

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Université Abdelhamid Ibn
Badis-Mostaganem
Faculté des Sciences de la
Nature et de la Vie



جامعة عبد الحميد بن باديس
مستغانم
كلية علوم الطبيعة والحياة

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

Mémoire de fin d'étude

Présenté par

DAMENE Yousra

Pour l'obtention du diplôme de

Master en biologie

Spécialité : Microbiologie Fondamentale

Thème

Etude des aptitudes technologiques des souches lactiques isolées à partir de produits laitiers artisanaux

Soutenue publiquement le : 07 /07 /2022

Devant le Jury

Mme. CHOUGRANI Fadela	Professeur Univ. Mostaganem	Présidente
Mr. CHERIGUENE Abderrahim	Professeur Univ. Mostaganem	Encadreur
Mme. KOUADRI BOUDJELTHIA	MAA. Univ. Mostaganem	Examinatrice
Mlle. BOUCHIBANE Malika	Doctorante Univ. Mostaganem	Co-encadreur

Thème réalisé au Laboratoire de technologie alimentaire et nutrition

Année universitaire 2021/2022

Remercîment

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

*Je remercie vivement **Mr CHERIGUENE Abderrahim** Professeur à université de Mostaganem qui a accepté d'être encadreur et orienté au bon chemin et pour m'avoir proposé ce sujet.*

*J'adresse mes plus vifs remerciements à **M^{lle} BOUCHIBANE Malika** Doctorante à université de Mostaganem pour ses conseils scientifiques judicieux et son suivi durant la période de la réalisation de ce travail.*

Nos vifs remerciements à tous les membres de jury pour avoir accepté de juger ce travail :

*Je remercie **Mme CHOUGRANI Fadela** Professeur à université de Mostaganem d'avoir acceptée la présidence du jury de ce modeste travail.*

*Je vive remerciements s'adressent également à **Mme KOUADRI BOUDJELTHIA** maître de conférences à université de Mostaganem d'avoir accepté d'évaluer et d'examiner ce travail*

Mes très spéciaux remerciements reviennent à ma famille et mes amies pour leurs encouragements.

A vous tous, un grand Merci



Dédicace

Avec l'aide de Dieu, j'ai pu réaliser ce modeste travail que je dédie À :

Qui n'aura jamais pu voir le jour sans les soutiens indéfectibles et sans limites de mes chers parents qui ne cessent de me donner avec amour le nécessaire pour que je puisse arriver à ce que je suis aujourd'hui. que Dieu leurs accorde Une longue vie

A mon cher Papa : pour ses précieux conseils et encouragements. Aucune dédicace ne saura exprimée l'amour, l'estime et le respect que j'ai pour toi.

A ma très chère Maman, qui a œuvré pour ma réussite, tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils, pour toute son assistance et sa présence dans ma vie.

A ma belle sœur Wiam A qui je souhaite un avenir radieux plein de réussite

A mes chers frères : MOHAMMED et BADREDINE, j'espère que Dieu leur accordera le succès dans leur vie

A Mes chères camarades et les plus proches : Meriem El Batoul et Fatima qui m'ont beaucoup soutenue moralement dans les pires moments de désespoir, je leur souhaite une vie pleine de succès et supériorité

A toute la promotion de Master 2 Microbiologie Fondamentale 2021/2022

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

Merci !



Résumé

Dans cette étude, 24 souches lactiques appartenant aux trois genres *Lactobacillus*, *Lactococcus* et *Enterococcus* isolées à partir de deux produits laitiers artisanaux « J'ben et Smen » préparés à base du lait cru de vache et identifiées par la technique MALDI-TOF MS ont été revivifiées et purifiées puis testées leurs aptitudes technologiques à savoir : le pouvoir acidifiant, pouvoir protéolytique, pouvoir lipolytique et le pouvoir antimicrobien contre cinq souches pathogènes : *Staphylococcus aureus* (ATCC6538), *Bacillus subtilis* (ATCC6633) , *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Candida albicans* (ATCC10231) et *Proteus mirabilis* (ATCC35659).

Les résultats obtenus indiquent que les souches codées par (BLS1, BLS2, BLS16, BLS17 et BLS22) sont les plus performantes avec un pouvoir acidifiant remarquable, dont les quantités très élevées en acide lactique [103°D à 135°D] et disposent d'un pouvoir protéolytique important (zone de la lyse 17,5 à 33 mm) et présentent un bon pouvoir contre les germes pathogènes utilisés avec des zones d'inhibition qui varient d'une souche à une autre, le pouvoir lipolytique est révélé uniquement chez les trois souches (BLS4, BLS10, BLS11). Les souches qu'on a étudiées révèlent de bonnes propriétés technologiques qui peuvent être exploitées à l'échelle industrielle.

Mots clés :

Souches lactiques, aptitudes technologiques, « J'ben et Smen » , bactéries pathogènes, activité acidifiante.

Abstrat

In this study, 24 lactic strains owned by the three genera *Lactobacillus*, *Lactococcus* and *Enterococcus* isolated from two artisanal dairy products "J'ben and Smen" prepared from raw cow milk and identified by MALDI-TOF MS technique were revived and purified and then tested their technological abilities namely: acidifying power, proteolytic power, lipolytic power and antimicrobial power against five pathogenic strains: *Staphylococcus aureus* (ATCC6538), *Bacillus subtilis* (ATCC6633), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Candida albicans* (ATCC10231) and *Proteus mirabilis* (ATCC35659).

The results obtained indicate that the strains coded by (BLS1, BLS2, BLS16, BLS17 and BLS22) are the most performing with a relevant acidifying power, with very high quantities of lactic acid [103 °D to 135°D] and have an important proteolytic power (lysis zone 17,5 to 33mm) and have a good power against the pathogenic germs used with zones of inhibition that vary from one strain to another, the lipolytic power is revealed only in the three strains (BLS4, BLS10, BLS11). The strains studied show good technological .properties that can be exploited on an industrial scale.

Keywords

Lactic strains, technological aptitude, «J'ben and Smen », pathogenic bacteria, acidifying activity.

ملخص

في هذه الدراسة ، تم إعادة تنشيط وتنقية 24 سلالة من اللاكتيك متكونة من ثلاث أجناس : عصيات اللبنية ، المكورات اللبنية والمكورات المعوية ، معزولة من منتجي الألبان الحرفيين " جبين وسمن " المحضرين من حليب البقر الخام وتم التعرف عليهما بواسطة تقنية MALDI-TOF MS وتم تنقيتها ثم اختبار قدراتهم التكنولوجية وتمثل هذه القدرات في: قوة التحمض ، قوة التحلل للبروتين ، قوة تحلل الدهون ، وقوة مضادات الميكروبات ضد خمس سلالات ممرضة: المكورات العنقودية الذهبية (ATCC6538) ، العصوية الرقيقة (ATCC6633) ، الإشريكية القولونية (ATCC 25922) ، المبيضات البيضاء (ATCC1026531) و المتقلبة الرائعة (ATCC102653)

تشير النتائج التي تم الحصول عليها إلى أن السلالات المشفرة بواسطة (BLS1 و BLS2 و BLS16 و BLS17 و BLS22) هي الأكثر كفاءة مع قدرة تحمضية ملحوظة ، بما في ذلك الكميات العالية جداً من حمض اللاكتيك [D ° 103 إلى D ° 135] ولديها نسبة عالية من اللاكتيك. قوة مهمة لتحلل البروتين (منطقة التحلل 17.5 إلى 33 مم) ولها قوة جيدة ضد الجراثيم المسببة للأمراض المستخدمة مع مناطق التثبيط التي تختلف من سلالة إلى أخرى ، تم الكشف عن قوة التحلل الدهني فقط في السلالات الثلاثة (BLS4 ، BLS10 ، BLS11). تكشف السلالات التي درسناها عن خصائص تكنولوجية جيدة يمكن استغلالها على نطاق صناعي.

الكلمات المفتاحية :

بكتيريا لبنية ، القدرات التكنولوجية ، « جبين وسمن » ، بكتيريا ضارة، القدرة التحمضية.

Liste des abréviations

BL : bactérie lactique.

EMP : Embden-Meyerhof-Parnas.

°D : Degré Dornic.

pH : Potentiel d'hydrogène.

NaOH : Hydroxyde de sodium.

NaCl : Chlorure de Sodium.

CO₂ : Dioxyde de carbone.

DO : Densité optique.

°C : degré Celsius.

T : Température.

h : heure.

V : volume.

% : pour Cent.

mm : millimètre.

µl : microlitre.

ssp : Sous espèce

Liste des figures

Figure 01	Arbre phylogénétique des principaux genres de bactéries lactiques et des genres associés, obtenu par analyse des ARNr 16S	06
Figure 02	<i>Lactobacillus casei</i> au microscope électronique	08
Figure 03	<i>Lactococcus lactis</i> , au microscope électronique	09
Figure 04	<i>Streptococcus thermophilus</i> , au microscope électronique	11
Figure 05	<i>Enterococcus faecalis</i> au microscope électronique	12
Figure 06	<i>Bifidobacterium ssp</i>	13
Figure 07	<i>Pediococcus</i> au microscope électronique.	14
Figure 08	Système protéolytique des bactéries lactiques	16
Figure 09	Principales voies de la lipolyse	17
Figure 10	Troubles constatés après revivification des souches lactiques utilisées	27
Figure 11	Aspect macroscopique des souches lactiques A (<i>Lactococcus lactis</i> BLS23) et B (<i>Enterococcus faecalis</i> BLS25) sur milieu M17 .	27
Figure 12	Aspect macroscopique des souches lactiques A (<i>Lactobacillus Fermentum</i> BLS7) et B (<i>Lactobacillus plantarum</i> BLS2) sur milieu MRS.	28
Figure 13	Aspect microscopique des souches lactiques	28
Figure 14	Evolution du pH pour les souches isolées à partir du produit J'ben	30
Figure 15	Cinétique d'évolution de l'acidité chez les souches isolées du J'ben	31
Figure 16	Evolution du pH pour les souches isolées à partir du produit Smen	32
Figure 17	Cinétique d'évolution de l'acidité chez les souches isolées du Smen	32
Figure 18	Activité protéolytique des souches de bactéries lactiques isolées à partir jben et Smen	34
Figure 19	Activité protéolytique des souches lactiques étudiées après 24 heures d'incubation	34

Figure 20	résultats de l'activité lipolytique	36
Figure 21	Résultats des interactions entre les lactobacilles et <i>Staphylococcus aureus</i> .	37
Figure 22	Activité antibactérienne des souches lactobacilles vis-à-vis <i>Staphylococcus aureus</i>	37
Figure 23	Résultats des interactions entre les lactobacilles et <i>Candida albicans</i>	38
Figure 24	Activité antibactérienne des souches lactobacilles vis-à-vis <i>Candida albicans</i>	38
Figure 25	Résultats des interactions entre les lactobacilles et <i>Proteus mirabilis</i> .	39
Figure 26	Activité antibactérienne des souches lactobacilles vis-à-vis <i>Proteus mirabilis</i> .	39
Figure 27	Résultats des interactions entre les lactobacilles et <i>Bacillus subtilis</i> .	40
Figure 28	Activité antibactérienne des souches lactobacilles vis-à-vis <i>Bacillus subtilis</i> .	40
Figure 29	Résultats des interactions entre les lactobacilles et <i>Escherichia coli</i>	41
Figure 30	Activité antibactérienne des souches lactobacilles vis-à-vis <i>Escherichia coli</i> .	42

Liste des tableaux

Tableau 01	Origine et identification des souches des bactéries lactiques	21
Tableau 02	Germes pathogènes testés	22
Tableau 03	Résultats de l'activité lipolytique sur milieu MRS additionné de 1% tween 80.	35

TABLE DES MATIERES

Résumé

Abstrat

ملخص

Liste des Abréviations

Liste des Figures

Liste des Tableaux

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

Introduction : 1

CHAPITRE I : Bactéries lactiques

I.Bactéries lactiques.....	2
I.1Historique.....	2
I.2Caractéristique des bactéries lactiques..	2
I.3Habitat et origine des bactéries lactique ..	4
I.4Classification des bactéries lactique ..	4
I.4.1Classification classique ..	4
I.4.2Classification moléculaire (génotypique)..	5
I.5Principaux genres ..	7
I.5.1Genre <i>Lactobacillus</i>	7
I.5.2Genre <i>Lactococcus</i> :	9
I.5.3Genre <i>Streptococcus</i> :	10
I.5.4Genre <i>Enterococcus</i>	11
I.5.5Genre <i>Bifidobacterium</i> :	12

I.5.6 Genre <i>Pediococcus</i> :.....	13
I.6 Aptitudes technologiques des bactéries lactiques.....	14
I.6.1 Pouvoir acidifiant.....	14
I.6.2 Aptitude protéolytique	15
I.6.3 Aptitude lipolytiques	16
I.6.4 Activité antimicrobienne	18
I.6.4.1 Acides organiques (acide lactique, acétique et propénoïque)	18
I.6.4.2 Dioxyde de carbone	18
I.6.4.3 Peroxyde d'hydrogène (H ₂ O ₂)	19
I.6.4.4 Diacétyle (C ₄ H ₆ O ₂)... ..	19
I.6.4.5 Reutéline	19
I.6.4.6 Bactériocines	20

CHAPITRES II : Matériel et méthodes

II. Matériel et méthodes	21
II.1 Lieu et objectif	21
II.2 Matériel	21
II.2.1 Matériel biologique	21
II.2.2 Matériel non biologique.....	23
II.3 Méthodes	23
II.3.1 Revivification et vérification de la pureté des souches	23
II.3.2 Conservation des souches.....	24
II.3.3 aptitudes technologiques des bactéries lactiques.....	24
II.3.3.1 Pouvoir acidifiant :.....	24
II.3.3.1 Pouvoir protéolytique.....	25
II.3.3.3 Pouvoir lipolytique :	26
II.3.3.4 Activité antibactérienne	26

CHAPTRES III : Résultats et discussion

III.Résultats et discussion.....	27
III.1Résultats de la purification des souches	27
III.2Résultats des aptitudes technologiques des bactéries lactiques	29
III.2.1Résultats de Pouvoir acidifiant	29
III.2.2Résultats du Pouvoir protéolytique :	33
III.2.3Résultats du pouvoir lipolytique :	34
III.2.4Activité antimicrobienne:	36
III.2.4.1Résultats de l'Activité antibactérienne vis-à-vis Staphylococcus aureus....	36
III.2.4.2Résultats de l'Activité antibactérienne vis-à-vis Candida albicans.....	37
III.2.4.3Résultats de l'Activité antibactérienne vis-à-vis Proteus mirabilis :	38
III.2.4.4Résultats de l'Activité antibactérienne vis-à-vis Bacillus subtilis :	40
III.2.4.5Résultats de l'Activité antibactérienne vis-à-vis Escherichia coli	41
Conclusion	43

Références bibliographiques

Annexe

SYNTHESE

BIBLIOGRAPHIQUE

INTRODCUTION

Introduction

Introduction :

Les bactéries lactiques appartiennent à un groupe de bactéries bénéfiques, elles sont utilisées beaucoup plus dans l'industrie alimentaire.

Les bactéries lactiques réalisent dans les aliments une acidification et peuvent produire plusieurs composés à partir de la fermentation des sucres et l'hydrolyse des protéines et des lipides. Ces composés peuvent être sous forme d'acides organiques, de peptides, de composés aromatiques, d'exopolysaccharides et de composés antimicrobiens pour inhibition des micro-organismes qu'ils soient pathogènes ou d'altération. Cette dernière activité est due à la production de substance antagoniste telle que les acides organiques (acétique et lactique), le peroxyde d'hydrogène, le diacétyl, le reutéline et les bactériocines. Actuellement, les scientifiques exploitent les interactions microbiennes des bactéries lactiques pour réduire d'une façon considérable la présence des micro-organismes indésirable et nuisible. Ces métabolites peuvent contribuer aux caractéristiques organoleptiques, technologiques et nutritionnelles des aliments fermentés (**MOZZI et al., 2010**).

L'objectif recherché à travers cette étude consiste l'évaluation des quelques aptitudes technologiques des bactéries lactiques appartenant aux Genre *Lactobacillus*, *Lactococcus* et *Enterococcus* déjà isolées à partir de deux produits laitiers artisanaux « J'ben et Smen » préparés à base du lait cru de vache. Les aptitudes visées concernent pouvoir acidifiante, pouvoir protéolytique et pouvoir lipolytique. Nous avons finalisé notre travail par l'étude de l'effet inhibiteur de nos isolats lactiques sur des bactéries pathogènes et/ou d'altération.

Chapitre I
Bactéries lactiques

I. Bactéries lactiques

I.1 Historique

Les bactéries lactiques sont des micro-organismes très anciens (**Dridier et Prevost, 2009**). Elles ont été trouvées dans les sédiments il y a 2,75 milliards d'années, bien avant *Pediococcus* et *Streptococcus* que les *cyanobactéries* et aussi l'oxygène n'apparaissent que l'atmosphère (**Belyagoubi, 2014**). Les bactéries lactiques permettent à l'homme de répondre à ces besoins sur le plan nutritionnel, et sont utilisées dans les aliments fermentés depuis plus de 4 000 ans sans les comprendre ni les bases scientifiques de leur utilisation tout en essayant de produire des aliments de meilleure conservation et de meilleure qualité (**Sallofe, 1994**). Les premiers produits fermentés ont certainement été obtenus par acidification spontanée des jus végétaux (vins, bières...) ou par contamination naturelle du lait (yaourts, fromages...) et La fermentation des végétaux (vins, bières) (**Dridier et Prevost, 2009**). Aujourd'hui, les bactéries lactiques représentent le deuxième marché de la Production de biomasse après les levures. (**Brahimi, 2015**). Les premiers genres qui ont été découvert sont : *Lactobacillus*, *Leuconostoc* ; les genres suivants : *Aerococcus*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus*, *Weissella* sont considérés comme les bactéries lactiques plus importantes technologiquement (**Guiraud, 2003 ; Limsowtin et al., 2004**). Au amorce du XXème siècle, Elie Metchnikoff, il a dit la santé des agriculteurs bulgares est liée à la consommation de produits laitiers fermentés Et cela suggère que certains microbes peuvent avoir des effets bénéfiques sur la santé humain. (**Daoudi et al., 2018**)

I.2 Caractéristiques des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques sont décrites pour la première fois par Orla Jenson au début du vingtième siècle (**Orla Jenson, 1919**), et la première définition des bactéries lactiques repose sur la capacité des bactéries à fermenter et coaguler les glucides du lait et à décomposer les protéines et les graisses présentes dans matières premières animales et végétales. (**Mozzi et al., 2010**).

Les bactéries lactiques sont des cellules vivantes, procaryotes hétérotrophes, chimio-organotrophe (**Badis et al., 2005**), hétérogènes présentant des caractéristiques morphologiques, physiologiques, et métaboliques variées (**Drouaute et Corthier, 2001 ; Dridier et Prevost, 2006**).

Ce sont des bactéries à Gram-positif qui regroupent 12 genres bactériens dont les plus étudiés sont *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Enterococcus* et *Pediococcus*. Généralement immobiles et asporulées (**Delaglio et al., 1994**). Catalase et oxydase négative, nitrate réductase négative, anaérobies ou aérotolérantes (**Laurent et al., 1998**), ne possédant pas de cytochrome, elles tirent leurs énergies de la phosphorylation des substrats au cours de la fermentation des sucres (**Atlan et al., 2008**). Très peu d'espèces hydrolysent faiblement la caséine, ne produisant ni indole ni sulfure d'hydrogène (**De Roissart, 1986**) et pas de cycle de Krebs, ni porphyrines (composants de la chaîne respiratoire) et leur croissance requiert des acides aminés, des bases azotées et des vitamines (**Abid, 2015 ; Adeyemo et al., 2017**). Elle ne peut pas respirer car elle ne peut pas synthétiser le noyau hème de porphyrine, mais elles sont capables de métaboliser par fermentation (**Leveau et al., 1991**), Elles sont productrices de l'acide lactique comme produit principal du métabolisme fermentaire. Il y a 3 types de fermentation :

- a) Homofermentaires : l'acide lactique est le seul produit de la fermentation du glucose
- b) Hétérofermentaires facultatifs : La fermentation du glucose conduit à la formation d'acide lactique et d'autres composés : éthanol, CO₂, acide acétique et autre acide organique (**Priyanka et Praksh; 2009, Hadeif, 2012**).
- c) Hétérofermentaires stricts : elles produisent, en plus de l'acide lactique, de l'acide acétique ou de l'éthanol et du dioxyde de carbone (CO₂) par la voie des pentoses phosphates (**Prescott et al., 2003**).

Ces bactéries sont mésophiles avec une croissance de 10 °C à 45 °C (**Zhang et Cai, 2014**) et un optimum entre 25 et 35 °C, mais certaines sont capables de se développer à 5 °C ou 45 °C, elles supportent des pH de 4 à 8. (**Dribine et al., 2018**). Elles peuvent avoir différentes formes : sphériques (coques /genre *streptococcus* et *lactococcus*.), et en bâtonnets (bacilles /genre *lactobacillus*) ou encore ovoïdes (*Leuconostoc ssp.*) (**Boullouf, 2017**), non pathogène (**Alais, 1984**).

Elles ont des exigences nutritionnelles complexes pour les acides aminés, les peptides, les vitamines, les sels, les acides gras et les glucides fermentescibles (**Delaglio et al., 1994 ; Hogg, 2005**), et synthétisent l'ATP grâce à la fermentation des glucides (**Ahrne, 1991**). La teneur en guanine et cytosine est variable de 33 à 54%, ce qui les classe parmi les bactéries à faible pourcentage de G+C (**Muto et Osawa, 1987**).

