactériocines des bactéries lactiques : caractéristiques et intérêt pour la bioconservation des produits alimentaires. Biotechnologie. Agron. Soc. Environ. , 13 : 143-154.
- Drider D et Prévost H, 2009, Bactérielactique,Physiologie,Métabolisme, génomique et applications industrielles EconomicAnthropos.

E

- El Marrakchi, A., Berrada, M.,Chahboun, M et Benbouhou, M., 1986. Etude chimique du smen marocain. Le Lait, INRA Editions, 66 (2) :117-133.

F

- Fenton M.P, 1987. An investigation into the sources of lactic acid bacteria in GRAS silage .J.Appl.Bacteriol.62:181-188.

G

- Garrity G., Brenner D., Krieg N., Staley J., 2008. Bergey'sManual.Of systematic bacteriology.Ed.,Ed.vol.

- Garry, P et Le Gherne, L, 1999. les bactéries lactiques. Bull.Liaison CTSCCV, 9(6): 423-430.
- Gerrit S., Bart A.S., Wim J.M.E., 2005. Flavour formation by lactic acid bacteria and biochemical flavor profiling of cheese products. FEMS. Microbiol. Rev. 29: 591-610.
- Gibson T et Abdelmalek Y, 1945. The formation of carbone dioxide by lacticacid bacteria and bacillus licheniformis and a cultural method of detecting the process J. Dairy. Res.14, 35- 44.
- Giraffa G et al., 1997, J, food prot .60 :732-737
- Grant I.R.and Peterson M.F, 1991,J.Appl.Bacteriol.,70:302-307.
- Guetouache M et Guessas B, 2015. Characterization and identifications of lactic acid bacteria isolated from traditional cheese (Klila) preoared from cow's milk. African Journal of MicrobiologyResearch ; 9(2) :71-77.
- GuetouacheMetGuessas B, 2018- Characterization of lactic acid Bacteria isolated from traditional butter produced in Djelfa province of Algeria,*Biosci., Biotech. Res. Asia*, 15(3), 737-746
- Guetarni H., 2007. Etude de l'effet des bactéries lactiques sur l'inhibition des bactériesimpliquées dans la physiopathologie digestive in vitro. Hassiba ben boualiChlef. Magister:120.

H

- Hadadji M, 2007.caractérisation technologique des bifidobactéries à intérêt thérapeutique. Thèse de doctorat d'état ; Université d'Oran .Algérie.173 p
- HadadjiM.,Benaama R ., Saidi N., Henni D.E., et Kihal M., 2005.Identification of cultivable bifidobacterium species isolated from breast-fed infants feces in west – Algeria. African journal of biotechnology .vol.4 (5) :422-430.
- Hammes W.P. and Hertel C., 2006. The Genera Lactobacillus and Carnobacterium. The Prokaryotes. Vol 4, Sponger. Pp 320-403.
- Holt JG, Krieg NR, Sneath PH, Staley JT, Williams ST., 1994. Bergey's manual of determinative bacteriology, Ninth Edition, Williams and Wilkins, London, UK.
- Holzapfel, W.H., Haberer, P., Geisen, R., Björkroth, J., Schillinger U., 2001.Taxonomy and important features of probiotic microorganisms in food and nutrition. Am.J. Clin. Nutr, 73(suppl): 365S–73S.

- Holzapfel, W.H., Wood, B. J. B., 2014. Lactic Acid Bacteria, Biodiversity and taxonomy, Wiley-Blackwell, 632p.
- Hugenholtz J. & Kleerebezem M., 1999. Metabolic engineering of lactic bacteria/ overview of the approaches and results of pathway rerouting involved in food fermentation. *Curr. Opin. Biotechnol.*, 10(5), 492-497.

I

- Idoui T, Karam NE. 2008. Lactic acid bacteria from Jijel's butter: isolation, identification and major technological traits. *Grasas y Aceites* .59 (4) 361-367.
- Idoui T., Boudjerda J., Leghouchi E., Karam N., 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

- Jini R., Swapna H.C., Amit K.R., Vrinda R., Halami P.M., Sachindra N.M., Bhaskar N., 2011. Isolation and characterization of potential lactic acid bacteria (LAB) from freshwater fish processing wastes for application in fermentative utilization of fish processing waste. *Braz J Microbiol* ; 42 :1516-1525.

