

République Algérienne Démocratique Et Populaire
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique

Université Saad Dahleb de Blida



Faculté des sciences de la nature et de la vie
Département de Biologie

Mémoire du master

Spécialité : microbiologie

**Etude des caractéristiques biotechnologiques de bactéries
lactiques isolées à partir de produits laitiers algériens**

Présente par :

SEBAI Imene

FARI Leila

Date de soutenance :

08/07/2025

Devant le jury composé de :

Mme, KADRI. F

MCA/USDB

Présidente

Mme, AIT SAADI. N

MCA/USDB

Examinatrice

Mme, BENHOUNA. I

MCB/USDB

Promotrice

Année universitaire : 2024 / 2025

Remerciement

Louange à Dieu, par Sa grâce les efforts aboutissent et les ambitions se concrétisent.

*Nous exprimons notre profonde gratitude à notre encadrante, Madame **Benhoua**, pour son accompagnement rigoureux, ses conseils scientifiques éclairés et ses observations pertinentes, qui ont largement contribué à la qualité de ce travail. Sa disponibilité, son écoute et son exigence académique ont été pour nous une source précieuse d'encouragement et d'amélioration continue.*

Nous adressons également nos sincères remerciements aux membres du jury d'évaluation :

- *A Mme **Kadri. F**, nous adressons nos remerciements les plus sincères pour l'honneur qu'elle nous fait en acceptant de présider ce jury.*
- *A Mme **Ait Saadi. N**, qui nous a fait l'honneur de bien vouloir accepter de juger ce travail*

Nos remerciements vont également à l'ensemble du corps enseignant de la Faculté des Sciences Biologiques, option Microbiologie, pour la qualité de leur enseignement et leur dévouement envers la formation des étudiants.

*Nos remerciements s'adressent à tous le personnel du laboratoire, qui nous ont mis sur le bon chemin et fait leur possible pour nous aider pendant notre stage, particulièrement Mme **Brahmi Djamila, M Youcef**.*

Nous ne saurions terminer sans exprimer notre profonde reconnaissance à notre famille, pour son soutien moral constant, son affection inconditionnelle, et sa foi inébranlable en notre parcours. Leur présence à nos côtés a été un véritable pilier tout au long de cette aventure académique.

Dédicace

À mon père,

L'homme de ma vie, mon repère inébranlable, mon exemple éternel.
Tu as été mon soutien moral, la source de ma joie et de mon bonheur.
Par tes sacrifices silencieux et ton amour sans limites, tu m'as permis d'avancer et de réussir.
Que Dieu te couvre de Sa miséricorde et t'accueille dans Son vaste paradis.
À toi, papa... mon héros pour l'éternité.

À ma mère,

Toi, la lumière de mes jours, la flamme de mon cœur, la source de mes efforts.
Ta tendresse m'apaise, ta bienveillance me guide, et ta présence m'a toujours donné la force
d'affronter les épreuves.
Quelles que soient mes paroles ou mes gestes, je ne pourrai jamais te remercier à la hauteur de
ce que tu m'as donné.
Maman chérie, tu es ma vie, mon bonheur, mon tout.

À mes frères, Athmane, Imad et Mahdi

Vous êtes plus que des frères, vous êtes les gardiens silencieux de mes rêves, j'ai trouvé en
vous une épaule, une écoute, un mot, un sourire. Votre présence m'a donné le courage de
continuer, et votre fierté a été l'une de mes plus belles motivations.

À ma tante Meriem,

Toi qui as été bien plus qu'une tante, une seconde mère, ta place dans mon cœur est unique, et
ton amour m'accompagne à chaque pas, Merci d'être cette âme précieuse dans ma vie. Cette
réussite est aussi la tienne.

À mes oncles Lamine et Nabile,

Par vos mots simples, votre chaleur et votre soutien, vous avez laissé une trace profonde dans
mon cœur. Merci d'avoir été là pour moi

À mes tantes Salima et Karima, et à mes oncles Ben Oudah, Yacine et Khaled,

Vous avez été des présences aimantes, des sourires sincères, des soutiens, Merci pour l'amour,
les prières et la confiance que vous m'avez toujours offertes, Merci d'avoir été chacun à votre
manière un rayon de chaleur sur mon chemin.

À mes grands-parents Abdelaziz, Saliha, Zoubida, et à l'âme de mon grand-père Lakhder

Racines de ma vie, mémoire de mon cœur, Vos prières, votre sagesse et votre amour
silencieux ont veillé sur moi dans chaque pas que j'ai fait. Même ceux qui ne sont plus parmi
nous continuent de vivre à travers mes souvenirs et mes rêves.

