

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

UNIVERSITÉ ABDELHAMID IBN BADIS – MOSTAGANEM

Filière : Sciences agronomiques

Spécialité : Nutrition et Sciences des Aliments

Option : Nutrition et Sciences des Aliments



THESE

PRÉSENTÉE POUR L'OBTENTION DU DIPLÔME DE
DOCTORAT 3^{ème} CYCLE LMD

Présentée par :

Mlle : **BOUCHIBANE Malika**

THEME

Identification des bactéries lactiques isolées des produits laitiers artisanaux : Aptitudes technologiques et essais de fabrication d'un lait fermenté.

Soutenu le : 13 / 03 /2023

Devant le jury :

Président	DJIBAOUI Rachid	Pr	Université de Mostaganem
Directeur de thèse	CHERIGUENE Abderrahim	Pr	Université de Mostaganem
Co-directrice de thèse	TABET AOUL Faiza	MCA	Université de Mostaganem
Examineur	BOUDEROUA Kaddour	Pr	ESA-Mostaganem
Examineur	BENABDELMOUMENE Djilali	MCA	Université de Mostaganem

Laboratoire de Technologie alimentaire et Nutrition

Année universitaire : 2022/2023

Remerciements

Avant tout je remercie Allah le tout puissant qui m'a éclairé le chemin de la réussite et m'a donné autant de courage, de volonté, de santé et de patience durant mes années d'étude et surtout la force pour réaliser et accomplir ce modeste travail.

En premier lieu je remercie infiniment mes très chers parents qui m'ont soutenue durant mes études.

Mes sincères remerciements à mon état algérien, au ministère de l'enseignement supérieur et la DGRST qui m'ont donné l'opportunité de réaliser certaines analyses à travers la plateforme IBTIKAR et à notre Université Abdelhamid Ibn Badis Mostaganem ainsi que tout le personnel de cette université.

Je tiens à remercier très profondément mon honorable et respectable Professeur Directeur de la thèse : **CHERIGUENE Abderrahim** qui m'a proposé ce thème de doctorat, pour ces précieux conseils, ses orientations, ses encouragements, sa gentillesse et son assistance durant toutes ces années de recherche. Je tiens également à le remercier pour la confiance et la liberté de travail et de décision qu'ils m'ont accordée. J'étais très satisfaite et heureuse d'être suivie par ce respectable professeur comme je lui suis très reconnaissante.

Je remercie ma co-directrice TABET AOUL Faiza Maître de conférences classe A à l'Université Abdelhamid Ibn Badis, aussi mes sincères et vifs remerciements à mon respectable Professeur le Directeur de laboratoire technologie alimentaire et nutrition Mr AIT SAADA Djamel qui m'a porté aide et conseils dans ma recherche.

J'exprime mes remerciements les plus respectueux aux honorables membres de jury pour m'être fait l'honneur d'évaluer ma thèse :

Professeur DJIBAOUI Rachid pour avoir accepté de présider le jury.

Mes Professeurs BOUDEROUA Kaddour et BENABDELMOUMENE Djilali qui ont bien voulu d'examiner ce travail, je tiens également à exprimer ma profonde gratitude pour m'avoir accueillie au sein de leurs laboratoires.

Je tiens à remercier vivement les Professeurs DAHOU Amine et BENBOUZIANE Asri pour m'être partagé leurs expériences et pour leurs précieuses et judicieuses orientations, je leur suis très reconnaissante.

J'adresse mes plus sincères remerciements aux différents laboratoires qui m'ont ouvert leur porte et qui ont mis à ma disposition le matériel et les produits nécessaires pendant ma recherche scientifique, je les cite : Le laboratoire de la wilaya de Blida sous la direction du chef service Mr TEFFAHI Djamel, le Laboratoire de la wilaya de TIPAZA de BOUSMAIL « CRAPC » sous la direction de Mr DHIAEDDINE et M^{lle} KACED AMEL chefs de service de recherche technique en Analyse physique et chimique. Aussi je remercie infiniment le laboratoire de recherche et développement de la laiterie SIDI SAADA de Relizane sous la direction de Mr BRIKI WAHID comme je remercie tout le personnel de ce laboratoire et la direction de cette laiterie qui m'a autorisée de suivre ma recherche durant toute la journée. J'exprime toute ma reconnaissance à l'Ingénieur de laboratoire, madame HAMED Djahira, pour son aide et sa générosité. Comme je profite à remercier les respectables Professeurs :

Professeur FASSIH Aicha qui m'a encouragé durant mes années d'études, Professeur BOUTAGHANE Mohamed, CHOUGRANI Fadela, ZABOURI Younes, AIT CHAABANE Louiza et Professeur TAIBI sans oublier tous ceux qui m'ont enseigné durant la première année. Et sans oublier le défunt professeur BENMILOUD qui m'a ramené certains produits laitiers, que la paix de DIEU soit sur son âme.

Votre aimable doctorante BOUCHIBANE Malika.

Dédicaces

Je dédie cette thèse qui est le fruit de tout un long chemin d'études :
Pour les plus beaux cadeaux que DIEU m'a donnés, ce que je dus à leurs faveurs tout ce que je suis maintenant, ceux qui m'ont aidé sur mon chemin, à mes très chers parents.

À mon cher père qui ne cesse de donner et ne prend jamais, qui a su me donner confiance, dont je suis fier de lui et j'espère que Dieu lui accorde une longue vie pour qu'il puisse assister à d'autres succès. Il m'a développé en moi le sens de l'honneur, de la dignité, du courage, de la logique de rationnel, et de la responsabilité, y compris son sérieux et sa discipline qui ont été et seront toujours pour moi un exemple à suivre.

À ma chère mère qui était pour moi un symbole du sacrifice infini, de tendresse et du dévouement, qui m'a accompagnée durant toutes mes années d'études et me donnant le meilleur des mères, l'amour et la compréhension, que dieu la garde pour moi.

À mon cher et unique frère « Abdelali » et sa femme Hamida.

À ma chère sœur Meriem et son épouse BETTACHE Omar, je leur exprime toute ma reconnaissance pour leur aide précieuse et leur soutien indéfectible.

À mes très chères sœurs : Maroua, Manel et Mayar, pour leurs encouragements et leur amour, ainsi pour leur aide inestimable.

À mes chers et adorables neveux et nièces « Anisse Aïssa, younes, rinede et chahd » que Dieu leur garde et leur bénisse.

À ma chère cousine et sœur TEBBAL Amina et son épouse BELMILOUD Hussein et leurs chers enfants, je leur remercie pour leur accueil, leur aide précieuse quant à la réalisation de stage dans l'usine SIDI SAADA.

À mes défunts ma tante Rabiaa, mon oncle M'Hamed et mes grands-parents pères et mères que la paix de DIEU soit sur leur âme.

À mes oncles et mes tantes, mes cousins et mes cousines.

À toutes les personnes que j'ai connues, en particulier mes amies : Karima, Nawel, Amira, Rabia, Ferial, khadidja, Amel, chafika, Amina et karim avec lesquelles j'ai passée des moments inoubliables.

ملخص

تهدف هذه الدراسة لعزل وتحديد بكتيريا حمض اللاكتيك من اجل اختيار سلالات ذات قدرة تكنولوجية جيدة تسمح لنا بالحصول على مادة أولية موثوقة و محلية، والتي تساهم في الإنتاج الوطني لمشتقات الحليب.

تم عزل اجمالي 280 سلالة من 19 عينة مأخوذة من خمسة أنواع من مشتقات الحليب التقليدية المحضرة من حليب البقر والماعز الخام، وتم جمعها من مزارع تقع في مناطق جزائرية مختلفة.

كشفت تقنية MALDI-TOF MS عن وجود 7 أنواع: *Lactobacillus fermentum*, *Enterococcus faecium*, *Lactobacillus plantarum*, *Enterococcus faecalis*, *Lactococcus lactis ssp lactis*, *Lactobacillus paracasei ssp paracasei*, *Lactobacillus paraplantarum*. PCR وتسلسل الحمض الريبسي

النووي 16S اظهر ان السلالات تنتمي الى:

Limosilactobacillus fermentum, *Lactiplantibacillus plantarum*, *Lactiplantibacillus pentosus* et *Enterococcus faecium*. وتم نشر تسلسل هذه السلالات في قاعدة بيانات GenBank.

سمحت لنا النتائج باختيار 5 سلالات ذات نشاط تحليل الدهون ما بين 13.66 ± 1.154 الى 20.67 ± 0.577 ، وأربعة سلالات لها قدرة فعالة على انتاج النكهات والحموضة عن طريق خفض الرقم الهيدروجيني الى 4.9 بحموضة تتراوح ما بين 59 و67 °D بعد 4 ساعات، والتي كان زمن تخثرها من 8 الى 10 ساعات مع نسبة اللاكتوسيروم لا تتجاوز 1.80%. إضافة الى ذلك كانت نتائج نشاط البروبيوتيك جد مهمة. من جهة أخرى اظهر استخدام السلالات في تحضير الياغورت أفضل جودة حسية. علاوة على ذلك، قد وجدت البكتيريا اللبنية حية في المنتج النهائي. من خلال هذه الدراسة المهمة يمكننا ان نؤكد ان السلالات المدروسة لديها وظائف تكنولوجية ملائمة لإعداد مشتقات الحليب وبإمكان استغلالها مستقبلا كخمائر لبنية في مصانع الالبان.

الكلمات المفتاحية:

البكتيريا حمض اللاكتيك، منتجات الالبان التقليدية، MALDI-TOF MS، PCR، تسلسل الحمض الريبسي النووي 16S، المهارات التكنولوجية، الحليب المخمر «ياغورت» .

Résumé

La présente étude a pour but d'isoler et d'identifier les bactéries lactiques afin de sélectionner des souches ayant un bon pouvoir technologique permettant d'avoir nos propres matières premières fiables et propres à notre pays qui contribuent à la production nationale des dérivés laitiers. Un total de 280 souches a été isolé à partir de 19 échantillons provenant de cinq types des produits laitiers artisanaux préparés à base du lait cru de vache et chèvre et collecté au niveau des fermes situées dans différentes régions Algériennes.

L'identification MALDI-TOF MS a révélé la présence de 7 espèces : *Lactobacillus fermentum*, *Enterococcus faecium*, *Lactobacillus plantarum*, *Enterococcus faecalis*, *Lactococcus lactis ssp lactis*, *Lactobacillus paracasei ssp paracasei* et *Lactobacillus paraplantarum*. Cependant, l'identification par PCR et séquençage de l'ARN 16S a montrée que les souches appartiennent aux espèces *Limosilactobacillus fermentum*, *Lactiplantibacillus plantarum*, *Lactiplantibacillus pentosus* et *Enterococcus faecium*. En outre, Les séquences de nos souches ont été publiées dans la base de données GenBank.

Les résultats ont permis de sélectionner 5 souches ayant une activité lipolytique variée de 13.66 ± 1.154 à 20.67 ± 0.577 et 4 souches qui sont douées d'une activité aromatisant et acidifiante en diminuant le pH à 4.90 et produisant une acidité se situant dans l'intervalle $67 \leq D \leq 59$ après 4 h dont le temps de coagulation était 8 à 10h avec un taux de synérèse qui ne dépasse pas 1.80%. De plus, les résultats probiotiques étaient intéressants. D'autre part, l'application de nos souches dans la préparation du yaourt a donné une meilleure qualité organoleptique. Toutefois, la flore lactique a été trouvée viable dans le produit fini.

Suite à ces résultats satisfaisants et prometteurs, nous pouvons affirmer que nos souches ont des fonctionnalités Technologiques convenables pour la préparation des produits laitiers et peuvent être exploitées comme levains lactiques dans l'industrie laitière.

Mots clés : Bactéries lactiques, produits laitiers artisanaux, MALDI-TOF MS, PCR, Séquençage de l'ARN 16S, Aptitudes technologiques, lait fermenté « Yaourt ».

Abstract

The present study aimed to isolating and identifying Lactic acid bacteria for the selection of strains with good technology performance to have our own reliable and country specific raw materials that contribute to the national production of milk derivatives. A total of 280 strains were isolated from 19 samples coming from five types of artisanal dairy products prepared from raw cow and goat milk and collected from farms located in different Algerian regions. The MALDI-TOF identification revealed the presence of 7 species: *Lactobacillus fermentum*, *Enterococcus faecium*, *Lactobacillus plantarum*, *Enterococcus faecalis*, *Lactococcus lactis ssp lactis*, *Lactobacillus paracasei ssp paracasei* et *Lactobacillus parapantarum*. However, the identification using PCR and 16S RNA sequencing showed that the strains belong to the species *Limosilactobacillus fermentum*, *Lactiplantibacillus plantarum*, *Lactiplantibacillus pentosus* et *Enterococcus faecium*, the sequences of our strains have been published in the GenBank nucleotide database. the results have allowed the selection of 5 strains with a range of lipolytic activity of 13.66 ± 1.154 to 20.67 ± 0.577 , and 4 strains with aromatizing and acidifying properties, which brought the pH down to 4.90, produced an acidity at $67 \leq D \leq 59$ after 4h, and had a coagulation time of 8 to 10 hours and a syneresis rate of no more than 1.80%. in addition, the utilization of our strains in the preparation of Yogurt has demonstrated clearly a better organoleptic quality. Furthermore, the lactic flora was found viable in the final product.

These promising results affirm that our strains possess technological characteristics suitable for the manufacturing of dairy products and can be harnessed as lactic starters in the dairy sector.

Keywords: Lactic acid Bacteria, Artisanal dairy products, MALDI-TOF MS, PCR, 16S RNA sequencing, Technological properties, Fermented milk” Yoghurt.”

Liste des abréviations

BL : Bactéries lactiques

Lb : *Lactobacillus*

Lc : *Lactococcus*

En : *Enterococcus*

Leuc : *Leuconostoc*

Lb f : *Lactobacillus fermentum*

Lb pl : *Lactobacillus plantarum*

MALDI-TOF MS : temps de vol pour l'ionisation par désorption laser assistée par matrice
Spectrométrie de masse

SDS-PAGE : électrophorèse sur gel de polyacrylamide de dodécylsulfate de sodium

2-DE : électrophorèse sur gel en deux dimensions

FTIR : infrarouge à transformée de Fourier

ARDRA : Analyse de restriction de l'ADN ribosomique d'amplification

AFLP : polymorphisme de longueur de fragment amplifié

RFLP : Polymorphisme de longueur des fragments de restriction

PFGE : électrophorèse en champ pulsé

MLST : typage de séquences multilocus

RAPD : ADN polymorphe amplifié au hasard

AP-PCR : réaction en chaîne de la polymérase amorcée arbitrairement

Rep-PCR : Réaction en chaîne extragénique répétée de la polymérase palindromique

ARISA : Analyse automatisée des espaceurs intergéniques ribosomiques

DGGE/ TGGE : Dénaturation/ électrophorèse sur gel en gradient de température

qPCR : Réaction quantitative en chaîne de la polymérase

ADN: Acide désoxyribonucléique

PCR: Amplification *in vitro* de l'ADN (réaction de la chaîne polymérase)

CPG : Chromatographie en phase gazeuse

ARNr 16S: Sous-unité 16S de l'ARN ribosomique

GRAS: Generally Recognized as Safe

UFC : Unité formant colonie

DO : Densité optique

G+C : Guanine + Cytosine (coefficient de Chargaff)

ATCC : American Type Culture Collection

ACP : Analyse en Composantes principales

EPS: Exopolysaccharides

TGI: Tractus Gastro-Intestinal

PBS: Solution saline tamponnée au phosphate

FIL : Fédération internationale du lait.

OMS : Organisation mondiale de la santé

FAO : Organisation mondiale pour l'alimentation et l'agriculture

DLC : Date limite de consommation

YLBM : Yaourt levain BOUCHIBANE Malika.

Liste des tableaux

Tableau 1 : Présentation les familles et les genres des bactéries lactiques	4
Tableau 2 : La quantité d'EPS produite par certaines espèces de BL.	19
Tableau 3 : Souches productrices d'EPS et leurs effets sur les propriétés technofonctionnelles dans les dérivés laitiers.	19
Tableau 4 : Exemple de quelques espèces lactiques probiotiques isolées à partir de sources conventionnelles et non conventionnelles.	22
Tableau 5 : Variété du produit artisanal algérien « Fromage ».	30
Tableau 6 : Le nombre des échantillons, date de collecte, le type de lait cru et leurs Régions	36
Tableau 7 : La quantité des ingrédients intervenant dans la préparation.	48
Tableau 8 : Caractérisation des tests physiologiques et biochimiques des isolats.	58
Tableau 9 : Résultats du profil fermenter des sucres (microplaques et API20E).	59
Tableau 10 : Résultats du profil fermenter des sucres (galerie API 50CHL).	60
Tableau 11 : Paramètres rhéologiques du caillé obtenu par les espèces testées.	82
Tableau 12 : Taux d'autolyse des souches testées.	87
Tableau 13 : Résultat du pouvoir protéolytique sur les différents milieux.	90
Tableau 14 : Diamètres des zones d'inhibition de l'activité antimicrobienne des souches lactiques testées vis-à-vis les souches pathogènes(mm).	96
Tableau 15 : L'identité des souches identifiées par séquençage partial de l'ARN16S et leurs pourcentages de similarités.	101
Tableau 16 : Numéros d'accession de nos souches publiées dans GenBank.	104
Tableau 17 : Comparaison entre l'identification génotypique et protéomique.	105
Tableau 18: Antibiogramme des souches lactiques testées.	114
Tableau 19 : Résultats de l'étude des interactions entre les souches sélectionnées.	116
Tableau 20 : Noms et proportions des levains reconstitués.	117
Tableau 21 : Classement des produits.	119
Tableau 22 : Valeurs propres des axes de l'ACP	120

Tableau 23 : Évolution du nombre de nos levains ($N.10^6$ UFC/ml) dans le yaourt au cours du stockage. 126

Tableau 24 : Résultats de la qualité microbiologique du yaourt préparé. 127

Liste des figures

Figure 1 : Les onze espèces du genre <i>Lactococcus</i> identifiées par séquençage de l'ARN 16S.	5
Figure 2 : Techniques d'identification utilisées dans les aliments fermentés.	8
Figure 3. Les enzymes protéolytiques des bactéries lactiques et leurs actions.	16
Figure 4. Voies métaboliques pour la production d'arômes dans le lait acidophile pendant la fermentation.	18
Figure 5 : Caractéristiques de sélection des souches probiotiques	23
Figure 6 : Représentation graphique du pays d'origine de certains produits laitiers fermentés africains.	28
Figure 7 : Représentation des groupes bactériens dominants des produits laitiers fermentés populaires dans le monde.	29
Figure8 : Diagramme représente le processus global de la fabrication des dérivés laitiers et fromages artisanaux algériens.	31
Figure 9 : Schéma général des principaux critères du yaourt établi Codex Alimentarius et FIL.	32
Figure10 : Diagramme général de fabrication des types du lait fermenté « Yaourt ».	33
Figure 11 : Les principales étapes de l'essai de la préparation d'un lait fermenté (yaourt étuvé)	49
Figure 12: Mesure de la viscosité.	52
Figure 13: Aspect macroscopique des isolats sur les milieux solides.	55
Figure 14: Aspect macroscopique des isolats sur bouillons.	56
Figure 15 : Aspect microscopique des isolats.	56
Figure 16 : Photos sur le profile fermenter des sucres.	61
Figure 17 : Le profil des spectres de masse MALDI- TOF des souches appartenant aux <i>Lactobacillus plantarum</i> (F1,F2), <i>Lactobacillus fermentum</i> (G1,G2), <i>Lactobacillus paraplantarum</i> (H1,H2), <i>lactobacillus paracasei ssp paracasei</i> (I1,I2).	63
Figure 18 : Le profil des spectres de masse MALDI- TOF des espèces <i>Lactococcus lactis ssp lactis</i> (F1, F2), <i>Enterococcus faecalis</i> (G1, G2) et <i>Enterococcus faecium</i> (H1, H2).	64
Figure 19 : Dendrogramme illustrant le regroupement hiérarchique des	65

Spectres des espèces identifiées par MALDI-TOF-MS.

Figure 20 : La répartition des espèces de la collection lactique identifiées par MALDI-TOF MS.	66
Figure 21 : Répartition des espèces de la collection lactique dans les produits fabriqués à base du lait cru de vache et de chèvre	67
Figure 22 : Cinétique de croissance des espèces appartient aux genres <i>Enterococcus</i> et <i>Lactococcus</i> .	69
Figure 23 : Cinétique de croissance des espèces du genre <i>Lactobacillus</i> .	71
Figure 24 : Quantité de la biomasse produite par les espèces appartient aux genres <i>Enterococcus</i> et <i>Lactococcus</i> .	73
Figure 25 : Quantité de la biomasse produite par les espèces appartient au genre <i>Lactobacillus</i> .	75
Figure 26 : Quantité de la biomasse produite par les espèces <i>Lb. Paracasei</i> et <i>Lb. Paraplantarum</i> .	76
Figure 27: courbes du suivi de l'évolution du pH et l'acidité des souches de <i>Lactobacillus plantarum</i> .	78
Figure 28 : courbes du suivi de l'évolution du pH et l'acidité des souches de <i>Lactobacillus fermentum</i> .	78
Figure 29 : courbes du suivie de l'évolution du pH et l'acidité des souches de <i>Lactobacillus paracasei ssp paracasei</i> et <i>Lactobacillus paraplantarum</i> .	79
Figure 30 : courbes du suivi de l'évolution du pH et l'acidité des souches de <i>Lactococcus lactis ssp lactis</i> .	80
Figure 31 : courbes du suivi de l'évolution du pH et l'acidité des souches de <i>l'Enterococcus faecalis</i> et <i>Enterococcus faecium</i> .	80
Figure 32 : Aspect du caillé obtenu par quelques souches testées.	83
Figures 33 : Aspect visqueux du coagulum formé sur le lait saccharose.	84
Figure 34: Aspect filant du caillé obtenu sur le lait saccharose.	84
Figures 35 : Aspects des colonies obtenues sur le milieu hypersaccharosé pour les souches productrices des EPS.	85
Figures 36 : Aspects des colonies obtenues pour les souches non productrices des EPS.	86
Figure 37 : Activité protéolytique sur les différents milieux.	92
Figures 38 : Activité lipolytique sur milieu MRS+ Tween 80.	92

Figure 39 : Le pouvoir aromatisant de quelques souches testées.	93
Figures 40 : Activité antimicrobienne de quelques souches lactiques.	99
Figure 41 : Gel électrophorèse des 22 souches amplifiées par PCR.	100
Figure 42 : Arbre phylogénique basé sur les séquences de l'ARN 16S des 22 souches identifiées.	103
Figure 43 : La répartition des espèces de la collection lactique identifiées par séquençage de l'ARN16S.	103
Figure 44 :Taux de survie des souches testées à l'acidité.	108
Figure 45 :Taux de survie des souches testées aux sels biliaires	109
Figure 46 : L'aspect de croissance des colonies après leur exposition au pH et aux sels biliaires.	110
Figure 47 : Pourcentage d'hydrophobicité.	111
Figure 48 : Pourcentage de la résistance au phénol.	112
Figure 49 : L'aspect des colonies après leur croissance en présence de phénol.	112
Figure 50 : L'antibiogramme des quelques souches testées.	115
Figure 51 : Aspect visuel du yaourt préparé par nos levains reconstitués et son emballage.	118
Figure 52 : ACP sur les descripteurs sensoriels.	120
Figure 53 : ACP sur les produits.	121
Figure 54 : ACP sur les panélistes.	121
Figure 55 : L'évolution du pH et de l'acidité au cours du stockage.	123
Figure 56 : Variation de la matière grasse au cours du stockage.	123
Figure 57 : Variation de l'ESD et EST au cours du stockage.	124
Figure 58 : Variation de la viscosité au cours du stockage.	125
Figure 59 : Aspect du yaourt après 2 mois du stockage	127

TABLE DES MATIÈRES

ملخص

Résumé

Abstract

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction **1**

Chapitre I : Revue bibliographique

1. Bactéries lactiques	3
1.1. Généralité	3
1.2. Principaux groupes des bactéries lactiques dans les produits laitiers	5
1.2.1. Cultures lactiques de départ mésophiles	5
1.2.2. Cultures lactiques de départ thermophiles	6
1.2.3. Levains artisanaux	7
1.3. Méthodes de classification et d'identification des bactéries lactiques laitière	7
1.3.1. Méthodes phénotypiques	8
1.3.1.1. Méthodes morphologiques	8
1.3.1.2. Méthodes physiologiques et chimio taxonomique	8
1.3.2. Méthodes moléculaires	9
1.3.2.1. Techniques protéomiques	10
1.3.2.1.1. MALDI-TOF MS	10
1.3.2.1.2. SDS-PAGE	10
1.3.2.2. Techniques génomiques	11
1.3.2.2.1. PCR et Séquençage de l'ARN ribosomique 16S	11
1.3.2.2.2. ADN polymorphique amplifié de façon aléatoire (RAPD)	12
1.3.2.2.3. Rep-PCR	12
1.3.2.2.4. Technique PCR- RFLP	13
1.3.2.2.5. PCR en temps réel (qPCR)	13
1.4. Fonctions des bactéries lactiques dans les produits laitiers	14
1.4.1. Activité acidifiante	14
1.4.2. Activité protéolytique	14
1.4.3. Activité aromatisante	17

1.4.4. Activité texturante	18
1.4.5. Activité lipolytique	20
1.4.6. Activité antimicrobienne	20
1.5. Phénomènes d'interaction entre les bactéries lactiques	21
1.6. Propriétés probiotiques des bactéries lactiques	21
1.6.1. Généralité	21
1.6.2. Aspects de sélection des souches probiotiques	23
1.6.2.1. Caractéristiques physiologiques	23
1.6.2.1.1. Capacité de survie au cours de transit digestif	23
1.6.2.1.2. Capacité d'adhésion	24
1.6.2.1.3. Activité anti pathogène	24
1.6.2.1.4. Résistance aux antibiotiques	24
1.6.2.2. Caractéristiques technologiques	25
1.6.2.3. Sécurité	25
2. Produits laitiers fermentés	26
2.1. Généralité	26
2.2. Types des produits laitiers fermentés.	27
2.3. Intérêt des produits laitiers fermentés	33

Chapitre II : Matériel et Méthodes

1. Matériel	35
1.1. Matériel biologique	35
1.1.1. Échantillonnage	35
1.2. Matériel non biologique	36
2. Méthodes	36
2.1. Mise en place d'une collection des bactéries lactiques	36
2.1.1. Isolement	37
2.1.2. Identification préliminaire des isolats	37
2.1.2.1. Examens macroscopiques et microscopiques	37
2.1.2.2. Recherche de la catalase	37
2.1.2.3. Test d'oxydase	37
2.1.3. Purification des isolats	37
2.1.4 Conservation des isolats	38
2.1.5 Identification phénotypique	38

2.1.5.1. Tests de croissance dans des conditions hostiles	38
2.1.5.2. Test de croissance à différente Température	38
2.1.5.3. Test de culture sur le lait de Sherman	38
2.1.5.4. Test de la Recherche le type fermenter	39
2.1.5.5. Test de la Recherche de l'arginine dihydrolase (ADH)	39
2.1.5.6. Test de métabolisme de citrate	39
2.1.5.7. Les tests du profil fermenter des sucres	39
2.6. Identification moléculaire par MALDI-TOF MS	40
2.7. Études des potentiels technologiques des souches	41
2.7.1 Cinétique de croissance des souches	41
2.7.2 Potentiel acidifiant et coagulant	41
2.7.3. Potentiel épaississant et texturant	41
2.7.4. Potentiel protéolytique	42
2.7.5. Potentiel lipolytique	42
2.7.6. Potentiel autolytique	43
2.7.7. Potentiel aromatisant	43
2.7.8. Potentiel antimicrobien	43
2.8. Identification génotypique	44
2.9. Étude de l'activité probiotique des souches pures	45
2.9.1. Tolérance à l'acidité	45
2.9.2. Tolérance aux sels biliaires	46
2.9.3. Test d'hydrophobicité	46
2.9.4 Test de résistance au phénol	46
2.9.5. Test de sensibilité aux antibiotiques	46
2.10. Essai de Préparation d'un lait fermenté par l'application des souches isolées	47
2.10.1 Choix des ferments	47
2.10.1.1. Études des interactions entre les souches isolées	47
2.10.2. Technologie de préparation	48
2.10.2.2 Préparation des levains	48
2.10.2.2. Préparation d'un lait fermenté (yaourt étuvé)	48
2.10.3 Évaluation de la qualité sensorielle	50
2.10.4 Contrôle de qualité physico-chimique	50
2.10.4.1. Mesure du pH et de l'acidité	50

2.10.4.2. Mesure de la matière grasse	50
2.10.4.3. Détermination de l'extrait sec	51
2.10.4.4. Mesure de la viscosité.	51
2.10.5. Contrôle de la qualité microbiologique	52
2.10.5.1. Recherche et dénombrement des souches lactiques	52
2.10.5.2. Recherche et dénombrement des germes de contamination	53
2.10.5.2.1. Recherche des coliformes totaux et fécaux	53
2.10.5.2.2. Recherche des <i>levures</i> et <i>moisissures</i>	53
2.10.5.2.3. Recherche de <i>Staphylococcus aureus</i>	53
2.10.6. Analyse statistique	54

Chapitre III. Résultats et Discussion

1. Résultats de l'identification phénotypiques	55
1.1. Résultats de l'isolement et l'identification préliminaire des isolats	55
1.2. Résultats des tests physiologiques et biochimiques	57
2. Résultats de l'identification protéomique par MALDI-TOF MS	61
2.1. Résultats de la répartition des souches selon l'identification MALDI-TOF MS	66
3. Résultats de l'étude des potentiels technologiques des souches lactiques	68
3.1. Résultats de la Cinétique de croissance des souches	77
3.2. Résultats du potentiel coagulant et acidifiant	77
3.2.1. Résultats du potentiel acidifiant	78
3.2.2. Résultats du potentiel coagulant	81
3.2.3. Résultats du pouvoir épaississant et texturant	83
3.2.4. Résultats du potentiel autolytique	86
3.2.5. Résultats du potentiel protéolytique et lipolytique	88
3.2.6. Résultats du potentiel aromatique	92
3.2.7. Résultats du potentiel antimicrobien	93
4. Résultats de l'identification génotypique	100
4.1. Comparaison entre l'identification génotypique et protéomique	105
5. Étude de l'activité probiotique des souches pures	107
5.1. Résultats de la tolérance à l'acidité	107
5.2. Résultats de la tolérance aux sels biliaires	108
5.3 Résultats de l'hydrophobicité	110
5.4 Résultats de la résistance des souches au phénol	111
5.5. Résultats de la sensibilité aux antibiotiques	112

6. Résultats de la préparation d'un lait fermenté par l'incorporation des souches isolées	115
6.1 Résultats du choix des levains	115
6.2 Résultats de la qualité du produit fini	118
6.2.1 Résultats d'évaluation sensorielle	118
6.2.2. Résultats des analyses physico-chimiques	122
6.2.2.1. Résultats du pH et l'acidité	122
6.2.2.2. Résultats de la matière grasse	123
6.2.2.3. Résultats de l'extrait sec dégraissé et totale	124
6.2.2.4. Résultats de la viscosité	125
6.2.3. Résultats des analyses microbiologiques	125
6.2.3.1. Résultats de dénombrement des souches lactiques	125
6.2.3.2. Résultats de dénombrement des germes de contamination	127
Conclusion et perspectives	128
Références bibliographiques	
Annexes	

Introduction

Introduction

Les bactéries omniprésentes dans l'environnement et dans l'organisme humain, les bactéries occupent une place prépondérante dans la préoccupation de l'hygiéniste. Sont des êtres vivants microscopiques qui représentent la biomasse la plus importante de la terre, elles sont avant tout indispensables à l'équilibre de la biosphère en participant aux cycles élémentaires de la nature et sont largement utilisées pour la production du bien ou du service dans le contexte de la biotechnologie. Parmi ces bactéries, les bactéries lactiques sont très répandues dans la nature et sont considérées comme un groupe de micro-organismes technologiquement fondamental. De fait, de leurs activités métaboliques, particulièrement la production d'acide lactique qui est essentielle à la production des aliments fermentés. Elles sont connues également pour leur pouvoir dans la coagulation et l'acidification, leur pouvoir protéolytique, leur activité aromatisante, leur production de polysaccharides, leur activité antimicrobienne qui joue un rôle crucial dans la conservation des aliments et à l'inhibition des germes pathogènes, et pour leur status GRAS (**Abhyankar et al., 2022**). Depuis plusieurs années, un intérêt considérable est développé au cours de l'utilisation des bactéries lactiques à effet bénéfique par des industries spécialisées pour des applications alimentaires et des efforts ont été consacrés pour affermir la compréhension de la physiologie et la génétique des bactéries utilisées et comprendre leurs propriétés, toutes ces recherches ont permis aux microbiologistes et aux industriels de choisir les meilleures souches pour améliorer le rendement de la productivité, la qualité et la sécurité des produits. La sélection des souches performantes pour leur utilisation nécessite l'étude de leur performance technologique et la connaissance de leur identité. Précédemment, les bactéries lactiques ont été identifiées par des tests phénotypiques qui ont une faible puissance de distinction, par contre, de nouvelles techniques ont été inventées telles que la réaction en chaîne par polymérase (PCR) et l'amplification de l'ARN ribosomal 16S (**Benamara et al., 2016 ; Dahou et al., 2021 ; Patil et al., 2015**), l'analyse des enzymes de restriction par électrophorèse sur gel à champ pulsé (REA-PFGE) (**Domingos-Lopes et al., 2017**) qui permettent une identification pouvant atteindre au niveau de la sous-espèce avec une bonne précision et ont une bonne discrimination. Actuellement, la consommation des produits laitiers fermentés a connu une croissance continue et est très appréciée dans notre société. Au niveau industriel la fabrication de ces produits nécessite l'utilisation des levains lactiques. En outre, l'absence de la production nationale de ces levains astreint notre pays à recourir à des importations qui ont un coût très élevé en devises. Nous nous sommes intéressés à cette problématique. Notre but c'est la recherche des souches ayant un bon pouvoir technologique pour réaliser nos propres matières

Premières fiables et propres à notre pays qui contribuent à la production nationale des divers dérivés laitiers et qui participent à l'amélioration de rendement de la productivité. Nous envisageons dans notre recherche de diminuer l'importation de ces produits et d'apporter une contribution dans le développement et l'essor économique de notre pays dans le domaine agro-alimentaire. Pour atteindre notre but, nous avons ciblé les objectifs qui visent dans un premier temps à isoler les bactéries lactiques à partir des produits de terroir, puis les identifier par des techniques phénotypiques, protéomiques et génétiques. Ensuite, les caractériser en fonction des activités technologiques suivantes : activité acidifiante et coagulante, activité protéolytique, activité lipolytique, activité antimicrobienne, activité autolytique, activité texturant et épaississante, activité aromatisant et activité probiotique. Dans un deuxième temps nous envisageons de préparer un lait fermenté « Yaourt étuvé » en appliquant les souches performantes isolées puis étudier leur qualité organoleptique, physico-chimique et microbiologique.

Notre manuscrit est structuré en trois parties, la première est consacrée à une synthèse bibliographique articulée autour de deux grandes parties qui vont traiter les bactéries lactiques et leurs techniques d'identification, et l'intérêt de leurs propriétés technologiques et probiotiques, puis la deuxième partie donne une présentation sur les produits laitiers fermentés et leur intérêt. Dans la seconde partie du manuscrit, nous abordons les méthodes mises en œuvre, et pour la dernière partie, les résultats obtenus sont interprétés et discutés. Finalement, une conclusion générale avec les principales perspectives envisagées.

Revue Bibliographique

1. Bactéries lactiques

1.1. Généralités

Les bactéries lactiques sont des organismes microscopiques omniprésents qui existent dans une variété d'habitats riches en nutriments tels que le lait, la viande, les boissons, les céréales ...etc, donc en raison de leur meilleure adaptabilité, elles existent dans diverses niches écologiques plantes, bouche humaine, gastro-intestinal et les régions génito-urinaires et les animaux. Le nom « BL » est étendu aux bactéries, notamment les cellules procaryotes sous forme de bacilles, cocci ou coccobacilles de l'ordre « *Lactobacillales* » classe des « bacilli » phylum« des firmicutes »qui comprend six familles et chaque famille comprenne différents genres (**Tableau 1**), Gram positif, non sporulant, micro-aérophiles ou anaérobies, catalase négative (certaines ont de la pseudo catalase), la plupart immobile, pas de nitrate réductase ou de cytochrome oxydase, et moins guanine-cytocine (G+C) 50%. Elles sont définies comme des organismes de qualité alimentaire avec le status « GRAS » qui peuvent être consommés sans danger (**Papadimitriou et al., 2016**).

Elles sont très exigeantes et leur croissance nécessite des nutriments très complexes tels que des minéraux, des glucides fermentescibles, des vitamines, des acides aminés et des acides gras. En général, ces bactéries de qualité alimentaire constituent une partie importante de la production d'aliments fermentés, elles sont davantage impliquées dans la production laitière et ont la capacité de produire de grandes quantités d'acide lactique en fermentant les sucres. (**Mokoena, 2017**) . Elles ont la particularité de synthétiser leur ATP par deux voies métaboliques, en utilisant la voie Embden-Meyerhof, qui se caractérise par la production de plus de 85% d'acide lactique par fermentation des molécules de glucose, dans ce cas les bactéries produisent deux moles d'ATP dans la production et fermentation on dit qu'elle est homofermentaire. Cette approche est utilisée par les genres suivants : *Lactococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus* et certains genres *Lactobacillus*. Soit par la voie des pentoses - phosphates, dont *Weisella*, *Leuconostoc* et certains *Lactobacillus* responsables de la fermentation hétérolactique, aboutissant à seulement 50% de production d'acide lactique, et en fermentant 1 mole de glucose pour 1 mole d'ATP en des quantités équimolaires d'acide lactique (1mole), d'éthanol (1mole), de CO₂ (1mole) (**Liu et al., 2014 ; Sauer et al., 2017**).

Tableau 1 : Présentation des familles et des genres des bactéries lactiques.

(Holzapfel & Brian-Wood, 2014).

1-Famille des <i>Aerococcaceae</i>		6- Famille des <i>Carnobacteriaceae</i>	
Genres	Nombre d'espèces	Genres	Nombre d'espèces
<i>Abiotrophia</i>	01	<i>Alkalibacterium</i>	09
<i>Aerococcus</i>	07	<i>Allofustis</i>	01
<i>Ignavigranum</i>	01	<i>Alloiococcus</i>	01
<i>Dolosicoccus</i>	01	<i>Atopobacter</i>	01
<i>Globicatella</i>	02	<i>Atopococcus</i>	01
<i>Facklamia</i>	06	<i>Atopostipes</i>	01
<i>Eremococcus</i>	01	<i>Bavariicoccus</i>	01
2-Famille des <i>Enterococcaceae</i>		<i>Carnobacterium</i>	10
<i>Enterococcus</i>	43	<i>Desemzia</i>	01
<i>Melissococcus</i>	01	<i>Dolosigranulum</i>	01
<i>Vagococcus</i>	08	<i>Granulicatella</i>	03
<i>Tetragenococcus</i>	05	<i>Isobaculum</i>	01
<i>Pilibacter</i>	01	<i>Lacticigenium</i>	01
3- Famille des <i>Lactobacillaceae</i>		<i>Marinilactibacillus</i>	02
<i>Lactobacillus</i>	169	<i>Trichococcus</i>	05
<i>Paralactobacillus</i>	01	Autres bactéries lactiques	
<i>Pediococcus</i>	11	<i>Bifidobacterium</i>	41
4- Famille des <i>Leuconostocaceae</i>			
<i>Fructobacillus</i>	05		
<i>Leuconostoc</i>	13		
<i>Oenococcus</i>	02		
<i>Weissella</i>	15		
5- Famille des <i>Streptococcaceae</i>			
<i>Lactococcus</i>	07		
<i>Lactovum</i>	01		
<i>Streptococcus</i>	27		

1.2. Principaux groupes des bactéries lactiques dans les produits laitiers

Dans l'industrie laitière, les flores lactiques starter sont divisées en trois groupes : Les cultures mésophiles, les cultures thermophiles et les levains artisanaux. Chacune de celles-ci peut être subdivisée selon les critères suivants : cultures indéfinies, où le nombre de souches est inconnu, et cultures définies, constituées d'un nombre connu de souches.

1.2.1. Cultures lactiques de départ mésophiles

Les bactéries lactiques mésophiles jouent un rôle important dans la fermentation du lait, qui produit une grande variété de dérivés du lait, y compris le fromage. Constituée de plusieurs espèces appartenant à deux genres *Lactococcus* et *Leuconostoc*, leur température de croissance est de 30°C. La culture pure de *Lactococcus* a été obtenue pour la première fois par Joseph Lister, qui l'a également décrite en 1873. Il existe 11 espèces reconnues après l'identification par l'ARN 16S (Figure 1), toutes les espèces sont homofermentaires contiennent des cellules ovales qui ont un diamètre de 0.5 à 1 µm, disposées en paires ou en chaînettes, ont la capacité de se cultiver à une concentration 4% de NaCl. La première description de *Leuconostoc* a été faite en 1878 par Van Tieghem, depuis la découverte de ce genre plusieurs espèces ont été identifiées. Les 13 espèces reconnues qui appartiennent au genre *Leuconostoc* sont les suivantes : *Leuc. mesentroides*, *Leuc. carnosum*, *Leuc. citreum*, *Leuc. fallax*, *Leuc. gasicomitatum*, *Leuc. gelidum*, *Leuc. inhae*, *Leuc. kimchi*, *Leuc. lactis*, *Leuc. holzapfelii*, *Leuc. pseudomesenteroides*, *Leuc. palmae*, and *Leuc. Miyukkimchii*. (Zhang & Cai, 2014)

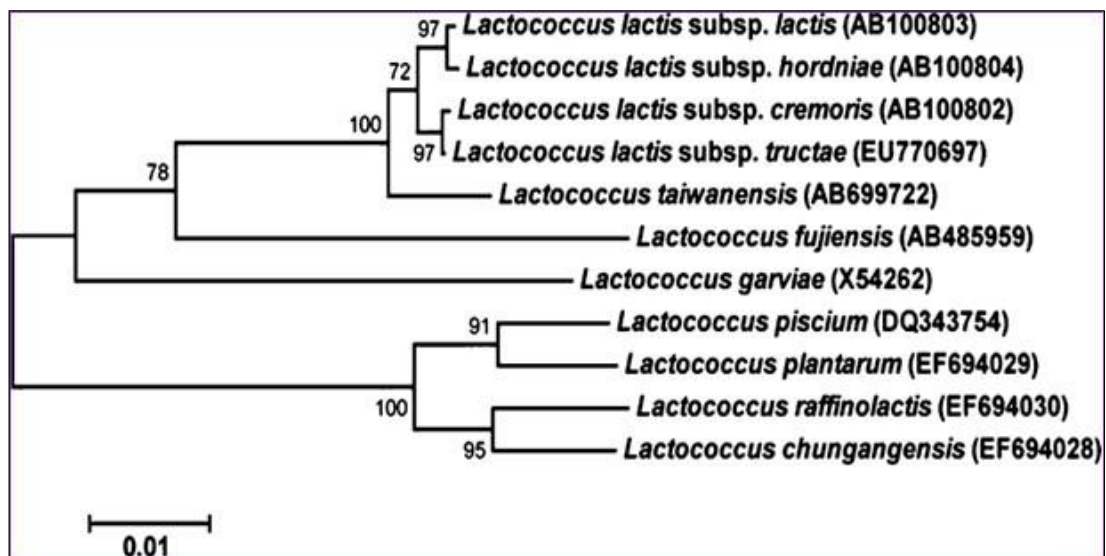


Figure 1 : Les onze espèces du genre *Lactococcus* identifiées par séquençage de l'ARN 16S.

(Zhang & Cai, 2014).

Les deux tiers de la fermentation du lait, selon **Cogan et al. (1997)** sont réalisées par fermentation mésophile. L'industrie laitière accorde une grande importance aux bactéries lactiques *Lactococcus*, qui fermentent rapidement le lait pour améliorer le rendement et la qualité de la production. L'acide et les arômes sont produits par les sous-espèces *Lactococcus lactis ssp lactis*, *Lactococcus lactis ssp cremoris*, *Lactococcus lactis ssp lactis var. diacetylactis* et *Leuconostoc lactis*, respectivement. (**Carminati et al., 2010**). En raison de leurs nombreuses propriétés technologiques, telles que leur forte adaptation au métabolisme du lactose, la production de diacétyl, et leur rôle dans le développement des arômes et la conservation des aliments, les BL mésophiles sont fréquemment utilisées comme culture de départ pour les fermentations laitières. (**Teuber, 2001**).

1.2.2. Cultures lactiques de départ thermophiles

Les BL thermophiles sont davantage utilisés pour fabriquer des yaourts et plusieurs fromages qui nécessitent une cuisson à haute température. Elles appartiennent aux genres *Lactobacillus* et *Streptococcus*. Bien que le genre *Lactobacillus* a été décrit pour la première fois en 1901 par Beijerinck, il s'agit le groupe des organismes de LAB le plus grand et le plus diversifié, composé de 169 espèces, dont les principales espèces sont : *Lb. delbrueckii*, *Lb. salivarius*, *Lb. reuteri*, *Lb. buchneri*, *Lb. alimentarius*, *Lb. brevis*, *Lb. collinoides*, *Lb. fructivorans*, *Lb. plantarum*, *Lb. sakei*, *Lb. casei*, *Lb. coryniformis*, *Lb. manihotivorans*, *Lb. perolens*, *Lb. vaccinostercus*, *Lb. backii*, *Lb. brantae*, *Lb. saniviri*, *Lb. concavus*, *Lb. dextrinicus*, *Lb. curieae*, *Lb. senioris*, *Lb. kunkeei*, *Lb. pantheris*, *Lb. thailandensis*, *Lb. rossiae*, avec des propriétés homo et hétérofermentaires, sont acidophiles, avec un pH compris entre 5.2 et 6.2, généralement en forme de bâtonnet, et seules quelques-unes sont impliquées dans la fermentation du lait. Les cultures starter de *Lactobacillus* commerciales sont principalement composées de *Lactobacillus delbrueckii ssp bulgaricus*, *Lactobacillus delbrueckii ssp lactis* et *Lactobacillus helveticus* qui sont des fermenteurs obligatoires. En revanche, il existe 27 espèces dans le genre *Streptococcus* qui sont homofermentaires avec des cellules généralement de 0.8 à 1.2 µm de diamètre, de forme sphériques et disposée en chaînes. *Streptococcus thermophilus* est une espèce associée aux produits laitiers et alimentaires et est la seule des 27 espèces de ce genre qui est associée aux dérivés laitiers. Les cultures thermophiles suivantes *Streptococcus thermophilus* et *Lactococcus lactis* ne métabolisent pas le galactose, donc le métabolisme de lactose par *Streptococcus thermophilus* entraîne une accumulation de galactose dans le milieu. Par conséquent, il est suggéré que seuls les *Lactobacilles* fermentant le galactose doivent être utilisés comme levain avec *Streptococcus thermophilus* (**Teuber, 2001**).

1.2.3. Levains artisanaux

Les cultures artisanales sont dérivées de l'utilisation d'une partie d'un lot précédent de produit fermenté pour inoculer un nouveau lot. La composition de ces cultures est très complexe et souvent indéfinie. *Enterococcus*, *Pediococcus* et *Lactobacillus* ne sont que quelques-uns des genres présents dans les produits laitiers. La majorité de la microflore des dérivés artisanaux du lait cru artisanal est souvent composée d'espèces d'*Enterococcus* qui ont la capacité de survivre à des températures élevées et de tolérer des concentrations élevées de sel. En raison de leur activité protéolytique, elles ont des effets bénéfiques et peuvent favoriser la croissance d'autres espèces. Le principal inconvénient de certaines espèces est considéré comme en tant qu'agents pathogènes, elles sont du fait d'origine fécale. Jusqu'à présent les espèces de *Pediococcus* n'ont pas été utilisées dans les levains laitiers, bien qu'elles puissent être trouvées dans les dérivés du lait surtout dans le fromage affiné. Seules les *Pediococcus pentosaceous* et *Pediococcus acidilactici* qui ont été trouvées dans les produits laitiers. (López-Díaz et al., 2000)

1.3. Méthodes de classification et d'identification des bactéries lactiques laitière

Plusieurs méthodes ont été appliquées pour l'identification des BL dans les produits alimentaires fermentés qui sont principalement regroupés en deux catégories : méthodes phénotypiques et moléculaires (génotypiques). Chaque méthode englobe différentes techniques, la méthode phénotypique englobe les techniques physiologiques, biochimiques, et chimio-taxonomiques et la méthode moléculaire englobe les techniques protéiniques, métaboliques et les technologies génomiques. Ces approches ont été illustrées dans la **figure 2** (El Sheikha & Hu, 2020).

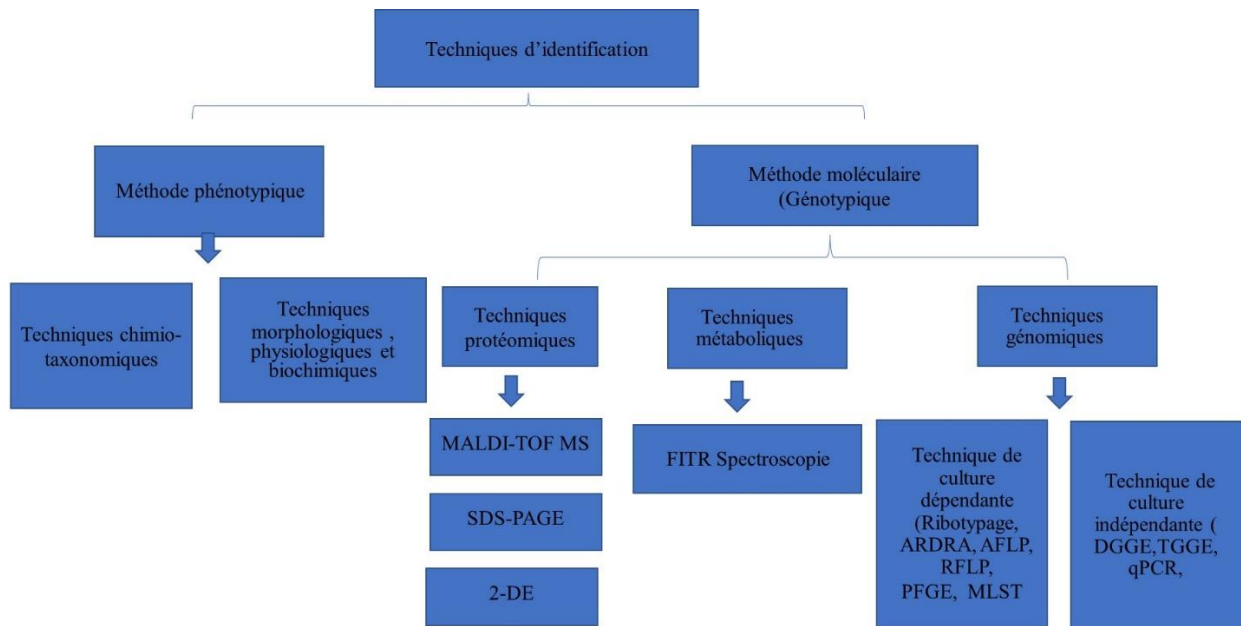


Figure 2 : Techniques d'identification utilisées dans les aliments fermentés. (El Sheikha et Hu, 2020).

1.3.1. Méthodes phénotypiques

Cette méthode d'identification a été réalisée en 1919 par Orla-Jensen qui a lancé la première classification des BL qui se base seulement sur l'étude de différentes techniques phénotypiques.

1.3.1.1. Méthodes morphologiques

La morphologie des BL comprend à la fois l'aspect macroscopique et microscopique. L'examen microscopique est le premier examen qui fournit des renseignements précieux sur les critères suivants ; la pureté des bactéries lactiques. La forme des cellules et leur mode de regroupement, type du Gram, la présence ou l'absence des spores.

1.3.1.2. Méthodes physiologiques et chimio taxonomique

Les méthodes physiologiques et biochimiques sont considérées comme des procédures d'identifications de routine très importantes pour la classification des bactéries lactiques. Elles reposent sur l'étude des propriétés des aspects suivants : l'aspect physiologique est l'examen de la différenciation des espèces lactiques par l'étude des tests suivants : Mode de fermentation, fermentation des glucides, hydrolyse de l'arginine et croissance à différents pH, différentes températures et les concentrations de NaCl. Les aspect biochimique ou chimio taxonomiques reposent sur l'identification des BL en fonction de leur profil en acides gras et de la composition

de leur paroi cellulaire. L'étude des profils d'acides gras est liée à la diversité des AG présents dans la membrane, ce qui permet d'identifier et différencier les souches en fonction de leur composition en AG qui est variable d'une espèce à une autre. Chaque souche a un profil spécifique, par exemple l'espèce *Lactococcus lactis ssp lactis* est caractérisée par la dominance des AG suivants : Hexadécanoïque, hexadécénoïque et octadécadiénoïque qui sont absents chez différentes espèces de *Lactobacillus*. (Kimoto-Nira et al., 2009). Typiquement, l'identification des BL en appliquant cette approche chimio-taxonomique est basée sur l'étude de leurs profils d'esters méthyliques d'acides gras (FAME) à l'aide de la chromatographie CPG, qui permet l'identification en comparant des chromatogrammes dérivés de souches de référence. (Burgain et al., 2014).

L'identification des BL à partir de la composition de leur paroi cellulaire repose sur la détection des types de peptidoglycane et d'acide téichoïque présents dans chaque souche. Étant donné que la paroi cellulaire de BL contient plusieurs types de peptidoglycans, qui varient d'une espèce à l'autre en raison de la variation structurelle de la séquence d'acides aminés des fragments peptidiques présents dans la structure du peptidoglycane au niveau de la chaîne polysaccharide d'Acide N-acétyl muramique (MurNAc). Ainsi, le peptide lié au groupe carboxyle de chaque acide muramique est constitué d'une alternance d'acides aminés D et L, qui varient d'une espèce à l'autre. Pour les types présents dans la paroi LAB, le type Lys-Ala₂-3 chez *Streptococcus thermophilus*, le type L-Lys-D-Asp chez *Lactococcus lactis* et *Pediococcus dextrines*, *Pediococcus dextrinicus* ainsi chez *Lactobacillus casei* ont été retrouvés, le type Meso-diaminopimélique chez *Lactobacillus plantarum* ; -Type Orn-dAsp chez *Lactobacillus fermentum*, cette identification permet d'identifier les souches jusqu'au niveau de l'espèce. L'identification des bactéries lactiques par analyse de la composition de la paroi est réalisée en utilisant la technique HPLC (Chapot-Chartier et Kulakauskas, 2014, Martínez et al., 2020).

1.3.2. Méthodes moléculaires

Les flores bactériennes concernées dans la fermentation laitière ont des exigences nutritionnelles et environnementales similaires, et l'identification des bactéries lactiques isolées de la flore des milieux naturels est limitée par la complexité des associations bactériennes. (Garvie, 2000).

Le phénotypage de ces bactéries est laborieux et pas toujours fiable, car certaines espèces ne se distinguent pas facilement. À ce stade, le génotypage résout le problème d'identification. Plusieurs techniques ont été développées, les techniques protéomiques et génomiques étant les

plus couramment utilisées pour identifier les BL(Schleifer *et al.*, 1995).

1.3.2.1. Techniques protéomiques

1.3.2.1.1. MALDI-TOF MS (Matrix Assisted Laser Desorption Ionisation Time of Flight Mass Spectrometry)

MALDI-TOF MS c'est une technique très utilisée dans l'identification diverses espèces bactériennes y compris les bactéries lactiques par l'analyse des profils spécifiques de protéines de chaque espèce. Les différents genres *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Enterococcus* et *Leuconostoc* ont été identifiés par cette technique qui se base sur la détection de leurs protéines ribosomiques par l'utilisation des cellules entières où des extraits protéiques. (Doan *et al.*, 2012; Singhal *et al.*, 2015). La détection se réalise à l'aide d'un spectromètre de masse couplant d'une source de rayon laser assistée par une matrice (Maldi : Matrix Assisted Laser Desorption Ionization) qui permette une co-cristallisation du mélange matrice/souche et par un analyseur à temps de vol (Tof MS , time of flight mass spectrometry), dont le principe se base sur l'ionisation des souches(protéines) séparées grâce à la matrice HACC par un bombardement laser puis dissociée par leurs poids et détectées selon leurs temps de vol sous forme des pics spécifiques pour chaque souche. Ensuite les pics générés sont analysés par la comparaison avec les pis des souches de références qui se trouve dans la base de données. (Stępień-Pyśniak *et al.*, 2017). Bien que cette technique est fiable et très rapide par rapport l'identification phénotypique, mais elle n'est pas sans limite et elle a des erreurs d'identification, elle ne peut pas distinguer entre certaines espèces qui ont des spectres très proches ainsi que le nombre limité des pics dans la base de données conduit à une mauvaise discrimination entre les souches (Rychert, 2019).

1.3.2.1.2. Electrophorèse sur gel de dodécyl-sulfate de sodium-polyacrylamide (SDS-PAGE)

SDS-PAGE est une technique qui implique l'extraction des protéines cellulaires totales, suivies d'une séparation des peptides et des protéines en fonction de leur poids moléculaire et leur charge électrique puis une migration sur des gels de polyacrylamide en présence d'un détergent SDS qui confère une charge négative nette à la protéine, puis colorées avec une solution de bleu brillant de Coomassie pour détecter et visualiser les bandes existantes. Après coloration directe et détection de la protéine sous forme de bandes, le gel est scanné puis analysé en fonction du nombre de bondes et de leur position. De cette façon un profil spécifique de la souche testée est obtenu en le comparant avec des profils de référence d'autres bactéries. (Sharma *et al.*, 2021 ;

Yarlina et al., 2020). Plusieurs chercheurs ont utilisé cette technique pour identifier les bactéries lactiques, **Cheriguene et al. (2007)** en utilisant SDS-PAGE pour identifier les bactéries lactiques isolées du lait de chèvre de l'ouest algérien. **Syrokou et al. (2021)** ont appliqué cette technique pour analyser les bactéries lactiques isolées du blé fermenté, ainsi que **Shakeel et al. (2018)** ont utilisé SDS -PAGE pour détecter la présence de bactériocines des BL isolées des produits laitiers. Bien que cette technique soit largement utilisée et elle offre l'avantage une bonne identification jusqu'au niveau des sous-espèces, mais n'est pas assez efficace pour l'identification de routine. (**Temmerman et al., 2004**).

1.3.2.2. Techniques génomiques

La technologie génomique rassemble une variété d'outils pour l'analyse biologique des micro-organismes et la caractérisation de leurs composants cellulaires au niveau moléculaire. Ces outils ont été développés et appliqués dans des laboratoires de différents domaines (médecine, génétique humaine, environnement et les aliments). Depuis de nombreuses années, les techniques de génomique sont utilisées avec succès pour identifier les BL dans les aliments, en particulier les souches lactiques isolées à partir de produits laitiers fermentés. Toutes les techniques de génotypage utilisent le matériel génétique de l'ADN pour étudier les régions spécifiques du génome et attribuer des noms de genre et d'espèce aux souches de manière spécifique et différente. Les BL sont facilement identifiés et différenciés grâce à cette technologie. (**Van Hoorde et al., 2008**). Les techniques qui ont été largement utilisées dans l'identification des souches lactiques présentes dans les produits laitiers fermentés sont :

1.3.2.2.1. PCR et Séquençage de l'ARN ribosomique 16S

La réaction en chaîne par polymérase est une technique fondamentale en biologie moléculaire et essentielle dans l'analyse des acides nucléiques. Dans la PCR, l'ADN bactérien total est extrait directement d'un échantillon ou d'une souche et est considéré comme une matrice pour la détection et l'amplification d'un gène d'intérêt à partir d'un mélange complexe d'acides nucléiques moléculaires avec des amorces universelles, de genre ou spécifiques à l'espèce. La technique implique l'amplification de fragments de gènes, de gènes entiers ou même d'un groupe de gènes en trois étapes principales : Dénaturation de l'ADN à 94-95°C, hybridation à 47°C-60°C, élongation à 72°C. Cependant afin de confirmer la présence et l'identification sans ambiguïté de l'espèce cible, un autre outil clé dans l'identification moléculaire des espèces bactériennes est également la sélection de gènes ou de marqueurs génétiques pouvant être utilisée pour l'amplification par PCR afin de pouvoir distinguer plusieurs sous-espèces des

souches lactiques dans les aliments. Actuellement, le séquençage des opérons bactériens de l'ARN ribosomal 16S, y compris l'ARN 16S et l'ARN 23S est le plus souvent utilisé comme marqueur moléculaire pour identifier des gènes connus plutôt que des génomes complets (**Justé et al., 2008**). Le gène de l'ARN 16S est considéré comme omniprésent dans toutes les bactéries lactiques et présente un degré élevé de conservation de la séquence. L'analyse de la séquence homologue de ce gène a montré des résultats intéressants, et il est considéré comme le gène le plus courant dans l'étude des populations bactériennes. Certaines bactéries ne sont connues que par leurs séquences de gènes 16S (**Ward & Roy, 2005**). Dans notre étude, cette méthode a été utilisée pour identifier 22 souches lactiques isolées de produits laitiers artisanaux, après avoir comparé nos séquences avec les souches lactiques existantes dans les données GenBank. Nous avons trouvé des similitudes significatives de 100%.

1.3.2.2.2. ADN polymorphique amplifié de façon aléatoire (RAPD)

RADP est une technique de génotypage très simple et rapide basée sur la réaction en chaîne par polymérase, représentant un ADN polymorphe amplifié de manière aléatoire. En PCR, deux amorces oligonucléotidiques synthétiques sont nécessaires pour initier la synthèse de nouveaux brins d'ADN. La différence entre la PCR-RAPD et la PCR ordinaire est que les amorces utilisées sont très courtes, se lient à différentes positions dans le génome, la séquence est sélectionnée au hasard et la température d'hybridation de la RAPD est inférieure à celle de la PCR ordinaire (**Kaur et al., 2017**). Le processus d'identification de cette technique repose sur l'analyse des profils électrophorétiques des souches bandées obtenues sur gel d'agarose par le Logiciel GELCOMPAR qui calcule les données de coefficient de similarité entre les souches testées et les souches de références dans la base de données. Cette technique a été utilisée avec succès par **Gaglio et al. (2021)** pour identifier les bactéries lactiques. Les avantages de cette technique incluent la vitesse, la faible quantité d'ADN requise, la flexibilité dans la sélection des amorces, la rentabilité et l'absence d'erreurs de traitement (**Abdollahniya et al., 2018**).

1.3.2.2.3. Rep-PCR

Dans cette technique de rep-PCR, la PCR est utilisée pour générer des empreintes digitales en copiant des séquences spécifiques plutôt que des séquences aléatoires dans les chromosomes. Rep-PCR fait référence à des séquences palindromiques extragéniques répétitives qui se produisent dans différentes souches, différenciées au niveau de la sous-espèce en amplifiant des éléments non codants répétitifs de l'ADN bactérien à l'aide d'amorces spécifiques (**Sabat et al., 2013**). Rep-PCR produit des molécules d'ADN de différentes tailles qui, lorsqu'elles sont

séparées par électrophorèse sur gel, créent des empreintes digitales caractéristiques.

La technologie PCR à éléments répétés a un pouvoir discriminant élevé et est largement utilisée dans l'identification des BL. (Alegria et al., 2013; Obioha et al., 2021).

1.3.2.2.4. Technique PCR- RFLP (Polymorphisme de longueur des fragments de restriction amplifiés)

Le polymorphisme de longueur de fragment de restriction implique l'extraction de l'ADN du génome entier, sa digestion avec les enzymes de restriction et la séparation de tous les fragments d'ADN par électrophorèse sur gel. Cette technique est basée sur le principe que des séquences nucléotidiques apparentées peuvent être comparées en les exposant aux mimes endonucléases de restriction. L'électrophorèse et la coloration de fragments d'une séquence donnée produisent des empreintes digitales caractéristiques, de sorte que différentes séquences peuvent être comparées en comparant leurs empreintes digitales (Park et al., 2012).

Giraffa et al. (2003) ont rapporté que la PCR-RFLP était plus fiable pour regrouper les sous-espèces *Lactobacillus delbrueckii subsp. Lactis* et *Lactobacillus delbrueckii subsp bulgaricus* que le séquençage de l'ADNr 16S. Ainsi ont été utilisés pour identifier les espèces des genres *Lactococcus*, *Leuconostoc* et *Enterococcus* (Hashim & Al-Shuhaib, 2019).

1.3.2.2.5. PCR en temps réel (qPCR)

PCR en temps réel c'est une technique rapide de quantification moléculaire des BL existants dans les produits laitiers. Elle surveille l'amplification de l'ADN cible en temps réel et permet la quantification des espèces cibles. La PCR quantitative en temps réel fonctionne sur le même principe que la PCR conventionnelle, sauf qu'en plus de l'utilisation de deux amorces, une sonde est également nécessaire et est réalisée par deux façons. Avantage de la qPCR elle est rapide et peut détecter les produits de PCR, éliminant ainsi le besoin de traitement post-PCR telle que gel d'agarose. (Arya et al., 2005). Les deux méthodes de détection les plus courantes sont les sondes fluorescentes, qui sont attachées individuellement à l'ADN (la méthode SYBR qui repose sur l'utilisation du colorant vert SYBR et la méthode TaqMan qui repose sur l'utilisation d'un oligonucléotide complémentaire d'un brin de séquence cible « une sonde TaqMan »). **Uhel et al. (2019)** et **Fan et al. (2021)** ont rapporté le succès de cet outil pour identifier les BL isolées du lait fermenté.

1.4. Fonctions des bactéries lactiques dans les produits laitiers

1.4.1. Activité acidifiante

En technologie laitière, l'activité acidifiante est considérée comme un critère très intéressant pour la sélection des souches lactiques acidifiantes. Les BL fermentent les glucides produisent de l'acide lactique qui procure des effets bénéfiques, avec une vitesse d'acidification qui se varie selon les espèces. La fermentation des glucides provoque une baisse du pH, ce qui est important pour le caillage du lait, et une augmentation de l'acidité qui déclenche les réactions de changement préféré tel que l'expulsion du lactosérum. De plus, la production d'acide joue un rôle crucial dans le développement de la texture, de l'arôme, de la saveur et de l'activité antimicrobienne (**Endo et Dicks, 2014**).