I.3 Habitat et origine des bactéries lactiques :

Les bactéries lactiques sont des micro-organismes ubiquitaires susceptibles de se trouver dans tous les types d'habitats (**Belyagoubi, 2014**) et elles se trouvent généralement associées à des aliments riches en sucres simples (**König et Fröhlich, 2009**). Les bactéries lactiques peuvent vivre en symbiose entre elles et avec l'hôte. Ils poussent avec de la levure dans le vin, la bière, le pain (**Menad, 2018**). Quelques espèces colonisent le tube digestif de l'homme et des animaux (**Leveau et Bouix, 1993; Hassan et Frank, 2001**). Grâce à leur souplesse d'adaptation physiologique, ces bactéries peuvent coloniser d'autres milieux riches en nutriments clés indispensables à la croissance, loin des perspectives physico-chimiques et biologiques. (**Bechachha et al., 2020**).

Le genre *Lactococcus* sont isolées du lait ou des végétaux qui sont les réservoirs naturels de la majorité de ses espèces (**Bergey's Manual, 2009**).

Les espèces du genre *Lactobacillus* sont présentes dans plusieurs milieux différents : dans le lait et les fromages (*Lb. casei subsp. casei*, *Lb. plantarum*, *Lb. curvatus* et *Lb. brevis*), dans les laits fermentés (*Lb. kefir*, *Lb. brevis* et *Lb. fermentum*), dans les produits végétaux fermentés, les marinades, l'ensilage, le vin et les viandes fraîches ou fermentées (*Lb. brevis*, *Lb. curvatus*, *Lb. buchneri* et *Lb. san francisco*) (**Desmazeaud, 1996**). Certaines espèces se trouvent également dans les voies respiratoires, intestinales et génitales des humains et des animaux (**Bougeurra, 2021**).

I.4 Classification des bactéries lactiques :

Depuis la description du genre *Bacterium lactis* (aujourd'hui *Lactococcus lactis*) La classification des bactéries lactiques est en évolution le nombre de nouvelles espèces a considérablement augmenté au cours des 10 dernières années. L'élaboration de la taxonomie est basée sur un large ensemble de critères regroupant les caractéristiques écologiques, phénotypiques, biochimiques et génétiques (**Pot, 2008**).

I.4.1 Classification classique :

La première classification des bactéries lactiques a été établie en 1919 par Orla-Jensen. Elle est basée sur les caractéristiques phénotypiques classique (physiologiques, biochimiques et morphologiques) Continue d'être efficace pour l'identification préliminaire des micro-organismes (**Lahtinen et al., 2011**) et La morphologie est considérée comme une caractéristique importante pour décrire et classer le genre de bactéries lactiques. Pour cette raison, les bactéries lactiques peuvent être arbitrairement divisées en bacilles (*bacilles*

lactiques et Carnobacteriaceae) et cocci (tous les autres genres). Le genre *Weissella* récemment mentionné est le seul genre qui contient à la fois des bacilles et des cocci, (Collins et al., 1993 ; Ho et al., 2007).

Caractères morphologiques, physiologiques et biochimiques :

- Le type de gram : Gram-positive
- La forme : des cellules microbiennes représentent souvent un caractère distinctif de l'espèce et du genre bactériens (coques ou bâtonnets).
- Le diamètre cellulaire : est un caractère plus stable que la longueur cellulaire
- La mobilité : les bactéries lactiques qui sont généralement non mobiles, sauf dans certains cas où elles possèdent des flagelles péritriches.
- La sporulation: toutes les bactéries lactiques sont non sporulées. La présence de corps d'inclusion intracellulaires, hétérozygotes ou de volutine est caractéristique de certaines espèces du genre *Lactobacillus*, strictement homofermentables (De Roissart et Luquet, 1994 ; Orla –Jensen, 1919).
- Le mode de fermentation du glucose
- la croissance à différentes températures
- La tolérance ou l'intolérance aux fortes concentrations en NaCl 6,5%,18%.
- Résistance aux acides (pH relativement bas), aux milieux alcalins ou à l'éthanol,...etc.
- Les différents métabolismes glucidiques, protéiques, lipidiques
- La composition de la paroi
- Le type d'acides gras cellulaires.
- Le type de quinones (accepteur d'électrons).
- L'hydrolyse de l'arginine, la formation de l'acétone,...etc.

I.4.2 Classification moléculaire (génotypique)

Cette classification basée sur l'hybridation ADN-ADN et le séquençage du gène de l'ARNr 16S, La détermination du % CG a été la première méthode basée sur l'utilisation de l'ADN dans la taxonomie et la classification bactérienne. (Debeyer, 2020).

Cette classification des BL peut être affinée. Elle a permis de regrouper des espèces, créer de nouveaux genres et séparer les autres comme :

- Séparant *Streptococcus sensu stricto*, *Lactococcus* et *Enterococcus* du genre *Streptococcus* (Schleifer et al., 1995)
- Regroupement d'espèces proches de *Lactobacillus* pour créer le genre *Carnobacterium* (Hammes et Hertel, 2006).
- Bactéries isolées de vins du genre *Oenococcus* et groupes de bactéries de vins précédemment affectés au genre *Leuconostoc* (Dicks et al., 1995)
- Il contribue également à la phylogénie du genre *Tetragenococcus* et *Aerococcus* du genre *Pediococcus* (Collins et al., 1990).
- La plupart des BL appartiennent au groupe des bactéries Gram-positives à bas % de G+C (phylum des Firmicutes), et le genre *Bifidobacterium* appartient au groupe des bactéries Gram-positives à forte % de G+C (actinomycètes) figure 01 (Holzapfel et al., 2001).

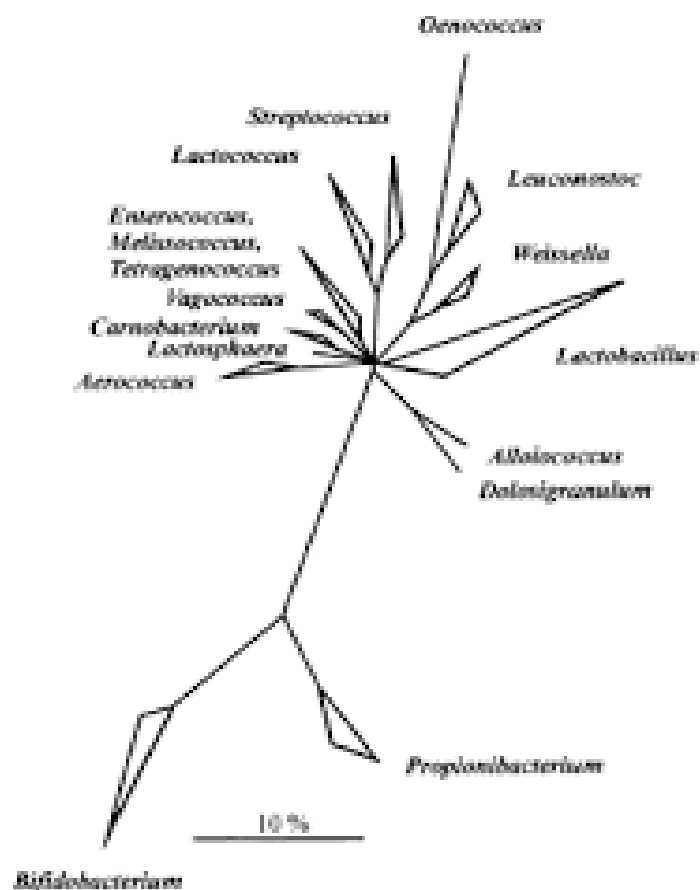


Figure 01 : Arbre phylogénétique des principaux genres de bactéries lactiques et des genres associés, obtenu par analyse des ARNr 16S (Stiles et Holzapfel, 1997).

L'ensemble de critères de classification représente la diversité des bactéries lactiques. Dès 1974, selon le manuel de Bergey (**Holt et al., 1994**), les bactéries lactiques se divisaient en deux familles : celle des *Streptococcaceae* et celle des *Lactobacillaceae* 1985. **Schleifer et al.** ont proposé la division des *streptocoques* en 4 genres génétiquement distincts : *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Vagococcus* et *Lactococcus*, ces deux derniers regroupant les *streptocoques lactiques* (**Dellaglio et al., 1994**).

I.5 Principaux genre

I.5.1 Genre *Lactobacillus* :

Le genre *Lactobacillus* a été décrit pour la première fois par Beijerinck 1901, (**Hanoune, 2017**), et appartient au phylum des Firmicutes, la classe des *Bacilli*, l'ordre *Lactobacillales* et famille des *Lactobacillaceae*. Il représente les genres les plus vastes et les plus hétérogènes largement distribués dans l'environnement végétal, animal et humain (prédominant dans la flore buccale, iléale, colique et vaginale) (**Sherid et al., 2016 ; Menad, 2017**). Ce sont des bactéries longues et fines (parfois recourbées) qui sont souvent regroupées en chaînes et, Gram positive, immobiles, asporulés, catalase, nitrate, gélatine, négative. ces des souches sont acidophiles et peuvent croître à un pH égal à 5 ou moins avec un optimum de 5.5 à 6.2 et se développent à un température optimal entre 30 et 40°C , mais peuvent croître à un intervalle de température allant de 2°C à 53°C (**Hmaar, 2018**) , Ils tolèrent l'oxygène mais se développent bien dans des conditions anaérobies (**Khodja, 2018**)

L'hétérogénéité se reflète dans la gamme des pourcentages GC d'ADN pour les espèces de ce genre qui peut varier de 32 à 55 % (**Zhang et Cai., 2014**). En tant que bactérie la plus importante dans l'industrie alimentaire et la nutrition humaine, certaines espèces de ce genre sont utilisées comme produits fermentés dans la bioconservation des aliments (produits laitiers et carnés, boissons alcoolisées et levains). Ils sont également utilisés comme vecteurs de probiotiques ou de vaccins (**Mermouri, 2018**) et capables de produire des bactériocines et d'autres produits métaboliques comme le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂), le dioxyde de carbone (CO₂) et de diacétyle (**Elfahri, 2012**).

Le genre *Lactobacillus* a été subdivisé par ORLA- JENSEN en 1919 en trois groupes selon leur profil fermentaire et cette classification est encore utilisée en milieu industriel (**Tamime, 2002 ; Guiraud et Rosec, 2004**). :

❖ Groupe I « *Thermobacterium* »

Comprend les *Lactobacilles* homofermentaires thermophiles qui se développent à 45°C mais pas à 15°C, fermente uniquement en acide lactique via l'hexose d'Embden-Meyerhof-Parnas (EMP ou Glycolyse) Ce groupe est constitué d'espèces que l'on retrouve principalement chez l'homme et l'animal et qui participent à l'équilibre du microbiote des organismes vivants. Les espèces les plus connu dans l'alimentation (lait, yaourt, fromage) sont *Lb. helveticus*, *Lb. delbrueckii*, *Lb. acidophilus*.

❖ Groupe II « *Streptobacterium* »

Les *Lactobacilles* homofermentaires facultatifs et mésophiles qui se développent à 15 °C et peuvent devenir hétérofermentables selon le substrat. Fermentation du glucose et du gluconate sans gaz ; le pentose produit de l'acide lactique et de l'acide acétique pendant la fermentation, le fructose est toujours fermenté. Les espèces les plus fréquentes dans l'alimentation sont *Lb. casei*, *Lb. curvatus*, *Lb. sakeet Lb. Plantarum*

❖ Groupe III « *Betabacterium* » :

Ce sont des *lactobacilles* hétérofermentaires obligatoires, c'est-à-dire utilisant la voie des pentoses phosphate qui transforment, les hexoses et les pentoses en acide lactique, éthanol (ou acide acétique) et CO₂ à travers la voie du phosphogluconate. Il comporte les espèces *Lb. fermentum*, *Lb. brevis* et *Lb. sanfransisco*.

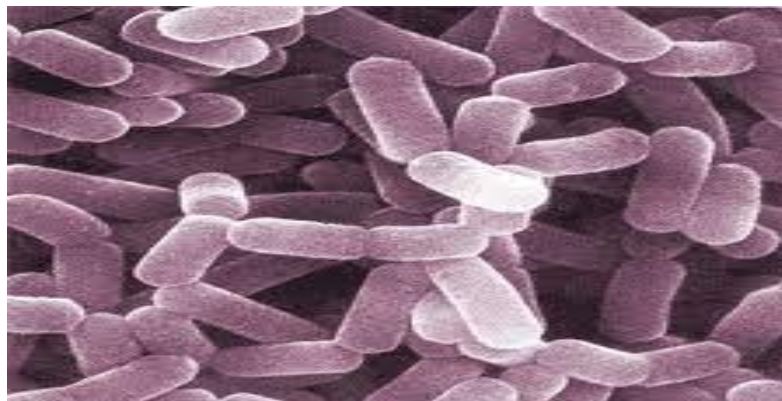


Figure 02: *Lactobacillus casei* au microscope électronique (Corrieu & Luquet, 2008)

I.5.2 Genre *Lactococcus* :

Les *lactoquoques* sont des coques en paire ou en chaînes à Gram positif de 0,5-1,5 µm. Ce sont des bactéries anaérobies facultatives homofermentaires ne produisant que de l'acide lactique L (+) (Kim, 2014 ; Wright, 2012). Leur température optimale de croissance est proche de 30°C, capable de se développer à 10°C mais pas à 45°C, incapable de pousser à pH 9,6 ni dans un milieu concentré à 6.5% de NaCl (Teuber et al., 1995) et se développer à 3% de bleu de méthylène et d'hydrolyser l'arginine (Tammime, 2002).

Les *lactoquoques* peuvent se trouver dans les aliments comme les produits laitiers (lait cru, lait fermenté, beurre, fromage), elles sont utilisées dans l'industrie agroalimentaire et ne possèdent aucun caractère pathogène (Pilet et al., 2005), les espèces les plus importantes sont: *Lactococcus lactis* et *Lactococcus cremoris* (Stiles et Holzappel, 1997). Quelques espèces produisent des exopolysaccharides et des bactériocines est couramment utilisé comme additif alimentaire (E234) pour la conservation de certains aliments, dont la viande. C'est aussi la seule bactériocine qui peut être également utilisée comme conservateur (Khoudja, 2018).

Le genre *Lactococcus* contient cinq espèces, et *Lactococcus lactis* (Figure3) est l'espèce la plus connue avec trois sous-espèces : *Lc. lactis ssp. lactis*, *Lc. lactis ssp. cremoris* et *Lc. lactis ssp. hordniae* (Corrieu et Luquet, 2008). Et selon Guiraud (1998), le genre *Lactococcus* est aussi représenté par les espèces suivantes : *Lc. lactis ssp cremoris*, *Lc. Lactis ssp lactis* et *Lc. diacetylactis*, la sous espèce *Streptococcus lactis ssp diacetylactis* est remplacée par la sous espèce *Lactococcus lactis ssp lactis*.



Figure 03: *Lactococcus lactis*, au microscope électronique (Corrieu et Luquet, 2008).

I.5.3 Genre *Streptococcus* :

Le genre *Streptococcus* La famille de *Streptococcaceae* ou famille des *Streptocoques* et il comprend deux genres : le genre *Streptococcus* avec les *Streptocoques sensu*, les Pneumocoques et Le genre *Entérocoques* (**Patel et Gupta., 2018 ; Park et al., 2019**) . Englobant les *streptocoques* lactiques, anaérobie facultatif , Gram positif, catalase négative, ont la forme sphérique ou ovoïde disposées par paires, en tétrades ou en chaînettes, moins de 2µm de diamètre , non mobile et un faible contenu en G +C.(**Wijzes et al., 1997**). La fermentation des glucides produit principalement de l'acide lactique, mais pas de gaz. Le peptidoglycane appartient au groupe A et la température de croissance optimale est de 37°C. La majorité des *streptocoques* sont des pathogènes comme *S. pyogenes* et *S. agalactiae* d'autres sont impliquées dans la formation de la plaque dentaire (*S. mutans*) et il colonise la membrane muqueuse des humains et des animaux et est commun dans la peau, la gorge et les voies respiratoires supérieures. (**Krzyściak et al., 2013**) ; (**Axelsson, 2004 ; Hardie et Whiley, 2006**)

Ce genre est généralement divisé en trois groupes : pyogène (la plupart des espèces pathogènes et hémolytiques), oral (tel que *St. salivarius*, *St. bovis*) et les autres *streptocoques* (**Scheilfer, 1987**). La seule espèce de *streptocoque* utilisée en technologie alimentaire est *Streptococcus thermophilus*, qui a été incluse dans le groupe des « autres *streptocoques* », mais ensuite transféré au groupe des *streptocoques* oraux à cause de leur degré d'homologie avec l'ADN de *Streptococcus salivarius*. (**Stiles et Holzapfel, 1997**).

L'espèce *Streptococcus thermophilus*, largement utilisée dans le lait et les produits laitiers comme acidulant, possède le statut GRAS (Generally Recognized As Safe) et est utilisée dans certains produits probiotiques. La résistance à la température, la capacité de se développer à 52°C et le nombre limité déshydrates de carbones permettent de distinguer les *St. thermophilus* de la plupart des autres *streptocoques* (**Haddie, 1986 ; Pilet et al., 2005**)



Figure 04: *Streptococcus thermophilus*, au microscope électronique (Corrieu et Luquet, 2008).

I.5.4 Genre *Enterococcus*:

Les *entérocoques* sont des coques ovoïdes, généralement groupés isolés, en paires, en chaînettes ou en amas et leur morphologie peut varier selon les conditions de culture (Devriese et al., 1993). Il s'agit de bactéries à Gram positif, immobiles, aéro-anaérobies, généralement catalase négative, non sporulées (Ruiz-Moyano et al., 2008). Par ailleurs, il est caractérisé par ses capacités à croître à des valeurs de pH élevées 9,6 et croissance température optimale de 35°C à 37°C, de résister à l'acidité, et de se développer en présence de concentrations salines élevées (Zhang et Cai, 2014 ; Hanchi et al., 2018)

Le genre *Enterococcus* représentent le groupe des *entérocoques*, ils sont composés de *Streptocoques fécaux* (*Enterococcus faecalis* et *Enterococcus faecium*) toutes les deux sont utilisées comme probiotiques Figure 5, (Tammime, 2002 ; Ho et al., 2007). Plusieurs souches d'*Enterococcus faecium* ont des effets bénéfiques sur la croissance des animaux par compétition avec des bactéries pathogènes (Bendimerad, 2013 ; Isnard, 2017)

Les *entérocoques* sont naturellement présents dans l'eau de mer, l'eau douce, les eaux usées, sur les plantes, le lait et les produits laitiers, les produits à base de viande et les produits à base de poisson (Devriese et al., 2002 ; Foulquie –Moreno et al., 2006). Ils sont également isolés des intestins, des matières fécales et de la peau des humains et des animaux. (Felis et Dellaglio, 2007).

Elles peuvent jouer un rôle bénéfique dans la maturation et le développement de l'arôme de certains produits alimentaires traditionnellement fermentés tels que les fromages et la charcuterie. Elles sont également utilisés comme probiotiques humains,

pour traiter les maladies diarrhéiques causées par pathogènes d'origine alimentaire (Jouber, 2016).



Figure 05 : *Enterococcus faecalis* au microscope électronique (Wallace et al, 2003)

I.5.5 Genre *Bifidobacterium* :

Traditionnellement, le genre *Bifidobacterium* a été associé aux bactéries lactiques. Par la suite, il a été séparé après l'analyse de son contenu G+C (entre 55 et 67%, beaucoup plus élevé que celui des *lactobacilles*) et affecté au phylum des *Actinobacteria* (Gomez et Malcata, 1999 ; Leahy et al., 2005). C'est une bactérie Gram positif, immobile, ne produit pas de gaz, et sous formes différentes (coccoïde, allongée avec des protubérances et des bifurcations en forme « Y » ou « V ») pas de spores. Bien qu'il s'agisse de bactéries anaérobies, certaines espèces tolèrent l'O₂ en présence ou en l'absence de CO₂. Ces dernières sont dépourvues de la catalase, (Mattarelli et Biavati, 2014).

Les *bifodobactéries* sont des bactéries commensales de l'homme, elles sont également retrouvées chez les animaux (Biavati et al., 2000). La température de croissance varie de 36°C à 43°C et pH optimal de croissance autour de 6.5 à 7 (Ho et al., 2007).

La présence de l'enzyme fructose-6-phosphate phosphocétolase leurs permettent de fermenter les hexoses et produire l'acide acétique et l'acide lactique, et sans production de dioxyde de carbone pas de production d'ammoniaque ou de H₂S à partir des acides aminés et elles ne réduisent pas les nitrites en nitrates (Lansing et al., 2003 ; Axelsson, 2004 ; Pilet et al., 2005). Le *Bifidobacterium* est présent dans la flore intestinale du nouveau-né environ 95% du microbiote et 3% de l'adulte. Il est utilisé autant que probiotiques, à travers divers produits comme par exemple : les laits fermentés, des fromages, yaourts. Sa

présence provoque un effet anti-infectieux au niveau intestinal à cause de la présence d'un facteur bifidogène. *Bifidobacterium* est phylogéniquement proche des *Actinomycètes* alors que les autres bactéries sont proches des clostridies



Figure 6 : *Bifidobacterium ssp* (Wallace et al., 2003)

I.5.6 Genre *Pediococcus* :

Le genre *Pediococcus* sont des coques homofermentaires dont la particularité est le regroupement en tétrade (Figure 7). Ils sont des bactéries à Gram positif, oxydase-négatives, catalase négative, teneur de GC % varie de 34% à 44%, immobiles, et mésophiles, le plus souvent incapable d'utiliser le lactose, le développement de ce genre nécessite la présence de divers facteurs de croissance (**Simpson et Taguchi, 1995**). Selon les espèces, leurs températures optimales de croissance se situent entre 25°C et 40°C et PH 5. Leurs exigences nutritionnelles, leurs faibles activités protéolytiques et le plus souvent leurs incapacités à utiliser le lactose. Ils ne sont pas en mesure de réduire le nitrate (**Holzappel et al., 2009 ; Lahtinen et al., 2012**).