Imene



Dédicace

Je tiens à dédier ce travail à ma mère, dont l'amour inconditionnel, le soutien constant et les prières silencieuses ont été, tout au long de mon parcours, un pilier fondamental de ma réussite. Sa force, son abnégation et sa sagesse ont été pour moi une source continue d'inspiration et de réconfort.

À mon père, pour sa présence rassurante, ses encouragements permanents et la confiance qu'il m'a toujours témoignée, même dans les moments de doute.

À ma sœur Loubna, et à mes frères Nassim et Adel, pour leur accompagnement affectueux, leur compréhension inépuisable, leur soutien moral indéfectible, qui ont contribué à alléger les difficultés rencontrées.

À mes tantes Samira et Radia, à ma cousine Lydia, à Yasmine, ainsi qu'à ma grand-mère, pour leurs marques d'attention, leurs encouragements sincères et leur présence chaleureuse qui ont su m'apporter sérénité et motivation.

À l'ensemble de ma famille, pour l'environnement stimulant et bienveillant qu'elle a su m'offrir, et à toutes les personnes qui, de près ou de loin, ont contribué à l'aboutissement de ce travail par leur appui, leur inspiration ou leurs paroles bienveillantes.

À ma copine Wafa ,

Merci pour ton soutien, ta patience et ta présence tout au long de ce travail.

Que ce mémoire représente le témoignage de ma reconnaissance profonde et s'inscrive humblement dans la continuité de la quête de savoir.

Leila



Résume

Les bactéries lactiques (BL) jouent un rôle essentiel dans les industries agroalimentaire et pharmaceutique grâce à leurs nombreuses propriétés technologiques et probiotiques. Elles interviennent dans la fermentation des aliments, améliorant leur texture, leur goût et leur durée de conservation. Sur le plan sanitaire, les BL contribuent à la sécurité microbiologique des produits en inhibant les micro-organismes pathogènes. En tant que probiotiques, elles participent à l'équilibre du microbiote intestinal et renforcent le système immunitaire. Leur capacité à produire des composés bioactifs en fait également des candidates prometteuses pour le développement d'aliments fonctionnels

Le présent travail vise à la mise en évidence des caractères technologique des bactéries lactique isolé de produits laitiers algérien, À savoir le pouvoir protéolytique, hémolytique, aromatisant, la production d'EPS, l'activité antibactérienne et la résistance aux antibiotiques, activité acidifiante.

Les résultats obtenus démontrent que Les souches LAB2 et LC1 ont présenté la plus forte activité protéolytique avec des zones de 21 mm et 22 mm résulte de la dégradation de la caséine.

L'analyse du pouvoir aromatisant des sept souches étudiées a révélé la formation d'un anneau rouge, indicateur de production d'acétoïne, un composé jouant un rôle important dans l'amélioration sensorielle des aliments fermentés.

Par la suite, nous avons expérimenté la capacité de nos souches à produire les exopolysaccharides 1, la souches W2 a démontré une grande production d'EPS sur milieu saccharosé due à la source de carbone.

En dernier, L'activité antimicrobien des bactéries lactique été étudié envers diverses souches pathogènes, les diamètres des zones d'inhibition variaient selon la souche de bactérie lactique et la souche indicatrice utilisée, un diamètre de zones d'inhibition contre cette bactérie variaient de 15mm à 35 mm Ainsi que la sensibilité des souches est observée pour quelques souches et certaines souches peuvent naturellement porter des résistances.

Les souches de bactéries lactiques isolées ont montré un fort potentiel technologique et probiotique, les rendant adaptées comme ferments pour boissons végétales fermentées. Ces résultats ouvrent des perspectives intéressantes pour le développement d'aliments fonctionnels en Algérie.

Mots clés : Bactéries lactiques, pouvoir protéolytique, pouvoir aromatisant, exopolysaccharides, activité antimicrobienne, probiotiques.

Abstract

Lactic acid bacteria (LAB) play a vital role in the agri-food and pharmaceutical industries due to their numerous technological and probiotic properties. They are involved in food fermentation, enhancing texture, flavor, and shelf life. From a health perspective, LAB contribute to the microbiological safety of products by inhibiting pathogenic microorganisms. As probiotics, they support the balance of the intestinal microbiota and strengthen the immune system. Their ability to produce bioactive compounds also makes them promising candidates for the development of functional foods.

The present study aims to highlight the technological characteristics of lactic acid bacteria isolated from Algerian dairy products, including proteolytic, hemolytic, and flavoring abilities, EPS production, antibacterial activity, antibiotic resistance, and acidifying activity. The results obtained showed that strains LAB2 and LC1 exhibited the highest proteolytic activity, with clear zones of 21 mm and 22 mm, resulting from casein degradation.

The analysis of the flavoring activity of the seven studied strains revealed the formation of a red ring, indicating the production of acetoin, a compound that plays an important role in enhancing the sensory quality of fermented foods.