1.4.2. Activité protéolytique

La protéolyse est l'une des propriétés physiologiques particulières des bactéries lactiques sur lesquelles des connaissances importantes ont été acquises, est un événement important qui se produit lors de la maturation des fromages affinés. Les BL ont un grand besoin d'acides aminés libres pour se développer, par exemple *Lactococcus* a une forte exigence en acide glutamique, glycine, leucine, isoleucine, histidine, méthionine et valine (**Gómez de Cadiñanos et al., 2019**). Comme il y'a peu d'acides aminés libres dans le lait, l'utilisation de peptides est Nécessaire pour obtenir des acides aminés à partir les protéines du lait. Les BL ont un système protéolytique complexe qui comprend les protéinases, peptidases et les protéines spécifiques. Les polypeptides sont produits par la coagulation du lait et les protéines de la paroi cellulaire bactérienne. Les protéases sont les enzymes de coagulation du lait responsable de la décomposition de la caséine, donc la dégradation de la caséine produite des peptides qui sont transportés dans les cellules. Dans les cellules, les peptidases se décomposent pour produire des peptides et des acides aminés plus petits (**Savijoki et al., 2006**). Les produits fermentés avec des levains lactiques protéolytiques peuvent constituer une bonne source d'acides aminés essentiels nécessaires à la survie de l'être humain (**Akabanda et al., 2013**). Lors de la fermentation du lait, l'activité protéolytique des bactéries lactiques peut modifier les propriétés nutritionnelles du lait d'une manière bénéfique aux consommateurs grâce à leur potentielles des enzymes protéolytiques. Par exemple, la capacité protéolytique de certaines espèces de BL pendant la fermentation du lait peut entraîner la libération d'acides aminés libres qui jouent un rôle clé dans la saveur du produit fini. **Rodríguez-Serrano et al. (2018)** ont rapporté que l'espèce

Streptococcus thermophilus capable de libérer des acides aminés aromatiques ou des peptides avec des acides aminés aromatiques. **Pessione et Cirrincione, (2016)** ont également signalé que la fermentation du lait par l'espèce *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus* enrichit le produit final avec les 4 acides aminés suivants (Cystéine, valine, proline et arginine). Les BL présentent une activité protéolytique très diversifiée. L'activité des *Lactobacilles* est supérieure à celles des *Streptocoques* lactiques, parmi les espèces les plus actives sur le plan protéolytique sont *Lactococcus salivarius* et *Lactococcus lactis subsp lactiset cremonis*, *Lb. casei*, *Lb. bulgaricus*, *Lb. helveticus*, *Lb. acidophilus* et *Lactiplantibacillus plantarum*. À l'heure actuelle, les enzymes protéolytiques sont largement utilisées et les applications potentielles des enzymes protéolytiques de BL sont également présentées dans de nombreuses industries, y compris l'industrie alimentaire (**Figure 3**). Généralement les enzymes protéolytiques peuvent être classées comme exopeptidases ou endopeptidases (protéases). Le premier groupe clive les liaisons peptidiques près de l'extrémité amino ou carboxyle du substrat. Les endopeptidases clivent les liaisons peptidiques des extrémités des substrats. L'activité de ces enzymes est variable selon les espèces et repose sur le mécanisme chimique par lequel elles catalysent l'hydrolyse des liaisons amides dans les substrats peptidiques. Les exopeptidases comprennent les groupes suivants :

- 1-Aminopeptidases, dipeptidyl peptidases et tripeptidyl peptidases, qui clivent un, deux ou trois résidus d'acides aminés de l'extrémité N-terminale.
- 2-Éliminent les acides aminés terminaux des tripeptides.
- 3-Carboxypeptidase, métallocarboxypeptidase qui enlèvent un résidu d'acide aminé de l'extrémité C-terminale.
- 4- Les dipeptidases qui hydrolysent la liaison peptidique du dipeptide.
- 5- Les peptidyl dipeptidases qui éliminent deux résidus de l'extrémité C-terminale.
- 6- Les omégapeptidases qui éliminent les résidus terminaux qui n'ont pas de liaison du groupe amino ou carboxyle libre (**Kieliszek et al., 2021**).

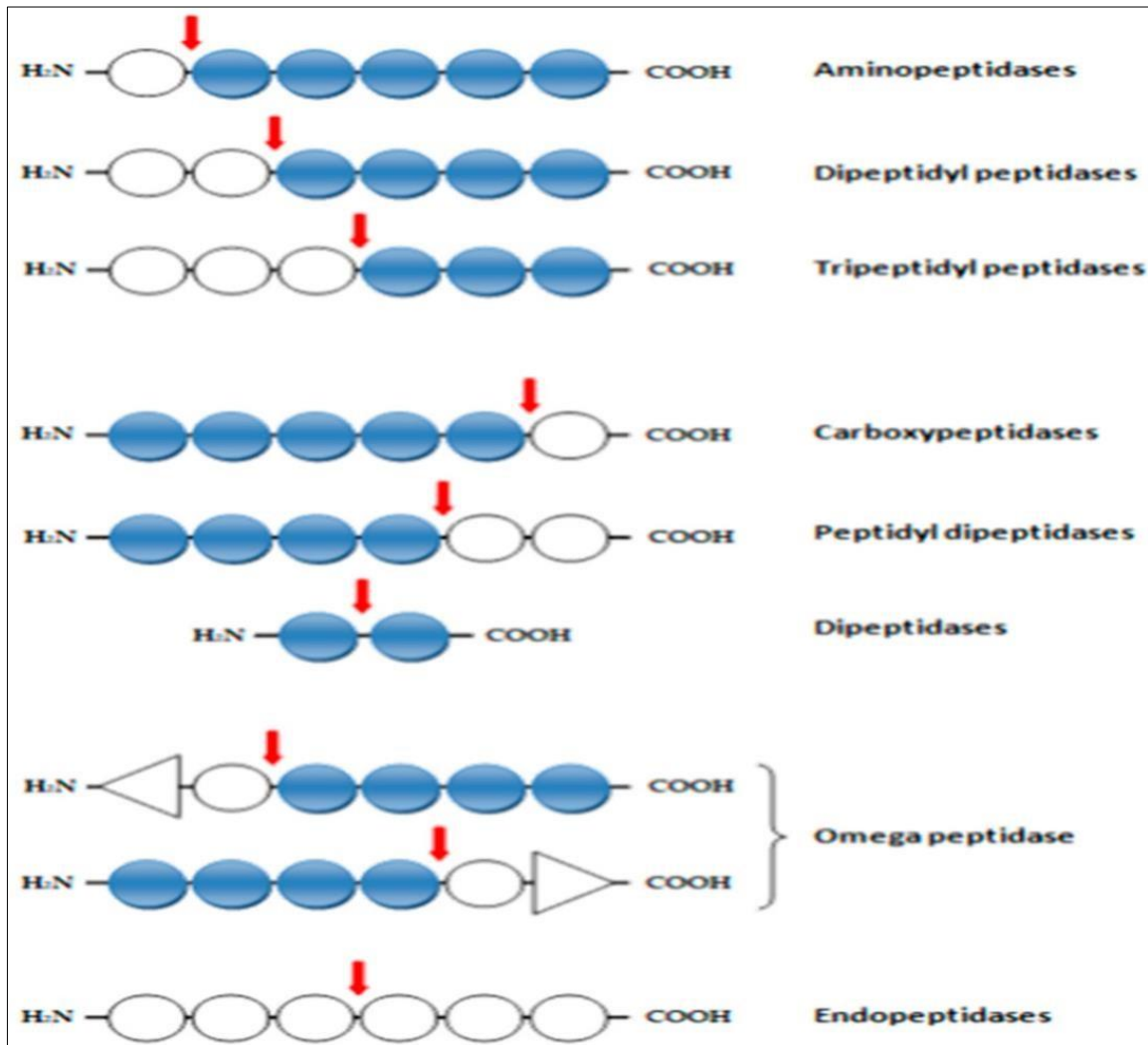


Figure 3. Les enzymes protéolytiques des bactéries lactiques et leurs actions. (Kieliszek et al., 2021).

↓ : indiquent le site d'action de l'enzyme.

◁ : indiquent les extrémités bloquées de la chaîne polypeptidique.

○ : les résidus d'acides aminés de la chaîne polypeptidique.

● : les acides aminés terminaux.

1.4.3. Activité aromatisante

Les bactéries lactiques ont les avantages techniques nécessaires pour obtenir la saveur unique des aliments fermentés dont leur qualité dépend de la capacité des levains lactiques à produire de la saveur et de l'arôme. Les espèces des deux genres *Lactococcus* et *Leuconostoc* sont considérées comme les principales espèces responsables de la production de composés aromatiques présents dans les dérivés laitiers. *Lactococcus lactis ssp lactis* et *Lactococcus lactis ssp cremoris* produisent des acides organiques tels que l'acide lactique et l'acide acétique. Et l'acétaldéhyde, le diacétyle, l'acétoïne et le 2-3 butane diol sont principalement formés à partir du citrate du lait par les espèces *Streptococcus thermophilus*, *Lactococcus lactis* et *Leuconostoc mesenteroide*. La synthèse de ces composés est largement dépendante des espèces impliquées dans la fermentation des produits et des voies métaboliques qui les caractérisent (**Figure 4**), plusieurs espèces lactiques ont été évaluées pour leur capacité à dégrader les acides aminés en composés aromatiques. *Lactococcus lactis subsp lactis* et *Lactococcus lactis subsp cremoris*, *Lactobacillus lactis*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus casei* sont capable de dégrader la méthionine en méthanethiol, diméthyle disulfure (DMDS) et diméthyltrisulfure (DMTS). La saveur est développée en raison de la dégradation enzymatique pendant la fermentation. Outre la lipolyse et la glycolyse, responsables des propriétés organoleptiques du lait fermenté, la protéolyse est l'une de ces dégradations enzymatiques majeures. L'acétaldéhyde est synthétisé à des teneurs variables, par les deux types de bactéries du yaourt, principalement à partir du pyruvate et une petite quantité à partir de la thréonine. Par conséquent, la plupart des composés aromatiques sont formés par 3 voies cataboliques principales : protéolyse, glycolyse et la lipolyse (**Farag et al., 2020 ; Chen et al., 2017**).

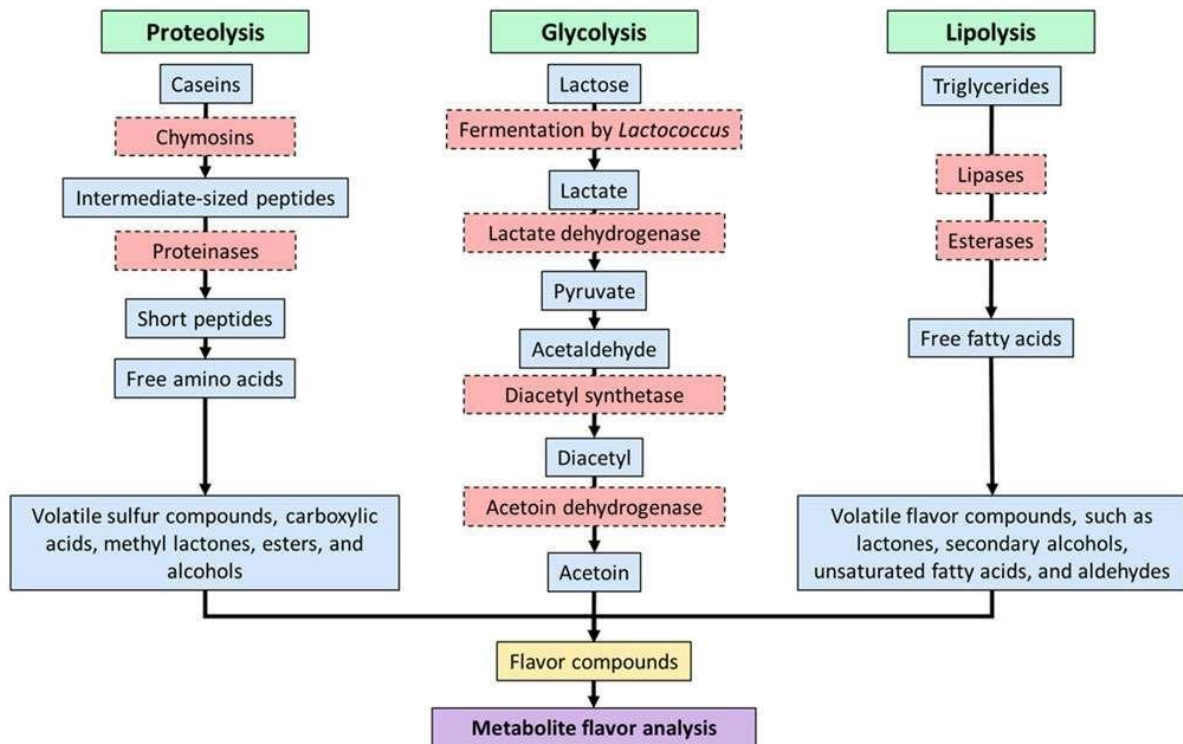


Figure 4. Voies métaboliques pour la production d'arômes dans le lait acidophile pendant la fermentation. (Farag et al., 2020).

1.4.4. Activité texturante

Les BL sont utilisés dans l'industrie alimentaire pour produire des produits laitiers et jouent un rôle clé dans l'évaluation des propriétés rhéologiques et sensorielles des produits en raison de leur capacité à synthétiser des exopolysaccharides (EPS) qui contribuent à la texture des dérivés laitiers en particulier le yaourt (**tableau 2**). L'EPS est un agent épaississant et structurant, d'un type de monomère de sucre (homopolysaccharides) ou de plusieurs types de monomères (hétéropolysaccharides). En règle générale les bactéries lactiques produisent de l'EPS en tant que matrice protectrice pour supporter toutes les pressions associées aux processus de fermentation, tels que le pH, la température et le stress osmotique (**Zeidan et al., 2017**). En fait, les BL produisant d'EPS aident à augmenter la viscosité des laits fermentés et peuvent limiter l'utilisation de produits chimiques ajoutés et de stabilisateurs fréquemment utilisés pour améliorer la qualité des produits. Actuellement, la formulation des produits laitiers contient un grand nombre de souches lactiques productrices d'EPS, et le rendement varie selon la variété et la capacité des espèces. Généralement, la plupart des souches lactiques sont inférieures à 1g/L. Cependant, certaines espèces peuvent produire plus que cette quantité (**Prete et al., 2021**).

Tableau 2 : La quantité d'EPS produite par certaines espèces de BL.

Espèces	La quantité d'EPS produite(g/L)
<i>Lactobacillus fermentum</i>	0.75-0.85
<i>Lactobacillus brevis</i>	0.35
<i>Lactobacillus plantarum</i>	0.14-0.4
<i>Lactococcus lactis</i>	0.2-0.35
<i>Lactobacillus Rhamnosus RW-9595M</i>	2.8
<i>Lactobacillus reuteri</i>	4.3-5

Plusieurs études ont été réalisées sur les effets des espèces productrices d'EPS sur les propriétés texturales et la stabilité des quelques produits laitiers fermentés (**Tableau 3**).

Tableau 3 : Souches productrices d'EPS et leurs effets sur les propriétés techno-fonctionnelles dans les dérivés laitiers.

Espèces	Effets	Produits
<i>S. thermophilus</i>	Augmentation de la viscosité, Amélioration du goût et de la saveur (Yilmaz et al., 2015)	Yaourt étuvé et brassé et Yaourt à boire
<i>Lb. plantarum</i> KX881772 et KX881779	Meilleure capacité de rétention d'eau, amélioration de la structure élastique, diminution de l'adhésivité (Ayyash et al., 2018)	Fromage à faible teneur en matière grasse.
<i>Lb. fermentum</i>	Donne une consistance crémeuse et diminuer la Synérèse (Ale et al., 2016)	Yaourt sans matière grasse.

1.4.5. Activité lipolytique

La lipolyse est le processus d'hydrolyse de la matière grasse du lait, joue un rôle crucial dans le développement de la saveur d'une gamme de produits alimentaires. Les acides gras libres (AGL) et les esters dérivés des AGL sont des composés aromatiques importants dans le fromage. Les bactéries lactiques sont largement utilisées comme cultures de démarrage dans la fabrication des fromages grâce à leur activité lipolytique qui est nécessaire et contribue à la fermentation et au développement des saveurs finales par l'hydrolyse des triglycérides pour produire des acides gras libres, du glycérol et des intermédiaires tels que les mono- et diglycérides (**Blaya et al., 2018**). En générale, les BL ont un système lipolytique plus faible que les autres micro-organismes lipolytiques, mais malgré ce système plus faible, certaines espèces lactiques peuvent avoir des enzymes intracellulaires capables d'hydrolyser les graisses du lait, telles que les estérases et les lipases. Par exemple, la matière grasse naturelle du lait est principalement composée de triglycérides émulsifiés qui ne peuvent être hydrolysés que par des lipases. Cependant, les mono- et diglycérides produits par l'hydrolyse des triglycérides peuvent être hydrolysés par certaines estérases, également appelées carboxylester hydrolases (Les estérases effectuent l'hydrolyse et la synthèse des liaisons ester et peuvent être en outre classées comme lipases. L'activité estérase des BL a été détectée chez les *streptocoques*, les *lactocoques* et les lactobacilles mésophiles et thermophiles (**Thierry et al., 2017**). Ainsi que **Dortu et Thonart, (2009)** ont rapporté que les *lactocoques* lors de la fermentation du lait provoque la libération d'enzymes intracellulaires dans le produit final et entraîne la formation des arômes.

1.4.6. Activité antimicrobienne

L'activité antimicrobienne est une qualité recherchée lors de la sélection des souches, les bactéries lactiques ont été utilisées comme conservateurs naturels en raison de leurs capacités antibactériennes. L'activité antimicrobienne des bactéries lactiques est différente par rapport à d'autres microorganismes, ces bactéries synthétisent des métabolites qui ont un effet bactériostatique et bactéricide. Dans le processus de la fermentation, l'activité antibactérienne des BL peut être obtenue par l'abaissement du pH ou la production des acides organiques (acide lactique, acide acétique,), du CO₂, H₂O₂, diacétyle et les bactériocines, Les bactéries lactiques qui synthétisent ces métabolites jouent un rôle important dans la préservation et l'amélioration de la sécurité des aliments par l'empêchent la croissance d'organismes de détérioration, d'agents pathogènes dans les aliments et de contaminants pouvant survenir au cours du processus de fabrication (**Ibrahim et al., 2021**).

1.5. Phénomènes d'interaction entre les bactéries lactiques

Les bactéries lactiques sont souvent associées à la pratique industrielle surtout les industries laitières, elles participent à la fermentation du lait. L'ensemencement des souches sélectionnées dans le milieu naturel c'est une étape cruciale dans le procédé de la fermentation et de la transformation, à ce niveau différents types d'interactions peuvent se produire soit les bactéries entre eux ou avec d'autres micro-organismes comme les levures où Il existe deux sortes d'interactions : indirecte et directe. Les interactions directes sont des interactions négatives comme prédation, parasitisme qui implique un contact physique entre deux microorganismes. Les interactions indirectes sont tous les types des interactions positives comme, le mutualisme (symbiose et synergies), le commensalisme, le neutralisme qui dues à des métabolites extracellulaires. Le type d'interaction chez la majorité des souches lactiques entre eux est le mutualisme (synergies) durant lequel la présence de différentes espèces ensemble stimule et améliore leur croissance (**Blaya et al., 2018**).

1.6. Propriétés probiotiques des bactéries lactiques

1.6.1. Généralité

Au cours des deux dernières décennies, un intérêt considérable a été observé concernant l'utilisation des bactéries lactiques probiotiques dans les aliments et la reconnaissance de leurs importances dans la santé et le traitement humains. Actuellement, la découverte de souches probiotiques est un élément crucial du marché de l'industrie. Une évolution croissante est constatée parmi les aliments probiotiques de nature laitière. Le bénéfice mondial issu du marché des probiotiques est estimé à environ 6 762,2 millions de dollars US à la fin de 2018. Les BL probiotiques sont des bactéries vivantes qui lorsqu'elles sont utilisées en quantités appropriées assurent un bienfait pour la santé de l'hôte. Cette définition a été établie par les spécialistes de la FAO et de l'OMS en 2002. Le premier terme probiotique a été suggéré par lilly et stillwell en 1965 en tant que : « des composants produits par un microorganisme qui favorisent l'activité d'un autre microorganisme ». Les bactéries qui exercent un effet bénéfique sur la santé de l'hôte et doivent être sûres pour une utilisation chez l'être humain ainsi que doivent être identifiées au niveau des espèces. Les espèces lactiques probiotiques les plus souvent employées sont les *Bifidobacterium adolescentis*, *Bifidobacterium animalis*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium breve*, et *Bifidobacterium longum* et *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus gasseri*, *Lactobacillus johnsonii*, *Lactobacillus*

paracasei, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus rhamnosus* (**Tableau 4**). Il y a deux sources d'isolement de ces espèces : Source conventionnelle recommandée par la FAO qui est le TGI humain, et non conventionnel comme les produits fermentés et non fermentés, TGI animal, le lait maternel (**Zielińska et Kolożyn-Krajewska, 2018**). Les espèces citées précédemment résistent aux conditions gastro-intestinales et jouent un rôle important dans la protection de l'hôte contre les germes nuisibles et évaluation de la sécurité des produits, assimilation du cholestérol et renforcent également le système immunitaire (produisent des anticorps et soulagent les allergies, Production des vitamines, Traitements différents types de diarrhée, élimination des toxines, améliorer la digestibilité des aliments et réduire les troubles métaboliques et participent à la lutte contre l'obésité et le diabète (**Pereira et Gibson, 2002 ; Kumar Bajaj et al., 2015**). Ainsi qu'elles ont une activité antioxydante et une propriété anti-inflammatoire et d'agglutination (**Zoumpoulou et al., 2018 ; Shakibaie et al., 2017**).

Tableau 4 : Exemple de quelques espèces lactiques probiotiques isolées à partir de sources conventionnelles et non conventionnelles.

Source conventionnelle		Sources non conventionnelles	
sources	Espèces	sources	Espèces
1. TGI Humain (Tyagi et Prasad, 2015 ; Verdenelli et al., 2011)		1-Lait maternel, colostrum ; produits laitiers fermentés	<i>Lb. Fermentum</i> , <i>Lb. Plantarum</i> , <i>Lb. gasseri</i> , <i>Bifidobacterium breve</i> et <i>S. salivarius</i> , <i>St. Thermophilus</i> . (Reis et al., 2016 ; Jiang et al., 2016).
Estomac	<i>Lb. gasseri</i> , <i>Lb. fermentum</i> , <i>Lb. vaginalis</i> , <i>Lb. Reuteri</i> et de <i>Lb. salivarius</i>	2-TCI animale	<i>Pediococcus pentosaceus</i> (Ladha et Jeevaratnam, 2018)
Intestin	<i>Lb. rhamnosus</i> , <i>Lb. paracasei</i> , <i>Lb. plantarum</i> , <i>Lb. helveticus</i> et <i>Lb. fermentum</i>	3-Aliments non fermentés (fruits et légume)	<i>Lb. brevis</i> , <i>Lb. pentosus</i> , <i>Lb. Paracasei</i> <i>Lb. plantarum</i> , et <i>Lb. fermentum</i> <i>Enterococcus durans</i> (Garcia et al., 2016)
Fesses	<i>Lb. casei/paracasei rhamnosus</i>	4-Environnement (Air, les locaux de travail et du stockage de la boulangerie)	<i>Lb. plantarum</i> and <i>Sanfranciscensis</i> (Scheirlinck et al., 2009)

1.6.2. Aspects de sélection des souches probiotiques

La sélection des souches probiotiques appropriées est un facteur clé dans la formulation de produits contenant des cultures probiotiques viables. Généralement la sélection se fait sur la base de différentes caractéristiques qui doivent être pris en compte pour une meilleure sélection des souches performantes afin de pouvoir les utiliser et les appliquer, la **figure 5** illustre les quatre... caractéristiques nécessaires permettant de caractériser une souche lactique comme probiotique.

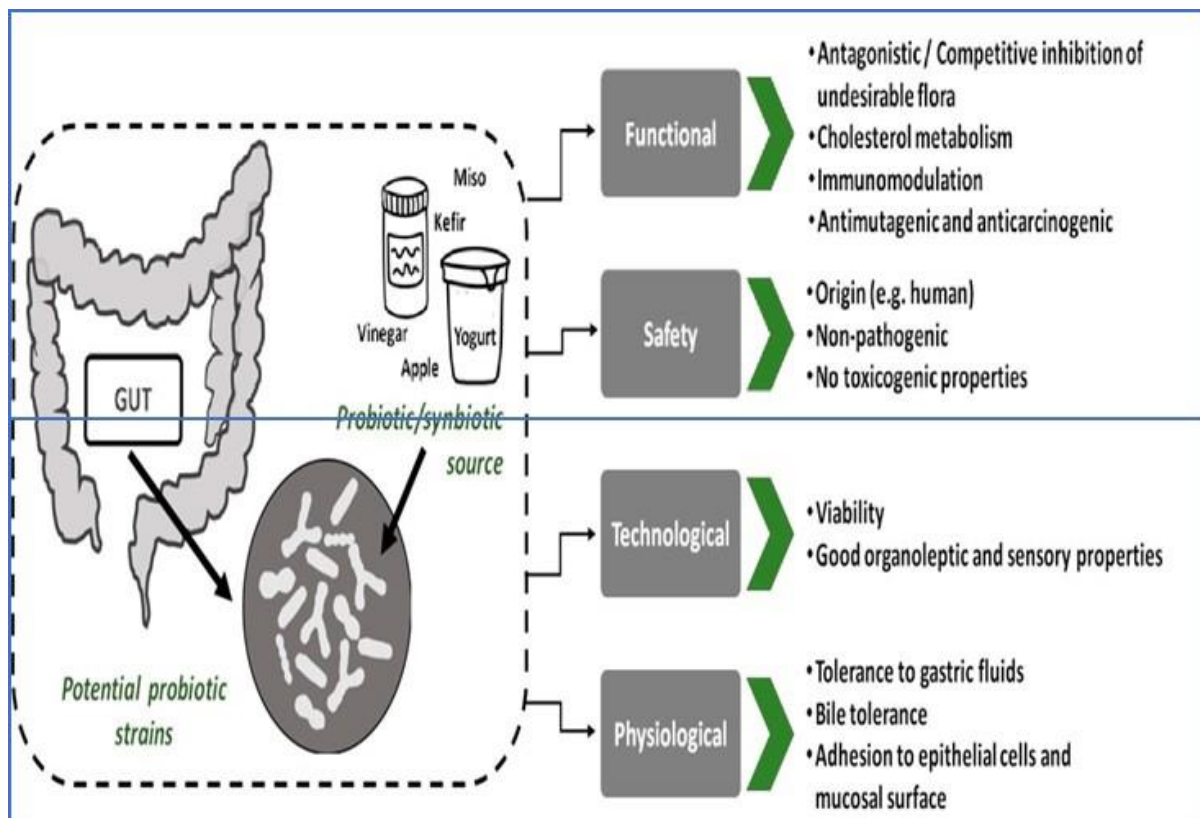


Figure 5 : Caractéristiques de sélection des souches probiotiques (Terpou *et al.*, 2019).

1.6.2.1. Caractéristiques physiologiques.

Pour qu'une souche soit considérée comme étant potentiellement probiotique, elle doit être capable de répondre et de résister aux conditions ci-dessous (De Melo Pereira *et al.*, 2018).

1.6.2.1.1. Capacité de survie au cours de transit digestif

Il s'agit d'évaluer la capacité des souches candidates à faire face aux conditions de stress pendant le passage par l'estomac et duodénum. Les souches doivent avoir des mécanismes de

tolérance et résistance aux enzymes présentes dans la cavité buccale, telles que l'amylase et le lysozyme. Bien que les bactéries Gram positifs sont généralement sensibles au lysozyme, certains BL sont plus résistantes que d'autres bactéries Gram positifs, car certaines espèces pouvant ainsi faire partie du microbiome résident de la cavité buccale l'homme. Après l'ingestion, les espèces lactiques probiotiques doivent survivre et résister aux facteurs suivants : l'acidité de l'estomac, effet de la pepsine, les sels biliaires produits dans le duodénum, ainsi qu'un léger choc thermique causé par la température interne du corps. Les deux aspects la tolérance aux pH variés de 2 à 5 et à des concentrations de sels biliaires allant de 0.3 à 5% sont considérés comme des points importants et critiques lors de choix des micro-organismes probiotiques pour une application dans les produits laitiers. **Fontana et al. (2013)** ont rapporté que la résistance des bactéries lactiques à la bile et à l'acidité est une particularité qui dépend et variée selon les espèces, ont trouvé que les espèces du *Lactobacillus* sont largement résistantes, tandis que les espèces du *Bifidobacterium* sont extrêmement sensibles à un pH faible, présentant des taux de survie faibles ou nuls à des pH de 2 et 3 ou aucun taux de survie.

1.6.2.1.2. Capacité d'adhésion

La capacité d'adhésion est un processus complexe qui consiste à déterminer si les espèces probiotiques peuvent coloniser les cellules épithéliales du tractus gastro-intestinal, le processus d'adhésion s'appelle processus de contact qui implique le contact entre les cellules de l'hôte et cellule de microorganisme et dépend de la composition physico-chimique de la surface cellulaire et de l'équilibre des interactions électrostatiques. L'adhérence des souches probiotiques aux cellules épithéliales est liée à leur capacité d'auto-agrégation et aux propriétés hydrophobes des cellules.

1.6.2.1.3. Activité anti-pathogène

Les souches probiotiques ont la capacité à produire des éléments anti-pathogènes par la conversion d'hydrates de carbone, de protéines et d'autres composés mineurs en substances importantes qui peuvent tuer les bactéries pathogènes, telle que les acides organiques, les enzymes, le peroxyde d'hydrogène, et les bactériocines.

1.6.2.1.4. Résistance aux antibiotiques

Ce critère permet de vérifier et de s'assurer que les souches considérées comme probiotiques ne contiennent pas de gènes de résistance aux antibiotiques transmissibles. En général, la résistance aux antibiotiques ne pose pas en elle-même un problème. En fait, elle peut donner à

la souche un avantage dans l'intestin lorsqu'elle est exposée à un traitement antibiotique. Toutefois, les gènes de résistance aux antibiotiques présents sur les fragments putatifs mobiles pourraient constituer une menace potentielle pour la santé, car ces souches pourraient constituer un réservoir de résistance aux antibiotiques susceptible d'être transféré à des organismes pathogènes dans l'intestin (**Guinane et al., 2016**)

1.6.2.2. Caractéristiques technologiques

Les caractéristiques technologiques des souches probiotiques se basent sur le choix des espèces qui ont une bonne propriété sensorielle et qui doivent rester stables et viables lors du traitement technologique (après leur incorporation dans la production et au cours de procédés de production). La viabilité des souches probiotiques dans les aliments c'est un point nécessaire qui doit être pris en considération dans la sélection. Il a été suggéré que les organismes probiotiques devraient être présents dans un aliment à une concentration minimale de 10^6 UFC.g⁻¹, ou que l'apport quotidien soit d'environ 10^9 UFC.g⁻¹. Ces nombres élevés ont été suggérés pour compenser les pertes possibles du nombre d'organismes probiotiques au cours de l'alimentation et durant le passage dans l'estomac et l'intestin. En technologie laitière les bactéries lactiques probiotiques doivent pouvoir se développer dans le lait, car certaines espèces survivent en nombre suffisant et certaines ne peuvent pas se développer dans le lait comme l'espèce *Lb. rhamnosus*. Au Japon l'Association des laits fermentés et des boissons à base de bactéries d'acide lactique a développé une norme, qui exige la présence d'un minimum de 10^7 UFC viables mL⁻¹ dans les produits laitiers (**Tamime et al., 2006**).

1.6.2.3. Sécurité

Toutes les souches probiotiques à usage humain doivent être sans danger, trois critères ont été mis en place pour l'évaluation de leur sécurité. Le premier critère qu'il est important à évaluer c'est l'étude de leur effet indésirable afin d'assurer une innocuité totale pour l'être humain, les souches considérées comme probiotique doivent être non toxiques, ne comportent pas des gènes de virulence et n'ont pas une activité hémolytique (**Sanders et al., 2010**). L'identification des souches est considérée comme critère de sécurité, il est recommandé que les bactéries probiotiques doivent être identifiées et caractériser par des techniques phénotypiques et génotypiques pour spécifier l'appartenance des souches à une espèce, **Yadav et Shukla, (2017)** ont rapporté que l'identification des souches probiotiques est indispensable pour garantir une

connaissance préalable des bactéries concernant leur potentiel de pathogénicité. Ainsi que la reconnaissance de l'origine des souches considère comme un critère de choix en ce qui concerne la sélection des souches les plus sécuritaires, les souches probiotiques d'origine humaine sont les plus préférables. Actuellement la majorité des souches probiotiques disponible sur le marché ont été isolées à partir des êtres humains en bonne santé afin d'augmenter la compatibilité et leur survie dans le tube digestif (**Rivera-Espinoza et Gallardo-Navarro, 2010**).

2. Produits laitiers fermentés

2.1. Généralité

Le lait et ses dérivés ont été considérés comme des éléments les plus naturels et les plus nutritifs d'une alimentation quotidienne équilibrée. Actuellement les produits laitiers fermentés occupent une place de plus en plus prépondérante surtout ceux qui contiennent des probiotiques sont considérés comme des produits très bénéfique pour la santé, et sont des produits très réputés en raison de leurs propriétés organoleptiques spécifiques (**De Melo Pereira et al., 2022**). Ils sont définis en 2003 par Codex Alimentarius comme étant des produits obtenus par la fermentation du lait cru par l'action des bactéries appropriées qui entraînant une réduction du pH avec ou sans coagulation, les bactéries incorporées dans le lait doivent être viable, actifs et abondantes dans le produit fini jusqu'à la date limite de sa durabilité. De nos jours, trois catégories des produits laitiers sont disponibles sur le marché.

- ✓ Produits de base comme le lait fermenté, fromage, crème glacée, etc.
- ✓ Produits laitiers fonctionnels : C'est les produits qui contiennent des bactéries probiotiques et enrichies en glucides prébiotiques.
- ✓ Produits à valeur ajoutée : dont la composition du lait a été modifié, par exemple, préparations à base de produits à faible teneur en lactose ou sans lactose, préparations hypoallergéniques à base de protéines hydrolysées pour nourrissons présentant une hypersensibilité au lait, produits laitiers enrichis en Calcium, vitamines, etc.

La fermentation est l'une des plus anciennes méthodes de transformation et de conservation de nombreux aliments traditionnels. Le climat chaud dans les régions rurales rend difficile la préservation du lait, car il est très périssable, la fermentation en tant qu'une technologie de transformation est donc importante dans ces régions, non seulement parce qu'elle sert de forme de conservation, mais aussi parce qu'elle répond à la nécessité de diversifier les produits à partir du lait, tout en aidant à améliorer la fonctionnalité, la digestibilité, ainsi que le profil nutritionnel

du lait et de ses produits. Le processus de fermentation contribue à une augmentation de la variété et de la concentration des nutriments clés, en particulier les vitamines, les minéraux et les acides aminés essentiels. Les produits laitiers artisanaux sont des produits naturellement fermentés et ayant une méthode de fabrication différente d'une région à une autre. Généralement la majorité des produits laitiers artisanaux sont produits spontanément par l'action des micro-organismes indigènes présents dans le lait cru. Dans la préparation de certains produits, la fermentation spontanée a été remplacée par la technique « backslopping » qui consiste à inoculer du lait avec une petite quantité d'une fermentation précédente. Cette technique sélectionne naturellement des micro-organismes bien adaptés réduisant le temps de fermentation et augmentant la prévisibilité et la qualité. **(Shrivastava et Ananthanarayan, 2015)**. Les produits laitiers artisanaux au lait cru sont des produits de niche qui sont habituellement fabriqués à la main et produits à la ferme et qui ont un lien fort avec le territoire d'origine, témoignent de l'histoire, de la culture et du style de vie des communautés qui les produisent, transmis de génération en génération depuis des siècles **(Nduko et al., 2017 ; Licitra et al., 2019)**. Les produits laitiers contiennent de nombreux nutriments essentiels et sont caractérisés par une microflore lactique riche et diversifiée. Les BL sont parmi les bactéries les plus utilisées dans les fermentations alimentaires grâce à la production d'une large gamme de métabolites, participant ainsi à l'amélioration du goût et de la texture des produits alimentaires fermentés **(Ruiz Rodríguez et al., 2019)**.

2.2. Types des produits laitiers fermentés.

Il existe différents produits laitiers, chaque produit laitier a des caractéristiques et une teneur en nutriments différentes. L'Afrique abrite un large éventail de produits laitiers fermentés indigènes vieux de plusieurs siècles qui sont encore consommés, jouant un rôle important dans la fourniture de besoins en nutriments et de revenus aux populations de cette région **(Okoye et Oni, 2017)**. La figure 6 représente les produits les plus populaires dans différents pays Africains.

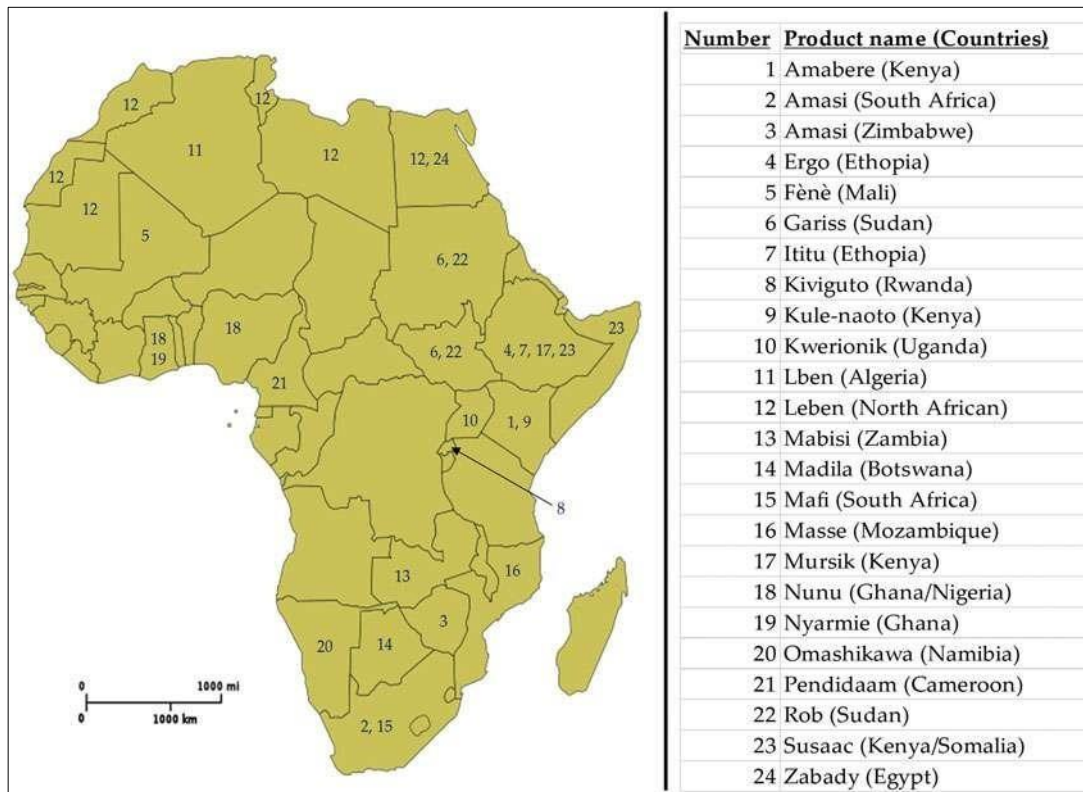


Figure 6 : Représentation graphique du pays d'origine de certains produits laitiers fermentés africains (Agyei et al., 2020).

Les produits les plus populaires dans le monde sont : le kéfir, le babeurre, le koumiss, le dahi, le kurut, l'airag, le tarag, le khoormog, le lait caillé et le suero costeno. Wagashi (Ghana), jben, le beurre fermenté comme le Kibe et le yaourt. Ces produits sont largement consommés et contribuant au développement socio-économique et à la sécurité alimentaire de la population. Le processus de la fermentation pratiqué dans leur fabrication est spontané et en backslopping. Ces produits laitiers fermentés abritent une riche et précieuse diversité microbienne, dominée par les bactéries lactiques et les levures. **La figure 7** représente les bactéries lactiques dominantes dans certains produits populaires. La majorité des produits sont fabriqués à partir de lait de vache, mais le lait de chèvre, de buffle, de chameau ou de brebis est également utilisé (De Melo Pereira et al., 2022).

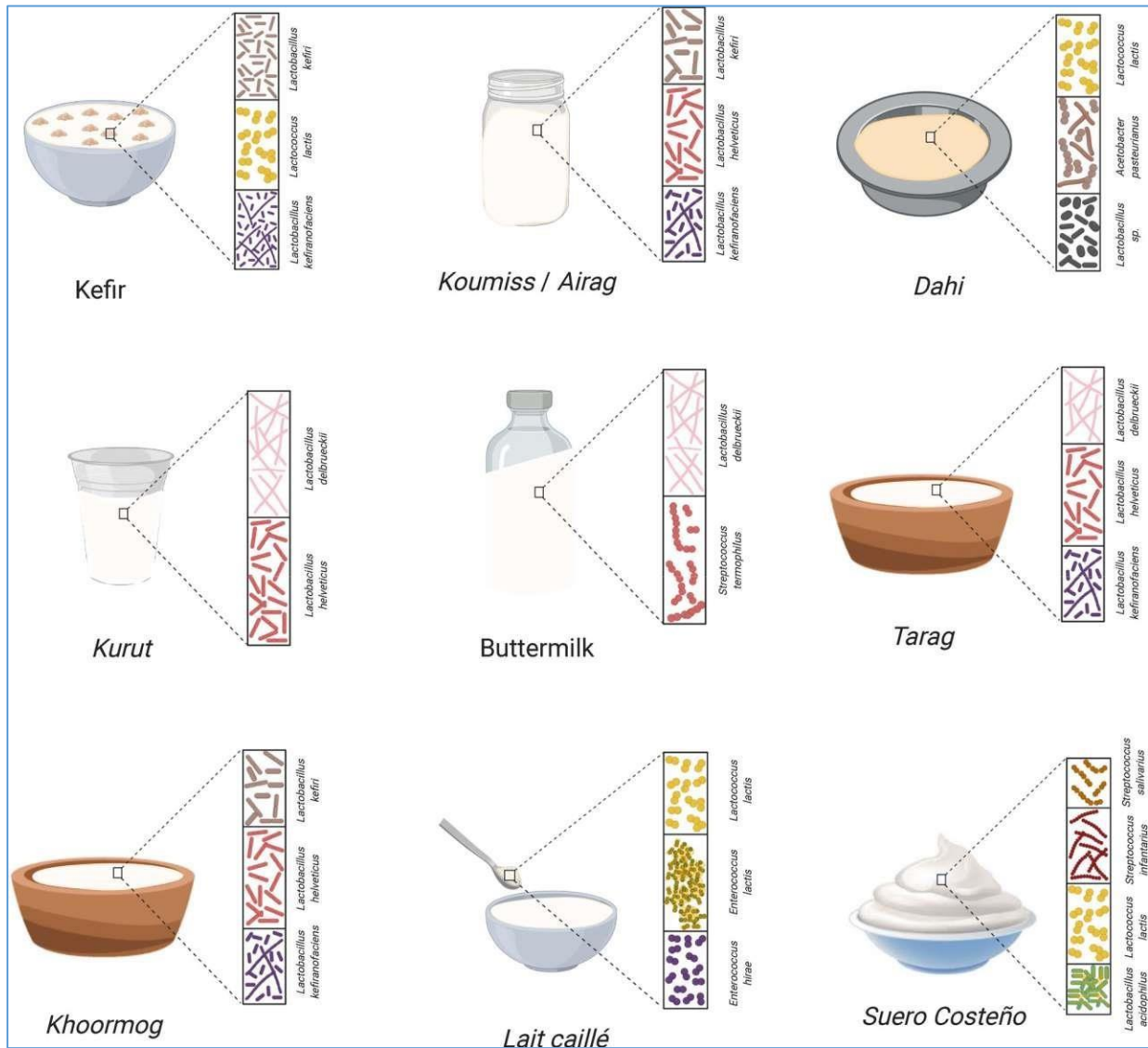


Figure 7 : Représentation des groupes bactériens dominants des produits laitiers fermentés populaires dans le monde.

L’Algérie possède bel et bien un héritage traditionnel de fabrication de produits laitiers ,les cinq produits : J’ben, L’ben, Smen, Raib, Zebda sont les principaux dérivés laitiers artisanaux les plus célèbres et les plus consommés en Algérie, à l’heure actuelle les cinq produits artisanaux ont persisté et ont évolué d’un niveau artisanal à la fabrication à grande échelle industrielle avec production utilisant des équipements modernes et techniques différentes qui nécessitent cultures (starter) spécifiques pour chaque produits. Ces produits se diffèrent par leur goût, leur procédé de fabrication et leur consistance. Les deux dérivés L’ben et Raib sont considérés comme des boissons fermentées traditionnelles et les produits Smen et Zebda sont classés parmi les dérivés laitiers gras. Tous les produits ont une même technique de fermentation, sont obtenus par une fermentation spontanée du lait cru à une température ambiante pendant une période allant du

24 à 72 h dont la fermentation a été associée à des bactéries lactiques présentes naturellement dans le lait cru appartenant aux genres *Lactococcus* et *Leuconostoc*. Après l’obtention du gel nommé lait caillé ou Raib, la préparation des autres produits débute par barattage du Raib. A la fin de l’opération du barattage qui dure une heure une petite quantité d’eau chaude (40-50°C) est ajoutée pour favoriser l’agglomération des globules gras, puis la matière grasse apparaissant en surface est récupérée pour l’obtention du beurre frais nommé Zebda. Le produit Smen est obtenu en transformant du beurre frais en beurre rance par lavage du beurre frais à l’eau chaude, saumurage puis salage à sec (saupoudrage en surface 8 à 10g/100g) (**Leksir et al., 2019**). Le fromage artisanal est un produit très populaire et très consommé surtout dans les régions rurales, il existe une grande variété de ce produit dont la nature de chaque variété dépend du type de lait utilisé, le prétraitement, les conditions de fermentation. Les différents types sont cités dans le **tableau 5**, la plupart de ces différents types sont en voie de disparition et n’ont pas encore évolué à l’échelle industrielle. **La figure 8** représente le diagramme global du processus de la fabrication des dérivés laitiers et fromages artisanaux algériens.

Tableau 5 : Variété du produit artisanal algérien « Fromage ».

Types du produit	Nom des fromages	Références
Fromage frais	Klila frais J’ben Michouna Kémaria Laghaunane Ibkhbakhane Imadhghass Adhghass Aghoughlou	(Choubaila et Mabrouk, 2015 ; Mechai et al., 2014 ; Derouiche et Zidoune, 2015 ; BENSABAHA et al., 2012 ; Hallal, 2001)
Fromage affinés	Bouhezza	
Fromage fondu	Madghissa	
Fromage à pâte dure	Klila séché Aoules Takammart	(Choubaila et Mabrouk, 2015 ; Gast et al., 1969)

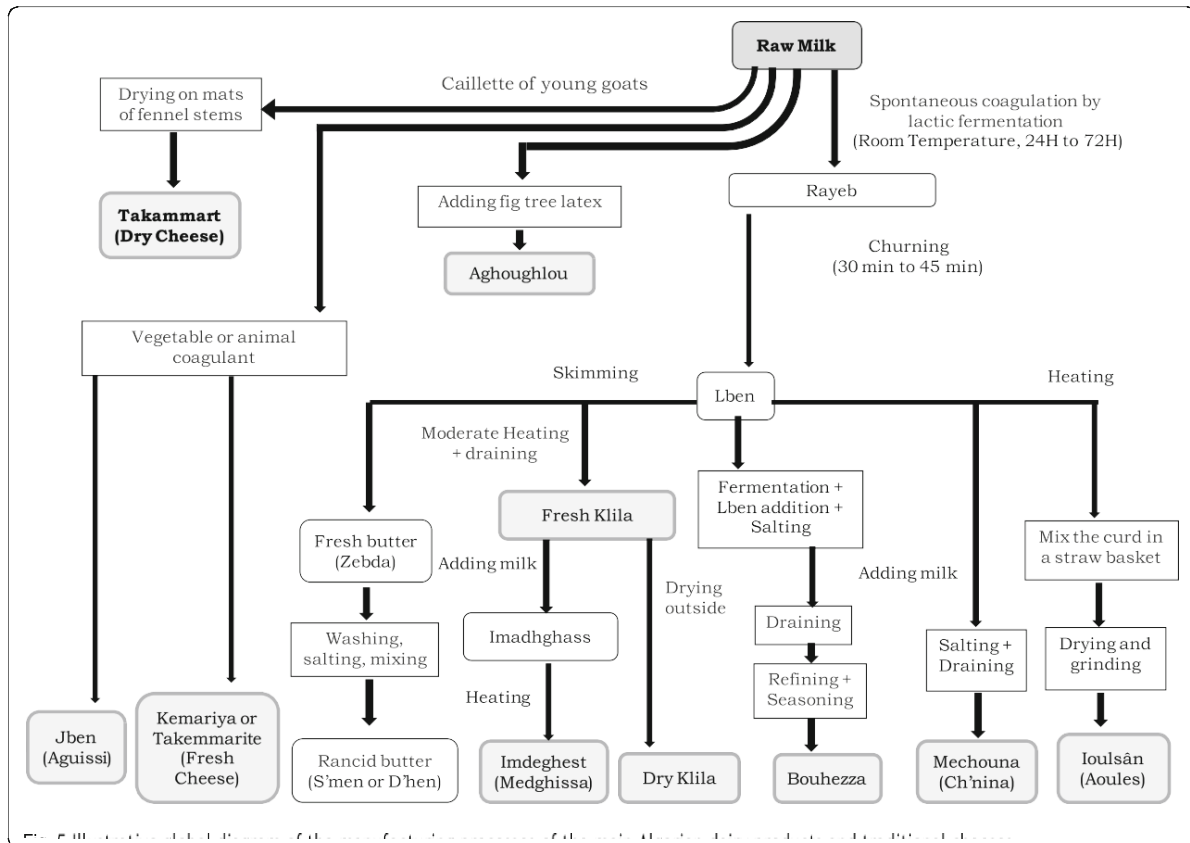


Figure 8 : Diagramme représente le processus global de la fabrication des dérivés laitiers et fromages artisanaux algériens (Leksir et al., 2019).

Le yaourt est un autre type de dérivé laitier qui occupe une place particulière et importante parmi les différents dérivés laitiers existant en Algérie. Le yaourt est un lait fermenté préparé industriellement par la fermentation lactique des deux bactéries spécifiques : *Lactobacillus bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus* présentant une teneur en acide lactique minimale de 0,7 % et contenant au moins 10 millions de bactéries vivantes par gramme de produit au moment de la vente au consommateur. Le yaourt est considéré comme un produit laitier frais, soumis à une date limite de consommation. Il doit donc être maintenu au froid (moins de 6°C) et présenter une durée de vie limitée (généralement 28 jours). La FIL et le Codex Alimentarius ont établi certains critères qui doivent être pris en compte dans la classification et la réglementation du yaourt (Figure 9).

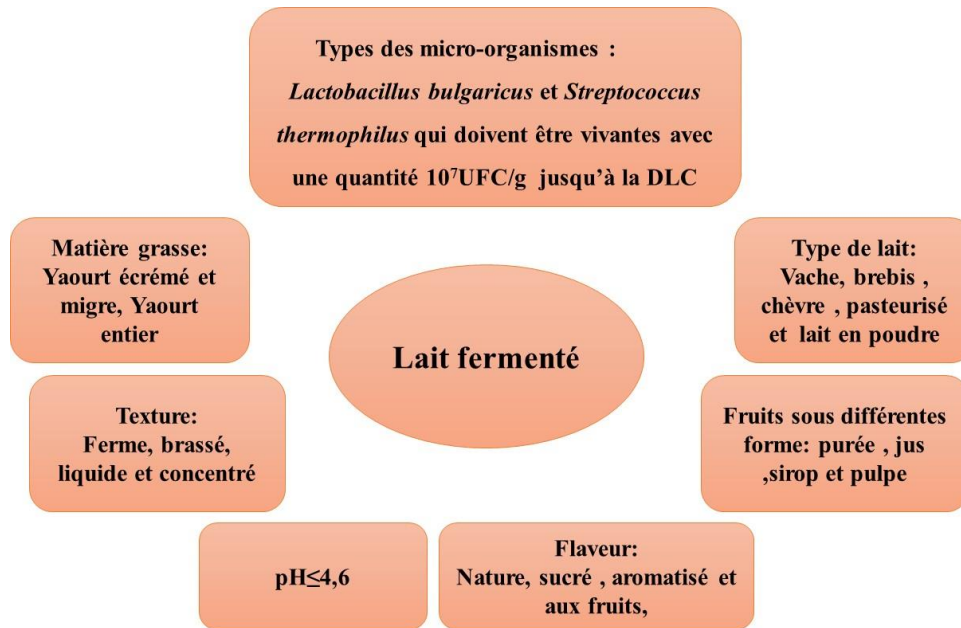


Figure 9 : Schéma général des principaux critères du yaourt établis par Codex Alimentarius et FIL.

Les procédés de fabrication des yaourts et des laits fermentés se caractérisent par trois phases successives, constituées chacune de plusieurs étapes : la préparation du lait qui aboutit au « mix » (lait ayant subi différentes étapes de préparation en vue de sa fermentation en yaourt), la fermentation (ou maturation ou incubation) qui aboutit à l'obtention d'une « masse blanche » (yaourt « brut » avant introduction des ingrédients et mise en œuvre des étapes de transformation ultérieures) et les traitements post-fermentaires qui aboutissent au produit fini. Le diagramme de production diffère selon le type de produit élaboré (yaourt ferme, brassé, à boire ou concentré). Le diagramme général de production des laits fermentés nature est présenté dans la **figure 10** (Béal et Helinck, 2019).

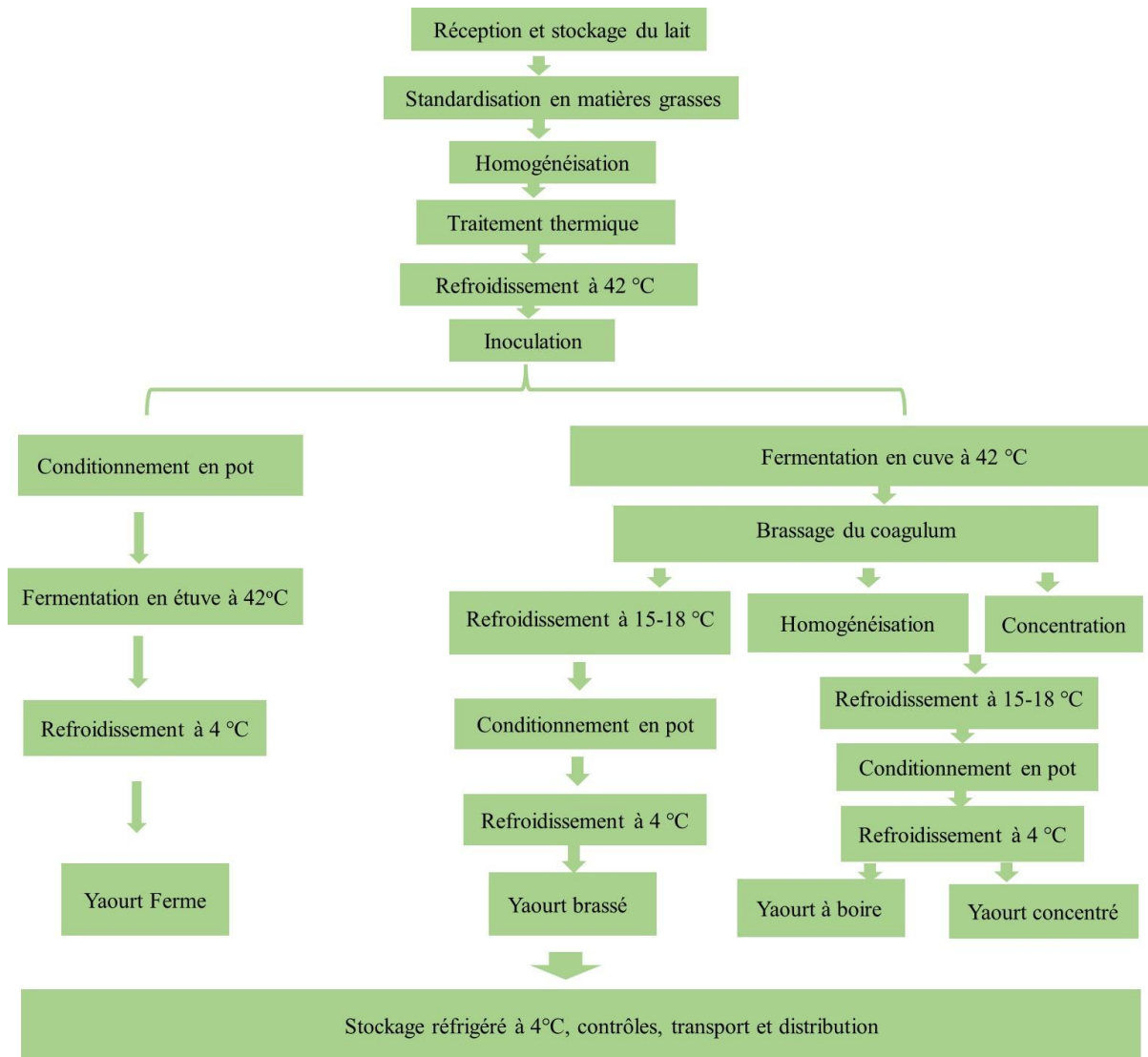


Figure10 : Diagramme général de fabrication des types du lait fermenté « Yaourt » (Béal et Helinck, 2019)

2.3.Intérêt des produits laitiers fermentés

Parmi les différents produits alimentaires , le lait a été identifié comme ayant un potentiel élevé pour l'amélioration de la santé des êtres humains puisqu'il est une source riche et optimale de nutriments vitaux tel que les protéines, les graisses, le lactose, les vitamines, les minéraux, les enzymes, les hormones, les immunoglobulines donc les dérivés laitiers sont consommés non seulement pour répondre aux besoins nutritionnels des consommateurs, mais aussi pour leur rôle dans la prévention de divers troubles tels que diminution du risque d'ostéoporose, d'hypertension , d'obésité et de syndrome de résistance à l'insuline. La consommation de produits laitiers réduit les symptômes d'intolérance au lactose. Les laits fermentés contiennent des protéines de haute qualité et constituent la principale source alimentaire de calcium et de

vitamine D, ces deux composants sont parmi les principaux composants des produits laitiers qui peuvent protéger contre le cancer du côlon. En plus les protéines laitières contiennent plusieurs composants qui peuvent aider le corps humain à se protéger contre les toxines, les bactéries et les virus. Par exemple, la lactoferrine, une protéine de lactosérum se liant au fer, peut augmenter l'absorption et le transport du fer, améliorer l'immunité et stimuler la croissance de bactéries bénéfiques dans le tractus intestinal. Les quantités élevées de phosphate de calcium colloïdal dans les produits laitiers provoquent la formation intestinale de phosphate de calcium amorphe insoluble, qui précipite les acides biliaires, les acides gras et d'autres facteurs cytotoxiques inconnus et inhibe ainsi la prolifération épithéliale colique. Les produits laitiers fermentés, en particulier ceux qui contiennent des bactéries probiotiques, peuvent aider à réduire le risque de cancer à plusieurs endroits. Les aliments laitiers sont bénéfiques pour les dents de plusieurs façons : -Le calcium, le phosphore et les protéines peuvent aider à construire et à maintenir des dents solides et saines. -Le lait est une boisson sans danger pour les dents, sans danger entre les repas, car il ne favorise pas la carie dentaire. - Les nutriments contenus dans le lait et les produits laitiers peuvent réduire l'accumulation d'acide sur les dents qui se produit après avoir mangé des aliments sucrés. -La combinaison de caséine, de phosphore et de calcium dans le fromage peut en fait aider à reminéraliser les dents et à réduire le risque de carie dentaire. **(Nagpal et al., 2012)**. Généralement les produits laitiers contenant les bactéries lactiques précisément les espèces probiotiques peuvent être consommés à des fins nutritionnelles. **(Granato et al., 2010)**. **Anne Fernandez et al. (2017)** ont rapporté que le yaourt et les produits laitiers qui contiennent des protéines peuvent avoir des effets favorables sur le fonctionnement métabolique, incluant le maintien du poids, l'hypertension. Les produits laitiers jouent un rôle important dans une alimentation saine, en plus de leurs caractéristiques chimiques et de leurs éléments nutritifs, ils ont un certain nombre de mécanismes et d'interactions qui consistent en des processus biochimiques et microbiologiques. En raison de ces processus complexes qui se sont produits pendant la fermentation, de nouveaux métabolites sont composés et agissent positivement dans la prévention ou pour réduire le risque de certaines maladies chroniques importantes tels que les maladies cardiovasculaires et le cholestérol **(Baspinar et Güldaş, 2021)**. Les produits laitiers fermentés ont une durée de conservation plus longue que le lait en raison de la production in situ d'acides organiques, ainsi que de bactériocines **(Silva et al., 2018)**.

Partie expérimentale

La présente étude repose d'une part sur l'isolement et l'identification des bactéries lactiques existantes dans les dérivés du lait fabriqués de façon artisanale, puis l'étude de leurs aptitudes technologiques et probiotiques et d'un autre côté la valorisation des potentialités technologiques des souches isolées par leurs incorporations dans la fabrication d'un lait fermenté « Yaourt ». Le travail a été réalisé au niveau de notre laboratoire de recherche « Technologie alimentaire et nutrition » au niveau du l'INES à l'université de Mostaganem ainsi qu'au niveau du laboratoire d'hygiène de la wilaya de Blida et le laboratoire de recherche de l'école supérieure d'agronomie (Mostaganem). L'identification moléculaire et génétique a été faite au niveau du laboratoire « Gene Life Science » à l'université de Sidi Belabbes, au Malaisie et au sein du laboratoire CRAPC « centre d'analyse physico-chimique » à la wilaya de Tipaza, pour la partie de l'application des souches isolées dans la préparation d'un lait fermenté a été effectuée au sein de l'usine Sidi-Saada à la Wilaya de Relizane.

1. Matériel

1.1. Matériel biologique

Les produits laitiers artisanaux analysés « J'ben, Zebda, L'ben, Raib et Smen », les souches lactiques que nous avons isolées et identifiées génétiquement. Ainsi que les souches pathogènes indicatrices ont été utilisées après la confirmation de leurs puretés par réification et par étude macroscopique et microscopique.

1.1.1. Échantillonnage

Dix-neuf échantillons provenant de cinq types des dérivés laitiers artisanaux préparés à base du lait cru des deux espèces des petits ruminants « caprin et bovin » ont été étudiés dans ce travail. Ils ont été collectés au niveau des fermes situées dans différentes régions algériennes (Est, ouest, Nord, Sud). Les échantillons ont été conservés à 4°C puis transportés au laboratoire dans des conditions réfrigérées pour réaliser l'isolement des bactéries lactiques. Le **tableau 6** regroupe les informations sur l'ensemble des produits.

Tableau 6 : Le nombre d'échantillons, date de collecte, le type du lait cru et leurs Régions.

Produits	Nombre d'échantillons	Régions	Type du lait qui a été utilisé dans la préparation	Date du prélèvement.
J'ben	07	Blida	Vache	22.04.2019
		Naâma	Vache	05.05.2019
		El Bayadh	Vache	14.10.2019
		Oran	Chèvre	12.11.2019
		Khenchela	Chèvre	10.12.2019
		Bechar	Chèvre	21.12.2019
		Médéa	Vache	15.01.2020
Smen	05	Naâma	Chèvre	16.05.2019
		Médéa	Vache	05.10.2019
		M'sila	Chèvre	21.12.2019
		Bechar	Chèvre	21.12.2019
		Djelfa	Vache	05.10.2019
Zebda (Beurre fermier)	04	Tizi Ouzou	Vache	20.01.2020
		Ain Defla	Vache	21.11.2019
		Khenchela	Vache	10.12.2019
		Médéa	Chèvre	25.05.2019
L'ben	02	Médéa	Vache	24.06.2019
		Ain Defla	Vache	27.10.2019
Raib	01	Blida	Vache	24.06.2019

1.2. Matériel non biologique

Les milieux de culture (Voir l'annexe 1).

2.Méthodes

2.1. Mise en place d'une collection des bactéries lactiques

2.1.1. Isolement

L'isolement a été réalisé par la méthode de l'ensemencement en surface des dilutions versées sur

la gélose. À cet effet, une solution mère a été préparée avec 25 g et 1ml des aliquotes de chaque échantillon ont été prélevés de manière aseptique, transférée dans des flacons stériles contenant 225ml de solution TSE (pour les produits J'ben, Zebda et Smen) et dans des tubes contenant 9ml de TSE (pour les produits L'ben et Raib) puis homogénéisés pendant 6 à 8 min selon la texture du produit, une série des dilutions décimales a été effectuée pour chaque échantillon à partir de la solution mère de façon classique : 1ml du produit par 9ml de diluant. À partir de chaque échantillon dilué, un volume de 0.1 ml a été prélevé des dilutions 10^{-6} , 10^{-7} et 10^{-8} et étalé à la surface sur les géloses MRS (Pronadisa, Madrid, Spain) (**De Man et al., 1960**) acidifiées à pH 5.4 par l'acide acétique (10%) et M17 (**Terzaghi et Sandine, 1975**) préalablement coulées et solidifiées dans des boîtes de pétri. Les boîtes du milieu MRS ont été incubées à 37 °C et à 45°C pendant 48 h à 72 h dans des conditions anaérobies et Les boîtes du milieu M17 ont été incubées à 37 °C et à 45°C pendant 48 h en aérobie.

2.1.2. Identification préliminaire des isolats

2.1.2.1. Examens macroscopiques et microscopiques

L'examen macroscopique a été fait à l'œil nu par l'étude l'aspect des isolats (forme, taille, la couleur, l'aspect du trouble dans le bouillon). L'examen microscopique a été effectué par l'étude les caractéristiques des colonies à l'état frais et après coloration du gram afin de déterminer la mobilité, leur mode de regroupement et le type de Gram.

2.1.2.2. Recherche de la catalase

La recherche de cette enzyme a été mise en évidence en déposant une colonie à étudier sur une lame additionnée d'une goutte d'eau oxygénée (10 volumes), un dégagement de bulle de gaz indique la présence de catalase (**Idoui et al., 2009**).