Les bactéries de ce genre qui produisent des bactériocines ne sont pas adaptées à la production de produits laitiers fermentés en raison du manque de lactose ou d'une fermentation lente. (**Papagainni et Anastasiadou, 2009**). En revanche, la souche *Pediococcus acidilactici* productrice de pédiocine PA—1/AcH s'est révélée être responsable de la bonne conservation de la viande en diminuant les populations de *Listeria monocytogenes* et de *Clostridium perfringens* (**Rodriguez et al., 2002**). 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**). et jouer un rôle crucial dans la fabrication des produits alimentaires à concentration élevée en sel comme les sauces de

soja, alors que les *pediocoques* sont parfois utilisés comme levains lactiques pour les charcuteries (Guiraud., 1998 ; Tosukhowong et al., 2005).

Le genre *Pediococcus* comprend 11 espèces : *P. acidilactici*, *P. argentanicus*, *P. cellicola*, *P. claussenii*, *P.damnosus*, *P. ethanolidurans*, *P.inopinatus*, *P. parvulus*, *P. pentosaceus*, *P.siamensis* et *P. stilesii* (Zhang et Cai, 2014).

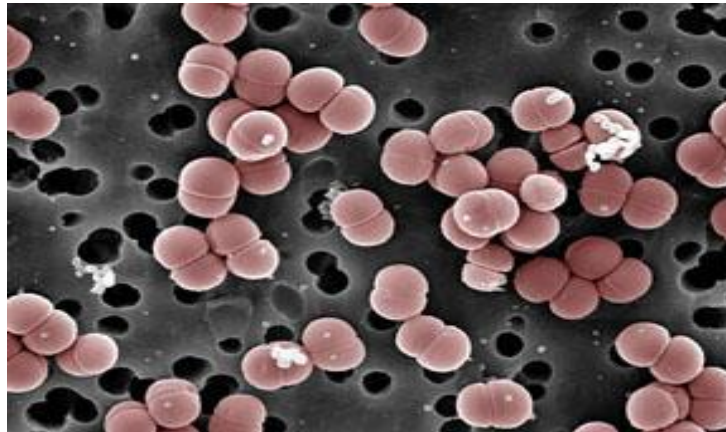


Figure 07 : *Pediococcus* au microscope électronique (Wallace et al., 2003).

I.6 Aptitudes technologiques des bactéries lactiques:

I.6.1 Pouvoir acidifiant:

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

Dans la fabrication des produits fermentés, les bactéries lactiques provenant des matières premières ou de l'environnement sont responsables de la production d'acide lactique résultant de l'utilisation des hydrates de carbone et, par conséquent, de la chute du pH. Dans la fermentation homolactique, l'acide lactique est le produit prépondérant (plus de 95%). Cette activité est faible chez le genre *Leuconostoc* lorsqu'il croît à des bas pH, et forte chez *Lactobacillus bulgaricus* (Badis et al., 2004).

Les résultats physicochimiques et microbiologiques du phénomène acide des bactéries lactiques peuvent être résumés comme suit (Béal et al., 2008) :

- ✓ Accumulation d'acide lactique participant à la saveur des aliments fermentés

- ✓ Déstabilisation des micelles de caséines, coagulation des laits et participation à la synérèse. (Allouache et al., 2017)
- ✓ Limitation des risques de développement de flore pathogène et d'altération dans les produits finaux ;
- ✓ Abaissement progressif du pH.

I.6.2 Aptitude protéolytique :

Le système protéolytique des bactéries lactiques est composé de protéases qui peuvent être des aminopeptidases, des dipeptidases ou des tripeptidases situées dans le cytoplasme ou associées à la paroi cellulaire, qui hydrolysent initialement les protéines en peptides contenant 7 à 16 résidus aminés (Kamaly et Marth, 1989). Ces peptides sont ensuite dégradés par des endopeptidases ou exopeptidases en acides aminés et oligopeptides facilement transférables à travers les parois cellulaires (Lane et Fox, 1996 ; Lynch et al., 1997 ; Belkhir, 2017)

La dégradation des acides aminés est une voie importante dans la formation des molécules aromatiques (alcools, aldéhydes, acides organiques...) car elle peut être une source d'énergie pour certaines bactéries lactiques en cas de carence en nutriments (Williams et al., 2001).

Les bactéries lactiques démontrent des potentialités différentes, liées à leur équipement enzymatique, pour l'utilisation de la fraction azotée. Les *Lactobacilles* présentent généralement une activité protéolytique plus prononcée que les *Lactocoques* (Donkor et al., 2007 ; Monnet et al., 2008 ; Roudj et al., 2009).

La protéolyse joue un rôle important dans plusieurs processus biologiques des bactéries lactiques : nutrition azotée, activation des protéines et protéolyse. Le mécanisme protéolytique des bactéries lactiques est composé d'une série d'enzymes avec différents mécanismes catalytiques, spécificité pour l'hydrolyse, leur localisation cellulaire et leur rôle. Les bactéries lactiques possèdent un système protéolytique complexe qui assure leur croissance dans des milieux à faibles concentrations d'acides aminés libres et d'oligopeptides comme le lait. (Kawai et al., 1999 ; Vasiljevic et al., 2005). L'activité protéolytique des bactéries lactiques reste faible par rapport à l'activité protéolytique des autres genres bactériens (Giraffa, 2003).

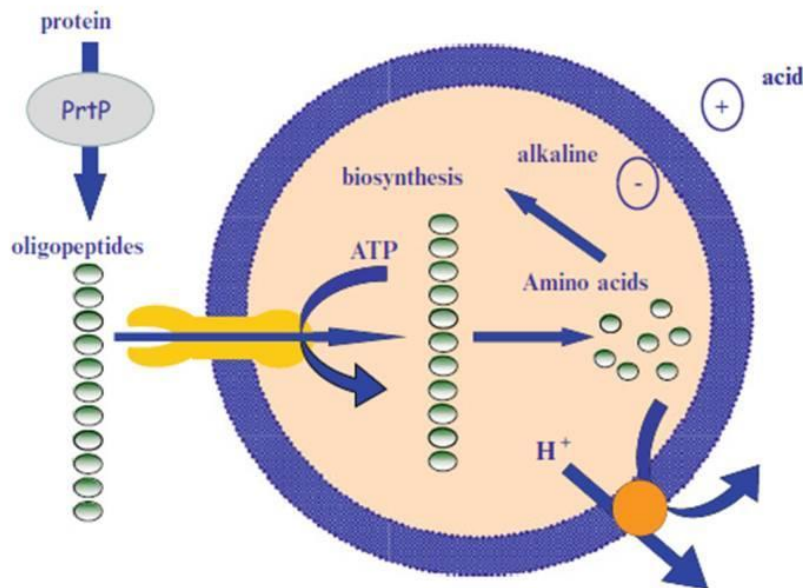


Figure 08 : Système protéolytique des bactéries lactiques (Kunji et al., 1996)

L'incapacité des bactéries lactiques à synthétiser les acides aminés nécessaires à la synthèse des protéines nécessite un fonctionnement actif de leurs systèmes protéolytiques dans un environnement où les protéines constituent la principale source d'azote. Ces systèmes sont complexes en raison du nombre et du type de protéases et de peptidases présentes, mais aussi en raison de leurs localisations intracellulaires (Law et Haandrikman, 1997)

I.6.3 Aptitude lipolytique :

La lipolyse a été largement étudiée dans le secteur alimentaire. Il joue un rôle important dans la production de composés aromatiques dans les produits transformés tels que les jambons et les saucissons secs, mais il peut également provoquer des altérations (Nguyet, 2008 ; Franz et al., 2003). Les bactéries lactiques sont considérées comme faiblement lipolytiques par rapport aux autres bactéries telles que *Pseudomonas*, *Bacillus* et *Achromobacter* (Benmouna, 2019).

L'ajout de lipase extrinsèque augmente significativement et rapidement la concentration en acides gras libres des produits fermentés et raccourcit leur durée de maturation, mais n'améliore pas systématiquement leur goût (Zalacian et al., 1996).

De manière générale, on distingue les estérases qui hydrolysent de façon préférentielle les esters formés avec les acides gras à chaîne courte (C2-C8) et les lipases actives avec des substrats émulsifiés avec les acides gras à longue chaîne ($> C8$), ces enzymes sont impliquées dans l'hydrolyse de mono, di, et triglycérides (**Béal et al., 2008 ; Serhan et al., 2009**)

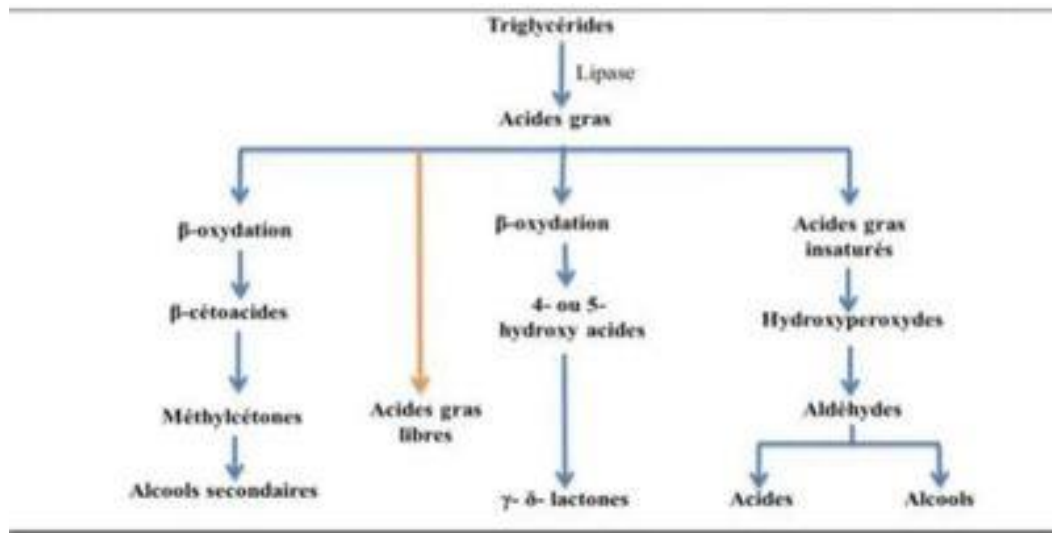


Figure 09 : Principales voies de la lipolyse (Siegumfeldt et al., 2000).

L'augmentation de la concentration et de la disponibilité des substrats d'estérase (alcools et acides gras) a amélioré la synthèse d'esters par plusieurs bactéries lactiques dans le système de fromage modèle (**Window, 2003 ; Holland et al., 2005**). Cela souligne l'importance des voies métaboliques pour la production d'alcool et d'acides gras. Ceux-ci doivent également

I.6.4 Activité antimicrobienne :

On sait depuis longtemps que les bactéries lactiques ont la propriété de produire des substances antibactériennes, qui sont généralement utilisées comme produits fermentés pour développer des propriétés caractéristiques organoleptiques et la bioconservation des aliments. (**Labioui et al., 2005**).

L'activité antagoniste des bactéries lactiques est due aux métabolites excrétés : sont des acides organiques (principalement l'acide lactique), le peroxyde d'hydrogène, le dioxyde de carbone, le diacétyle (le 2,3-butanedione), la reutéline et les bactériocines (**Ammor et al., 2006 ; Leveau et al., 1991 ; Klaenhammer et al., 1994 ; De Vuyst et Leroy, 2007**).

I.6.4.1 Acides organiques (acide lactique, acétique et propénoïque) :

Le métabolisme principal des bactéries lactiques conduit à la production importante d'acides organiques. Les acides organiques sont produits soit par des bactéries homofermentaires, soit par des bactéries hétérofermentaires (**Liu, 2003**). L'acide lactique est le métabolite des bactéries lactiques causant la réduction du pH qui inhibe beaucoup de microorganismes (des bactéries, des levures et des moisissures) (**Schnürer et Magnusson, 2005**). La forme non dissociée et plus hydrophobe de l'acide se répand au-dessus de la membrane des cellules et se dissocié à l'intérieur de la cellule, libérant les ions H⁺ qui acidifient le cytoplasme (**Piard et Desmazeaud, 1991**).

De manière générale, la production d'acides organiques permet d'acidifier le milieu, ce qui peut limiter la croissance de certaines bactéries, dont les bactéries pathogènes indésirables. Par conséquent, les acides organiques ont différentes action tels qu'une excellente activité bactéricide et un effet bactériostatique contre les micro-organismes pathogènes générés dans le tube digestif. Les acides organiques font partie des conservateurs alimentaires classiques et sont reconnus comme additifs alimentaires (**Brul et Coote, 1999**).

I.6.4.2 Dioxyde de carbone :

Il se forme lors de la fermentation hétérolactique et crée un environnement anaérobie qui inhibe les micro-organismes aérobies. L'accumulation de dioxyde de carbone dans la bicouche lipidique peut altérer la perméabilité. Par conséquent, le CO₂ peut efficacement inhiber la croissance de nombreuses bactéries d'altération et essentiellement des bactéries psychotrophes à Gram négatif. (**Ammor et al., 2006**).

De faibles concentrations de dioxyde de carbone peuvent stimuler la croissance de certains organismes, mais des concentrations élevées peuvent inhiber la croissance. En raison de son activité antimicrobienne, le dioxyde de carbone est maintenant couramment utilisé comme ingrédient clé dans les emballages sous atmosphère réglementée. Les bactéries Gram-négatives sont plus sensibles au dioxyde de carbone que les bactéries Gram-positives (**Ouehand et Vesterlund, 2004 ; Zalan et al., 2010**).

I.6.4.3 Peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) :

L'implication du peroxyde d'hydrogène dans le phénomène d'inhibition par les bactéries lactiques a été établie. Depuis **1952**, ils montrent que l'inhibiteur est en fait du peroxyde d'hydrogène produit par *Lactobacillus* (**Mathot et al., 1996**).

Le peroxyde d'hydrogène est reconnu depuis longtemps comme un agent majeur pour l'activité antimicrobienne des bactéries lactiques, en particulier des *Lactobacilles* (Price et Lee, 1970). En oxydant les lipides membranaires et en détruisant la structure protéique des cellules, divers micro-organismes peuvent être accumulés et inhibés. (Zalan et al., 2005).

I.6.4.4 La diacétyle (C₄H₆O₂)

Le diacétyle (C₄H₆O₂) est un composé aromatique produit par les bactéries lactiques et est un inhibiteur efficace contre de nombreux micro-organismes, bactéries ou moisissures. L'effet inhibiteur était renforcé dans les milieux acides et les bactéries Gram-négatives étaient plus sensibles au diacétyle que les bactéries Gram-positives. (Mathot et al., 1996).

Il est produit par des bactéries lactiques de divers genres tels que *Lactococcus*, *Leuconostocaceae* et *Lactobacillus*. Et le genre *Pediococcus*. Synthétisée (El Ziney et al., 1998), cette molécule se caractérise par une large gamme d'activité antibactérienne à des concentrations allant de 200 à 1000 µg/ml (Lanciotti et al., 2003), et à 344 µg/ml inhibe les souches de *Listeria*, *Salmonella*, *Yarsinia*, *Escherichia coli* et *Aeromonas* (Ammor et al., 2006).

I.6.4.5 Reutéline :

La reutéline (ou 3-hydroxypropionaldéhyde) est une substance antibactérienne produite lors de la fermentation anaérobie du glycérol par certaines espèces de *Lactobacillus* et d'autres bactéries non lactiques telles que *Bacillus*, *Klebsiella*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Clostridium* (El Ziney et al., 1998). Reuterin a un large éventail d'activités. Efficace contre les procaryotes (gram-positifs ou gram-négatifs), les eucaryotes, les virus, les champignons et les protozoaires. Interfère avec la réplication de l'ADN. Elle s'applique aussi bien au domaine médical qu'à l'industrie alimentaire (Vollenweider, 2004).

I.6.4.6 Bactériocines :

La première bactériocine a été détectée par André Gratia en (1925). André Gratia a observé que la croissance de certaines souches d'*E. coli* était inhibé en présence d'un composé antibactérien qu'il nomma colicine V.

La bactériocine produite par les bactéries lactiques est une substance antimicrobienne de poids moléculaire différent. Ils ont une activité inhibitrice dirigée

contre les bactéries proches de la bactérie productrice et leur rayon d'action est généralement étroit. Les plus connus sont la nisine, la diprocosine, l'acidophiline et le bulgarican (**Ogunbanwo et al., 2003 ; Dortu et Thonart, 2009**). La plupart des bactériocines ont des pores dans la membrane de la bactérie cible. Basé sur, il a le même mécanisme d'action (**De Vuyst et Leroy, 2007 ; Kumari et al., 2009**).

La bactériocine est un autre composé antibactérien, **Topisirovic et al. (2006)** . Il a été montré que plusieurs souches d'origine orale montrant une bonne activité inhibitrice contre *Staphylococcus aureus* sont identifiées comme *Lb. Paracasei* BGSJ28 et BGBUK216, et sont producteurs de bactériocines BacS.

PARTIE
EXPERIMENTALE

Chapitre II

Matériel et méthodes

II. Matériel et méthodes :

II.1 Lieu et objectif

L'intégralité de ce travail a été réalisée au sein du laboratoire de technologie alimentaire et nutrition de l'université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem, durant la période allant de Avril à Juin de l'année 2022. Notre objectif consiste à tester certaines aptitudes technologiques (activité acidifiante, protéolytique, lipolytique et antimicrobienne) des souches lactiques isolées à partir de deux produits laitiers artisanaux « J'ben et Smen » préparés à base du lait cru de vache.

II.2 Matériel

II.2.1 Matériel biologique

Lors de ce travail ,24 souches de bactéries lactiques (Tableau 01) ont été utilisées pour étudier leurs aptitudes technologiques qui ont été isolées, purifiées et identifiées par une technique moléculaire (Spectrométrie de masse MALDI-TOF MS) par notre Co-Encadreur doctorante M^{lle} BOUCHIBANE Malika.

Cinq germes pathogènes (Tableau 02) ont été utilisés pour étudier l'activité antimicrobienne.

Tableau 1 : Origine et identification des souches des bactéries lactiques

Code des souches	Origine	Score d'identification MALDI-TOF MS	Identification
BLS1	J'ben	2.152	<i>Lactobacillus plantarum</i>
BLS2		1.857	<i>Lactobacillus plantarum</i>
BLS3		2.012	<i>Lactobacillus plantarum</i>
BLS4		2.059	<i>Lactobacillus</i>
BLS5		2.124	<i>Fermentum</i> <i>Lactobacillus plantarum</i>

Chapitre II : Matériel et méthodes

BLS6		2.213	<i>Lactobacillus plantarum</i>
BLS7		1.929	<i>Lactobacillus</i>
BLS8	Smen	2.031	<i>Lactobacillus</i>
			<i>Fermentum</i>
BLS10		2.016	<i>Lactobacillus plantarum</i>
BLS11	J'ben	1.71	<i>Lactobacillus plantarum</i>
BLS12		1.905	<i>Lactobacillus</i>
			<i>Fermentum</i>
BLS13		1.71	<i>Lactobacillus plantarum</i>
BLS14		1.831	<i>Lactobacillus</i>
			<i>Fermentum</i>
BLS15	Smen	1.965	<i>Lactobacillus</i>
			<i>Fermentum</i>
BLS16		1.859	<i>Lactobacillus</i>
			<i>Fermentum</i>
BLS17	J'ben	1.963	<i>Lactobacillus plantarum</i>
BLS18		1.9555	<i>Lactobacillus</i>
	Smen		<i>Fermentum</i>
BLS19		1.9	<i>Lactobacillus</i>
	J'ben		<i>Fermentum</i>
BLS20	J'ben	2.186	<i>Lactobacillus plantarum</i>
BLS21		1.998	<i>Lactobacillus</i>
	Smen		<i>Fermentum</i>
BLS22		2.117	<i>Lactobacillus plantarum</i>
BLS23	J'ben	2.267	<i>Lactococcus lactis</i>
BLS24		2.298	<i>Enterococcus faecalis</i>
BLS25	Smen	2.298	<i>Enterococcus faecalis</i>

Tableau 2 : Germes pathogènes testés

Souches	Code
<i>Bacillus subtilis</i>	ATCC6633
<i>Candida albicans</i>	ATCC10231
<i>Escherichia coli</i>	ATCC25922
<i>Proteus mirabilis</i>	ATCC35659
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC6538

II.2.2 Matériel non biologique

Milieux de culture et Appareillage (Annexe I).