Subsequently, we tested the ability of our strains to produce exopolysaccharides; strain W2 showed high EPS production on a sucrose-enriched medium, attributed to the carbon source.

Subsequently, we tested the ability of our strains to produce exopolysaccharides. Strain W2 demonstrated a high EPS production on a sucrose-enriched medium, attributed to the carbon source.

Finally, the antimicrobial activity of lactic acid bacteria was studied against various pathogenic strains. The diameters of the inhibition zones varied depending on the lactic acid bacteria strain and the indicator strain used, ranging from 15 mm to 35 mm. In addition, sensitivity to antibiotics was observed for some strains, while others may naturally carry resistance genes.

The isolated lactic acid bacteria strains demonstrated strong technological and probiotic potential, making them suitable as starter cultures for fermented plant-based beverages. These results offer promising prospects for the development of functional foods in Algeria.

keywords : Lactic acid bacteria, proteolytic activity, flavoring ability, exopolysaccharides, antimicrobial activity, probiotics.

الملخص

تلعب البكتيريا اللبنية (BL) دورًا أساسيًا في الصناعات الغذائية والصيدلانية، بفضل خصائصها التكنولوجية والبروبيوتكية المتعددة. فهي تدخل في عملية تخمير الأغذية، مما يُحسن من قوامها ومذاقها ويُطيل من مدة صلاحيتها. من الناحية الصحية، تساهم البكتيريا اللبنية في ضمان السلامة الميكروبيولوجية للمنتجات من خلال تثبيط الكائنات الدقيقة الممرضة. وبصفتها بروبيوتيك، تساعد على توازن الميكروبيوتا المعوية وتعزيز الجهاز المناعي. كما أن قدرتها على إنتاج مركبات نشطة بيولوجيًا يجعلها مرشحة واعدة لتطوير الأغذية الوظيفية.

يهدف هذا العمل إلى إبراز الخصائص التكنولوجية للبكتيريا اللبنية المعزولة من منتجات ألبان جزائرية، بما في ذلك: القدرة البروتينية التحليلية (النشاط البروتوليتيكي)، النشاط الحالّ للدم، القدرة على إنتاج المركبات العطرية، إنتاج السكريات خارج الخلية (EPS)، النشاط المضاد للبكتيريا، مقاومة المضادات الحيوية، والنشاط المُحمّض. أظهرت النتائج أن السلالتين LAB2 وLC1 إبتدأ أعلى نشاط بروتيوليتيكي، حيث كَوْنتا مناطق تحلل للكايزين بقطر بلغ 21 مم و22 مم على التوالي.

أما تحليل النشاط العطري للسلالات السبع المدروسة، فقد أظهر تكوّن حلقة حمراء، دالة على إنتاج الأسيتوين، وهو مركب يُسهم في تحسين الخصائص الحسية للأغذية المخمرة.

وبعد ذلك، تم اختبار قدرة السلالات على إنتاج السكريات خارج الخلية (EPS)، حيث أظهرت السلالة W2 إنتاجاً كبيراً لـ EPS على وسط يحتوي على السكروز كمصدر كربوني.

وفيما يخص النشاط المضاد للميكروبات، فقد تم تقييم تأثير السلالات اللبنية ضد عدة سلالات ممرضة، حيث تراوحت أقطار مناطق التثبيط بين 15 مم و35 مم، بحسب نوع السلالة اللبنية والسلالة المؤشّرة المستخدمة. كما لوحظت حساسية بعض السلالات تجاه مضادات حيوية معينة، في حين أظهرت سلالات أخرى مقاومة قد تكون طبيعية.

أثبتت السلالات المعزولة من البكتيريا اللبنية امتلاكها قدرات تكنولوجية وبروبيوتكية مهمة، مما يؤهلها للاستخدام كمُبدئات (Starters) في تصنيع مشروبات نباتية مخمرة. وتفتح هذه النتائج آفاقاً واعدة لتطوير أغذية وظيفية في الجزائر.

الكلمات المفتاحية: البكتيريا اللبنية، النشاط البروتوليتيكي، القدرة العطرية، السكريات خارج الخلية، النشاط المضاد للبكتيريا، البروبيوتيك.

Liste des abréviations

ADN : Acide désoxyribonucléique.

ARN : Acide ribonucléique.

ATCC : American Type Culture Collection.

BL : Bactérie lactique.

BN : Bouillon nutritif.

E. : Escherichia coli.

EPS : Exopolysaccharides.

GN : Gélose nutritive.

L. : Listeria.

Lb : Lactobacillus.

ATP : Adénosine-Triphosphate.

E. coli : Escherichia coli.

GC% : Pourcentage en Guanine et Cytosine.

GC: coefficient de Chargaff.

GRAS : Generally Recognised As Safe (généralement considérées comme sûres).