2.1.2.3. Test d'oxydase

Ce test a été effectué en déposant une colonie à tester sur un disque OX contenant le réactif tetramethyl-p-phenylenediamine dihydrochloride, après 2à 3min l'apparition de la couleur violette indique que le test est positif (**Guiraud Joseph-Pierre, 1998**).

2.1.3. Purification des isolats

Les isolats trouvés comme étant catalase négative, oxydase négative, Gram positif et présentent une morphologie différente « Taille, forme, couleur » ont été sélectionnées et purifiées par des

repiquages successifs sur les bouillons puis par l'ensemencement en strie sur les géloses de mêmes milieux d'isolement avec une incubation à 37°C pendant 24h, jusqu'à l'obtention des colonies pures.

2.1.4 Conservation des isolats

Les isolats ont été conservés à 4°C pendant un mois en ensemençant une culture jeune sur les milieux MRS et M17 inclinés. Ainsi chaque isolat a été conservé à -20 °C en tube Eppendorf en utilisant le bouillon M17 et MRS d'une culture de 18 h additionné de 30% du glycérol (**Samelis et al., 1994**).

2.1.5 Identifications phénotypiques

L'identification phénotypique a été réalisée par l'étude des tests physiologiques et biochimiques selon les méthodes et critères de (**Asteri et al., 2009 ; Mathara et al., 2004 ; Carr et al., 2002 ; Bulut et al., 2005 ; Parente et al., 1997 ; Jm et al., 2004 ; López-Díaz et al., 2000 et Joffin et Leyral, 1996**). Pour tous les tests, un témoin (milieu non ensemençant) a également été utilisé

2.1.5.1. Tests de croissance dans des conditions hostiles.

Pour ces tests, les isolats ont été inoculés sur des bouillons M17 et MRS ajustés à des pH différents (9.6 et 4) et sur les milieux MRS et M17 hypersalés à une concentration 4% et à 6,5% de NaCL. L'aptitude des isolats à croître dans ces conditions a été observée après l'incubation des milieux à 30°C pendant 2 à 5 jours par l'apparition d'un trouble dans chaque milieu, ce qui permet de savoir si les isolats tester sont des *Entérocoques* ou non.

2.1.5.2. Test de croissance à différente Température

La capacité des isolats à se développer à différentes températures a été examinée sur les milieux MRS, M17 liquides pendant 7 jours à 15°C, et à 45 et 37°C pendant 48 h, afin de pouvoir distinguer les isolats thermophiles des isolats mésophiles. Le test de la résistance des isolats à une température élevée a été également réalisé à (63,5°C pendant 30 minutes) pour sélectionner les isolats thermorésistants. La croissance a été évaluée par la présence d'un trouble dans le milieu après l'incubation à 30°C pendant 24h en comparant avec un témoin.

2.1.5.3. Test de culture sur le lait de Sherman

Ce test est destiné uniquement pour les Cocci, les isolats ont été ensemençés sur le lait écrémé

additionné au bleu de méthylène à 0.1% et 0.3%, il permet de distinguer entre les *lactocoques*, les *streptocoques* et les *entérocoques*.

2.1.5.4. Test de la Recherche le type fermenter

Ce test permet de mettre en évidence la production du CO₂ à partir du glucose afin de mieux distinguer entre les bactéries hétérofermentaires de celles homofermentaires. Pour se faire, le milieu MRS additionné d'une cloche de Durham a étéensemencé par une colonie à tester puis incubé pendant 72 h à 37 °C. L'accumulation de gaz dans la cloche a été considérée comme une preuve de la production de CO₂ à partir du glucose et permet d'apprécier le type de métabolisme fermenté.

2.1.5.5. Test de la Recherche de l'arginine dihydrolase (ADH)

La recherche de cette enzyme a été déterminée en cultivant les isolats à tester sur le bouillon MRS et M17 contenant pourpre de bromocresol et 0.3% (p/ v) de l'arginine puis en ajoutant une goutte huile de vaseline stérile. Ainsi ce test a été effectué par l'utilisation de la galerie API 20 E. après 24h d'incubation à 37 °C le virage de la couleur de milieu au jaune puis reviendra violet indique la présence de cette enzyme.

2.1.5.6. Test d'utilisation de citrate

Les isolats ont été testés pour leur métabolisme de citrate en ensemençant chaque culture fraîche de 18h dans le milieu Citrate de Simmons qui contient du citrate comme seule source de carbone, après l'incubation à 37°C pendant 5 à 7 jours la croissance bactérienne et le changement de la couleur du milieu montrent le métabolisme de citrate.

2.1.5.7. Les tests du profil fermenter des sucres.

Quatorze sucres différents ont été utilisés pour réaliser ce test, l'étude de leur profil fermenter a été déterminée en utilisant les plaques de microtitration à 96 puits et les bouillons MRS (sans extrait de viande) et M17 sans sucre contenant (0,04 g/l) du pourpre de bromocresol comme indicateur de pH. Pour chaque sucre les cultures jeunes de 18h ont été centrifugées à 10 000 rpm pendant 10min puis lavées deux fois par l'eau physiologique stérile, ensuite le culot a été récupéré et remis en suspension dans le bouillon MRSBCP et M17BCP. Après 40 µl de la solution de chaque sucre préparé à raison de 10% et stérilisé par membrane de filtration (0.22 µm) a été déposé dans les puits, par la suite, un volume de 160 µl du culot en suspension a été additionné sur les solutions de sucre avec une goutte d'huile de paraffine. Les plaques ont été incubées à 37 °C pendant 48h. Le virage du pourpre au jaune indique la fermentation de sucre. Le milieu sans sucre a été utilisé

comme témoin négatif et la fermentation du glucose a été incluse comme témoin positif.

Ainsi le système API a été appliqué pour ce test, les neuf sucres suivants (Glucose, Mannitol, Inositol, Sorbitol, Rhamnose, Saccharose, Melibiose, Amygdaline et Arabinose) ont été testés pour leur fermentation par l'utilisation des galeries API 20 E, les galeries ont été inoculées par les isolats et incubées à 37°C pendant 24h. La lecture des galeries se fait par l'interprétation du virage de la couleur ou non.

Le système API à savoir la galerie API 50CHL a été utilisé uniquement pour quatre isolats, l'ensemencement de cette galerie a été réalisé en suivant les instructions du fabricant. La lecture a été faite deux fois après 24h puis après 48h en se référant au tableau de la lecture qui montre que le virage de la couleur traduit la fermentation du sucre.

2.6. Identification moléculaire par MALDI-TOF MS

À partir d'une culture jeune de chaque isolat à tester, un volume de 0.1 ml a été étalé sur les géloses MRS et M17 et incubé à 37 °C pendant 24h. Les colonies obtenues ont été prélevées par le bout d'un cure-dent et étalées sur le spot d'une plaque cible MALDI en acier puis chaque colonie a été recouverte d'une goutte de la solution matrice HCCA et laissée sécher, la plaque a été placée dans l'appareil pour l'identification à l'aide du logiciel Biotyper (Bruker Daltonics, version 3.0) après la calibration du spectromètre MALDI-TOF (Bruker Daltonics, Bremen, Allemagne) par le kit contenant un extrait protéique enrichi par *E. coli* DH5 alpha avec deux protéines 'RNase A et myoglobine (**Ferreira et al., 2011**). Chaque expérience a été répétée 02 fois.

La lecture a été faite en comparant les pics des spectres de masse générés avec les spectres de référence existants dans la version de la base de données fournie par le fabricant (BioTyper DB-5989 MALDI-TOF MS reference profiles). Après comparaison entre les spectres, le degré de similarité est évalué selon le log (score) de chaque colonie testée, les résultats des valeurs du log score donnent un code couleur associée à trois couleurs. Un log score supérieur à 2 donne une couleur verte qui indique une bonne fiabilité et une forte probabilité d'identification, un log score inférieur à 2 donne une couleur jaune qui indique une identification probable du genre et la couleur rouge apparaît lorsque le log score est inférieur à 1,6, ce qui explique que l'identification n'est pas fiable (**Nacef et al., 2017**). Ensuite, le dendrogramme des isolats testés a été réalisé par la méthode standard Biotyper MSP.

2.7. Études des potentiels technologiques des souches

2.7.1 Cinétique de croissance des souches

L'étude de la cinétique de croissance consiste à déterminer le temps de la phase exponentielle des souches isolées par mesure de leur densité optique (DO) au cours du temps à l'aide d'un spectrophotomètre. À cet effet les souches ont été cultivées dans 10ml du bouillon MRS et M17 à 37 °C, après 18h avant de tester leur croissance la densité optique de chaque souche a été ajustée à 0.1 par inoculation de chaque culture dans des flacons contenant chacun 100ml du bouillon MRS et M17 .Puis les flacons ont été incubés à 37°C et la densité optique a été mesurée à une longueur d'onde 600nm , à intervalle de 60min pendant 24h, le spectrophotomètre a été calibré à 0% d'absorbance par les bouillons MRS et M17 vierges. Ensuite la courbe de croissance a été construite à partir de calcul la valeur moyenne de la DO de trois répétitions pour chaque espèce (**Ribeiro et al., 2021**). En parallèle la méthode de dénombrement sur gélose a été employée.

2.7.2 Potentiel acidifiant et coagulant

Le potentiel coagulant et acidifiant a été déterminé dans le lait écrémé préparé à 10%. Les souches ont été cultivées dans 7ml de bouillon MRS et M17 et incubées à 37°C, après 18h ont été centrifugées à 5000 trs pendant 5min, lavées et re-suspendues avec l'eau peptone puis chaque souche a été inoculée dans deux tubes contenant 10ml du lait écrémé et incubé à 37°C jusqu'à la coagulation du lait. Après l'incubation chaque tube a été homogénéisé et transféré dans un flacon contenant 100ml du lait écrémé, ensuite les flacons ont été incubés à 37°C pendant 24 h à 48h. Pour chaque souche deux flacons ont étéensemencés dont un à utiliser pour déterminer le potentiel coagulant et l'autre pour suivre la cinétique d'acidification par la mesure de pH et dosage de l'acidité titrable, à un intervalle du temps 2h, 4h,6h,8h et 24 h. (**Franciosi et al., 2009**).

Le potentiel coagulant a été réalisé en mesurant la synérèse, en prenant compte du temps de la coagulation et l'aspect de coagulum obtenu. La synérèse a été mesurée en collectant à l'aide d'une seringue le lactosérum à la surface du coagulum puis la synérèse collectée a été exprimée en pourcentage (V/V) du lait fermenté. (Deux répétitions ont été effectuées pour chaque souche) (**Lucey et al., 1998**).

2.7.3. Potentiel épaississant et texturant

La capacité de nos souches lactiques à produire des EPS a été déterminée par l'étude de potentiel texturant et épaississant afin d'évaluer leur propriété rhéologique et leur utilisation, donc l'étude

des deux potentiels texturant et épaississant a été faite en exposant les souches à tester à un milieu hypersaccharosé. Pour le potentiel texturant, un volume de 100 µl de chaque culture jeune a été ensemencé en strie sur gélose MSE ainsi sur la gélose MRS contenant différentes sources de carbone comme saccharose, fructose, mannose et lactose à raison de 5%. Après 48 h à 37 et 45°C, la production des EPS au niveau de colonie a été vérifiée par l'apparition des colonies larges et gluantes. Le potentiel épaississant a été détecté par l'inoculation de 5% d'une culture jeune de 18h sur le lait écrémé stérile additionné à 12% de saccharose, la fermentation du lait et l'apparition de l'aspect collant on les a comparés avec le témoin négatif (lait sans saccharose) après l'incubation à 30°C pendant 24h (**Kim et al., 2008**).

2.7.4. Potentiel protéolytique

Le potentiel protéolytique a été recherché par l'ensemencement en touche de 10 µl d'une culture d'une nuit de chaque souche à tester sur géloses PCA, YMA et MRS additionnées de 10% du lait écrémé stérile. Les zones transparentes ou opaques entourant les points inoculés ont été mesurées après l'incubation à 37°C pendant 24 à 48h (**Karakas-Sen et Karakas, 2018**). Le potentiel à la protéolyse des caséines du lait a été confirmé sur milieu liquide selon la méthode de **Badis et al. (2004)** un volume 100 µl d'une culture jeune des souches qui ont été déjà testées sur la gélose a été ensemencé sur MRS liquide sans peptone additionnée de 10% de caséine du lait. Après 24h d'incubation, l'hydrolyse de la caséine a été révélée par l'apparition d'un coagulum dans le milieu.

2.7.5. Potentiel lipolytique

Le potentiel lipolytique a été déterminé selon la méthode de (**Ateşlier et Metin, 2006**), la gélose MRS a été supplémentée par 0.1g/l de CaCl₂ et 1% de tween 80 stériles puis 10 µl de la suspension des cultures de 18h a été déposé sur les disques de papier wattman et ensemencé ainsi directement sur la gélose en spot. L'incubation a été faite à 37°C pendant 48 à 72h. La lipolyse a été détectée par la mesure des diamètres des zones apparues autour des spots et des disques entourés d'un dépôt.

2.7.6. Potentiel autolytique

Ce potentiel a été étudié selon les techniques décrites par **Piraino et al. (2008)** et **El-Din et al. (2002)** avec petites modifications. Les souches à tester ont été centrifugées à 12000 tr/5min, le culot a été récupéré et lavé par tampon PBS (pH7.2) puis remis en suspension dans le tampon PBS et ajusté à une DO de 1 à 650nm. Ensuite la suspension de chaque souche a été soumise à un processus d'autolyse : congélation à -20°C pendant 24h puis décongélation, après décongélation les suspensions ont été incubées à 37°C pendant 24h.

Le taux d'autolyse a été déterminé par le calcul du pourcentage de la diminution de la DO à 650nm

après les 24h de l'incubation en appliquant la formule suivante :

$$\text{Taux d'autolyse} = (\text{DO}_i - \text{DO}_t / \text{DO}_i) \times 100$$

DO_i: DO initial (au début de l'incubation après décongélation).

DO_t : DO après t jours (après 24h d'incubation).

Chaque densité optique a été mesurée en triple pour chaque souche.

2.7.7. Potentiel aromatisant

Le potentiel aromatisant a été mis en évidence sur le lait écrémé (10%) et sur le milieu Clark et Lubs. Les souches ont été cultivées pendant 18 et centrifugées à 4000 tr pendant 15min, le surnageant a été éliminé et le culot a été lavé et resuspendu dans l'eau peptone puis 100 µl a été prélevé à partir de chaque suspension et inoculé dans chaque milieu. Après l'incubation à 30°C pendant 24h, 3 à 5 gouttes des deux réactifs VPI (α- naphthol) et VPII (KOH) ont été ajoutées dans chaque milieu. La formation d'un anneau rouge à la surface de milieu après un temps de 10min indique que les souches ont la capacité à produire des composés aromatiques (**Jaouani et al., 2015**). Certaines souches ont été testées pour leur potentiel aromatisant par le test VP trouvé dans la galerie API 20E.

2.7.8. Potentiel antimicrobien

Le potentiel antimicrobien des souches contre *Staphylococcus aureus* (ATCC 259223), *Bacillus cereus* (ATCC 10876), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 700603), *Candida albicans* (ATCC 10231), *Proteus mirabilis* (ATCC 35659) a été déterminé par la technique des disques et de diffusion en puits. Les germes pathogènes ont été cultivés dans le bouillon nutritif pendant 18h à 37°C, après l'incubation chaque souche a été ajustée à une DO de 0.08 à 0.1 à 620 nm et ensemencée sur gélose MH puis laissées 1h à une température ambiante. Ensuite des puits ont été réalisés et chaque puits a été rempli par 100µl d'une culture jeune des souches lactiques, avant l'incubation à 37°C pendant 24h, les boîtes ont été conservées à 4 °C pendant 1h. le potentiel antimicrobien a été évalué par la mesure des diamètres des zones qui ont été apparues autour des puits et des disques. (**Nami et al., 2019**).

2.8. Identification génotypique

L'identification génétique a été faite au niveau du laboratoire Gene Life Sciences à l'université Sidi Bel Abbes par les techniques suivantes : L'extraction de l'ADN, l'amplification par PCR,

L'électrophorèse sur gel d'agarose et le séquençage de l'ARN16S.

-L'extraction de l'ADN génomique bactérien a été réalisée par le kit d'extraction d'acide nucléique **GF-1** (“**Vivantis Technologies Sdn Bhd, Selangor DE, Malaisie**”) conformément aux instructions du fabricant. L'ADN extrait a été conservé à 4°C jusqu'à ce qu'il soit nécessaire pour la PCR.

L'AND ribosomal (ADNr) a été amplifié à l'aide d'amorces du gène de l'ARNr 16S (**27F**: 5' - AGA GTT TGA TCC TGG CTC AG - 3') et (**1492R**: 5'- CCG TCA ATT CCT TTG AGT TT- 3'). (**Coulibaly et al., 2022**).

La PCR a été effectuée dans un mélange réactionnel contenant un tampon PCR 1X (**Solis Bidyne, Estonie**), 1,5 mM de chlorure de magnésium (**Solis Bidyne, Estonie**), 0,2 mM de chaque dNTP (**Solis Bidyne, Estonie**), 2 U de Taq ADN Polymérase (**Solis Bidyne, Estonie**). L'amplification PCR a été effectuée sur un thermocycleur (icycler Bio-Rad, USA) dans des petits tubes eppendorfs contenant le mélange de réactions PCR de 25 µl de master mix (Taq DNA Polymerase), 3 µl de matrice d'ADN, 5 µl de chaque amorce et complété à 50 µl de volume réactionnel avec de l'H₂O moléculaire. Les étapes suivantes ont été réalisées :

Dénaturation initiale à 94°C pendant 2 minutes) puis dénaturation à 94°C (1 minute). La procédure de recuit a été réalisée pendant 1 min à une température de 55°C et extension à 72°C (1 minute).

L'amplification a été répétée en 30 cycles suivis d'une extension finale à 72°C (7 minutes). Après l'amplification, l'électrophorèse sur gel d'agarose à 1.5% (**Sigma-Aldrich, USA**) a été appliquée pour séparer les produits de PCR, une échelle d'ADN de cent paires de bases (100 pb) (**Solis Bidyne, Estonie**) a été utilisée comme marqueur de poids moléculaire de l'ADN et l'électrophorèse a été effectuée à 80 V pendant 1 h 30 min. Et le gel formé a été visualisé sous lumière UV après coloration avec **Midori Green Advance** (**Nippon Genetics, Japon**) et inspecté avec un transilluminateur UV.

Les produits PCR ont été électrophorés, purifiés par le kit (**Clean-Up kit, Vivantis**) et envoyé à une agence de séquençage (**Apical scientific Sdn. Bhd. Malaisie**). Les produits PCR ont été séquencés dans le sens direct et inverse dans des réactions séparées et en double exemplaire. Chaque réaction contient 40 µg d'ADN matrice, 2 µl de l'amorce PCR appropriée, 10 µl d'eau et 2 µl de mélange réactionnel **BigDye Terminator v3.1 Ready**. Chaque réaction a été chauffée à 96 °C pendant 1 min, suivie de 25 cycles à 96 °C pendant 10 secondes, puis 50 °C pendant 5 secondes et

60 °C pendant 4 ses. Ensuite les produits de séquençage ont été purifiés à l'aide d'une méthode de précipitation à l'éthanol pour éliminer les réactifs non incorporés et garantir une charge neutre. En bref, les produits de séquençage ont été lavés dans 80 µl d'un mélange de précipitation à l'éthanol

(3 µl de NaAc, 62,5 µl d'éthanol à 95 % et 14,5 µl d'eau) et l'ADN a été éliminé par centrifugation (13 000, 15 min). Le culot a été de nouveau lavé dans 200 µl d'éthanol à 75 % et centrifugé (13 000,5 min). L'ADN granulé a été séché à l'air et réhydraté dans 15 µl de formamide, puis chargé sur un 3130 Genetic Analyzer Capillary Array pour la détection. Ensuite deux séquences avant et deux séquences arrière pour chaque échantillon ont été alignées à l'aide de Bionumerics v3.5 (Applied Maths) pour obtenir une séquence composite. La qualité de chaque trace de séquence a été évaluée visuellement et les séquences de mauvaise qualité ont été éditées et supprimées.

Les organismes ont été identifiés pour chaque essai en comparant les séquences obtenues à une bibliothèque de bases de données de séquences connues du gène de l'ARNr 16S dans GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/Blast.cgi>) par alignement de séquences multiples. La source bactérienne de la séquence a été identifiée en la faisant correspondre à une séquence présentant le score d'identité maximal le plus élevé de la base de données GenBank. Lorsque plus d'une espèce bactérienne présente le même score le plus élevé, toutes les espèces ont été enregistrées dans les résultats. Les séquences sélectionnées ont été alignées en utilisant ClustalX2, et le logiciel MEGA 6 a été utilisé pour construire un arbre phylogénétique.

2.9. Étude de l'activité probiotique des souches pures

La capacité des souches isolées à la tolérance de l'acidité et aux sels biliaires a été détectée selon la méthode décrite par **Hyronimus et al. (2000)** et **Guo et al. (2009)**.

2.9.1. Tolérance à l'acidité

Les souches ont été cultivées dans le bouillon MRS pendant 18h puis centrifugées à 15000 pendant 5min et lavées avec PBS (pH7.4) ensuite le culot a été récolté et remis en suspension dans MRS ajusté à pH2 et à pH3 par acide acétique et incubé pendant 3h à 37°C. L'évaluation de la tolérance et la survie à l'acidité ont été effectuées par la mesure de la DO et le dénombrement par comptage des colonies sur la gélose à 0h et après 3h.

Le dénombrement a été déterminé selon la méthode citée par **Joseph-Pierre Guiraud, (2003)**, la dilution a été réalisée sur le bouillon MRS par le transfert 50 µl de l'inoculum dans 450 µl du MRS liquides puis à partir des trois premières dilutions un volume de 10 µl a été prélevé et déposé en spot sur la gélose MRS. Après 24h d'incubation les boîtes contenant 30 à 300 colonies ont été retenues pour calculer le nombre des colonies le taux de survie. Le nombre de colonies a été exprimé en log UFC/ml.

Le nombre des colonies et le taux de survie ont été calculés en appliquant les formules suivantes :

$$\text{UFC(N)} = (\Sigma \text{ des colonies} \cdot 1000 \mu\text{l} / 30 \mu\text{l}) \times 1/d$$

$$\text{Taux de survie (\%)} = \log \text{ UFC à T3h} / \log \text{ UFC à T0h} \times 100$$

2.9.2. Tolérance aux sels biliaires

Uniquement les souches qui tolèrent le pH acide ont été testées pour leur tolérance aux sels biliaires.

La capacité de survie des souches dans la présence des sels biliaires a été déterminée par les mêmes étapes décrites précédemment dans la partie 2.9.1 sauf que les culots ont été suspendus dans le bouillon MRS ajusté à 0.3%, 0.5% et 1% de sels biliaires.

2.9.3. Test d'hydrophobicité

Pour ce test la technique de **Feng et al. (2017)** a été appliquée avec des petites modifications, le culot d'une culture de 18h a été récolté et lavé deux fois par PBS (pH7.4) puis resuspendu dans PBS et ajusté à une DO de 1 à 540 nm. Chaque 3ml de la suspension a été inoculé par 0.6 à 1 ml de xylène et mélangé par vortex pendant 2s puis incubé à 37°C pendant 10 à 30 min. Après l'incubation, la phase aqueuse a été collectée pour mesurer la DO et l'hydrophobicité a été calculée par l'équation suivante :

$$\text{Hydrophobicité}\% = \frac{\text{DO}_{\text{initiale}} - \text{DO}_{\text{finale}}}{\text{DO}_{\text{initiale}}} \times 100.$$

2.9.4 Test de résistance au phénol

Les souches ont été cultivées dans le bouillon MRS pendant 18h. après 18h, un volume de 200 µl a été inoculé dans le bouillon MRS supplémenté par 0.4% de phénol, l'incubation a été faite pendant 24h à 37°C. (**Sirichokchatchawan et al., 2018**). La survie des souches dans la présence de phénol a été déterminée par la mesure de la DO et calculé le taux de survie après 24 h par la formule suivante :

$$\text{Taux de survie (\%)} = \frac{\log \text{UFC à T24h}}{\log \text{UFC à T0h}} \times 100$$

2.9.5. Test de sensibilité aux antibiotiques

Pour tester la sensibilité des souches aux antibiotiques la méthode de diffusion des disques d'antibiotiques a été utilisée, à partir de chaque culture d'une nuit ajustée à une DO convenable à chaque espèce. Un volume de 100 µl a été étalé à l'aide d'un écouvillon sur la gélose MRS puis les disques suivants : Amoxicilline, cefoxidim, Ampicilline, Érythromycine, Ceftazidime, vancomycin, gentamicine, Pipéracilline, Levofloxacin, Nitroxoline, Tétracycline, Amoxicilline + Acide clavulanique ont été déposés à la surface de la gélose (chaque boîte reçoit 6 disques). Les boîtes ont été conservées à 4°C pendant 30 min ensuite incubées à 37°C pendant 24 à 48h. la sensibilité a été révélée par la mesure des diamètres des zones d'inhibition entourées chaque antibiotique. Les résultats ont été exprimés comme sensible (S \geq 21 mm), intermédiaire (I entre 16-

20 mm), et résistance ($R \leq 15$ mm) (Mulaw et al., 2019).

2.10. Essai de Préparation d'un lait fermenté par l'application des souches isolées

Pour déterminer la performance de nos souches, un stage de 2 mois a été effectué au niveau de l'usine SIDI-SAADA pour réaliser un essai de préparation d'un lait fermenté « yaourt étuvé » à base de nos propres souches qui ont été identifiées génétiquement. À cet effet, nous avons sélectionné les souches qui ont un bon potentiel technologique.

2.10.1 Choix des ferments

Le choix des levains a été fait selon les résultats des potentiels technologiques et par l'étude des interactions des souches entre elles pour sélectionner les souches qui n'expriment aucune inhibition entre elles afin de pouvoir les utiliser sans aucun risque.

2.10.1.1. Études des interactions entre les souches isolées

Les souches qui ont été identifiées par MALDI-TOF MS et par séquençage de l'ARN 16S et qui présentent un bon potentiel technologique ont été choisies pour réaliser cette activité. L'étude des interactions a été examinée par deux méthodes. La première méthode décrite par Geis et al. (1983), les souches d'une culture jeune de 18h ont étéensemencées en spots sur la gélose MRS et incubés pendant 48h à 37°C pour permettre aux souches de se développer. Après l'incubation, la gélose a été recouverte par 7ml de la gélose semi-dure (0.8% d'agar) inoculée par 0.5ml d'une seule souche parmi les souches à tester puis les boîtes sont réincubées pendant 24h à 48h.

Toutes les souches à tester ont été utilisées comme des souches inhibitrices et indicatrices, les souchesensemencées dans la gélose ont été considérées comme des souches inhibitrices et les souches inoculées sur la gélose semi-dure ont été considérées comme indicatrices. Le type d'interaction entre les souches a été détecté par la présence ou l'absence des zones d'inhibitions autour des spots. Pour la deuxième méthode, une seule souche a étéensemencée par étalement à l'aide d'un écouvillon sur la gélose puis les disques de papier Wattman stérile ont été imbibés par les autres souches indicatrices et déposées à la surface de la gélose.

L'incubation a été faite pendant 48 à 72h à 37°C (Balouiri et al., 2016). L'apparition des zones d'inhibition autour des spots et des disques indiquent qu'il y'a une interaction négative et les souches sont antagonismes, par contre l'interaction négative (stimulation ou symbiose) se traduit par l'absence d'une zone d'inhibition.

2.10.2. Technologie de préparation

La technique de préparation a été faite en utilisant le processus suivant :

2.10.2.1 Préparation des levains

Les levains ont été préparés à base du lait écrémé à 10%. Après pasteurisation du lait par la technique de la tyndallisation (72°C pendant 30min, refroidissement à 50°C puis pasteurisation à 95°C pendant 15secondes) le lait a été refroidi à 42°C puisensemencé par les souches sélectionnées en variant les proportions entre les souches. Ensuite le lait a été incubé à 42°C jusqu'à ce que le pH final du lait atteigne la valeur 4.5 et l'acidité soit comprise entre 65°C et 80°C. Les levains ont été conservés à 4°C jusqu'au moment de l'utilisation.

Au cours de cette préparation, différents levains ont été réalisés en même temps en suivant les mêmes étapes de préparation citées dans le paragraphe au-dessus sauf que la différence était dans le type des espèces incorporées et les proportions de chaque espèce. Nous avons procédé à la préparation des levains à base d'une souche commerciale en association avec nos souches et des levains à base de nos souches seulement sans l'ajout d'une souche commerciale avec les proportions suivantes (60% St / 40% Lb, 60% Lb /40% St, 50% Lb S1= 50% Lb S2 (**Originale**)).

2.10.2.2. Préparation d'un lait fermenté (yaourt étuvé)

La préparation a été faite au niveau de laboratoire de manière industrielle. Le yaourt a été préparé par le mélange des deux types de la poudre de lait (écrémé0% « PPHU LAKTOPOLSP.Z.O. O PL20631602 » et entier26% « Conaprole ») avec l'eau et le sucre, le mélange a été soumis à un traitement thermique puis les levains ont été ajoutés pour la fermentation. La recette (la quantité des ingrédients intervenant dans la préparation) est portée dans le **tableau (7)**. Le schéma de la **figure (11)** explique les principales étapes qui ont été effectuée lors de la préparation.

Tableau 7 : La quantité des ingrédients intervenant dans la préparation.

	Quantité des Ingrédients	
Recette de la préparation	PDL 0% : 88g/l	PDL 26% :58g/l
	Sucre : 80g/l	Levains lactiques 2.75%.
	Eau 775 ml	

Source : Directeur de laboratoire « Recherche et développement », (Sidi Saada), Dr Dahou Amine, Dr Benbouziane Asri et BOUCHIBANE Malika.

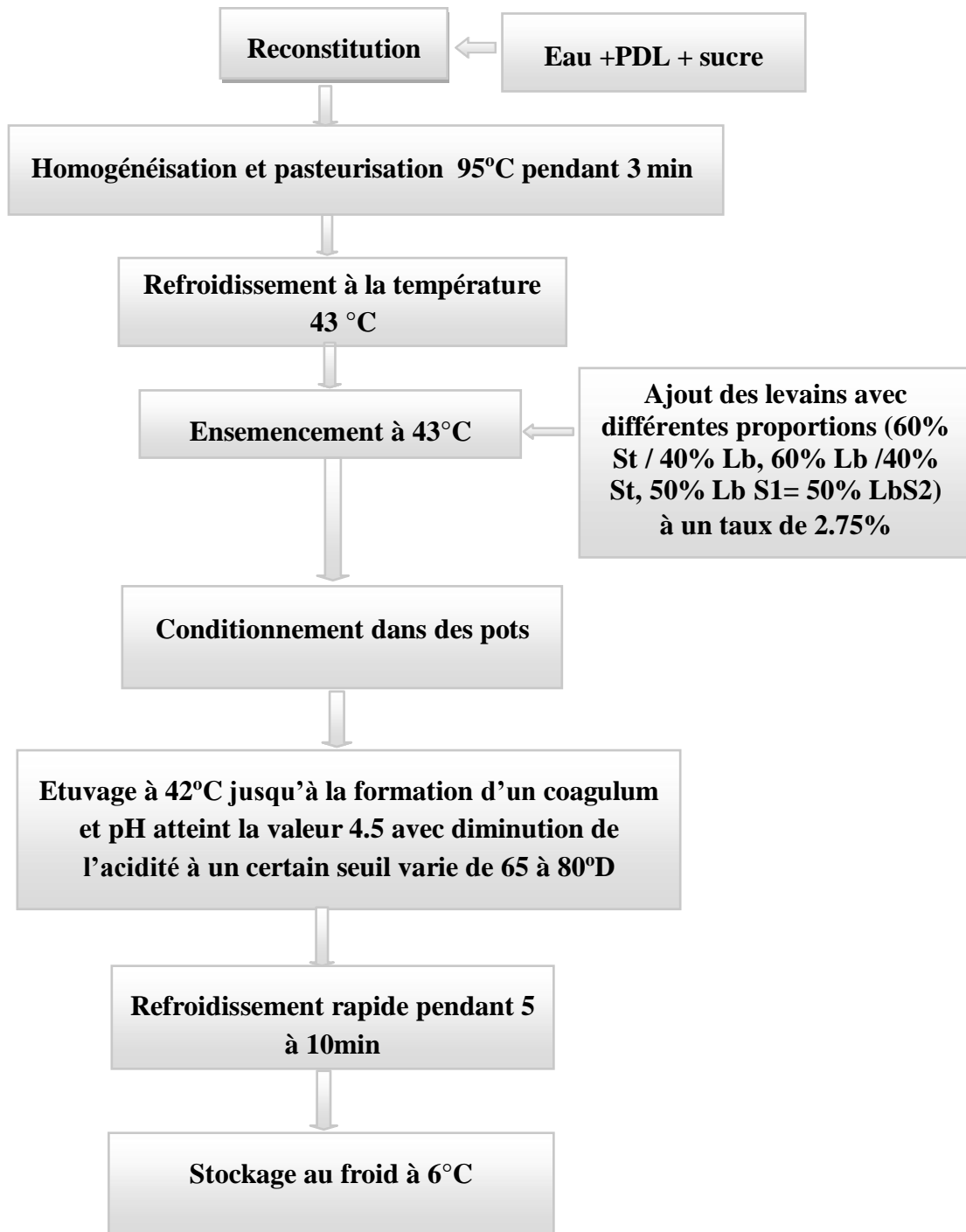


Figure 11 : Les principales étapes de l’essai de la préparation d’un lait fermenté (yaourt étuvé).

(Usine Sidi Saada).

2.10.3 Évaluation de la qualité sensorielle

Évaluation sensorielle a été réalisée afin d'apprécier la performance de nos souches utilisées comme culture starter dans la fermentation et la préparation d'un dérivé laitiers « le yaourt » sur les caractéristiques organoleptiques.

Les caractéristiques organoleptiques (l'arôme, la texture, le goût, la couleur et l'odeur) ont été évaluées par un panel composé de 40 panélistes qui sont des étudiants, des doctorants, des enseignants universitaires et des personnes qu'elles ont l'habitude de déguster le yaourt qui travaillent dans l'usine Sidi- Saada. On 'a demandé au chaque dégustateur de classer le yaourt du plus aimé au moins apprécié en utilisant une échelle de notation de 0 à 5. La fiche de dégustation est présente en **Annexe (02)**. Les échantillons du yaourt à déguster ont été donnés au dégustateur anonymement dans des pots bien fermés et étiquetés (Photo en Annexe) avec de l'eau pour rincer la bouche lors de passage d'un échantillon à l'autre afin d'éliminer le goût de l'échantillon précédent. Un yaourt étuvé industriel « marque trèfle » a été utilisé lors d'un test de dégustation afin de permettre aux panélistes de le comparer au yaourt que nous avons préparé.

2.10.4 Contrôle de qualité physico-chimique

Six paramètres ont été étudiés lors des analyses physico-chimiques (pH, Acidité, MG, EST, ESD et la viscosité), ces paramètres ont été déterminés à J1, J7 et J21 en suivant les protocoles de l'usine selon les normes **NA 679, NA1130 (ISO 5534), (2014) ;NA15019, ISO 11870, (2009) ; NA 678, AFNOR V04-206, (1969)**.

2.10.4.1. Mesure du pH et de l'acidité

Le pH a été mesuré à l'aide d'un pH mètre(OHAUS B5 19898958) en mettant l'électrode directement dans notre échantillon à analyser, les résultats finals du pH a été déterminé par le calcule la moyenne des valeurs qui ont été trouvées sur le pH mètre après trois répétitions.

L'acidité a été déterminée après titrage de 10ml du yaourt par une solution alcaline (NaOH 1/9) en présence de 3 à 5 gouttes de l'indicateur de la couleur (la phénophtaléine) jusqu'à l'apparition de la couleur rose pâle. Le volume de la soude consommée a été exprimé en ° D.

2.10.4.2. Mesure de la matière grasse

Pour la mise en évidence de cette manipulation, un volume de 10ml de l'acide sulfurique a été introduit dans un butyromètre puis 11 ml de chaque échantillon à analyser a été ajouté. Ensuite 1ml de l'alcool iso amylique a été versé à la surface, après une bonne agitation avec précaution les

butyromètres ont été placées dans une centrifugeuse réglée à 1500 tr pendant 15min. Après centrifugation la lecture a été faite directement et rapidement sur le butyromètre. Les résultats ont été exprimés en pourcentage massique.

2.10.4.3. Détermination de l'extrait sec

Cette manipulation a été déterminé par la méthode de la thermobalance, dans une coupelle en aluminium 2 g du yaourt a été pesé et étalé à la surface puis la coupelle a été placé dans l'appareil. La lecture a été faite sur l'écran de l'appareil après 20min.

2.10.4.4. Mesure de la viscosité

La viscosité a été mesurée à l'aide d'un viscosimètre à chute de bille modèle HAAKE FALLING BAL VISCOSIMETRE Type C (German DIN 53015) (**Figure 12**), la technique consiste à remplir notre produit à analyser dans le tube en verre puis introduire la bille pour calculer à l'aide d'un chronomètre le temps que met la bille pour parcourir une distance de 10 cm dans le tube qui contient le produit. Puis la viscosité dynamique a été déduite en appliquant le principe de la dynamique par les formules suivantes :

$$\mu = K. (\xi_{\text{bille}} - \xi_{\text{yaourt}}). t$$

$$K = \frac{2r^2g}{9.x}$$

μ : Viscosité dynamique (Kg, m⁻¹, s⁻¹)

K : Constante, K=6.59 10⁻⁴

r : rayon de la bille , r=D/2=5.5mm

x : la distance d'écoulement de la bille, x= 10 cm g : la force , g = 9,81 m/S²

ξ_{bille} : La masse volumique de la bille, ξ_{bille} =1.68 10⁴ Kg.m⁻³

ξ_{yaourt} : La masse volumique de yaourt , ξ_{yaourt} =7 10² Kg.m⁻³

t : temps parcouru entre deux points A et B.

Pour chaque levain, la mesure de la viscosité a été répétée 3 fois.

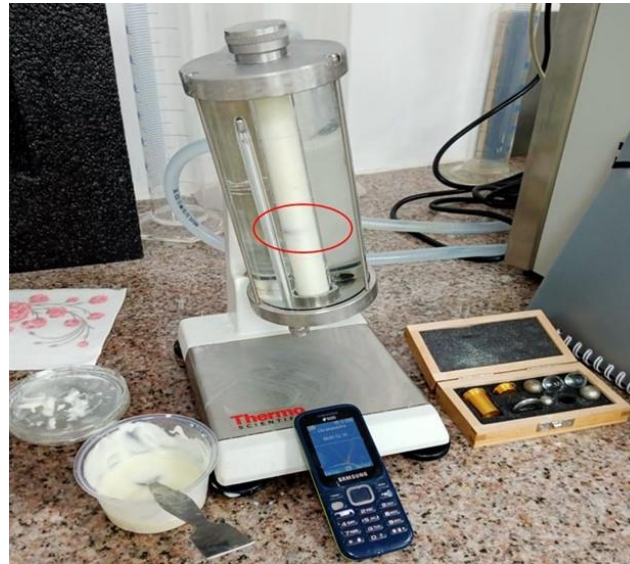


Figure 12 : Mesure de la viscosité.

2.10.5. Contrôle de la qualité microbiologique

La qualité microbiologique vise la recherche et le dénombrement de nos souches lactiques qui ont été incorporés lors de la préparation du yaourt afin de vérifier la viabilité des souches et suivre leur évolution. Ainsi la qualité microbiologique a été déterminée par la recherche et dénombrement de quelques germes responsables de la contamination et de l'altération de la qualité sanitaire et organoleptique du produit. Pour toutes les analyses microbiologiques, une préparation des dilutions décimales a été effectuée par pesage de 25g de chaque échantillon à analyser dans un flacon stérile contenant 225ml de diluant (TSE). Puis à partir de cette suspension qui constitue la dilution mère et correspond à la dilution 10^{-1} , 1ml a été transféré dans 9ml de TSE pour obtenir la dilution 10^{-2} ensuite la même façon a été répétée pour aboutir à la dilution 10^{-7} (NA 15174, ISO 6887-4, 2017).

2.10.5.1. Recherche et dénombrement des souches lactiques

La recherche des souches lactique a été faite par ensemencement en masse 1ml des dilutions (10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7}). Pour chaque dilution deux boîtes ont étéensemencées, une boîte a été coulée par le milieu MRS pour le dénombrement de *Lactobacillus* et l'autre coulée par M17, les deux boîtes ont été incubées à 42°C. Après l'incubation les boîtes contenant entre 10 et 300 colonies ont été retenues pour le dénombrement en appliquant la formule suivante :

$$N = \frac{\sum c}{(n1 + 0,1 n2) d}$$

n1 est le nombre de boîtes comptées à la dilution la plus faible.

n2 est le nombre de boîtes comptées à la dilution la plus élevée.

Σc est la somme des colonies comptées sur les boîtes contenant entre 10 et 300 colonies.

d est la valeur correspondant à la dilution à partir de laquelle les premiers dénombrements ont été retenus. (J. O. R.A,1998).

Avant le dénombrement une confirmation microscopique a été faite par coloration du gram et test de catalase pour assurer l'aspect des souches qui ont été utilisées dans la préparation.

2.10.5.2. Recherche et dénombrement des germes de contamination

Les méthodes de recherche des germes de contamination ont été faites à J+1, J+7 et J+21 en suivant les méthodes de la pratique interne de l'usine NA 5911, ISO 6611, (2004);NF V08-017,(1980);ISO 6888-3, (2003). Pour chaque germe cinq échantillons ont été analysés. Pour tous les germes recherchés, les dilutions (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3}) ont été réalisées etensemencées en masse, ainsi que la même formule citée ci-dessous a été appliquée pour le dénombrement. Les résultats sont exprimés en UFC/g.

$$N = \frac{\Sigma c}{1,1xd}$$

Σc : la somme des colonies comptées sur les boîtes retenues.

d : taux de la dilution correspond à la première dilution retenue.

2.10.5.2.1. Recherche des coliformes totaux et fécaux.

La recherche des coliformes totaux et fécaux a été effectuée sur gélose VRBL, l'incubation des boîtesensemencées a été faite à 44°C pendant 24 à 48h pour les CF et à 37°C pour les CT.

2.10.5.2.2. Recherche des levures et moisissures

Le dénombrement a été fait sur la gélose Sabouraud, par ensemencement en masse de 1ml des dilutions de chaque échantillon suivi d'une incubation à 25°C pendant 5 jours.

2.10.5.2.3. Recherche de *Staphylococcus aureus*

Pour mettre en évidence la présence de ce germe, à partir des dilutions allant de 10^{-3} à 10^{-1} , 1 ml a étéensemencé dans un tube contenant 15 ml du milieu de Giolitti Cantoni additionnés par tellurite de potassium suivi d'une incubation à 37°C pendant 24 à 48h.

Après cette période d'incubation seulement les tubes virés en noire ont étéensemencés en masse et la gélose Chapman a été coulée en boites, puis les boites ont été incubées à 37°C pendant 48h.

2.10.6. Analyse statistique

Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel SPSS (version 26), logiciel R (version 4.3.1) et avec le logiciel graph pad prism8.

Résultats et discussion

1. Résultats de l'identification phénotypique

1.1. Résultats de l'isolement et l'identification préliminaire des isolats

L'échantillonnage de 19 échantillons prélevés à partir de 5 produits laitiers artisanaux collectés de différentes régions nous a permis d'obtenir **280** isolats, dont **141** isolats trouvés dans les produits J'ben « Blida (23 isolats), Naâma (31), Bechar (14), Médéa (15), Oran (10), Khenchela (21) et El -bayadh(18isolats) », **22** isolats à partir du L'ben « Médéa (05 isolats) et Ain defla (17 isolats) », **49** isolats trouvés dans le produit Zebda « Tizi Ouzou (23isolats). Ain defla (05),Khenchela (05) et Médéa (16) », **08** du Raib « Blida » et **60** isolats ont été isolés du Smen « Msila (07 isolats), Médéa (10), Naâma (24), Bechar (10) et Djelfa (09) ». À ce stade les isolats ont été purifiés et présumés des bactéries lactiques selon leur caractéristique et leur critère macroscopique et microscopique, la majorité des isolats testés étaient oxydase négatif, catalase négative et gram positif. L'observation macroscopique sur le milieu solide a révélé des colonies circulaires avec une taille variable d'une colonie à l'autre, de couleurs blanchâtres, grisâtres et transparentes et sur le milieu liquide l'apparition d'un aspect trouble avec la formation d'un précipité au fond tube. (**Figures 13 et 14**). L'observation microscopique a montré la présence des cellules immobiles, disposées en chaînette, en diplocoque, en tétrade et en diplobacille sous les formes des bacilles long et court moyennement large, Cocci et coccobacilles. (**Figure 15**).

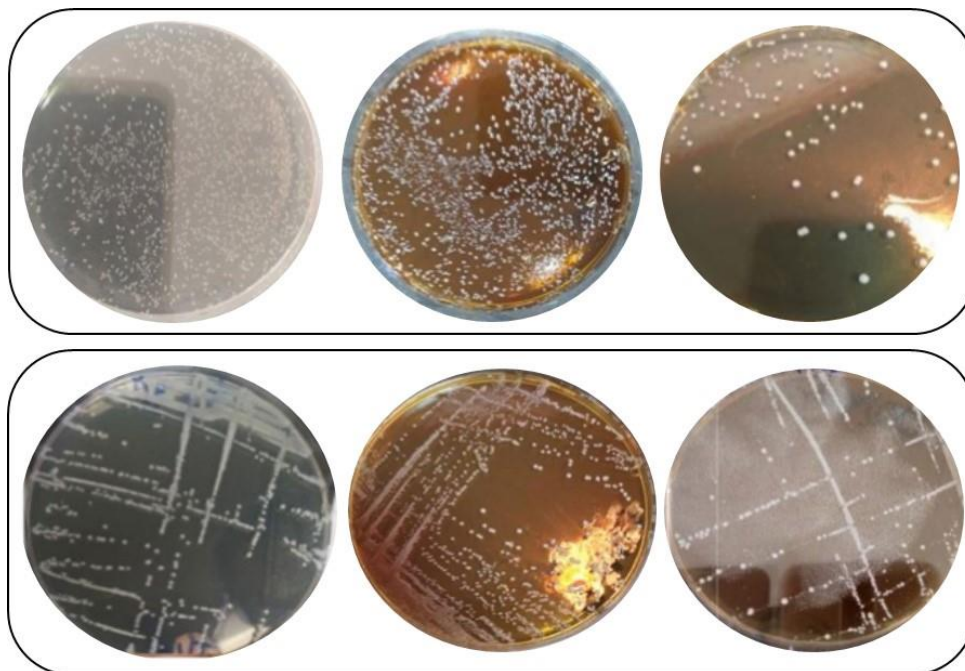


Figure 13 : Aspect macroscopique des isolats sur les milieux solides.

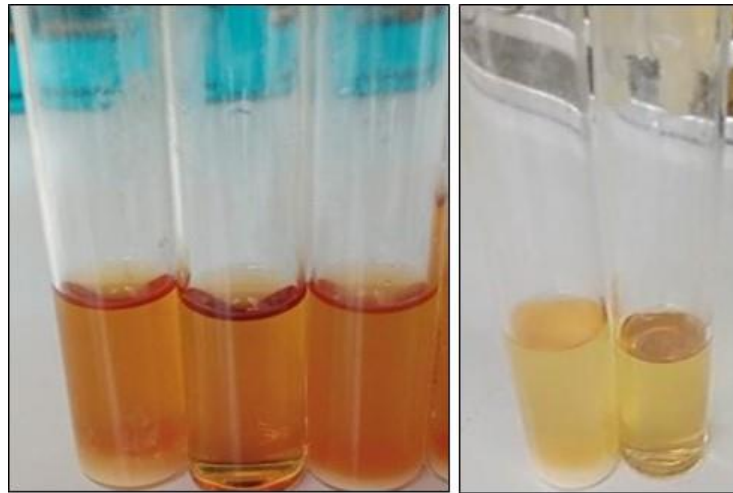


Figure 14 : Aspect macroscopique des isolats sur bouillons MRS et M17.

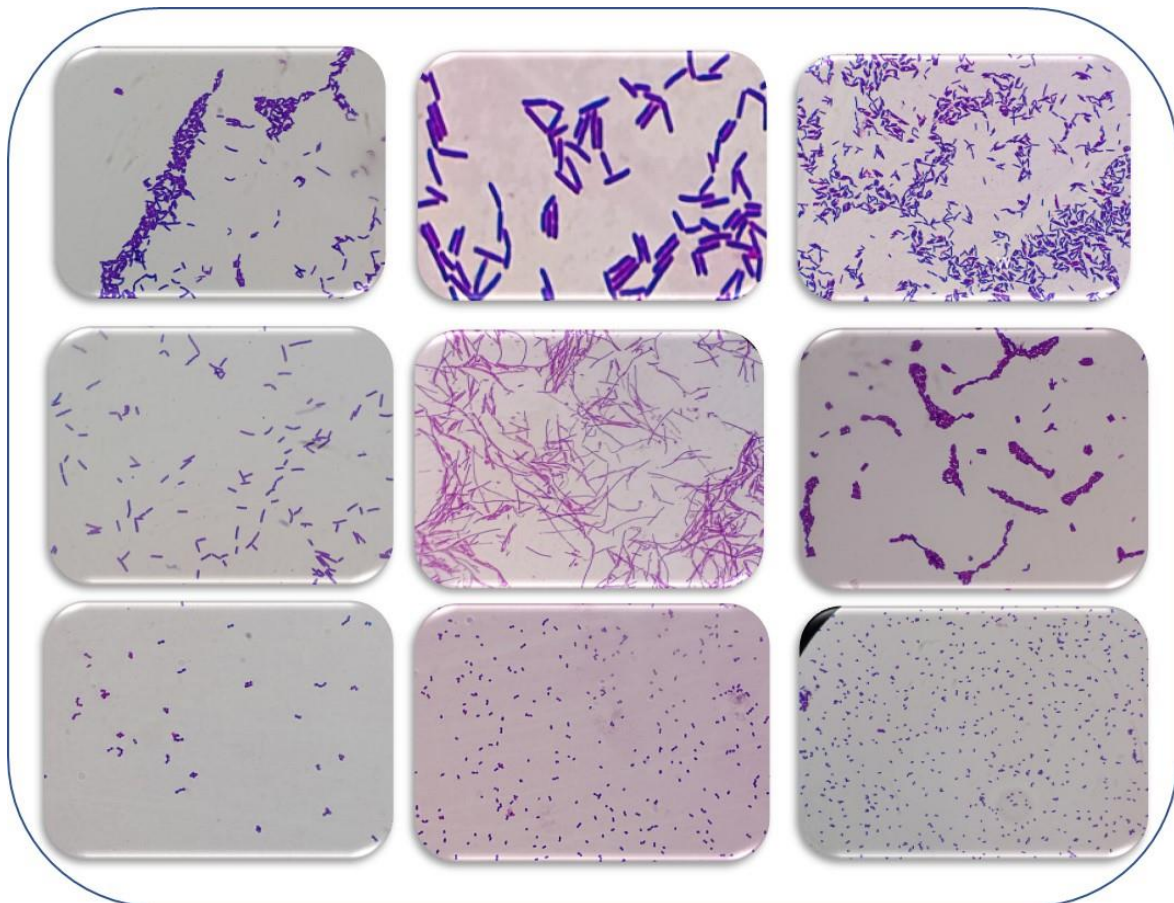


Figure 15 : Aspect microscopique des isolats.

1. 2. Résultats des tests physiologiques et biochimiques

Les résultats de la caractérisation phénotypique ont permis de différencier entre les isolats mésophiles et thermophiles, homofermentaires et hétérofermentaires et de sélectionner les souches qui ont la capacité à fermenter différents sucres, cette caractérisation des isolats nous a permis d'établir une pré-identification des isolats au niveau du genre. Les résultats trouvés sont illustrés dans les **tableaux (8 et 9)** et **la Figure 16**. D'après la comparaison de nos résultats avec **Hammes et Hertel, (2006); Hammes et Hertel, (2015); Lahtinen et al., (2012)** les isolats sont apparentés aux trois genres suivants : *Lactococcus*, *Enterococcus* et *Lactobacillus*.

Parmi les coques lactiques, 63 isolats ont été identifiés. 10 isolats sont présumés du genre *Lactococcus* présentent un caractère homofermentaire, ADH positif, esculine positive, se développent à 0,1% et 0,3% de bleu de méthylène, à 15°C et 37°C, à pH 4 et à 4% de NaCl, mais pas à 45 °C, à pH 9,6 et à 6,5% de NaCl, ils ne fermentent pas l'Inositol, le Sorbitol, le Rhamnose, le Melibiose, l'Amygdaline, le Xylose et Arabinose. Pour le reste des coques, 53 isolats sont attachés au genre *Enterococcus* et sont similaires dans tous les tests sauf dans le test du profile fermenter du sucre où il y a une petite différence, possèdent le caractère homofermentaire, ont la capacité de poussés à 15°C, 37°C et 45°C, à pH 4 et 9,6 et avec 4% et 6,5% de NaCl, à 0,1% de bleu de méthylène, pas à 0,3%, esculine positive, ADH positive, toutes les souches sont thermorésistantes. Parmi ces 53 isolats seulement 20 isolats qui ont été testés pour la fermentation du sucre, d'après les résultats obtenus 09 isolats ne fermentent pas l'Inositol, le Rhamnose, le Saccharose, le Melibiose, l'Amygdaline, Arabinose, le Xylose et le Ribose et 11 isolats ne fermentent pas Sorbitol, mais fermentent l'Arabinose.

Parmi la collection des autres isolats, 87 isolats ont été orientés vers le genre *Lactobacillus*. Ces isolats présentent une certaine différence dans quelques tests. Certains isolats sont des *Lactobacillus* hétérofermentaires, esculine positive, ADH positive, ont l'aptitude à poussés à 15°C et 37°C, à pH 4 et avec 4% et 6.5% NaCl, mais pas à 45°C, à pH 9.6, et n'ont pas fermenté le Mannitol, le Sorbitol, le Melibiose, l'Arabinose, le Xylose et le Ribose. Et par contre on 'a trouvé des isolats qui sont des *Lactobacillus* homofermentaires, ADH négative, se développent à 15°C, 37°C et 45°C, à pH 4 et à 4% de NaCl, mais pas à pH 9.6 et à 6.5% de NaCl, n'ont pas fermenté Sorbitol et Rhamnose.

Tableau 8 : Caractérisation des tests physiologiques et biochimiques des isolats.

	Groupe 1	Groupe 2		Groupe 3		
Nombre d'isolats identifiés	10	53		87		
Source	J'ben	Smen, J'ben, Zebda		L'ben, Raib, Smen, Zebda, J'ben		
Forme	Cocci			Bâtonnet		
Production de CO2	-	-		+	-	-
Hydrolyse de:						
ADH	+	+	+	-	+	+
Esculine	+	+	+	+	+	+
Citrate	+	-	+	+	+	+
Croissance dans le pH:						
4	+	+	+	+	+	+
9.6	-	+	+	-	-	-
Croissance dans différentes températures:						
37 °C	+	+	+	+	+	+
15 °C	+	+	+	-	+	-
45 °C	-	+	+	+	-	+
Croissance dans différentes concentrations of NaCL :						
4%	+	+	+	+	+	+
6.5%	-	+	+	-	+	-
Test du lait de Sherman :						
0.1%	+	+	+	ND		
0.3%	+	-	-			
Test thermorésistance	-	+		+	-	+
Identification	<i>Lactococcus</i>	<i>Enterococcus</i>		<i>Lactobacillus</i>		

Tableau 9 : Résultats du profil fermenter des sucres (microplaques et API20E).

	Groupe1	Groupe 2		Groupe 3		
Nombre des isolats identifiés	10	9	11	15	10	15
Les sucres testés:						
Glucose	+	+	+	+	+	+
Mannitol	+	+	+	+	-	+
Inositol	-	-	-	+	+	+
Sorbitol	-	+	-	-	-	+
Rhamnose	-	-	-	-	+	+
Saccharose	+	-	-	+	+	+
Melibiose	-	-	-	+	-	+
Amygdaline	-	-	-	+	+	+
Arabinose	-	-	+	+	-	-
Fructose	+	+	+	+	+	+
Lactose	+	+	+	+	+	+
Xylose	-	-	-	-	-	-
Maltose	+	+	+	+	+	+
Ribose	±	-	-	+	-	+

Seulement quatre isolats qui appartiennent au genre *Lactobacilles* ont été identifiés sur la galerie API 50CHL, les résultats ont permis de classer les 4 isolats à la même espèce qui est « *Lactobacillus plantarum* ». **Le tableau 10 et la Figure 16** montrent les résultats du profil fermenter par la galerie API 50CH.

Tableau 10 : Résultats du profil fermenter des sucres (galerie API 50CHL)

Les sucres	Les souches identifiées		
	JAS17, LMS1, ZMS1, SVS9		
Glycérol	-	Salicine	+
Erythritol	-	D-Cellobiose	+
D-Arabinose	-	D-Maltose	+
L-Arabinose	+	D-Lactose	+
D-Ribose	+	D-Melibiose	+
D-Xylose	-	D-Saccharose	+
L-Xylose	-	D-Trehalose	+
D-Adonitol	-	Inuline	-
MDX	-	D-Mélézitose	+
D-Galactose	+	D- Raffinose	+
D-Glucose	+	Amidon	-
D-Fructose	+	Glycogène	-
D-Mannose	+	Xylitol	-
L-Sorbose	-	Gentiobiose	+
L-Rhamnose	-	D-Turanose	+
Dulcitol	-	D-Lyxose	-
Inositol	-	D-Tagatose	+
D-Mannitol	+	D-Fucose	-
D-Sorbitol	+	L-Fucose	-
MDM	-	D-Arabitol	-
MDG	-	L-Arabitol	-
NAG	+	GN T	+
Amygdaline	+	2K G	-
Arbutine	+	5G	-
ESC	+		
Espèce identifiée	<i>Lactobacillus plantarum</i>		

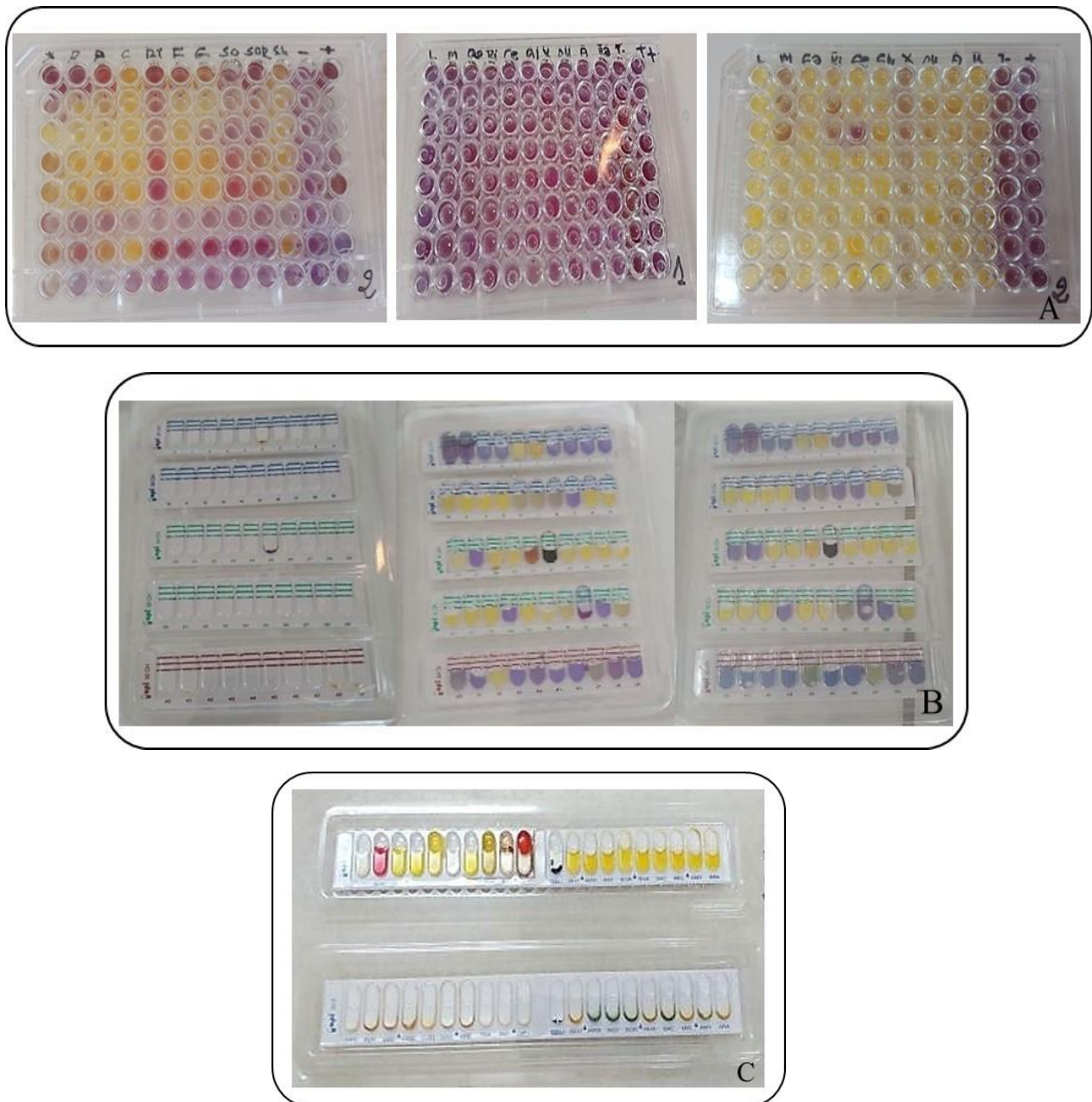


Figure 16 : Photos sur le profile fermenter des sucres. A : Microplaques. B : Galeries API 50CHL.

C : Galerie API 20E

2. Résultats de l'identification protéomique par MALDI-TOF MS

L'identification de nos isolats par la technique MALDI-TOF MS nous a confirmé leur appartenance aux bactéries lactiques. L'identification de 116 souches isolées à partir des cinq produits artisanaux « J'ben, L'ben, Zebda, Raib et Smen » a montré la présence de 07 espèces suivantes : *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus paracasei* ssp *paracasei*, *Lactobacillus paraplantarum*, *Lactococcus lactis* ssp *lactis*, *Enterococcus faecalis* et *Enterococcus faecium*.

Toutes les souches qui ont été identifiées ont généré des spectres de masse MALDI-TOF MS avec des pics variant d'une espèce à une autre, la majorité des pics ont été obtenus dans la fourchette 2000 à 11000 m/z. **Les figures 17 et 18** représentent les spectres des espèces identifiées, pour chacune d'entre elles nous avons choisi un exemple de spectre de profil brut (F1, G1, H1, I1) dans la figure 17 et (F1, G1, H1) dans la figure 18, les profils des souches qui ont été comparés à ceux des souches de référence dans la base de données MALDI-TOF MS Biotyper sont représentés comme (F2, G2, H2, I2) et (F2, G2, H2) dans les mêmes figures sous forme de spectres bâtons. Les bâtonnets de la partie supérieure colorés en vert, jaune et rouge montrent la correspondance des profils des souches testées et les bâtonnets de la partie inférieure colorés en bleu font référence aux profils des souches de références.

Après la comparaison entre les spectres de nos souches identifiées et les spectres des souches de référence, le degré de similitude est évalué par le calcul la valeur de $\log(\text{score})$ de chaque souche testée afin d'aboutir à une identification finale, puis à la fin de l'identification une liste de proposition des espèces de références a été produite avec un code couleur. Les listes d'identification proposées par le logiciel Biotyper de Bruker 03 sont représentés en **Annexe 3**. Les résultats ont révélé des valeurs du score proche et supérieur à 2,0, nous avons trouvé (11 isolats identifiés (9.48%) avec $\log(\text{score}) \geq 2.3$; 65 isolats (56.04%) avec $\log(\text{score}) \leq 2.3$ et ≥ 2 ; 40 isolats avec $\log(\text{score}) \leq 2$ et ≥ 1.7 . Les valeurs du score trouvées pour chaque souche identifiée sont mentionnées dans l'**annexe 4**. Les valeurs trouvées dans nos résultats sont différentes et supérieures à celles des valeurs du score des souches qui ont été isolées aussi à partir des produits laitiers artisanaux Algérien par **Arezki et al. (2019)** qui ont rapporté que parmi les vingt isolats identifiés comme espèce *Lactobacillus plantarum*, seulement 4 souches avaient des scores supérieurs à 2. Même ils ont trouvé des valeurs inférieures à 1.7. Par contre la valeur de l'espèce *Lactobacillus paracasei* est supérieure à la valeur trouvée chez notre souche. Cette différence est exprimée par la génération des spectres avec des bruits qui contient des pics faibles, cela indique que les colonies testées ne sont pas des colonies pures ou bien leurs protéines ribosomale et membranaire sont faibles. Selon **Cherkaoui et al. (2010)**, la détermination la valeur du score est basée sur trois facteurs : le nombre de pics correspondant à la colonie testée, le nombre total de pics des spectres de la souche de référence et de la souche testée, et la corrélation de l'intensité liée aux pics similaires.

Les souches représentatives de chaque espèce trouvée dans les cinq produits analysés avec des scores supérieurs à 2 ont été regroupées dans le dendrogramme présente dans **la figure 19**, Le dendrogramme des souches sélectionnées dans chaque espèce identifiée a été réalisé par la méthode standard Biotyper MSP, en utilisant les paramètres par défaut : le lien a été établi comme moyen, la mesure de la distance a été définie comme une corrélation. Le dendrogramme

illustre le regroupement hiérarchique des souches isolées à partir de différents produits et fournit les relations de similitude entre eux.