II.3 Méthodes

II.3.1 Revivification et vérification de la pureté des souches

Les souches qui ont été conservées auparavant dans le glycérol sont revivifiées par deux repiquages sur les bouillons MRS et M17 à 37°C pendant 24h. L'apparition d'un trouble dans les milieux indique la croissance des souches. La vérification de la pureté des souches est réalisée par un ensemencement en stries sur géloses MRS et M17 et incubation à 37 °C pendant 48 à 72h. Cette opération est répétée deux fois, puis un examen macroscopique et microscopique a été effectué pour valider leur purification.

- **Examen macroscopique :**

La morphologie des colonies se manifeste par l'observation à l'œil nu et sont étudiées à partir des cultures obtenues sur la gélose MRS. Elle consiste à étudier la forme, l'aspect, le contour, la surface et la couleur des colonies.

- **Examen microscopique (coloration de Gram) :**

La coloration de Gram est la première étape de l'identification

Déposer sur une lame propre une goutte d'eau physiologique stérile.

- Prélever Une colonie à partir d'une culture sur boîte à l'aide d'une anse de platine ou pipettes pasteur.

Chapitre II : Matériel et méthodes

- La lame a ensuite été séchée à l'air libre, passée à la flamme afin de fixer l'échantillon
- ❖ Après fixation, la lame a été posée sur un porte-objet et commencé par la coloration de Gram:
 - ✓ Recouvrir la lame de Violet de gentiane et laisser agir 1 minute. Violet de gentiane
 - ✓ Rincer rapidement à l'eau du robinet et éliminer l'excès d'eau.
 - ✓ Recouvrir la lame de Lugol et laisser agir 1 minute .
 - ✓ Rincer rapidement à l'eau du robinet et éliminer l'excès d'eau.
 - ✓ Recouvrir la lame de l'alcool pendant 30 secondes.
 - ✓ Rincer rapidement à l'eau du robinet et éliminer l'excès d'eau.
 - ✓ Recouvrir la lame de fuschine pendant 1 minute.
 - ✓ Rincer rapidement à l'eau du robinet et éliminer l'excès d'eau.
 - ✓ Sécher puis observer au microscope (objectif x100 à immersion).

II.3.2 Conservation des souches

Une conservation de courte durée est effectuée par repiquage de chaque souche pure dans les bouillons MRS et M17 pendant 18 h puis chaque souche estensemencée sur géloses inclinées et incubée à 37°C pendant 18h, ensuite les souches sont conservées à 4 à 6°C pendant un mois.

II.3.3 Aptitudes technologiques des bactéries lactiques:

II.3.3.1 Pouvoir acidifiant :

L'un des caractères technologiques essentiels des bactéries lactiques est leur pouvoir à l'acidification du lait qui dépend de pouvoir à la fermentation du lactose et de la résistance à l'acide développé dans le lait écrémé stérile. La mesure de l'activité acidifiante consiste à suivre d'une part l'évolution du pH des différentes cultures en fonction du temps et d'autre part à doser simultanément l'acidité totale par la soude (**Hadef, 2012**).

Chaque souche a étéensemencée d'abord sur milieu MRS ou M17 liquide et incubée à 37°C pendant 18 h.

On prépare le lait écrémé 10%, et nous remplissons dans des flacons stériles à un volume de 100ml et 10 ml dans les tubes à essai stériles.

Chapitre II : Matériel et méthodes

On ensemence les tubes contenant le lait écrémé par 100µl d'une culture lactique jeune (18h) et incubé à 37°C pendant 18h.

Après 18h d'incubation on agite les tubes bien par vortex et on transvase le contenu de chaque tube dans un flacon contenant 100 ml de lait écrémé stérile

Pendant l'incubation des flacons à 37°C durant 24 h, les mesures du pH et de l'acidité Dornic ont été prises toutes les 2 heures à partir du temps zéro (le début de l'incubation)

On verse 10 ml d'un flacon dans un bécher, on y ajoute 3 gouttes de phénolphtaléine (indicateur de pH), puis on titre (on ajoute goutte à goutte à l'aide d'une burette) du NaOH tout en remuant le bécher, jusqu'à l'apparition d'une couleur rose pâle persistant au moins 10 secondes et On note alors le volume de la soude écoulee, et les résultats sont exprimés en °D (**Larpen, 1997**)

La formule de L'acidité Dornic est déterminée par :

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

Où : V NaOH : volume de NaOH utilisé pour titrer l'acide lactique contenu dans les 10 ml de lait.

- **Mesure du pH**

La mesure du pH est faite directement par le pH-mètre, en plongeant l'électrode dans le volume de lait. Le pH a été déterminé à chaque fois que nous procédions au dosage de l'acide lactique. (**Guiraud, 2003**).

II.3.3.2 Pouvoir protéolytique

Pour déterminer l'activité protéolytique des bactéries lactiques, la gélose PCA additionnée de lait écrémé à 10% (10 ml de lait dans 100 ml de PCA) a été coulée, solidifiée et séchée puis Les bactéries à tester, issues d'une culture jeune (18h), ont été ensemencées à la surface de ces milieux de cultures par touche.

Après incubation à 37°C pendant 24h à 48h, la protéolyse est révélée par l'apparition d'un halo clair autour des colonies. (**Van Den Berg et al., 1993**)

II.3.3.3 *Pouvoir lipolytique*

L'activité lipolytique est recherchée sur milieu MRS tamponné à pH 7 et additionné de 1% de Tween 80 (source lipidiques artificielles) et 0,1 de CaCl₂ dans 1000 ml de l'eau distillée.

Les souches isolées ont été ensemencées par touche à la surface à partir des cultures bactérienne fraîches (18h). Après une incubation à 37 °C pendant 5 à 7 jours, la lipolyse est révélée par une zone d'éclaircissement autour des touches (**Guiraud; Galzy, 1980 ; Karam, 2012**).

II.3.3.4 *Activité antibactérienne*

Ce test consiste à étudier l'activité inhibitrice des bactéries lactiques vis-à-vis des souches indicatrices. Il s'agit de cinq souches : *Escherichia coli* (ATCC25922), *Bacillus subtilis*(ATCC6633), *Candida albicans* (ATCC10231), *Staphylococcus aureus* (ATCC6538), *Proteus mirabilis* (ATCC35659). la technique décrite par (**Fleming et al., 1975**) a été adoptée avec une légère modification .

- Repiquage des souches indicatrices (pathogène) dans le bouillon BN et incubé 37 °C pendant 18 h.
- Le milieu Mueller-Hinton est coulé dans des boîtes de Pétri stériles
- On mesure la densité optique des souches indicatrices par spectrophotomètre (la DO₆₀₀ varie entre 0,08 et 0,1)
- les boîtes sont ensemencées en surface par la suspension de la souche pathogène (la DO₆₀₀ varie entre 0,08 et 0,1) avec un écouvillon stérile.
- Nous mettons des puits de 6 mm de diamètre sont confectionnés stérilement, et seront remplis par 100µl de culture bactérienne jeune (18h).
- Les boîtes de Pétri sont mises à une température de +4°C pendant 30 min à 1 heures pour permettre la bonne diffusion des substances inhibitrices
- Après une incubation à 37°C pendant 24 heures, l'activité antimicrobienne se révèle par l'apparition de zones d'inhibition autour des puits et les diamètres des zones sont mesurés.

Chapitre III

Résultats et discussion

III. Résultats et discussion

III.1 Résultats de la purification des souches

❖ Résultats de l'examen macroscopique

Un total de 24 souches a été revivifié et purifiées sur bouillon et sur gélose. Sur le bouillon, les souches présentent un trouble qui caractérise leur croissance.

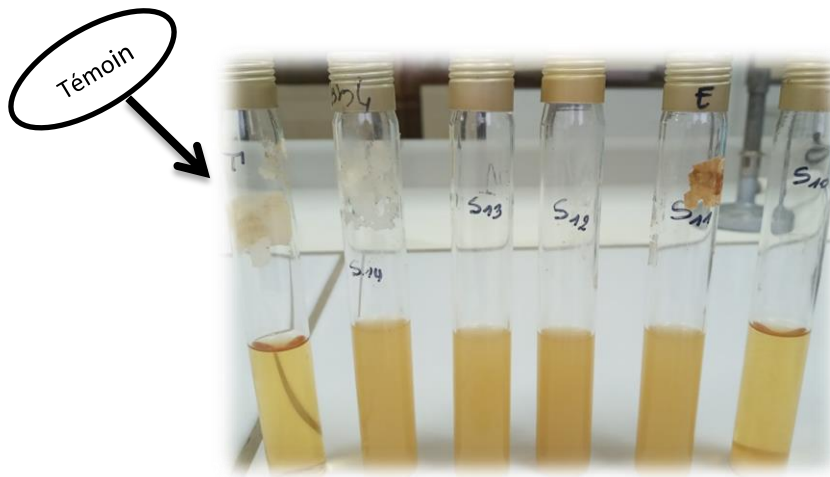


Figure 10 : Troubles constatés après revivification des souches lactiques utilisées

Sur la gélose, les colonies observées sur milieu M17 étaient de petite taille, de couleur crème circulaire, à contour régulier.

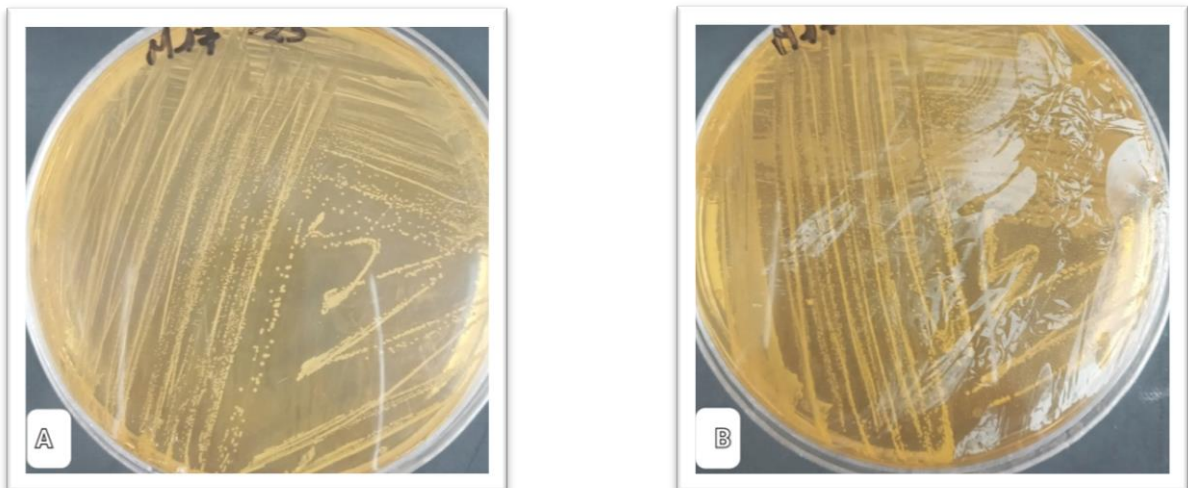


Figure 11 : Aspect macroscopique des souches lactiques A (*Lactococcus lactis* BLS23) et B (*Enterococcus faecalis* BLS25) sur milieu M17.

Chapitre III : résultats et discussions

Les colonies observées sur la gélose MRS étaient plus grandes que les précédentes et se caractérisent par une forme circulaire, blanchâtre et bombées et à un contour régulier et irrégulier (figure 12).



Figure 12 : Aspect macroscopique des souches lactiques A (*Lactobacillus Fermentum* BLS7) et B (*lactobacillus plantarum* BLS2) sur milieu MRS.

❖ Résultats de l'examen microscopique

L'observation microscopique a révélé que toutes les souches sont Gram positif et sous deux formes de cellules coques et bâtonnets.

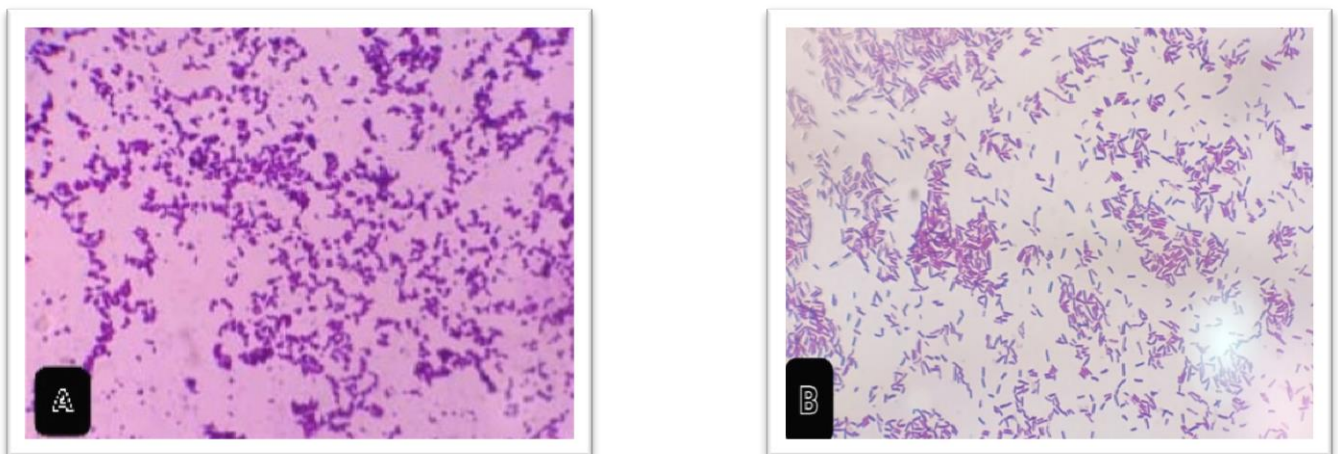


Figure 13: Aspect microscopique des souches lactiques A (*Lactococcus lactis* BLS23) forme cocci et B (*lactobacillus plantarum* BLS2) forme bâtonnets (avec grossissement $\times 100$).

III.2 Résultats des aptitudes technologiques des bactéries lactiques

III.2.1 Résultats de Pouvoir acidifiant

La fonction acidifiante des bactéries lactiques constitue une propriété importante qui est exploitée notamment par les industries agro-alimentaires. Les bactéries lactiques sont reconnues par leurs pouvoirs acidifiant. Dans le présent travail, nous avons testé le pouvoir acidifiant des 24 souches lactiques appartenant au genre *Lactobacillus*, *Lactococcus*, et *Enterococcus* en suivant l'évolution du pH et de l'acidité Dornic en fonction du temps.

D'après les résultats obtenus, nous avons constaté une nette diminution du pH accompagnée d'une évolution progressive de l'acidité Dornic en fonction du temps. Un phénomène dû à la production de l'acide lactique suite à la fermentation du lactose par les bactéries lactiques mises en culture.

Durant la période 0 à 2 h la majorité des souches du genre *Lactobacillus* acidifient le lait rapidement avec des valeurs du pH de (6,50 à 5,67) et l'acidité Dornic a visiblement augmenté pour toutes les souches. La plus faible valeur a été constatée pour la souche *Lactobacillus plantarum* codée BLS11 avec 16°D et la haute valeur a été remarquée pour la souche *Lactobacillus plantarum* codée BLS6 avec 30 °D.

Après 4h d'incubation à 37°C, une diminution progressive du pH avec augmentation de l'acidité a été remarquée pour toutes les souches. L'acidité Dornic la plus élevée a été constatée pour la souche nommée *Lactobacillus plantarum* codée BLS1 avec une valeur de pH de l'ordre de 5.36 et d'acidité de 42 °D

Au bout de 6h d'incubation, on constate que la cinétique d'acidification est en évolution continue avec une baisse progressive du pH. La souche BLS1 est toujours la plus acidifiante par rapport aux autres souches avec un pH de 4.53 et une acidité 78 °D.

Après 24h d'incubation, une acidification plus importante est obtenue pour les souches nommée *Lactobacillus plantarum* codées BLS1 et BLS10, les valeurs enregistrées sont 129 °D et 95 °D respectivement et le pH diminue jusqu'à 3.69 et 3.98. Cependant, les souches *Lactobacillus fermentum* et *Lactobacillus plantarum* codées BLS19 et BLS 20 ont une faible acidification 51°D et 52 °D avec des pH de 5,13 et 5,04 respectivement et les autres souches présentent une acidité moyenne variée de 60 °D à 110 °D. Les résultats sont illustrés dans (Figure 14 et 15 et les tableaux 2 et 3 en Annexe III).

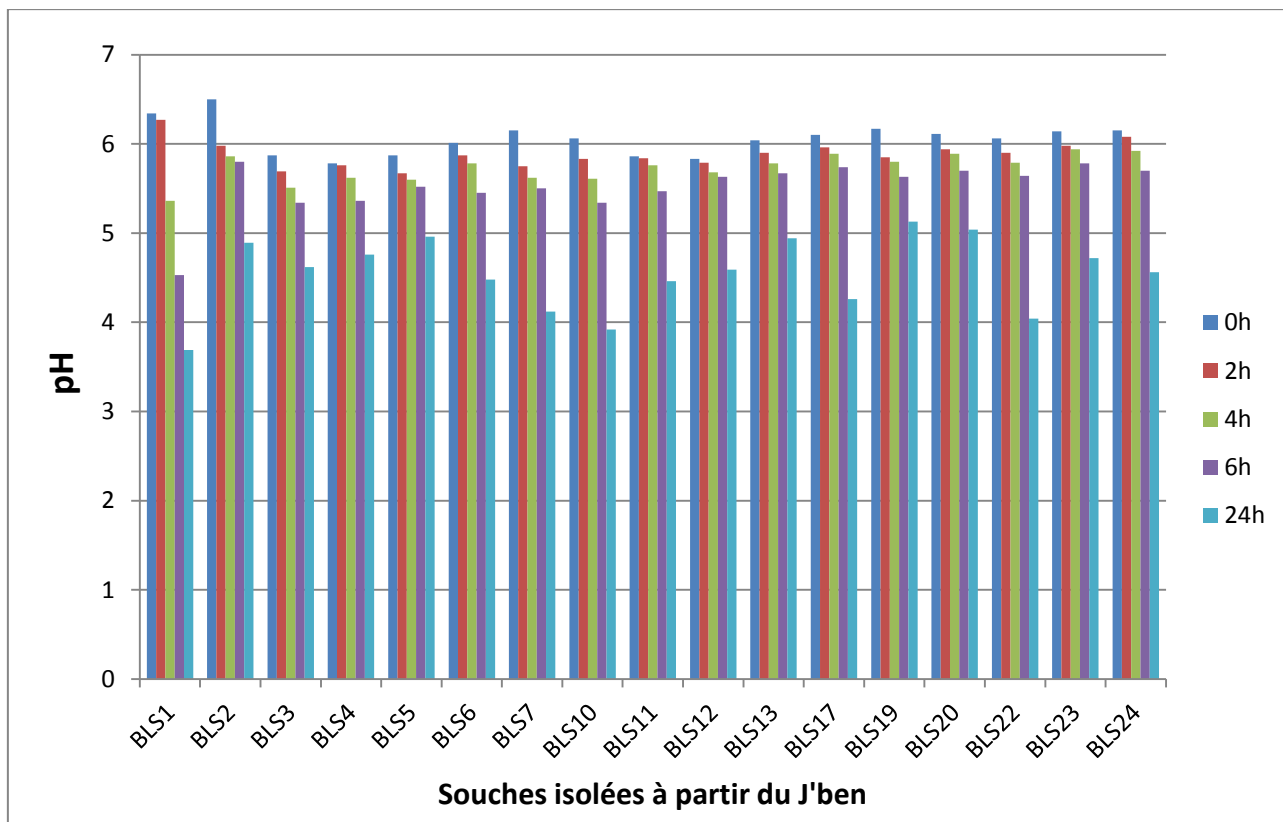


Figure 14: Evolution du pH pour les souches isolées à partir du produit J'ben

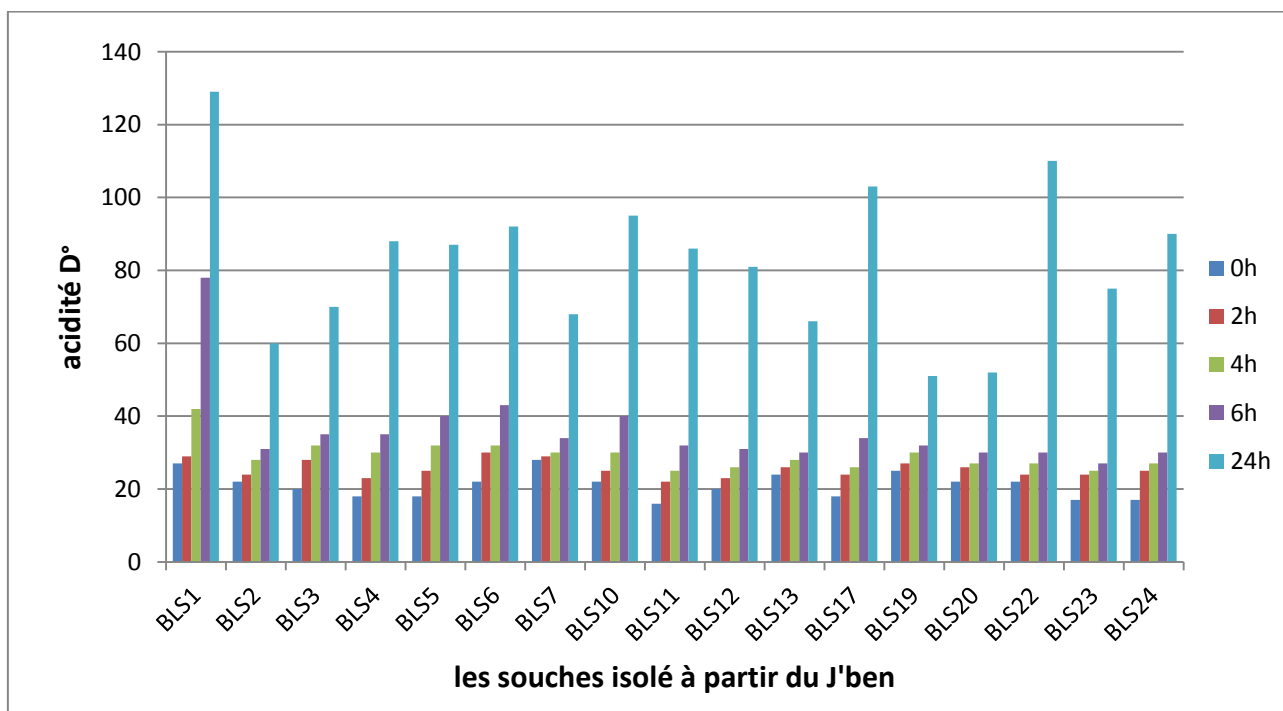


Figure 15 : Cinétique d'évolution de l'acidité chez les souches isolées du J'ben

Chapitre III : résultats et discussions

Pour les souches qui ont été isolées à partir le deuxième produit Smen, les résultats sont représentés dans les figures (16 et 17) (les tableaux 4 et 5 en Annexe III).