Lc. : Leuconostoc.

ml : millilitre.

MRS : Man Rogosa Sharpe.

MSE : Mayeux Sandine et Elliker.

NaOH : Hydroxyde de sodium.

PCA : Gélose pour numération sur plaque.

PH : Potentiel d'hydrogène.

PCR : Réaction en chaîne par polymérase.

S. aureus : Staphylococcus aureus.

St. : Streptococcus.

MH : Mueller Hinton.

UFC : Unité Formant Colonie.

Table des matières

Remerciement -----	I
Dédicace -----	II
Résumé -----	IV
Liste des abréviations -----	VII
Table des matières -----	IX
Liste des figures -----	XIII
Liste des tableaux -----	XV
Liste des annexes -----	XVI
Introduction -----	1
Synthèse bibliographique -----	3
I.1. Généralité -----	4
I.2. Origine des bactéries lactiques -----	5
I.2.1. Classification -----	5
I.3. L'intérêt industriel des bactéries lactiques -----	6
I.3.1. Dans le domaine de la santé -----	6
I.3.2. Dans l'industrie alimentaire -----	7
I.4. Aptitudes technologiques des bactéries lactiques -----	8
I.4.1. Aptitude protéolytique -----	8
I.4.2. Activité lipolytique -----	8
I.4.3. Activité antimicrobienne -----	9
I.4.4. Activité acidifiante -----	10
I.4.5. Aptitude aromatisante -----	11
I.4.6. Aptitude texturant -----	11
I.5. Les propriétés probiotiques -----	12
Matériel et méthode -----	14
II.1. Lieu et période d'étude -----	15

II.2. Provenance des bactéries utilisées-----	15
II.2.1. Bactéries lactiques-----	15
II.2.2. Les souches pathogènes -----	16
II.3. Revivification des souches -----	16
II.4. Vérification de la pureté des souches -----	16
II.4.1. Étude macroscopique -----	16
II.4.2. Étude microscopique-----	16
II.4.3. Test de la catalase-----	17
II.5. Étude des caractéristiques technologiques des bactéries lactiques -----	17
II.5.1. Mise en évidence de l'activité protéolytique-----	17
II.5.2. Pouvoir aromatisant -----	17
II.5.3. Production des EPS -----	18
II.6. Etude de l'activité antimicrobienne -----	18
II.6.1. Méthod direct (spot agar test (Fleming et <i>al.</i> , 1975)) -----	18
II.7. Suivi de la cinétique d'acidification dans milieu MRS liquide -----	18
II.8. Suivi de la cinétique d'acidification dans le lait d'avoine -----	19
II.9. Suivi de la cinétique d'acidification et de la croissance des souche de <i>Lactobacillus plantarum</i> et <i>Weissella confusa</i> en cultures pures et mixtes avec des souches de <i>Listeria monocytogène</i> dans le lait d'amande -----	19
II.10. Auto-agrégation bactérienne-----	20
II.11. La coagréation-----	20
II.12. Activité hémolytique-----	20
II.13. La résistance aux antibiotiques-----	20
II.14. Application alimentaire de <i>Lactobacillus plantarum</i> et <i>Weissella confusa</i> comme cultures bioprotectrices dans une boisson fermentée à base végétale (le lait d'amande):---	21
II.15. Application alimentaire de <i>Lactobacillus plantarum</i> et <i>Weissella confusa</i> en tant que starter primaire pour la conception de boisson fermenté a base végétale (le lait d'amande)	21
II.16. Conservation -----	22

II.16.1. Conservation à court terme -----	22
II.16.2. Conservation à long terme -----	22
Résultats-----	23
III.1. Vérification de la pureté des souches -----	24
III.1.1. Caractérisation macroscopique et microscopique-----	24
III.1.2. Les bactéries lactiques sur milieu liquide : -----	24
III.1.3. Examen microscopique (coloration de Gram)-----	24
III.1.4. Test de catalase-----	24
III.2. Pouvoir protéolytique -----	25
III.3. Pouvoir aromatisant -----	25
III.4. Production des EPS-----	26
III.5. activité antibactérienne-----	26
III.6. auto-agrégation-----	27
III.7. Co-agrégation -----	27
III.8. Suivi de la cinétique d'acidification dans milieu MRS liquide -----	27
III.9. Suivi de la cinétique d'acidification dans le lait d'avoine -----	27
III.10. Suivi de la cinétique d'acidification et de la croissance des souche de <i>Lactobacillus plantarum</i> et <i>Weisella confusa</i> en cultures pures et mixtes avec des souches de <i>Listeria monocytogène</i> dans le lait d'amande -----	28
III.11. Activité cuagulante -----	28
III.12. Hémolytique -----	29
III.13. Antibiogramme -----	29
III.14. Application alimentaire de <i>Lactobacillus plantarum</i> et <i>Weisella confusa</i> en tant que starter primaire et comme cultures bioprotectrices pour la conception de boisson fermenté a base végétale (le lait d'amande) -----	30
Discussion -----	31
IV.1. Activité protéolitique -----	32