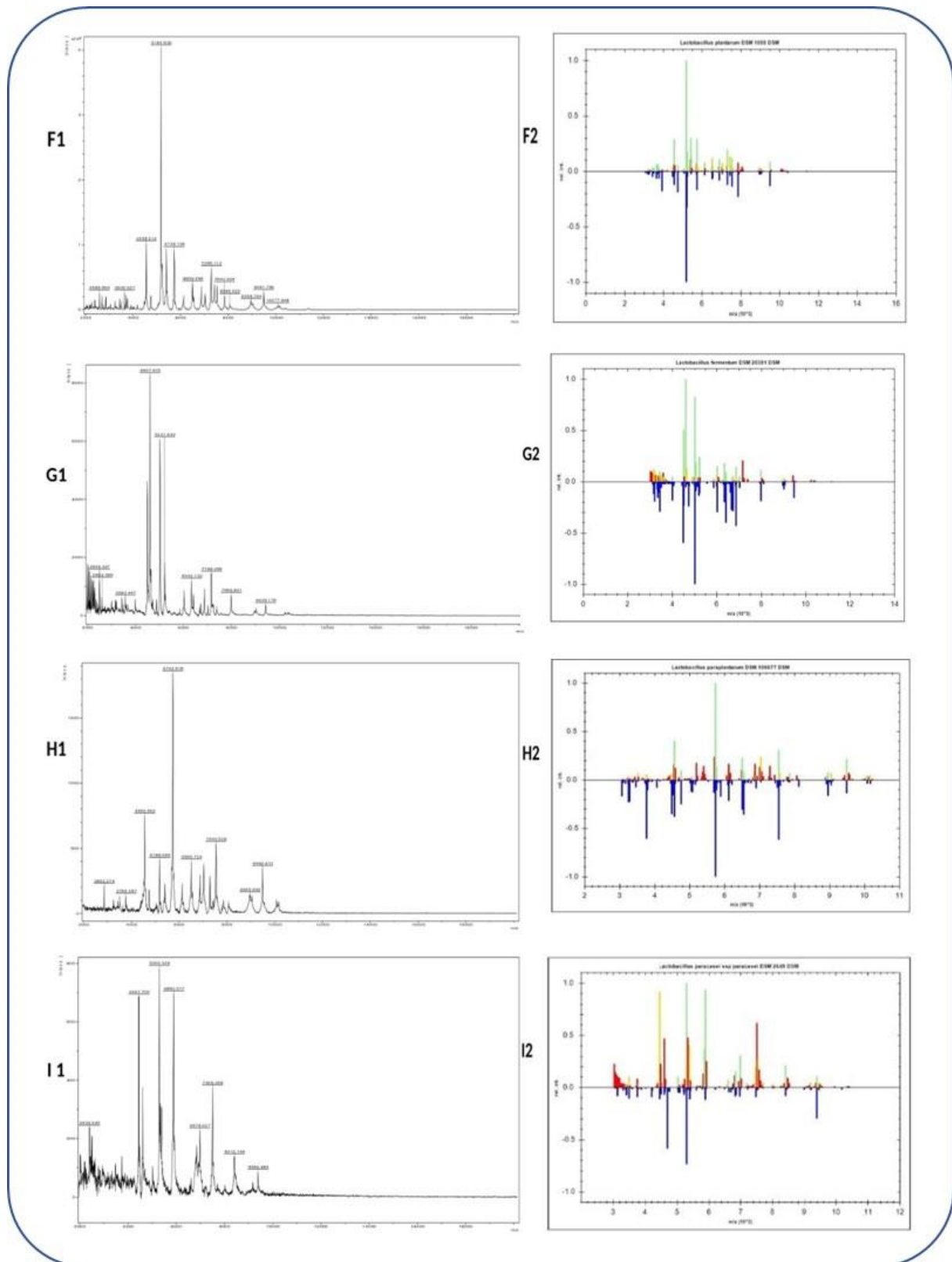


Figure 17 : Le profil des spectres de masse MALDI- TOF des souches appartenant aux *Lactobacillus plantarum* (F1, F2), *Lactobacillus fermentum* (G1, G2), *Lactobacillus paraplantarum* (H1, H2), *lactobacillus paracasei ssp paracasei* (I1, I2).

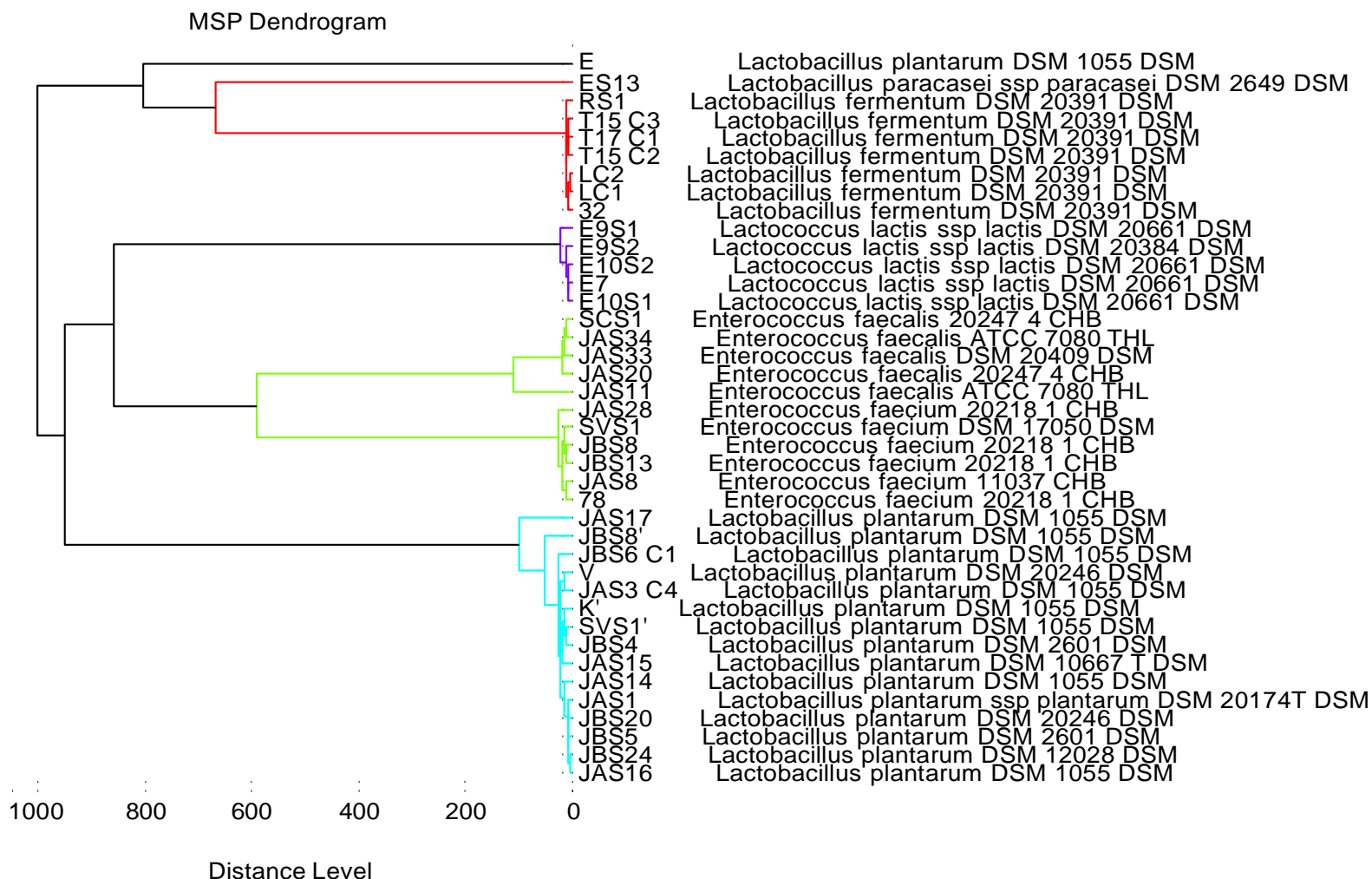


Figure 19 : Dendrogramme illustrant le regroupement hiérarchique des spectres des espèces identifiées par MALDI-TOF-MS.

2.1. Résultats de la répartition des souches selon l'identification MALDI-TOF MS

D'après Les données des analyses protéiniques de la distribution générale des espèces, nous avons constaté que *Lactobacillus fermentum* est l'espèce dominante des souches isolées avec un pourcentage de 31,04%, suivi par *Enterococcus faecium* (24,14%), vient ensuite *Lactobacillus plantarum* qui occupe un pourcentage de 21,55% et *Enterococcus faecalis* (17,24%), avec la sous-espèce *Lactococcus lactis ssp lactis* qui représente 4,31%, et enfin les deux sous-espèces *Lactobacillus paracasei ssp paracasei* et *Lactobacillus paraplantarum* avec un faible pourcentage de 0,86%. (**Figure 20**). Les deux espèces (*Lactobacillus fermentum* et *Lactobacillus plantarum*) du genre *Lactobacillus* ont été trouvées dans les 5 types des produits qui ont été analysés. Cependant les deux espèces *Lactobacillus paracasei ssp paracasei* et *Lactobacillus paraplantarum* ont été isolées uniquement à partir du J'ben. *Lactobacillus paracasei ssp paracasei* a été identifié uniquement sur le J'ben de la région de KHENCHELA préparé à base du lait cru de chèvre et *Lactobacillus paraplantarum* n'a été isolé qu'à partir du J'ben de Naâma fabriqué avec lait cru de vache. Concernant les trois espèces (*Lactococcus lactis ssp lactis*, *Enterococcus faecalis* et *Enterococcus faecium*) nous constatons que la sous espèce *Lactococcus lactis ssp lactis* a été trouvée uniquement dans un seul type du produit nommé « J'ben » prélevé de la région de Médéa. Par contre les espèces *Enterococcus faecalis* et *Enterococcus faecium* étaient présentes seulement dans les trois produits suivants : J'ben, Smen et Zebda. Aucune espèce n'a été identifiée pour le produit Smen prélevé de la région Bechar et Msila.

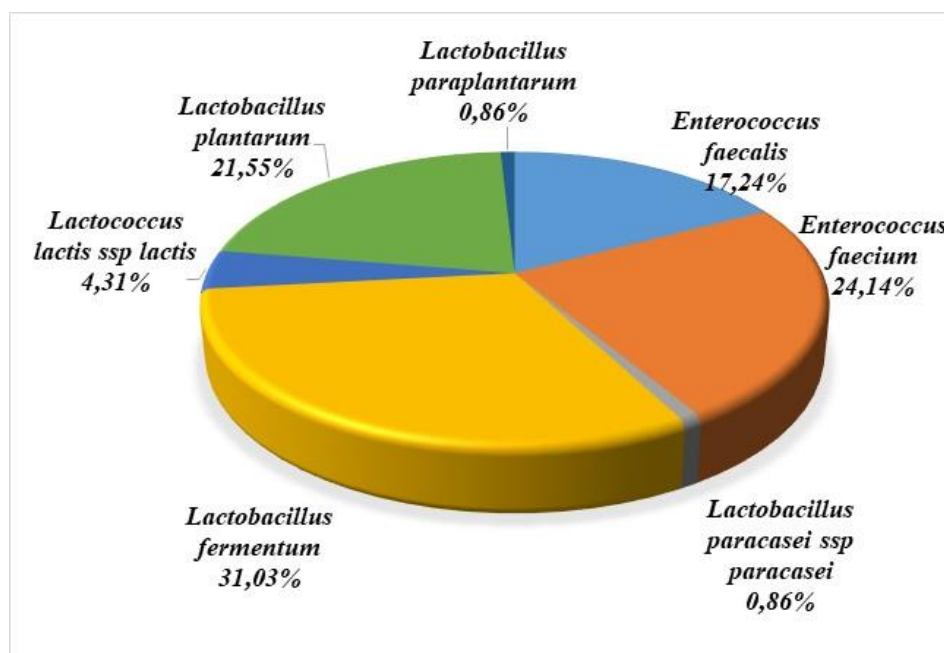


Figure 20 : La répartition des espèces de la collection lactique identifiées par MALDI-TOF MS.

Parmi les 5 types du produit qui ont été analysés, les trois produits suivants : J'ben, Zebda et Smen sont fabriqués à base deux types du lait cru (vache et de chèvre). Les espèces qui ont été identifiées dans chaque type du lait et pour chaque produit sont citées dans **la figure 21**.

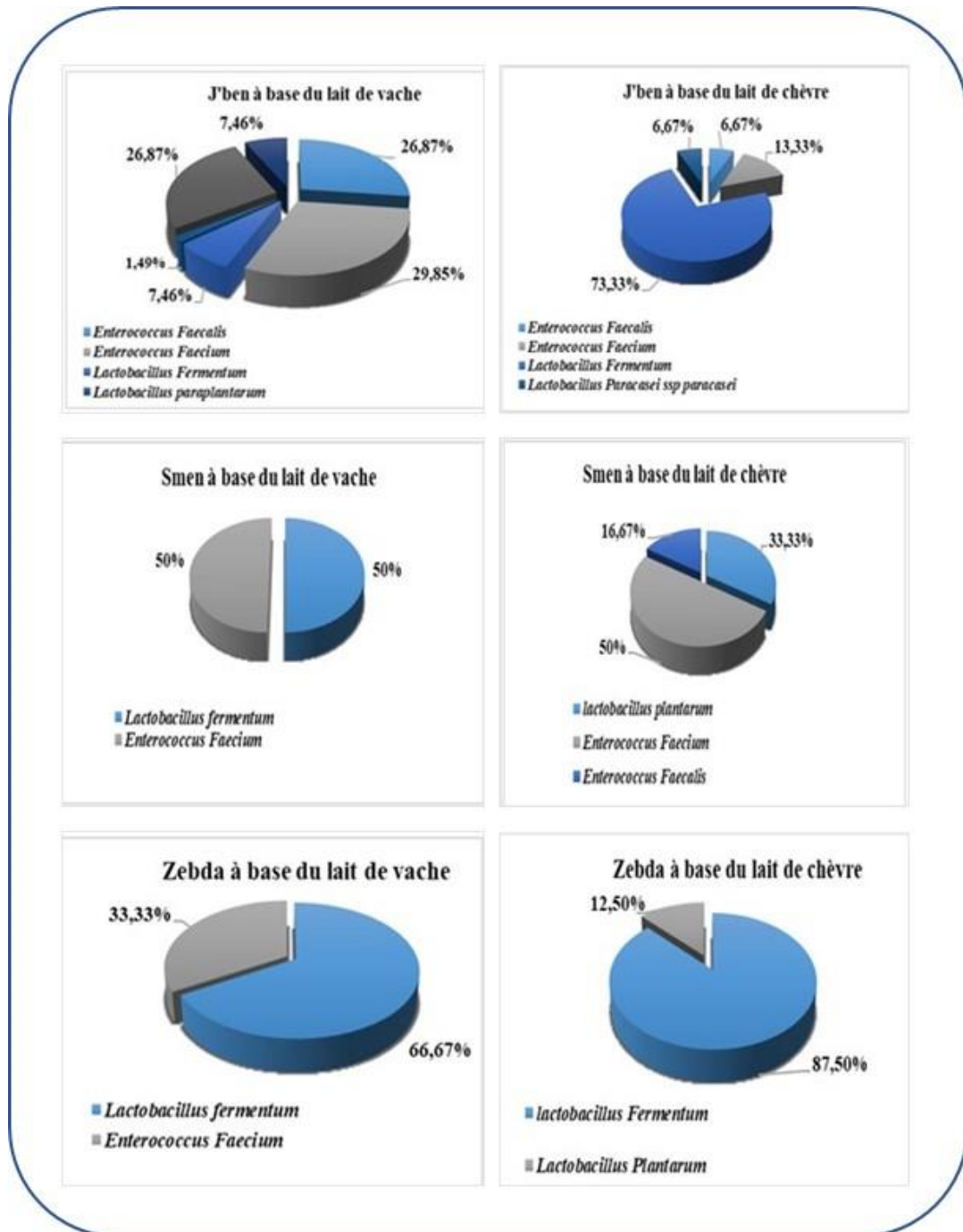


Figure 21 : Répartition des espèces de la collection lactique dans les produits fabriqués à base du lait cru de vache et de chèvre.

Dans la présente étude, le genre *Lactobacillus* est quantitativement plus important que les genres *Enterococcus* et *Lactococcus*. **Meghoufel et al. (2017)** ont signalé la dominance du genre *Enterococcus* suivi des deux genres *Leuconostoc* et *Lactobacillus* dans le J'ben traditionnel. Par ailleurs, l'identification des souches lactiques isolées de certains produits laitiers par la même technique par **Arezki et al. (2019)** a montré la présence du genre *Lactobacillus*. Très peu d'étude sur les produits artisanaux en Algérie qui ont rapporté l'identification par la technique Maldi-tof Ms de cinq types produits en même temps et collectés dans plusieurs régions.

Cette technique a été utilisée pour identifier LAB à partir d'un fromage artisanal espagnol, montrant la dominance du genre *Lactobacillus* qui englobe plusieurs espèces et sous-espèces par rapport les genres *Lactococcus* et *Leuconostoc*. (**Sánchez-Juanes et al., 2020**). L'identification des souches lactiques par la même technique isolée par **Gantzias et al. (2020)** et par **Nacef et al. (2017)** a montré la prédominance du genre *Lactobacillus*. Cette identification se concorde avec nos résultats en termes de genre lactique et les deux espèces suivantes (*Lactobacillus Paracasei ssp paracasei*, *Lactobacillus plantarum*) qui ont été trouvées dans notre échantillon « J'ben ».

3. Résultats de l'étude des potentiels technologiques des souches lactiques

3.1. Résultats de la Cinétique de croissance des souches

La croissance de nos souches isolées a été déterminée par mesure de la DO et le dénombrement sur gélose, quatorze souches ont été suivies pour leur croissance pendant 24h. Les courbes de l'évolution de la densité optique en fonction du temps des 14 souches ont été générées par le logiciel **Graph Pad Prism9** selon le modèle de croissance « **Compertz growth** » qui détermine les paramètres de la cinétique de croissance : YM (densité maximale) et K (la durée de la phase de latence). Les résultats sont présentés dans **les figures (22 et 23)**. Sur la base des résultats, la cinétique des souches testées s'est avérée variable d'une espèce à l'autre et même au sein d'une même espèce. Les résultats de la courbe de croissance que nous avons obtenus nous ont permis de distinguer les différentes phases de croissance. En notant les espèces *En. Faecalis* , *En. Faecium* et *Lc. Lactis ssp lactis* dont leurs courbes sont présentées sur **la figure (22)**, montrant une phase de latence réduite qui atteindra 2h30 à 4h avec des densités cellulaires allant de 0,101 à 0,493, 0,101 à 0,593 et 0,101 à 0,612, respectivement, suivie d'une phase exponentielle qui s'allonge jusqu'à 24h d'incubation pour les souches de l'espèce *Lactococcus lactis ssp lactis* avec une DO variée de 0.551 à 15.91, ce qui explique l'existence des nutriments

Nécessaires à sa croissance dans le milieu. Nous avons trouvé que les deux espèces testées codées par E9S1 et E7 se sont révélées être encore en phase exponentielle. En revanche, pour les souches d'*Enterococcus*, nous avons noté 3 phases de croissance, dont la croissance est caractérisée par une phase exponentielle, se terminant avant 24h, avec des valeurs de DO allant de 0,685 à 14,21 pour la souche JBS26 et de 0,774 à 14,54 pour la souche SMS4. Par conséquent, *En. Faecalis* SCS1 s'est avérée croître plus rapidement que *E. faecium* caractérisée par l'achèvement de la phase exponentielle à 21 heures et un changement de densité optique de 0,874 à 16,74. Nous avons constaté que les souches que nous avons testées avaient la capacité de croître rapidement et peuvent être plus compétitives dans le processus de fermentation et que les courbes de nos souches ont montré une meilleure cinétique de croissance par rapport à l'étude menée par **Ghalouni et al. (2018)** sur la cinétique de croissance des souches *Lactococcus* et *Enterococcus* isolées du lait fermenté « L'ben », ont trouvé des courbes de croissance caractérisées par une phase de croissance qui est achevée à 16h.

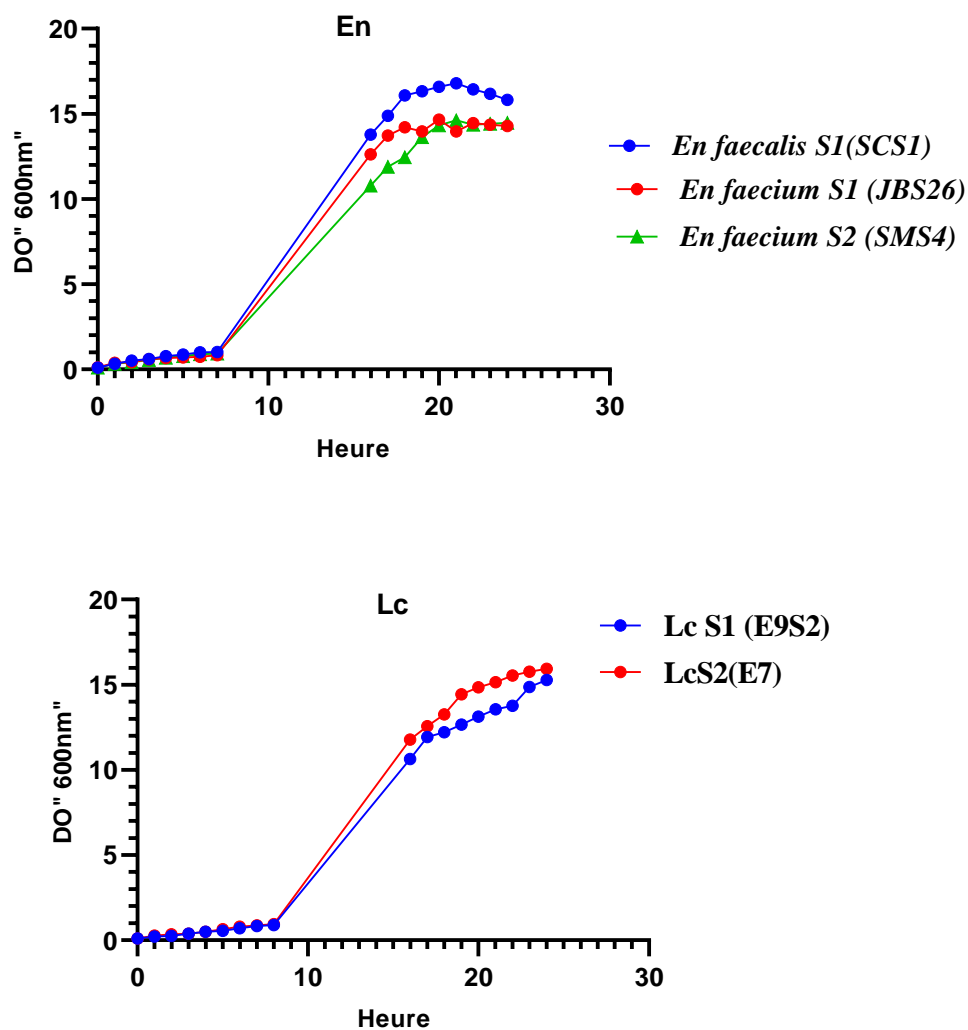


Figure 22 : Cinétique de croissance des espèces appartenant aux genres *Enterococcus* et *Lactococcus*.

La croissance des *Lactobacillus* est caractérisée par une variabilité en phase de croissance entre les souches testées où on a distingué la phase stationnaire pour les espèces *Lb paracasei* et *Lb paraplantarum* comme montré **la figure (23)**, dont leur croissance est caractérisée par une phase exponentielle qui s'achève à 18h d'incubation. Par laquelle *Lb paraplantarum* entre en phase de déclin à 22h. Tandis que les souches de l'espèce *Lb fermentum* au bout de 24h d'incubation restent en pleine phase exponentielle. Alors que les trois souches de *Lb plantarum* au sein de la même espèce ont montré une aptitude de croissance qui est variée d'une souche à l'autre. Toutefois, nous avons remarqué la présence de la croissance biphasique chez les souches *Lb f S2* (JKS1) et *Lb pl S3*(JAS17).

D'après l'étude de la cinétique de croissance on a pu déterminer la durée de la croissance de nos souches isolées et de constater que les souches des espèces *Lb fermentum*, *Lc lactis ssp lactis* ainsi que les deux souches de *Lb plantarum* codées par *Lb pl S1*(JAS10) et *Lb pl S2*(LMS1) ont une meilleure cinétique de croissance caractérisée par une phase exponentielle plus lente qui dépasse les 24h d'incubation. Nous avons remarqué que la durée et les phases de croissance différentes d'une espèce à une autre, Nos résultats concernant les souches appartenant au genre *Lactobacillus* sont différents à celles trouvés par **Amina et al. (2016)** qui ont rapporté que les souches *Lactobacillus* ont une longue durée de la phase de latence (0 à 8h) en raison de la difficulté d'adaptation des souches au milieu de culture et une courte durée de la phase exponentielle dont la durée variable d'une souche à une autre.

En se rapportant à la littérature, la courbe de croissance des bactéries lactiques est liée à leur état physiologique de la souche, le milieu d'isolement et leurs besoins nutritionnels.

Mis Solval et al. (2019) ont rapporté que la composition de milieu de croissance a un impact considérable et que le type de source de carbone et d'azote dans le milieu a un effet considérable sur la croissance des *Lactobacillus*, ainsi ont trouvé que l'espèce *Lb. plantarum* avait une cinétique de croissance et un rendement en biomasse cellulaire plus élevé que les autres espèces appartenant au genre *Lactobacillus*.

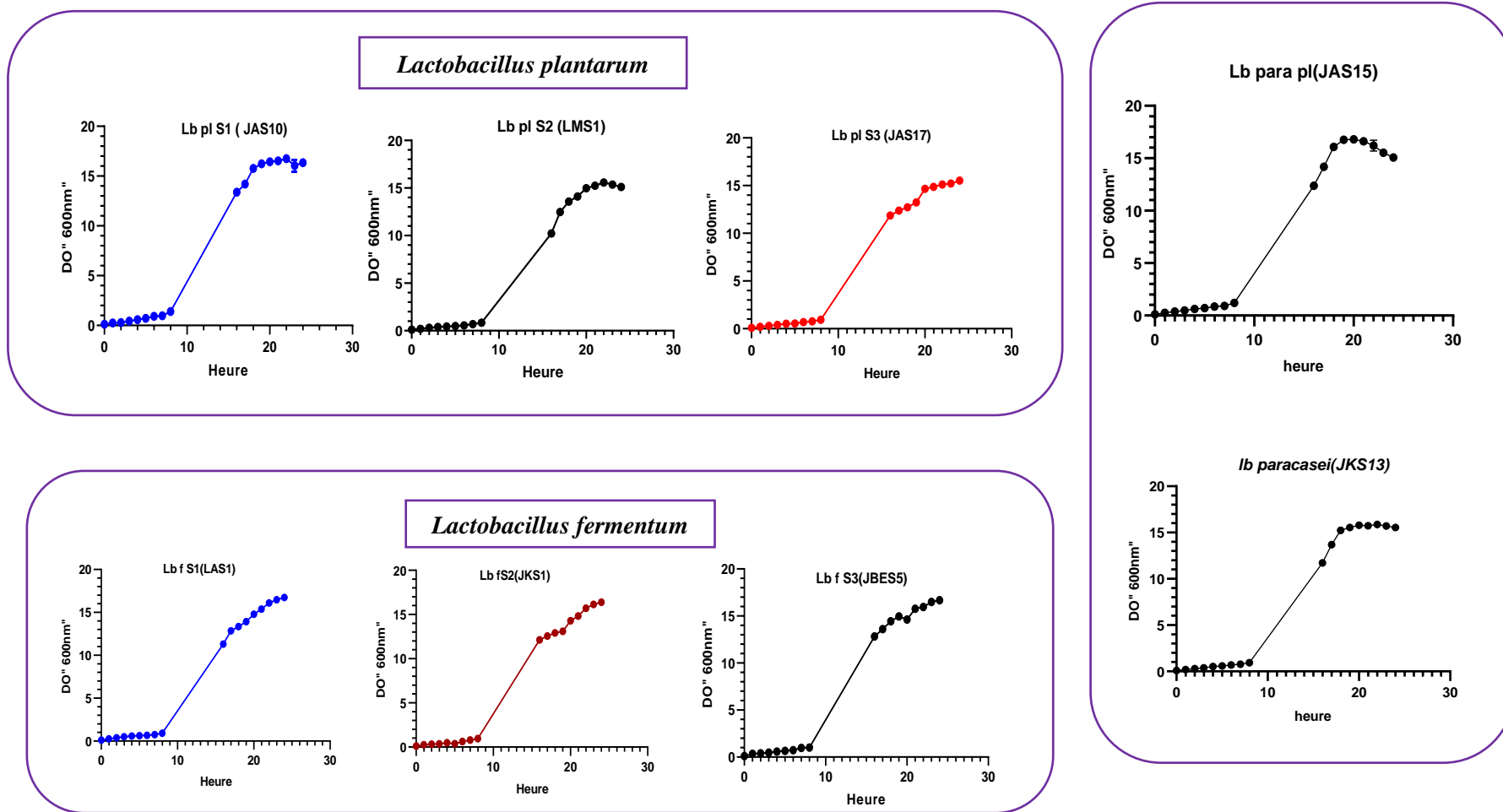


Figure 23 : Cinétique de croissance des espèces du genre *Lactobacillus*

L'étude de la cinétique de croissance est très importante dans la sélection des cultures starter pour des applications industrielles. La détermination de la quantité de biomasses produite pendant la croissance est l'un des critères le plus intéressants qui pris en compte pour la sélection des cultures starter des bactéries lactiques les plus performantes. On ne peut pas estimer la quantité de la biomasse par la mesure de la DO, car la valeur de la DO nous donne le nombre des cellules vivantes et mortes à la fois, donc les résultats de la cinétique de croissance par la mesure de la DO ont été confirmé par le dénombrement le nombre UFC de chaque espèce en fonction de la DO et en fonction du temps (chaque 2h) afin de trouver le nombre des cellules vivantes seulement. L'allure des courbes de croissance selon le nombre des colonies comptées en fonction de la DO et du temps est présentée dans les **figures (24,25 et 26)**.

Les quantités de biomasses atteintes au bout de 24h par les espèces *Lactococcus lactis ssp lactis* (LcS2, LcS1), *Enterococcus faecium* (SMS4) et *Enterococcus faecalis* (SCS1) sont comprises entre (7.98 à 9.74, 7.89 à 9.59, 8.59 à 8.91 et 8.77 à 9.66 logs UFC/ml), respectivement (**Figure 24**). Nous avons constaté que la biomasse la plus importante est obtenue avec les deux souches de l'espèce *Lactococcus lactis ssp lactis* (LcS2, LcS1) par rapport la biomasse obtenue pour les autres espèces. Ainsi des résultats similaires ont été observés pour leur courbe de la biomasse et de la DO qui indique que Le nombre de log UFC/ml de la souche LcS2 est un peu plus élevé que la souche LcS1 et que ces deux souches (LcS2, LcS1) sont en pleine phase de croissance qui reste jusqu'à 24h, ont données à cette heure des quantités de biomasses de 9.59 à 9.74 avec des valeurs de DO 15.27 à 15.74. Pour laquelle les souches *Enterococcus faecium* (JBS26) et *Enterococcus faecalis* (SCS1) entrent en phase de déclin, leur nombre de log UFC/ml est diminué à 18h de 9.97 à 8.91 et 10.03 à 9.66, respectivement, et la DO est augmentée juste pour la souche (SMS4) de 12.45 à 14.48 et est diminuer de 16.08 à 15.82 pour la souche (SCS1). La diminution de la biomasse peut être due à l'épuisement des nutriments dans le milieu, donc ces résultats de la biomasse ont confirmé le premier résultat qu'on a le trouvé dans **la figure 22** qui nous a montré que leur phase exponentielle est achevée avant 24h.

5

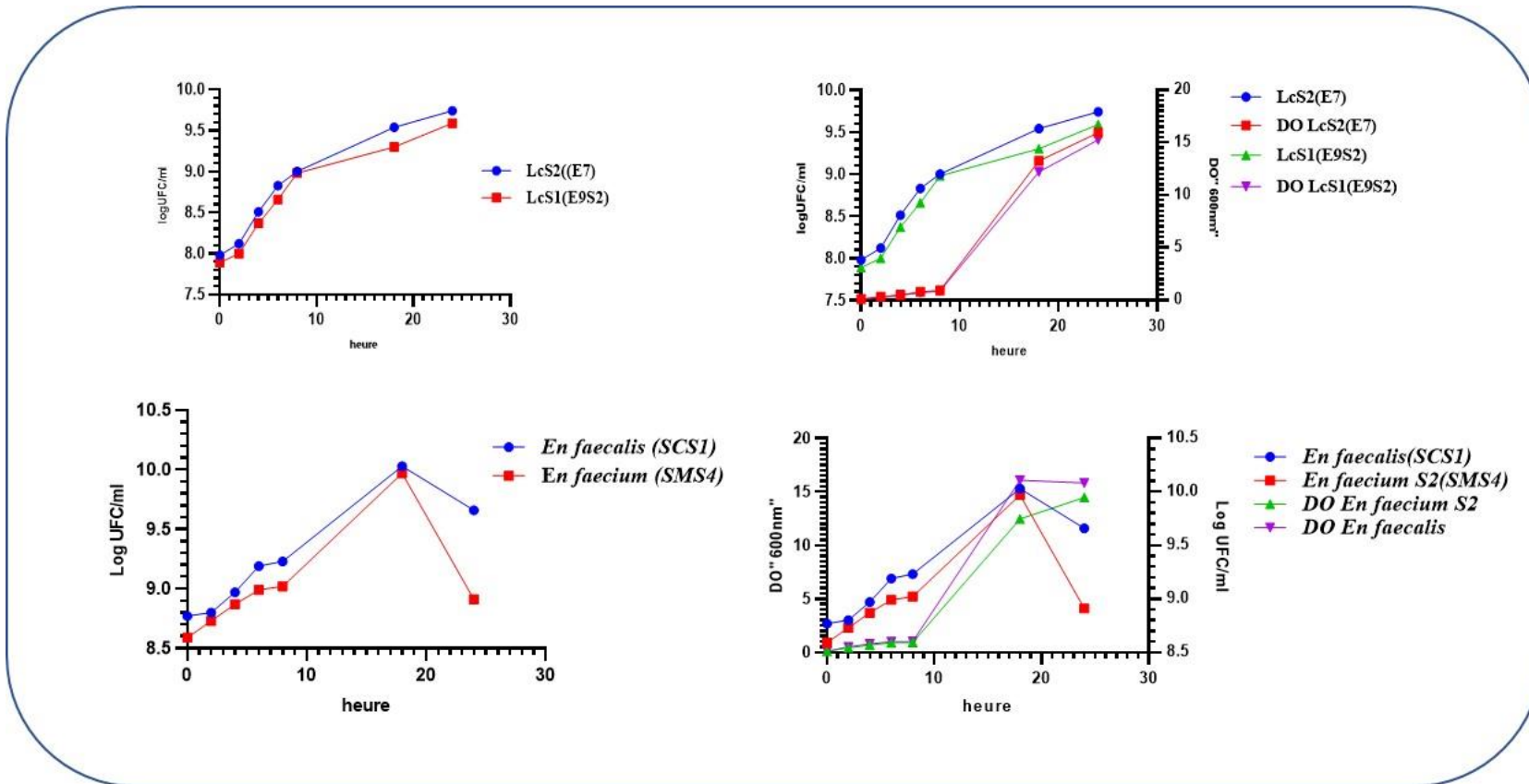


Figure 24 : Quantité de la biomasse produite par les espèces *En. Faecalis*, *En. faecium* et *Lc.lactis ssp lactis*.

D'après les résultats de la détermination de la quantité de biomasses produite en fonction de la DO par les espèces *Lb fermentum*, *Lb plantarum*, *Lb paracasei* et *Lb paraplantarum* illustrés dans la figure 25 et 26, Nous avons pu déterminer à quelle DO le nombre de log UFC/ml est en phase exponentielle. Nous avons constaté que la quantité de biomasse produite était différente au sein de ces espèces et au sein des souches qui appartiennent aux mêmes espèces. La croissance de l'espèce *Lb. plantarum* était très rapide et les quantités de la biomasse produites étaient plus élevées que toutes les espèces testées. À 4 h les souches des deux espèces *Lb plantarum* S1(JAS10) et *Lb. fermentum* (JKS1) ont produites une excellente quantité (8.62 et 8.29) avec une DO 0,578 et 0.582 respectivement. Tandis que la croissance des autres souches codées par *Lb plS3*(JAS17), *Lb f S1*(LAS1) et l'espèce *Lb. Paraplantarum* (JAS15) est augmentée à 6 h, ont produites ces quantités 8.53, 8.63 et 8.59 avec des valeurs de DO plus élevées (0.691,0.663 et 0.860). Pour l'espèce *Lb paracasei ssp paracasei* (JKS13 la biomasse a atteint 8.05 à 18h. La quantité maximale de la biomasse a été obtenue à 18 h et à une DO 15,76 chez la souche *Lb. plantarum* S1(JAS10) d'une valeur de 9.9log UFC/ml (8.10^9 UFC/ml). Nos valeurs trouvées étaient supérieures à celle trouvée par **Barragán et al.** (2020) qui ont constaté que la concentration maximale de biomasse viable de *Lb. plantarum* ATCC 8014 était de 9.53log CFU/ml sur le milieu MRS et de 9,58 log UFC/ml sur milieu de culture à base de plasma sanguin bovin.

D'après **Matejčeková et al.** (2016) qui ont étudié et suivie la croissance de l'espèce *Lb. plantarum* dans le lait, ont rapporté que la dynamique de croissance est liée au facteurs environnementaux de la souche (conditions d'anaérobiose, pH et les variations de température) et les souches doivent présenter une vitesse et survie importante pour dominer la flore naturelle dans l'environnement. Ainsi que ont constaté que la durée des phases de croissance et la quantité de la biomasse de l'espèce *Lb. plantarum* sont variées selon la température d'incubation.

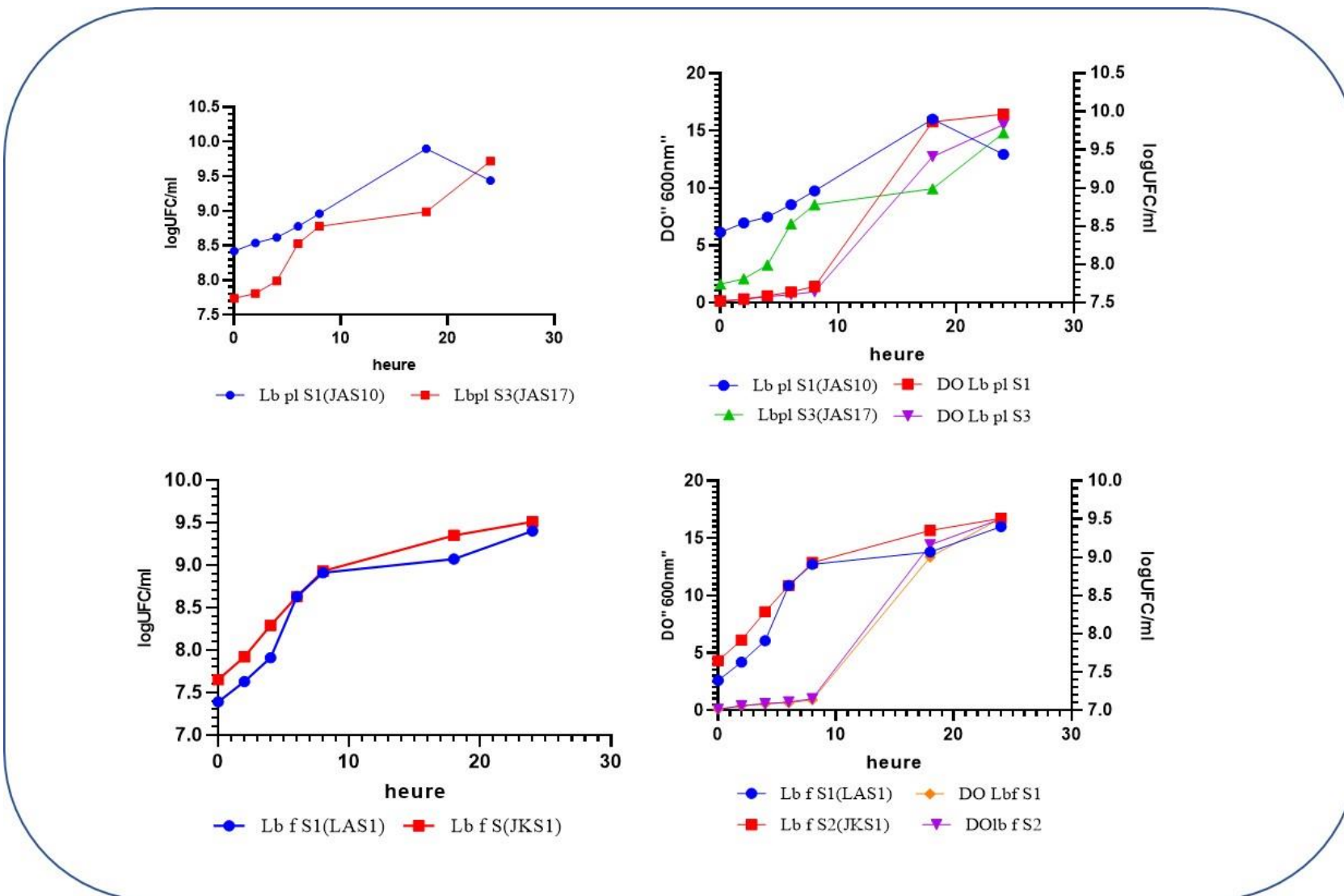


Figure 25 : Quantité de la biomasse produite par *Lb. plantarum* et *Lb. fermentum*.

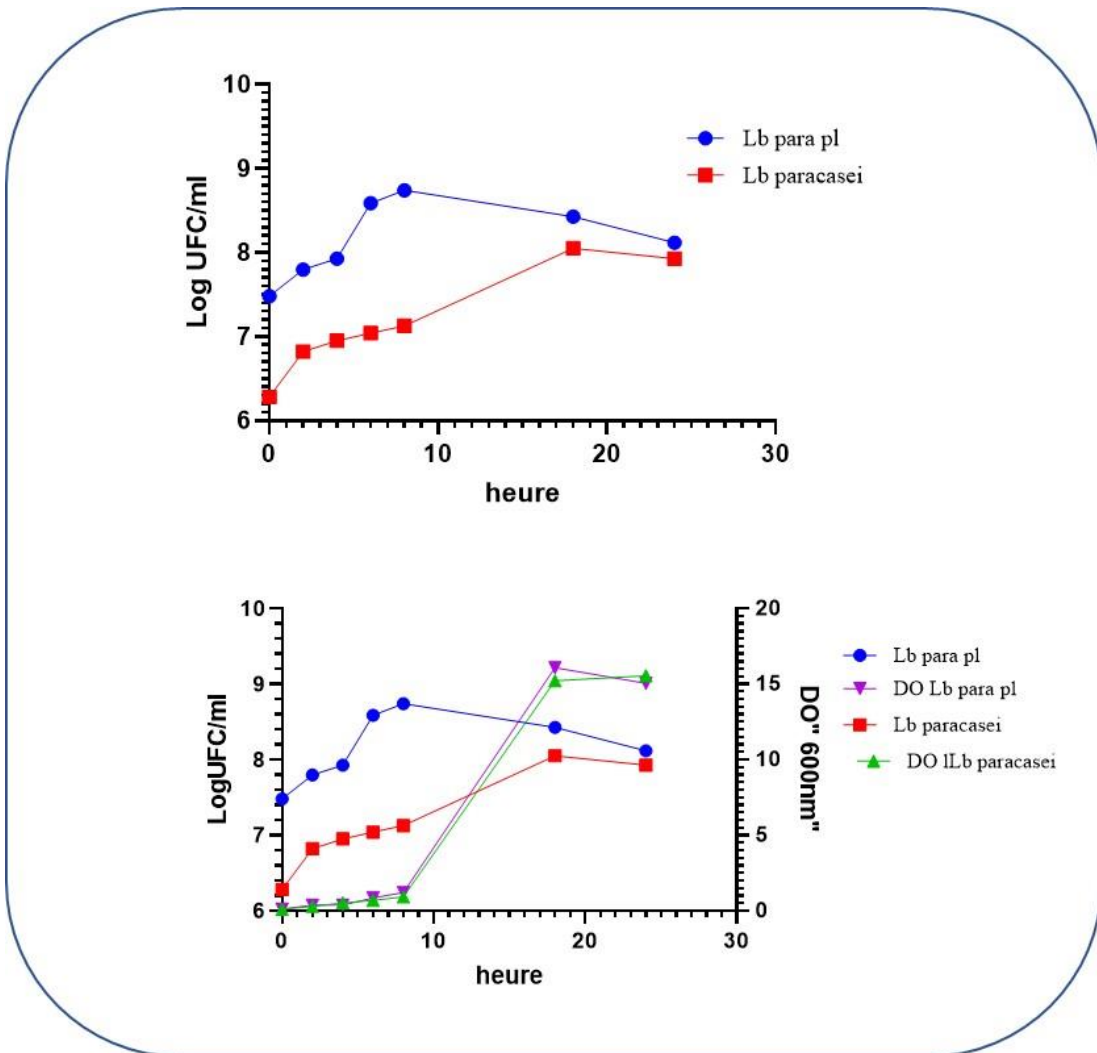


Figure 26 : Quantité de la biomasse produite par *Lb. Paracasei* et *Lb. Paraplantarum*.

3.2. Résultats du potentiel coagulant et acidifiant

3.2.1. Résultats du potentiel acidifiant

L'étude de la cinétique d'acidification a été réalisée afin de déterminer si les souches qu'on a isolées conviennent au domaine d'application visé ou non. Pour chaque espèce identifiée par la technique MALDI-TOF MS, plusieurs souches ont été testées pour ce potentiel. Les résultats obtenus pour toutes les souches sont mentionnés en **Annexe 5** et représentés par les figures **27,28,29,30 et 31** illustrées ci-dessous.

Pour les deux espèces *Lb. fermentum* et *Lb. plantarum* uniquement les souches qui présentent un bon résultat sont illustrés dans les graphes (**Figure 27 et 28**). Au bout de 8h, Nous avons constaté que la totalité des souches qui appartiennent au ces deux espèces présentent une production progressive en acide lactique dans le lait écrémé avec un taux d'acidification se situe dans l'intervalle $82 \leq \text{°D} \leq 64$ pour l'espèce *Lb plantarum* et $71 \leq \text{°D} \leq 54$ pour l'espèce *Lb fermentum*, qui est accompagnée d'un abaissement de pH, le pH est varié de 4.43 à 4.91 et de 4.52 à 4.74, respectivement.

Nous avons constaté également que nos souches isolées ont la capacité de fermenter le lactose en acide lactique. Fait intéressant, Au bout de 4h parmi les 27 souches testées, les 3 souches *Lb plantarum* LMS1, *Lb plantarum* JAS10, *Lb fermentum* LAS1 sont douées d'une forte activité acidifiante par rapport les autres souches ayant produite une acidité 62, 67 et 59, respectivement, avec un pH qui a atteint la valeur 4.97 pour la souche LMS1, 4.68 pour la souche JAS10 et 4.92 pour la souche LAS1, D'autres souches ont été considérées comme bonne acidifiantes, il s'agit des souches, *Lb plantarum* JAS17, *Lb fermentum* JBS1 et *Lb paraplantarum ssp paraplantarum* JAS15 ont pu acidifier le lait et diminuer le pH à 6h, le pH a atteint les valeurs 4.90, 4.85 et 4.600, respectivement. Par ailleurs, l'espèce *Lb paracasei* JKS13 a été estimée comme moyennement acidifiante. (**Figure 29**). Les valeurs des souches à pouvoir acidifiant faible sont mentionnées en annexe 5.

D'une façon générale, nos résultats ont révélé que l'activité acidifiante des souches appartenant à l'espèce *Lb plantarum* est élevée par rapport les autres espèces. Et toutes les souches testées ont développé une acidité adéquate pendant 24 heures d'incubation, elle était comprise entre 100 à 123 pour *Lb. plantarum* et 88 à 116 pour *Lb. fermentum*. Il apparait également d'après les résultats obtenus que nos souches testées appartenant au genre *Lactobacillus* ont l'activité acidifiante la plus prononcée comparativement aux souches isolées et testées par **Ketrouci et al. (2021)** qui ont trouvé que les souches de *Lactobacillus plantarum*

Métabolisent lentement le lactose et leur production d'acide lactique était faible, elle ne dépasse pas 60 °D après 24h.

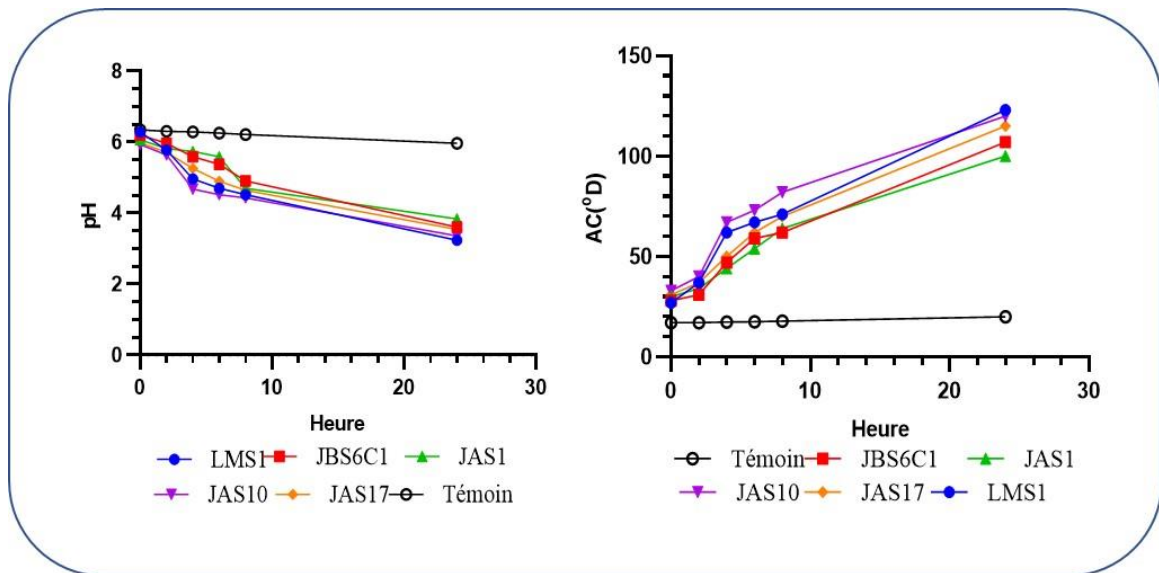


Figure 27 : courbes du suivi de l'évolution du pH et l'acidité des souches de *Lactobacillus plantarum*.

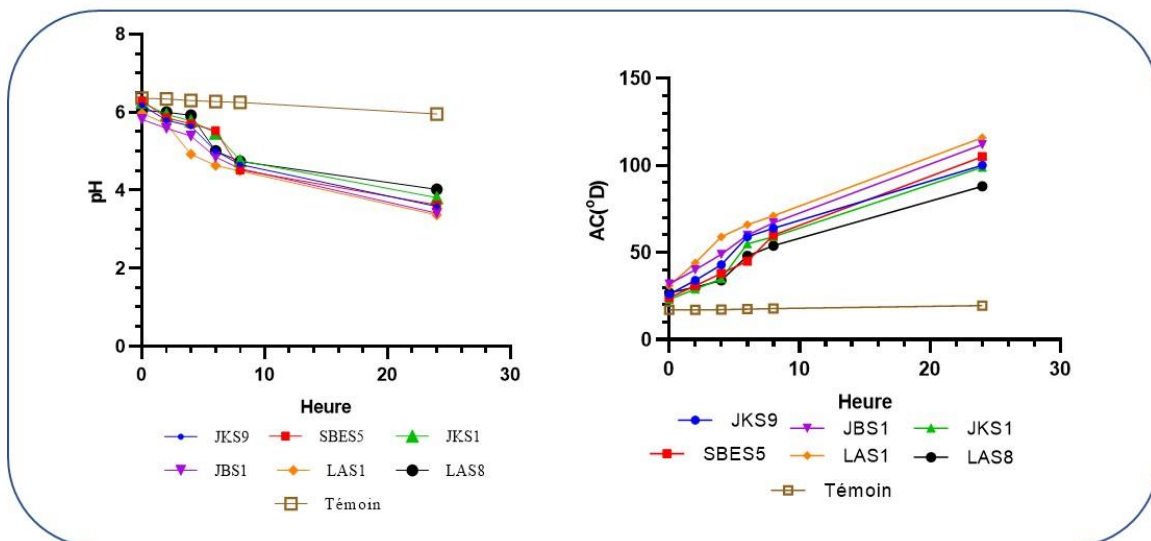


Figure 28 : courbes du suivi de l'évolution du pH et l'acidité des souches de *Lactobacillus fermentum*.

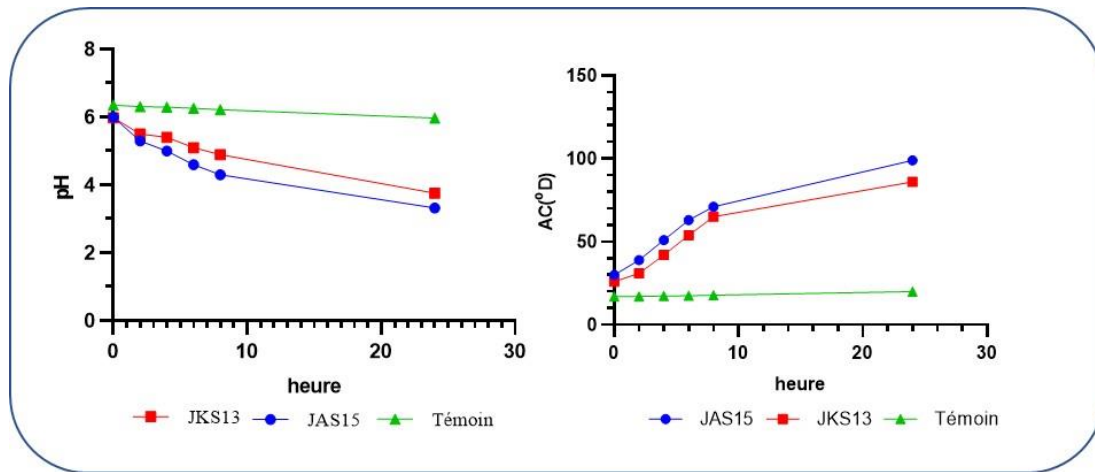


Figure 29 : courbes du suivie de l'évolution du pH et l'acidité des souches de *Lactobacillus paracasei ssp paracasei* et *Lactobacillus paraplantarum*.

Les figures 30 et 31 illustrées ci-dessous montrent que les espèces *Lc lactis ssp lactis*, *En faecalis* et *En faecium* ont une faible activité acidifiante comparant aux espèces qui appartiennent au genre *Lactobacillus*. Nous avons constaté que la capacité des souches à l'acidification diffère selon l'espèce et également au sein de la même espèce. En effet, parmi les lactococci testés deux souches ont pu diminuer le pH au bout de 6h, à savoir les souches *Lc lactis* E7 et *Lc lactis* E9S1 leur pH était de l'ordre 4.95 et 4.89 et leur acidité atteinte des valeurs 59 et 52°D, respectivement. Par contre la souche E9S2 a pu diminuer le pH de 6.10 à 4.76 au bout de 8h avec un taux d'acidification 59. Terzić-Vidojević et al. (2020) ont noté que Les souches *Lactococcus* isolées des produits laitiers traditionnels ayant une capacité d'acidification rapide, étaient capables de diminuer le pH à 5.15 et de former le caillé au bout de 6h. En outre, Cogan et al. (1997) ont indiqué que les souches de *Lactococcus* comme de bonnes souches acidifiantes si elles abaissaient le pH du lait à moins de 5 au bout de 6h. La même remarque a été notée chez les Enterococci, deux souches appartenant à ce genre à savoir SMS4 et ZAS5 ont présenté un pH 4.92, 4.89 avec un taux d'acidification 59 et 61 respectivement au bout de 8h, les autres souches appartenant au même genre acidifiaient le lait lentement. Nos résultats rejoignent ceux de Bozoudi et al. (2015) qui ont constaté que les souches d'*Enterococcus* ont une faible activité acidifiante ainsi ont montré que les *lactococcus* ont une capacité d'acidification plus élevée que l'*Enterococcus*, Cependant nos souches sont plus acidifiantes par rapport leur souches. Par contre Mercha et al. (2020) ont rapporté que les souches d'*Enterococcus* isolée de lait de chamelle ayant une activité acidifiante très rapide et peuvent réduire le pH au bout de 4 h. cela nous a permis de confirmer que la capacité d'acidification variée d'une espèce à une autre et peut être liée au source d'isolement.

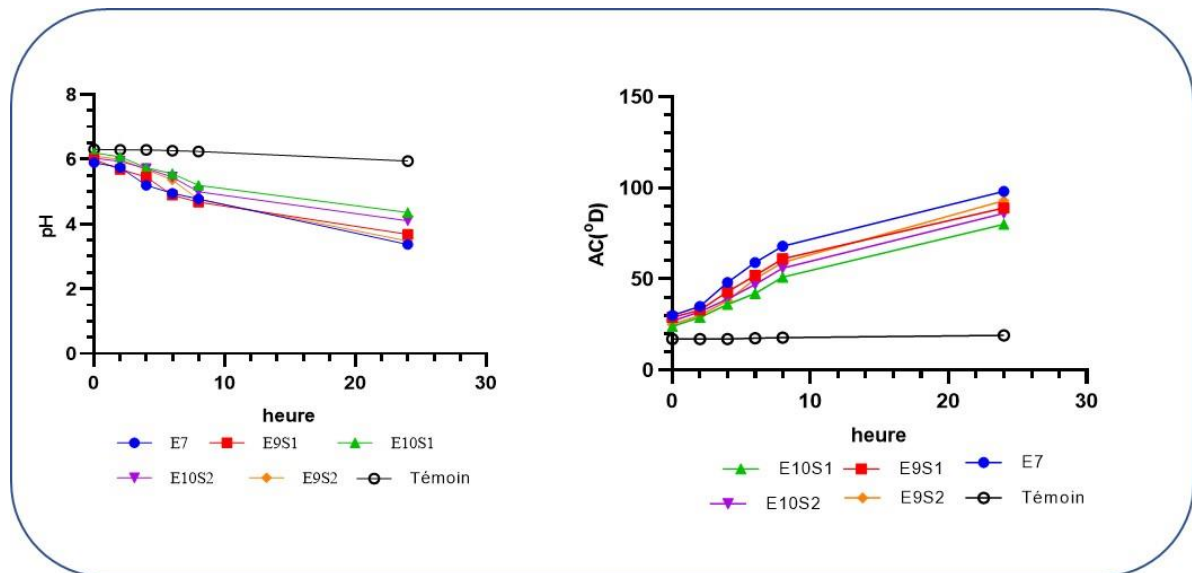


Figure 30 : courbes du suivi de l'évolution du pH et l'acidité des souches de *Lactococcus lactis ssp lactis*

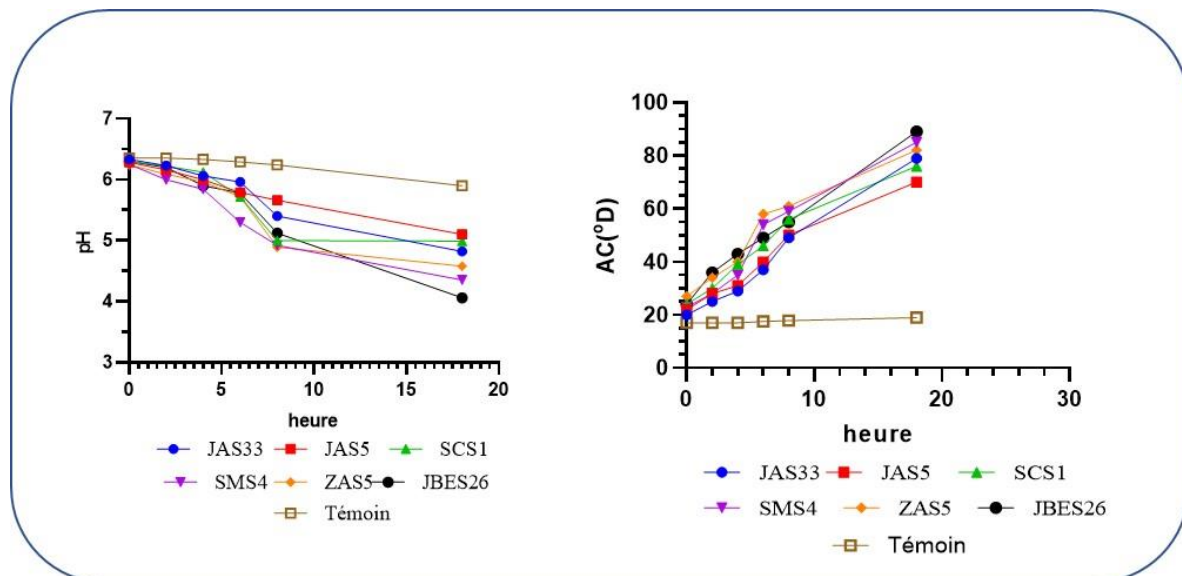


Figure 31 : courbes du suivi de l'évolution du pH et l'acidité des souches de *l'Enterococcus faecalis* et *Enterococcus faecium*.

3.2.2. Résultats du potentiel coagulant

Ce potentiel est essentiel pour choisir les bonnes souches afin obtenir des propriétés désirées dans la préparation des dérivés laitiers. D'après la mesure le taux du lactosérum et le temps de coagulation, on a constaté que la coagulation du lait écrémé (10%) par les souches qui appartiennent aux espèces : *Enterococcus faecalis*, *Lactococcus lactis* et *Lactobacillus fermentum* donne une quantité importante de la synérèse avec des valeurs 39%, 20% et 16% respectivement plus élevées de celles trouvées chez les souches des autres espèces (*Lb plantarum*, *Lb paraplantarum* et *Lb paracasei ssp paracasei*) dont leur valeur la plus élevée est 9%. Ainsi Nous avons noté que les souches qui ont un taux de la synérèse plus de 15%, l'aspect de leur caillé est différent de ceux obtenus avec les souches qui ont un taux plus faible et qui ont un aspect ferme et très visqueux. **Madhubasani et al. (2020)** ont rapportés que la quantité élevée de la synérèse est un signe de défaut de la qualité du produit laitier, réduit la DLC de ce produit laitier et le rend indésirable par le consommateur.

Nous avons pu sélectionner 5 souches codées *Lb plantarum* JAS10, JAS17, LMS1 et LAS3, *Lb fermentum* LAS1 qui sont douées d'un pouvoir coagulant possèdent les taux de synérèse les plus faibles 00%, 0.80%, 1.80%, 1.50% et 00% respectivement, leur temps de coagulation ne dépasse pas 10h à l'exception de la souche LAS1 et leur aspect du caillé était ferme, très visqueux et homogène. (**Tableau 11, Figures 32**). Il ressort qu'il existe une relation entre l'aspect du caillé et la synérèse, et cela signifie que la synérèse joue un rôle important dans la formation du coagulum et que les souches qui ont un aspect visqueux peuvent être des souches productrices des EPS qui participent à la diminution de la synérèse. L'aptitude de nos souches à la coagulation et à la sécrétion de la synérèse diffère selon les espèces et au sein du même espèce également. **Amatayakul et al. (2006)** ont signalé que le niveau d'apparition de la synérèse dans les produits laitiers peut être réduit par les souches productrices d'EPS ainsi que **Hickisch et al. (2016)** ont observé que le degré de la synérèse est influencé par le traitement thermique du lait et par sa fermentation par différentes espèces produisant des EPS, ils ont trouvé que la quantité de la synérèse du laitensemencé par *Lb plantarum* était plus élevé que le laitensemencé par *Lb brevis*. Parmi les souches de l'espèce *Lactobacillus fermentum*, seule la souche JKS1 s'est révélée capable de coaguler le lait au bout de 10h. En effet, **Patil et al. (2015)** ont trouvé que les souches *Lactobacillus fermentum* ont coagulé le lait au bout de 7h.

Tableau 11 : Paramètres rhéologiques du caillé obtenu par les espèces testées.

Souches	Taux de Synérèse%	Temps du coagulation	Aspects du caillé	Espèces
JAS10	00%	8 h	Ferme très visqueux et homogène	<i>Lactobacillus plantarum</i>
JBS6C1	1.90%±0.565	18h	Ferme, visqueux et homogène	
LMS1	1.80%±0.282	10h	Ferme visqueux et homogène	
JAS1	1.65%±0.070	18h	Ferme très visqueux et homogène	
JAS17	0.80%±0.282	10h	Ferme très visqueux et homogène	
SVS1	5.70%±0.282	24h	Ferme, visqueux et homogène	
LAS3	1.50%±0.424	10h	Ferme très visqueux et homogène	
JAS15	1.35%±0.070	18h	Ferme, visqueux et homogène	<i>Lactobacillus paraplantarum</i>
JKS13	9 %±0.707	Avant 24h	Ferme, moins visqueux et homogène	<i>Lactobacillus paracasei ssp paracasei</i>
JKS9	7.60%±0.282	18h	Ferme, visqueux et homogène	<i>Lactobacillus fermentum</i>
JBES5	12.50%±3.53 5	18h	Ferme, moins visqueux et homogène	
LAS1	00%	18h	Ferme, visqueux et homogène	
JKS1	10%±00	10h	Ferme, visqueux et homogène	
JBS1	16%±1.414	18h	Filant et non homogène	
LAS8	15%±00	18h	Filant et non homogène	
ZMS7	11%±00	Avant 24h	Ferme et homogène	
ZTS1	8.75%±1.060	24h	Filant et non homogène	
E7	13%±1.414	18h	Ferme, moins visqueux et homogène	<i>Lactococcus lactis ssp lactis</i>
E9S1	14%±2.828	24h	Filant et non homogène	
E10S1	20 %±00	18h	Filant et non homogène	
E9S2	8.25%±1.060	18h	Ferme, visqueux et homogène	
SCS1	31%±1.414	Après 24h	Filant et non homogène	<i>Enterococcus faecalis</i>
ZAS5	39%±1.414	Après 48h	Filant et non homogène	



Figure 32 : Aspect du caillé obtenu par quelques souches testées.

3.2.3. Résultats du pouvoir épaississant et texturant

Afin de confirmer l'aptitude des souches qui ont un faible taux de synérèse à produire des EPS mieux que celles qui ont un taux élevé de la synérèse, nous avons testé leur pouvoir épaississant et texturant. D'après la **Figure 33** Nous avons trouvé que les souches qui ont été testées dans le milieu lait saccharose donnent un aspect visqueux de coagulum, cet aspect a été détecté lorsqu'il s'écoule à travers les parois des tubes, ce qui nous a permis de confirmer que les souches présentent une viscosité. Ainsi nous avons pu noter un aspect filant et non homogène chez les souches présentant un taux élevé de synérèse. (**Figure 34**).