Durant la période 0 à 2 h la majorité des souches des genres *Lactococcus* et *Enterococcus* acidifient le lait lentement avec des valeurs du pH variées de (6,22 à 5,57) et l'acidité Dornic variée entre 15 D° à 30 °D.

Durant la période allant de 4h à 6h d'incubation, on constate que la cinétique d'acidité est en continuelle évolution mais elle est lente avec une baisse du pH du 5.86 à 5.01 et une acidité variée allant de 23 °D à 45 °D et la souche la plus acidifiante par rapport aux autres, c'est la souche *Lactobacillus fermentum* codée BLS21.

Après 24 heures d'incubation, l'acidité est variée de 62 °D à 135° °D.

Nos résultats sont très intéressants par rapport à celles mentionnées par **Bellal (2018)** ; **Guanna et Bouteldja (2016)** ; **Aissani et Medjani (2017)** qui ont trouvé que les souches *Lactobacillus* et *Lactococcus* isolées à partir isolées de l'ben produisent des quantités d'acide lactique avec une acidité Dornic variée entre 41 et 71 °D'après 48h d'incubation et **Hennine et Seriér (2017)** ayant trouvé une acidité Dornic des *Lactococcus* et *Enterococcus* à partir de smen traditionnel algérien varié entre 30 et 50 °D avec pH entre 5.5 et 4.92 après 24h d'incubation.

Les résultats de **Slamania et Saddok, 2018** étaient élevés par rapport à nos résultats obtenus, car ils ont obtenu une acidité Dornic de 215°D chez *Lactobacillus plantarum*

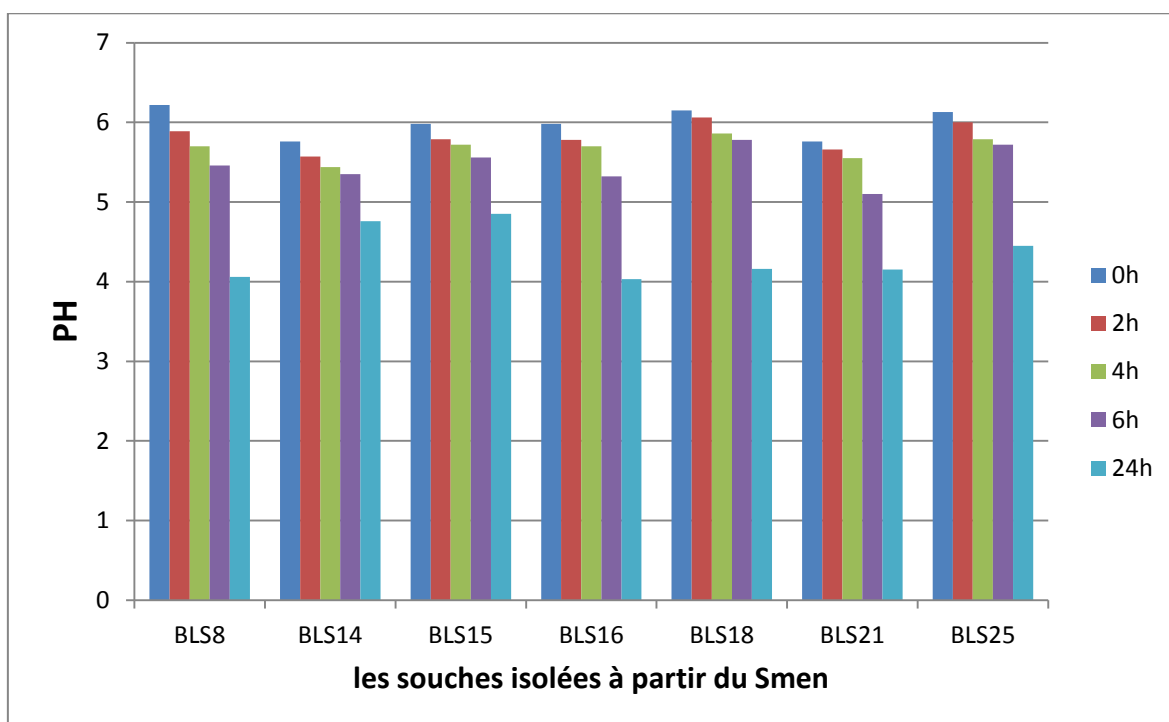


Figure 16: Evolution du pH pour les souches isolées à partir du produit Smen

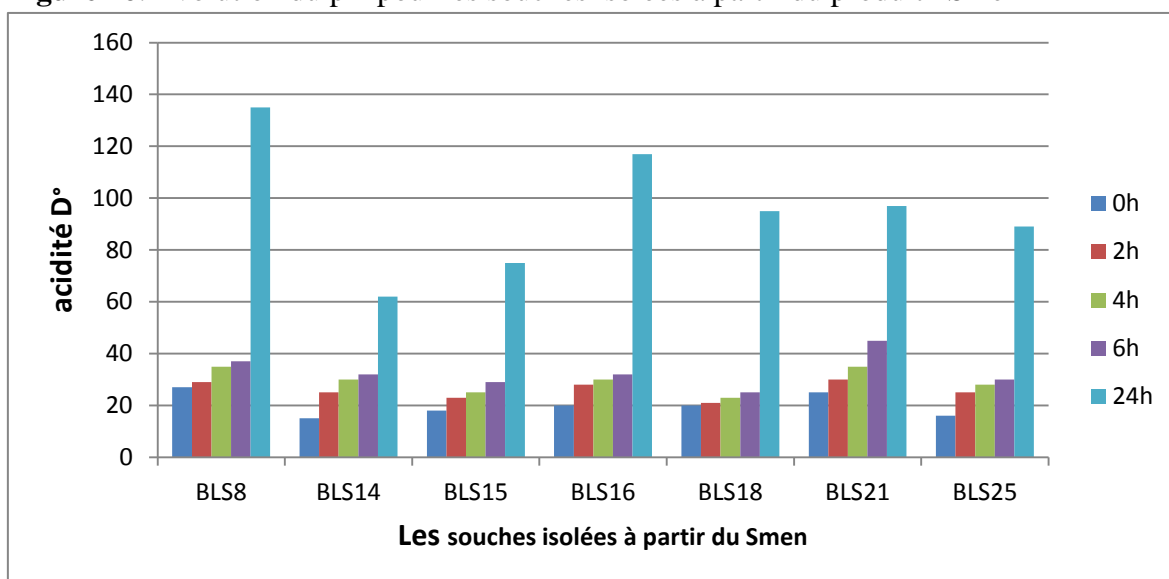


Figure 17: Cinétique d'évolution de l'acidité chez les souches isolées du Smen.

III.2.2 Résultats du Pouvoir protéolytique :

Les résultats sont représentés par les figures 18 et 19 (Tableau 5, Annexe III). D'après les résultats obtenus, l'activité protéolytique est variable d'une souche à l'autre; et les meilleurs zones de protéolyse sont obtenues chez les souches nomées *Lactobacillus plantarum* et *Lactobacillus fermentum* codées par BLS01 ; BLS07; BLS08 ; BLS10; BLS11; BLS12; BLS13; BLS15; BLS16; BLS17; BLS20; BLS21 et BLS22 avec un

Chapitre III : résultats et discussions

niveau élevé de protéolyse entre (26-33 mm); et les autres souches ont présenté une protéolyse moyenne avec (17.5 et 25 mm).

Selon **Vuillemard, (1986)** la souche est dite protéolytique si elle présente une zone de lyse de diamètre, comprise entre 5 mm et 15 mm. Donc toutes nos souches ont un pouvoir protéolytique très intéressant.

Nos résultats sont en accord avec ceux de **Bencharef et al (2018)**; et **Latreche., (2016)** qui ont trouvé que la souche *Lactobacillus* isolées à partir d'un lait cru sont protéolytiques avec des diamètres de protéolyse de 28 mm.

Les résultats obtenus étaient supérieures par rapport à ceux de **Tayeb, (2018)**; **Boubekeur, (2018)** ; **Benslimane, (2019)** ; **Slamania et Saddok, (2018)** ; **Christine et al., (2016)** ; **Aissani, et Medjani,(2017)**. qui ont trouvé que les souches *Lactobacillus* sp et *Lactococcus* sp isolées à partir isolées de l'ben sont protéolytiques avec des diamètres de protéolyse variés entre 4 et 26 mm.

L'activité protéolytique chez les bactéries lactiques est essentielle pour leur croissance dans le lait, elle est ainsi impliquée dans le développement des propriétés organoleptiques des différents produits laitiers fermentés (**Axelesson, 1998**). Le système protéolytique des bactéries lactiques est composé de protéases associées à la paroi cellulaire. Les peptides issus de la protéolyse sont ensuite dégradés par des endopeptidases ou exopeptidases en acides aminés et en courts peptides (**Yvon, 2006**), et sont importants dans les procédés de maturation qui donnent aux aliments leurs propriétés rhéologiques (**Law et Kolstad.,1983**).

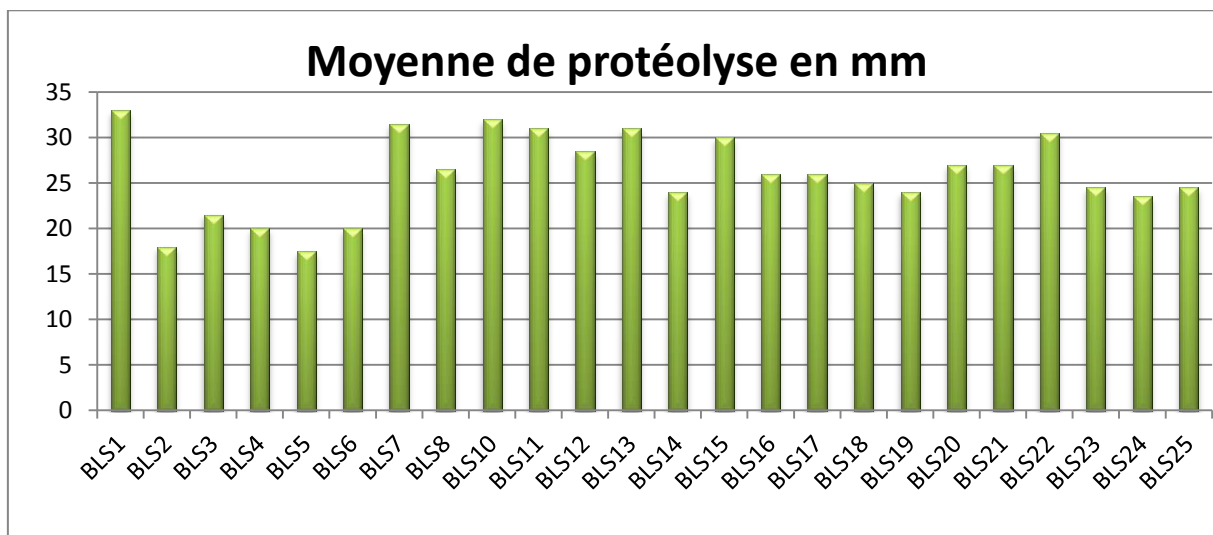


Figure 18 : Activité protéolytique des souches de bactéries lactiques isolées à partir jben et smen

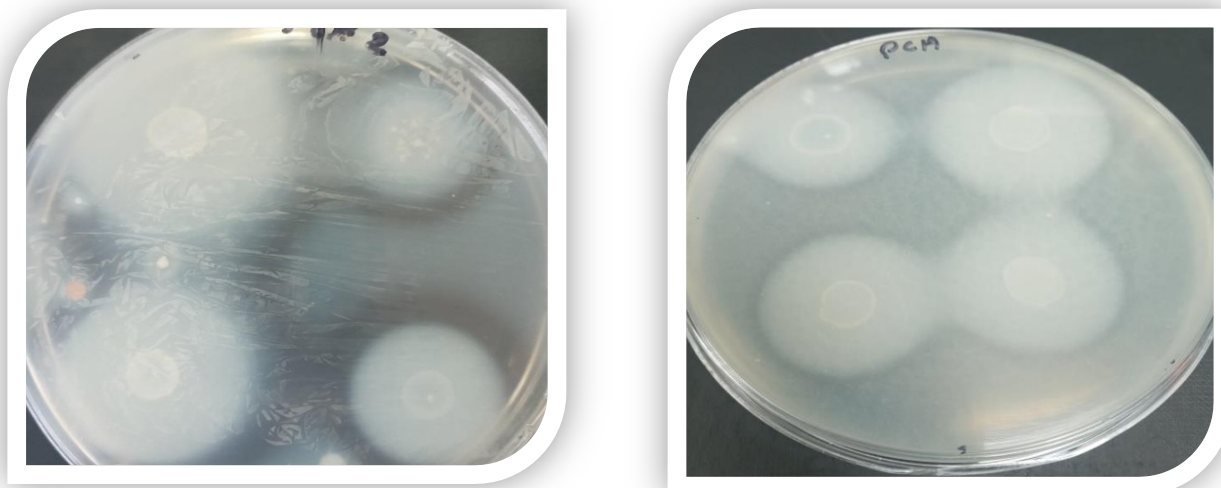


Figure 19 : Activité protéolytique des souches lactiques étudiées après 24 heures d'incubation

III.2.3 Résultats du pouvoir lipolytique :

Les résultats de l'activité lipolytique des souches testées sont reportés dans le tableau 04 et figure 20. D'après ces résultats, il apparaît que quelques souches qui sont révélées positives en formant des halos clairs autour des colonies de croissance. Il s'agit les souches nomées *Lactobacillus Fermentum* et *Lactobacillus plantarum*, codées par BLS4; BLS10 et BLS11 et les autre souches ne présentent aucune activité lipolytique puisqu'elles ne présentent aucune zone de la lyse caractéristique autour des colonies malgré qu'il y ait une croissance (figure 20 et tableau 03).

Chapitre III : résultats et discussions

Ces résultats sont en accords avec ceux obtenus par **Tayeb, (2018)** ; **Bellal, (2018)** qui ont montré que les BL en général possèdent une faible activité lipolytique.

De Roissart et Luquet, (1994) ; **Mayers et al., (1996)** ont trouvé que les bactéries lactiques sont faiblement lipolytiques. Par comparaison avec d'autres espèces bactériennes telles que *Pseudomonas*, *Acinetobacter* ou *Flavobacterium* (**Brennan et al., 2002**).

Tableau 03: Résultats de l'activité lipolytique sur milieu MRS additionné de 1% tween 80

souche	Croissance	Zone de l'activité lipolytique (mm)
BLS1	+	-
BLS2	+	-
BLS3	+	-
BLS4	+	18
BLS5	+	-
BLS6	+	-
BLS7	+	-
BLS8	+	-
BLS10	+	19
BLS11	+	16
BLS12	+	-
BLS13	+	-
BLS14	+	-
BLS15	+	-
BLS16	+	-
BLS17	+	-
BLS18	+	-
BLS19	+	-
BLS20	+	-
BLS21	+	-
BLS22	+	-
BLS23	+	-
BLS24	+	-
BLS25	+	-

(+) : Croissance bactérienne ; (-) : Pas de zones

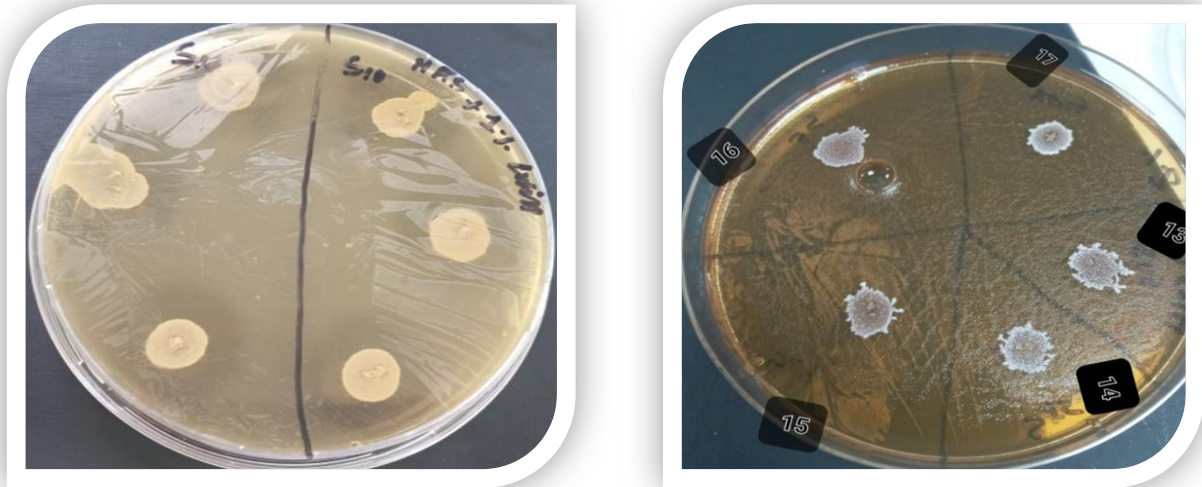


Figure 20 : résultats de l'activité lipolytique

III.2.4 Résultats l'activité antimicrobienne:

D'après les résultats obtenus, il s'avère que la majorité des souches testées ont une activité antibactérienne sauf pour les trois souches qui appartiennent aux genres *Lactococcus lactis* et *Enterococcus faecalis* codées BLS23, BLS24 et BLS25

Les bactéries lactiques sont connues par la production de plusieurs types de composés antimicrobiens : les acides organiques, les bactériocines, les acides gras à courte chaîne, le diacétyle et le peroxyde d'hydrogène (Armas *et al.*, 2017 ; Reuben *et al.*, 2020).

III.2.4.1 Résultats de l'Activité antibactérienne vis-à-vis *Staphylococcus aureus*

D'après les résultats, on observe que les souches lactiques ont une activité antibactérienne importante envers *Staphylococcus aureus*, dont les diamètres des zones d'inhibition varient de 11 à 20 mm. Nos résultats sont en accord avec ceux de Aissani *et al* 2017 ; Bensidhoum *et al* 2017 qui ont trouvé que les zones d'inhibitions de bactéries lactiques isolées à partir des produits laitiers traditionnels artisanaux sont comprises entre 7 et 20 mm.

Les résultats de Bouadaib, 2013 sont plus élevés que les résultats que nous avons obtenus là où diamètres des zones d'inhibition étaient comprises entre 0 et 30 mm.

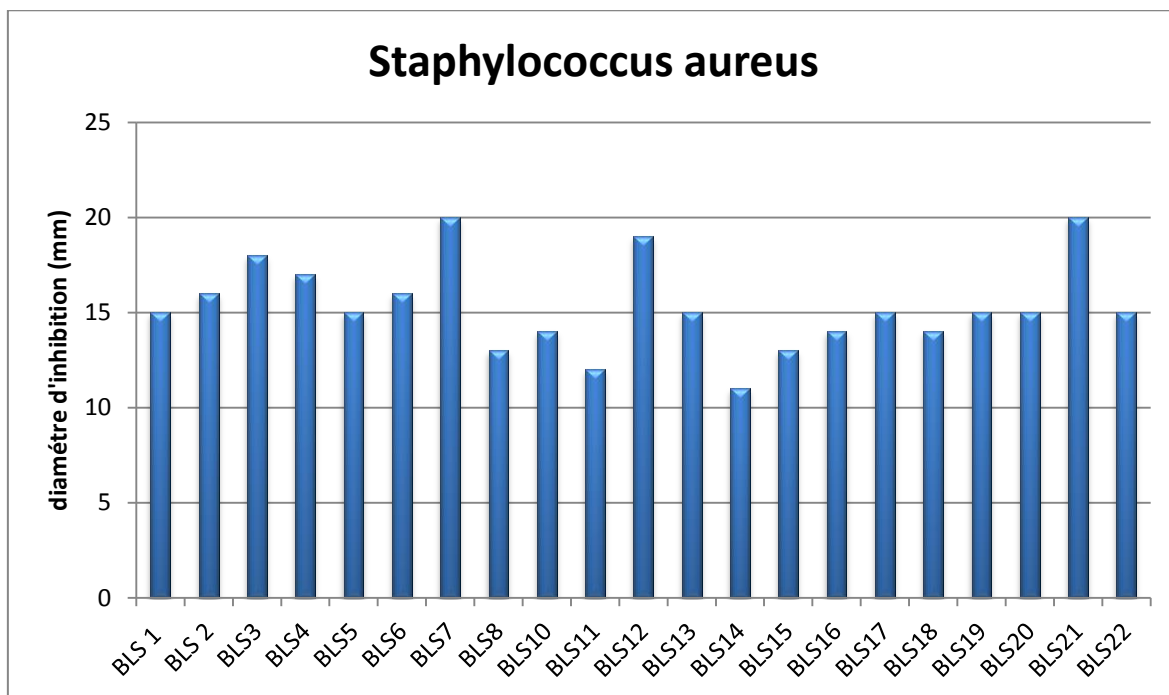


Figure 21 : Résultats des interactions entre les *lactobacillus* et *Staphylococcus aureus*.