IV.2. Activité aromatisant-----	33
IV.3. Pouvoir Texturant -----	34
IV.4. Activité antimicrobienne -----	34
IV.4.1. L'activité antimicrobienne vis-à-vis <i>Escherichia coli</i> -----	35
IV.4.2. L'activité antimicrobienne vis-à-vis <i>Klebsiella pneumoniae</i> -----	35
IV.4.3. L'activité antimicrobienne vis-à-vis <i>Pseudomonas aeruginosa</i> -----	36
IV.4.4. L'activité antimicrobienne vis-à-vis <i>Staphylococcus aureus</i> -----	36
IV.4.5. L'activité antimicrobienne vis-à-vis <i>Listeria monocytogenes</i> -----	37
IV.5. Auto agrégation-----	38
IV.6. Co-agrégation-----	38
IV.7. Cinétique d'acidification dans MRS liquide -----	39
IV.8. Cinétique d'acidification dans le lait d'avoine-----	39
IV.9. Cinétique d'acidification et de la croissance des souche de <i>Lactobacillus plantarum</i> et <i>Weisella confusa</i> en cultures pures et mixtes avec des souches de <i>Listeria monocytogène</i> dans le lait d'amande-----	39
IV.9.1. Cinétique de la culture pure -----	39
IV.9.2. Cinétique de la culture mixtes -----	40
IV.9.3. PH et acidité dornic cultures pures et mixtes -----	40
IV.10. Activité hémolytique -----	40
IV.11. Antibioگرامe -----	Erreur ! Signet non défini.
IV.12. Application alimentaire de <i>Lactobacillus plantarum</i> et <i>Weisella confusa</i> en tant que starter primaire et comme cultures bioprotectrices pour la conception de boisson fermenté a base végétale (le lait d'amande) -----	41
Conclusion -----	43
Références bibliographiques -----	46
Annexes-----	59

Liste des figures

- Figure 1:** schéma de conservation à long durée des bactéries lactiques purifier ----- 22
- Figure 2:** observation macroscopique des colonies de la souche LB1 cultivée sur gélose MRS -----**Erreur ! Signet non défini.**
- Figure 3:** la croissance des souches lactiques sur milieu MRS liquide**Erreur ! Signet non défini.**
- Figure 4:** observation microscopique de la forme et le mode d'association des souche LB1 ET W1 après coloration de Gram ($G \times 100$).-----**Erreur ! Signet non défini.**
- Figure 5:** résultat négatif du test de la catalase des souches lactique en comparaison avec une souche pathogène (E. coli) utiliser comme témoin positif. -----**Erreur ! Signet non défini.**
- Figure 6:** Activité protéolitique des souches lactique sur milieu PCA + 5% du lait écrémé (A), sur milieu PCA + 3 % du lait écrémé (B) -----**Erreur ! Signet non défini.**
- Figure 7:** production de l'acétoïne par les bactéries lactiques -----**Erreur ! Signet non défini.**
- Figure 8:** Aspect des colonies de la souche W2 sur milieu hypersaccharosée**Erreur ! Signet non défini.**
- Figure 9:** résultats de l'activité antimicrobiène des souches lactiques isoler vis as vis souches phatogène « E.coli » (A) et « Staphylococcus » (B)-----**Erreur ! Signet non défini.**
- Figure 10:** interaction entre les souches lactique LAB1, LAB2, LC1, LC2 (A) ; W1, W2, W3 (B) et les souches pathogène -----**Erreur ! Signet non défini.**
- Figure 11:** Pourcentage des Auto-agrégations des souches -----**Erreur ! Signet non défini.**
- Figure 12:** Pourcentage des Co-agrégations des souches -----**Erreur ! Signet non défini.**
- Figure 13:** la cinétique d'acidification dans milieu MRS liquide--**Erreur ! Signet non défini.**
- Figure 14:** cinétique d'acidification dans le lait d'avoine-----**Erreur ! Signet non défini.**
- Figure 15:** la cinétique de la croissance des souches de Lactobacillus plantarum et Weisella confusa en cultures pures (A) la cinétique de la croissance de Listeria monocytogène dans une culture mix (B) dans le lait d'amande -----**Erreur ! Signet non défini.**
- Figure 16:** la cinétique d'acidification des souche de Lactobacillus plantarum et Weisella confusa en cultures pures et mixtes avec des souches de Listeria monocytogène dans le lait d'amande-----**Erreur ! Signet non défini.**