K

- Kacem M et Karam N, 2006- Physicochemical and microbiological study of « Shmen » a traditional butter made from camel milk in the Sahara- Algeria- *isolation and identification of lactic acid bacteria and yeasts*, *Gr. Y. Aceites*, Abril -Junio, 57 (2), 198-204.
- Kamaly, K and Marth, M. E. H., 1989. Enzyme Activities of Lactic Streptococci and their role in maturation of cheese. *Journal of Dairy Science*, 72: 1945-1966.
- Kandler O et Weiss N, 1986. Regular, nonsporing Gram positive rods. Genus *Lactobacillus*. In: *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Vol.2, Edited by P.H.A. Sneath, N.S. Mair, M.E. Sharp, J.G. Holt., The Williams & Wilkins Company, Baltimore MD, USA. pp. 1208-1234.
- Kelly W.J., Davey G.P., Ward L.J., 1998. Characterization of *Lactococci* isolated from minimally processed fresh and vegetables. *Int. J. Food Microbiol.* 45 :85-92

- Kempler GM., Mc Kay LL. 1980. Improved medium for detection of citrate-fermenting *Streptococcus lactis subsp diacetylactis* .J.Appl.Environ.Microbiol. 39, 927-956.
- Khalid N.M. et Marth E.H., 1990. Lactobacilli, their enzymes and role. In:Ripening and spoilage of cheese. Rev. DairySci. 73 : 158-167.
- Kihal M, 1996. Etude de la production du dioxyde de carbone par *leuconostocmesenteroides*, éléments d'application en technologie fromagère type fromage bleu. Thèse de Doctorat. Université d'Oran.
- Kimoto H, Nomura M, Kobayashi M, Okamoto T, Ohmomo S., 2004. Identification and probiotic characteristics of *Lactococcus* strains from plant materials. J.A.R.Q. 38 (2), 111-117
- Klein G., Pack A., Bonaparte C., Reuter G., 1998. Taxonomy and physiology of probiotic lactic acid bacteria International. Journal of Food Microbiology., 41: 103-125

L

- Lahsaoui S, 2009. Etude du procédé de fabrication d'un produit laitier traditionnel algérien (Kilila).Thèse de doctorat d'état : Département d'Agronomie : Université de Batna.Algérie, 50p.
- Lahtinen, S., Ouwehand, A. C., Salminen, S., Wright, A.V., 2012. Lactic Acid Bacteria Microbiological and Fonctionnal Aspects, Fourth edition, Taylor & Francis Group. Boca Raton London New York, 18-33, 77.
- Lane, C. N. and Fox, P. F., 1996. Contribution of starter and Adjunct Lactobacilli to Proteolysis in Cheddar Cheese during ripening. International Dairy Journal, 6 : 715-728.
- Langella P., Nouaille S., Commissaire J., Bolotine A., Gruss A et Le Loir Y., 2001.Characterization of host factors affecting heterologous protein secretion in *Lactococcus lactis*.Lait 81,19-28.
- Latreche B, 2016. Caractérisation des bactéries lactiques isolées du beurre cru, évaluation de leurs aptitudes technologiques et leur utilisation dans la fabrication de la crème sure. Mémoire de Magister en Sciences Alimentaires. Université des frères Mentouri, Constantine. 95 P.