Figures 33 : Aspect visqueux du coagulum formé sur le lait saccharose.

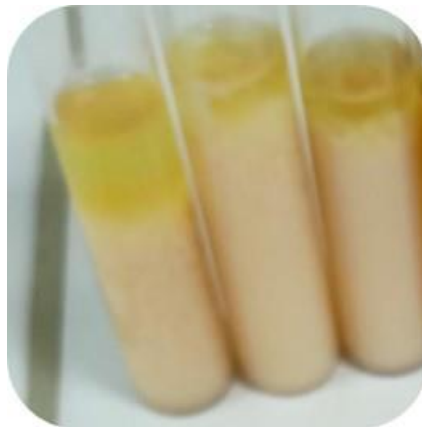
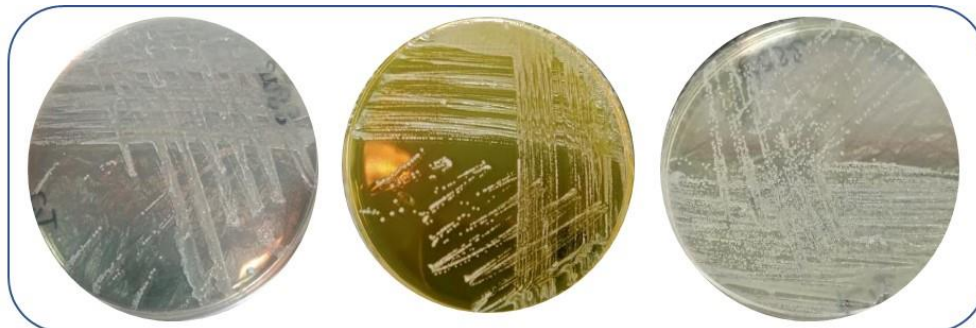


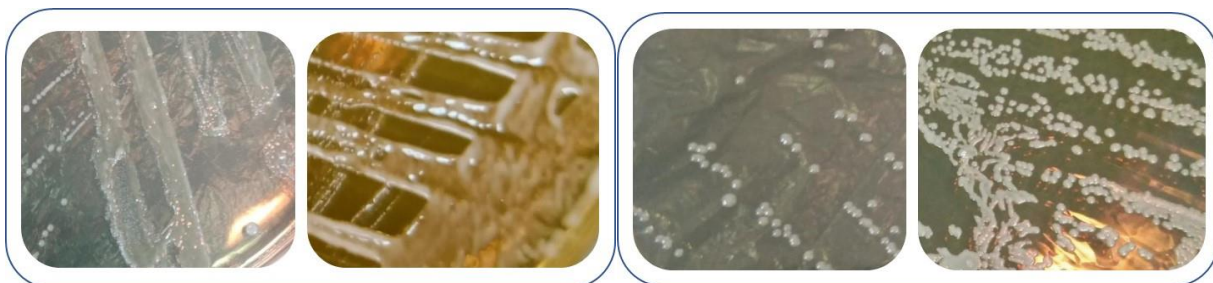
Figure 34 : Aspect filant du caillé obtenu sur le lait saccharose.

Nous avons trouvé que Les souches qui présentent un aspect visqueux dans le milieu (lait saccharose) sont capables de se développer sur le milieu MSE des colonies gluantes et visqueuses témoignent la production d'un agent épaisissant (les EPS) (**Figures35**). Certaines souches qui ont un taux élevé de synérèse sont capables de poussées sur MSE, mais sans développer des colonies gluantes, cela indique que les souches testées ne peuvent formées desEPS. (**Figures 36**). Nous avons constaté que les résultats sont différents d'une espèce à une autre et même au sein d'une même espèce, cinq souches de l'espèce *Lactobacillus plantarum* codées par (JAS1, JBS6C1, JAS10 JAS17, LMS1) ont développées des colonies gluantes sur gélose hypersaccharosé. Par contre les souches des espèces *Lactobacillus fermentum* et *lactococcus lactis ssp lactis*, qu'une seule souche de chaque espèce codée par (LAS1 et E9S2),respectivement qui a pu former des colonies gluantes. Un résultat similaire a été rapporté par **Wang et al. (2010)** que l'espèce *Lactobacillus plantarum* possède une activité texturant plus importante que les autres espèces lactiques et à la capacité de synthétiser une forte quantité del'EPS, et ont mentionné que l'EPS

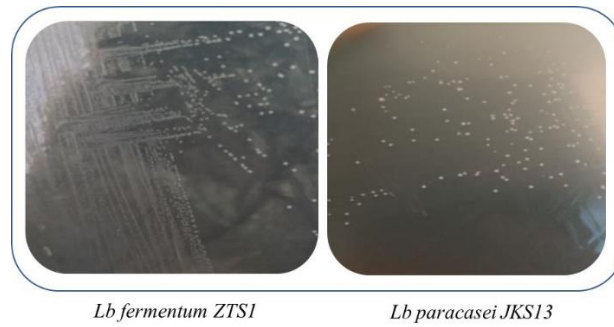
produit par cette souche était composé de mannose, glucose et galactose. Cela nous a permis de confirmer les résultats que nous avons trouvé par la galerie API50CHL. Les souches des espèces *Lactobacillus paracasei* et *Enterococcus faecalis* ont pu pousser sans développer des colonies gluantes. Ces résultats nous ont permis de confirmer les résultats du pouvoir coagulant. Nous avons constaté que la totalité des souches testées appartenant aux espèces *Lb plantarum*, *Lb paraplantarum* et l'espèce *Lc lactis ssp lactis* E9S2, *Lb fermentum* LAS1 ont un bon pouvoir texturant et épaississant. Ces résultats ont révélé que nos souches pourraient être utilisées comme culture starter pour améliorer les propriétés rhéologiques des produits laitiers. **Priyashantha et al. (2019)** ont observé que les propriétés rhéologiques ont été influencées par les cultures lactiques productrices d'EPS qui ont la capacité de retenir le sérum sans l'expulser à la surface, ce qui améliore la consistance et la fermeté du produit. De plus, **Patil et al. (2015)** ont montré que les souches lactiques isolées des dérivés laitiers jouent un rôle important dans l'amélioration de la saveur et des attributs texturaux, elles contribuent à la perception de la sensation en bouche, de la texture et du goût des produits laitiers fermentés et peuvent être utilisées en tant que bioépaississants naturels. D'autre part, **Daba et al. (2021)** ont également mentionné que les souches lactiques précisément celles qui appartiennent aux espèces *Lactobacillus plantarum* ont un pouvoir texturant et épaississant et que leur application dans les produits laitiers améliore la qualité des produits.



Lc lactis ssp lactis E9S2 *Lb plantarum* JAS10 *Lb fermentum* LAS1



Figures 35 : Aspects des colonies obtenues sur le milieu hypersaccharosé pour les souches productrices des EPS.



Figures 36 : Aspects des colonies obtenues pour les souches non productrices des EPS.

3.2.4. Résultats du potentiel autolytique

L'étude de ce potentiel est très importante pour détecter l'aptitude des souches à la lyse et à la libération des enzymes intracellulaires comme les enzymes protéolytiques et lipolytiques qui participent dans le processus de la fermentation et la fabrication des aliments fermentés et jouent un rôle important dans leur qualité organoleptique. D'après les résultats mentionnés dans le **Tableau 12**, nous avons remarqué que les souches des espèces *Lactococcus lactis ssp lactis* et *Enterococcus faecalis* ont un faible potentiel autolytique avec un taux varié de 24.62 à 39.95% et de 18.23 à 19.23% respectivement, par rapport toutes les espèces testées. Ainsi il apparait que les souches de l'espèce *Lactobacillus fermentum* nommée (LAS1, JKS9 et JBS1) sont fortement autolytiques comparativement aux autres espèces, mais le taux le plus élevé a été enregistré chez la souche *Lactobacillus paracasei ssp paracasei* avec un taux de (70.17%).

Tableau 12 : Taux d'autolyse des souches testées

Souches	Taux d'autolyse (%)	Espèces
JAS1	60.18 ±0	<i>Lactobacillus plantarum</i>
JBS6C1	58.64±0.350	
LMS1	52.36±1.115	
JAS10	61.26±0.325	
JAS17	59.06±0.0150	
SVS1	60.95±0.035	
LAS3	45.66±0.025	
JAS15	41.69±0.035	<i>Lactobacillus paraplantarum</i>
JKS13	70.17±0.075	<i>Lactobacillus paracasei</i> <i>ssp paracasei</i>
JKS9	63.39±0.015	<i>Lactobacillus fermentum</i>
JBES5	58.41±0.035	
LAS1	64.12±0.04	
JKS1	62.23±0.095	
JBS1	66.32±0.115	
LAS8	62.48±0.1	
ZMS7	61.28±0.015	
ZTS1	57.22±0.045	
E7	26.96±0.935	<i>Lactococcus lactis ssp lactis</i>
E9S1	24.62±0.055	
E10S1	29.3±0.021	
E9S2	39.95±0.025	
SCS1	18.23±0.03	<i>Enterococcus faecalis</i>
ZAS5	19.23±0.065	

Câmara et al. (2019) ont également trouvé que le taux maximum d'autolyse a été enregistré chez l'espèce *Lb paracasei* (66.6%). Par contre **Meng et al. (2018)** ayant détecté que le niveau d'autolyse pour cette l'espèce était moins important, variait de 0,05 à 39,33 %. On a vu que le taux d'autolyse varié beaucoup d'une souche à une autre et que les souches *Lactobacillus* s'autolysaient plus rapidement que l'*Enterococcus* et *Lactococcus*. Nos observations sont comparables avec celles obtenues par **Ayad et al. (2004)** ayant montré que l'activité autolytique des souches lactiques égyptiennes est plus rapide et plus importante chez *Lactobacillus* par rapport les autres genres testés, ils ont enregistré un taux varié de 0 à 96%. Par ailleurs leurs valeurs étaient supérieures à nos valeurs trouvées. Nos résultats sont en accord avec ceux de **Moussaid et al. (2021)** ayant notés que les souches de *Lactobacillus* isolées du lait de chamelle exercent un effet autolytique plus élevé que celui des souches appartenant au genres *Lactococcus* et *Enterococcus*. **Nieto-Arribas et al. (2010)** ont rapporté que l'activité autolytiques est très intéressante dans la qualité organoleptique du fromage, elle peut accélérer le développement de l'arôme du fromage et réduire l'amertume du fromage par l'hydrolysant les peptides hydrophobes.

3.2.5. Résultats du potentiel protéolytique et lipolytique

Les résultats obtenus pour le pouvoir protéolytique sont représentés dans le **Tableau 13 et la Figure 37**, toutes les souches ont présenté une activité protéolytique sur les milieux testés (PCA et MRS additionné au lait écrémé) dont les diamètres des zones de la protéolyse varient de 15.3 ± 0.577 à 38.67 ± 1.527 et 15.66 ± 1.527 à 29.66 ± 2.081 , respectivement, cependant dans la gélose YMA cette activité s'apparaît uniquement chez les souches nommées (JBES5, ZMS 7, ZTS1 et LMS8) appartiennent à l'espèce *Lactobacillus fermentum* dont le diamètre varié de 14.67 ± 1.154 à 20.33 ± 2.081 .

D'autre part toutes les souches ont montré une capacité importante de dégrader les caséines additionnées sur le bouillon MRS (**Figures 37**). Nous remarquons également que l'activité protéolytique chez les souches testées sur gélose MRS se manifeste par l'apparition des zones sombres par rapport les autres milieux ainsi que les diamètres enregistrés sur ce milieu ont été inférieurs aux diamètres trouvés sur PCA. **Silva et al., (2018)** ont également observé deux types de zones et ont rapporté que les zones protéolytiques présentées sur milieu MRS étaient différentes de celles trouvées sur le milieu gélose au lait. Ils ont expliqué que la zone claire entourant les colonies est un indicateur que les bactéries protéolytiques hydrolysent la caséine pour former des composés azotés solubles. Et la plus claires sur la gélose au lait que les bactéries produisent également de l'acide à partir des hydrates de carbone fermentescibles présents dans

le milieu. Nous avons constaté que la souche (JKS13) *Lb paracasei ssp paracasei* est la souche la plus performante affiche un diamètre 38.67 ± 1.527 , et presque la totalité de nos souches testées ont une forte activité protéolytique, donc les résultats que nous avons trouvé dans l'identification moléculaire par MALD-TOFMS nous permettent de confirmer les résultats de cette activité qui montrent que les souches ayant un pouvoir protéolytique important sont les souches qui ont un score élevé. Cela indique que leur système protéolytique est très riche par le plasmide codant pour la synthèse des protéases associées à la paroi cellulaire qui participent à l'hydrolyse des protéines à poids moléculaire élevé. Nos souches se sont révélées plus protéolytiques que les souches lactiques testées par **Dahou et al. (2016)** et **Marroki et Bousmaha-Marroki, (2014)**. Les espèces de *Lactobacillus fermentum* et *Lactococcus lactis ssp lactis* ont une activité protéolytique plus prononcée que les espèces *Lactobacillus plantarum* et *Enterococcus Faecalis*. L'étude menée par **Tandi Ruba et al. (2020)** a montré que les souches de *Lactobacillus* ayant une forte activité protéolytique par rapport les autres espèces et que l'activité la plus élevée a été trouvée dans le lait fermenté par les espèces *Lb fermentum* et *Lb kéfiri*. L'activité protéolytique des bactéries lactiques est très importante, intervient dans les caractéristiques organoleptiques des produits laitiers. La dégradation de la caséine est une étape cruciale dans le développement des caractéristiques du fromage, libère des peptides des acides aminés libres qui améliorent le développement de la texture et contribuent à l'apparition des précurseurs des composés aromatiques. (**Campagnollo et al., 2018**). D'autre part **Bonomo et Salzano, (2013)**, ont signalé que les souches hautement protéolytiques ne sont pas toujours adaptées à une utilisation comme starter, car elles provoquent l'hydrolyse excessive de la caséine qui peut conduire à la production incontrôlée de peptides amers et d'autres substances indésirables, ce qui influence la texture et la qualité produit final.

Le **Tableau 13** résume ainsi les résultats obtenus pour le potentiel lipolytique, les résultats montrent que le potentiel lipolytique n'a été détectée uniquement chez les souches *Lactobacillus fermentum* (JKS1), *Lactobacillus paraplantarum* (JAS15), *Lactobacillus plantarum* (JAS17, LMS1 et JBS6C1). (**Figures 38**). **Sadi et al. (2016)** ont également détecté la présence de cette activité chez l'espèce *Lactobacillus plantarum*. En ce qui concerne les autres souches testés un résultat négatif a été trouvé, les souches présentent une croissance mais aucune zone claire n'a été observé. Cependant, **de Sousa et al. (2020)** ont détecté la présence de l'activité lipolytiques

chez les souches d'*Enterococcus* isolées du lactosérum de Fromage. Une étude réalisée par **Albayrak et Duran, (2021)** sur les activités lipolytiques et protéolytiques des souches d'*Enterococcus* isolées du fromage artisanal, a montré que ce genre ne possède aucune activité, ni lipolytique, ni protéolytique.

Tableau 13 : Résultat du pouvoir protéolytique et lipolytique sur les différents milieux.

	Diamètres de l'activité protéolytiques (mm)			Diamètres de l'activité lipolytique(mm)
	PCA	MRS	YMA	
<i>Lactobacillus plantarum</i>				
JAS1	15.67±0.577	13.67±1.154	00	Croissance
JBS6C1	20.67±1.527	17.33±0.577	00	17.33±1.542
LMS1	18.33±1.527	15.33±1.527	00	14.33±1.154
JAS10	14.33±2.645	12.33±2.081	00	Croissance
JAS17	16.67±0.577	16.67±1.154	00	13.66±1.154
SVS1	34.67±1.527	23.33±1.154	00	Croissance
LAS3	27±1.732	20.67±2.081	00	
JBS11	24.33±2.081	22.33±0.577	00	
ZMS1	26±2	27.33±1.154	00	
JAS3C3	21.33±1.527	18.33±0.577	00	
SVS9	15.33±0.577	15±00	00	
JBS32	19.67±1.154	16.66±1.154	00	
JAS16	22.67±1.154	18.66±1.155	00	
JBS8CG	31.33±1.154	24.33±2.516	00	
LAS4	13.67±0.577	11.67±0.577	00	
<i>Lactobacillus paraplantarum</i>				
JAS15	17.33±1.527	15.66±1.527	00	20.67±0.577
<i>Lactobacillus paracasei</i>				
JKS13	38.67±1.527	29.66±2.081	00	Croissance
<i>Lactococcus lactis ssp lactis</i>				
E7	33±1	29.33±0.577	00	Croissance
E9S1	29.3±1.54	25.33±1.527	00	
E10S1	29±2.645	22.33±1.527	00	

Suite du Tableau 13 : Résultat du pouvoir protéolytique et lipolytique sur les différents milieux.

E9S2	34.33±1.54	26.33±0.577	00	
E10S2	30.33±2.516	23.33±1.527	00	
<i>Lactobacillus fermentum</i>				
JBES5	30.33±1.154	23±1	20.33±2.081	Croissance
LAS1	15.67±1.154	13.33±0.577	00	
JKS1	18.33±0.577	14.66±0.577	00	14.67±1.154
JBS1	14.33±0.577	12.66±0.577	00	Croissance
LAS8	23.67±1.154	12.33±1.527	00	
ZMS7	34.33±1.154	26.33±0.577	20±1.732	
ZTS1	33.33±0.577	24.33±0.577	14.67±1.154	
JBES85	27.33±0.577	23±2	00	
LAS6	17.33±0.577	15.66±0.577	00	
LAS7	21.33±1.154	13.33±0.577	00	
LMS8	29.67±1.527	19.66±1.527	15.67±1.154	
<i>Enterococcus faecalis</i>				
JAS5	26.33±0.577	22.33±1.527	00	Croissance
SCS1	27.67±1.154	20±1	00	
JAS33	25.67±1.527	20.66±0.577	00	
JAS4	16.33±1.154	12.66±0.577	00	
ZAS5	31.33±1.154	25±2	00	
BES6	26±1	21,331.154	00	

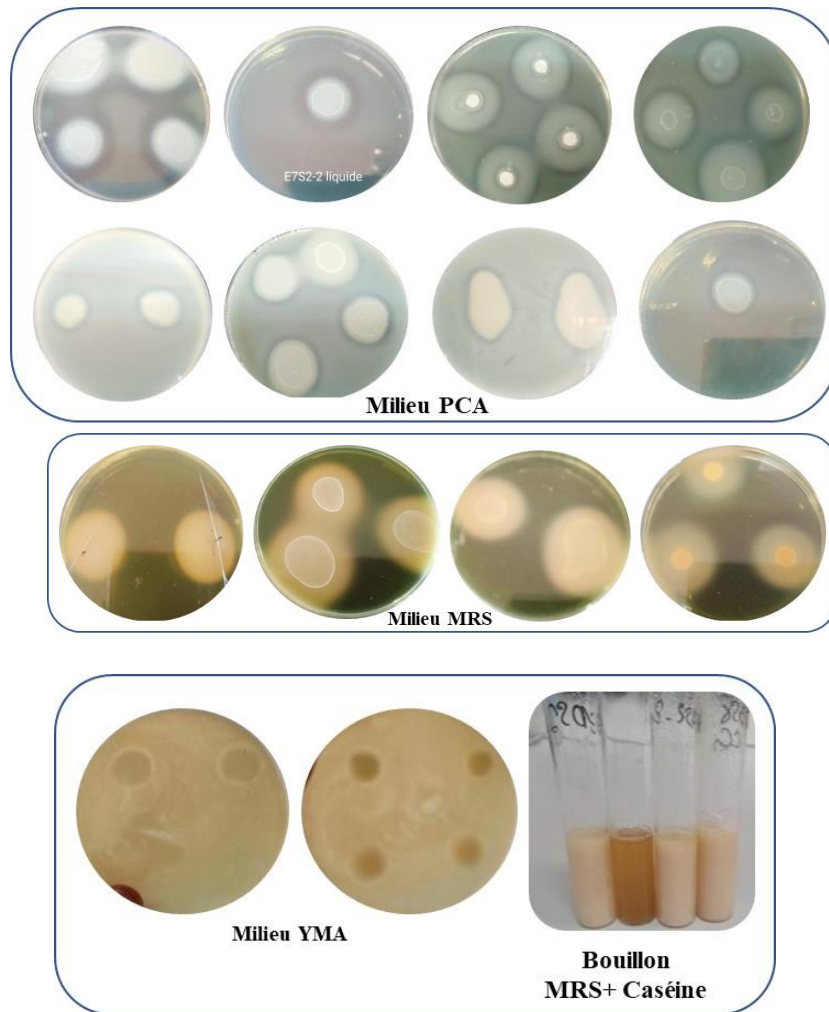


Figure 37 : Activité protéolytique sur les différents milieux.



Figures 38 : Activité lipolytique sur milieu MRS+ 1% Tween 80.

3.2.6. Résultats du potentiel aromatique

Pour ce potentiel nous avons trouvé 11 souches appartenant aux genres *Lactobacillus* et *Lactococcus* sont douées d'un pouvoir aromatisant avec une intensité qui se diffère d'une espèce à une autre dont l'anneau rouge révèle que ces souches ont un potentiel aromatisant important qui va participer aux caractéristiques organoleptiques des aliments fermentés (Figure 39). Pour les souches qui présentent des résultats positifs, Nous avons sélectionné : 3 souches de *Lactobacillus fermentum* (LAS1, JKS1 et ZTS1), 02 souches de *Lactococcus lactis ssp lactis*

(E9S1 et E7) et 06 souches de *Lactobacillus plantarum* (LMS1, JAS10, JBS8CG, JAS17, JBS6C1 et JAS3C3).

Nous avons constaté que les souches de *Lactobacillus fermentum* ayant une activité plus prononcée sur les deux milieux utilisés que les autres, en effet, la couleur de l'anneau obtenu est plus intense et importante chez cette espèce. (Figure 39). On remarque également que le degré d'activité aromatisant observé dans le lait écrémé était plus faible par rapport le milieu clark et Lubs. En outre, une étude menée par Tian et al. (2019) sur cette activité chez l'espèce *Lactobacillus plantarum* isolée à partir d'un produit fermenté artisanale, a montré que cette espèce a un fort pouvoir aromatisant et à la capacité à produire des substances aromatiques telles que l'acétaldéhyde et le diacétyle. Et a également montré que cette espèce peut contribuer au développement des arômes du yaourt.

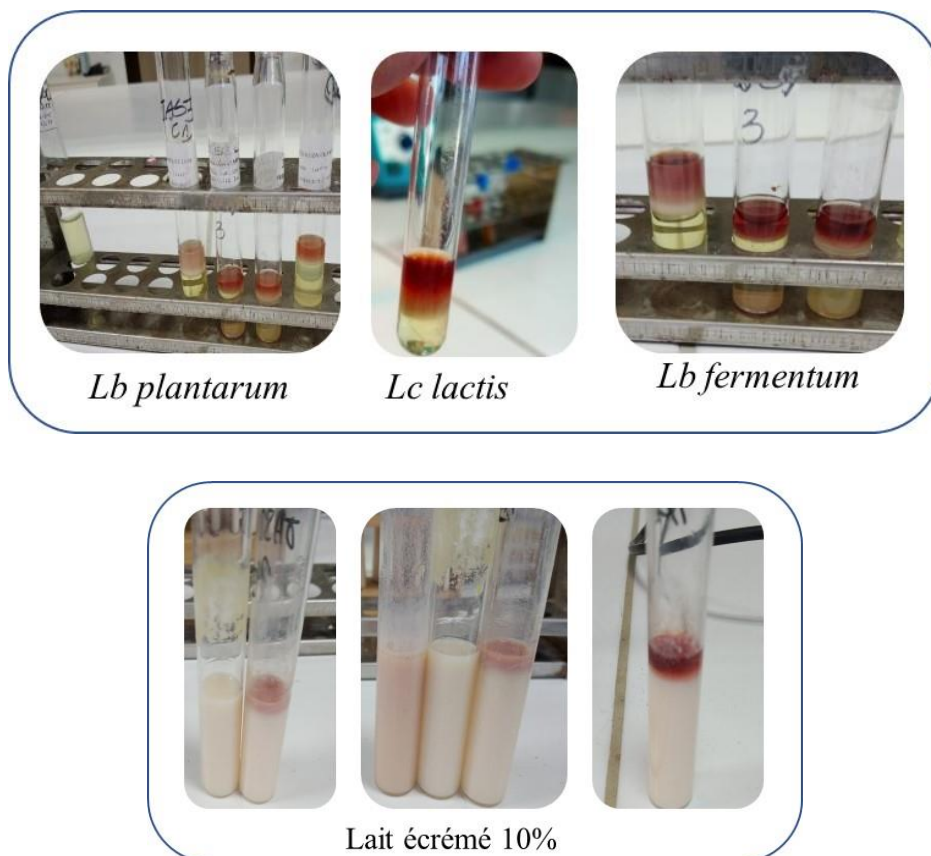


Figure 39 : Le pouvoir aromatisant de quelques souches testées.

3.2.7. Résultats du potentiel antimicrobien

À la lecture des résultats trouvés pour ce potentiel illustrés dans le **Tableau 14** et la **Figures 40**, Nous avons constaté une variabilité des diamètres des zones d'inhibitions exprimés par les différentes espèces lactiques vis-à-vis les souches indicatrices étudiées. Ce qui indique que les germes pathogènes réagissent différemment avec les différentes espèces testées.

Les diamètres sont variés de 9.33 ± 0.577 à 29.33 ± 2.516 . Presque la totalité des souches ont réagi positivement sur toutes les souches indicatrices à l'exception des souches qui appartiennent aux espèces *Lactobacillus fermentum* et *Enterococcus* qui ne présentent aucune activité contre *Proteus mirabilis*. Ainsi nous avons trouvé que nos souches isolées sont douées de propriétés antimicrobiennes très appréciées vis-à-vis les Gram+ : *Staphylococcus aureus* ATCC25923 et *Bacillus cereus* ATCC10876 et les Gram- : *Escherichia coli* ATCC 25922 et *Proteus mirabilis* ATCC 35659 dont les plus grandes zones ont été enregistrées chez les souches codées par LMS1, JBS6C1, ZMS1, JAS1, JAS16, JAS17, JBS11, JAS15, JKS13, E7, E9S2, ZMS7 et JBES8. Les souches appartiennent aux genres *Enterococcus* et *Lactococcus* ont montrée des halos d'inhibitions moins importants que celles du genre *Lactobacillus*, le plus grand diamètre a été visualisé autour des puits *Escherichia coli* ATCC 25922 ($17,33 \pm 3,055$) et aucune inhibition n'a été observé contre la souche fongique *Candida albicans* par les souches *Enterococcus faecalis*. En se basant sur les résultats mentionnés dans le **Tableau 14**, nous avons fait ressortir que l'activité inhibitrice exercée contre *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853 et *Klebsiella pneumoniae* ATCC700603 a été nettement moins importante avec un diamètre des zones varie de 9 ± 1.732 à 15.67 ± 2.081 et de 9.66 ± 1.154 à 14.66 ± 0.577 mm, respectivement. La différence de réponse bactérienne peut être due à des variations de la structure des parois cellulaires, les germes à Gram- possèdent une membrane phospholipide externe qui complète la paroi imperméable aux métabolites antimicrobiens. Tandis que les germes à Gram+ possèdent une couche de peptidoglycane qui est perméable aux substances antimicrobiennes produites par les souches lactiques (**Diep et Nes, 2002 ; Eijsink et al., 2002**). Les résultats ont révélé que les souches de *Lactobacillus plantarum* exercent un effet antimicrobien considérable vis-à-vis *Staphylococcus aureus* ATCC25923, *Bacillus cereus* ATCC10876 et *Escherichia coli* ATCC 25922 comparativement aux autres espèces. Ces résultats sont en accord avec ceux de l'étude menée par **Mami & Kihal, (2019)**, sur le potentiel antimicrobien des souches locales de *Lactobacillus plantarum*, a montré que cette diminution est due à la production multiple de bacteriocines. De plus, **Hu et al. (2019)** ont trouvé une forte activité antimicrobienne pour l'espèce *Lactobacillus plantarum* et ont montré que les acides organiques produits par cette espèce ont joué un rôle clé dans cette activité.

En revanche, **Rahmeh et al. (2019)** ont étudié l'activité antimicrobienne des souches appartiennent aux *Lb plantarum*, *Lb fermentum* et *Lc lactis*, ont trouvé que l'espèce *Lb fermentum* présente une forte activité antimicrobienne, d'autre part ont rapporté que *Lb fermentum* et *Lc lactis* n'ont présenté aucune activité vis-à-vis *Pseudomonas aeruginosa*. De plus, **Angmo et al. (2016)** ont signalé qu'aucune souche lactique n'a présenté un effet antimicrobien contre *Pseudomonas*. Cependant, l'étude réalisée par **Arqués et al. (2015)**, a indiqué que l'activité antimicrobienne des espèces lactiques isolées des produits laitiers contre

les pathogènes est indépendante de l'espèce et de la souche et elle est principalement due à la production de bactériocines comme Pediocin et Lacticin 3147, Nisin. Enterocin AS-48 produits par *Lb. plantarum* WHE 92, *Lc. lactis* DPC 3147, *Lc. Lactis* CNRZ 150, *E. faecalis* TAB 28, respectivement. Toutefois, **Cheriguene et al. (2006)** a également mentionné que les souches lactiques isolées du lait de chèvre étaient productrices de bactériocines.

En ce qui concerne l'activité exercée contre la souche fongique *Candida albicans* ATCC 10231 nous avons enregistré un diamètre varié de $10 \pm 1,732$ à $17,33 \pm 2,516$ et les souches la plus efficaces étaient *Lactobacillus plantarum* JBS6C1 et *Lactobacillus plantarum* JAS16. L'activité antifongique a été suggérée peut-être due à la production des souches lactiques d'un métabolite actif (les acides organiques) et à la production des protéines (**Bazukyan et al., 2018**). En outre, les présents résultats sont relativement comparables à ceux d'autres études évaluant l'activité antimicrobienne des souches lactiques (**S. et al., 2020 ; Kamel et al., 2020 ; El-Shenawy et al., 2017 ; Sharma et al., 2021**).

Tableau 14: Diamètres des zones d'inhibition de l'activité antimicrobienne des souches lactiques testées vis-à-vis les souches pathogènes(mm)

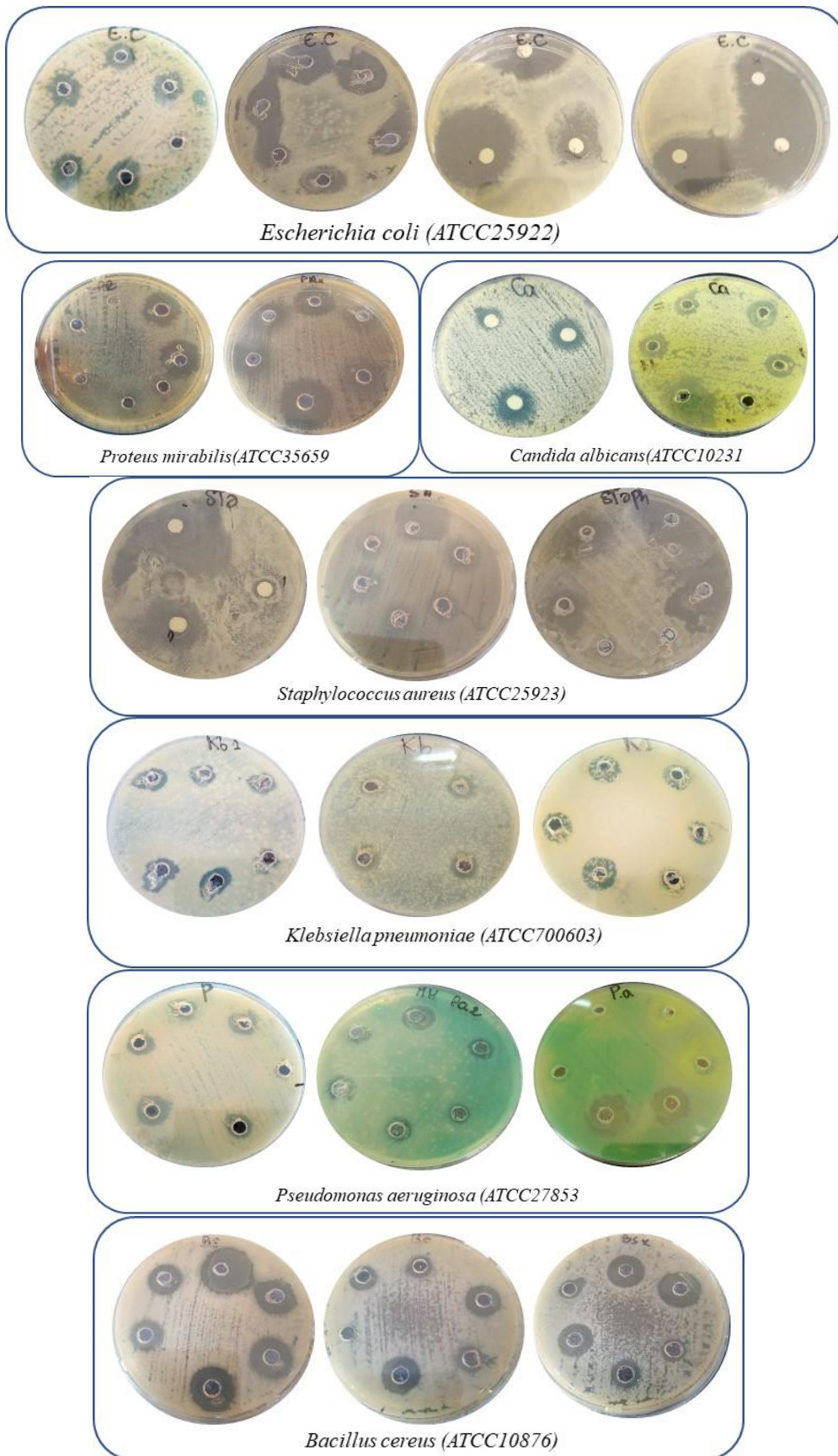
Souches lactiques	Souches indicatrices						
	<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25923)	<i>Bacillus cereus</i> (ATCC 10876)	<i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC 27853)	<i>Klebsiella pneumoniae</i> (ATCC 700603)	<i>Candida albicans</i> (ATCC 10231)	<i>Proteus mirabilis</i> (ATCC 35659)
<i>Lactobacillus plantarum</i>							
JAS1	14,33±0,577	15,67±2,081	17±2	10,33± 1,527	12,67±0,577	15,67±1,527	0
JBS6C1	14,33±0,577	16±2	21±1	13,67±1,527	13,33±2,516	17,33±2,516	18,67±2,081
LMS1	24,33±3,055	20±2	29,33±2,516	14±3	17±4,582	15,33±1,527	13,33±1,527
JAS10	14,67±1,527	19,67±5,033	22,66±1,527	14,67±1,527	15,67±2,081	15,33±1,154	16,67±3,055
JAS17	14±1	15,33±1,154	16±2	13,67±3,055	13,67±2,081	13,67±2,081	14,67±0,577
SVS1	11,33±2,516	00	11,67±3,214	00	10,33±2,081	00	0
LAS3	9,33±0,577	00	12,33±1,154	10,67±0,577	00	0	0
JBS11	16±3	12,33±1,154	9,33±1,527	13,33±1,154	10,67±2,081	0	0
ZMS1	18±3	22±2	28,67±3,055	15,33±0,577	17±1	15±1	11,66±1,527
JAS3C3	14,67±1,527	16±2,645	27,33±1,154	14±2	10,33±2,081	14,67±0,577	0
SVS9	10,33±1,154	00	12,67±1,527	0	10,33±1,527	8,66±1,154	0
JBS32	10,67±1,154	00	0	0	13,33±1,527	0	0
JAS16	14,3±1,527	17,66±1,154	23±2,645	13,67±3,055	15±1,732	16,66±2,081	14±2
JBS8CG	13,33±1,154	13,67±0,577	22±2	13,33±1,154	14±1	14,66±2,516	12,66±0,577
LAS4	10,33±2,516	9,33±1,154	10±0	10,33±1,154	11±0	0	0
<i>Lactobacillus paraplantarum</i>							
JAS15	13,33±2,516	17,67±2,516	21,33±2,081	13,67±2,886	13,33±1,154	12±3	16,67±1,154
<i>Lactobacillus paracasei ssp paracasei</i>							
JKS13	13±1,732	20,33±3,055	12,67±1,154	10,33±2,081	13±2	12,3±2,081	12±0

Suite du Tableau 14: diamètres des zones d'inhibition de l'activité antimicrobienne des souches lactiques testées vis-à-vis les souches pathogènes(mm).

Souches lactiques	Souches indicatrices						
	<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25923)	<i>Bacillus cereus</i> (ATCC 10876)	<i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC 27853)	<i>Klebsiella pneumoniae</i> (ATCC 700603)	<i>Candida albicans</i> (ATCC 10231)	<i>Proteus mirabilis</i> (ATCC 35659)
<i>Lactococcus lactis ssp lactis</i>							
E7	12±2	11,67±0,577	16±2	13,67±1,154	14,33±1,527	10±1,732	0
E9S1	11,33±2,081	0	10,33±2,081	9±1,732	13,67±1,527	0	0
E10S1	11,33±2,516	0	13,33±1,527	10,33±1,527	9,66±1,154	0	0
E9S2	9,67±2,081	0	17,33±3,055	14,67±3,055	11±1	12±2	0
E10S2	10,67±2,516	16,33±2,081	9,33±0,577	14,33±1,527	11,67±1,527	10±2,645	0
<i>Enterococcus faecalis</i>							
JAS5	10,67±3,055	0	15,66±2,516	0	11,67±0,577	0	0
SCS1	11,67±2,516	0	0	11,67±2,081	10±3,464	0	0
JAS33	12±1,732	0	0	10,67±2,516	10±0	0	0
JAS4	11,33±3,511	0	14±2	12±2,645	12,33±1,527	0	0
ZAS5	12,33±1,527	13,33±1,527	9,33±1,527	12,33±1,527	12±0	0	0
JBES6	13,33±2,309	11,33±1,154	12±1,732	13,67±2,081	14±0	0	0

Suite du Tableau 14: diamètres des zones d'inhibition de l'activité antimicrobienne des souches lactiques testées vis-à-vis les souches pathogènes(mm).

<i>Lactobacillus fermentum</i>							
JBES5	12,33±1,527	12±3,464	13,66±1,154	12,33±0,577	14,66±0,577	10,33±0,577	0
LAS1	12,67±3,214	10±1	11,67±2,081	14,67±1,527	13,33±0,577	12±3	0
JKS1	12±3	13,33±1,154	14,67±1,154	14,67±0,577	13±1	13±1,732	0
JBS1	13,33±2,309	14,33±1,527	14,67±2,081	14,33±1,527	13,67±1,527	0	0
LAS8	10±2,645	0	0	0	10,67±2,516	0	0
ZMS7	12,33±0,577	16±3,605	15,33±1,527	14±2,645	13±1,732	14,67±1,527	0
ZTS1	15±2,645	11,33±0,577	11,67±0,577	12,67±1,154	20±2	0	0
JBES8	23,33±3,055	13,33±1,154	22±5,291	15,67±2,081	14,33±0,577	14±2,645	0
LAS6	11,33±1,154	0	9,33±1,154	10,67±1,527	12±1	0	0
LAS7	9±1,732	9,67±1,527	10,67±1,527	10±0	11±2,645	0	0
LMS8	10,67±1,527	12,67±0,577	13,33±1527	10,67±1,527	14,33±0,577	9,33±1,154	0

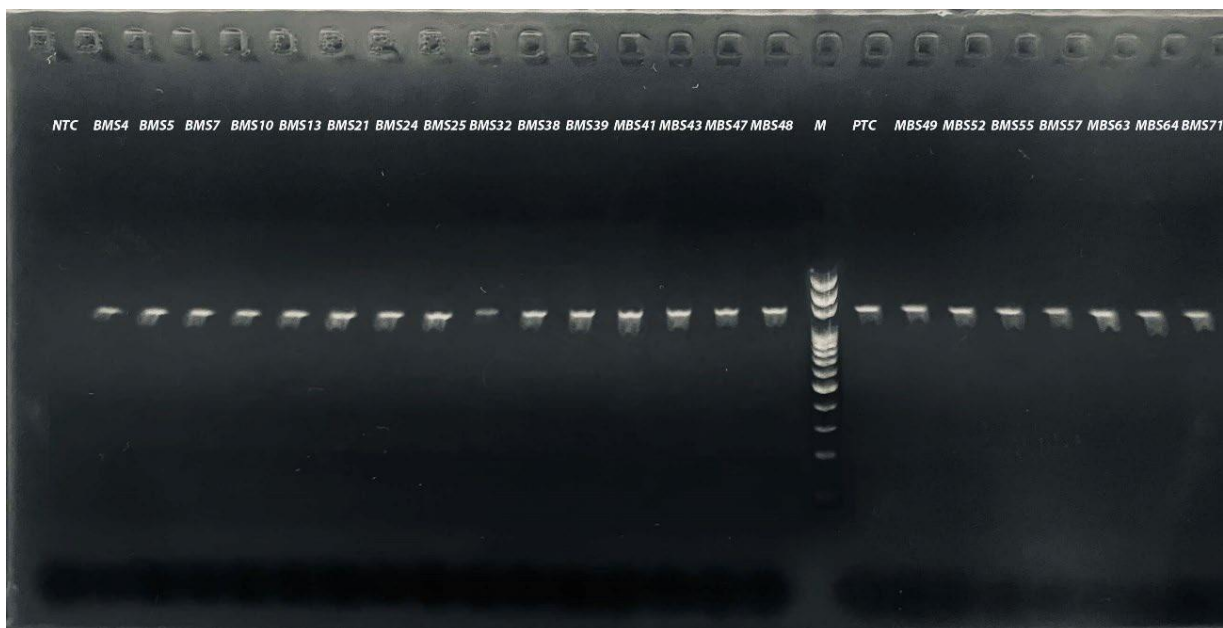


Figures 40 : Activité antimicrobienne de quelques souches testées

4. Résultats de l'identification géotypique

Après l'identification phénotypique et moléculaire par la technique MALDI-TOF MS. Nous avons fait l'identification génétique, 22 souches ont été choisies pour les identifier par PCR et par séquençage de l'ARN16S.

Les produits de PCR ont été analysés par électrophorèse sur gel d'agarose pour assurer et vérifier qu'il y a une amplification et déterminer la taille des fragments d'ADN amplifiés. Les résultats obtenus de gel d'électrophorèse des souches amplifiées sont présentés dans **la Figure 41**. Nous avons obtenu des bandes intenses qui correspondents aux fragments d'ADN amplifiés, l'intensité de la bande indique la quantité d'acide nucléique plus les bandes sont dense plus nous avons d'un matériel nucléaire, ainsi nous avons remarqué que les fragments d'ADN amplifiés ont même distance de migration, une bonne taille et sont regroupés dans le même profile avec une bande de 1300pb. L'ordre d'apparition des bandes de PCR est comme suit, il en est de même pour le reste de l'identification moléculaire : BMS4, BMS5, BMS7, BMS10, BMS13, BMS21, BMS24, BMS25, BMS32, BMS38, BMS39, MBS41, MBS43, MBS47, MBS48, MBS49, MBS52, BMS55, BMS57, MBS63, MBS64, BMS71.



M: 100 bp DNA Ladder, NTC: negative template control, PTC: Positive template control

Figure 41 : Gel électrophorèse des 22 souches amplifiées par PCR.

Après séquençage, nous avons obtenu pour chaque souche une séquence spéciale qui correspond aux brins amplifiés par les amorces utilisées lors de l'analyse par PCR, la lecture des séquences a été faite par le logiciel bio-informatique chromas et Snapgene afin de visualiser le profil des chromatogrammes des séquences obtenus qui nous renseigne sur la pureté des séquences et nous a permis de corriger les séquences qui contiennent les bases nucléotidiques ambiguës et de transformer les séquences au format FASTA pour effectuer un alignement.

Les résultats du profil du chromatogramme montrent que les séquences de nos souches sont très pures et cela est révélé par la présence des meilleurs pics. Les séquences obtenues sont présentées en **Annexe 6**. Par la suite, après l'analyse des chromatogrammes de séquençage, les séquences de nos souches examinées ont été comparées avec d'autres séquences de références mises dans la base de données NCBI GenBank (www.ncbi.nlm.nih.gov) à l'aide de l'outil BLAST pour confirmer l'identité de chaque souche. D'après les résultats de basic local d'alignement, nous avons trouvé une similarité presque totale pour toutes les séquences dont le pourcentage de similitude allant de 99.96 à 100%. Les résultats de l'identité des souches avec leurs pourcentages de similarités sont répertoriés dans le **tableau (15)**.

Tableau 15 : L'identité des souches identifiées par séquençage partiel de l'ARN16S et leurs pourcentages de similarités.

Code des souches	Souches de références les plus proches	Similarité des séquences
A6	<i>Limosilactobacillus fermentum</i> strain NBRC 15885	100%
A7	<i>Limosilactobacillus fermentum</i> strain CIP 102980	100%
A8	<i>Limosilactobacillus fermentum</i> strain CIP 102980	100%
B1	<i>Lactiplantibacillus pentosus</i> strain 124-2	100%
B2	<i>Lactiplantibacillus pentosus</i> strain 124-2	100%
B3	<i>Enterococcus faecium</i> strain ATCC 19434	99.96%
B4	<i>Limosilactobacillus fermentum</i> strain CIP 102980	100%

Suite du Tableau 15 : L'identité des souches identifiées par séquençage partiel de l'ARN16S et leurs pourcentages de similarités.

B5	<i>Limosilactobacillus fermentum</i> strain CIP 102980	100%
B6	<i>Limosilactobacillus fermentum</i> strain CIP 102980	100%
B7	<i>Limosilactobacillus fermentum</i> strain NBRC 15885	100%
B8	<i>Limosilactobacillus fermentum</i> strain NBRC 15885	100%
C1	<i>Enterococcus faecium</i> strain ATCC 19434	100%
C2	<i>Enterococcus faecium</i> strain NBRC 100486	100%
C3	<i>Enterococcus faecium</i> strain ATCC 19434	100%
C4	<i>Enterococcus faecium</i> strain NBRC 100486	100%
C5	<i>Enterococcus faecium</i> strain NBRC 100486	100%
C6	<i>Enterococcus faecium</i> strain NBRC 100486	100%
C7	<i>Enterococcus faecium</i> strain NBRC 100486	100%
C8	<i>Enterococcus faecium</i> strain NBRC 100486	100%
D1	<i>Enterococcus faecium</i> strain NBRC 100486	100%
D2	<i>Enterococcus faecium</i> strain NBRC 100486	100%
D3	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> strain JCM 1149	100%

La construction de l'arbre phylogénique de nos souches identifiées a été réalisée à l'aide du programme MEGA6 en utilisant l'algorithme neighbor-joining comme paramètre pour déterminer les relations phylogénétiques entre les différentes espèces (**figure 42**).

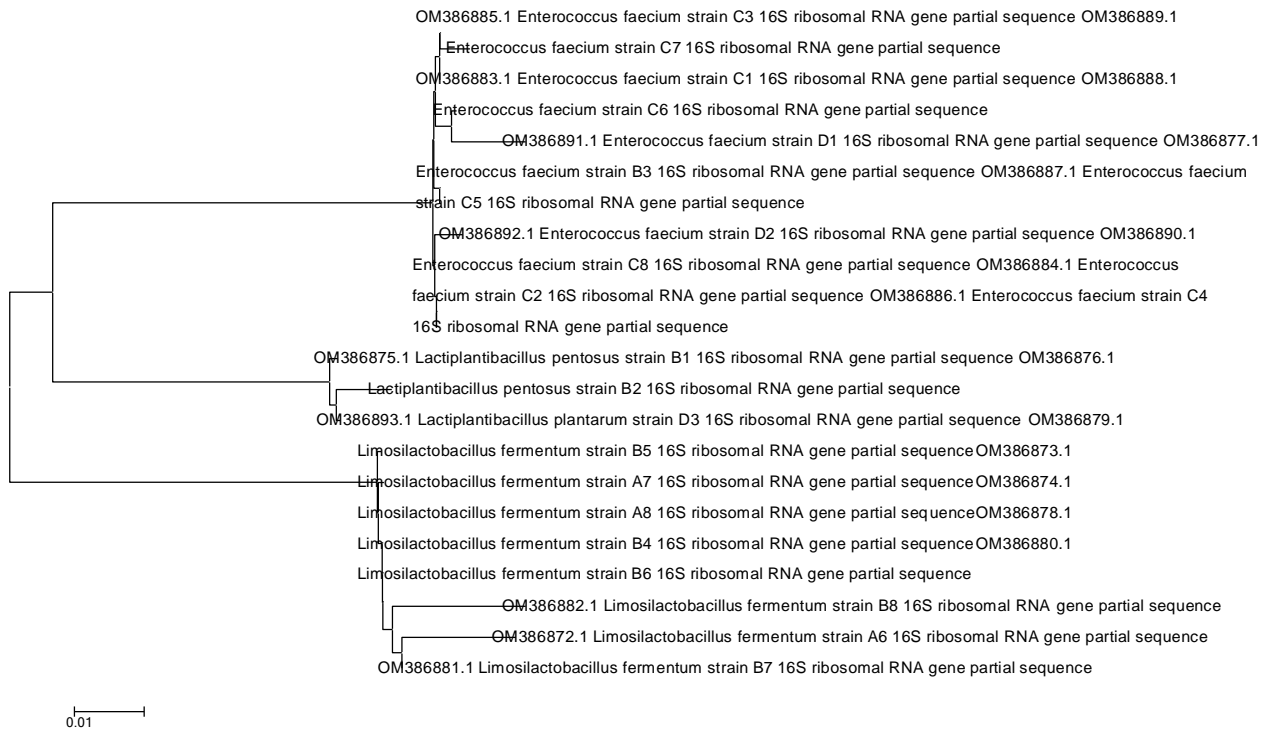


Figure 42: Arbre phylogénique basé sur les séquences de l’ARN 16S des 22 souches identifiées

D’après les analyses des données obtenues, les résultats montrent que les 22 souches appartiennent aux espèces: *Lactiplantibacillus plantarum*, *Enterococcus faecium*, *Limosilactobacillus fermentum*, *Lactiplantibacillus pentosus* avec des pourcentages différents (**figure 43**).

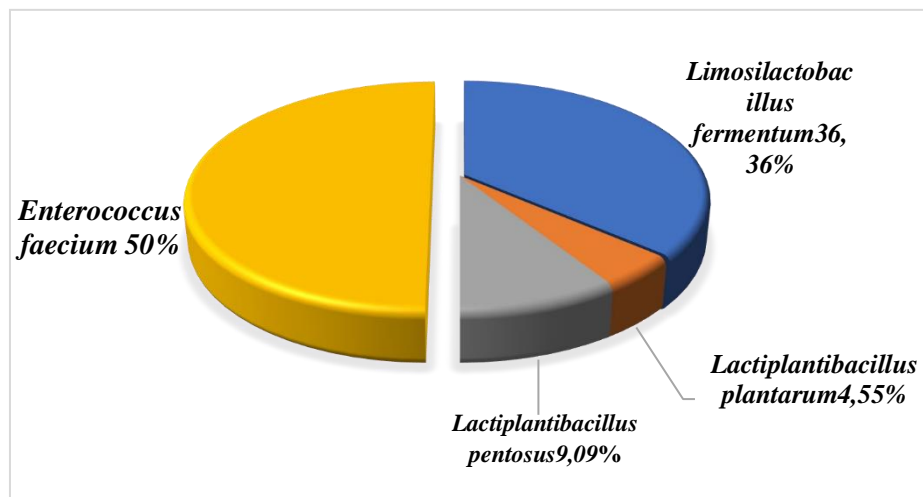


Figure 43 : La répartition des espèces de la collection lactique identifiées par séquençage de l’ARN16S.

La meilleure chose dans notre travail, les séquences de nos souches ont été soumises et publiées dans la base de nucléotidiques GenBank (www.ncbi.nlm.nih.gov). Nous avons obtenu un numéro d'accèsion spéciale pour nos souches. Les numéros d'accèsion attribués pour chaque souche sont mentionnés dans le **tableau (16)**.

Tableau 16 : Numéros d'accèsion de nos souches publiées dans GenBank.

Espèce	Numéros d'accèsion dans la base GenBank
A6(BMS4): SUB10993692 A6 <i>Limosilactobacillus fermentum</i>	OM386872
A7(BMS5): SUB10993692 A7 <i>Limosilactobacillus fermentum</i>	OM386873
A8(BMS7): SUB10993692 A8 <i>Limosilactobacillus fermentum</i>	OM386874
B1(BMS10): SUB10993692 B1 <i>Lactiplantibacillus pentosus</i>	OM386875
B2(BMS13): SUB10993692 B2 <i>Lactiplantibacillus pentosus</i>	OM386876
B3(BMS21): SUB10993692 B3 <i>Enterococcus faecium</i>	OM386877
B4(BMS24): SUB10993692 B4 <i>Limosilactobacillus fermentum</i>	OM386878
B5(BMS25): SUB10993692 B5 <i>Limosilactobacillus fermentum</i>	OM386879
B6(BMS32): SUB10993692 B6 <i>Limosilactobacillus fermentum</i>	OM386880
B7(BMS38): SUB10993692 B7 <i>Limosilactobacillus fermentum</i>	OM386881
B8 (BMS39): SUB10993692 B8 <i>Limosilactobacillus fermentum</i>	OM386882
C1(BMS41): SUB10993692 C1 <i>Enterococcus faecium</i>	OM386883
C2(BMS43): SUB10993692 C2 <i>Enterococcus faecium</i>	OM386884
C3(BMS47): SUB10993692 C3 <i>Enterococcus faecium</i>	OM386885
C4(BMS48): SUB10993692 C4 <i>Enterococcus faecium</i>	OM386886
C5(BMS49): SUB10993692 C5 <i>Enterococcus faecium</i>	OM386887
C6(BMS52): SUB10993692 C6 <i>Enterococcus faecium</i>	OM386888
C7(BMS55): SUB10993692 C7 <i>Enterococcus faecium</i>	OM386889
C8(BMS57): SUB10993692 C8 <i>Enterococcus faecium</i>	OM386890

D1(BMS63): SUB10993692 D1 <i>Enterococcus faecium</i>	OM386891
D2(BMS64): SUB10993692 D2 <i>Enterococcus faecium</i>	OM386892
D3(BMS71): SUB10993692 D3 <i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	OM386893

4.1. Comparaison entre l'identification génotypique et protéomique :

Parmi les 22 souches identifiées par séquençage de l'ARN16S seulement treize qui ont été identifiées auparavant par la technique MALDI-TOF MS. La comparaison des résultats entre les deux techniques a permis de mettre en évidence la présence des mêmes espèces pour la majorité des souches à l'exception de certaines souches qui ont une identité différente pour chaque technique (**Tableau 17**).

Tableau 17 : Comparaison entre l'identification génotypique et protéomique.

Code 1	Code 2	Identification par MALDI-TOF MS	Identification par ARN16S
JKS9	A6(BMS4)	<i>Lactobacillus fermentum</i>	<i>Limosilactobacillus fermentum</i>
JBES10	A7(BMS5)	Non identifiée	<i>Limosilactobacillus fermentum</i>
JKS1	A8(BMS7)	<i>Lactobacillus fermentum</i>	<i>Limosilactobacillus fermentum</i>
LAS1	B1(BMS10)	<i>Lactobacillus fermentum</i>	<i>Lactiplantibacillus pentosus</i>
JAS17	B2(BMS13)	<i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Lactiplantibacillus pentosus</i>
SMS7	B3(BMS21)	Non identifiée	<i>Enterococcus faecium</i>
JBS1	B4(BMS24)	<i>Lactobacillus fermentum</i>	<i>Limosilactobacillus fermentum</i>
JAS3	B5(BMS25)	<i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Limosilactobacillus fermentum</i>
JAS1C1	B6(BMS32)	<i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Limosilactobacillus fermentum</i>

Suite du Tableau 17 : Comparaison entre l'identification génotypique et protéomique.

ZMS1	B7(BMS38)	<i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Limosilactobacillus fermentum</i>
SMS11	B8 (BMS39)	Non identifiée	<i>Limosilactobacillus fermentum</i>
E7	C1(BMS41)	<i>Lactococcus lactis ssp lactis</i>	<i>Enterococcus faecium</i>
SKS13	C2(BMS43)	Non identifiée	<i>Enterococcus faecium</i>
E10S1	C3(BMS47)	<i>Lactococcus lactis ssp lactis</i>	<i>Enterococcus faecium</i>
E9S1	C4(BMS48)	<i>Lactococcus lactis ssp lactis</i>	<i>Enterococcus faecium</i>
JAS41	C5(BMS49)	Non identifiée	<i>Enterococcus faecium</i>
JBES29	C6(BMS52)	Non identifiée	<i>Enterococcus faecium</i>
JKS16	C7(BMS55)	Non identifiée	<i>Enterococcus faecium</i>
SMS15	C8(BMS57)	Non identifiée	<i>Enterococcus faecium</i>
JBS40	D1(BMS63)	Non identifiée	<i>Enterococcus faecium</i>
SBES11	D2(BMS64)	Non identifiée	<i>Enterococcus faecium</i>
JAS10	D3(BMS71)	<i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>

Concernant l'identification des souches qui appartiennent au *Lactobacillus*, les deux méthodes utilisées ont donné des résultats concordants pour le genre : toutes les souches ont été correctement identifiées comme même genre. Néanmoins, l'identification au niveau de l'espèce était inverse pour certaines souches. Cela indique qu'il existe une certaine similarité et que les séquences de ces souches peuvent être similaires et très proches ce qui rend la technique MALDI-TOF MS ne permette pas de les distinguer. En plus, l'espèce *Lactiplantibacillus pentosus* a été identifiée uniquement par PCR. Ces résultats s'expliquent par la différence dans les souches références existantes dans la base de données de chaque technique. En revanche, Les résultats étaient différents pour les souches nommées E7, E10S1 et E9S1, ont été identifiées par MALDI-TOF MS comme étant *Lactococcus lactis ssp lactis* et par séquençage de l'ARN 16S comme *Enterococcus faecium*. Cette différence peut être due probablement aux amorces standards utilisées qui ne sont pas adaptées pour l'identification de l'espèce *Lactococcus lactis ssp lactis* ou bien par mutation des souches, car

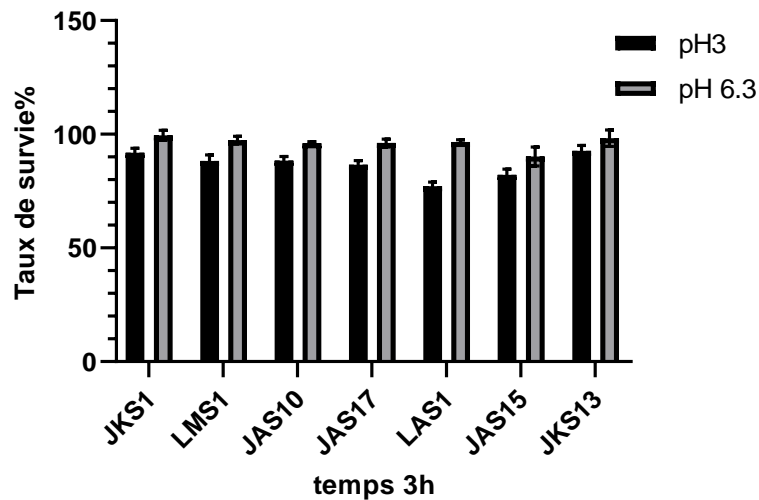
l'identification a été faite après 3 ans de l'isolement des ces souches cela peut influencer sur les résultats et causer de mutation. Nos résultats sont en accord avec ceux de **Callaway et al. (2013)** qui ont trouvé que l'identification des souches de *Lactobacillus* par les mêmes techniques était discordante pour certaines espèces et ont rapporté que le choix des amorces d'approprier limite la différence entre les deux techniques. D'un autre coté **Dec et al. (2016)** ont montré que les deux techniques ont une aptitude à l'identification précise des espèces, mais ont également signalé que certaines méthodes génotypiques n'ont pas la capacité à discriminer les espèces présentant une homologie très élevée de séquences de l'ARN 16S. En outre, **Garcia et al. (2016)** ont indiqué que l'identification des espèces de BL par l'analyse MALDI-TOF MS et l'analyse de l'ARNr 16S a révélé une concordance de 100% pour les espèces *Lb plantarum*, *Lb pentosus* mais une divergence a été trouvée entre ces deux techniques pour l'identification de *Lb fermentum* et *Lb paracasei*. Cette différence a été également observée par **Dušková et al. (2012)**.

5. Étude de l'activité probiotique des souches pures

5.1. Résultats de la tolérance à l'acidité

Nous avons trouvé qu'aucune des 7 souches de *Lactobacillus* testées (*Limosilactobacillus fermentum* JKS1, *Lactiplantibacillus plantarum* LMS1 et JAS10, *Lactiplantibacillus pentosus* JAS17, *Lactiplantibacillus paraplantarum* JAS15, *Lacticaseibacillus paracasei* JKS13) n'a pu survivre à pH2 par contre l'essai de la tolérance au pH 3 a révélé que toutes les espèces ont montré une bonne tolérance et ont présenté un taux de survie varié de $77.18\% \pm 1.74$ à $93\% \pm 1.95$. De plus, les deux espèces *Lacticaseibacillus paracasei* JKS13 et *Limosilactobacillus fermentum* JKS1 ont été considérées les plus tolérantes avec un taux de survie de $93\% \pm 1.95$ et $91.84\% \pm 1.90$, respectivement (**Figure 44**). De plus, la même constatation a été faite par **Mantzourani et al. (2018)** qui ont trouvé que l'espèce *Lactobacillus paracasei* présentait un fort potentiel probiotique comparativement à la souche de référence *Lactobacillus plantarum* ATCC14971. Le taux de survie de nos souches de l'espèce *Lactiplantibacillus paraplantarum* est inférieur à celui trouvé par **Nath et al. (2020)** avec la même espèce isolée du lait fermenté (93.48%), et plus important par rapport à ceux obtenus par **Vanniyasingam et al. (2019)** qui ont également signalé l'incapacité de cette espèce à résister au pH 2. D'autre part, pour la souche JKS1 des résultats proches à nôtres ont été obtenus par l'espèce *Limosilactobacillus fermentum* isolée à partir du lactosérum (**Melia et al., 2022**).

Azat et al. (2016) ont signalé que le pH du suc gastrique est considéré comme l'un des principaux facteurs la survie des souches lors de leur passage dans l'estomac et que le pH 3 est le pH optimal et adéquat pour la sélection des souches probiotiques.



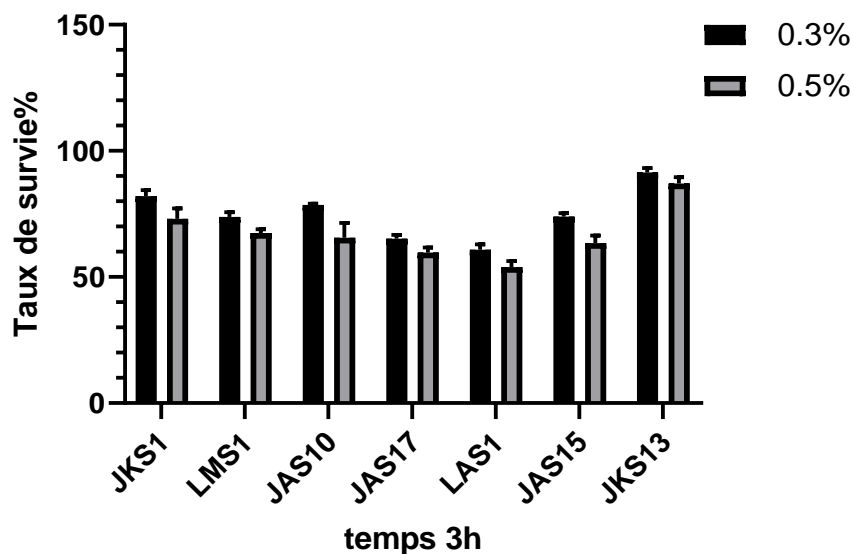
JKS1: *Lb fermentum*, LMS1: *Lb plantarum*,
 JAS10: *Lb plantarum*, JAS17: *Lb pentosus*,
 LAS1: *Lb pentosus*, JKS13: *Lb paracasei*,
 JAS15: *Lb paraplantarum*

Figure 44 : Taux de survie des souches testées à l'acidité.

5.2. Résultats de la tolérance aux sels biliaires

Selon la figure 45 les valeurs du taux de survie des souches dans les deux concentrations testées varient entre $60.77\% \pm 2.10$ à $91.46\% \pm 1.68$ pour (0.3% sels biliaires) et $53.91\% \pm 2.39$ à $87.02\% \pm 2.57$ (0.5% sels biliaires). Le taux le plus élevé a été enregistré chez *Lacticaseibacillus paracasei* JKS13 dans 0.3% et 0.5%, et le plus faible chez *Lactiplantibacillus pentosus* LAS1 et JAS17. Il ressort que toutes les souches ont une bonne tolérance à 0,3% mieux qu'à 0,5%. Demême, Zhang et al. (2016) ont trouvé que la viabilité des souches lactiques était faible à 0.5 et 1%, ainsi ont signalé que 0.3% une bonne concentration pour la sélection des souches tolérantes axels biliaires. D'autre part, Prete et al. (2020) ont signalé que 0.5% représente la concentration moyenne de bile dans le tractus gastro-intestinal. Plusieurs études ont signalé la capacité de ces espèces étudiées à la tolérance aux sels biliaires, en effet, des résultats plus importants ont été enregistré par Marquez et al. (2022) avec les espèces *Limosilactobacillus fermentum* 98.92% et *Lactiplantibacillus paraplantarum* 96.09%. Tandis que, nos résultats de l'espèces *Lactiplantibacillus plantarum* et

Lactiplantibacillus pentosus sont similaires à ceux trouvés par **Sitdhipol et al. (2021)** qui ont mentionné un taux de survie varié de 60 à 70%. Et semblent être plus proche aux résultats publiés par **Sirichokchatchawan et al. (2018)** qui ont révélé une viabilité dans les deux concentrations (0.3% et 0.5%). La tolérance aux sels biliaries est une caractéristique qui est spécifique à chaque souche. En outre, une étude antérieure réalisée par **Bao et al. (2010)** a montré que la tolérance des souches lactiques aux sels biliaries est liée à l'activité des BSH qui peut les hydrolyser. **La figure 46** montre la viabilité des souches et l'aspect des colonies obtenues après l'exposition des souches aux sels biliaries et au pH.