Figure 17: la cinétique de la production de l'acide lactique des souche de *Lactobacillus plantarum* et *Weisella confusa* en cultures pures et mixtes avec des souches de *Listeria monocytogène* dans le lait d'amande-----**Erreur ! Signet non défini.**

Figure 18: coagulums visuels apparus dans le lait d'amande (A) , dans le lait écrémé (B) , dans le lait d'avoine (C) . -----**Erreur ! Signet non défini.**

Figure 19: antibiogramme des souches lactiques-----**Erreur ! Signet non défini.**

Figure 20: évaluation du l'acidité Dornic au cour du temps des culture pur et mix et temoin -----**Erreur ! Signet non défini.**

Figure 21: évaluation de la croissance de *Listeria monocytogène* dans une boisson fermenté pendent 14jour -----**Erreur ! Signet non défini.**

Figure 22: évaluation de la croissance de *Lactobacillus plantarum* et *Weisella confusa* dans une boisson fermenté pendent 14jour-----**Erreur ! Signet non défini.**

Liste des tableaux

Tableau I: Provenance et identification des souches utilisées dans ce travail -----	15
Tableau II: Résultats de l'observation microscopique des souches lactiques. -----	24
Tableau III: diamètre de protéolyse des souches lactique testées (en mm) -----	25
Tableau IV: résultats du teste de sensibilité aux antibiotiques des souches lactiques-----	29

Liste des annexes

Annexe 1 : matérielle étudier dans cette étude-----	60
Annexe 2: composition des milieux de culture :-----	61
Annexe 3: photos des appareils utiliser dans cette étude-----	63
Annexe 4: coloration de Gram -----	64

Introduction

Les aliments naturels exempts d'additifs et de conservateurs, renfermant une flore microbienne indigène dont le potentiel reste encore largement sous-exploité. Cette richesse microbienne suscite un grand intérêt tant chez les chercheurs que dans l'industrie agroalimentaire. Parmi ces micro-organismes, les bactéries lactiques (BL) se distinguent par leur capacité à synthétiser des *exopolysaccharides* (EPS), constitués de longues chaînes de sucres simples pouvant être ramifiées.

Les bactéries lactiques, Gram positives et non sporulées, sont omniprésentes dans la nature et jouent un rôle technologique majeur, ce qui attire l'attention des scientifiques. Leur métabolisme, qui produit de l'acide lactique, est indispensable à l'élaboration des aliments fermentés. Ces bactéries interviennent dans la coagulation, l'acidification et la dégradation des protéines (activité protéolytique), ainsi que dans la production d'arômes et de polysaccharides. Elles contribuent également à la conservation des aliments en inhibant les micro-organismes indésirables, ce qui justifie leur statut GRAS. **(Abhyankar et al., 2022)**

L'exploitation des bactéries lactiques s'étend aujourd'hui à des applications biotechnologiques variées : production d'enzymes et de bactériocines, bio-conservation des aliments, bio-remédiation des milieux pollués, détoxification alimentaire et utilisation comme probiotiques à potentiel thérapeutique. **(Bouchibane, 2023)**

Ainsi, Les aliments enrichis en probiotiques offrent divers bénéfices aux consommateurs pour la santé : maintien de l'équilibre du microbiote intestinal, réduction du cholestérol et renforcement des défenses immunitaires et prévention ou traitement des troubles gastro-intestinaux.

Les bactéries lactiques productrices d'EPS jouent un rôle important dans la fermentation des produits d'origine végétale tels que les boissons fermentées et les substituts végétaux de fromage, Les polysaccharides qu'elles génèrent améliorent la texture, les qualités sensorielles et la durée de conservation de ces aliments.

La production d'EPS in situ représente un intérêt particulier pour les fabricants d'aliments d'origine végétale souhaitant reproduire les caractéristiques des produits laitiers fermentés. L'utilisation de cultures pures ou mixtes de bactéries lactiques permet en effet d'améliorer la texture et la qualité des produits végétaux fermentés.

Ce travail a pour objectif d'étudier les caractéristiques biotechnologiques et probiotiques de souches de bactéries lactiques isolées à partir de produits laitiers traditionnels algériens. L'étude vise à évaluer leur aptitude à produire des métabolites d'intérêt (acide lactique, exopolysaccharides, composés aromatiques), leur activité antimicrobienne, ainsi que leur capacité d'adaptation à un milieu végétal. Ces paramètres permettront de déterminer leur potentiel en tant que cultures de départ pour la production de boissons fermentées à base de lait d'amande, dans une optique de développement d'aliments fonctionnels d'origine végétale.