- Leclerc H., Gaillard FL et Simonet M., 1994. Les grands groupes de bactéries. In : Microbiologie générale : la bactérie et le monde microbien. Doin. Paris. 445.
- Leveau J.Y., Boiux M. et De Roissart H.B., 1991. La flore lactique : technique d'analyse et de contrôle dans les industries agroalimentaires. 2e Ed., Tec & Doc, Lavoisier. Paris. 3: 240P.
- Ludwig W., Schleifer K-H et Whitman X B., 2009. Order: Lactobacillales. In: De Vos P, Garrity G M , Jones D, Krieg N R , Ludwig W, Rainey F A, Schleifer K-H et Whitman W B. (2009). Bergey's manual of Systematic Bacteriology, Second Edition Volume Three: The Firmicutes. Springer Dordrecht Heidelberg London New York. p464.
- Luis G., Humarán B., Langella P., 2009. Utilisation des bactéries lactiques comme vecteurs vaccinaux. Revue Francophone des laboratoires, N°417.
- Lynch, C. M., Mc Sweeney, P. L. H., Fox, P. F., Cogan, T. M et Drinan, F. D., 1997. Contribution of starter Lactococci and no starter Lactobacilli to proteolysis in cheddar cheese with a controlled microflora. Lait, 77: 441-459.

M

- 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). 200 P.
- Mathara J.M., Schillinger U., Kutima P.M., Mbugua S.K., Holzapfel WH., 2004. Isolation, identification and characterization of the dominant microorganisms of kulenaota: The maasai traditional fermented milk in Kenya. Int.J.FoodMicrobiol ;94 : 267-278.
- Mattarelli Paola et Biavati Bruno, 2014. The genera *Bifidobacterium*, *Parascardovia* and *Scardovia*. Lactic acid bacteria, biodiversity and taxonomy. John Wiley et sons, Lid: P 509-541. UK
- Mauguin S. and Novel G, 1994, J. Appl. Bacteriol., 76: 616-625.
- Mayeux, J.V., Sandine, W.W.E. et Elliker, P.R. (1962). A selective medium for detecting *Leuconostoc* organisms in mixed isolate starter cultures. J. Dairy, Sci, 45: 655-656.

- Mayo, B., Aleksandra -piekarczyk T., Fernández M., Kowalczyk M., Alvarez-Martín, P. et Bardowski, J., 2010. Updates in the metabolism of lactic acid bacteria. *Biotechnology of Lactic Acid Bacteria: Novel Applications* Blackwell Publishing (3., 34).
- Molin G, 2008. *Lactobacillus Plantanum* the role in foods sand in Health. In the *Handbook of formated function foods. Second Edition EDTTED* by Edward R Franworth. CRC.

P

- Payne J.F, Morris AEJ and Beers P.,1999. Evolution of selective media for the enumeration of *Bifidobacterium* sp in milk. *Journal of applied. Microbiology* ; 86 :353-35
- Pilet M. F., Magras C. et Federigh M., 2005. *Bacteria lactiques. La Bactériologie alimentaire (Federighi M), 2° Ed, Economica. Paris, 219-240.*
- Pot B, Devriese LA, Uris D., Vandrnme P., Haesebrouk F et Kersters K., 1996. Phenotypic identification and differentiation of *Lactococcus* trains isolated from animals. *Syst. Appl. Microbiol.* 19: 213-222.
- 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.*
- Priyanka S et Prakash A., 2009. Screening of Lactic Acid Bacteria for Antimicrobial Properties Against *Listeria monocytogenes* Isolated from Milk Products at Agra Region. *Internet Journal of Food Safety*, 11:81-87

S

- Sakili D et Issoual D, 2003. *Lactic acid bacteria in processing maroccansmen. Université Moulay Ismail, Faculté des Sciences et Techniques, Département de Biologie Errachidia. Copyright academic d'agriculture de France, Maroc. 18 p.*
- Salminen S., Wright A.V and Ouwehand A.C., 2004. *Lactic Acid Bacteria Microbiological and functional aspects Third edition Taylor & Francis Group. Boca Raton London New York.*
- Scardovi.,1986. Genus *Bifidobacterium* Orla Jensen,1924,472. In: *Bergey's of systematic Bacteriology, Ixe Edition .Williams and Wilkins.Baltimore.*

- Schillinger U et Lüche F.K, 1989. Antibacterial activity of LB.Sake isolated from meat. *Appl. Environ. Microbiol*, 55,1901-1906
- Sharpe ME, 1979. Identification of lactic acid bacteria, in: Skinner FA, Lovelock DW (Eds), *Identification methods for microbiologists*, Academic Press, London, UK. 233-259.
- Stiles M. E. &Holzapfel w., 1997. Lactic acid bacteria of foods and their current Taxonomy. *Int. J. Food Microbiol.*, 36(1), 1-29.
- Streit F., Corrieu G .and Béal C., 2008. Acidification improves cryotolerance of *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* CFII.J.Biotechnol.128 :659-667.