JKS1: *Lb fermentum*, LMS1: *Lb plantarum*,
 JAS10: *Lb plantarum*, JAS17: *Lb pentosus*,
 LAS1: *Lb pentosus*, JKS13: *Lb paracasei*,
 JAS15: *Lb paraplantarum*

Figure 45 : Taux de survie des souches testées aux sels biliaries.

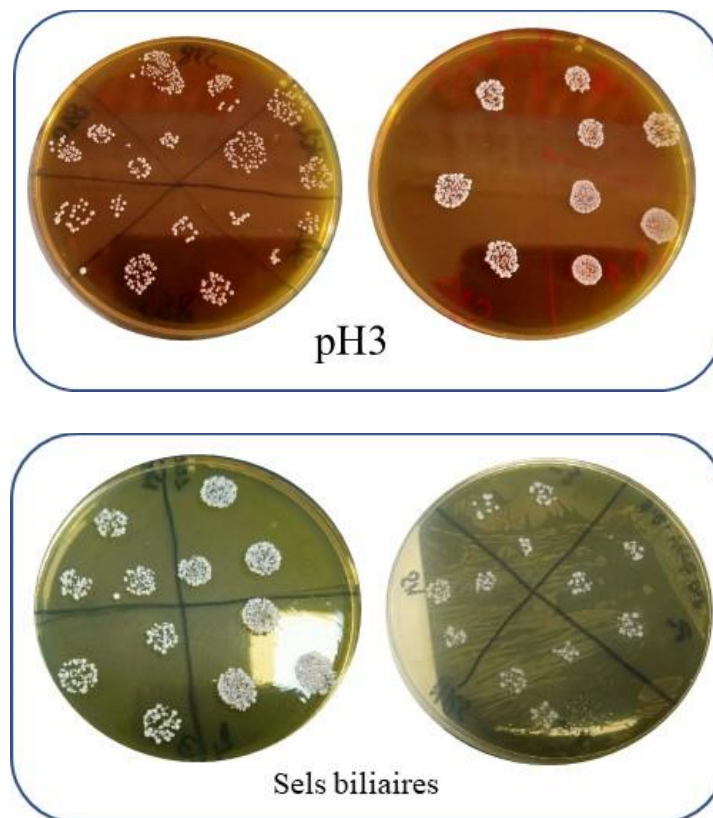


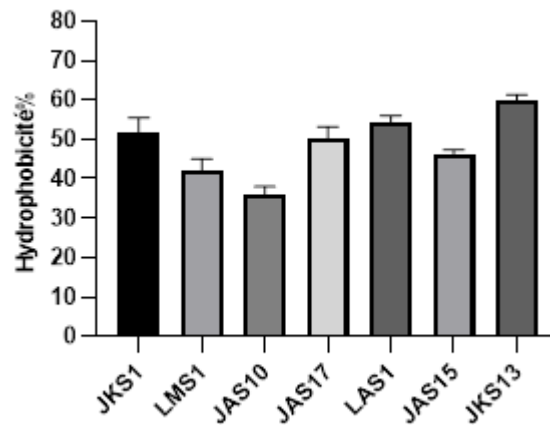
Figure 46 : L'aspect de croissance des colonies après leur exposition au pH et aux sels biliaires.

5.3. Résultats de l'hydrophobicité

Selon les résultats illustrés dans **la figure 47**, il en ressort que les souches testées présentent une hydrophobicité modérée ($\leq 60\%$). Les valeurs les plus élevées ont été enregistré chez *Lacticaseibacillus paracasei* JKS13, *Lactiplantibacillus pentosus* LAS1 et *Limosilactobacillus fermentum* JKS1 avec $59.85\% \pm 1.48$, $54.35\% \pm 1.62$ et $51.65\% \pm 3.75$, respectivement. Cela indique que ces espèces ont la capacité d'adhérer à la muqueuse du tractus intestinal. Néanmoins, l'espèce *Lactiplantibacillus plantarum* JAS10 a donnée la valeur la plus faible ($35.9\% \pm 2.12$). En revanche, La valeur que nous avons trouvée est plus importante à celle signalée par **Jitpakdee et al. (2021)** chez *Lactobacillus plantarum* SPS109 ($27.77\% \pm 2.04$). Tandis que, **García-Cayuela et al. (2014)** ont affiché des valeurs très élevée et ont rapporté que l'espèce *Lactobacillus plantarum* a une très forte capacité à la fixation sur les cellules épithéliales. De Plus, nos résultats sont différents à ceux d'**Shi et al. (2019)** qui ont trouvé que *Lactobacillus plantarum* PT0018/KX078275.1 présente une forte hydrophobicité que *Lactobacillus paracasei* LP 8/KR006315.1. Et sont similaires à ceux publiés par **Huang et al. (2021)** qui ont révélé que *Lb. paracasei* subsp. *Tolerans* et *Lb. Pentosus* ont donnée un pourcentage d'hydrophobicité plus élevé que *Lb. Fermentum* et *Lb. plantarum* subsp. *Plantarum*. De

même, Choudhary *et al.* (2019) ont indiqué que *Lactobacillus pentosus* présente une hydrophobicité importante comparativement aux autres espèces.

Tarique *et al.* (2022) ont suggéré que la capacité d'attachement d'une bactérie probiotique aux cellules épithéliales est une propriété dépendante de la souche.

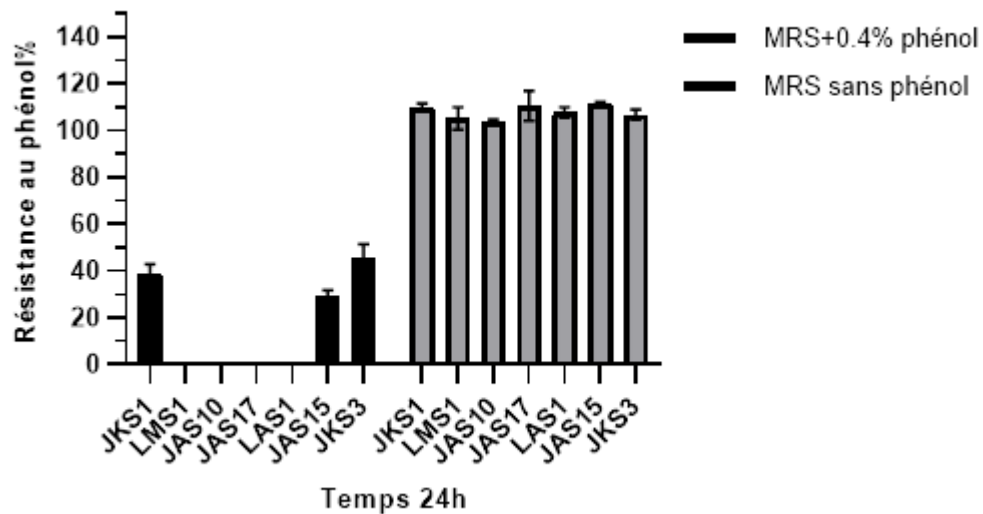


JKS1: *Lb fermentum*, LMS1: *Lb plantarum*,
 JAS10: *Lb plantarum*, JAS17: *Lb pentosus*,
 LAS1: *Lb pentosus*, JKS13: *Lb paracasei*,
 JAS15: *Lb paraplantarum*

Figure 47 : Pourcentage d'hydrophobicité.

5.4 Résultats de la résistance des souches au phénol

D'après les résultats obtenus, parmi les 7 souches testées uniquement les trois espèces : *Lacticaseibacillus paracasei* JKS13, *Limosilactobacillus fermentum* JKS1 et *Lactiplantibacillus paraplantarum* JAS15 qui ont montré une résistance au phénol à 0.4%. Avec un pourcentage de croissance de $45.97\% \pm 5.49$, $38.91\% \pm 3.85$ et $29.60\% \pm 2.03$, respectivement. (Figure 48). Des résultats similaires à nôtres ont été obtenus par Fonseca *et al.* (2021) qui ont trouvé que le taux de survie de phénol ne dépasse pas 60% en présence la concentration 0.2%, et que *Lb. paracasei* était l'espèce la plus tolérante. En revanche, une étude réalisée par Shehata *et al.* (2016) a révélé que l'espèce *Lactobacillus paracasei* a montré une faible résistance à 0.5% du phénol (20%) et une forte capacité à tolérer ce composant à 0.2% (80%). La présence des phénols peut être liée à de nombreux facteurs tels que le régime alimentaire, les protéines et la composition du microbiote intestinal. La détermination de la tolérance des souches aux phénols est une caractéristique intéressante pour la caractérisation des souches probiotiques, car ils inhibent diverses espèces de bactéries et peuvent affecter l'activité métabolique du microbiote. En plus, ils ont des effets bactériostatiques contre certaines souches probiotiques. (Yadav *et al.*, 2016). La figure 49 montre la viabilité des souches et l'aspect des colonies obtenues après leur résistance au phénol.



JKS1: *Lb fermentum*, LMS1: *Lb plantarum*,
 JAS10: *Lb plantarum*, JAS17: *Lb pentosus*,
 LAS1: *Lb pentosus*, JKS13: *Lb paracasei*,
 JAS15: *Lb paraplantarum*

Figure 48 : Pourcentage de la résistance au phénol.

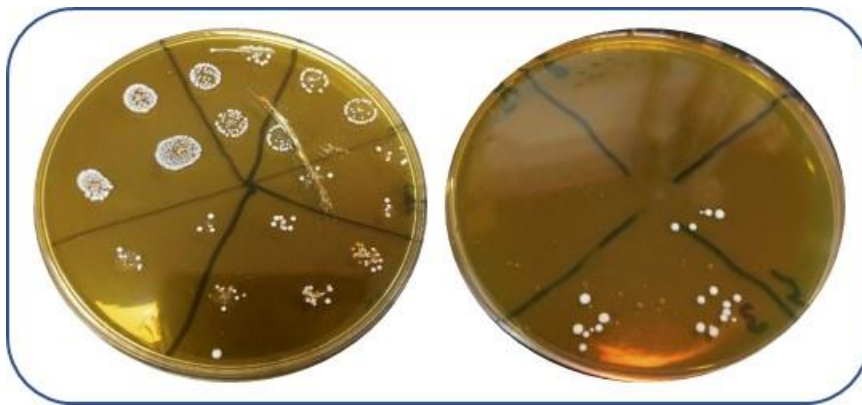


Figure 49 : L'aspect des colonies après leur croissance en présence de phénol.

5.5. Résultats de la sensibilité aux antibiotiques

Résultats de la sensibilité et la résistance des souches testées aux antibiotiques sont mentionnés dans le **tableau 18** et **figure 50**. Une grande sensibilité des souches a été remarquée envers l'Amoxicilline(25µg), Gentamicine(10µg), l'Ampicilline(10µg), Pipéracilline(30µg), Nitroxoline (20µg), Amoxicilline(20µg) + Acide clavulanique(10µg) et Érythromycine(15µg). Par ailleurs, une sensibilité moyenne a été révélée envers Cefotaxime(30µg) et Levofloxacin(5µg). Tandis que, une résistance a été enregistrée pour toutes les espèces envers cefoxidim (30 Mg), Tétracycline(30µg) et

Vancomycin(30µg) à l'exception de l'espèce *Limosilactobacillus fermentum* JKS1 qui a révélée sensible à ce dernier. Également, **Morandi et al. (2015)** et **Vasiee et al. (2018)** ont trouvé que toutes les souches de *Lactobacillus* isolées des dérivés laitiers étaient résistantes à la Vancomycine.

Nos résultats sont plus importants à ceux trouvés par **Kasimin et al. (2020)** qui ont signalé que les souches de *Lactobacillus* isolées des produits laitiers ont une résistance envers Érythromycine. Toutefois sont similaires à eux envers Ampiciline. En outre, les deux espèces *Lactiplantibacillus pentosus* et *Limosilactobacillus fermentum* isolées par **Boricha et al. (2019)** ont montré des diamètres des zones d'inhibitions moins importantes à nôtres envers les trois antibiotiques :Tetracycline, Amoxycyline et Érythromycine.

D'après les résultats obtenus, Nous avons constaté qu'au sein de la même espèce, les souches ont montré un degré variable de sensibilité et de la résistance. Pour chaque souche, le diamètre des zones d'inhibitions diffère selon l'antibiotique. La différence de la résistance et de la sensibilité trouvées peut être liée à la capacité des souches, et à la concentration des antibiotiques et leur mode d'action.

K. Wang et al. (2019) ont rapporté que les conditions de culture, telles que le milieu de culture ou le volume de l'inoculum peut également influencer les tests de sensibilité. Plusieurs études ont signalé également qu'il existe des interactions variées entre les antibiotiques et les espèces lactiques (**Kumar & Kumar, 2015 ; Vasiee et al., 2018; Reuben et al., 2020; Jha et al., 2022**).

Tableau 18: Antibiogramme des souches lactiques testées.

Souches	Les antibiotiques											
	AMX 25 µg	CX 30 Mg	Amp10µg	E 15µg	gaz 30µg	VA 30µg	CN 10µg	PRL30µg	LEV 5µg	NO20µg	TE 30µg	AMC30µg
<i>Limosilactobacillus fermentum</i>												
JKS1	27.5±3.54 (S)	10±1.41 (R)	19±2.83 (I)	23.5±2.12 (S)	20.5±3.54 (S)	20±1.41 (S)	25.5±3.53 (S)	11.5±2.12 (R)	13.5±3.54 (R)	19±1.41 (I)	16±1.41 (I)	31.5±2.12 (S)
JBS1	28±1.41 (S)	11±2.83 (R)	31±1.41 (S)	24.5±2.12 (S)	21.5±2.12 (S)	10±1.41 (R)	22.5±3.53 (S)	21.5±2.12 (S)	16±1.41 (I)	17.5±2.12 (I)	13.5±2.12 (R)	33.5±2.12 (S)
<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>												
LMS1	16±1.41 (I)	00 (R)	29.5±2.12 (S)	23±1.41 (S)	17.5±2.12 (I)	00 (R)	17.5±2.12 (I)	14±1.41 (R)	14±4.24 (R)	15±1.41 (R)	9±1.41 (R)	25±2.83 (S)
JAS10	25.5±3.53 (S)	11±2.83 (R)	31.5±2.12 (S)	25.5±2.12 (S)	18.5±2.12 (I)	00 (R)	14±1.41 (R)	25±2.83 (S)	16.5±3.54 (I)	22±2.82 (S)	13±2.83 (R)	33±2.83 (S)
<i>Lactiplantibacillus pentosus</i>												
JAS17	26±1.41 (S)	9±0.71 (R)	28±2.82 (S)	20±2.83 (I)	15±1.41 (R)	00 (R)	23±2.83 (S)	24±2.83 (S)	12±2.83 (R)	25±2.83 (S)	10±2.83 (R)	23±4.24 (S)
LAS1	29.5±2.12 (S)	00 (R)	30±2.82 (S)	17.5±2.12 (I)	20±1.41 (I)	00 (R)	25±2.83 (S)	22.5±4.95 (S)	18.5±3.54 (I)	27.5±2.12 (S)	13±1.41 (R)	26±2.83 (S)
<i>Lactiplantibacillus paraplantarum</i>												
JAS15	30±4.24 (S)	00 (R)	27.5±2.1 (S)	22±2.83 (S)	17±1,41 (I)	00 (R)	14.5±2,12 (R)	27.5±2.12 (S)	20.5±3.54 (I)	26.5±2.12 (S)	13.5±3.54 (R)	34.5±3.54 (S)
<i>Lactiacaseibacillus paracasei</i>												
JKS13	26.5±2.12 (S)	8±1.41 (R)	31.5±2.12 (S)	23±2.83 (S)	16±1.41 (I)	00 (R)	26.5±3.54 (S)	23.5±2.12 (S)	18.5±3.54 (I)	31±1.41 (S)	17.5±3.54 (I)	29±4.24 (S)

Sensible (S ≥21 mm), intermédiaire (I entre 16-20 mm) et résistance (R≤15 mm).

AMX : Amoxicilline, CX : Cefoxidim, AMP : Ampicilline , E : Érythromycine, Gaz : Ceftazidine, VA : Vancomycin, CN : Gentamicine, PRL : Pipéracilline , LEV : Levofloxacin, NO : Nitroxoline, TE : Tétracycline, AMC :Amoxicilline+ Acide clavulanique.

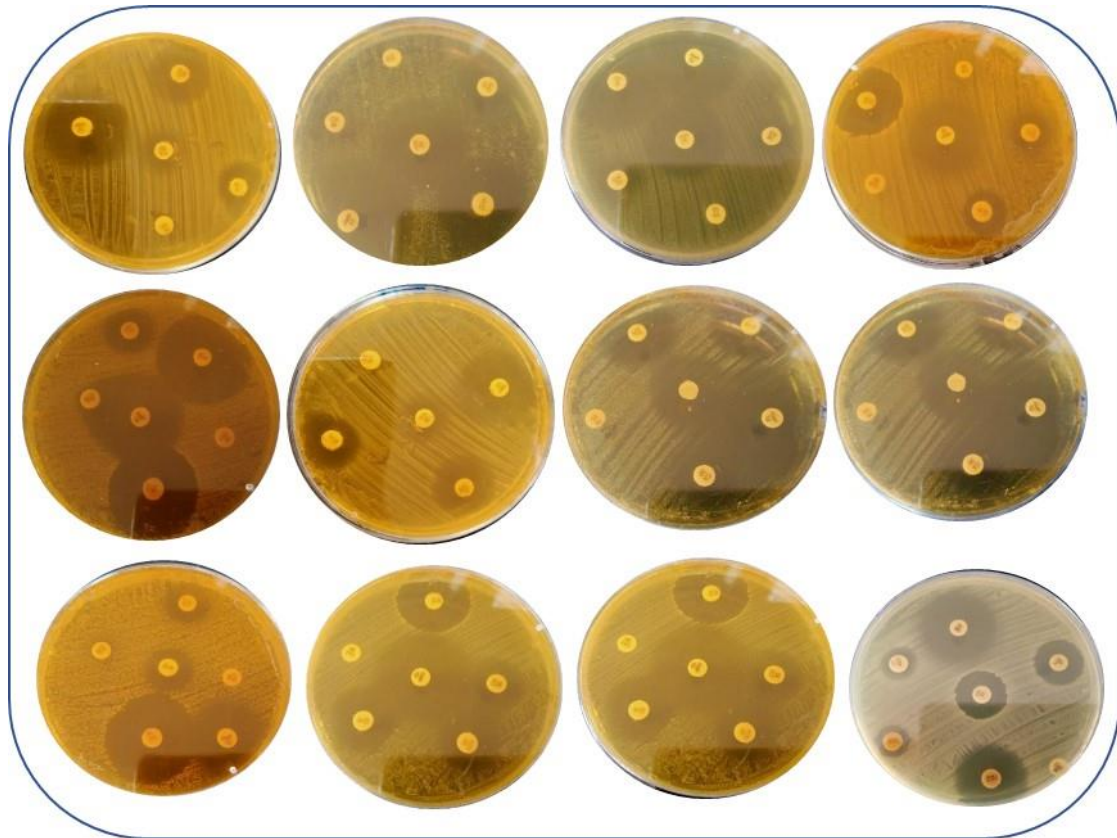


Figure 50: L'antibiogramme des quelques souches testées.

6. Résultats de la préparation d'un lait fermenté par l'incorporation des souches isolées

6.1 Résultats du choix des levains

La sélection des levains est basée sur les trois potentiels suivants : acidifiant et coagulant, texturant et aromatisant donc le choix est porté sur les souches les plus acidifiantes, texturants et aromatisants ainsi que sur la base des résultats obtenus après l'étude des interactions des souches entre elles pour la reconstitution de nos levains lactiques afin de les utiliser dans la préparation d'un lait fermenté « yaourt étuvé ». Pour l'étude des interactions nous avons testé seulement les souches qui appartiennent aux espèces *Lactiplantibacillus plantarum*, *Lactiplantibacillus pentosus* et *Limosilactobacillus fermentum*, les résultats montrent que la majorité des souches testées présentent une interaction positive ce qui indique qu'il y a une relation symbiotique entre elles (**Tableau 19**). Nous avons constaté que les souches de l'espèce *Lactiplantibacillus pentosus* sont symbiotiques avec toutes les espèces testées par contre les souches de *Limosilactobacillus fermentum* sont antagonistes avec certaines souches de l'espèce *Lactiplantibacillus plantarum* codées par LMS1, JBS6C1 dont le diamètre varie de 8.67 à 10.67. Aussi présente une interaction négative entre elles-mêmes.

Lors de cette étude, six levains reconstitués sont utilisés, nous avons utilisé des espèces lactiques qui n'ont jamais été utilisées dans la préparation d'un lait fermenté « yaourt étuvé ». Nous avons préparé deux levains à base de nos souches seulement sans l'ajout d'une souche commerciale et quatre levains qui contiennent nos souches en association avec une souche commerciale (*Streptococcus thermophilus* (ChoozitTA54LYO125DCU:BC221/DA21)). (Tableau 20).

Tableau 19 : Résultats de l'étude des interactions entre les souches sélectionnées.

Souches	JKS9	JBS1	JAS1C1	JKS1	JAS17	LAS1	JAS10	LMS1	JBS6C1
<i>Limosilactobacillus fermentum</i>									
JKS9	NT	00(+)	8.67± 2.081(-)	00(+)	00(+)	00(+)	00(+)	00(+)	10.67± 0.58(-)
JBS1	00(+)	NT	00(+)	00(+)	00(+)	00(+)	00(+)	10± 2.65(-)	00(+)
JAS1C1	8.67± 2.081(-)	00(+)	NT	8.67± 1.53(-)	00(+)	00(+)	00(+)	00(+)	00(+)
JKS1	00(+)	00(+)	8.67±1. 53(-)	NT	00(+)	00(+)	00(+)	10.33± 2.082(-)	00(+)
<i>Lactiplantibacillus pentosus</i>									
JAS17	00(+)	00(+)	00(+)	00(+)	NT	00(+)	00(+)	00(+)	00(+)
LAS1	00(+)	00(+)	00(+)	00(+)	00(+)	NT	00(+)	00(+)	00(+)
<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>									
JAS10	00(+)	00(+)	00(+)	00(+)	00(+)	00(+)	NT	00(+)	00(+)
LMS1	00(+)	10± 2.65(-)	00(+)	10.33± 2.082 (-)	00(+)	00(+)	00(+)	NT	00(+)
JBS6C1	10.67± 0.58(-)	00(+)	00(+)	00(+)	00(+)	00(+)	00(+)	00(+)	NT

+ : interaction positif(symbiose), - : interaction négatif(antagonisme).

Tableau 20 : Noms et proportions des levains reconstitués

LBM1	JAS10	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> OM386893	40%
	Souche commerciale	<i>Streptococcus thermophilus</i> (ChoozitTA54LYO125DCU: BC221/DA21)	60%
LBM2	JAS10	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> OM386893	60%
	Souche commerciale	<i>Streptococcus thermophilus</i>	40%
LBM3	JAS17	<i>Lactiplantibacillus pentosus</i> OM386876	40%
	Souche commerciale	<i>Streptococcus thermophilus</i>	60%
LBM4	JAS17	<i>Lactiplantibacillus pentosus</i> OM386876	60%
	Souche commerciale	<i>Streptococcus thermophilus</i>	40%
LBM5	LAS1	<i>Lactiplantibacillus pentosus</i> OM386875 et OM386876	50%
	JAS17		50%
LBM6	JAS10	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> OM386893	50%
	LMS1		50%

6.2. Résultats de la qualité du produit fini

Un contrôle de la qualité sensoriel, physico-chimique et microbiologique a été réalisé après avoir incorporé les levains reconstitués dans la préparation d'un lait fermenté « yaourt étuvé ». Nous avons obtenu un yaourt bien ferme avec une très bonne texture. Comme nous avons lui choisit un emballage qui comporte les composants du produit et le poids net. (**Figure 51**).

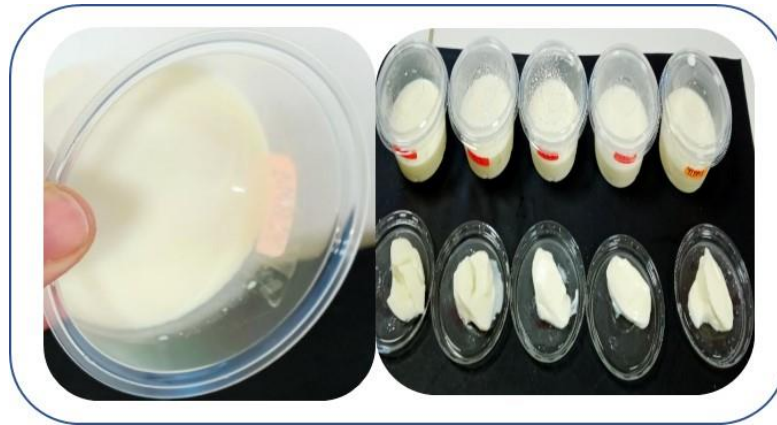


Figure 51 : Aspect visuel du yaourt préparé par nos levains reconstitués et son emballage.

6.2.1. Résultats d'évaluation sensorielle

En industrie laitière, la qualité du yaourt est déterminé chaque matinée par l'étude des caractéristiques organoleptiques généralement différents facteurs tels que la qualité du lait, le contenu en composés aromatiques, les additifs, la texture influencent la qualité du yaourt industriel. Dans notre étude le yaourt expérimental préparé à base de nos levains locaux avec la poudre du lait sans l'ajout aucun arôme ou additif, les caractéristiques des 6 types du yaourt ne varient pas : les 6 types sont préparés dans des mêmes conditions et par même marque de la poudre du lait. Pour déterminer la qualité et les propriétés organoleptiques du notre produit, après 5 jours de la préparation une séance de dégustation a été faite à 10h00 du matin.

au niveau de laboratoire «Technologie alimentaire et nutrition » ainsi qu’au niveau de l’usine SIDI SAADA , pour avoir une description plus précise selon l’impression des dégustateurs et connaître l’appréciation du produit s’il est accepté ou rejeté pour la consommation et de le positionner vis-à-vis au témoin « yaourt étuvé industriel préparé par des levains commerciaux » afin d’évaluer nos levains qui ont été utilisés comme culture starter. D’après les résultats de test de dégustation tous les panélistes ont jugé que les 6 types du yaourt préparé à base de nos levains reconstitués comme meilleurs par rapport au témoin en ce qui concerne les cinq caractéristiques organoleptiques testées (l’arôme, la texture, le goût, la couleur et l’odeur).

Les données de l’analyse sensorielle sont traitées par une étude statistique par les analyses suivantes ; analyse des moyennes, analyse ACP afin de classer et sélectionner le meilleur levain.

Pour le traitement statistique des données, en premier lieu pour chaque produit(levains), la moyenne de tous les descripteurs étudiés pour chaque panéliste a été calculée. Les données ont été par la suite soumises à un classement selon le score finale (**Tableau21**). Après un traitement des données par l’ACP a été réalisé simultanément sur les descripteurs sensoriels, les panélistes et les produits.

Tableau 21 : Classement des produits.

1 ^{er}	2 ^e	3 ^e	4 ^e	5 ^e	6 ^e
YLBM1	YLBM2	YLBM6	YLBM5	YLBM4	YLBM3
4,53	4,51	4,46	4.44	4.42	4.41

Traitement par ACP

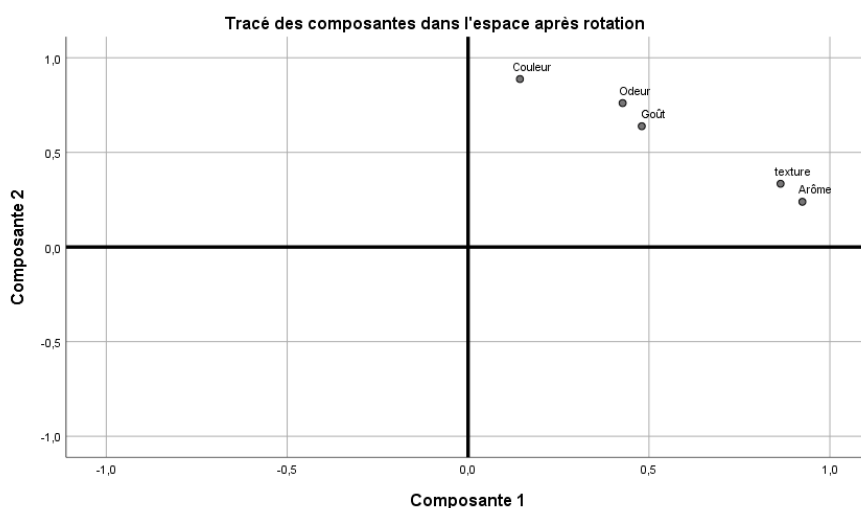
Le grand intérêt de l’ACP réside dans le fait qu’elle prend en compte toutes les variables simultanément et non pas isolément. Elle permet de déceler les liens existants entre les différentes variables étudiées et de traiter les évaluations des panélistes par produit et dégager le maximum de variabilité.

Le choix des axes réside principalement sur la valeur propre ainsi le cumulatif des variances. Le graphique du profil sensoriel a permis d’identifier deux axes (F₁, F₂) expliquant 73,06 de la variabilité totale. L’axe F₁explique à lui seul 57.33% de cette variabilité, tandis que l’axe F₂explique 15.74%. (**Tableau 22**).

Tableau 22 : Valeurs propres des axes de l'ACP

Composante	Total	Valeurs propres initiales	
		% de la variance	% cumulé
1	2,867	57,334	57,334
2	,787	15,739	73,073
3	,524	10,478	83,552
4	,484	9,673	93,225
5	,339	6,775	100,000

L'analyse des corrélations entre les variables (caractéristique sensorielle) révèle que toutes les variables s'opposent sur le même axe du côté positif cela veut dire que les panélistes ont apprécié les 5 descripteurs étudiés et **la figure 52** montre que les 3 critères (Couleur, odeur et le goût) sont les plus appréciés comparativement aux Arômes et texture.

**Figure52** : ACP sur les descripteurs sensoriels.

Par la suite l'analyse consiste à réaliser une analyse par ACP sur les produits pour savoir les préférences des panélistes. D'après **la figure 53**, nous avons trouvé que 6 produits se tendent vers le côté positif du plan factoriel cela veut dire que les panélistes ont accepté les 6 produits. Il s'avère que les produits nommés (YLBM1, YLBM2, YLBM6) ont une très bonne qualité et sont les plus préférés par rapport aux autres. Ces résultats nous a permis de confirmer les premiers résultats trouvés dans la classification des produits par les moyennes.

D'après les résultats obtenus de cette analyse, on conclut que les produits qui sont préparés à base de l'espèce *Lactiplantibacillus plantarum* sont les plus estimés.

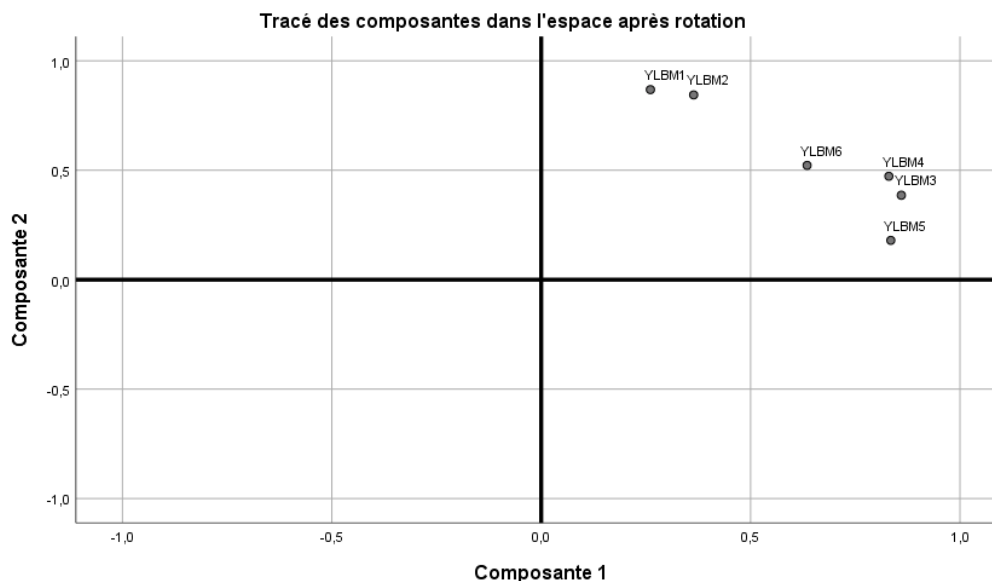


Figure 53 : ACP sur les produits.

L'analyse des corrélations entre les panélistes (Figure 54) montre que 34 panélistes s'opposent sur le côté positif des facteurs score1 et score2 ont une réponse positive et similaire les différentes caractéristiques étudiées (Goût, l'odeur, couleur, texture et Arôme). Et 6 panélistes s'opposent sur le même axe du côté négatif ont une réponse néfaste face aux certaines caractéristiques choisies.

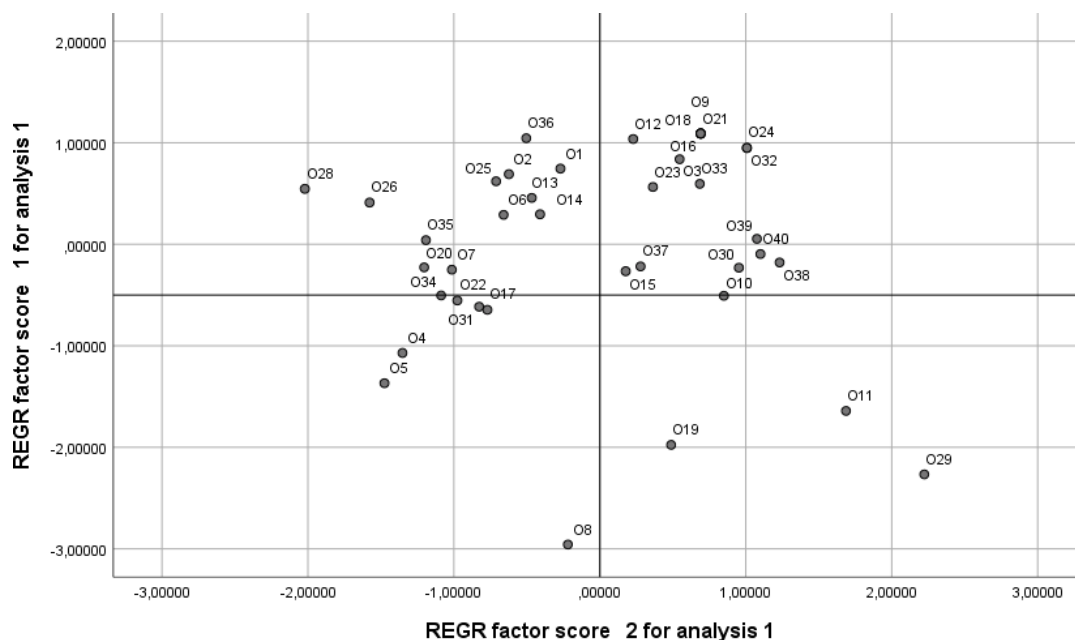
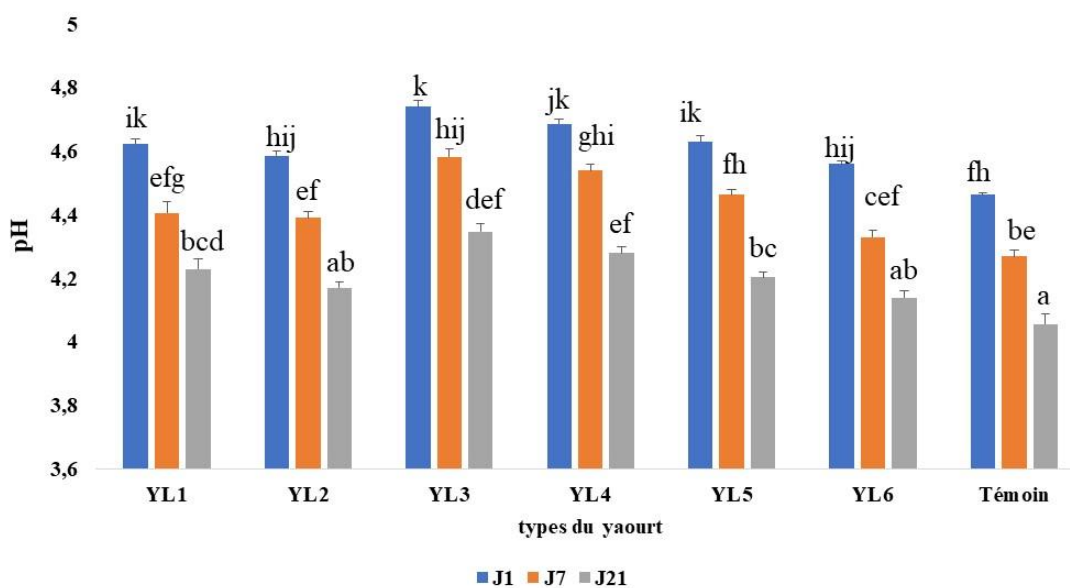


Figure 54 : ACP sur les panélistes.

6.2.2. Résultats des analyses physico-chimiques

6.2.2.1. Résultats du pH et l'acidité

Les résultats de l'évolution du pH et de l'acidité du yaourt préparé à partir de nos levains lactiques au cours du stockage sont représentés par la **figure 55**. Une diminution du pH pendant toute la durée du stockage a été notée pour les 6 types du yaourt qui variée de 4.61 à 4.23, 4.58 à 4.17, 4.74 à 4.34, 4.68 à 4.28, 4.63 à 4.20 et de 4.56 à 4.14 pour YLBM1, YLBM2, YLBM3, YLBM4, YLBM5, YLBM6, respectivement. Ces valeurs sont proches au pH du témoin qu'est varié de 4.46 à 4.05. Quant à l'acidité, nous avons constaté une augmentation pour les 6 yaourts. Cette augmentation est plus importante pour les yaourts YLBM5 et YLBM6 préparés uniquement à base de nos souches (*Lactiplantibacillus plantarum* et *Lactiplantibacillus pentosus*) et pour YLBM2 préparé par nos souches en association avec la souche industrielle (*Lactiplantibacillus plantarum*+ *Streptococcus thermophilus*), les valeurs enregistrées varient de 72.66 à 100.33, 83.66 à 111.66 et de 79 à 106.33°D, respectivement. Il en ressort qu'il existe une relation entre les proportions des levains, l'espèce et l'acidité et que les deux espèces *Lactiplantibacillus plantarum* et *Lactiplantibacillus pentosus* ont un effet significatif sur l'acidité obtenue. La même constatation a été rapportée par **Lorusso et al. (2018)** qui ont montré que *Lb plantarum* a développé une acidité plus élevée par rapport aux autres espèces. La diminution du pH est favorisée par l'activité des ferments lactiques qui ont la capacité de fermenter le lactose en acide lactique, avec une augmentation de l'acidité et une diminution du pH. (**Chougrani et al., 2009**).



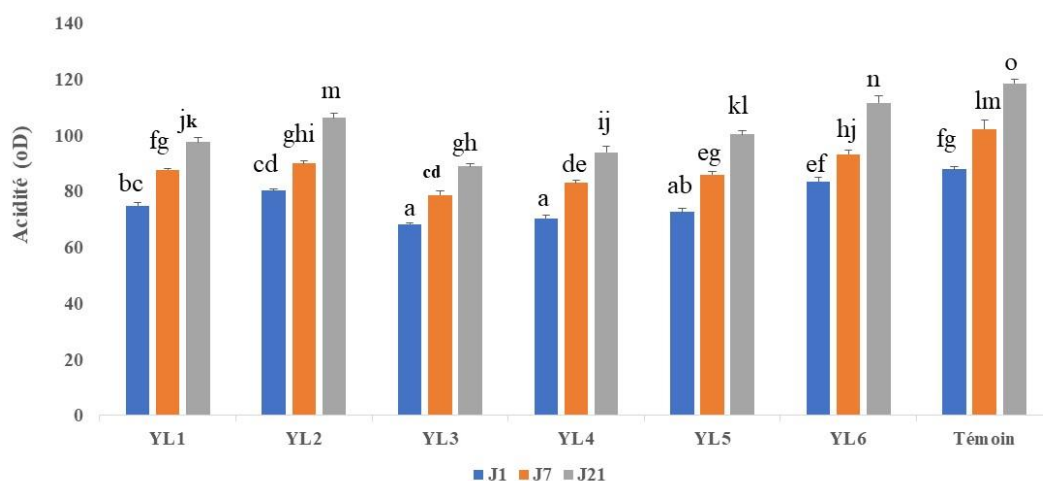


Figure 55 : L'évolution du pH et de l'acidité au cours du stockage.

6.2.2.2 Résultats de la matière grasse

Les résultats de l'évolution du taux de la matière grasse sont représentés dans la **Figure 56**. On constate que le taux de la MG reste constant pendant les Sept premiers jours du stockage pour tous les types du yaourt à l'exception du yaourt YLBM3 (1.43%), puis diminue en fin de conservation. Néanmoins, une diminution intense a été remarquée pour les yaourts inoculés par *Lactiplantibacillus pentosus*, cela indique que cette espèce a une activité lipolytique importante. **BOUCHIBANE et al. (2022)** ont également trouvé que la teneur en matière grasse reste stable durant les 10 premiers jours du stockage, et ont signalé que cette stabilité est due aux conditions de stockage : à l'abri de l'air, à l'abri de la lumière et à l'abri de la chaleur et à la non-contamination par la flore lipolytique, y compris les Levures et les Moisissures.

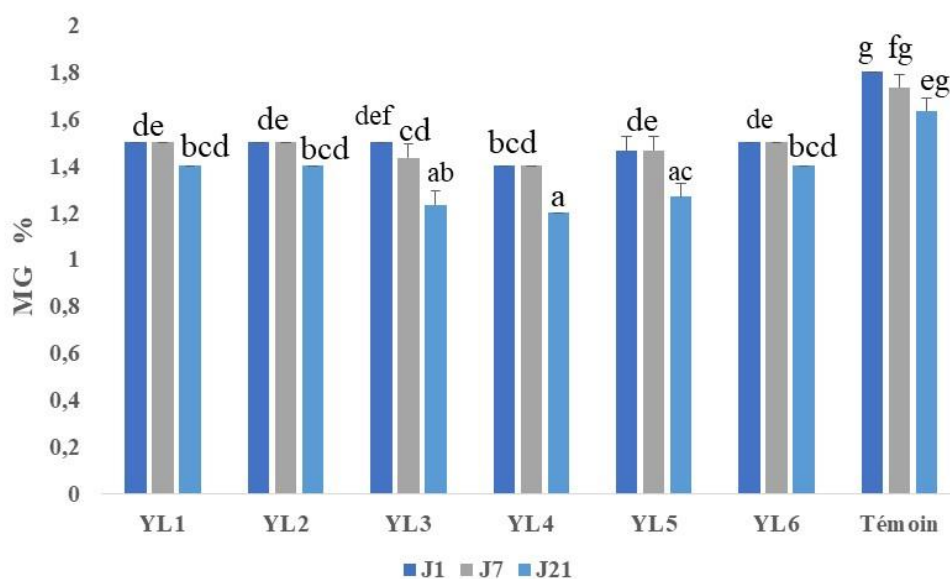


Figure 56 : Variation de la matière grasse au cours du stockage.

6.2.2.3. Résultats de l'extrait sec dégraissé et total

Les résultats obtenus en termes de la variation de l'extrait sec ont montré qu'une légère diminution qui variée de l'intervalle (13-13.16%) à (12.43-12.99%) pour l'ESD et de l'intervalle (14.41-14.64) à (13.62-14.39) pour l'EST, après 21 jours du stockage. En outre, les résultats de l'EST et ESD de 6 yaourts préparés semblent être proches. **(Figure57)**. Cette légère diminution peut être due à l'hydrolyse des sucres par les complexes enzymatiques et par l'activité protéolytique des bactéries lactiques. **Kılıç et al., (2022)** ont trouvé des valeurs supérieures que les nôtres et ont également observé une légère diminution qui variée entre 16,71% et 15,17%. Cette différence est liée au type de la poudre du lait et à la recette de préparation. Une étude précédente réalisée par **(Arslan & Bayrakçi., (2016)**, a révélé unediminution de la matière sèche pendant le stockage

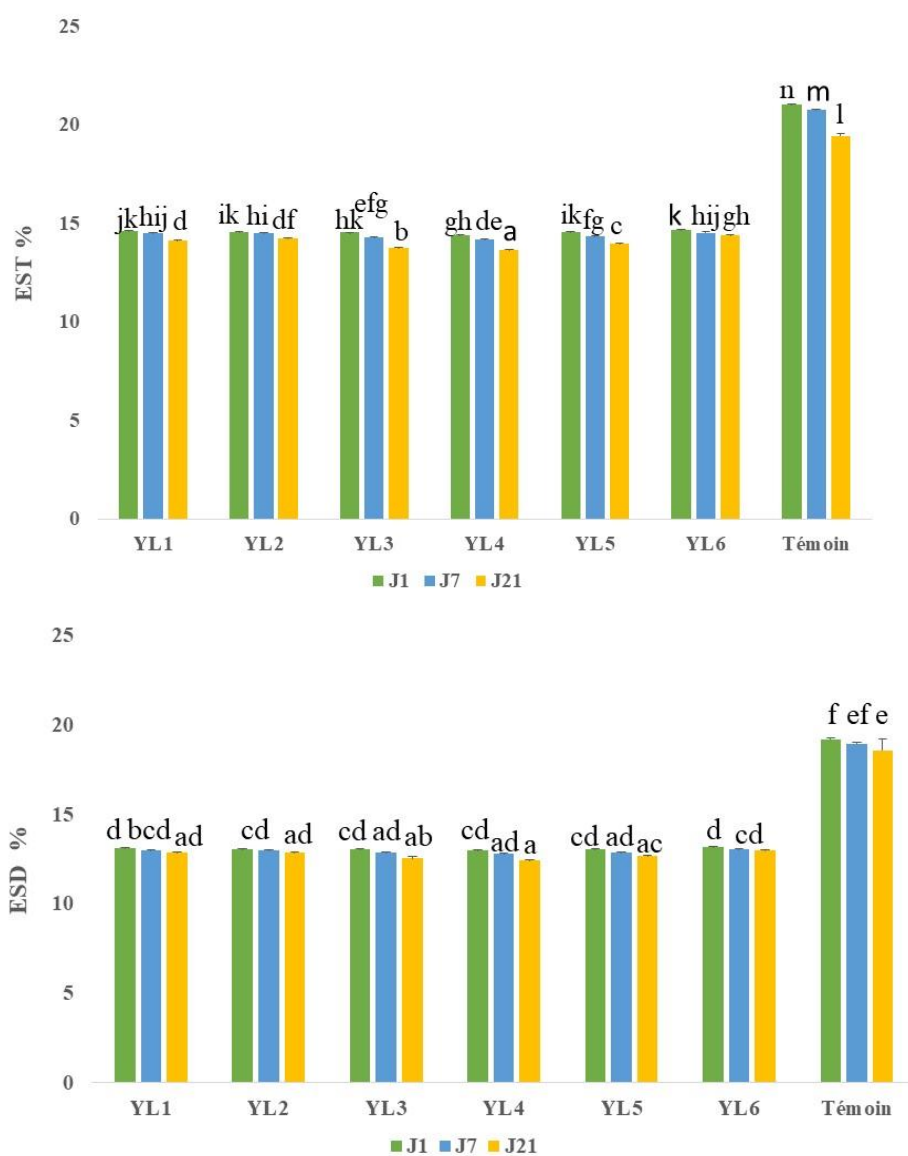


Figure 57 : Variation de l'ESD et EST au cours du stockage

6.2.2.4. Résultats de la viscosité

Les résultats obtenus indiquent que les valeurs enregistrées ont augmenté au cours du stockage, cette augmentation a été observée pour les 6 types du yaourt. Toutefois, toutes les valeurs enregistrées étaient supérieures au témoin. En revanche, nous avons constaté que la viscosité des yaourts (YLBM1, YLBM2, YLBM6) inoculés par *Lactiplantibacillus plantarum* était plus importante comparativement aux autres types. Elle est variée de 619.02 ± 16.39 à 763.21 ± 10.61 , 671.95 ± 16.20 à 795.74 ± 10.61 , 674.31 ± 10.43 à 774.52 ± 10.61 , respectivement. (Figure 58).

Lorusso et al. (2018) a également révélé l'augmentation de la viscosité au cours du temps dans la boisson fermentée préparée par *Lb plantarum* B-20194. Wang et al. (2010) ont déclaré que plusieurs conditions telles que le temps d'incubation, la quantité inoculée et le pH initial du milieu de culture influencent sur la production de l'EPS qui participe à l'amélioration de la viscosité.

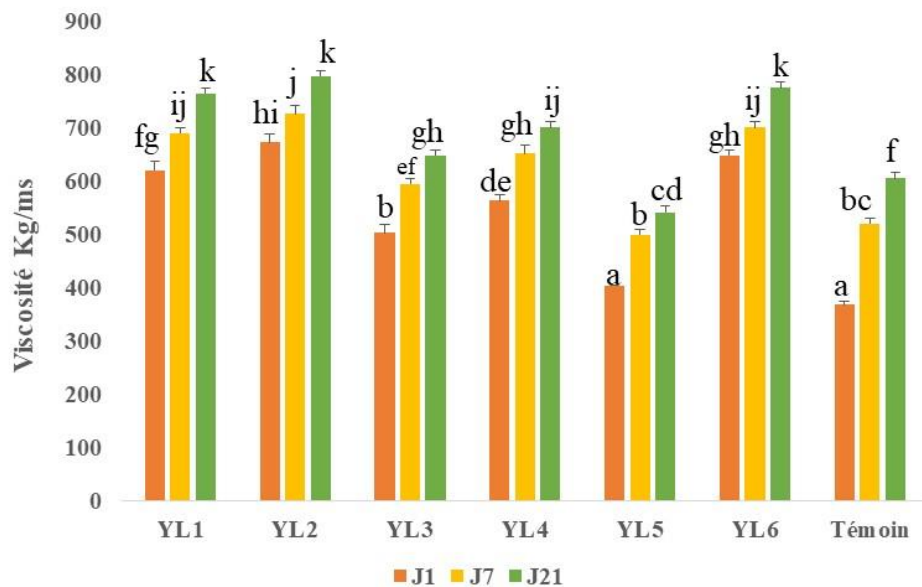


Figure 58 : Variation de la viscosité au cours du stockage.

L'étude statistique de 6 paramètres physico-chimiques étudiés a montré une différence hautement significative.

6.2.3. Résultats des analyses microbiologique

6.2.3.1. Résultats de dénombrement des souches lactiques

D'après les résultats mentionnés dans le tableau 23, nous avons trouvé que durant les sept premiers jours du stockage, le nombre d'UFC de *Streptococcus thermophilus* enregistré pour les 4 types du yaourt est supérieur au *Lactiplantibacillus plantarum* et *pentosus*. Toutefois, après 7 jours une augmentation a été observée pour les trois espèces, mais nous avons noté une augmentation plus

importante pour le nombre de *Lactiplantibacillus plantarum* et *pentosus* et le nombre le plus élevé a été obtenu dans le yaourt YLBM6. En revanche, au 21^e jour une diminution plus prononcée a été remarquée pour l'espèce *Streptococcus thermophilus*. Alors que le nombre d'UFC de *Lactiplantibacillus plantarum* et *pentosus* est diminué légèrement. En outre, les valeurs de *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus* enregistrées pour le yaourt préparé industriellement sont inférieures à celles trouvées dans notre produit. Nous constatons que les espèces : *Lactiplantibacillus plantarum* et *pentosus* survivent plus que l'espèce *Streptococcus thermophilus*, cela est expliqué par l'effet de l'acidité développée. L'étude réalisée par **Awfa et al. (2020)** a montré qu'au cours de la conservation des yaourts fabriqués industriellement, la survie de *St. Thermophilus* était moins importante à celle de *Lb. Bulgaricus*. Les mêmes remarques ont été rapportées par **Ayivi & Ibrahim, (2022)** et **Rul, (2017)** ayant indiqué une augmentation de *Lb. Bulgaricus* et diminution de *St. Thermophilus* au cours du stockage. L'association de ces deux dernières espèces a été utilisée et étudiée par plusieurs chercheurs, mais aucune étude n'a été faite entre l'association de l'espèce *St. Thermophilus* avec *Lactiplantibacillus plantarum* et *Lactiplantibacillus pentosus*. Cependant, dans notre étude nous déduisons que nos souches ont donné des mêmes interactions comme *Lb. Bulgaricus*.

Tableau 23: Évolution du nombre de nos levains (N.10⁶ UFC/ml) dans le yaourt au cours du stockage.

Les levains	<i>Streptococcus thermophilus</i> (N.10 ⁶ UFC/ml)			<i>Lactobacillus plantarum</i> <i>Lactobacillus pentosus</i> (N.10 ⁶ UFC/ml)			Normes
	J1	J7	J21	J1	J7	J21	
YLBM1	168±11.31	282±11.31	109±12.72	109±12.73	354±8.49	334±8.9	Plus de 10 ⁷ UFC/ml
YLBM2	134±8.49	214±22.62	76±11.31	127±4.24	474±19.8	413±24.04	
YLBM3	188±7.07	239±15.55	98±2.83	159±1.41	330±42.43	302±25.46	
YLBM4	173±18.38	213±24.04	88±5.66	138±2.83	374±22.63	317±29.7	
YLBM5	ND			155±7.07	413±18.38	375±12.73	
YLBM6	ND			210±14.14	504±19.8	417±24.04	
Yaourt Témoin (souches industrielles)	120±14.14	211±18.38	75±7.07	88±2.83	324±8.48	274±8.49	

6.2.3.2. Résultats de dénombrement des germes de contamination

D’après les résultats du contrôle microbiologique du yaourt préparé par l’utilisation des 6 levains reconstitués on constate une absence totale de la charge microbienne durant toute la durée du stockage pour tous les germes recherchés (**tableau 24**), cela s’explique par l’effet de l’acidification obtenue par nos levains lors de la fermentation. Donc les résultats indiquent que notre produit est conforme et de très bonne qualité hygiénique. Après deux mois de la préparation Nous avons confirmé ces résultats, Nous avons conservé les pots qui ont été utilisés le jour de dégustation à + 4°C pendant plus de deux mois, après cette période aucun germe n’a été trouvé en plus les pots restes intacts sans aucune anomalie tel que : contamination ou odeur désagréable, Ces résultats reflètent encore une autre fois la bonne qualité hygiénique et révèlent l’efficacité du traitement thermique, le bon respect de toutes les étapes, la bonne qualité de la matière première et que la préparation du yaourt a été faite dans des bonne conditions hygiéniques. **La Figures 59** représente l’aspect du yaourt après deux mois du stockage.

Tableau 24: Résultats de la qualité microbiologique du yaourt préparé.

Germes	Jours	YLBM1	YLBM2	YLBM3	YLBM4	YLBM5	YLBM6	Norme
		N=5 échantillons pour chaque levain						J.O.R.A 1998
-Coliformes totaux -Coliforme fécaux	J1	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	10 1
	J7							
	J21							
-Levures -moisissures	J1	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	<100 Abs
	J7							
	J21							
Staphylococcus aureus	J1	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	10
	J7							
	J21							



Figures 59 : Aspect du yaourt après 2 mois du stockage.

Conclusion

En Algérie, les produits laitiers sont largement consommés. Les levains lactiques représentent une part importante dans la production de ces produits, à l'heure actuelle la technique de l'incorporation des levains locaux n'est pas encore appliquée dans l'élaboration des aliments fermentés. L'objectif visé dans cette étude s'inscrit dans le cadre de la recherche des souches lactiques ayant une bonne performance technologique pour réaliser nos propres matières premières (levains lactiques locaux) fiables et propres à notre pays qui contribuent à la production nationale des divers dérivés laitiers afin de diminuer l'importation et d'apporter une contribution dans le développement et l'essor économique de notre pays dans le domaine alimentaire. L'échantillonnage de 19 échantillons prélevés à partir de 5 produits laitiers artisanaux « J'ben, Smen, L'ben, Zebda et Raïb » collectés de différentes régions (Est, Ouest, Nord, Sud), nous a permis d'obtenir **280** isolats. L'identification de 116 isolats par les tests morphologiques, biochimiques et physiologiques et par l'utilisation de la technique MALDI-TOF MS a permis de mettre en évidence la présence de 7 espèces : *Lactobacillus fermentum* (31,04%), *Enterococcus faecium* (24. 14%), *Lactobacillus plantarum* (21.55%), *Enterococcus faecalis* (17,24%), *Lactococcus lactis ssp lactis* (4,31%), *Lactobacillus paracasei ssp paracasei* (0,86%) et *Lactobacillus paraplantarum* (0,86%). En outre, 22 souches ont été identifiées génétiquement par PCR et séquençage de l'ARN 16S, cette identification a révélée la dominance de l'espèce *Enterococcus faecium* (50%), alors que l'espèce *Limosilactobacillus fermentum* occupe un pourcentage de 36.36%, viennent ensuite les espèce *Lactiplantibacillus pentosus* (9.09%) et *Lactiplantibacillus plantarum* (4.55%). Le séquençage a montré que nos souches ont été très pures et ont présenté un pourcentage de similitude avec les souches existantes dans la base de données allant de 99.96 à 100 %. Toutefois, les séquences de nos souches ont été publiées dans la base de nucléotidiques GenBank et nous avons obtenu un numéro d'accèsion spéciale pour nos souches, ces résultats indiquent que les produits analysés renferment les souches lactiques recherchées dans l'industrie laitière.

Avant d'aborder les aptitudes technologiques, une étude de la cinétique de croissance a été réalisée, on'a pu déterminer les différentes phases de croissance pour chaque espèce identifiée. Les espèces *Lactococcus lactis ssp lactis* et *Lactobacillus fermentum* ont été caractérisées par une longue durée de la phase exponentielle qui s'allonge jusqu'à 24h, ont produites une quantité importante de biomasses variées de 7.889 à 9.74 log UFC/ml et 7.39 à 9.51 log UFC/ml, respectivement. À l'issue des résultats des aptitudes des souches testées, une grande diversité de propriétés technologiques parmi les espèces testées a été constatée, Les *Lactobacillus* ont montré une bonne aptitude comparativement aux *Lactocoques* et *Entérocoques*.

Certaines des souches testées ont révélé de bonnes performances technologiques telles que les activités autolytique, antimicrobienne, texturant et protéolytique et particulièrement lipolytique. En revanche, l'activité acidifiante et coagulante ainsi que l'activité aromatisante ont été mise en évidence chez les espèces *Lb plantarum*, *Lb fermentum* et *Lb pentosus*, ce qui nous a permis des sélectionnées pour la préparation du Yaourt. En ce qui concerne l'activité probiotique, les résultats indiquent que toutes les souches résistent à l'acidité et ont la capacité à tolérer les sels biliaires et ont montré une hydrophobicité modérée. Néanmoins, uniquement trois souches ont pu se résister à 0.4% de phénols. De plus, la sensibilité aux antibiotiques était différente d'une espèce à une autre. Enfin, l'application de nos souches dans la préparation du yaourt a permis d'obtenir une bonne qualité et une bonne stabilité des propriétés physico-chimiques, microbiologiques et organoleptiques durant les jours de stockage à 6°C. En outre, nous déduisons que l'association de l'espèce *St. Thermophilus* avec nos souches *Lactiplantibacillus plantarum* et *Lactiplantibacillus pentosus* ont donné des mêmes interactions comme *Lb. Bulgaricus*. Toutefois, ces espèces ont été trouvées vivantes dans le produit fini durant toute la durée du stockage.

Notre étude nous a permis de conclure que les produits laitiers artisanaux sont une source des bactéries lactiques à potentiel technologique et probiotique. Et de sélectionner des souches ayant des fonctionnalités technologiques importantes pour la préparation des produits laitiers. On prévoit que l'industrie laitière à un bel avenir devant ces levains. En perspective, il serait intéressant de mener une étude similaire et complémentaire par l'utilisation des mêmes souches pour la confirmation des résultats qu'on'a obtenus. On recommande faire une étude plus approfondie, donc nous proposons de :

- Application de nos souches dans la fabrication d'autres types de dérivés laitiers.
- Faire un autre essai de préparation du yaourt, mais par couplage du lait de brebis avec lait de chèvre et vache.
- Mieux caractériser les souches que nous avons isolées par l'étude de leurs propriétés technologiques par l'application des techniques plus diversifiées et développées.
- Étude *in vivo* des propriétés probiotiques des souches qui ont une bonne aptitude *in vitro*.
- Déterminer la nature de l'agent inhibiteur des souches pathogènes
- Étude *in vivo* et *in vitro* de leurs activités biologiques comme l'activité antioxydante, anticancéreuse, activité anti-inflammatoire et activité hypoglycémiant. Il est le temps de mettre en œuvre l'élaboration et la production des produits laitiers à base de nos propres levains lactiques.

Références bibliographiques

A. Cheriguene, F. Chougrani, and A. Bensoltane. (2006). Identification and Characterization of Lactic Acid Bacteria Isolated from Algerian Goat's Milk. *Pakistan J. Biological Sc*, 7, 1242-1249, <https://doi.org/10.3923/pjbs.2006>.

Abdollahniya, D., Hosseini, S.M., Baghbaderani, B. K., Mordadi, A., and Arabestani, M. R. (2018). Identification of *Lactobacillus* Species Isolated From Traditional Dairy Products Using RAPD-PCR. *Avicenna Journal of Clinical Microbiology and Infection*, 5(2), Art.2. <https://doi.org/10.34172/ajcmi.2018.02>

Abhyankar, P. S., Gunjal, A. B., Kapadnis, B. P., and Ambade, S. V. (2022). Potential of Lactic Acid Bacteria in Plant Growth Promotion. *Bhartiya Krishi Anusandhan Patrika*, 36(4), 326-329. <https://arccjournals.com/journal/bhartiya-krishi-anusandhan-patrika/>.

Agyei, D., Owusu-Kwarteng, J., Akabanda, F., and Akomea-Frempong, S. (2020). Indigenous African fermented dairy products: Processing technology, microbiology and health benefits. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 60(6), 991-1006. <https://doi.org/10.1080/10408398.2018.1555133>

Akabanda, F., Owusu-Kwarteng, J., Tano-Debrah, K., Glover, R. L. K., Nielsen, D. S., and Jespersen, L. (2013). Taxonomic and molecular characterization of lactic acid bacteria and yeasts in nunu, a Ghanaian fermented milk product. *Food Microbiology*, 34(2), 277-283. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2012.09.025>

Albayrak, Ç. B., and Duran, M. (2021). Isolation and characterization of aroma producing lactic acid bacteria from artisanal white cheese for multifunctional properties. *LWT*, 150, 112053. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112053>

Ale, E. C., Perezlindo, M. J., Pavón, Y., Peralta, G. H., Costa, S., Sabbag, N., Bergamini, C., Reinheimer, J. A., & Binetti, A. G. (2016). Technological, rheological and sensory characterizations of a yogurt containing an exopolysaccharide extract from *Lactobacillus fermentum* Lf2, a new food additive. *Food Research International (Ottawa, Ont.)*, 90, 259-267. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.10.045>

Alegría, Á., Delgado, S., Flórez, A. B., and Mayo, B. (2013). Identification, typing, and functional

- characterization of *Leuconostoc spp.* Strains from traditional, starter-free cheeses. *Dairy Science & Technology*, 93(6), 657-673. <https://doi.org/10.1007/s13594-013-0128-3>
- Amatayakul, T., Halmos, A. L., Sherkat, F., and Shah, N. P. (2006).** Physical characteristics of yoghurts made using exopolysaccharide-producing starter cultures and varying casein to whey protein ratios. *International Dairy Journal*, 16(1), 40-51. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2005.01.004>
- Amina, Z., Abderrahim, C., and Fadela, C. (2016).** In Vitro antibacterial activity of lactic acid bacteria isolated from goat raw milk of Mostaganem (West Algeria) against Gram negative bacteria responsible for urinary tract infections. *South Asian Journal of Experimental Biology*, 6(1), Art. 1. [https://doi.org/10.38150/sajeb.6\(1\).p15-22](https://doi.org/10.38150/sajeb.6(1).p15-22)
- Angmo, K., Kumari, A., Savitri, and Bhalla, T. C. (2016).** Probiotic characterization of lactic acid bacteria isolated from fermented foods and beverage of Ladakh. *LWT - Food Science and Technology*, 66, 428-435. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.10.057>
- Anne Fernandez, M., Picard-Deland, É., Daniel, N., & Marette, A. (2017).** Yaourt et santé : Revue des données récentes. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, 52, S48-S57. [https://doi.org/10.1016/S0007-9960\(17\)30198-0](https://doi.org/10.1016/S0007-9960(17)30198-0)
- Arezki, A. A., Nathalie, D., and Ahmed, B. (2019).** Identification of indigenous *Lactobacillus* isolated from artisanal Algerian dairy product by 16S rRNA Gene Sequencing and MALDI-TOF Mass Spectrometry. 14.
- Arqués, J. L., Rodríguez, E., Langa, S., Landete, J. M., and Medina, M. (2015).** Antimicrobial Activity of Lactic Acid Bacteria in Dairy Products and Gut : Effect on Pathogens. *BioMed Research International*, 2015, 1-9. <https://doi.org/10.1155/2015/584183>
- Arslan, S., and Bayrakçi, S. (2016).** Physicochemical, functional, and sensory properties of yogurts containing persimmon. *TURKISH JOURNAL OF AGRICULTURE AND FORESTRY*, 40, 68-74. <https://doi.org/10.3906/tar-1406-150>
- Arya, M., Shergill, I. S., Williamson, M., Gommersall, L., Arya, N., and Patel, H. R. H. (2005).** Basic principles of real-time quantitative PCR. *Expert Review of Molecular Diagnostics*, 5(2), 209-219. <https://doi.org/10.1586/14737159.5.2.209>
- Asteri, I.-A., Robertson, N., Kagkli, D.-M., Andrewes, P., Nychas, G., Coolbear, T., Holland, R., Crow, V., and Tsakalidou, E. (2009).** Technological and flavour potential of cultures isolated from traditional Greek cheeses – A pool of novel species and starters. *International Dairy Journal*, 19(10), 595-604. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2009.04.006>
- Ateşlier, Z. B. B., and Metin, K. (2006).** Production and partial characterization of a novel thermostable esterase from a thermophilic *Bacillus sp.* *Enzyme and Microbial Technology*, 38(5), 628-635.