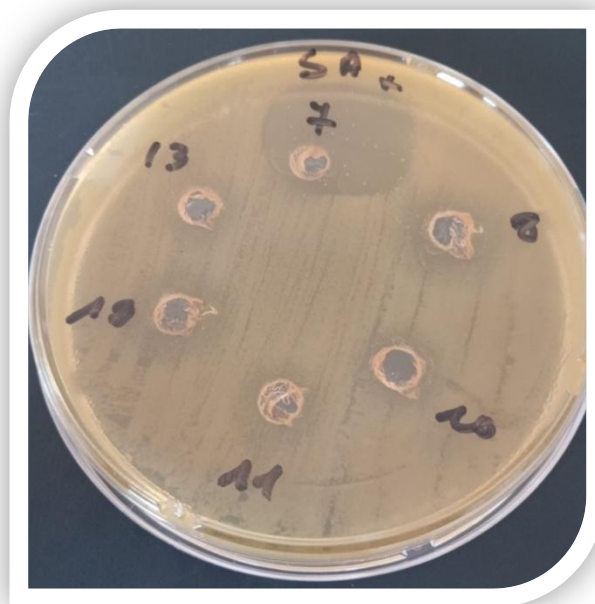


Figure 22 : Activité antibactérienne des souches *lactobacillus* vis-à-vis *Staphylococcus aureus*

III.2.4.2 Résultats de l'Activité antibactérienne vis-à-vis *Candida albicans*

On observe que toutes les souches lactiques ont une activité antibactérienne envers *Candida albicans*, dont l'intervalle des diamètres des zones d'inhibition oscille entre 08 et 19 mm.

Chapitre III : résultats et discussions

Les résultats obtenus étaient supérieurs à ceux de **Abid, 2015** qui ont mentionné qu'elles ne présentent pas une zone d'inhibition.

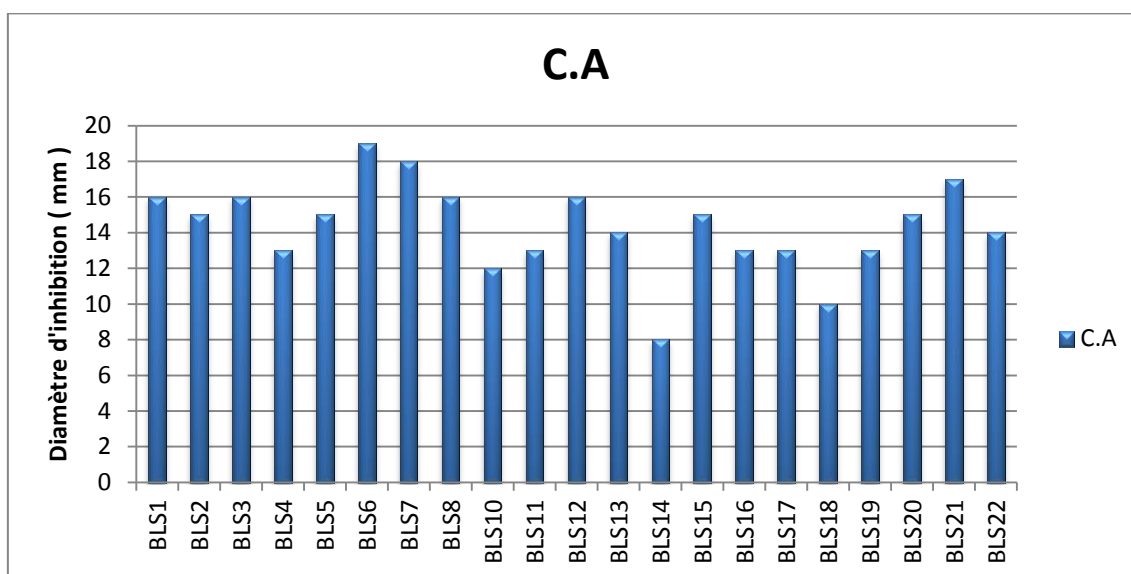


Figure 23 : Résultats des interactions entre les *lactobacillus* et *Candida albicans*

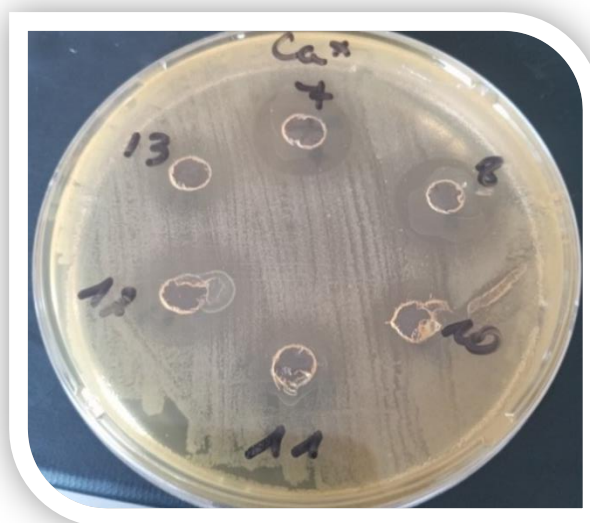


Figure 24 : Activité antibactérienne des souches *lactobacillus* vis-à-vis *Candida albicans*

III.2.4.3 Résultats de l'Activité antibactérienne vis-à-vis *Proteus mirabilis* :

D'après les résultats obtenus, on remarque que la souche nommée *Lactobacillus fermentum* codée BLS4 présente des profils d'inhibitions intéressants 23 mm et les souches nomées *Lactobacillus plantarum* et *Lactobacillus fermentum* codée BLS11; BLS16 et BLS22 n'ont donné aucune zone c'est-à-dire aucune activité antibactérienne ; par ailleurs, les autres souches ont donné des diamètres des zones d'inhibition entre 08 et 22 mm. Nos

Chapitre III : résultats et discussions

résultats sont en accord avec ceux de **Zergoug, (2017)** qui a trouvé des zones d'inhibition situées entre 13 et 23 mm.

Les résultats de **Abbaci , Mehenni, (2017) ; Aissani et Medjani, (2017)** étaient élevés par rapport aux résultats que nous avons obtenu, car ils ont obtenu le diamètre des zones d'inhibition situé entre 06 et 48 mm.

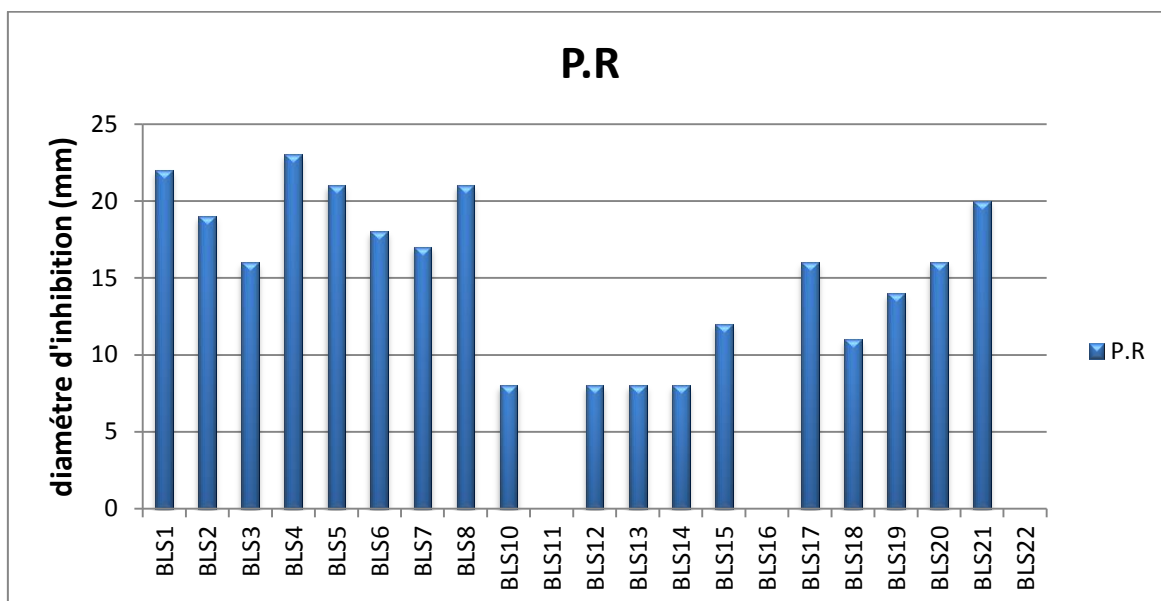


Figure 25 : Résultats des interactions entre les *lactobacillus* et *Proteus mirabilis*.

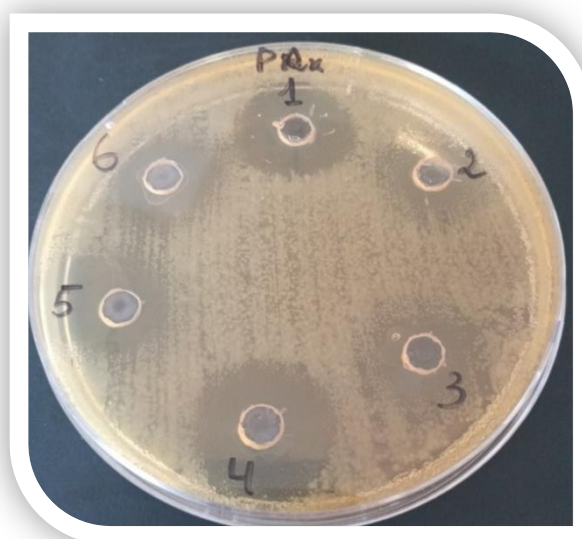


Figure 26 : Activité antibactérienne des souches *lactobacillus* vis-à-vis *Proteus mirabilis*.

III.2.4.4 Résultats de l'Activité antibactérienne vis-à-vis *Bacillus subtilis* :

D'après les résultats obtenus, on constate que l'activité antibactérienne des souches *Lactobacillus* vis-à-vis de *Bacillus subtilis* nous donne des meilleurs résultats par rapport aux autres bactéries pathogènes et la meilleure zone a été observée chez la souche nommée *Lactobacillus plantarum* Codée par BLS1 avec un diamètre 25 mm et les autres souches présentent des diamètres des zones d'inhibition entre 08 et 20 mm.

Les résultats obtenus étaient important par rapport à ceux de **Hadef, (2012)** qui ont trouvé que les zones d'inhibitions de bactéries lactiques isolées à partir du beurre de chèvre sont comprises entre 10 et 13 mm.

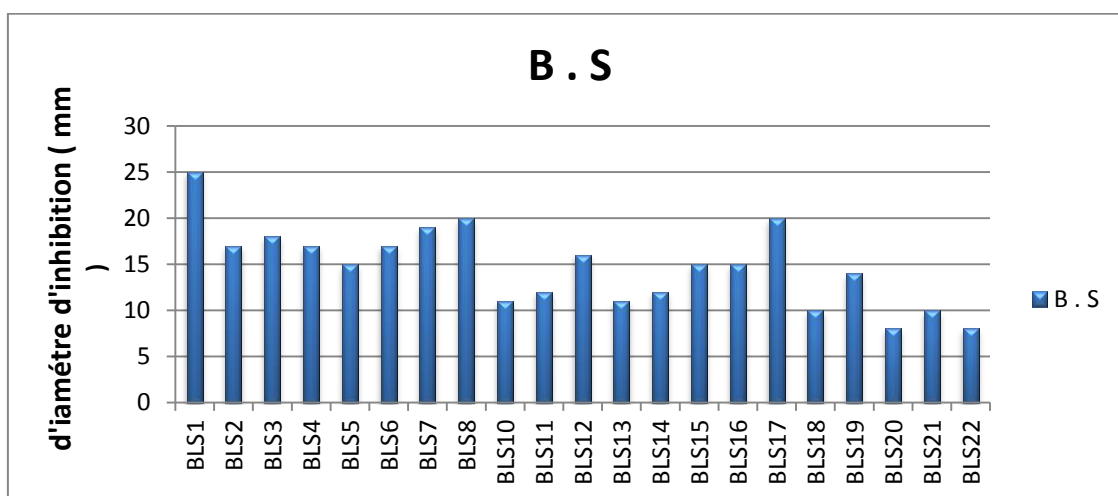


Figure 27 : Résultats des interactions entre les *Lactobacillus* et *Bacillus subtilis*.

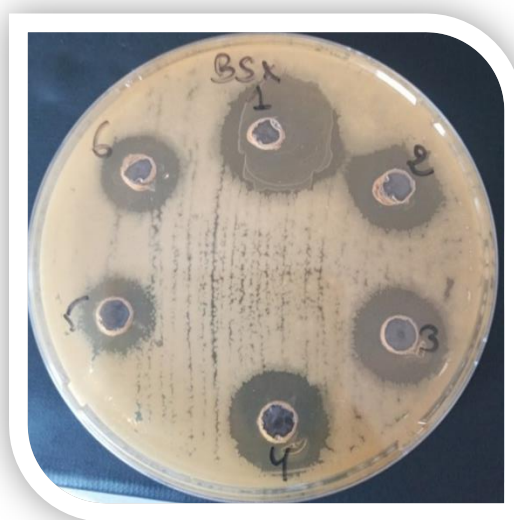


Figure 28 : Activité antibactérienne des souches *Lactobacillus* vis-à-vis *Bacillus subtilis*.

III.2.4.5 Résultats de l'Activité antibactérienne vis-à-vis *Escherichia coli* :

D'après les résultats, on observe que toutes les souches lactiques ont une activité antibactérienne envers *Escherichia coli*, dont l'intervalle des diamètres des zones d'inhibition entre 11 et 18 mm

Non résultats sont en accord avec ceux de **Bouadjaib,(2013) ; Abid, (2015)** qui ont trouvé que les zones d'inhibition de bactéries lactiques isolées à partir de J'ben sont comprises entre 10 et 20 mm.

Les résultats des souches la obtenus étaient supérieures par rapport à ceux de **Hadjazem et Mazouz, (2021)** qui ont trouvé que les zones d'inhibitions sont compris entre 10 et 14.5 mm.

Les résultats de **Dribine et Khellal, 2018** sont plus élevés que les résultats que nous avons obtenus là où vous obtenez diamètres des zones d'inhibition comprises entre 11 et 47.5 mm

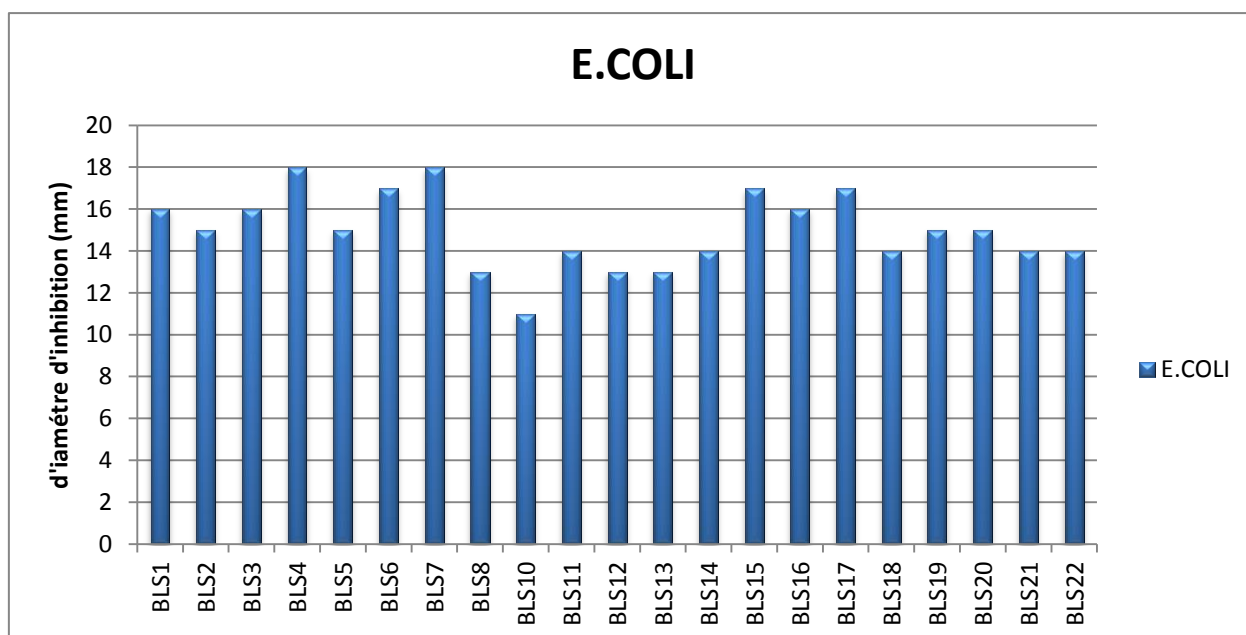


Figure 29 : Résultats des interactions entre les *lactobacillus* et *Escherichia coli*.

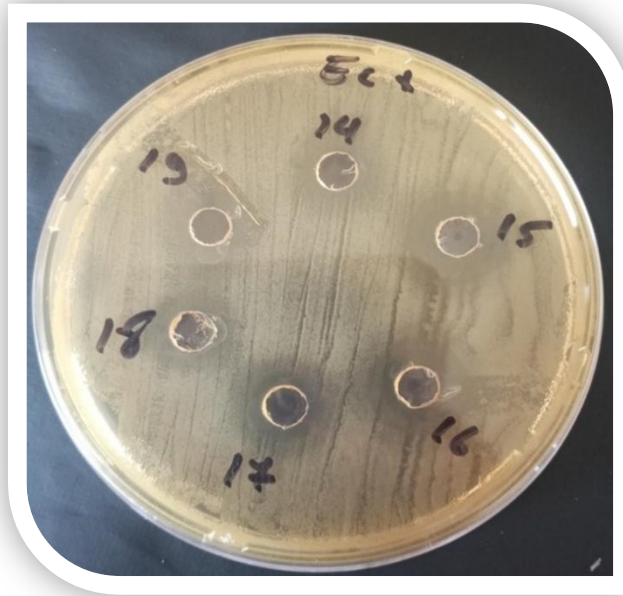


Figure 30 : Activité antibactérienne des souches *Lactobacillus* vis-à-vis *Escherichia coli*.

Conclusion

Conclusion et perspectives

Depuis l'antiquité, les bactéries lactiques ont été utilisées pour la fabrication et la conservation d'aliments. La découverte des effets de ces bactéries sur le lait était probablement une coïncidence, mais leur utilisation fut perpétuée sous forme de fermentation et est en constante évolution.

D'après les résultats de l'étude des aptitudes technologiques, nous avons pu déduire que, même au sein d'une même espèce, il existe des variations entre les souches autant au niveau de l'activité acidifiante que l'activité protéolytique, lipolytiques et antimicrobienne. Cependant, les souches avaient de bonnes fonctionnalités technologiques.

Ceci nous permet de conclure que nos souches testées peuvent être utilisées comme starter dans les fermentations industrielles dont le but pour une protéolyse et dans la coagulation par leurs aptitudes de diminuer le pH de milieu et l'inhibition de quelques souches pathogènes.