T

- Tailliez P, 2004. Les lactobacilles: propriétés, habitats, rôle physiologique et intérêt en santé humaine. *Actualités microbiologiques*.pp.35.41
- Tamime A.Y, 2002. Microbiology of starter cultures. In *Dairy microbiology. Handbook. Third Edition*, Edited by Richard K, Robinson and John Wiley & Sons, Inc, Publication.
- Tantoui-Elarki A et El Marrakchi A, 1987. Study of Moroccan dairy products: lben and smen. *Mircen Journal*,3:211-220.
- Thomas T, 1973. Agar medium for differentiation of *Streptococcus cermoris* from other bacteria. *New Zealand Journal of Dairy Science* 8 :70-71.

V

- Vos P., Garrity G., Jones D., Krieg N.R., Ludwig W., Rainey F.A., Schleifer K-H., Whitman W., 2009. *Bergey's Manual of systematic bacteriology : the firmicutes*. 2 Ed., ed. Vol : Springer-Verlag new york.1450.
- Vuilleumard JC., Amiot J., Gauthier S., 1986. Evaluation de l'activité protéolytique de bactéries lactiques par une méthode de diffusion sur plaque. *Microbiol. Alim. Nutr* 3, 327-332

W

- Williams, A. G., Noble, J et Banks, J. M., 2001. Catabolism of amino acids by lactic acid bacteria isolated from Cheddar cheese. *International of Dairy Journal*, 11: 103-115.

Z

- Zhang H et cai Y, 2014. Lactic Acid Bacteria Fundamentals and practice. Springer Dordrecht Heidelberg New York London P : 535.

Annexes

Annexe 01 : Composition des milieux de culture :

I- Milieu d'isolement :

○ **Milieu MRS (Man Rogosa et Sharpe, 1960)**

Peptone	10g
Extrait de viande	10g
Extrait de levure	5g
Glucose	20g
Tween 80	1ml
Phosphate dipotassique.....	2g
Acétate de sodium.....	5g
Citrate triammonique.....	2g
Sulfate de magnésium.....	0,2g
Sulfate de manganèse.....	0.5g
Agar	15g
Eau distillée.....	1000 ml

pH=6,5

Autoclavage : 120°C pendant 20 mn.

○ **Milieu M17 (gélose de Terzaghi)**

Peptone de soja.....	5g
Peptone de viande.....	2.5g
Peptone de caséine.....	2.5g
Extrait de viande.....	5g
Extrait de levure.....	2.5g

Annexes

Lactose.....	5g
Acide ascorbique.....	0.5g
Glycérophosphate de sodium.....	19g
Sulfate de magnésium.....	0.25g
Agar.....	13g
Eau distillée.....	1000ml

pH=7.2

Autoclavage : 121°C pendant 15 mn.

II. Milieu d'identification :

- **Milieu MSE (Mayeux, Sandine et Elliker, 1962)**

Tryptone.....	10g
Extrait de levure	5g
Sccharose	100g
Glucose.....	5g
Citrate de sodium.....	1g
Gélatine	2.5g
Azide de sodium.....	0.0075g
Agar.....	15g
Eau distillée	1000 ml

pH=7

Autoclavage : 120°C pendant 20 mn.

○ **Milieu Elliker (Bouillon)**

Tryptone.....	20g
Extrait de levure.....	5g
Gélatine.....	2.5g
Glucose.....	5g
Lactose.....	5g
Saccharose.....	5g
Chlorure de sodium.....	4g
Acétate de sodium.....	1.5g
Acide ascorbique.....	0.5g

pH=6.8

Autoclavage : 121°C pendant 15 mn.

○ **Milieu Mannitol-mobilité**

Peptone	20g
Nitrate de potassium.....	1g
Mannitol.....	2g
Rouge de phénol.....	0.04g
Gélose.....	4g

pH=8.1

Autoclavage : 121°C pendant 15 mn.