- Awfa, Y., Alazzeh, Firas S., Azzeh, Majdi M., Smadi, Shadi Sulaiman, Samir Qiblaw, and Rafat Zrieq. (2020).** Initial enumeration and viability of probiotic strains in commercial yogurt products under refrigerated conditions. *International Journal of ADVANCED AND APPLIED SCIENCES*, 7(8), 11-16. <https://doi.org/10.21833/ijaas.2020.08.002>
- Ayad, E. H. E., Nashat, S., El-Sadek, N., Metwaly, H., and El-Soda, M. (2004).** Selection of wild lactic acid bacteria isolated from traditional Egyptian dairy products according to production and technological criteria. *Food Microbiology*, 21(6), 715-725. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2004.02.009>
- Ayivi, R. D., and Ibrahim, S. A. (2022).** Lactic acid bacteria : An essential probiotic and starter culture for the production of yoghurt. *International Journal of Food Science & Technology*, 57(11), 7008-7025. <https://doi.org/10.1111/ijfs.16076>
- Ayyash, M., Abu-Jdayil, B., Hamed, F., and Shaker, R. (2018).** Rheological, textural, microstructural and sensory impact of exopolysaccharide-producing *Lactobacillus plantarum* isolated from camel milk on low-fat akawi cheese. *LWT*, 87, 423-431. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.09.023>
- Azat, R., Liu, Y., Li, W., Kayir, A., Lin, D., Zhou, W., and Zheng, X. (2016).** Probiotic properties of lactic acid bacteria isolated from traditionally fermented Xinjiang cheese. *Journal of Zhejiang University-SCIENCE B*, 17(8), 597-609. <https://doi.org/10.1631/jzus.B1500250>
- Badis, A., Guetarni, D., Moussa Boudjema, B., Henni, D. E., and Kihal, M. (2004).** Identification and technological properties of lactic acid bacteria isolated from raw goat milk of four Algerian races. *Food Microbiology*, 21(5), 579-588. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2003.11.006>
- Balouiri, M., Sadiki, M., and Ibsouda, S. K. (2016).** Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity : A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 6(2), 71-79. <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2015.11.005>
- Bao, Y., Zhang, Y., Zhang, Y., Liu, Y., Wang, S., Dong, X., Wang, Y., and Zhang, H. (2010).** Screening of potential probiotic properties of *Lactobacillus fermentum* isolated from traditional dairy products. *Food Control*, 21(5), 695-701. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2009.10.010>
- Barragán, P. J., Sánchez, Ó. J., and Henao-Rojas, J. C. (2020).** Evaluation of the Growth Kinetics of *Lactobacillus Plantarum* ATCC 8014 on a Medium Based on Hydrolyzed Bovine Blood Plasma at Laboratory and Bench-Scale Levels and Its Application as a Starter Culture in a Meat Product. *Fermentation*, 6(2), 45. <https://doi.org/10.3390/fermentation6020045>
- Baspinar, B., and GÜldaş, M. (2021).** Traditional plain yogurt : A therapeutic food for metabolic syndrome? *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 61(18), 3129-3143. <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1799931>
- Bazukyan, I., Matevosyan, L., Toplaghaltsyan, A., and Trchounian, A. (2018).** Antifungal activity of lactobacilli isolated from Armenian dairy products : An effective strain and its probable nature. *AMB*

Express, 8(1), 87. <https://doi.org/10.1186/s13568-018-0619-y>

Béal, C., and Helinck, S. (2019). Fabrication des yaourts et des laits fermentés. *Agroalimentaire*. <https://doi.org/10.51257/a-v2-f6315>

Benamara, R. N., Gemelas, L., Ibri, K., Moussa-Boudjemaa, B., and Demarigny, Y. (2016). Sensory, microbiological and physico-chemical characterization of Klila, a traditional cheese made in the south-west of Algeria. *African Journal of Microbiology Research*, 10(41), 1728-1738. <https://doi.org/10.5897/AJMR2016.8264>

BENSAHA, H., Mayouf, R., and Bensaha, L. (2012). INVENTORY AND DEVELOPMENT PERSPECTIVE OF MILK PRODUCTION IN SAHARAN AREA : THE CASE OF THE GHARDAÏA REGION (ALGERIA). *Online Journal of Animal and Feed Research*, 02.

Blaya, J., Barzideh, Z., and LaPointe, G. (2018). Symposium review : Interaction of starter cultures and nonstarter lactic acid bacteria in the cheese environment1. *Journal of Dairy Science*, 101(4), 3611-3629. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13345>

Bonomo, M. G., and Salzano, G. (2013). Genotypic and technological diversity of *Leuconostoc mesenteroides* and *Lactobacillus paracasei* subsp. *Paracasei* strains for use as adjunct starter cultures in Pecorino di Filiano cheese. *International Journal of Dairy Technology*, 66(3), 402-409. <https://doi.org/10.1111/1471-0307.12040>

Boricha, A. A., Shekh, S. L., Pithva, S. P., Ambalam, P. S., and Manuel Vyas, B. R. (2019). In vitro evaluation of probiotic properties of *Lactobacillus* species of food and human origin. *LWT*, 106, 201-208. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.02.021>

BOUCHIBANE, BENAIIA Y., CHERIGUENE, A., Fadela, C., and Djamel, A. S. (2022). *Evaluation of the physico-chemical and microbiological parameters of a yogurt prepared from goat and sheep milk during storage*. 4.

Bozoudi, D., Kotzamanidis, C., Hatzikamari, M., Tzanetakis, N., Menexes, G., and Litopoulou Tzanetaki, E. (2015). A comparison for acid production, proteolysis, autolysis and inhibitory properties of lactic acid bacteria from fresh and mature Feta PDO Greek cheese, made at three different mountainous areas. *International Journal of Food Microbiology*, 200, 87-96. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2015.02.008>

Bulut, C., Gunes, H., Okuklu, B., Harsa, S., Kilic, S., Coban, H. S., and Yenidunya, A. F. (2005). Homofermentative lactic acid bacteria of a traditional cheese, Comlek peyniri from Cappadocia region. *Journal of Dairy Research*, 72(1), 19-24. <https://doi.org/10.1017/S0022029904000536>

Burgain, J., Scher, J., Francius, G., Borges, F., Corgneau, M., Revol-Junelles, A. M., Cailliez-Grimal, C., and Gaiani, C. (2014). Lactic acid bacteria in dairy food : Surface characterization and interactions with food matrix components. *Advances in Colloid and Interface Science*, 213, 21-35.

<https://doi.org/10.1016/j.cis.2014.09.005>

Callaway, A., Kostrzewa, M., Willershausen, B., Schmidt, F., Thiede, B., Küpper, H., and Kneist, S. (2013). Identification of Lactobacilli from Deep Carious Lesions by Means of Species-Specific PCR and MALDI-TOF Mass Spectrometry. *Clinical Laboratory*, 59, <https://doi.org/10.7754/Clin.Lab.2013.121225>

Câmara, S., Dapkevicius, A., Riquelme, C., Elias, R., Silva, C., Malcata, F., and Dapkevicius, M. (2019). Potential of lactic acid bacteria from Pico cheese for starter culture development. *Food Science and Technology International*, 25(4), 303-317. <https://doi.org/10.1177/1082013218823129>

Campagnollo, F. B., Margalho, L. P., Kamimura, B. A., Feliciano, M. D., Freire, L., Lopes, L. S., Alvarenga, V. O., Cadavez, V. A. P., Gonzales-Barron, U., Schaffner, D. W., and Sant'Ana, A. S. (2018). Selection of indigenous lactic acid bacteria presenting anti-listerial activity, and their role in reducing the maturation period and assuring the safety of traditional Brazilian cheeses. *Food Microbiology*, 73, 288-297. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2018.02.006>

Carminati, D., Giraffa, G., Quiberoni, A., Binetti, A., Suárez, V., and Reinheimer, J. (2010). Advances and Trends in Starter Cultures for Dairy Fermentations. In *Biotechnology of Lactic Acid Bacteria* (p. 177-192). John Wiley & Sons, Ltd. <https://doi.org/10.1002/9780813820866.ch10>

Carr, F. J., Chill, D., and Maida, N. (2002). The Lactic Acid Bacteria : A Literature Survey. *Critical Reviews in Microbiology*, 28(4), 281-370. <https://doi.org/10.1080/1040-840291046759>

Chapot-Chartier, M.-P., and Kulakauskas, S. (2014). Cell wall structure and function in lactic acid bacteria. *Microbial Cell Factories*, 13 Suppl 1, S9. <https://doi.org/10.1186/1475-2859-13-S1-S9>

Chen, C., Zhao, S., Hao, G., Yu, H., Tian, H., and Zhao, G. (2017). Role of lactic acid bacteria on the yogurt flavour: A review. *International Journal of Food Properties*, 20(sup1), S316-S330. <https://doi.org/10.1080/10942912.2017.1295988>

Cheriguene, A., Chougrani, F., Bekada, A. M. A., Soda, M. E., and Bensoltane, A. (2007). Enumeration and identification of lactic microflora in Algerian goats' milk. *African Journal of Biotechnology*, 6(15), Art. 15. <https://doi.org/10.4314/ajb.v6i15.57810>

Cherkaoui, A., Hibbs, J., Emonet, S., Tangomo, M., Girard, M., Francois, P., and Schrenzel, J. (2010). Comparison of Two Matrix-Assisted Laser Desorption Ionisation-Time of Flight Mass Spectrometry Methods with Conventional Phenotypic Identification for Routine Identification of Bacteria to the Species Level. *Journal of Clinical Microbiology*, 48(4), 1169-1175. <https://doi.org/10.1128/JCM.01881-09>

Choubaila, L., and Mabrouk, C. (2015). Contribution on the characterization of Klila, a traditional cheese in east of Algéria. *Livestock Research for Rural Development*, 27.

Choudhary, J., Dubey, R. C., Sengar, G., and Dheeman, S. (2019). Evaluation of Probiotic Potential

and Safety Assessment of *Lactobacillus pentosus* MMP4 Isolated From Mare's Lactation. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 11(2), 403-412. <https://doi.org/10.1007/s12602-018-9431-x>

Chougrani, F., Abderrahim, C., and Ahmed, B. (2009). *Physico-chemical and rheological properties of yoghurt manufactured with ewe's milk and skim milk*. 5.

Cogan, T. M., Barbosa, M., Beuvier, E., Bianchi-Salvadori, B., Cocconcelli, P. S., Fernandes, I., Gomez, J., Gomez, R., Kalantzopoulos, G., Ledda, A., Medina, M., Rea, M. C., and Rodriguez, E. (1997). Characterization of the lactic acid bacteria in artisanal dairy products. *Journal of Dairy Research*, 64(3), 409-421. <https://doi.org/10.1017/S0022029997002185>

Coulibaly, W. H., Kouadio, N. R., Camara, F., Diguta, C., and Matei, F. (2022). *Probiotic and functional properties potential of lactic acid bacteria isolated from Tilapia (Oreochromis niloticus) in Ivory Coast* [Preprint]. In Review. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-1481094/v1>

Daba, G. M., Elnahas, M. O., and Elkhateeb, W. A. (2021). Contributions of exopolysaccharides from lactic acid bacteria as biotechnological tools in food, pharmaceutical, and medical applications. *International Journal of Biological Macromolecules*, 173, 79-89. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.01.110>

Dahou, A., Homrani, A., Bensaleh, F., and Bekada, A. (2016). *Caractérisation phénotypique et génotypique de deux Lactobacillus isolés d'un fromage traditionnel frais type J'ben*. 9.

Dahou, A. A., Bekada, A. A., and Homrani, A. (2021). Identification of a *Lactococcus lactis* Isolated from a Fresh Local Cheese of the Western Algerian Steppe "J'ben of Naâma". *Asian Journal of Dairy and Food Research*, 40(1), 5.

De Man, J. C., Rogosa, M., and Sharpe, M. E.: (1960). A medium for the cultivation of lactobacilli. *Journal of Applied Microbiology. Applied Microbiology*, 23, 130-135. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.1960.tb00188.x>.

Dec, M., Puchalski, A., Urban-Chmiel, R., and Wernicki, A. (2016). 16S-ARDRA and MALDI-TOF mass spectrometry as tools for identification of *Lactobacillus* bacteria isolated from poultry. *BMC Microbiology*, 16(1), 105. <https://doi.org/10.1186/s12866-016-0732-5>

de Melo Pereira, G. V., de Carvalho Neto, D. P., Maske, B. L., De Dea Lindner, J., Vale, A. S., Favero, G. R., Viesser, J., de Carvalho, J. C., Góes-Neto, A., and Soccol, C. R. (2022). An updated review on bacterial community composition of traditional fermented milk products: What next-generation sequencing has revealed so far? *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 62(7), 1870-1889. <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1848787>

de Melo Pereira, G. V., de Oliveira Coelho, B., Magalhães Júnior, A. I., Thomaz-Soccol, V., and Soccol, C. R. (2018). How to select a probiotic? A review and update of methods and criteria. *Biotechnology Advances*, 36(8), 2060-2076. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2018.09.003>

- Derouiche, M., and Zidoune, M. N. (2015).** Caractérisation d'un fromage traditionnel : Le Michouna de la région de Tébessa, Algérie, *Livestock Research for Rural Development*, 27(11).
- de Sousa, M. A., Muller, M. P., Berghahn, E., de Souza, C. F. V., and Granada, C. E. (2020).** New enterococci isolated from cheese whey derived from different animal sources: High biotechnological potential as starter cultures. *LWT*, 131, 109808. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109808>
- Diep, D., and Nes, I. (2002).** Ribosomally Synthesized Antibacterial Peptides in Gram Positive Bacteria. *Current Drug Targets*, 3(2), 107-122. <https://doi.org/10.2174/1389450024605409>
- Doan, N. T. L., Van Hoorde, K., Cnockaert, M., De Brandt, E., Aerts, M., Le Thanh, B., and Vandamme, P. (2012).** Validation of MALDI-TOF MS for rapid classification and identification of lactic acid bacteria, with a focus on isolates from traditional fermented foods in Northern Vietnam. *Letters in Applied Microbiology*, 55(4), 265-273. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2012.03287.x>
- Domingos-Lopes, M. F. P., Stanton, C., Ross, P. R., Dapkevicius, M. L. E., and Silva, C. C. G. (2017).** Genetic diversity, safety and technological characterization of lactic acid bacteria isolated from artisanal Pico cheese. *Food Microbiology*, 63, 178-190. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2016.11.014>
- Dortu, C., and Thonart, P. (2009).** Les bactériocines des bactéries lactiques : Caractéristiques et intérêts pour la bioconservation des produits alimentaires. *Undefined*. <https://www.semanticscholar.org/paper/Les-bact%3%A9riocines-des-bact%3%A9ries-lactiques-%3A-et-pour-Dortu-Thonart/1f29c86e75d6e131f3d05ccb1a145901821a99c1>
- Dušková, M., Šedo, O., Kšicová, K., Zdráhal, Z., and Karpíšková, R. (2012).** Identification of lactobacilli isolated from food by genotypic methods and MALDI-TOF MS. *International Journal of Food Microbiology*, 159(2), 107-114. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2012.07.029>
- Eijsink, V. G. H., Axelsson, L., Diep, D. B., Håvarstein, L. S., Holo, H., and Nes, I. F. (2002).** Production of class II bacteriocins by lactic acid bacteria; an example of biological warfare and communication. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 81(1-4), 639-654. <https://doi.org/10.1023/a:1020582211262>
- El Sheikha, A. F., and Hu, D.M. (2020).** Molecular techniques reveal more secrets of fermented foods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 60(1), 11-32. <https://doi.org/10.1080/10408398.2018.1506906>
- El-Din, B. B., El-Soda, M., and Ezzat, N. (2002).** Proteolytic, lipolytic and autolytic activities of enterococci strains isolated from Egyptian dairy products. *Le Lait*, 82(3), 289-304. <https://doi.org/10.1051/lait:2002011>
- El-Shenawy, M., Dawoud, E. I., Amin, G. A., El-, S., K., Fouad, M. T., and Soriano, J. M. (2017).** Antimicrobial activity of some lactic acid bacteria isolated from local environment in Egypt. *African*

Journal of Microbiology Research, 11(8), 327-334. <https://doi.org/10.5897/AJMR2016.8191>

Endo, A., and Dicks, L. M. T. (2014). The genus *Fructobacillus*. In W. H. Holzapfel & B. J. B. Wood (Éds.), *Lactic Acid Bacteria* (p. 381-389). John Wiley & Sons, Ltd. <https://doi.org/10.1002/9781118655252.ch22>

Fan, X., Li, X., Zhang, T., Xu, J., Shi, Z., Wu, Z., Wu, J., Pan, D., and Du, L. (2021). A Novel qPCR Method for the Detection of Lactic Acid Bacteria in Fermented Milk. *Foods*, 10(12), Art. 12. <https://doi.org/10.3390/foods10123066>

Farag, M. A., El Hawary, E. A., and Elmassry, M. M. (2020). Rediscovering acidophilus milk, its quality characteristics, manufacturing methods, flavor chemistry and nutritional value. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 60(18), 3024-3041. <https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1675584>

Feng, Y., Qiao, L., Liu, R., Yao, H., and Gao, C. (2017). Potential probiotic properties of lactic acid bacteria isolated from the intestinal mucosa of healthy piglets. *Annals of Microbiology*, 3(67), 239-253. <https://doi.org/10.1007/s13213-017-1254-6>

Ferreira, L., Sánchez-Juanes, F., García-Fraile, P., Rivas, R., Mateos, P. F., Martínez-Molina, E., González-Buitrago, J. M., and Velázquez, E. (2011). MALDI-TOF Mass Spectrometry Is a Fast and Reliable Platform for Identification and Ecological Studies of Species from Family Rhizobiaceae. *PLoS ONE*, 6(5), e20223. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0020223>

Fonseca, H. C., de Sousa Melo, D., Ramos, C. L., Dias, D. R., and Schwan, R. F. (2021). Probiotic Properties of Lactobacilli and Their Ability to Inhibit the Adhesion of Enteropathogenic Bacteria to Caco-2 and HT-29 Cells. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 13(1), 102-112. <https://doi.org/10.1007/s12602-020-09659-2>

Fontana, L., Bermudez-Brito, M., Plaza-Diaz, J., Muñoz-Quezada, S., and Gil, A. (2013). Sources, isolation, characterisation and evaluation of probiotics. *The British Journal of Nutrition*, 109 Suppl 2, S35-50. <https://doi.org/10.1017/S0007114512004011>

Franciosi, E., Settanni, L., Cavazza, A., and Poznanski, E. (2009). Biodiversity and technological potential of wild lactic acid bacteria from raw cows' milk. *International Dairy Journal*, 19(1), 3-11. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2008.07.008>

Gaglio, R., Barbaccia, P., Barbera, M., Restivo, I., Attanzio, A., Maniaci, G., Di Grigoli, A., Francesca, N., Tesoriere, L., Bonanno, A., Moschetti, G., and Settanni, L. (2021). The Use of Winery by-Products to Enhance the Functional Aspects of the Fresh Ovine "Primosale" Cheese. *Foods*, 10(2), Art. 2. <https://doi.org/10.3390/foods10020461>

Gantzias, C., Lappa, I. K., Aerts, M., Georgalaki, M., Manolopoulou, E., Papadimitriou, K., De Brandt, E., Tsakalidou, E., and Vandamme, P. (2020). MALDI-TOF MS profiling of non-starter

- lactic acid bacteria from artisanal cheeses of the Greek island of Naxos. *International Journal of Food Microbiology*, 323, 108586. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108586>
- Garcia, E. F., Luciano, W. A., Xavier, D. E., da Costa, W. C. A., de Sousa Oliveira, K., Franco, O. L., de Moraes Júnior, M. A., Lucena, B. T. L., Picão, R. C., and Magnani, M., Saarela, M., de Souza, E. L. (2016).** Identification of Lactic Acid Bacteria in Fruit Pulp Processing Byproducts and Potential Probiotic Properties of Selected *Lactobacillus* Strains. *Frontiers in Microbiology*, 7. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2016.01371>
- García-Cayueta, T., Korany, A. M., Bustos, I., P. Gómez de Cadiñanos, L., Requena, T., Peláez, C., and Martínez-Cuesta, M. C. (2014).** Adhesion abilities of dairy *Lactobacillus plantarum* strains showing an aggregation phenotype. *Food Research International*, 57, 44-50. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.01.010>
- GAST, M. (1969).** *Lait et produits laitiers en Ahaggar de M. GAST - Editions Flammarion.* <https://editions.flammarion.com/lait-et-produits-laitiers-en-ahaggar/9782082104241>
- Geis, A., Singh, J., and Teuber, M. (1983).** Potential of Lactic Streptococci to Produce Bacteriocin. *Applied and Environmental Microbiology*, 45(1), 205-211. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC242254/>
- Ghalouni, E., Hassaine, O., and Karam, N.E. (2018).** *Phenotypic Identification and Technological Characterization of Lactic Acid Bacteria Isolated from L'ben, An Algerian Traditional Fermented Cow Milk.* 12(2), 12. <http://dx.doi.org/10.22207/JPAM.12.2.11>
- Giraffa, G., Lazzi, C., Gatti, M., Rossetti, L., Mora, D., and Neviani, E. (2003).** Molecular typing of *Lactobacillus delbrueckii* of dairy origin by PCR-RFLP of protein-coding genes. *International Journal of Food Microbiology*, 82(2), 163-172. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(02\)00262-3](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(02)00262-3)
- Gómez de Cadiñanos, L. P., García-Cayueta, T., Martínez-Cuesta, M. C., Peláez, C., and Requena, T. (2019).** Expression of amino acid converting enzymes and production of volatile compounds by *Lactococcus lactis* IFPL953. *International Dairy Journal*, 96, 29-35. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2019.04.004>
- Granato, D., Branco, G. F., Cruz, A. G., Faria, J. de A. F., and Shah, N. P. (2010).** Probiotic Dairy Products as Functional Foods. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 9(5), 455-470. <https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2010.00120.x>
- Guinane, C. M., Crispie, F., and Cotter, P. D. (2016).** Value of Microbial Genome Sequencing for Probiotic Strain Identification and Characterization. In *The Gut-Brain Axis* (p. 45-60). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802304-4.00004-9>
- Guo, Z., Wang, J., Yan, L., Chen, W., Liu, X., and Zhang, H. (2009).** In vitro comparison of probiotic properties of *Lactobacillus casei* Zhang, a potential new probiotic, with selected probiotic

- strains. *LWT - Food Science and Technology*, 42(10), 1640-1646. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2009.05.025>
- Hammes, W. P., and Hertel, C. (2006).** The Genera *Lactobacillus* and *Carnobacterium*. In M. Dworkin, S. Falkow, E. Rosenberg, K.-H. Schleifer, & E. Stackebrandt (Éds.), *The Prokaryotes* (p. 320-403). Springer US. https://doi.org/10.1007/0-387-30744-3_10
- Hammes, W. P., and Hertel, C. (2015).** *Lactobacillus*. In W. B. Whitman, F. Rainey, P. Kämpfer, M. Trujillo, J. Chun, P. DeVos, B. Hedlund, & S. Dedysh (Éds.), *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria* (1^{re} éd., p. 1-76). Wiley. <https://doi.org/10.1002/9781118960608.gbm00604>
- Hashim, H. O., and Al-Shuhaib, M. B. (2019).** Exploring the Potential and Limitations of PCR-RFLP and PCR-SSCP for SNP Detection : A Review. *Journal of Applied Biotechnology Reports*, 6(4), 137-144. <https://doi.org/10.29252/JABR.06.04.02>
- Hickisch, A., Beer, R., Vogel, R. F., and Toelstede, S. (2016).** Influence of lupin-based milk alternative heat treatment and exopolysaccharide-producing lactic acid bacteria on the physical characteristics of lupin-based yogurt alternatives. *Food Research International*, 84, 180-188. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.03.037>
- Holzappel, W. H. and Brian J.B.Wood. (2014).** Lactic Acid Bacteria : Biodiversity and Taxonomy. 632.
- Hu, C., Ren, L., Zhou, Y., Ye, B. (2019).** Characterization of antimicrobial activity of three *Lactobacillus plantarum* strains isolated from Chinese traditional dairy food. *Food Science & Nutrition*, 7(6), 1997-2005. <https://doi.org/10.1002/fsn3.1025>
- Huang, L., Goda, H. A., Abdel-Hamid, M., Renye Jr, J. A., Yang, P., Huang, Z., Zeng, Q.-K., and Li, L. (2021).** Partial characterization of probiotic lactic acid bacteria isolated from Chinese dairy products. *International Journal of Food Properties*, 24(1), 446-456. <https://doi.org/10.1080/10942912.2021.1900233>
- Hyronimus, B., Le Marrec, C., Sassi, A. H., and Deschamps, A. (2000).** Acid and bile tolerance of spore-forming lactic acid bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, 61(2-3), 193-197. [https://doi.org/10.1016/s0168-1605\(00\)00366-4](https://doi.org/10.1016/s0168-1605(00)00366-4)
- Ibrahim, S. A., Ayivi, R. D., Zimmerman, T., Siddiqui, S. A., Altemimi, A. B., Fidan, H., Esatbeyoglu, T., and Bakhshayesh, R. V. (2021).** Lactic Acid Bacteria as Antimicrobial Agents : Food Safety and Microbial Food Spoilage Prevention. *Foods*, 10(12), Art. 12. <https://doi.org/10.3390/foods10123131>
- Idoui, Tayeb, and Essaid Leghouchi. (2009).** Lactic acid bacteria from Jijel's traditional butter : Isolation, identification and major technological traits. *Grasas y Aceites*, 59(4), 361-367. <https://doi.org/10.3989/gya.2008.v59.i4.530>

- ISO 6888-3. (2003).** Microbiologie des aliments—Méthode horizontale pour le dénombrement des staphylocoques à coagulase positive (*Staphylococcus aureus* et autres espèces). NORME INTERNATIONALE ISO.
- Jaouani, I., Abbassi, M. s., Ribeiro, S. c., Khemiri, M., Mansouri, R., Messadi, L., and Silva, C. c. g. (2015).** Safety and technological properties of bacteriocinogenic enterococci isolates from Tunisia. *Journal of Applied Microbiology*, 119(4), 1089-1100. <https://doi.org/10.1111/jam.12916>
- Jha, V., Sarang, C., Sawant, D., Nalawade, K., Dhamapurkar, V., Kaur, N., Thakur, K., Amin, S., Mane, P., and Marath, A. (2022).** Exploration of Probiotic Potential of Lactic Acid Bacteria Isolated from Different Food Sources. *American Journal of BioScience*, 10(3), 13. <https://doi.org/10.11648/j.ajbio.20221003.14>
- Jiang, M., Zhang, F., Wan, C., Xiong, Y., Shah, N. P., Wei, H., and Tao, X. (2016).** Evaluation of probiotic properties of *Lactobacillus plantarum* WLPL04 isolated from human breast milk. *Journal of Dairy Science*, 99(3), 1736-1746. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-10434>
- Jitpakdee, J., Kantachote, D., Kanzaki, H., and Nitoda, T. (2021).** Selected probiotic lactic acid bacteria isolated from fermented foods for functional milk production : Lower cholesterol with more beneficial compounds. *LWT*, 135, 110061. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110061>
- Jm, M., U, S., Pm, K., Sk, M., and Wh, H. (2004, janvier 8).** Isolation, identification and characterisation of the dominant microorganisms of kule naoto : The Maasai traditional fermented milk in Kenya. *International Journal of Food Microbiology; Int J Food Microbiol.* <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.01.008>
- Joffin, J. N., and Leyral, G. (1996).** Microbiologie technique : Première et Terminale STL-BGB. Dictionnaire des techniques. Centre régional de documentation pédagogique d'Aquitaine.
- Joseph-Pierre Guiraud, L. (2003).** Microbiologie alimentaire—Joseph-Pierre Guiraud—Dunod (Dunod). Paris France. <https://www.librairiedialogues.fr/livre/107946-microbiologie-alimentaire-joseph-pierre-guiraud-dunod>.
- JOURNAL OFFICIEL DE LA REPUBLIQUE ALGERIENNE. (1998).** Arrêté interministériel N°35 du 25 ramadhan 1418 correspondant au 24 janvier 1998 relatif aux spécifications microbiologiques de certaines denrées alimentaire.
- Justé, A., Thomma, B. P. H. J., and Lievens, B. (2008).** Recent advances in molecular techniques to study microbial communities in food-associated matrices and processes. *Food Microbiology*, 25(6), 745-761. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2008.04.009>
- Kamel, A., El-Sayed, A., Youssef, B., and Amin, S. (2020).** Antibacterial Bioactivity of Some Lactic Acid Bacteria Isolated from Various Egyptian Products. *Arab Universities Journal of Agricultural Sciences*, 0(0), 0-0. <https://doi.org/10.21608/ajs.2020.38231.1236>

- Karakas-Sen, A., and Karakas, E. (2018).** Isolation, identification and technological properties of lactic acid bacteria from raw cow milk. *Bioscience Journal*, 985-999. <https://doi.org/10.14393/BJ-v34n2a2018-34517>
- Kasimin, M. E., Mohd. Faik, A. A., Jani, J., Abbasiliasi, S., B. Ariff, A., and Jawan, R. (2020).** PROBIOTIC PROPERTIES OF ANTIMICROBIAL-PRODUCING LACTIC ACID BACTERIA ISOLATED FROM DAIRY PRODUCTS AND RAW MILK OF SABAH (NORTHERN BORNEO), MALAYSIA. *Malaysian Applied Biology*, 49(3), 95-106. <https://doi.org/10.55230/mabjournal.v49i3.1580>
- Kaur, J., Lee, S., Park, Y.-S., and Sharma, A. (2017).** RAPD analysis of *Leuconostoc mesenteroides* strains associated with vegetables and food products from Korea. *LWT*, 77, 383-388. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.11.078>
- Ketrouci, L., Dalache, F., Benabdelmoumene, D., Dahou, A. A., and Homrani, A. (2021).** Technological Characterization of Lactic Acid Bacteria Isolated from Different Sheep's Milk. *Asian Journal of Dairy and Food Research*, Of. <https://doi.org/10.18805/ajdfr.DR-230>
- Kieliszek, M., Pobiega, K., Piwowarek, K., and Kot, A. M. (2021).** Characteristics of the Proteolytic Enzymes Produced by Lactic Acid Bacteria. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 26(7), 1858. <https://doi.org/10.3390/molecules26071858>
- Kim, M. J., Seo, H. N., Hwang, T. S., Lee, S. H., and Park, D. H. (2008).** Characterization of exopolysaccharide (EPS) produced by *Weissella hellenica* SKkimchi3 isolated from kimchi. *Journal of Microbiology (Seoul, Korea)*, 46(5), 535-541. <https://doi.org/10.1007/s12275-008-0134-y>
- Kimoto-Nira, H., Kobayashi, M., Nomura, M., Sasaki, K., and Suzuki, C. (2009).** Bile resistance in *Lactococcus lactis* strains varies with cellular fatty acid composition : Analysis by using different growth media. *International Journal of Food Microbiology*, 131(2-3), 183-188. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2009.02.021>
- Kılıç, E. E., Halil Kılıç, İ., and Koç, B. (2022).** Yoghurt Production Potential of Lactic Acid Bacteria Isolated from Leguminous Seeds and Effects of Encapsulated Lactic Acid Bacteria on Bacterial Viability and Physicochemical and Sensory Properties of Yoghurt. *Journal of Chemistry*, 2022, 1-10. <https://doi.org/10.1155/2022/2683126>
- Kumar, A., and Kumar, D. (2015).** Characterization of *Lactobacillus* isolated from dairy samples for probiotic properties. *Anaerobe*, 33, 117-123. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2015.03.004>
- Kumar Bajaj, B., J.J. Claes, I., and Lebeer, S. (2015).** FUNCTIONAL MECHANISMS OF PROBIOTICS. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 4(4), 321-327. <https://doi.org/10.15414/jmbfs.2015.4.4.321-327>
- Ladha, G., and Jeevaratnam, K. (2018).** Probiotic Potential of *Pediococcus pentosaceus* LJR1, a

- Bacteriocinogenic Strain Isolated from Rumen Liquor of Goat (*Capra aegagrus hircus*). *Food Biotechnology*, 32(1), 60-77. <https://doi.org/10.1080/08905436.2017.1414700>
- Lahtinen, S., Ouwehand, A. C., Salminen, S., and Wright, A. von (Éds.). (2012).** Lactic Acid Bacteria : *Microbiological and Functional Aspects, Fourth Edition* (4^e éd.). CRC Press. <https://doi.org/10.1201/b11503>
- Leksir, C., Boudalia, S., Moujahed, N., and Chemmam, M. (2019).** Traditional dairy products in Algeria : Case of Klila cheese. *Journal of Ethnic Foods*, 6(1), 7. <https://doi.org/10.1186/s42779-019-0008-4>
- Licitra, G., Caccamo, M., and Lortal, S. (2019).** Artisanal Products Made With Raw Milk. In *Raw Milk* (p. 175-221). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-810530-6.00009-2>
- Liu, W., Pang, H., Zhang, H., and Cai, Y. (2014).** Biodiversity of Lactic Acid Bacteria. In H. Zhang & Y. Cai (Éds.), *Lactic Acid Bacteria : Fundamentals and Practice* (p. 103-203). Springer Netherlands. https://doi.org/10.1007/978-94-017-8841-0_2
- López-Díaz, T. M., Alonso, C., Román, C., García-López, M. L., and Moreno, B. (2000).** Lactic acid bacteria isolated from a hand-made blue cheese. *Food Microbiology*, 17(1), 23-32. <https://doi.org/10.1006/fmic.1999.0289>
- Lorusso, A., Coda, R., Montemurro, M., and Rizzello, C. (2018).** Use of Selected Lactic Acid Bacteria and Quinoa Flour for Manufacturing Novel Yogurt-Like Beverages. *Foods*, 7(4), 51. <https://doi.org/10.3390/foods7040051>
- Lucey, J. A., Munro, P. A., and Singh, H. (1998).** WHEY SEPARATION IN ACID SKIM MILK GELS MADE WITH GLUCONO LACTONE: EFFECTS OF HEAT TREATMENT AND GELATION TEMPERATURE. *Journal of Texture Studies*, 29(4), 413-426. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4603.1998.tb00813.x>
- Madhubasani, G. B. L., Prasanna, P. H. P., Chandrasekara, A., Gunasekara, D. C. S., Senadeera, P., Chandramali, D. V. P., and Vidanarachchi, J. K. (2020).** Exopolysaccharide producing starter cultures positively influence on microbiological, physicochemical, and sensory properties of probiotic goats' milk set-yoghurt. *Journal of Food Processing and Preservation*, 44(3). <https://doi.org/10.1111/jfpp.14361>
- Mami, A., and Kihal, M. (2019).** Activité antibactérienne de *lactobacillus plantarum* : Le biocontrôle des bactéries d'altération alimentaire par les bactéries lactiques du genre *lactobacillus* ,Éditions universitaires européennes.
- Mantzourani, I., Terpou, A., Alexopoulos, A., Chondrou, P., Galanis, A., Bekatorou, A., Bezirtzoglou, E., Koutinas, A., and Plessas, S. (2018).** Application of A Novel Potential Probiotic *Lactobacillus paracasei* Strain Isolated from Kefir Grains in the Production of Feta-Type Cheese.

Microorganisms, 6(4), 121. <https://doi.org/10.3390/microorganisms6040121>

Marquez, A., Andrada, E., Russo, M., Bolondi, M. L., Fabersani, E., Medina, R., and Gauffin-Cano, P. (2022). Characterization of autochthonous *Lactobacilli* from goat dairy products with probiotic potential for metabolic diseases. *Heliyon*, 8(9), e10462. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e10462>.

Marroki, A., and Bousmaha-Marroki, L. (2014). *Lactobacilli* isolated from Algerian goat's milk as adjunct culture in dairy products. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 57(3), 410-420. <https://doi.org/10.1590/S1516-89132014005000003>

Martínez, B., Rodríguez, A., Kulakauskas, S., and Chapot-Chartier, M.P. (2020). Cell wall homeostasis in lactic acid bacteria: Threats and defences. *FEMS Microbiology Reviews*, 44(5), 538-564. <https://doi.org/10.1093/femsre/fuaa021>

Matejčeková, Z., Liptáková, D., Spodniaková, S., and Valík, L. (2016). Characterization of the growth of *Lactobacillus plantarum* in milk in dependence on temperature. *Acta Chimica Slovaca*, 9(2), 104-108. <https://doi.org/10.1515/acs-2016-0018>

Mathara, J. M., Schillinger, U., Kutima, P. M., Mbugua, S. K., and Holzappel, W. H. (2004). Isolation, identification and characterisation of the dominant microorganisms of kule naoto : The Maasai traditional fermented milk in Kenya. *International Journal of Food Microbiology*, 94(3), 269-278. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.01.008>

Mechai, A., Manel, D., and Djamila, K. (2014). Screening of Technological and Probiotic Properties of Lactic Acid Bacteria Isolated from Algerian Traditional Fermented Milk Products. *International Food Research Journal*, 21, 2451-2457.

Meghoufel, N., Homrani, A., Nemmiche, S., Benkrizi, N., Elamine, D., and Zbalah, R. (2017). A brief identification of lactic acid bacteria isolated from Algerian goat's Jben by MALDI-TOF MS. 2230-9799. <http://sajeb.org/.../20431>

Melia, S., Juliyarsi, I., Kurnia, Y. F., Rossi, E., and Alzahra, H. (2022). Selection of Potential Lactic Acid Bacteria as a Candidate Probiotic on Cheese Making by Product Whey. *Advances in Animal and Veterinary Sciences*, 10(7). <https://doi.org/10.17582/journal.aavs/2022/10.7.1633.1640>

Meng, Z., Zhang, L., Xin, L., Lin, K., Yi, H., and Han, X. (2018). Technological characterization of *Lactobacillus* in semihard artisanal goat cheeses from different Mediterranean areas for potential use as nonstarter lactic acid bacteria. *Journal of Dairy Science*, 101(4), 2887-2896. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-14003>

Mercha, I., Lakram, N., Kabbour, M. R., Bouksaim, M., Zkhir, F., and El Maadoudi, E. H. (2020). Probiotic and technological features of *Enterococcus* and *Weissella* isolates from camel milk characterised by an Argane feeding regimen. *Archives of Microbiology*, 202(8), 2207-2219.

<https://doi.org/10.1007/s00203-020-01944-6>

Mis Solval, K., Chouljenko, A., Chotiko, A., and Sathivel, S. (2019). Growth kinetics and lactic acid production of *Lactobacillus plantarum* NRRL B-4496, *L. acidophilus* NRRL B-4495, and *L. reuteri* B-14171 in media containing egg white hydrolysates. *LWT*, 105, 393-399. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.01.058>

Mokoena, M. P. (2017). Lactic Acid Bacteria and Their Bacteriocins : Classification, Biosynthesis and Applications against Uropathogens: A Mini-Review. *Molecules*, 22(8), Art. 8. <https://doi.org/10.3390/molecules22081255>

Morandi, S., Silvetti, T., Miranda Lopez, J. M., and Brasca, M. (2015). Antimicrobial Activity, Antibiotic Resistance and the Safety of Lactic Acid Bacteria in Raw Milk Valtellina Casera Cheese : Safety Assessment of Wild LAB from Raw Milk Cheese. *Journal of Food Safety*, 35(2), 193-205. <https://doi.org/10.1111/jfs.12171>

Moussaid, S., Bouhlal, O., Benali, A., Kabbour, M. R., Ounine, K., and El Maadoudi, E. H. (2021). Technological characterization of indigenous lactic acid bacteria from Moroccan camel milk for their potential use as starter or adjunct culture. *Folia Microbiologica*, 66(5), 761-774. <https://doi.org/10.1007/s12223-021-00885-x>

Mulaw, G., Sisay Tessema, T., Muleta, D., and Tesfaye, A. (2019). In Vitro Evaluation of Probiotic Properties of Lactic Acid Bacteria Isolated from Some Traditionally Fermented Ethiopian Food Products. *International Journal of Microbiology*, 2019, 7179514. <https://doi.org/10.1155/2019/7179514>

NA 678 AFNOR : V04-206 Janvier1969. Directives générales pour la détermination de l'acidité titrable. AFNOR EDITIONS.

NA 679, NA1130 : ISO 5534 . (2014). Laits et produits laitiers-Détermination du pH et de l'extrait sec.

NA 5911 : ISO 6611. (2004) Microbiologie alimentaire. Directives générales. Lait et produits laitiers—Dénombrement des unités formant colonie de levures et/ou moisissures—Comptage des colonies à 25 °C. NORME INTERNATIONALE ISO.

NA 15174 : ISO 6887-4. (2017). Microbiologie de la chaîne alimentaire, Préparation des échantillons, de la suspension mère et des dilutions décimales en vue de l'examen microbiologique—. NORME INTERNATIONALE ISO.

NA15019 : ISO 11870. (2009). Lait et produits laitiers—Détermination de la teneur en matière grasse—Lignes directrices générales pour l'utilisation des méthodes butyrométrique.

Nacef, M., Chevalier, M., Chollet, S., Drider, D., and Flahaut, C. (2017). MALDI-TOF mass spectrometry for the identification of lactic acid bacteria isolated from a French cheese : The Maroilles. *International Journal of Food Microbiology*, 247, 2-8.

<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2016.07.005>

Nagpal, R., Behare, P. V., Kumar, M., Mohania, D., Yadav, M., Jain, S., Menon, S., Parkash, O., Marotta, F., Minelli, E., Henry, C. J. K., and Yadav, H. (2012). Milk, Milk Products, and Disease Free Health : An Updated Overview. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 52(4), 321-333.

<https://doi.org/10.1080/10408398.2010.500231>

Nami, Y., Vaseghi Bakhshayesh, R., Mohammadzadeh Jalaly, H., Lotfi, H., Eslami, S., and Hejazi, M. A. (2019). Probiotic Properties of Enterococcus Isolated From Artisanal Dairy Products. *Frontiers in Microbiology*, 10. <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fmicb.2019.00300>

Nath, S., Sikidar, J., Roy, M., and Deb, B. (2020). *In vitro* screening of probiotic properties of *Lactobacillus plantarum* isolated from fermented milk product. *Food Quality and Safety*, 4(4), 213-223. <https://doi.org/10.1093/fqsafe/fyaa026>

Nduko*, J. M., Matofari, J. W., Nandi, Z. O., and Sichangi, M. B. (2017). Spontaneously fermented kenyan milk products : A review of the current state and future perspectives. *African Journal of Food Science*, 11(1), 1-11. <https://doi.org/10.5897/AJFS2016.1516>

Nieto-Arribas, P., Seseña, S., Poveda, J. M., Palop, L., & Cabezas, L. (2010). Genotypic and technological characterization of *Leuconostoc* isolates to be used as adjunct starters in Manchego cheese manufacture. *Food Microbiology*, 27(1), 85-93. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2009.08.006>

Obioha, P. I., Ouoba, L. I. I., Anyogu, A., Awamaria, B., Atchia, S., Ojimelukwe, P. C., Sutherland, J. P., and Ghoddusi, H. B. (2021). Identification and characterisation of the lactic acid bacteria associated with the traditional fermentation of dairy fermented product. *Brazilian Journal of Microbiology: [Publication of the Brazilian Society for Microbiology]*, 52(2), 869-881. <https://doi.org/10.1007/s42770-021-00461-y>

Okoye, J., and Oni, K. (2017). Promotion of indigenous food preservation and processing knowledge and the challenge of food security in Africa. *Journal of food security*, 5(3), 75-87.

Papadimitriou, K., Alegría, Á., Bron, P. A., de Angelis, M., Gobbetti, M., Kleerebezem, M., Lemos, J. A., Linares, D. M., Ross, P., Stanton, C., Turrone, F., van Sinderen, D., Varmanen, P., Ventura, M., Zúñiga, M., Tsakalidou, E., and Kok, J. (2016). Stress Physiology of Lactic Acid Bacteria. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 80(3), 837-890. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00076-15>

Parente, E., Rota, M. A., Ricciardi, A., and Clementi, F. (1997). Characterization of natural starter cultures used in the manufacture of Pasta Filata Cheese in Basilicata (Southern Italy). *International Dairy Journal*, 7(12), 775-783. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(97\)00093-9](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(97)00093-9)

Park, S.H., Jung, J.H., Seo, D.H., Lee, H.L., Kim, G.W., Park, S.Y., Shin, W.-C., Hong, S., and Park, C.S. (2012). Differentiation of lactic acid bacteria based on RFLP analysis of the *tuf* gene. *Food*

- Science and Biotechnology*, 21(3), 911-915. <https://doi.org/10.1007/s10068-012-0119-9>
- Patil, P., Wadehra, A., Munjal, K., and Behare, P. (2015).** Isolation of exopolysaccharides producing lactic acid bacteria from dairy products. *Asian Journal of Dairy and Food Research*, 34(4). <https://doi.org/10.18805/ajdfr.v34i4.6878>
- Pereira, D. I. A., and Gibson, G. R. (2002).** Cholesterol Assimilation by Lactic Acid Bacteria and Bifidobacteria Isolated from the Human Gut. *Applied and Environmental Microbiology*, 68(9), 4689-4693. <https://doi.org/10.1128/AEM.68.9.4689-4693.2002>
- Pessione, E., and Cirrincione, S. (2016).** Bioactive Molecules Released in Food by Lactic Acid Bacteria: Encrypted Peptides and Biogenic Amines. *Frontiers in Microbiology*, 7. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00876>
- Piraino, P., Zotta, T., Ricciardi, A., McSweeney, P. L. H., and Parente, E. (2008).** Acid production, proteolysis, autolytic and inhibitory properties of lactic acid bacteria isolated from pasta filata cheeses : A multivariate screening study. *International Dairy Journal*, 18(1), 81-92. https://www.academia.edu/17967953/Acid_production_proteolysis_autolytic_and_inhibitory_properties_of_lactic_acid_bacteria_isolated_from_pasta_filata_cheeses_A_multivariate_screening_study
- Prete, R., Alam, M. K., Perpetuini, G., Perla, C., Pittia, P., and Corsetti, A. (2021).** Lactic Acid Bacteria Exopolysaccharides Producers : A Sustainable Tool for Functional Foods. *Foods*, 10(7), Art. 7. <https://doi.org/10.3390/foods10071653>
- Prete, R., Long, S. L., Gallardo, A. L., Gahan, C. G., Corsetti, A., and Joyce, S. A. (2020).** Beneficial bile acid metabolism from *Lactobacillus plantarum* of food origin. *Scientific Reports*, 10(1), 1165. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-58069-5>
- Priyashantha, H., Quintáns, A. P., Baixauli, R., and Vidanarachchi, J. K. (2019).** Type of starter culture influences on structural and sensorial properties of low protein fermented gels. *Journal of Texture Studies*, 50(6), 482-492. <https://doi.org/10.1111/jtxs.12449>
- Rahmeh, R., Akbar, A., Kishk, M., Al-Onaizi, T., Al-Azmi, A., Al-Shatti, A., Shajan, A., Al-Mutairi, S., and Akbar, B. (2019).** Distribution and antimicrobial activity of lactic acid bacteria from raw camel milk. *New Microbes and New Infections*, 30, 100560. <https://doi.org/10.1016/j.nmni.2019.100560>
- Reis, N. a., Saraiva, M. a. f., Duarte, E. a. a., de Carvalho, E. a., Vieira, B. b., and Evangelista-Barreto, N. S. (2016).** Probiotic properties of lactic acid bacteria isolated from human milk. *Journal of Applied Microbiology*, 121(3), 811-820. <https://doi.org/10.1111/jam.13173>
- Reuben, R. C., Roy, P. C., Sarkar, S. L., Rubayet Ul Alam, A. S. M., and Jahid, I. K. (2020).** Characterization and evaluation of lactic acid bacteria from indigenous raw milk for potential probiotic properties. *Journal of Dairy Science*, 103(2), 1223-1237. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-17092>

- Ribeiro, S. C., Coelho, M. C., and Silva, C. C. G. (2021).** A rapid screening method to evaluate acidifying activity by lactic acid bacteria. *Journal of Microbiological Methods*, 185, 106227. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2021.106227>
- Rivera-Espinoza, Y., and Gallardo-Navarro, Y. (2010).** Non-dairy probiotic products. *Food Microbiology*, 27(1), 1-11. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2008.06.008>
- Rodríguez-Serrano, G. M., García-Garibay, M., Cruz-Guerrero, A. E., Gómez-Ruiz, L., Ayala-Niño, A., Castañeda-Ovando, A., and González-Olivares, L. G. (2018).** Proteolytic System of *Streptococcus thermophilus*. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 28(10), 1581-1588. <https://doi.org/10.4014/jmb.1807.07017>
- Ruiz Rodríguez, L. G., Mohamed, F., Bleckwedel, J., Medina, R., De Vuyst, L., Hebert, E. M., and Mozzi, F. (2019).** Diversity and Functional Properties of Lactic Acid Bacteria Isolated From Wild Fruits and Flowers Present in Northern Argentina. *Frontiers in Microbiology*, 10. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2019.01091>
- Rul, F. (2017).** Yogurt : Microbiology, organoleptic properties and probiotic potential. In *Fermented Foods, Part II: Technological Interventions* (p. 525 p.). CRC Press. <https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-01579303>
- Rychert, J. (2019).** Benefits and Limitations of MALDI-TOF Mass Spectrometry for the Identification of Microorganisms. *Journal of Infectiology and Epidemiology*, 2(4). <https://www.infectiologyjournal.com/articles/benefits-and-limitations-of-malдитof-mass-spectrometry-for-the-identification-of-microorganisms.html>
- S., A., G., Z., O., S., and Gharib, S. (2020).** Antimicrobial activity and Probiotic Properties of Lactic Acid Bacteria Isolated From Traditional Fermented Dairy Products. *Journal of Modern Research*, 0(0), 0-0. <https://doi.org/10.21608/jmr.2020.22931.1015>
- Sabat, A. J., Budimir, A., Nashev, D., Sá-Leão, R., van Dijl, J. M., Laurent, F., Grundmann, H., and Friedrich, A. W., on behalf of the ESCMID Study Group. (2013).** Overview of molecular typing methods for outbreak detection and epidemiological surveillance. *Eurosurveillance*, 18(4). <https://doi.org/10.2807/ese.18.04.20380-en>
- Sadi, F., Bouras, A. D., Ghomari, F. N., Hallouz, F., and Noui, A. (2016).** Phenotypic, molecular and technological characterization of autochthonous *lactobacilli* strains isolated from cow's milk and goat of Algerian populations. *Journal of Fundamental and Applied Sciences*, 9(1), 339. <https://doi.org/10.4314/jfas.v9i1.21>
- Samelis, J., Maurogenakis, and F., Metaxopoulos, J. (1994).** Characterisation of lactic acid bacteria isolated from naturally fermented Greek dry salami. *International Journal of Food Microbiology*, 23(2), 179-196. [https://doi.org/10.1016/0168-1605\(94\)90051-5](https://doi.org/10.1016/0168-1605(94)90051-5)

- Sánchez-Juanes, F., Teixeira-Martín, V., González-Buitrago, J. M., Velázquez, E., and Flores-Félix, J. D. (2020).** Identification of Species and Subspecies of Lactic Acid Bacteria Present in Spanish Cheeses Type “Torta” by MALDI-TOF MS and pheS gene Analyses. *Microorganisms*, 8(2), 301. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8020301>
- Sanders, M. E., Akkermans, L. M. A., Haller, D., Hammerman, C., Heimbach, J., Hörmannspenger, G., Huys, G., Levy, D. D., Lutgendorff, F., Mack, D., Phothirath, P., Solano-Aguilar, G., and Vaughan, E. (2010).** Safety assessment of probiotics for human use. *Gut Microbes*, 1(3), 164-185. <https://doi.org/10.4161/gmic.1.3.12127>
- Sauer, M., Russmayer, H., Grabherr, R., Peterbauer, C. K., and Marx, H. (2017).** The Efficient Clade: Lactic Acid Bacteria for Industrial Chemical Production. *Trends in Biotechnology*, 35(8), 756-769. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2017.05.002>
- Savijoki, K., Ingmer, H., and Varmanen, P. (2006).** Proteolytic systems of lactic acid bacteria. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 71(4), 394-406. <https://doi.org/10.1007/s00253-006-0427-1>
- Scheirlinck, I., Van der Meulen, R., De Vuyst, L., Vandamme, P., and Huys, G. (2009).** Molecular source tracking of predominant lactic acid bacteria in traditional Belgian sourdoughs and their production environments. *Journal of Applied Microbiology*, 106(4), 1081-1092. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2008.04094.x>
- Schleifer, K.-H., Ehrmann, M., Beimfohr, C., Brockmann, E., Ludwig, W., and Amann, R. (1995).** Application of molecular methods for the classification and identification of lactic acid bacteria. *International Dairy Journal*, 5(8), 1081-1094. [https://doi.org/10.1016/0958-6946\(95\)00047-X](https://doi.org/10.1016/0958-6946(95)00047-X)
- Shakeel, A., Muhammad Saeed, , Muhammad Atif Randhawa and Muhammad Anjum Zia, and Muhammad Anjum Zia. (2018).** ISOLATION AND CHARACTERIZATION OF BACTERIOCINOGENIC LACTIC ACID BACTERIA FROM INDIGINOUS DAIRY SOURCE AND ITS ANTIMICROBIAL POTENTIAL. *Pakistan Journal of Agricultural Sciences*, 55(01), 175-182. <https://doi.org/10.21162/PAKJAS/18.6105>
- Shakibaie, M., Mohammadi-Khorsand, T., Adeli-Sardou, M., Jafari, M., Amirpour-Rostami, S., Ameri, A., and Forootanfar, H. (2017).** Probiotic and antioxidant properties of selenium-enriched *Lactobacillus brevis* LSe isolated from an Iranian traditional dairy product. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology: Organ of the Society for Minerals and Trace Elements (GMS)*, 40, 1-9. <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2016.11.013>
- Sharma, H., Ozogul, F., Bartkiene, E., and Rocha, J. M. (2021).** Impact of lactic acid bacteria and their metabolites on the techno-functional properties and health benefits of fermented dairy products. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 0(0), 1-23.

<https://doi.org/10.1080/10408398.2021.2007844>

Shehata, M. G., El Sohaimy, S. A., El-Sahn, M. A., and Youssef, M. M. (2016). Screening of isolated potential probiotic lactic acid bacteria for cholesterol lowering property and bile salt hydrolase activity. *Annals of Agricultural Sciences*, *61*(1), 65-75. <https://doi.org/10.1016/j.aoad.2016.03.001>

Shi, Y., Cui, X., Gu, S., Yan, X., Li, R., Xia, S., Chen, H., and Ge, J. (2019). Antioxidative and Probiotic Activities of Lactic Acid Bacteria Isolated from Traditional Artisanal Milk Cheese from Northeast China. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, *11*(4), 1086-1099. <https://doi.org/10.1007/s12602-018-9452-5>

Shrivastava, N., and Ananthanarayan, L. (2015). Use of the backslopping method for accelerated and nutritionally enriched idli fermentation. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *95*(10), 2081-2087. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6923>

Silva, C. C. G., Silva, S. P. M., and Ribeiro, S. C. (2018). Application of Bacteriocins and Protective Cultures in Dairy Food Preservation. *Frontiers in Microbiology*, *9*, 594. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00594>

Singhal, N., Kumar, M., Kanaujia, P. K., and Viridi, J. S. (2015). MALDI-TOF mass spectrometry : An emerging technology for microbial identification and diagnosis. *Frontiers in Microbiology*, *6*. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2015.00791>

Sirichokchatchawan, W., Pupa, P., Praechansri, P., Am-in, N., Tanasupawat, S., Sonthayanon, P., and Prapasarakul, N. (2018). Autochthonous lactic acid bacteria isolated from pig faeces in Thailand show probiotic properties and antibacterial activity against enteric pathogenic bacteria. *Microbial Pathogenesis*, *119*, 208-215. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2018.04.031>

Sitdhipol, J., Niwasabuttra, K., Chaiyawan, N., Teerawet, S., Thaveethaptaikul, P., Phuengjayaem, S., Taweechoitrat, M., Tanasupawat, S., and Phapugrangkul, P. (2021). *Probiotic characterization and in vitro functional properties of lactic acid bacteria isolated in Thailand* [Preprint]. In Review. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-843728/v1>

Stępień-Pyśniak, D., Hauschild, T., Marek, P. R. and A. (2017). MALDI-TOF Mass Spectrometry as a Useful Tool for Identification of Enterococcus spp. From Wild Birds and Differentiation of Closely Related Species. *27*(6), 1128-1137. <https://doi.org/10.4014/jmb.1612.12036>

Syrokou, M. K., Tziompra, S., Psychogiou, E.-E., Mpisti, S.-D., Paramithiotis, S., Bosnea, L., Mataragas, M., Skandamis, P. N., and Drosinos, E. H. (2021). Technological and Safety Attributes of Lactic Acid Bacteria and Yeasts Isolated from Spontaneously Fermented Greek Wheat Sourdoughs. *Microorganisms*, *9*(4), Art. 4. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9040671>

Tamime, A. Y., Saarela, M., Søndergaard, A. K., Mistry, V. V., and Shah, N. P. (2006). Production and Maintenance of Viability of Probiotic Micro-Organisms in Dairy Products. In *Probiotic Dairy*

Products (p. 39-72). John Wiley & Sons, Ltd. <https://doi.org/10.1002/9780470995785.ch3>

Tandi Ruba, Y., Nuraida, L., Iswantini, D., and Prangdimur, E. (2020). Proteolytic Activity of Indigenous Lactic Acid Bacteria and Angiotensin-I-Converting Enzyme (ACE) Inhibitory Activity in Fermented Soy Milk. *Pakistan Journal of Nutrition*, 19(6), 295-302. <https://doi.org/10.3923/pjn.2020.295.302>

Tarique, M., Abdalla, A., Masad, R., Al-Sbiei, A., Kizhakkayil, J., Osaili, T., Olaimat, A., Liu, S.-Q., Fernandez-Cabezudo, M., al-Ramadi, and B., Ayyash, M. (2022). Potential probiotics and postbiotic characteristics including immunomodulatory effects of lactic acid bacteria isolated from traditional yogurt-like products. *LWT*, 159, 113207. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.113207>

Temmerman, R., Huys, G., and Swings, J. (2004). Identification of lactic acid bacteria : Culture-dependent and culture-independent methods. *Trends in Food Science & Technology*, 15(7-8), 348-359. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2003.12.007>

Terpou, A., Papadaki, A., Lappa, I. K., Kachrimanidou, V., Bosnea, L. A., and Kopsahelis, N. (2019). Probiotics in Food Systems : Significance and Emerging Strategies Towards Improved Viability and Delivery of Enhanced Beneficial Value. *Nutrients*, 11(7), 1591. <https://doi.org/10.3390/nu11071591>

Terzaghi, B. E., and Sandine, W. E. (1975). Improved Medium for Lactic Streptococci and Their Bacteriophages. *Applied Microbiology*, 29(6), 807-813. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC187084/>

Terzić-Vidojević, A., Veljović, K., Tolinački, M., Živković, M., Lukić, J., Lozo, J., Fira, Đ., Jovčić, B., Strahinić, I., Begović, J., Popović, N., Miljković, M., Kojić, M., Topisirović, L., and Golić, N. (2020). Diversity of non-starter lactic acid bacteria in autochthonous dairy products from Western Balkan Countries—Technological and probiotic properties. *Food Research International*, 136, 109494. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109494>

Teuber, M. (2001). Lactic Acid Bacteria. In H. -J. Rehm & G. Reed (Éds.), *Biotechnology Set* (1^{re} éd., p. 325-366). Wiley. <https://doi.org/10.1002/9783527620999.ch10>

Thierry, A., Collins, Y. F., Abejón Mukdsi, M. C., Mcsweeney, P. L. H., Wilkinson, M. G., and Spinnler, H.E. (2017). Lipolysis and Metabolism of Fatty Acids in Cheese. In *Cheese, Chemistry, Physics and Microbiology*, 4^{ième} édition (p. 1302 p.). Academic Press - Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-417012-4.00017-X>

Tian, H., Shi, Y., Zhang, Y., Yu, H., Mu, H., Chen, C. (2019). Screening of aroma-producing lactic acid bacteria and their application in improving the aromatic profile of yogurt. *Journal of Food Biochemistry*, 43(10). <https://doi.org/10.1111/jfbc.12837>

Tyagi, A. K., and Prasad, S. (2015). Commentary: Probiotic and technological properties of

- Lactobacillus spp. strains from the human stomach in the search for potential candidates against
- Uhel, F., and Zafrani, L. (2019).** Commission de la recherche translationnelle de la Société de réanimation de langue française, Nouvelles techniques de biologie moléculaire. *Médecine Intensive Réanimation*. <https://doi.org/10.3166/rea-2019-0119>
- Van Hoorde, K., Vandamme, P., Huys, G. (2008).** Molecular identification and typing of lactic acid bacteria associated with the production of two artisanal raw milk cheeses. *Dairy Science and Technology*, 88(4-5), 445-455. <https://doi.org/10.1051/dst:2008011>
- Vanniyasingam, J., Kapilan, R., and Vasantharuba, S. (2019).** Isolation and characterization of potential probiotic lactic acid bacteria isolated from cow milk and milk products. *AGRIEAST: Journal of Agricultural Sciences*, 13(1), 32. <https://doi.org/10.4038/agrieast.v13i1.62>
- Vasiee, A., Alizadeh Behbahani, B., Tabatabaei Yazdi, F., Mortazavi, S. A., and Noorbakhsh, H. (2018).** Diversity and Probiotic Potential of Lactic Acid Bacteria Isolated from Horreh, a Traditional Iranian Fermented Food. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 10(2), 258-268. <https://doi.org/10.1007/s12602-017-9282-x>
- Verdenelli, M. C., Silvi, S., Cecchini, C., Orpianesi, C., and Cresci, A. (2011).** Influence of a combination of two potential probiotic strains, Lactobacillus rhamnosus IMC 501® and Lactobacillus paracasei IMC 502R on bowel habits of healthy adults. *Letters in Applied Microbiology*, 52(6), 596-602. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2011.03042.x>
- Wang, K., Zhang, H., Feng, J., Ma, L., Fuente-Núñez, C. de la, Wang, S., and Lu, X. (2019).** Antibiotic resistance of lactic acid bacteria isolated from dairy products in Tianjin, China. *Journal of Agriculture and Food Research*, 1, 100006. <https://doi.org/10.1016/j.jafr.2019.100006>
- Wang, Y., Li, C., Liu, P., Ahmed, Z., Xiao, P., and Bai, X. (2010).** Physical characterization of exopolysaccharide produced by *Lactobacillus plantarum* KF5 isolated from Tibet Kefir. *Carbohydrate Polymers*, 82(3), 895-903. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2010.06.013>
- Ward, P., and Roy, D. (2005).** Review of molecular methods for identification, characterization and detection of bifidobacteria. *Le Lait*, 85(1-2), 23-32. <https://doi.org/10.1051/lait:2004024>
- Yadav, R., Puniya, A. K., and Shukla, P. (2016).** Probiotic Properties of Lactobacillus plantarum RYPR1 from an Indigenous Fermented Beverage Raabadi. *Frontiers in Microbiology*, 7. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01683>
- Yadav, R., and Shukla, P. (2017).** An overview of advanced technologies for selection of probiotics and their expediency: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(15), 3233-3242. <https://doi.org/10.1080/10408398.2015.1108957>
- Yarlina, V. P., Djali, M., and Andoyo, R. (2020).** A review of protein hydrolysis fermented foods and their potential for health benefits. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*,

443(1), 012085. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/443/1/012085>

Yilmaz, M. T., Dertli, E., Toker, O. S., Tatlisu, N. B., Sagdic, O., and Arici, M. (2015). Effect of in situ exopolysaccharide production on physicochemical, rheological, sensory, and microstructural properties of the yogurt drink ayran : An optimization study based on fermentation kinetics. *Journal of Dairy Science*, 98(3), 1604-1624. <https://doi.org/10.3168/jds.2014-8936>

Zeidan, A. A., Poulsen, V. K., Janzen, T., Buldo, P., Derkx, P. M. F., Øregaard, G., and Neves, A. R. (2017). Polysaccharide production by lactic acid bacteria : From genes to industrial applications. *FEMS Microbiology Reviews*, 41(Supp_1), S168-S200. <https://doi.org/10.1093/femsre/fux017>

Zhang, F., Jiang, M., Wan, C., Chen, X., Chen, X., Tao, X., Shah, N. P., and Wei, H. (2016). Screening probiotic strains for safety : Evaluation of virulence and antimicrobial susceptibility of *enterococci* from healthy Chinese infants. *Journal of Dairy Science*, 99(6), 4282-4290. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-10690>

Zhang, H., and Cai, Y. (Éds.). (2014). Lactic Acid Bacteria. *Springer Netherlands*. <https://doi.org/10.1007/978-94-017-8841-0>

Zielińska, D., and Kolożyn-Krajewska, D. (2018). Food-Origin Lactic Acid Bacteria May Exhibit Probiotic Properties : Review. *BioMed Research International*, 2018, 5063185. <https://doi.org/10.1155/2018/5063185>

Zoumpopoulou, G., Tzouvanou, A., Mavrogonatou, E., Alexandraki, V., Georgalaki, M., Anastasiou, R., Papadelli, M., Manolopoulou, E., Kazou, M., Kletsas, D., Papadimitriou, K., and Tsakalidou, E. (2018). Probiotic Features of Lactic Acid Bacteria Isolated from a Diverse Pool of Traditional Greek Dairy Products Regarding Specific Strain-Host Interactions. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 10(2), 313-322. <https://doi.org/10.1007/s12602-017-9311-9>

Annexes

Annexe 01

Milieux de culture utilisés

<p><u>Gélose MRS</u></p> <p>Peptone 10 g</p> <p>Extrait de viande 10 g</p> <p>Extrait de levure 5 g</p> <p>Glucose 20 g</p> <p>Tween 80 1 ml</p> <p>Phosphate dipotassique 2 g</p> <p>Acétate de sodium 5 g</p> <p>Citrate triammonium 2 g</p> <p>Sulfate de magnésium 0,20 g</p> <p>Sulfate de manganèse 0,05 g</p> <p>Eau distillée qsp 1000 ml</p> <p>pH 6,2. Stériliser par autoclavage 120°C pendant 15min.</p>	<p><u>Gélose M17</u></p> <p>Peptone de caséine 2,50 g</p> <p>Peptone de viande 2,50 g</p> <p>Peptone de soja 5 g</p> <p>Extrait de levure 2,50 g</p> <p>Extrait de viande 5 g</p> <p>Lactose 5 g</p> <p>Glycérophosphate de Sodium 19 g</p> <p>Sulfate de magnésium 0,25 g</p> <p>Acide ascorbique 0,50 g</p> <p>Agar 15 g</p> <p>Eau distillée qsp 1000 ml</p> <p>pH 7,2. Stériliser par autoclavage 120°C pendant 15min.</p>
<p><u>Gélose YMA (Yeast Milk Agar)</u></p> <p>Peptone 5g</p> <p>Extrait de levure 3g</p> <p>Lait écrémé 1g</p> <p>Agar 15g</p> <p>Eau distillée qsp 1000ml</p> <p>pH7,1. Stériliser par autoclavage 120°C pendant 15min.</p>	<p><u>Milieu PCA</u></p> <p>Tryptone 5g</p> <p>Extrait de levure 2.5g</p> <p>Glucose 1g</p> <p>Poudre de lait écrémé(0%) 1g</p> <p>Agar 15g</p> <p>Stériliser par autoclavage 120°C pendant 15min.</p>
<p><u>Milieu MSE (Mayer, Sandine et Elliker)</u></p> <p>Tryptone 10 g</p> <p>Extrait de levure 5 g</p> <p>Saccharose 100 g</p> <p>Citrate de sodium 1 g</p> <p>Glucose 5 g</p> <p>Gélatine 2,5 g</p> <p>Azohydrate de sodium 0,075 g</p> <p>Eau distillée 1000 ml</p> <p>pH 6,5</p> <p>Autoclavage 121°C, 15 minutes.</p>	

<p><u>Lait écrémé stérile reconstitué à 10%</u></p> <p>Poudre de lait (0% MG) 100g Eau distillée qsp 1000.</p> <p>pH6,5. Stérilisation par tyndallisation, 3fois pendant 30min à 100°C.</p>	<p><u>Lait écrémé stérile reconstitué à 12% additionné de saccharose à 12%</u></p> <p>Poudre de lait (0% MG) 120g Saccharose 120g Eau distillée qsp 1000.</p> <p>pH6,5. Stérilisation par tyndallisation, 3fois pendant 30min à 100°C.</p>
<p><u>Bouillon Nutritif (BN)</u></p> <p>Peptone 10 g Extrait de viande 5 g Chlorure de sodium 5 g Eau distillée qsp 1000ml</p> <p>pH7,2. Stériliser par autoclavage 120°C pendant 15min. Pour le GN ajouter 15 g d'agar.</p>	<p><u>TSE (Tryptone-sel-eau)</u></p> <p>Tryptone 1 g Chlorure de sodium 8,5 g Eau distillée qsp 1000 ml</p> <p>pH7,4. Stériliser par autoclavage 120°C pendant 15min</p>
<p><u>Tampon PBS</u></p> <p>Na₂HPO₄ 10.9g Na₂H₂PO₄ 3.2g NaCl 90g Eau distillée qsp 1000ml</p> <p>pH 7,2.</p> <p>Stériliser par autoclavage 120°C pendant 15min. Diluer 1/10 dans l'eau distillée avant l'utilisation.</p>	

Fiche de dégustation d'un lait fermenté préparé à base des levains lactiques locaux



Nom et prénom :

Fonction :

Référence Usine SIDI SAADA.