Synthèse bibliographique

I.1. Généralité

En 1857, Pasteur définit la catégorie bactéries lactiques à partir de ses recherches sur la fermentation. Plus tard en 1919, Orla Jensen a regroupé plusieurs genres en fonction de leur capacité à fermenter les glucides et à produire de l'acide lactique. (Chentouf, 2015) (Peng et al., 2020)

Ce sont un type de bacille et de Cocci qui sont Gram positif, immobiles ne produisent pas de spores et ont des propriétés anaérobies facultatives. À l'exception de quelques espèces, généralement immobiles dépourvues de catalase et de cytochrome oxydase. Ce sont des bactéries dépourvues de nitrate réductase. (Papadimitriou et al., 2016) (Akpogheli et al., 2025)

Ils ont surtout des besoins complexes en facteurs de croissance notamment en minéraux, en sucres fermentescibles, en vitamines, en acides aminés et en acides gras. (Benyoucef, 2018) (Meng et al., 2021)

Les bactéries lactiques (BL) sont principalement de nature mésophile, bien que certaines puissent être psychrotolérantes ou thermotolérantes. Elles présentent une amplitude de croissance relativement large en termes de pH, généralement comprise entre 4 et 8 (exceptionnellement de pH 3,2 à 9,6). Les conditions optimales de croissance. Leur pH et température optimale de croissance varient en fonction du genre et même selon l'espèce. Sur le plan génomique, les BL se caractérisent par une faible teneur en bases guanine et cytosine (GC), généralement inférieure à 53 %. (Dribine & Khellal, 2018) (González et al., 2000) (Ayed et al., 2024)

Un autre aspect remarquable de nombreux BL est leur capacité à utiliser plusieurs hexoses et pentoses, ce qui offre un point de départ idéal pour l'exploitation des polysaccharides lignocellulosiques, la ressource renouvelable la plus répandue sur terre souvent appelée « le futur pétrole ». (Abdel-Rahman et al., 2011) (Zhang et al., 2024)

En fonction de leur processus de fermentation, les BL peuvent être classées en plusieurs catégories :

Homofermentaires : l'acide lactique est le seul produit de la fermentation du glucose ; - Hétérofermentaires facultatif : la fermentation du glucose aboutit à la formation d'acide lactique ou de l'acide lactique et de l'acide acétique.

Hétérofermentaires strict : en plus de l'acide lactique, elles produisent également de l'acide acétique ou de l'éthanol et du CO₂. (Gänzle, 2015) (Dempsey & Corr, 2022)

I.2. Origine des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques sont des micro-organismes très fréquents dans la nature. On les retrouve dans différentes niches écologiques. On les retrouve fréquemment dans des matrices alimentaires telles que le lait et ses dérivés, la viande, le poisson, les fruits, les légumes, les céréales, ainsi que dans des produits fermentés d'origine végétale ou animale. Dans ces derniers, la fermentation peut être effectuée librement où évoluer sous l'influence de levures comme c'est le cas dans la fabrication du vin, de la bière ou du pain. **(Menad, 2017) (Bouguerra, 2021)**

Elle est présente à l'état libre dans l'environnement ou vivant avec un hôte (les humains ou les animaux). **(Belyagoubi, 2014) (Akpogheli et al., 2025)**

On retrouve également certaines espèces dans différents sites anatomiques chez l'homme et l'animal, notamment la cavité buccale, les voies respiratoires, le tube digestif et le système reproducteur. **(Belyagoubi, 2014) (Akpogheli et al., 2025)**

I.2.1. Classification

La taxonomie des BL a connu une évolution significative depuis la première description du genre *Bacterium lactis*. En 1919, Orla-Jensen a classé pour la première fois les BL selon des critères morphologiques, biochimiques et physiologiques, ainsi que des marqueurs chimiotaxonomiques. Avec l'avènement de la biologie moléculaire, de nouvelles techniques telles que l'hybridation ADN/ADN, le séquençage de l'ARN 16S des gènes codant pour les protéines ribosomales ou d'autres études du génome ont permis d'aborder la taxonomie bactérienne sous un angle différent. Néanmoins, les BL ne peuvent pas être classées comme un groupe phylogénétique et leur classification actuelle est le résultat d'une taxonomie polyphasique. **(Pot & Tsakalidou, 2009) (Tahlaiti, 2019)**

Les BL appartiennent au phylum des Firmicutes, la classe des *Bacilli* et l'ordre des *Lactobacillales*. Il existe environ 500 espèces de BL classées en genres et regroupées en six grands groupes Gram (+) avec une faible teneur en guanine et en cytosine (% GC), les BL ayant un GC de 33 à 55 %. **(Felis et al., 2015)**

- **Le genre *lactobacillus* :**

Appartient à la famille *lactobacillaceae*, et de formes bacilles longs ou parfois incurvés ou des chaînes comme les coccobacilles isolés, la plupart des *lactobacillus* immobiles et d'autres se déplacent par leurs flagelles péritriches.