○ **Milieu ADH**

L-arginine.....	5g
Extrait de levure.....	3g

Annexes

Chlorure de sodium.....5g

Glucose.....1g

Pourpre de bromocrésol.....0.016g

pH=6.3

Autoclavage : 120°C pendant 10 min.

- **Milieu Lait écrémé**

Lait écrémé.....10g

Extrait de levure.....0.5g

Eau distillée.....100ml

Autoclavage : 120°C pendant 10 min

Glycérol (30%)

- **Milieu KMK (Kempler Mc Kay, 1980)**

Biopolytone.....3g

Glucose.....2.5g

Agar.....15g

Eau distillée.....1000ml

pH=6.6

Autoclavage : 120°C pendant 15 min.

- **Milieu M16 BCP (Thomas, 1973)**

Peptone papinique de soja.....5g

Extrait de viande.....5g

Extrait de levure.....5g

Lactose.....2g

Annexes

Acide ascorbique.....	0.5g
Acétate de sodium.....	1.8g
L'arginine.....	4g
Pourpre de bromocrésol.....	0.05g
Eau distillée.....	1000ml

pH=6.5

Autoclavage : 120°C pendant 20 min

- **Milieu MRS BCP**

Utilisé pour l'étude du profil fermentaire, le milieu MRS contenant un indicateur de pH qui est le pourpre de bromocrésol à 0,025g

- **Milieu Citrate Azide Agar (CAA)**

Extrait de levure.....	10g
Tryptone.....	10g
Citrate de sodium.....	20g
Azide de sodium.....	0.4g
Bleu de tétrazolium.....	0.01g
Agar.....	15g
Eau distillée.....	1000ml

pH=7 ± 0.2

Autoclavage : 120°C pendant 20 min

○ **Milieu YMA (Yeast-Milk-Agar)**

Peptone.....	5g
Extrait de viande.....	3g
Lait écrémé.....	10g
Agar.....	15g
Eau distillée.....	1000ml

pH = 7.2

Autoclavage : 121°C pendant 20 min

○ **Milieu hypersaccharosé**

Extrait de viande	10 g
Extrait de levure	3g
Bactocasitone Difco.....	2.5g
Saccharose	150g
Phosphate dipotassique	2g
Chlorure de sodium.....	1 g
Sulfate de magnésium à 7 molécules d'eau	0.2g
Agar	15g
Eau distillée	1000ml

PH=6.8

Autoclavage : 121°C pendant 20 min

III. Les diluants :

- **Milieu Eau physiologique**

Chlorure de sodium.....8.5g

Eau distillée1000ml

Autoclavage : 121°C pendant 20min.

- **L'eau distillée**

IV. Les réactifs

- **Réactif de vogues prosateur (VPI et VPII)**

VPI : Solution de soude Na OH à 16% dans l'eau distillée.

VPII : Alpha –naphtol à 6% dans l'alcool à 95%.

- **Réactif de bleu de méthylène**

Bleu de méthylène.....0.005g

Eau distillée stérile.....100ml

- **Réactif de test catalase**

Eau oxygénée

V. Les colorants :

- **Colorants de Coloration de Gram :**

Cristalviolet

Lugol

Fuschine

Annexe 2: Coloration de Gram

1. Matériels

- Les lames
- Les colorants

2. Mode opératoire

- Réaliser un frottis
- Fixer la préparation à la flamme, sécher soigneusement puis laisser refroidir la lame.
- Immerger la lame dans la solution de Cristal violet pendant 1mn.
- Immerger la lame dans Lugol à 30 secondes.
- Décolorer jusqu'à disparition de la couleur violette dans l'alcool en faisant couler goutte à goutte sur la lame inclinée.
- Laver à l'eau.
- Colorer avec la solution de Fuschine pendant 1 mn.
- Rincer à l'eau.
- Observer à l'objectif X100, en immersion avec l'huile.

3. Résultats

Les bactéries Gram + sont colorées en violet, les bactéries Gram - sont colorées en rose.