Date de dégustation :

Type de produit	Type de levain	Aromatisation			Texture			Autres caractéristiques			Autre commenta
		Arôme	Caractéristique d'arôme		Caractéristiques de texture			Goût	Couleur	Odeur	
			Note de tête	Note de cœur	Note de fond	Aspect	Viscosité				
Yaourt Euvé	LBM1										
	LBM2										
	LBM3										
	LBM4										
	LBM5										
	LBM6										

NB Evaluation de 0 à 5 : **0** : Non conforme « impropre à la consommation (très mauvais) ». **1** : mauvais « qualité insatisfaisante »,

2 : dans la zone de tolérance « acceptable », **3** : moyen « qualité moyennement bonne », **4** : bon « qualité bonne », **5** ; très bon « qualité très bonne ».



Figure 01 : Les échantillons du lait fermenté (Yaourt étuvé) présentés le jour du test de dégustation.

Annexe n° 3

Rank (Quality)	Matched Pattern	Score Value	NCBI Identifier
1 (+++)	<i>Enterococcus faecalis</i> 20247_4 CHR	2.507	1321
2 (++)	<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 7980 TRL	2.501	1321
3 (++)	<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212 CHR	2.507	1321
4 (++)	<i>Enterococcus faecalis</i> DSM 20409 DSM	2.500	1321
5 (++)	<i>Enterococcus faecalis</i> DSM 6134 DSM	2.5	1321
6 (++)	<i>Enterococcus faecalis</i> DSM 204787 JUS	2.487	1321
7 (++)	<i>Enterococcus faecalis</i> DSM 20371 DSM	2.484	1321
8 (+)	<i>Enterococcus faecalis</i> DSM 2370 DSM	2.466	1321
9	<i>Microbacterium lipoacidum</i> HK2 11374 HK2	2.3918	33918
10 (-)	<i>Staphylococcus saprophyticus</i> DSM 48047 DSM	2.389	33918

Rank (Quality)	Matched Pattern	Score Value	NCBI Identifier
1 (+++)	<i>Lactococcus lactis</i> ssp <i>lactis</i> DSM 20384 DSM	2.370	1360
2 (+++)	<i>Lactococcus lactis</i> ssp <i>lactis</i> DSM 20661 DSM	2.344	1360
3 (+++)	<i>Lactococcus lactis</i> ssp <i>lactis</i> DSM 20175 DSM	2.303	1360
4 (++)	<i>Lactococcus lactis</i> IBS_MS_6 IBS	2.192	1358
5 (++)	<i>Lactococcus lactis</i> ssp <i>lactis</i> DSM 204817 DSM	2.047	1360
6 (+)	<i>Lactococcus lactis</i> ssp <i>cremoris</i> DSM 200697 DSM	1.791	1360
7 (+)	<i>Lactococcus lactis</i> ssp <i>cremoris</i> DSM 20388 DSM	1.789	1360
8 (+)	<i>Lactococcus lactis</i> ssp <i>lactis</i> 3C1_Q6A IBS	1.709	1360

Rank (Quality)	Matched Pattern	Score Value	NCBI Identifier
1 (++)	<i>Lactobacillus plantarum</i> DSM 1055 DSM	2.124	1560
2 (++)	<i>Lactobacillus plantarum</i> DSM 10641 DSM	2.099	1560
3 (++)	<i>Lactobacillus plantarum</i> DSM 2601 DSM	2.099	1560
4 (++)	<i>Lactobacillus plantarum</i> DSM 20246 DSM	2.086	1590
5 (++)	<i>Lactobacillus plantarum</i> DSM 106077 DSM	2.045	60520
6 (++)	<i>Lactobacillus plantarum</i> ssp <i>plantarum</i> DSM 201747 DSM	2.005	337330
7 (+)	<i>Lactobacillus plantarum</i> DSM 12028 DSM	1.920	1560
8 (+)	<i>Lactobacillus pentosus</i> DSM 14366 DSM	1.887	1580
9 (+)	<i>Lactobacillus plantarum</i> ssp <i>argenteotarsus</i> DSM 143657 DSM	1.869	271881
10 (+)	<i>Lactobacillus pentosus</i> DSM 203147 DSM	1.843	1580

Rank (Quality)	Matched Pattern	Score Value	NCBI Identifier
1 (++)	<i>Lactobacillus plantarum</i> DSM 106077 DSM	1.857	60520
2 (++)	<i>Lactobacillus plantarum</i> DSM 10641 DSM	1.853	60520
3 (+)	<i>Lactobacillus plantarum</i> DSM 20246 DSM	1.847	1520
4 (+)	<i>Lactobacillus plantarum</i> DSM 1055 DSM	1.838	1520
5 (+)	<i>Lactobacillus plantarum</i> DSM 12028 DSM	1.768	1560
6 (++)	<i>Lactobacillus plantarum</i> DSM 2601 DSM	1.763	1560
7 (+)	<i>Lactobacillus pentosus</i> DSM 14366 DSM	1.746	1580
8 (+)	<i>Lactobacillus plantarum</i> DSM 13273 DSM	1.712	1560
9 (-)	<i>Lactobacillus plantarum</i> ssp <i>plantarum</i> DSM 201747 DSM	1.695	337330
10 (-)	<i>Lactobacillus plantarum</i> ssp <i>argenteotarsus</i> DSM 143657 DSM	1.671881	271881

Rank (Quality)	Matched Pattern	Score Value	NCBI Identifier
1 (++)	<i>Lactobacillus fermentum</i> DSM 20391 DSM	2.527	1613
2 (+)	<i>Lactobacillus fermentum</i> DSM 20653 DSM	1.969	1613
3 (+)	<i>Lactobacillus fermentum</i> DSM 14343 DSM	2.0	161331
4 (-)	<i>Lactobacillus fermentum</i> DSM 20849 DSM	2.0	1613
5 (-)	<i>Streptococcus jamnensis</i> J61025 TRL	2.0	1613
6 (-)	<i>Lactobacillus brevis</i> DSM 12108 DSM	2.0	1280
7 (-)	<i>Lactobacillus kefir</i> DSM 205477 DSM	2.0	33905
8 (+)	<i>Nonacris nonacris</i> NB_2051_05 TRL	2.0	487
9 (-)	<i>Lactobacillus saerrensis</i> DSM 160897 DSM	2.0	238205
10 (-)	<i>Lactobacillus</i> sp 143306 CIP	2.0	1378

Rank (Quality)	Matched Pattern	Score Value	NCBI Identifier
1 (++)	<i>Lactobacillus paracasei</i> ssp <i>paracasei</i> DSM 2649 DSM	1.71	47714
2 (-)	<i>Lactobacillus paracasei</i> ssp <i>paracasei</i> DSM 5457 DSM	1.66	47714
3 (-)	<i>Lactobacillus paracasei</i> ssp <i>paracasei</i> DSM 8742 DSM	1.66	47714
4 (-)	<i>Lactobacillus paracasei</i> ssp <i>paracasei</i> DSM 20020 DSM	1.617	47714
5 (-)	<i>Lactobacillus paracasei</i> ssp <i>paracasei</i> DSM 8741 DSM	1.61	47714
6 (-)	<i>Lactobacillus paracasei</i> ssp <i>paracasei</i> DSM 20008 DSM	1.60	47714
7 (-)	<i>Lactobacillus paracasei</i> ssp <i>paracasei</i> DSM 20096 DSM	1.60	47714
8 (-)	<i>Lactobacillus paracasei</i> ssp <i>paracasei</i> DSM 46331 DSM	1.60	47714
9 (-)	<i>Lactobacillus paracasei</i> ssp <i>paracasei</i> DSM 20312 DSM	1.60	47714
10 (-)	<i>Lactobacillus paracasei</i> ssp <i>tolerans</i> DSM 202587 DSM	1.60	413337

Figure 02 : Liste d'identification proposée dans la base de données MALDI-TOF MS pour certaines souches identifiées.

Annexe 04

Tableau01 : Les valeurs du score des souches identifiées *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus paraplantarum*, *Lactobacillus paracasei ssp paracasei* et *Lactococcus lactis ssp lactis*.

Code des souches	Identification	Valeurs du score	Régions	
Source : J'ben				
JBS24	<i>Lactobacillus plantarum DSM 12028 DSM</i>	2.155	Blida	
JBS32	<i>Lactobacillus plantarum DSM 2601 DSM</i>	2.18		
JBS5		2.129		
JBS4		2.029		
JBS8CG		2.016		
JBS6C1		2.124		
JBS23		1.858		
JBS19		<i>Lactobacillus plantarum DSM 1055 DSM</i>		1.995
JBS11		2.139		
JBS22		1.963		
JBS20		<i>Lactobacillus plantarum DSM 20246 DSM</i>		2.093
JAS3C3		<i>Lactobacillus plantarum DSM 2601 DSM</i>		2.117
JAS1		<i>Lactobacillus plantarum ssp plantarum DSM 20174T DSM</i>	2.152	
JAS3C4	<i>Lactobacillus plantarum DSM 1055 DSM</i>	2.137		
JAS16		2.213		
JAS17		2.012		
JAS11		1.774		
JAS10		2.186		
Source : L'ben				
LMS1		<i>Lactobacillus plantarum DSM 1055 DSM</i>	2.232	Médéa
LAS2		<i>Lactobacillus plantarum DSM 20246 DSM</i>	1.815	Ain
LAS3	2.161		Defla	
LAS4	1.802			
Source : Zebda				
ZMS1	<i>Lactobacillus plantarum DSM 1055 DSM</i>	2.166	Médéa	
Source : Smen				
SVS1	<i>Lactobacillus plantarum DSM 1055 DSM 2</i>	2.04	Médéa	
SVS9	<i>Lactobacillus plantarum ssp plantarum DSM 20174T DSM</i>	1.72	Naâma	
Source : J'ben				
JAS15	<i>Lactobacillus Paraplantarum DSM 10667T DSM</i>	1.857	Naâma	
JKS13	<i>Lactobacillus paracasei ssp paracasei DSM 2649 DSM</i>	1.71	Khenchela	
Source :J'ben				
E7	<i>Lactococcus lactis ssp lactis DSM 20661 DSM</i>	2,313	Médéa	
E9S1		2,298		
E10S1		2,292		
E10S2		2,267		
E9S2		<i>Lactococcus lactis ssp lactis DSM 20384 DSM</i>		2.359

Tableau02 : Les valeurs du score des souches identifiées comme *Lactobacillus fermentum*

Code des souches	Identification	Valeurs du score	Régions
Source :J'ben			
JOS1	<i>Lactobacillus fermentum DSM 20391 DSM</i>	2.03	Oran
JOS4		1.8802	
JBES1		2.129	Bechar
JBES8		1.998	
JBES4		2.059	
JKS8		2.119	Khenchela
JKS1		1.933	
JKS10		1.96	
JKS9		1.859	
JKS5		1.705	
JKS7		1.9	
JBS1		1.806	Blida
JNS2		2.023	Naâma
JNS5		1.707	
JNS9		1.946	
JNS14		1.905	
Source :L'ben			
LMS8	<i>Lactobacillus fermentum DSM 20391 DSM</i>	1.831	Médéa
LMS5		1.9555	
LMS7		1.929	
LAS1		1.74	Ain Defla
LAS2		1.862	
LAS7		1.869	
LAS8		2.024	
LAS6		1.791	
Source :Smen			
SDS3	<i>Lactobacillus fermentum DSM 20391 DSM</i>	2.232	Djelfa
SMS6		1.754	Médéa
Source :Zebda			
ZMS7	<i>Lactobacillus fermentum DSM 20391 DSM</i>	2.031	Médéa
ZMS9		2.096	
ZMS		1.913	
ZMS4		1.72	
ZMS2		1.898	
ZMS1		1.965	
ZMS3		1.742	
ZTS1		2.119	Tizi Ouzou
ZKS3		2.183	Khenchela
Source :Raib			
RS1	<i>Lactobacillus fermentum DSM 20391 DSM</i>	1.9555	Blida

Tableau 03: Les valeurs du score des souches identifiées comme *Enterococcus faecalis*

Code des souches	Identification	Valeurs du score	Régions
Source :J'ben			
JBS13	<i>Enterococcus faecalis DSM 20409 DSM</i>	2.171	Blida
JBS5		2.298	
JBS14		2.052	
JBS30		2,141	
JBS9		2,087	
JAS18	<i>Enterococcus faecalis DSM 20409 DSM</i>	2 ,125	Naâma
JAS33		2.224	
JAS30		2.181	
JAS15		2.117	
JAS2	<i>Enterococcus faecalis 20247_4 CHB</i>	2.059	
JAS35		2.277	
JAS20		2.322	
JAS11		2.156	
JAS16C3		1.784	
JAS4	<i>Enterococcus faecalis ATCC 7080 THL</i>	1.921	
JAS34		2.223	
JAS37		1.868	
JAS39		2.175	
JBES6	<i>Enterococcus faecalis 20247_4 CHB</i>	2.166	Bechar
Source :Smen			
SCS1	<i>Enterococcus faecalis 20247_4 CHB</i>	2.052	Naâma

Tableau 04: Les valeurs du score des souches identifiées comme *Enterococcus faecium*

Code des souches	Identification	Valeurs du score	Régions	
Source : J'ben				
JBS29	<i>Enterococcus Faecium 20218_1 CHB</i>	2.336	Blida	
JBS26		2.369		
JBS8		2.462		
JBS36		2.256		
JBS10	<i>Enterococcus Faecium DSM 2146 DSM</i>	2.223		
JAS8	<i>Enterococcus Faecium 20218_1 CHB</i>	2.318	Naâma	
JAS12		2.276		
JAS16		2.24		
JAS14		2.289		
JAS24		2.276		
JAS30		2.13		
JAS42		2.143		
JAS28		2.361		
JAS25		2.091		
JAS9		2.212		
JAS37		<i>Enterococcus Faecium 11037 CHB</i>		2.384
JAS40		1.813		
JAS41		2.218		
JBES4		<i>Enterococcus Faecium 20218_1 CHB</i>		2.113
JBES11	2.439			
JOS3	<i>Enterococcus Faecium 11037 CHB</i>	2.222	Oran	
JOS6	<i>Enterococcus Faecium 20218_1 CHB</i>	2,085		
Source :Smen				
SVS1	<i>Enterococcus Faecium DSM 17050 DSM</i>	2.215	Naâma	
SCS4	<i>Enterococcus Faecium 11037 CHB</i>	2.431		
SCS5	<i>Enterococcus Faecium 20218_1 CHB</i>	1.928		
SMS2	<i>Enterococcus Faecium 11037 CHB</i>	2.262	Médéa	
SMS4	<i>Enterococcus Faecium 20218_1 CHB</i>	2.185		
Source :Zebda				
ZAS5	<i>Enterococcus Faecium 11037 CHB</i>	1.754	Ain defla	

Annexe 05

Tableau 05: suivie de l'évolution du pH et de l'acidité

	0 h		2 h		4h		6h		8h		18h	
	pH	AC(°D)	pH	AC	pH	AC	pH	AC	pH	AC	pH	AC
<i>Lactobacillus</i>												
JBS11	6.15	21	6.09	25	6.01	33	5.98	39	5.82	45	4.9	86
LAS3	6.05	21	6.01	22	5.83	31	5.52	36	5.12	40	4.2	89
LAS4	6.03	22	6	26	5.96	39	5.9	42	5.62	52	4.63	87
ZMS1	5.99	32	5.81	35	5.65	42	5.34	49	4.79	59	3.76	100
JAS3C3	5.96	25	5.74	30	5.53	35	5.47	49	5.32	55	3.6	100
SVS9	6.4	20	6.2	25	6.08	29	5.99	33	5.74	38	5.2	72
JBS32	6.2	20	6.1	26	5.92	31	5.89	37	5.31	42	5.09	76
JBS8CG	5.89	26	5.71	30	5.66	34	5.31	39	5	49	3.96	95
JAS16	6	27	5.89	34	5.75	39	5.1	51	4.65	61	3.93	97
SVS1	6.5	22	6.42	26	6.08	29	5.82	33	5.66	39	4.86	70
JBES8	5.93	28	5.63	33	5.5	38	5.3	45	5.1	58	4.15	97
ZMS7	5.89	25	5.7	28	5.5	33	5.42	39	5.22	40	4.92	79
ZTS1	6.24	20	6.17	23	6.08	28	5.72	33	5.63	49	4.61	89
LAS6	6.18	22	6.14	24	6.02	27	5.95	35	5.62	39	4.5	88
LAS7	6.19	23	6.1	25	6	28	5.69	31	5.1	38	4.77	82
LMS8	6.12	22	6.05	26	5.99	34	5.82	41	5.65	49	4.82	70
<i>Lactococcus</i>												
E7	5.9	30	5.75	35	5.2	44	4.95	59	4.78	67	3.37	96
E9S1	6	29	5.69	33	5.45	41	4.89	54	4.68	61	3.68	89
E10S1	6.2	24	6.08	29	5.74	36	5.56	42	5.2	51	4.36	80
E10S2	6.04	27	5.94	32	5.72	39	5.45	47	5	56	4.1	86
E9S2	6.1	25	6	30	5.68	38	5.36	50	4.76	59	3.48	93
<i>Enterococcus</i>												
JAS33	6.53	20	6.43	25	6.24	29	5.96	37	5.4	49	4.82	79
JAS5	6.48	22	6.37	28	6	31	5.89	40	5.76	50	5.1	70
SCS1	6.3	24	6.22	30	6.19	39	5.72	46	5	56	4.99	76
SMS4	6.45	23	6	28	5.84	35	5.3	54	4.92	59	4.35	85
ZAS5	6.24	27	6.17	34	6	40	5.72	58	4.89	61	4.58	82
JBES6	6.3	24	6	36	5.95	43	5.78	49	5.12	55	4.06	89

Annexe 6

Les séquences des souches identifiées par PCR et séquençage de l'ARN 16S :

>OM386872.1 *Limosilactobacillus fermentum* strain A6 16S ribosomal RNA gene, partial sequence

CTGCGCAGAATCGGGGACAACATTTGGAAACAGATGCTAATACCGCATAACACCGTTGTTTCG
CATGAACAACGCTGAAAAGATGGTCTTCTCGCTATCACTTCTGGATGGACCTGCGGTGCATTAG
CTTGTGGTGGGGTAATGGCCTACCAAGGCGATGATGCATAGCCGAGTTGAGAGACTGATCGG
CCACAATGGGACTGAGACACGGCCATACTCCTACGGGAGGCAGCACTAGGGAATCTTCCACA
ATGGGCGCAAGCCTGATGGAGCAACACCGCGTGAGTGAACAAGGGTTTCGGCTCGTAAAGCTC
TGTTGATAAAGAAGAACACGTATGAGAGTAACTGTTTCATACGTTGACGGTATTTAACCAGAAA
GTCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGATTTA
TTGGGCGTAAAGAGAGTGCAGGCGGTTTTCTAAGTCTGATGTGAAAGCCTTCGGCTTAACCGGA
CAAATGCATCGGAAACTGGATAACTTGAATGCAGAAGAGGGTAGTGGAAGTCCATGTGTATCG
GTGGAATGCGTAGATATATGGAAGAACACCAGTGGCGAACGCGGCTACCTGGTCTGCAACTGA
CGCTGAGACTCGAAAGCATGGGTAGCTAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCATGACGTAAA
CGATGAGTGCTAGGTGTTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGACGGAGCTAACGCATTAAGCACTC
CGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGAGCCCGCACAAAGCG
GTGGATCATGTGGTTTAATTCGAAACTACGCTAACCAACCTTACCAAGTCTTGACATCTTGCGCA
ATCCTAGAGATACGTCTGTTACTTCGGGAACGCAGTGACAGGTGGTGCATGATCGTCGTCAGCTC
GAGTTCGAAATGTTGCGTAAGTCCGCAA

>OM386873.1 *Limosilactobacillus fermentum* strain A7 16S ribosomal RNA gene, partial sequence

AGTCGAACGCGTTGGCCCAATTGATTGATGGTGCTTGCACCTGATTGATTTTGGTCGCCAACGA
GTGGCGGACGGGTGAGTAACACGTAGGTAACCTGCCCAGAAGCGGGGGACAACATTTGGAAAC
AGATGCTAATAACCGCATAACAACGTTGTTTCGCATGAACAACGCTTAAAAGATGGCTTCTCGCTA
TCACTTCTGGATGGACCTGCGGTGCATTAGCTTGTGGTGGGGTAACGGCCTACCAAGGCGATG
ATGCATAGCCGAGTTGAGAGACTGATCGGCCACAATGGGACTGAGACACGGCCATACTCCTA
CGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCACAATGGGCGCAAGCCTGATGGAGCAACACCGCGTGA
GTGAAGAAGGGTTTCGGCTCGTAAAGCTCTGTTGTTAAAGAAGAACACGTATGAGAGTAACTG
TTCATACGTTGACGGTATTTAACCAGAAAGTACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAAT
ACGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGATTTATTGGGCGTAAAGAGAGTGCAGGCGGTTTTCTAAGT
CTGATGTGAAAGCCTTCGGCTTAACCGGAGAAGTGCATCGGAAACTGGATAACTTGAGTGCAG
AAGAGGGTAGTGGAAGTCCATGTGTAGCGGTGGAATGCGTAGATATATGGAAGAACACCAGTG
GCGAAGGCGGCTACCTGGTCTGCAACTGACGCTGAGACTCGAAAGCATGGGTAGCGAACAGGA
TTAGATACCCTGGTAGTCCATGCCGTAACGATGAGTGCTAGGTGTTGGAGGGTTTCCGCCCTT
CAGTGCCGGAGCTAACGCATTAAGCACTCCGCCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCA
AAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCTACGCGAAG
AACCTTACCAGGTCTTGACATCTTGCGCCACCCTAGAGATAGGGCGTTTCCTTCGGGACGCAAT
GACAGGTGGTGCATGGTTCGTCGTCAGCTCGTGTCTGAGATGTTGGGTAAGTCCCGCAACGAGC
GCACCCTTGTTACTAGTTGCCAGCATTAAGTGGG

>OM386874.1 *Limosilactobacillus fermentum* strain A8 16S ribosomal RNA gene, partial sequence

GCAAGTCGAACGCGTTGGCCCAATTGATTGATGGTGCTTGCACCTGATTGATTTTGGTCGCCAA
CGAGTGGCGGACGGGTGAGTAACACGTAGGTAACCTGCCCAGAAGCGGGGGACAACATTTGGA
AACAGATGCTAATACCGCATAACAACGTTGTTTCGCATGAACAACGCTTAAAAGATGGCTTCTCG
CTATCACTTCTGGATGGACCTGCGGTGCATTAGCTTGTGGTGGGGTAACGGCCTACCAAGGCG
ATGATGCATAGCCGAGTTGAGAGACTGATCGGCCACAATGGGACTGAGACACGGCCATACTC
CTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCACAATGGGCGCAAGCCTGATGGAGCAACACCGCG
TGAGTGAAGAAGGGTTTCGGCTCGTAAAGCTCTGTTGTTAAAGAAGAACACGTATGAGAGTAA
CTGTTCATAACGTTGACGGTATTTAACCAGAAAGTCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGT
AATACGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGATTTATTGGGCGTAAAGAGAGTGCAGGCGGTTTTCTA
AGTCTGATGTGAAAGCCTTCGGCTTAACCGGAGAAGTGCATCGGAAACTGGATAACTTGAGTG
CAGAAGAGGGTGTGGAAGTCCATGTGTAGCGGTGGAATGCGTAGATATATGGAAGAACACCA
GTGGCGAAGGCGGCTACCTGGTCTGCAACTGACGCTGAGACTCGAAAGCATGGGTAGCGAACA
GGATTAGATACCCTGGTAGTCCATGCCGTAACGATGAGTGCTAGGTGTTGGAGGGTTTTCCGCC
CTTCAAGTCCGGAGCTAACGCATTAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAAC
TCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCTACGCG
AGAACCTTACCAGGTCTTGACATCTTGCGCCAACCTAGAGATAGGGCGTTTCCTTCGGGAAC
GCAATGA

>OM386875.1 *Lactiplantibacillus pentosus* strain B1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence

GTCGAACGAACTCTGGTATTGATTGGTGCTTGCATCATGATTTACATTTGAGTGAGTGGCGAAC
TGGTGAGTAACACGTGGGAAACCTGCCCAGAAGCGGGGGATAACACCTGGAAACAGATGCTAA
TACCGCATAACAACCTTGACCGCATGGTCCGAGTTTCAAAGATGGCTTCGGCTATCACTTTTGG
ATGGTCCC CGCGGCGTATTAGCTAGATGGTGGGGTAACGGCTCACCATGGCAATGATACGTAGC
CGACCTGAGAGGGTAATCGGCCACATTGGGACTGAAACACGGCCCAAACCTACGGGAGGCA
GCAGTAGGGAATCTTCCACAATGGACGAAAGTCTGATGGAGCAACGCCGCGTGAGTGAAGAAG
GGTTTCGGCTCGTAAAACCTCTGTTGTTAAAGAAGAACATATCTGAAAGTAACTGTTTCAGGTATT
GACGGTATTTAACCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTG
GCAAGCGTTGTCCGGATTTATTGGGCGTAAAGCGAGCGCAGGCGGTTTTTTAAGTCTGATGTGA
AAGCCTTCGGCTCAACCGAAGAAGTGCATCGGAAACTGGGAAACTTGAGTGCAGAAGAAGACA
GTGGAAGTCCATGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATATGGAAGAACACCAGTGGCGAAGGCG
GCTGTCTGGTCTGTAAGTACGCTGAAGCTCGAAAGTATGGGTAGCAAACAGGATTAGATACC
CTGGTAGTCCATAACCGTAAACGATGAATGCTAAGTGTGGAGGGTTTTCCGCCCTTCAGTGCTGC
AGCTAACGCATTAAGCATTCCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTGAAACTCAAAGGAATTG
ACGGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAACATGTGGTTTAATTCGAAGCTACGCGAAGAACCTTACC
AGGTCTTGACATACTATGCAAATCTAGAGATTAGACGTTCCCTTCGGGACATGGATACAGGTGG
TGCATGGGTGTCGTCAGCTCGTGTCTGAGATGTTGGGTTAAGTCC

>OM386876.1 *Lactiplantibacillus pentosus* strain B2 16S ribosomal RNA gene, partial sequence

TCGAACGAACTCTGGGTATTGATTGGTGCATTGATTTACATTTGAGTGAGTGG
CGAACTGGTGAGTAACACGTGGGAAACCTGCCCAGAAGCGGGGGATAACACCTGGAA
ACAGATGCTAATACCGCATAACAACCTTGGACCGCATGGTCCGAGTTTGAAAGATGGCT
TCGGCTATCACTTTTGGATGGTCCC CGGGCGTATTAGCTAGATGGTGGGGTAACGGCTC
ACCATGGCAATGATACGTAGCCGACCTGAGAGGGTAATCGGCCACATTGGGACTGAAA
CACGGCCCAAACCTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCACAATGGACGAAAGT
CTGATGGAGCAACGCCGCGTGAGTGAAGAAGGGTTTCGGCTCGTAAAACCTCTGTTGTT
AAAGAAGAACATATCTGAAAGTAACTGTTTCAGGTATTGACGGTATTTAACAGAAAGC
CACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAAGTGGCAAGCGTTGTCCGGA
TTTATTGGGCGTAAAGCGAGCGCAGGCGGTTTTTTAAGTCTGATGTGAAAGCCTTCGGC
TCAACCGAAGAAGTGCATCGGAAACTGGGAAACTTGAGTGCAGAAGAAGACAGTGGAA
ACTCCATGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATATGGAAGAACACCAGTGGCGAAAGCG
GCTGTCTGGTCTGTAACCTGACGCTGAAGCTCGAAAGTATGGGTAGCAAACAGGATTAG
ATACCCTGGTAATCCCTTACCGTAAACGATGAATGCTAAGTGTGGAAAGTTTCCGCCC
TTCAGTGCTGCAGCTAACGCATTAAGCATTCCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTG
AAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCGCACAAAGCGGTGGAACATGTGGTTTTAATTCGAA
GCTACGCGAAGAACCTTACCAGGTCTTGACATACTATGCAAATC

>OM386877.1 *Enterococcus faecium* strain B3 16S ribosomal RNA gene, partial sequence

AAGTCGAACGCTTCTTTTTCCACCGGAGCTTGCTCCACCGGAAAAAGAGGAGTGGCGA
ACGGGTGAGTAACACGTGGGTAACCTGCCCATCAGAAGGGGATAACACTTGGAAACA
GGTGCTAATACCGTATAACAATCAAACCGCATGGTTTTGATTTGAAAGGCGCTTTCGG
GTGTCGCTGATGGATGGACCCGCGGTGCATTAGCTAGTTGGTGAGGTAACGGCTCACC
AAGGCCACGATGCATAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACATTGGGACTGAGACA
CGGCCCAAACCTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCGGCAATGGACGAAAGTCT
GACCGAGCAACGCCGCGTGAGTGAAGAAGTTTTTCGGATCGTAAAACCTCTGTTGTTAG
AGAAGAACAAGGATGAGAGTAACTGTTTCATCCCTTGACGGTATCTAACAGAAAGCCA
CGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGATT
TATTGGGCGTAAAGCGAGCGCAGGCGGTTTTCTTAAGTCTGATGTGAAAGCCCCGGCT
CAACCGGGGAGGGTCATTGGAAACTGGGAGACTTGAGTGCAGAAGAGGAGAGTGGAA
TTCCATGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATATGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGG
CTCTCTGGTCTGTAACCTGACGCTGAGGCTCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGA
TACCCTGGTAGTCCACGCCGTAACGATGAGTGCTAAGTGTGGAGGGTTTCCGCCCTT
CAGTGCTGCAGCTAACGCATTAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAA
ACTCAAAGGAATTGACGGGGGCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTTAATTCGAAG
CAACGCGAAGAACCTTACCAGGTCTTGACATCCTTTGACCACTCTAGAGATAGAGCTTC

>OM386878.1 *Limosilactobacillus fermentum* strain B4 16S ribosomal RNA gene, partial sequence

GTCGAACGCGTTGGCCCAATTGATTGATGGTGCTTGCACCTGATTGATTTTGGTCGCCAACGAG
TGGCGGACGGGTGAGTAACACGTAGGTAACCTGCCCAGAAGCGGGGGACAACATTTGGAAACA
GATGCTAATACCGCATAACAACGTTGTTTCGCATGAACAACGCTTAAAAGATGGCTTCTCGCTAT
CACTTCTGGATGGACCTGCGGTGCATTAGCTTGTGGTGGGGTAACGGCCTACCAAGGCGATGA
TGCATAGCCGAGTTGAGAGACTGATCGGCCACAATGGGACTGAGACACGGCCCATACTCCTAC
GGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCACAATGGGCGCAAGCCTGATGGAGCAACACCGCGTGAG
TGAAGAAGGGTTTCGGCTCGTAAAGCTCTGTTGTTAAAGAAGAACACGTATGAGAGTAACTGTT
CATACTGACGGTATTTAACCAGAAAGTCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATA
CGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGATTTATTGGGCGTAAAGAGAGTGCAGGCGGTTTTCTAAGTC
TGATGTGAAAGCCTTCGGCTTAACCGGAGAAGTGCATCGGAAACTGGATAACTTGAGTGCAGA
AGAGGGTAGTGGAACCTCATGTGTAGCGGTGGAATGCGTAGATATATGGAAGAACACCAGTGG
CGAAGGCGGCTACCTGGTCTGCAACTGACGCTGAGACTCGAAAGCATGGGTAGCGAACAGGAT
TAGATACCCTGGTAGTCCATGCCGTAAACGATGAGTGCTAGGTGTTGGAGGGTTTTCCGCCCTTC
AGTGCCGGAGCTAACGCATTAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAA
AGGAATTGACGGGGGCCCCGACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTTCGAAGCTACGCGAAGA
ACCTTACCAGGTCTTGACATCTTGCGCCACCCTAGAGATAGGGCGTTTTCTTCGGGAACGCAAT
GACAGGTGGTGCATGGTCGTCGTCAGCTCGTGTCTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAG
CGCAACCCTTGTTACTAGTTGCCAGCATTAAGTTGGG

>OM386879.1 *Limosilactobacillus fermentum* strain B5 16S ribosomal RNA gene, partial sequence

TCGAACGCGTTGGCCCAATTGATTGATGGTGCTTGCACCTGATTGATTTTGGTCGCCAACGAGT
GGCGGACGGGTGAGTAACACGTAGGTAACCTGCCCAGAAGCGGGGGACAACATTTGGAAACA
GATGCTAATACCGCATAACAACGTTGTTTCGCATGAACAACGCTTAAAAGATGGCTTCTCGCTAT
CACTTCTGGATGGACCTGCGGTGCATTAGCTTGTGGTGGGGTAACGGCCTACCAAGGCGATGA
TGCATAGCCGAGTTGAGAGACTGATCGGCCACAATGGGACTGAGACACGGCCCATACTCCTAC
GGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCACAATGGGCGCAAGCCTGATGGAGCAACACCGCGTGAG
TGAAGAAGGGTTTCGGCTCGTAAAGCTCTGTTGTTAAAGAAGAACACGTATGAGAGTAACTGTT
CATACTGACGGTATTTAACCAGAAAGTCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATA
CGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGATTTATTGGGCGTAAAGAGAGTGCAGGCGGTTTTCTAAGTC
TGATGTGAAAGCCTTCGGCTTAACCGGAGAAGTGCATCGGAAACTGGATAACTTGAGTGCAGA
AGAGGGTAGTGGAACCTCATGTGTAGCGGTGGAATGCGTAGATATATGGAAGAACACCAGTGG
CGAAGGCGGCTACCTGGTCTGCAACTGACGCTGAGACTCGAAAGCATGGGTAGCGAACAGGAT
TAGATACCCTGGTAGTCCATGCCGTAAACGATGAGTGCTAGGTGTTGGAGGGTTTTCCGCCCTTC
AGTGCCGGAGCTAACGCATTAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAA
AGGAATTGACGGGGGCCCCGACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTTCGAAGCTACGCGAAGA
ACCTTACCAGGTCTTGACATCTTGCGCCAACCCCTAGAGATAGGGCGTTTTCTTCGGGAACGCAA
TGACAGGTGGTGCATGGTCGTCGTCAGCTCGTGTCTGAGATGTTGGGTTAAGTCCC

>OM386880.1 *Limosilactobacillus fermentum* strain B6 16S ribosomal RNA gene, partial sequence

GTCGAACGCGTTGGCCCAATTGATTGATGGTGCTTGCACCTGATTGATTTTGGTCGCCAACGAG
TGGCGGACGGGTGAGTAACACGTAGGTAACCTGCCCAGAAGCGGGGGACAACATTTGGAAACA
GATGCTAATACCGCATAACAACGTTGTTTCGCATGAACAACGCTTAAAAGATGGCTTCTCGCTAT
CACTTCTGGATGGACCTGCGGTGCATTAGCTTGTGGTGGGGTAACGGCCTACCAAGGCGATGA
TGCATAGCCGAGTTGAGAGACTGATCGGCCACAATGGGACTGAGACACGGCCCATACTCCTAC
GGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCACAATGGGCGCAAGCCTGATGGAGCAACACCGCGTGAG
TGAAGAAGGGTTTCGGCTCGTAAAGCTCTGTTGTTAAAGAAGAACACGTATGAGAGTAACTGTT
CATACTGACGGTATTTAACCAGAAAGTCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATA
CGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGATTTATTGGGCGTAAAGAGAGTGCAGGCGGTTTTCTAAGTC
TGATGTGAAAGCCTTCGGCTTAACCGGAGAAGTGCATCGGAAACTGGATAACTTGAGTGCAGA
AGAGGGTAGTGAACTCCATGTGTAGCGGTGGAATGCGTAGATATATGGAAGAACACCAGTGG
CGAAGGCGGCTACCTGGTCTGCAACTGACGCTGAGACTCGAAAGCATGGGTAGCGAACAGGAT
TAGATACCCTGGTAGTCCATGCCGTAAACGATGAGTGCTAGGTGTTGGAGGGTTTCCGCCCTTC
AGTGCCGGAGCTAACGCATTAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAA
AGGAATTGACGGGGGCCCCGACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTTCGAAGCTACGCGAAGA
ACCTTACCAGGTCTTGACATCTTGCGCCAACCCCTAGAGATAGGGCGTTTCCTTCGGGAACGCAA
TGACAGGTGGTGCATGGTCGTCGTCAGCTCGTGTGTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCAGCAACGA
GCGCAACCCTTGTTACTAGTTGCCAGCATTAAAGTTGGG

>OM386881.1 *Limosilactobacillus fermentum* strain B7 16S ribosomal RNA gene, partial sequence

CGCGTTGGCCCAATTGATTGATGGTGCTTGCACCTGATTGATTTTGGTCGCCAACGAGTGGCGG
ACGGGTGAGTAACACGTAGGTAACCTGCCCAGAAGCGGGGGACAACATTTGGAAACAGATGCT
AATACCGCATAACAACGTTGTTTCGCATGAACAACGCTTAAAAGATGGCTTCTCGCTATCACTTC
TGATGGACCTGCGGTGCATTAGCTTGTGGTGGGGTAATGGCCTACCAAGGCGATGATGCATA
GCCGAGTTGAGAGACTGATCGGCCACAATGGGACTGAGACACGGCCCATACTCCTACGGGAGG
CAGCAGTAGGGAATCTTCCACAATGGGCGCAAGCCTGATGGAGCAACACCGCGTGAGTGAAGA
AGGGTTTCGGCTCGTAAAGCTCTGTTGTTAAAGAAGAACACGTATGAGAGTAACTGTTTCATACG
TTGACGGTATTTAACCAGAAAGTCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGG
TGGCAAGCGTTATCCGGATTTATTGGGCGTAAAGAGAGTGCAGGCGGTTTTCTAAGTCTGATGT
GAAAGCCTTCGGCTTAACCGGAGAAGTGCATCGGAAACTGGATAACTTGAGTGCAGAAGAGGG
TAGTGAACTCCATGTGTAGCGGTGGAATGCGTAGATATATGGAAGAACACCAGTGGCGAAGG
CGGCTACCTGGTCTGCAACTGACGCTGAGACTCGAAAGCATGGGTAGCGAACAGGATTAGATA
CCCTGGTAGTCCATGCCGTAAACGATGAGTGCTAGGTGTTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGCC
GGAGCTAACGCATTAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAAT
TGACGGGGGCCCCGACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTTCGAAGCTACGCGAAGAACCTTA
CCAGGTCTTGACATCTTGCGCCACCCTAGAGATAGGGCGTTTCCTTCGGGAACGCAATGACAGG
TGGTGCATGGTCGTCGTCAGCTC

>OM386882.1 *Limosilactobacillus fermentum* strain B8 16S ribosomal RNA gene, partial sequence

GATGGCTTCTCGCTATCACTTCTGGATGGACCTGCGGTGCATTAGCTTGTGGTGGGGT
AATGGCCTACCAAGGCGATGATGCATAGCCGAGTTGAGAGACTGATCGGCCACAATGG
GACTGAGACACGGCCATACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCACAATGG
GCGCAAGCCTGATGGAGCAACACCGCGTGAGTGAAGAAGGGTTTCGGCTCGTAAAGCT
CTGTTGTTAAAGAAGAACACGTATGAGAGTAACTGTTTCATACGTTGACGGTATTTAACC
AGAAAGTCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTACGTGGCAAGCGTT
ATCCGGATTTATTGGGCGTAAAGAGAGTGCACGCGGTTTTCTAAGTCTGATGTGAAAG
CCTTCGGCTTAACCGGAGAAGTGCATCGGAAACTGGATAACTTGAGTGCAAAACAGGG
TAGTGGAACCTTGGGTAGCGGTGGAATGCATAGATATATGGAAGAACACCAGTGCC
GAAGGCGGCTACCTGGTCTGCAACTGACGCTGAGACTCGAAAGCATGGGTAGCGAACA
GGATTAGATAACCTGGTAGTCCATGCCGTAAACTATGAGTGCTACGTGTTGGAAGGGT
TTCCGCCCTTCAATGCCGGAGCTAACGCAGTAAGCACTCCCCCTGGGGAGTACAACCG
CAAGGTTGAAACTC

>OM386883.1 *Enterococcus faecium* strain C1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence

GCAAGTCGAACGCTTCTTTTTCCACCGGAGCTTGCTCCACCGGAAAAAGAGGAGTGGC
GAACGGGTGAGTAACACGTGGGTAACCTGCCCATCAGAAGGGGATAACACTTGAAA
CAGGTGCTAATACCGTATAACAATCAAACCGCATGGTTTTGATTTGAAAGGCGCTTTC
GGGTGTCGCTGATGGATGGACCCGCGGTGCATTAGCTAGTTGGTGAGGTAACGGCTCA
CCAAGGCCACGATGCATAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACATTGGGACTGAGAC
ACGGCCAAACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCGGCAATGGACGAAAGT
CTGACCGAGCAACGCCGCGTGAGTGAAGAAGGTTTTCGGATCGTAAAACTCTGTTGTT
AGAGAAGAACAAGGATGAGAGTAACTGTTTCATCCCTTGACGGTATCTAACCAGAAAGC
CACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGA
TTTATTGGGCGTAAAGCGAGCGCAGGCGGTTTTCTTAAGTCTGATGTGAAAGCCCCCG
CTCAACCGGGGAGGGTCATTGGAAACTGGGAGACTTGAGTGCAGAAGAGGAGAGTGG
AATTCCATGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATATGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGC
GGCTCTCTGGTCTGTAAGTACGCTGAGGCTCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTA
GATAACCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGAGTGCTAAGTGTGGAGGGTTTTCCGCC
CTTCAGTGCTGCAGCTAACGCATTAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTT
GAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTTAATTCC
AAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGTCTTGACATCCTTTGACCACTCTAGAGATAGAG
CTTCCCCTTCGGGGGCAAAGTGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCTGTA
GATGTTGGGTAAAGTCCCGCACGAGCGCAACCTTATTGTTAGTTGCCATCATTCAAGTGG

>OM386884.1 *Enterococcus faecium* strain C2 16S ribosomal RNA gene, partial sequence

TCGAACGCTTCTTTTTCCACCGGAGCTTGCTCCACCGGAAAAAGAGGAGTGGCGAACGGGTGA
GTAACACGTGGGTAACCTGCCCATCAGAAGGGGATAAACTTGGAAACAGGTGCTAATACCGT
ATAACAATCAAACCGCATGGTTTTGATTTGAAAGGCGCTTTCGGGTGTCGCTGATGGATGGAC
CCGCGGTGCATTAGCTAGTTGGTGAGGTAACGGCTCACCAAGGCCACGATGCATAGCCGACCT
GAGAGGGTGATCGGCCACATTGGGACTGAGACACGGCCAAACTCCTACGGGAGGCAGCAGTA
GGGAATCTTCGGCAATGGACGAAAGTCTGACCGAGCAACGCCGCGTGAGTGAAGAAGGTTTTTC
GGATCGTAAAACCTCTGTTGTTAGAGAAGAACAAGGATGAGAGTAACTGTTCATCCCTTGACGGT
ATCTAACCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGC
GTTGTCCGGATTTATTGGGCGTAAAGCGAGCGCAGGCGGTTTCTTAAGTCTGATGTGAAAGCCC
CCGGCTCAACCGGGGAGGGTCAATTGGAAACTGGGAGACTTGAGTGCAGAAGAGGAGAGTGGA
ATTCCATGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATATGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGGCTCT
CTGGTCTGTAACCTGACGCTGAGGCTCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGT
AGTCCACGCCGTAAACGATGAGTGCTAAGTGTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGCTGCAGCTA
ACGCATTAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGGG
GGCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGTC
TTGACATCCTTTGACCACTCTAGAGATAGAGCTTCCCCTTCGGGGGCAAAGTGACAGGTGGTGC
ATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTGTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTAT
TGTTAGTTGCCATCATTAGTTGGGCACTCTAGCAAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGT
GGGGATGACGTCAAATCATCATGCC

>OM386885.1 *Enterococcus faecium* strain C3 16S ribosomal RNA gene, partial sequence

GTCGAACGCTTCTTTTTCCACCGGAGCTTGCTCCACCGGAAAAAGAGGAGTGGCGAACGGGTG
AGTAACACGTGGGTAACCTGCCCATCAGAAGGGGATAAACTTGGAAACAGGTGCTAATACCG
TATAACAATCAAACCGCATGGTTTTGATTTGAAAGGCGCTTTCGGGTGTCGCTGATGGATGGA
CCCGCGGTGCATTAGCTAGTTGGTGAGGTAACGGCTCACCAAGGCCACGATGCATAGCCGACC
TGAGAGGGTGATCGGCCACATTGGGACTGAGACACGGCCAAACTCCTACGGGAGGCAGCAGT
AGGGAATCTTCGGCAATGGACGAAAGTCTGACCGAGCAACGCCGCGTGAGTGAAGAAGGTTTT
CGGATCGTAAAACCTCTGTTGTTAGAGAAGAACAAGGATGAGAGTAACTGTTCATCCCTTGACG
GTATCTAACCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAA
GCGTTGTCCGGATTTATTGGGCGTAAAGCGAGCGCAGGCGGTTTCTTAAGTCTGATGTGAAAGC
CCCCGGCTCAACCGGGGAGGGTCAATTGGAAACTGGGAGACTTGAGTGCAGAAGAGGAGAGTG
GAATTCATGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATATGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGGCT
CTCTGGTCTGTAACCTGACGCTGAGGCTCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTG
GTAGTCCACGCCGTAAACGATGAGTGCTAAGTGTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGCTGCAGC
TAACGCATTAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACG
GGGGCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGG
TCTTGACATCCTTTGACCACTCTAGAGATAGAGCTTCCCCTTCGGGGGCAAAGTGACAGGTGGT
GCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTGTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTA
TTGTTAGTTGCCATCATTAGTTGGGCACTCTAGC

>OM386886.1 *Enterococcus faecium* strain C4 16S ribosomal RNA gene, partial sequence

TCGAACGCTTCTTTTTCCACCGGAGCTTGCTCCACCGGAAAAAGAGGAGTGGCGAACGGGTGA
GTAACACGTGGGTAACCTGCCCATCAGAAGGGGATAAACTTGGAAACAGGTGCTAATACCGT
ATAACAATCAAACCCGCATGGTTTTGATTTGAAAGGCGCTTTCGGGTGTCGCTGATGGATGGAC
CCGCGGTGCATTAGCTAGTTGGTGAGGTAACGGCTCACCAAGGCCACGATGCATAGCCGACCT
GAGAGGGTATCGGCCACATTGGGACTGAGACACGGCCAAACTCCTACGGGAGGCAGCAGTA
GGGAATCTTCGGCAATGGACGAAAGTCTGACCGAGCAACGCCGCGTGAGTGAAGAAGGTTTTTC
GGATCGTAAAACCTCTGTTGTTAGAGAAGAACAAGGATGAGAGTAACTGTTTCATCCCTTGACGGT
ATCTAACCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGC
GTTGTCCGGATTTATTGGGCGTAAAGCGAGCGCAGGCGGTTTCTTAAGTCTGATGTGAAAGCCC
CCGGCTCAACCGGGGAGGGTTCATTGGAAACTGGGAGACTTGAGTGCAGAAGAGGAGAGTGGA
ATTCCATGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATATGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGGCTCT
CTGGTCTGTAACCTGACGCTGAGGCTCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGT
AGTCCACGCCGTAAACGATGAGTGCTAAGTGTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGCTGCAGCTA
ACGCATTAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGGG
GGCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGTC
TTGACATCCTTTGACACTCTAGAGATAGAGCTTCCCTTCGGGGGCAAAGTGACAGGTGGTGCATG
GGTGTGTCGTCAGCTCGTGTGTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCACGAGCGCAACC

>OM386887.1 *Enterococcus faecium* strain C5 16S ribosomal RNA gene, partial sequence

AAGTCGAACGCTTCTTTTTCCACCGGAGCTTGCTCCACCGGAAAAAGAGGAGTGGCGAACGGGT
GAGTAACACGTGGGTAACCTGCCCATCAGAAGGGGATAAACTTGGAAACAGGTGCTAATACC
GTATAACAATCAAACCCGCATGGTTTTGATTTGAAAGGCGCTTTCGGGTGTCGCTGATGGATGG
ACCCGCGGTGCATTAGCTAGTTGGTGAGGTAACGGCTCACCAAGGCCACGATGCATAGCCGAC
CTGAGAGGGTATCGGCCACATTGGGACTGAGACACGGCCAAACTCCTACGGGAGGCAGCAG
TAGGGAATCTTCGGCAATGGACGAAAGTCTGACCGAGCAACGCCGCGTGAGTGAAGAAGGTTT
TCGGATCGTAAAACCTCTGTTGTTAGAGAAGAACAAGGATGAGAGTAACTGTTTCATCCCTTGACG
GTATCTAACCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAA
GCGTTGTCCGGATTTATTGGGCGTAAAGCGAGCGCAGGCGGTTTCTTAAGTCTGATGTGAAAGC
CCCCGGCTCAACCGGGGAGGGTTCATTGGAAACTGGGAGACTTGAGTGCAGAAGAGGAGAGTG
GAATTCATGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATATGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGGCT
CTCTGGTCTGTAACCTGACGCTGAGGCTCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTG
GTAGTCCACGCCGTAAACGATGAGTGCTAAGTGTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGCTGCAGC
TAACGCATTAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACG
GGGGCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGG
TCTTGACATCCTTTGACCACTCTAGAGATAGAGCTTCCCTTCGGGGGCAAAGTGACAGGTGGT
GCATGGTTGTGTCGTCAGCTCGTGTGTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCTTA
TTGTAGTGCCATCATTC

>OM386888.1 *Enterococcus faecium* strain C6 16S ribosomal RNA gene, partial sequence

GTCGAACGCTTCTTTTTACCCGGAGCTTGCTCCACCGGAAAAAGAGGAGTGGCGAACG
GGTGAGTAACACGTGGGTAACCTGCCCATCAGAAGGGGATAACACTTGGAAACAGGT
GCTAATACCGCTATAACAATCTAAACCGCATGGTTTTGATTTGAAAGGCGCTTTCGGGT
GTCGCTGATGGATGGACCCGCGGTGCATTAGCTAGTTGGTGAGGTAACGGCTCACCAA
GGCCACGATGCATAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACATTGGGACTGAGACACG
GCCCAAACCTCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCGGCAATGGACGAAAGTCTGA
CCGAGCAACGCCGCGTGAGTGAAGAAGGTTTTTCGGATCGTAAAACCTCTGTTGTTAGAG
AAGAACAAGGATGAGAGTAACTGTTCATCCCTTGACGGTATCTAACCAGAAAGCCACG
GCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGATTTA
TTGGGCGTAAAGCGAGCGCAGGCGGTTTCTTAAGTCTGATGTGAAAGCCCCGGCTCA
ACCGGGGAGGGTCATTGGAAACTGGGAGACTTGAGTGCAGAACAGGAGAGTGGAAATT
CCATGTGTAGCGGTGAAATGCATAGATATATGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGGCT
CTCTGGTCTGTAACCTGACGCTGAGGCTCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATA
CCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGAGTGCTAAGTGTGGAGGGTTTCCGCCCTTCA
GTGCTGCAGCTAACGCATTAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAAC
TCAAAGGAATTGACGGGGGCACGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCA
ACGCGAAGAACCTTACCAGGTCTTGACATCCTTTGACCACTCTAGAGATAGAGCTTCCC
TTCGGGGCAAGTGACAGCTGGTGCATGGTGTCTGTCAGCTCGTGTGCATGAGATG

>OM386889.1 *Enterococcus faecium* strain C7 16S ribosomal RNA gene, partial sequence

GTCGAACGCTTCTTTTTACCCGGAGCTTGCTCCACCGCGAAAAAGAGGAGTGGCGAAC
GGGTGAGTAACACGTGGGTAACCTGCCCATCAGAAGGGGATAACACTTGGAAACAGG
TGCTAATACCGTATAACAATCTAAACCGCATGGTTTTGATTTGAAAGGCGCTTTCGGGT
GTCGCTGATGGATGGACCCGCGGTGCATTAGCTAGTTGGTGAGGTAACGGCTCACCAA
GGCCACGATGCATAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACATTGGGACTGAGACACG
GCCCAAACCTCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCGGCAATGGACGAAAGTCTGA
CCGAGCAACGCCGCGTGAGTGAAGAAGGTTTTTCGGATCGTAAAACCTCTGTTGTTAGAG
AAGAACAAGGATGAGAGTAACTGTTCATCCCTTGACGGTATCTAACCAGAAAGCCACG
GCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGATTTA
TTGGGCGTAAAGCGAGCGCAGGCGGTTTCTTAAGTCTGATGTGAAAGCCCCGGCTCA
ACCGGGGAGGGTCATTGGAAACTGGGAGACTTGAGTGCAGAACAGGAGAGTGGAAATT
CCATGTGTAGCGGTGAGATGCGTAGATATATGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGGCT
CTCTGGTCTGTAACCTGACGCTGAGGCTCGAAAGCGTGTGGAGCAAACAGGATTAGATA
CCCTGGTAGTCCACGCCGTAGACGATGAGTGCTAAGTGTGGAGGGTTTCCGCCCTTCA
GTGCTGCAGCTAACGCATTAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAAC
TCAGAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCA
ACGCGAAGAACCTTACCAGGTCTTGACATCCTTTGACCACTCTAGAGATAGAGCTTCCC
CTTCGGGGGCAAAGTGACAGGTGGTGCATGGTGTCTGTCAGCTC

>OM386890.1 *Enterococcus faecium* strain C8 16S ribosomal RNA gene, partial sequence

TCGAACGCTTCTTTTTACCGGAGCTTGCTCCACCGGAAAAAGAGGAGTGGCGAACGGGTGAG
TAACACGTGGGTAACCTGCCCATCAGAAGGGGATAAACTTGGAAACAGGTGCTAATACCGTA
TAACAATCAAAACCGCATGGTTTTGATTTGAAAGGCGCTTTCGGGTGTCGCTGATGGATGGACC
CGCGGTGCATTAGCTAGTTGGTGAGGTAACGGCTCACCAAGGCCACGATGCATAGCCGACCTG
AGAGGGTGATCGGCCACATTGGGACTGAGACACGGCCAACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAG
GGAATCTTCGGCAATGGACGAAAGTCTGACCGAGCAACGCCGCGTGAGTGAAGAAGGTTTTTCG
GATCGTAAAACCTCTGTTGTTAGAGAAGAACAAGGATGAGAGTAACTGTTTCATCCCTTGACGGTA
TCTAACCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCG
TTGTCCGGATTTATTGGGCGTAAAGCGAGCGCAGGCGGTTTTCTTAAGTCTGATGTGAAAGCCCC
CGGCTCAACCGGGGAGGGTCATTGGAAACTGGGAGACTTGAGTGCAGAAGAGGAGAGTGGA
TTCCATGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATATGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGGCTCTC
TGGTCTGTAACCTGACGCTGAGGCTCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTA
GTCCACGCCGTAAACGATGAGTGCTAAGTGTGGAGGGTTTTCCGCCCTTCAGTGCTGCAGCTAA
CGCATTAAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGG
GCCCCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGTCT
TGACATCCTTTGACCACTCTAGAGATAGAGCTTCCCCTTCGGGGGCAAAGTGACAGGTGGTGCA
TGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCC GCACGAGCGC

>OM386891.1 *Enterococcus faecium* strain D1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence

TCGAACGCTTCTTTTTACCGGAGCTTGCTCCACCGGAAAAAGAAGAGTGGCGAACGGGTGAG
TAACACGTGGGTAACCTGCCCATCATAAGGGGATAAACTTGGCAAACAGGTGCTAATACCGT
ATAACAATCTAAACCGCATGGTTTTGATTTGAAAGGCGCTTTCGGGTGTCGCTGATGGATGGAC
CCGCGGTGCATTAGCTAGTTGGTGAGGTAACGGCTCACCAAGGCCACGATGCATAGCCGACCT
GAGAGGGTGATCGGCCACATTGGGACTGACACACGGCCAACTCCTACGGGAGGCAGCAGTA
GGGAATCTTCGGCAATGGACGAAAGTCTGACCGAGCAACGCCGCGTGAGTGAAGAAGGTTTTTC
GGATCGTAAAACCTCTGTTGTTAGAGAAGAACAAGGATGAGAGTAACTGTTTCATCCCTTGACGGT
ATCTAACCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCACCAGCCGCGGTAATACGTACGTGGCAAGC
GTTGTCCGGATTTATTGGGCGTAAAGCGAGCGCACGCGGTTTTCTTAAGTCTGATGTGAAAGCCC
CCGGCTCAACCGGGGAGGGTCATTGGAAACTGGGAGACTTGAGTGCAGAACAGGAGAGTGGA
ATTCCATGTGTAGCGGTGAAATGCATAGATATATGGAGGAACACCACTGGCGAATGCGGCTCT
CTGGTCTGTAACCTGACGCTGAGGCTCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGT
AGTCCACGCCGTAAACGATGAGTGCTAAGTGTGGAGGTTTTCCGCCCTTCAGTGCTGCAGCTA
ACGCATTAAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGGG
GGCACGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGAATAACCTTACCAGGTC
TTGACATCCTTTGACCACTCTAGAGATAGAGCTACCCTTCGGGGCGAAGTGACAGGTGGTGCA
GGTGTGTCGTCAGCTC

>OM386892.1 *Enterococcus faecium* strain D2 16S ribosomal RNA gene, partial sequence

TCGAACGCTTCTTTTTCCACCGGAGCTTGCTCCACCGGAAAAAGAGGAGTGGCGAACGGGTGA
GTAACACGTGGGTAACCTGCCCATCAGAAGGGGATAACACTTGAAACAGGTGCTAATACCGT
ATAACAATCAAACCGCATGGTTTTGATTTGAAAGGCGCTTTCGGGTGTCGCTGATGGATGGAC
CCGCGGTGCATTAGCTAGTTGGTGAGGTAACGGCTCACCAAGGCCACGATGCATAGCCGACCT
GAGAGGGTGATCGGCCACATTGGGACTGAGACACGGCCAAACTCCTACGGGAGGCAGCAGTA
GGGAATCTTCGGCAATGGACGAAAGTCTGACCGAGCAACGCCGCGTGAGTGAAGAAGGTTTTTC
GGATCGTAAAACCTCTGTTGTTAGAGAAGAACAAGGATGAGAGTAACTGTTTCATCCCTTGACGGT
ATCTAACCGAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGC
GTTGTCCGGATTTATTGGGCGTAAAGCGAGCGCAGGCGGTTTCTTAAGTCTGATGTGAAAGCCC
CCGGCTCAACCGGGGAGGGTCAATTGGAAACTGGGAGACTTGAGTGCAGAAGAGGAGAGTGGAA
ATTCCATGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATATGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGGCTCT
CTGGTCTGTAACCTGACGCTGAGGCTCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGT
AGTCCACGCCGTAAACGATGAATGCTAAATGGTTGAAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGCTGCAGCT
AACGCATTAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGG
GGCCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGT
CTTGACATCCTTTGACCACTCTAGAGATAGAGCTTCCCCTTCGGGGGCAAAGTGACA

>OM386893.1 *Lactiplantibacillus plantarum* strain D3 16S ribosomal RNA gene, partial sequence

AGTCGAACGAACTCTGGTATTGATTGGTGCTTGCATCATGATTTACATTTGAGTGAGTGGCGAA
CTGGTGAGTAACACGTGGGAAACCTGCCCAGAAGCGGGGGATAACACCTGGAAACAGATGCTA
ATACCGCATAACAACCTTGACCCGCATGGTCCGAGTTTGAAAGATGGCTTCCGGCTATCACTTTG
GATGGTCCC CGCGGTATTAGCTAGATGGTGGGGTAACGGCTCACCATGGCAATGATACGTAG
CCGACCTGAGAGGGTAATCGGCCACATTGGGACTGAAACACGGCCAAACTCCTACGGGAGGC
AGCAGTAGGGAATCTTCCACAATGGACGAAAGTCTGATGGAGCAACGCCGCGTGAGTGAAGAA
GGGTTTCGGCTCGTAAAACCTCTGTTGTTAAAGAAGAACAATATCTGAAAGTAACTGTTTCAGGTAT
TGACGGTATTTAACCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGT
GGCAAGCGTTGTCCGGATTTATTGGGCGTAAAGCGAGCGCAGGCGGTTTTTTAAGTCTGATGTG
AAAGCCTTCGGCTCAACCGAAGAAGTGCATCGGAAACTGGGAAACTTGAGTGCAGAAGAGGAC
AGTGGAACCTCCATGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATATGGAAGAACACCAGTGGCGAAGGC
GGCTGTCTGGTCTGTAACCTGACGCTGAAGCTCGAAAGTATGGGTAGCAAACAGGATTAGATAC
CCTGGTAGTCCATACCGTAAACGATGAATGCTAAGTGTTGGAAGGTTTCCGCCCTTCAGTGCTG
CAGCTAACGCATTAAGCATTCCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTGAAACTCAAAGGAATT
GACGGGGGCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCTACGCGAAGAACCTTAC
CAGGTCTTGACATACTATGCAAATCTAGGAGATTAGACGTTCCCTTCGGGACATGGATACAGGT
GGTGCATGGTGTCTCAGCTCGTGTCTGAGATGTTGGGTTAAGTCC

Travaux Scientifiques

Communications internationales :

1- BOUCHIBANE Malika, CHERIGUENE Abderrahim, Ait Saada Djamel, Identification and study of the technological potential of lactic strains in communities isolated from a traditional fermented milk: case of Raib. *1st International E-Day on Microbial Biotechnology*, **FACULTY OF SCIENCES (UNIVERSITY OF ALGIERS 1 -BEN YUCEF BENKHEDDA)**.

2- BOUCHIBANE Malika, Abderrahim CHERIGUENE, Amel KACED, Djamel AIT SAADA, Aptitudes Technologiques des Bactéries Lactiques Isolées Des Produits Laitiers Traditionnels And Leurs Identifications Moléculaires, 1st International Seminar on Pollution, Health, Environment and Bio-monitoring, Faculty of Sciences- Department of Natural and Life Sciences (UNIVERSITY 20 August 1955 – SKIKDA).

3-BOUCHIBANE Malika, CHERIGUENE A., Amel KACED , BENMAHDI F., AIT SAADA D. Isolement et caractérisation des souches lactiques isolées à partir d'un produit laitier fermenté artisanal, 4ème Congrès International de la SAN le 16 et 17 Octobre 2021 en mode Hybride Virtuel, Société Algérienne de la nutrition-Université ORAN.

Communications nationales :

1-BOUCHIBANE M, CHERIGUENE A, BENMAHDI F., AIT SAADA D. Contribution à l'étude du pouvoir antibactérien des bactéries lactiques locales isolées à partir des produits laitiers artisanaux : Cas du J'ben. 1^{er} Séminaire de la Nutrition -Université Chlef.

2-BOUCHIBANE Malika, CHERIGUENE A., Amel KACED, AIT SAADA D. Caractérisation de la flore lactique isolée des dérivés artisanaux du lait. **Université de Abdelhamid Ibn Badis -Mostaganem.**

3- BOUCHIBANE Malika, CHERIGUENE A., Amel KACED, AIT SAADA D. Identification et étude de l'activité antibactérienne des souches lactiques locales isolées du Smen artisanal., Faculté Science de la Nature et de la vie-Université Abdelhamid Ibn Badis