Ce sont les résultats de nos recherches qui nous ont permis d'ouvrir de nouvelles perspectives suivantes :

- Il serait intéressant d'étudier plus de propriétés technologiques telles que l'activité autolytique, le pouvoir texturant, probiotique et antioxydant des souches.
- Etudier le test de la résistance aux antibiotiques.
- Etude de la production de bactériocines
- Valorisation de souches lactiques étudiées à l'échelle industrielle

Références
bibliographiques

Références bibliographiques

A

- **Abbaci, S., Mehenni, M. (2017)** Mise au point d'un l'ben artisanal en incluant des ferments isolés localement, Master, Université A. MIRA – Bejaia, 94p.
- **Abid, Z. (2015).** Étude de l'activité antimicrobienne des souches de bactéries lactiques isolées d'un produit laitier traditionnel Algérien «Jben», Abou Bekr Belkaid-Tlemcen. Master: 90.
- **Adeyemo .S.M., Afolabi.F.T., Awojobi, K.O., Abiri. T.O. (2017).** Probiotic effects of lactic acide bacteria and its use as bio-preservative for tamato juice and paste. *International Journal of Probiotics & Prebiotics*, Vol (12),Issue(2)
- **Ahrne, H. (1991).** Lactobacillus a study of plasmide and strain stability (thesis) Siv Ahrme,food and environmental/ microbiology, applied Microbiol.S-22 - 100 Sweden.
- **Aissani, L., Medjani, H. (2017).** Etude de quelques aptitudes technologiques en culture pure et mixte de souches de bactéries lactiques isolées de l'ben, Master, Université A. MIRA – Bejaia ,74 p.
- **Alais, C. (1984).** Science du lait Principes des techniques laitières. Ed: Lavoisier, Paris, 3-24.
- **Allouache, K., et Smaoun, O. (2017).** Caractérisation de souches locales de bactéries lactiques isolées à partir de quelques produits laitiers artisanaux et mise au point d'un produit type Raib, mémoire de master. Université A. MIRA - Bejaia, Département de Microbiologie, 63p.
- **Ammor, S., Tauveron. G., Dufor. E., Chevalier. I., (2006).** Antibacterial activity of lactic acid bacteria against spoilage and pathogenic bacteria isolated from the same meat smallscale facility 1-Screening and characterization of antibacterial compound. *Food Control*. 17: 454-461.
- **Armas. F., Camperio. C., Marianelli. C., (2017).** In vitro assessment of the probiotic potential of *Lactococcus lactis* LMG 7930 against ruminant mastitis-causing pathogens. *PLoS One*, 12(1), e0169543.
- **Axelsson, L. (1998).** Lactic acid bacteria: Classification and physiology. In: Lactic acid bacteria. Ed.S.Salminen and Avon Wright, Marcel Decer.p.1-72

Références bibliographiques

- **Axelsson, L. (2004).**Lactic Acid Bacteria: Classification and Physiology. Dans: Salminen, S., Wright, A.V., Ouwehand, A. (dirs.), and Lactic Acid Bacteria: Microbiological and Functional Aspects 3rd Ed). Marcel Dekker, New York.**1-66**

B

- **Badis, A., Guetarni D., Moussa Boudjema, B., Henni D.E., Kihal M.(2004).** Identification and technological properties of lactic acid bacteria isolated from raw goat milk of four Algerian races. Food Microbiology,21 :579-588.
- **Badis, A., Guetarni. D., Kihal, M. et Ouzrout, R. (2005).**Caractérisation phénotypique des Bactéries lactiques isolées à partir de lait de chèvre de deux populations locales "Arabia et Kabyle». Scien &Tech, 23: 30-37.
- **Béal, C., Marini, M., Fontaune, E., Fonseca, F., Obert,J., (2008).** Production et conservation des ferments lactiques et probiotiques. In : bacteries lactiques, de la génétique aux ferments (corrieu g.et luquet f.m.). Tec et doc, lavoisier. Paris. 661-765.
- **Bechachha, K., Boudershem, R., Marai, R. (2020).** Les Bactéries lactiques: Rôles et Intérêts, mémoire de master, Université 8 Mai 1945, Guelma, 89
- **Belkheir, K. (2017).** Caractérisation technologique de nouvelles souches de bactéries lactique isolées du lait de chamelle d'Algérie Réalisation de ferments lactiques. Genie microbiologique, Oran 1 Ahmed Ben Bella. Doctorat: 198..
- **Bellal, I.(2018)** .L'activité antimicrobienne des bactéries lactiques isolées à partir du lait de chamelle vis-à-vis les souches pathogènes , Mémoire Master , Université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem , 82 P
- **Belyagoubi, L. (2014).** Antibiotiques produits par des bactéries (actinomycètes et bactéries lactiques) issus de différents écosystèmes naturels Algériens, thèse de doctorat. Université Aboubakr Belkaïd Tlemcen, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, des Sciences de la Terre et de l'Univers, 209p.
- **Bendimerad, N. (2013).** Caractérisation phénotypique technologique et moléculaire d'isolats de bactéries lactiques de lait crus recueillis dans les régions de l'ouest Algérien. Essai de fabrication de fromage frais type (Jben). Thèse de doctorat. Département de biologie, faculté des science. Université Tlemcen.

Références bibliographiques

- **Benmouna, Z. (2019).** Etude de bactériocines de bactéries lactiques et leurs effets sur les bactéries pathogènes et/ou d'altération. Thèse de doctorat en sciences: biotechnologie. Université d'Oran.
- **Bensidhoum, K., Boudrahem, N.(2017)** Isolement et caractérisation des bactéries lactiques du genre *Lactobacillus* à partir des produits laitiers traditionnels artisanaux, Master , Université A. MIRA-Bejaia , 74P
- **Benslimane, B. (2019).** Etude de quelques propriétés technologiques des bactéries lactiques isolées à partir d'un lait cru de vache ,Mémoire de Master , Université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem ,72p
- **Bergey's Manual. (2009).** Systematic of bacteriology. Second Edition. Volume three the firmicutes. Edition springer.
- **Biavati, B., Vescovo, M., Torriani, S., Bottazzi, V. (2000).** Bifidobacteria: history, ecology, physiology and applications. *Ann. Microbiol.* 50: 117-131.
- **Bouadjaib, S. (2013).**Etude physico-chimique du produit laitier traditionnel du sud algérien "jben", recherche du pouvoir antimicrobienne des bactéries lactiques. Master , Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen , 110p.
- **Boubekeur, M.(2018).** Revivification et contrôle des aptitudes technologiques des souches lactiques thermophiles, Master, Université Abdelhamid Ben Badis Mostaganem ,97 p .
- **Bouguerra, A. (2021).** Evaluation du potentiel probiotique des souches lactiques isolées à partir du lait de chamelle, thèse de doctorat. Université Ferhat Abbas, Sétif 1 Faculté des Sciences de la Nature et de la vie, 141p.
- **Boullouf, A. (2017).** Etude du pouvoir technologique de quelques bactéries lactiques du fromage traditionnel Bouhezza, thèse de Magister. Université des frères Mentouri Constantine, institut de la nutrition, de l'alimentation et des technologies agro-alimentaires (I.N.A.T.A.A.), 135p
- **Brahimi, S. (2015).** Isolement et caractérisation biotechnologique des bactéries lactique isolées à partir des margines d'olives « AMORDJ » fermenté, Oran 1 Ahmed ben Bella. Magister: 203
- **Brennan, N.M., Ward, A.C., Beresford, T.P., Fox, P. F., Goodfellow, M., COGAN, T.M. (2002).** Biodiversity of the bacterial flora on the surface of a smear cheese. *Appl. and Environ. Microbiol.* 68 (2): 820-830

Références bibliographiques

- **Brul, S., Coot, P. (1999)** Preservative agents in foods. Mode of action and microbial resistance mechanisms. *International Journal of Food Microbiology*, 50, 1–17.

C

- **Collins, M.D., Aguirre, M. (1993)**: Lactic acid bacteria and human clinical infection. *J. Appl. Bacteriol.*, 75:95-107 .
- **Collins M.D., Williams, A., Wallbanks, S. (1990)**. The Phylogeny of *Aerococcus* And *Pediococcus* As Determined By 16s Rna Sequence Analysis, Description of *Tetragenococcus*, Gen. Nov. *Fems Microbiology Letters*. Vol. 70, 255
- **Corrieu, G., Luquet, F-M. (2008)**. Bactéries lactiques : de la génétique aux ferments. Paris: TECH & DOC. P 41-108.

D

- **Daoudi, H., Khelef, C. (2018)**. Contribution à l'étude de l'activité antimicrobienne des bactéries lactiques isolées à partir du lait cru, thèse de doctorat. Université Echahid Hamma Lakhdar -El Oued, 104p.
- **De Roissart, H., Luquet, F.M. (1994)**. Bactéries lactiques II. Edition Lorica, Pp 39-45 .
- **De Roissart, (1986)**. Bactéries Lactique dans le lait et produits laitiers. Ed. Technique et Documentation. Lavoisier. Paris: 445 p.
- **De Vuyst., Leroy, F. (2007)**. Bacteriocins from lactic acid bacteria: production, purification, and food applications. *Mol. Microbiol. Biotechnol.* 13: 194-199.
- **Debeyer, C. (2020)**. Les probiotiques dans la prise en charge d'affections gastro-intestinales et vaginales (Thèse de doctorat, Université de Lille).
- **Dellaglio, F., De Roissart, H., Torriani, S., CURK, M.C., Janssens, D. (1994)**. Caractéristiques générales des bactéries lactiques. P. 25-116. In: DE ROISSART., LUQUET F.M. (ed) bactéries lactiques. Vol I. Lorica: Uriage, Paris, France.
- **Dellaglio, F., Roissard, H., Torriani, S., Curk, MC., Janssens, D. (1994)**. Caractéristiques générales des bactéries lactiques. Dans: ROISSARD H., LUQUET FM. Dans Bactéries lactiques. Lorica: Uriage, p. 25-116.

Références bibliographiques

- **Dellaglio FH, de Roissard, S., Torriani, MC Curk., D Janssens. (1994).** Caractéristiques générales des bactéries lactiques. Dans différents bactéries lactiques. H. De Roissard et F.M.Luquet (ed). Loriga, Uriage. Vol 1: 25 -116
- **Desmazeaud, M. (1996).** Les bactéries lactiques dans: L'alimentation humaine : utilisation et innocuité. Cahiers Agricultures, 5, pp: 331-343.
- **Devriese,P., Cole,R., Dankert, J., Frosch Mandvanputen, P.M. (2002).** Molecular Microbiology. 27(6): 1203-1212
- **Devriese, L.A., Pot, B., Collins, M.D. (1993).** Phénotypic identification of the genus Enterococcus and differentiation phylogenically distinct enterococcal species and species groups: J.Appl.75:399- 408
- **Dicks, L. M., Dellaglio, F., Collins, M. D. (1995).** Proposal to reclassify *Leuconostoc oenos* as *Oenococcus oeni* [corrig.] gen. nov., comb. Nov. International Journal of Systematic Bacteriology 45, 395-397.
- **Donkor, O.N., Henriksson, A., Vasiljevic, T., Shaha, N.P. (2007).** Proteolytic activity of Dairy lactic acid bacteria and probiotics as determinant of growth and invitro angiotensin Converting enzyme inhibitory activity in fermented milk. Inra, edp sciences.86: 21-38.
- **Dortu, C., Thonart, P. (2009).** Les bactériocines des bactéries lactiques : caractéristiques et intérêts pour la bioconservation des produits alimentaires. Biotechnol. Agron. Soc. Env. 13(1): 143-154.
- **Dribine, A., Khellal, Y. (2018).** Evaluation de l'activité antibactérienne de quelques souches de bactéries lactiques. Thèse de doctorat. Université de Bouira, 75p.
- **Drider, D., Prevost, H. (2009).** Bactéries lactique Physiologie, Métabolisme Génomique et Application industrielle. Ed, Economica 49 rue Harica 75015 Paris : pp 381- 427.
- **Drider, D., Fimland, G., Héchard, Y., McMullen, L. M., Prevost, H. (2006).** The continuing story of class IIa bacteriocins. Microbiology and molecular biology reviews, 70(2), 564-582
- **Drouault, S., Corthier, G. (2001).** Effets des bactéries lactiques ingérées avec des laits fermentés.

Références bibliographiques

- **Elfahri, K. (2012).** Release of bioactive peptides from milk proteins by lactobacillus speccies, school of biomedical and health science. Doctorat: 133.
- **El-Ziney, M.G., Uyttendaele, M., Debevere, J., Jakobsen, M. (1998).** Characterization of growth and metabolite production of *Lb. reuteri* during glucose/glycerol cofermentation in batch and coutinuous cultures. *Biotechnol. Lett.* 20(10), 913-916.

F

- **Fellis, G. E., Dellaglio, F. (2007).** Taxonomy of lactobacilli and bifidobacteria. *Current issues in intestinal microbiology*, 8, 44.
- **Foulquié–Moreno, MR., Sarantinopoulos P TSAKALIDOU, E., DE VUYST L. (2006).**The role and application of enterococci in food and health. *International journal of food Microbiology.* 106:1-24
- **Franz, C.M.A.P., Stiles, M.E. (2003).** Enterococci in foods - a conundrum for food safety. *International Journal of Food Microbiology. Functional and Safety Aspects*, vol. 88, p. 105 122

G

- **Giraffa, G. (2003).** Functionality of enterococci in dairy products. *Int.J. Food Microbiol*, 88: 215–222.
- **Gomez, A.M.P., Malcata, F.X.(1999).** “Bifidobacterium sp and Lactobacillus acidophilus: biological, technological, biochemical and therapeutically properties relevant for use as probiotics” *Trends in Food Science et Technology* 10: 139-157
- **Guanna, R., Bouteldja, R. (2016)** ,Evaluation du potentiel probiotique et technologique de quelques bactéries lactiques isolées du lait de chamelle. , Master , Université Mohammed Seddik Ben Yahia- Jijel ,68p
- **Guiraud, J P.(1998).** Microbiologie alimentaire. Ed. Dunod, Paris.
- **Guiraud, J.P., GALZY. P., (1980).** L’analyse microbiologique dans les industries alimentaires. Les éditions de l’usine nouvelle. 1-239.
- **Guiraud, J.P., ROSEC, J.P. (2004).** Pratique des normes en microbiologie alimentaire. Afnor. 237-251.
- **Guiraud, J.P. (2003).** Microbiologie alimentaire. Tec et doc, dunod. Paris. 90-292.

Références bibliographiques

H

- **Haddie, J.M. (1986).** Other streptococci. In :Bergey's manual of systematic bacteriology (Sneath P.H.A., Mair N.S., Sharpe M.E., Holt J.G.W. et Baltimore W.). 1: 1070.
- **Hadef,S.(2012).** Evaluation des aptitudes technologiques et probiotiques des bactéries lactiques locales. : Microbiologie Appliquée, Université Kasdi Merbah-Ouargla.88p
- **Hadjazzem, B., Mazouz, M. (2021).** Activité antimicrobienne des Bactéries lactiques , Master , Centre Universitaire Abdelhafid Boussouf-Mila , 98 p
- **Hammes, W.P.C., Hertel. (2006).** The genera Lactobacillus and Carnobacterium. Prokaryotes. Prokaryotes: An Evolving Electronic Resource Edited by M. D.workin.New York, Springer VerlagEpub December.
- **Hanchi, H., Mottawea, W., Sebei, K., Hammami, R. (2018).** The genus Enterococcus: between probiotic potential and safety concerns—an update. Frontiers in microbiology, 9, 1791.
- **Hanoune, S. (2017).** Optimisation de la croissance de souches de bactéries lactiques d'intérêts biotechnologiques et probiotiques sur milieux à base de lactosérum et de lupin. THESE doctorat. Microbiologie. UNIVERSITEBADJI MOKHTAR RANNABA.
- **Hardie, J.M., Whiley, R.D. (2006).** The genus Streptococcus-Oral; in: Prokaryotes, 4, Bacteria, Firmicutes, cyanobacteria. 3eme Ed., Springer, New York, USA
- **Hassan, A.N., Frank, J.F. (2001).** Starter Cultures and their use .In: Applied Dairy Microbiology (Marth E.H.et Steele J.L.)2e Ed., Marcel Dekker, Inc. New York .151- 205.
- **Hmaar, H. (2018).** POTENTIALITE TECHNOLOGIQUE DES LACTOCOQUES ISOLEES DU LAIT CRU DE CHEVRE, MASTER, Université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem, 103 p.
- **Ho, T.N.T., N. Tuan N., Deschamps, A., Caubet R. (2007).** Isolation and identification of lactic acid bacteria (lab) of the nem chua fermented meat product of vietnam. Int. Workshop on food safety and processing technology. 134-142.
- **Hogg, T. (2005).** Essential microbiology. John Wiley & Sons, Ltd. 188-190

Références bibliographiques

- **Holt, J.G., Kreig, N.R., Sneath, P.H.A., Staley, J.T., Williams S,T. (1994).** In: Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 9th edition. Williams and Wilkins Co., Baltimore.
- **Holzappel, I W H., Haberer, P., Geisen, R., Björkroyh, J., Schillinger, U. (2001).** Taxonomy and important features of probiotic microorganisms in food and nutrition. Am. J. Clin. Nutr. 73(2 Suppl), 365S-373S.
- **Holzappel,W.H., Franz, C.M., Ludwig,W., DICKS,L.M.T.(2009).** Genus *Pediococcus*. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology: The fermicutes. Second Edition. Volume Three. Springer.

I

- **Isnard, C. (2017).** « *Enterococcus spp*: entre pathogènes opportunistes et probiotiques », , université de Caen Normandie, 299p., Caen Normandie. Doctorat: 299.

K

- **Kamaly, K., 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. (1983).**Carbohydrate metabolism in lactic acid bacteria .antonie van leeuwenhek49:209-224.
- **Karem, N.E, Dellalla, Zadi. Karem. (2012),** activite lipolytique chez les bacteries lactiques, lipolytic activity from lactic bacteria, reaserch ruminants, 2012.
- **Khoudja, B. (2018).** Caractérisation phénotypique et moléculaire des souches de bactéries lactiques productrice de bactériocine (Thèse de doctorat, Université de Djillali liabes de Sidi bel Abbes).
- **Kim. (2014).** The genus *Lactococcus*, Lactic acid bacteria. Biodiversity and taxonomy. John Wiley et Sons Ltd. 430-443.
- **Klaenhammer, T. R. Fremanse, C., Hacher Y. (1994).** Activite antibactérienne des bacteries lactiques, de Roissart ET F.M Luquet, Lorica.
- **KÖNIG, H., FRÖHLISH, J. (2009).** Lactic acid bacteria. Biology of Microorganism on Graps, in Must and in Wine. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. 522 p.

Références bibliographiques

- **KÖNIG, H., FRÖHLISH, J. (2009).** Lactic acid bacteria. Biology of Microorganismes on Grapes, in Must and in Wine. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. 522 p
- **KRZYŚCIAK, W., PLUSKWA K., JURCZAK, A., KOŚCIELNIAK, D. (2013).** The Pathogenicity of the *Streptococcus* Genus. European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases. 32(11): 1361-1376
- **Kumari, A., Makeen, K., Garg, A.P., Marotta, F., Gupta, C., Divya. (2009).** Effet of the bacteriocin produced by *Lactococcuslactis* subsp. lactisCCSUB202, on mode of action of *Lactococcuslactis* subsp. lactis MTCC3038. Int. J. Prob. Preb. 4(3) : 1-6
- **Kunji, E.R., Mierau, I., Hagting, A., Poolman, B., Konings,W.N. (1996).** The Proteolytic system of lactic acid bacteria. Antonie van leeuwenhoek 70:187–221

L

- **Labioui, H., Moualdi, L., Yachioui, M.,Ouhssine,M.(2005).** Sélections de souches de bactéries lactiques antibactérienne. Bulletin de la société de pharmacie de Bordeaux. 144: 237- 250.
- **Lahtinen, S., SALMINEN, S., OUWEHAND, A., WRIGHT, A.V. (2011).** Lactic acid bacteria, Microbiological and functional aspects. 4ème édition. Boca Raton : CRC Press.
- **Lahtinen, S., OUWEHAND, A.C., SALMINEN,S., et WRIGHT ,A.V.(2012).** Lactic Acid Bacteria Microbiological and functional aspects (4thedition).Taylor& Francis Group, Boca Raton London, New York.
- **Lanciotti, R., PATRIGNANI, F., BAGNOLNI, F., GUERZONI, M. E. et GARDINI F. (2003).** Evaluation of diacetyl antimicrobial activity against *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* and *Staphylococcus aureus*. Food Microbiology, 20: 537-543.
- **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, 7, 715-728
- **Lansing, M., PRESCOTT , JOHN, P., HARLEY, DONALD, A., KLEIN. (2003).** Microbiologie De Boeck Supérieur, P 549

Références bibliographiques

- **Larpent, J.P., Larpent, M.G. (1997).** Les microorganismes procaryotes in: « .Afimento technique de la microbiologie ». 3ème édition. TEC et DOC, Lavoisier. Paris: 255- 631.
- **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. Thèse de magister, Université Des Frères Mentouri Constantine Institut De La Nutrition, De L'alimentation Et Des Technologies Agro-Alimentaires (I.N.A.T.A.A.), 150p.
- **Laurent Federighi, M., Jouve, J L. (1998).** Manuel de bactériologies alimentaire, polytechnica. Paris: 308p.
- **Law B.A. And Kolstad J., 1983.** Proteolytic systems in lactic acid bacteria. Antonie van leeuwenhoek 49: 225-245.
- **Law., Haandrikman, A.(1997).** Proteolytic enzymes of lactic acide bacteria.int dairy j .7:1-11.
- **Leayh, S. C., Higgins D. G., Fitzgerald G. F., Van Sinderen, D.(2005).** Getting better with bifidobacteria. Journal of Applied Microbiology, 98 pp: 1303-1315. Leatherhead Food Research, 2009.
- **Leveau, J.Y, Bouix, M., DEROJSSART, M. (1991).** La flore lactique. Technique d'analyse de contrôle dans les IAAO. 2ème édition Tome3. Tech et Doc., Lavoisier, 2-40
- **Leveau, J.Y, Bouix, M.(1993).** Microbiologie industrielle: les microorganismes d'intérêt industriel. Tec et doc, Lavoisier. Paris. 85-87.
- **Limsowtin, G. K. Y., Broom, M. C., Powell, I. B. (2004).** Lactic acid bacteria· taxonomy. In Encyclopedia of Dairy Science. Roginski H. Oxford, Elsevier· pp :1470-1478.
- **Liu S-Q. (2003).** Practical implications of lactate and pyruvate metabolism by lactic acid bacteria in food and beverage fermentations. vol. 83, p. 115-131.
- **Lynch, C.M., MC Sweeney, P.L.H., Fox, P.F., Cogan, T.M., Drinan F.D. (1997).**contribution of starter lactococci and non-starter lactobacilli to proteolysis in cheddar cheese with a controlled microflora. Lait 77, 441-459.

Références bibliographiques

- **Mathot, A.G., Béllard, E., Thuault D. (1996).** Propriétés antimicrobiennes des bactéries lactiques in:« Microbiologie alimentaire, Aliments fermentés et fermentation alimentaires» .Tom 2. 2ème édition. Technique et Documentation. Paris : 432-447.
- **Mattarelli, Paola., Biavati, Bruno. (2014).** The genera *Bifidobacterium*, *Parascardovia* and *Scardovia*. Lactic acid bacteria, Biodiversity and taxonomy. John Wiley et Sons, LTd: 509- 541. UK.
- **Mattarelli, P., Holzapfel, W., FRANZ, M.A.P.C., et al. (2014)** Recommended minimal standards for description of new taxa of the genera *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* and related genera. *Int J Syst Evol Microbiol* 64, 1434–1451.
- **Mayers, S.A., Cuppett, S.L., Hutkns, R.W. (1996).** Lipase production by lactic acid bacteria and activity on butter oil. *Food Microbiol.* 13 : 383–389
- **MÄYRÄ –MÄKINEN, A., BIGRET, M. (2004).** Industrial use and production of lactic acid bacteria. In : lactic acid bacteria: microbiology and functional aspects (salminen s., wright a.v. Et ouwehand a.). 3e ed., marcel dekker, Inc. New York, 73-102.
- **Menad, N. (2017).** Effet antagoniste des bactéries lactiques isolées à partir du lait de vache vis- à-vis de *Salmonella sp*, Abdelhamid Ibn Badis Mostaganem. Doctorat: 196
- **Menad, N. (2018).** Effet antagoniste des bactéries lactiques isolées à partir du lait de vache vis à vis de salmonella sp.thèse de doctorat. Université Abdelhamid Ibn Badis Mostaganem, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, 196p
- **Mermouri L , L. (2018).** Étude de l'Effet de Souches Probiotiques de Bactéries Lactiques (*Lactobacillus spp.*), Isolées e Produits Fermentés, sur la Valeur Nutritive de Fourrages Conservés par Ensilage, thèse de doctorat. Université des Sciences et de la Technologie d'Oran Mohamed-Boudiaf,177p.
- **Moonet, V., Latrille, E., BÉAL, C., CORRIEU, G. (2008).** Croissance et propriétés fonctionnelles des bactéries lactiques. In: bactéries lactiques de la génétique aux ferments (corrieu g. ET luquet f.m.). Tec & doc, Lavoisier. Paris. 512-592.
- **Mozzi, F., Vignolo, G. M. (2010).** Biotechnology of lactic acid bacteria: novel applications (1 stEd). John Wiley et Sons.

Références bibliographiques

- **Muto, A., Osawa, S. (1987).**The guanine and cytosine content of genomic DNA and bacterial evolution. U S A: Proc Natl Acad Sci, vol. 84, p. 166-169

O

- **Ogunbanwo,S.T., Sanni,A.I., Onilude, A.A. (2003).**Characterization of bacteriocin produced by *Lactobacillus plantarum* F1 and *Lactobacillus brevis* OG1. African.J. Biotechnol. 2(8) : 219-227.
- **Orla Jenson, S. (1919).** The Lactic bacteria Hosledsoncopen: 74: pp 131-142
- **Ouwehand, A.C., Vesterlund, S. (2004).** Antimicrobial Components from Lactic Acid Bacteria in Lactic acid bacteria, Microbiological and Fonctional Aspect. Third Edition. Marcel Dekker

P

- **Papagianni, M., Anastasiadou, S. (2009)** Pediocins: The bacteriocins of *Pediococci*. Sources, production, properties and applications. *Microb Cell Fact*.8: 3.
- **Park, S. N., Lim, Y. K., Shin, J. H., Chang, Y. H., Shin, Y., Paek, J., ... et KOOK, J. K. (2019).** *Streptococcus gwangjuense* sp. Nov., isolated from human pericoronitis. *Current microbiology*, 76(7), 799-803. •
- **Patel, S., Gupta, R. S. (2018).** Robust demarcation of fourteen different species groups within the genus *Streptococcus* based on genome-based phylogenies and molecular signatures. *Infection, Genetics and Evolution*, 66, 130-151.
- **Piard, JC., Desmazeaud, M. (1991).**Inhibitions 'factors produced by lactic acid bacteria: Bacteriocins and other antibacterial substances. *Le lait*, 72, 113-142
- **Pilet, M.F., MAGRAS, C., FEDERIGH, M.(2005).** Bactéries lactiques. In: *bactériologiealimentaire* (2e Edition. Economica, Paris ,219-240.
- **Pot, B. (2008).** The taxonomy of lactic acid bacteria. In : *Bactéries lactiques de lagénétique auxferments* (Corrieu G. et Luquet F.M.). Tec & Doc, Lavoisier. Paris.1-106.
- **Prescott LM, JP HARLEY., DA KLEIN. (2003).** Les bactéries lactiques: les Gram –positif pauvres en GC. Dans: *microbiologie*, 2eme éd. Française. Prescott, L.M., M-PHarley, D.A.Klein (eds). De Book Université, Bruxelles, Belgique.5A-535.

Références bibliographiques

- **Price, R.J., LEE , J.S. (1970).** Inhibition of Pseudomonas species by hydrogen peroxide producing Lactobacilli. J. Milk and Food Technol, 33: 13-18.
- **Priyanka, S., PRAKSH, 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

R

- **Raynaud, S. (2006)** Régulation métabolique et transcriptionnelle de l'autoacidification chez Lactococcus lactis. Thèse de doctorat. Institut national des sciences appliqués de Toulouse: 21p.
- **Reuben, R. C., Roy, P. C., Sarkar , S. L., ALAM, A. R. U., JAHID, I. K. (2020).** Caractérisations and evaluation of lactic acid bacteria from indigenous raw milk for potential probiotic properties. Journal of dairy science, 103(2), 1223-123
- **Rodrigues et al. (2002).** IN **BOUDJANI, W. (2009).** Action de la flore lactique sur les bactéries contamination. Mémoire d'ingénieur, Institut de biologie, Université de Tlemcen. Pages 73.
- **Rodriguez, J. M., MARTÍNEZ , M., IKOK, J. (2002)** Pediocin PA-1, a wide-spectrum bacteriocin from lactic acid bacteria. Crit Rev Food Sci Nutr.42: 91-121.
- **Roissart, H., LUQUET, Fm. (1994).** Bactéries lactiques, i et ii ; lorica (chemin de saint georges), f38410, France.
- **Roudj, S., BELKHEIR, K., ZADI-KARAM, H., KARAM ,N.E. (2009).** Protéolyse et autolyse chez deux *lactobacilles* isolés de lait camelin du Sud-Ouest Algérien. European. J.Sci. Res. 34 (2): 218-227.
- **Ruiz – Moyano, S., MARTIN, A., BENITA, M.J., NEVADO, F.P., CORDOBA, M.G.(2008).** Meat Sciences, (80), 715-721.

S

- **Sallofe, Coste. (1994).** *Lactifs acid bacteries. Dannone New Letter n°5 July*
- **Scheilfer Schleifer K.H. (1987).** Recent changes in the taxonomy of lactic acid bacteria. FEMS Microbiol. Letters. 46: 201-203.

Références bibliographiques

- **Scheilfer, K. H., Ludwig, W. (1995).** Phylogenetic relationships of lactic acid bacteria, p. 7-18. In B. J. B. Wood and W. H. Holzapfel (eds.), the lactic acid bacteria, vol.2: The genera of lactic acid bacteria. Blackie Academic and Professional, Glasgow
- **Scheilfer, K.H., Kraus, J., Dvorak, C., KILPPER –BÄLZ , R., COLLINS, M.D., FISCHER, W. (1985).** Transfer of *Streptococcus lactis* and related Streptococci to the genus *Lactococcus* gen. nov. *Systematic and Applied Microbiology*, 6, pp: 183-195.
- **Schnürer, J., Magnusson, J. (2005).** Antifungal lactic acid bacteria as bio preservatives. *Food Sc. Technol*, 16: 70-78.
- **Siegumfeldt, H., RECHINGER, K.B., JAKOBSEN, M. (2000).** Dynamic changes of intracellular pH in individual lactic acid bacterium cells in response to a rapid drop in extracellular pH. *Appl Environ Microbiol*, 66: 2330-2335.
- **Serhan, M., CAILLIEZ –GRIMAL, C., BORGES ,F., REVOL –JUNELLES, A.M., HOSRI C., FANNI, J.(2009)** .bacterial diversity of darfiyeh, a lebanese artisanal raw goat’s milk cheese. *Food microbiol*.26: 645-652.
- **Sherid, M., SAMO, S., SULAIMAN, S., HUSEIN, H., SIFUENTES, H., SRIDHAR, S. (2016).** Liver abscess and bacteremia caused by *Lactobacillus*: role of probiotics? Case report and review of the literature. *BMC gastroenterology*, 16(1), 1-6.
- **Simpson, W.J., TAGUCHI, H.(1995).** The genus *Pediococcus* with notes on the genera *Tetragenococcus* and *Aerococcus*. In the *Genera of lactic acid bacteria*, Wood BJB., Holzapfel WH, Eds; Chapman & Hall, London, 125-172.
- **Slamania et Saddok. (2018).** Aptitudes technologiques des souches lactiques locales , Master , Université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem , 72 P
- **Stiles, M E., Holzapfel, W H. (1997).**Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy. *Int.J. Food Microbiol*.36: Acidification improves cryotolerance of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *Bulgaricus*. *CFII.J Biotechnol*. 128: 659-667.

T

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

Références bibliographiques

- **Tayeb, C. (2018).** ETUDE DES APTITUDES TECHNOLOGIQUES DE SOUCHES LACTIQUES ISSUES DU J'BEN DE CHEVRE, Master, Université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem, 90 p
- **Teuber, M., GEIS, A., NEVE, H. (1995).** The genus *Lactococcus*. In Balows A, Truber HG, Dworkin, Harder MW et Schleifer KH(eds). *The Prokaryotes*. Vol II. 2nd. 1482-1501 Springer-Verlag, New York, USA.
- **Topisirovic, L., KOJIC, M., FIRA, D., GOLIC, N., STRAHINIC, I., LOZO, J. (2006).** Potential of lactic acid bacteria isolated from specific natural niches in food production and preservation. *Int J of Food Microbiol*, vol. 112, p. 230-235.
- **TOSUKHOWONG, A., NAKAYAMA, J., MIZUNOE, Y., SUGIMOTO, S., FUKUDA, D. SONOMOTO, K. (2005).** Reconstitution and function of Tetragenococcus halophilachaperonin 60 tetradecamer. *J. Biosci. Bioengin.* 99 : 30-37.

V

- **Van Den Berg, J.C., SMITS, A., POT, B., LEDEBOER, A.M., KERESTERS, K., VERBAKEL, J.M.A., VERRIPS, C.T. (1993).** Isolation, screening and identification of lactic acid bacteria from traditional food, fermentation processes and culture collection. *Food Biotechnology*, 7, pp: 183-205
- **Vasiljevic, T., SHAH, N.P. JELEN, P. (2005) :** growth characteristics of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *Bulgaricus* ATCC. 11842 as affected by different neutralizers. *Aust J Dairy technol*, 60 :3- 9.
- **Veilleumard, J.C. (1986).** Microbiologie des aliments. Evolution de l'activité protéolytique des bactéries lactiques. Tec et doc, Lavoisier. Paris. 3 : 1-65.
- **Vollenweider, S. (2004).** "3-hydroxypropionaldehyde: applications and perspectives of biotechnological production." *Appl Microbiol Biotech* 64: 16-27.

W

- **Wallace, T. D., Bradley, S., BUCKLEY, N. D., GREEN –JOHNSON, J. M. (2003).** Interactions of lactic acid bacteria with human intestinal epithelial cells: effects on cytokine production. *Journal of Food Protection*, 66(3), 466-472

Références bibliographiques

- **Whiley, R.A., HARDIE, J.M. (2009).** Genus Streptococcus Rosenbach 1884, 22AL. In: De Vos, P; Garrity G., Jones D et al .(eds), Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, 2nd ED , Vol3. New York: Springer.655-711.
- **Wijtzes, T., BRUGGEMAN, M., NOUT, M., ZWWIERERING, M.(1997).** A computerized system for the identification of lactic acid bacteria. J.Food.Microbiol, vvol,38n°1, p, 65-70
- **Willams, A. G., Noble, J., Banks, J. M. (2001).** Catabolism of amino acids by lactic acid bacteria isolated from Cheddar cheese. International of Dairy Journal, 11: 103-115
- **WRIGHT, V.A. (2012).** Genus Lactococcus, Lactic acid bacteria microbiological and functional aspects, Fourth edition. Taylor et Franci Group. 1: 63-73.

Y

- **Yvon, M. (2006).** Key enzymes for flavor formation by lactic acid bacteria Australian. Journal of Dairy Technology, vol. 61, n°2, p. 89-96.

Z

- **Zalacian, I., ZAPELENA, M.J., ASTIASARAN, I., BELLO, J. (1996).** Addition of lipase from candida cylindracea to a traditional formulation of a dry fermented sausage. Meat science, 42: 155-163.
- **Zalan, Z., BARATH, A., HALASZ, A. (2005).** Influence of growth medium on hydrogen peroxide and bacteriocin production of Lactobacillus strains. Food Technol. Biotech, 43(3): 219-225.
- **Zalan, Z., HUDACEK, J., STETINA, J., CHUMCHOLOVA,J., HALASZ,A. (2010).** Production of organic acids by Lactobacillus strains in three diffrent media. Eurfood Res Technol 230 :395- 404.
- **Zergoug , A. (2017).** Effet des probiotiques et bactériocines vis-à-vis des pathogènes responsables des infections urinaires, Thèse Doctorat , UNIVERSITE ABDELHAMID BENBADIS - MOSTAGANEM ,160p
- **Zhang, H., CAI, Y. (2014).** Lactic Acid Bacteria Fundamentals and Practice. Springer Dordrecht Heidelberg New York Pondon P:535

Annexes

ANNEXES

Annexe I :

Tableau 01 : matériel et appareillages

Petits matériels et verreries	Appareillage
✓ Pipettes Pasteur, ✓ Flacons ✓ Tubes à essais ✓ Pipettes graduées ✓ Boîtes de pétri ✓ Bécher ✓ Burette ✓ Anse de platine ✓ Tube eppendorfs ✓ Les embouts ✓ Les cuves ✓ Micropipette	✓ Microscope optique (OLYMPUS) ✓ Ph mètre (HANNA, Roumanie) ✓ Réfrigérateur (CONDOR) ✓ Spectrophotomètre (JENWAY-7305 Royoume –Uni) ✓ Vortex électrique (STUART)) ✓ Plaque chauffante avec agitateur ✓ Autoclave ✓ Bain marie ✓ Balance (KB 6000-1) ✓ Étuve

Les réactifs :

- ✓ Bleu de méthylène
- ✓ Violet de gentiane
- ✓ Fuschine
- ✓ Lugol
- ✓ Alcool
- ✓ Phénolphtaléine

Annexe II:

Composition des milieux de culture.

Milieu MRS (De Man, Rogosa and Sharpe, 1960)

Extrait de levure	5 g
Extrait de viande	10 g
Peptone	10 g
Acétate de sodium	5 g
Citrate de sodium	2 g
Glucose	20 g
KH ₂ PO ₄	2 g
MgSO ₄	0,25 g
MnSO ₄	0,05 g

ANNEXES

Tween80	1 ml
Eau distillée	1000 ml
pH =6,8	

Milieu M17 (TERZAGHI ET SANDINE, 1975)

Peptone de caséine	10g
Peptone de viande	2,5g
Peptone de soja	5g
Extrait de levure	2,5g
Extrait de viande	5g
B-glycérophosphates	19g
MgSO4	0,25 g
Lactose	5 g
Acide ascorbique	0,5 g
Agar	20 g
Eau distillée	1000ml
pH 7,2	
Autoclavage 120°C, 20 min.	

Milieu PCA (Plate Count Agar)

Tryptone	5g
Glucose	1g
Extrait de levure	2.5g
Lait écrémé	1g
Agar	15g
Eau distillée	1000ml

Milieu MH (Mueller et Hinton, 1941)

Hydrolysate acide de caséine (peptone)	17,5g
Extrait de viande	2g
Amidon de maïs	1,5 g
Agar-agar	17 g
pH=7.4	
Autoclavage 120°C, 20 min	

bouillon nutritif (BN) :

Peptone	15 g
Extrait de levure	3g
Glucose :	1g
NaCl:	6g
Eau:	1000ml

Le milieu lait écrémé 10 %:

Lait	100g
Eau:	1000ml

Solution de NaOH :

NaOH	4.44g
Eau:	1000ml

ANNEXES

Eau physiologie :

NaCl	9g
Eau distillée	1000 ml

Annexe III :

Tableaux des résultats

Tableau 02 : Evolution du pH pour les souches isolées à partir du produit J'ben

souche	0h	2h	4h	6h	24h
BLS1	6.34	6.27	5.36	4.53	3.69
BLS2	6.5	5.98	5.86	5.8	4.89
BLS3	5.87	5.69	5.51	5.34	4.62
BLS4	5.78	5.76	5.62	5.36	4.76
BLS5	5.87	5.67	5.6	5.52	4.96
BLS6	6.01	5.87	5.78	5.45	4.48
BLS7	6.15	5.75	5.62	5.5	4.12
BLS10	6.06	5.83	5.61	5.34	3.92
BLS11	5.86	5.84	5.76	5.47	4.46
BLS12	5.83	5.79	5.68	5.63	4.59
BLS13	6.04	5.9	5.78	5.67	4.94
BLS17	6.1	5.96	5.89	5.74	4.26
BLS19	6.17	5.85	5.8	5.63	5.13
BLS20	6.11	5.94	5.89	5.7	5.04
BLS22	6.06	5.9	5.79	5.64	4.04
BLS23	6.14	5.98	5.94	5.78	4.72
BLS24	6.15	6.08	5.92	5.7	4.56

Tableau 03 : Evolution du pH pour les souches isolées à partir du produit Smen

souche / temps	0h	2h	4h	6h	24h
BLS8	6.22	5.89	5.7	5.46	4.06
BLS14	5.76	5.57	5.44	5.35	4.76
BLS15	5.98	5.79	5.72	5.56	4.85
BLS16	5.98	5.78	5.7	5.32	4.03
BLS18	6.15	6.06	5.86	5.78	4.16
BLS21	5.76	5.66	5.55	5.1	4.15
BLS25	6.13	6	5.79	5.72	4.45

ANNEXES

Tableau 04 : Cinétique d'évolution de l'acidité chez les souches isolées du J'ben

souches / Temps	0h	2h	4h	6h	24h
BLS1	27	29	42	78	129
BLS2	22	24	28	31	60
BLS3	20	28	32	35	70
BLS4	18	23	30	35	88
BLS5	18	25	32	40	87
BLS6	22	30	32	43	92
BLS7	28	29	30	34	68
BLS10	22	25	30	40	95
BLS11	16	22	25	32	86
BLS12	20	23	26	31	81
BLS13	24	26	28	30	66
BLS17	18	24	26	34	103
BLS19	25	27	30	32	51
BLS20	22	26	27	30	52
BLS22	22	24	27	30	110
BLS23	17	24	25	27	75
BLS24	17	25	27	30	90

Tableau 05 : Cinétique d'évolution de l'acidité chez les souches isolées du Smen

souche / temps	0h	2h	4h	6h	24h
BLS8	27	29	35	37	135
BLS14	15	25	30	32	62
BLS15	18	23	25	29	75
BLS16	20	28	30	32	117
BLS18	20	21	23	25	95
BLS21	25	30	35	45	97
BLS25	16	25	28	30	89

ANNEXES

Tableau 06 : Résultats de l'activité protéolytique des souches de bactéries lactiques isolées à partir jben et smen.

souche	Moyenne de protéolyse en mm	Evaluation de protéolyse
BLS1	33	+++
BLS2	18	++
BLS3	21.5	++
BLS4	20	++
BLS5	17.5	++
BLS6	20	++
BLS7	31.5	+++
BLS8	26.5	+++
BLS10	32	+++
BLS11	31	+++
BLS12	28.5	+++
BLS13	31	+++
BLS14	24	++
BLS15	30	+++
BLS16	26	+++
BLS17	26	+++
BLS18	25	++
BLS19	24	++
BLS20	27	+++
BLS21	27	+++
BLS22	30.5	+++
BLS23	24.5	++
BLS24	23.5	++
BLS25	24.5	++

(+++): fort activité protéolytique ; (++): moyen activité protéolytique

ANNEXES

Tableau 07: Diamètre de la zone d'inhibition (en mm).

SOUCHE	S. A	E . COLI	B . S	P.R	C.A
BLS 1	15	16/	25	22	16
BLS 2	16	15	17	19	15
BLS3	18	16	18	16	16
BLS4	17	18	17	23	13
BLS5	15	15	15	21	15
BLS6	16	17	17	18	19
BLS7	20	18	19	17	18
BLS8	13	13	20	21	16
BLS10	14	11	11	8	12
BLS11	12	14	12	0	13
BLS12	19	13	16	8	16
BLS13	15	13	11	8	14
BLS14	11	14	12	8	8
BLS15	13	17	15	12	15
BLS16	14	16	15	0	13
BLS17	15	17	20	16	13
BLS18	14	14	10	11	10
BLS19	15	15	14	14	13
BLS20	15	15	8	16	15
BLS21	20	14	10	20	17
BLS22	15	14	8	0	14