Le pH des souches acidophiles égal à 5 et peuvent aussi se multiplient avec un Optimum de 5 à 6.2, et a température 30C° à 40 C°, et d'autres peuvent résister même si à température 2C° jusqu'à 53C°. (Ababsa, 2018)

Selon (KARAM, 2006), *Lb plantarum* est la seule espèce de lactobacilles retrouvé dans le lait de chamelle. Elle est utilisée dans la fermentation alimentaire aussi ça croissance optimale est à température entre 30C° et 40C°. (Benhoua, 2019) (Barka & Khakha, 2021)

- **Le genre *Leuconostoc* :**

Sont des Cocci forme allongées en chaînes ou en paires.

Les *Leuconostoc* sont hétérofermentaire obligatoire et produisant de l'acide D(-) lactique d'éthanol. Se développent à température optimale entre 20C°- 30C°. (Guiraud, 2003) (Benhoua, 2019)

Selon (IDDER, 2014), Dans la production des produits laitiers ces bactéries ont la capacité de formation des composés aromatiques et par le métabolisme de citrate produisant de CO₂ qui contribue à la formation des yeux retrouvés dans certains fromages. Les espèces les plus utilisés dans la fermentation des produits laitiers sont : *Ln .mesenteroides* et *Ln.lactis* .

Leuconostoc lactose et *Leuconostoc dextranum* parmi les espèces du genre *Leuconostoc* présent dans le lait de chamelle. (Karam, 2006)

- **Le genre *Weissella* :**

Les espèces du genre *Weissella* ont une forme courts bacilles ou de coccobacilles Ou des coques ovoïdes, à Gram positif, se présentant de manière isolée en courtes chaînes, non sporulés, immobiles et présentent catalase négative. (Walter et al., 2001) (Barka & Khakha, 2021)

I.3. L'intérêt industriel des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques se distingue par la diversité de leurs activités métaboliques et une capacité d'adaptation à différents environnements. C'est Cette diversité qui explique leur large gamme d'application à l'échelle industrielle.

I.3.1. Dans le domaine de la santé

Certaines bactéries lactiques spécifiques sont utilisées comme probiotiques c'est-à-dire des microorganismes vivants qui lorsqu'il sont appliquer à l'homme ou à l'animal elles exercent un effet bénéfique sur la santé par amélioration des propriétés de la flore intestinale, c'est

probiotique favorisent la digestion des fibres et stimulent le système immunitaire. **(Tang et al., 2023)**

Selon **(Kerry et al., 2018)** Les espèces fréquemment employées sont *Lb plantarum*, *Lb rhamnosus*, *Lb. Acidophilus*, *Lb. casei*, *Lb.reuteri*, *Lb. Delbrueckii subsp. bulgaricus*.

Les souches lactiques sont aussi utilisées dans le traitement de diverses affections telles que :

- Les diarrhées et les allergies alimentaires en raison de leur activité protéolytique ;
- La prévention des gastro-entérites d'origines nosocomiales chez le nourrisson ;
- Certaines souches possèdent des propriétés anti hyper cholestérolémiques, lutte contre *Clostridium difficile* et *Helicobacter pylori*, ainsi que la prévention des maladies inflammatoires chroniques de l'intestin
- La stimulation des cellules du système immunitaire, favorisant la production d'anticorps qui empêchent l'adhésion des bactéries pathogènes sur les muqueuses intestinales. **(Mathur et al., 2020)**
- La prévention des infections vaginales : certaines souches telles que *Lactobacillus crispatus*, utilisées sous forme de suppositoires pour empêcher la colonisation du vagin par les bactéries pathogènes et de prévenir ainsi les rechutes chez les femmes qui souffrent d'inflammations fréquentes et répétées de la vessie. **(Dempsey & Corr, 2022)**

I.3.2. Dans l'industrie alimentaire

L'utilisation des bactéries lactiques en industrie alimentaire repose en grande partie sur leurs propriétés technologiques. Elles englobent les propriétés suivantes : Activité acidifiante, et enzymatiques (activité protéolytique et lipolytique), ainsi que la production de métabolites d'intérêt telle que le peroxyde d'hydrogène, les acides organiques et les bactériocines. De plus, ces bactéries jouent également un rôle important dans la texture des aliments par la production des EPS, ainsi que dans le développement de la saveur et des arômes en particulier dans le produit comme le fromage où ils influencent directement les qualités organoleptiques. Dans l'industrie alimentaire, ces microorganismes permettent de transformer une grande variété de matières premières, conduisant ainsi à de nombreux produits : les laits fermentés, les fromages, les olives fermentés et certains vins.

L'industrie laitière reste toujours le principal utilisateur de bactéries lactiques sous forme de ferments lactiques commerciaux. **(Slamnia & Saddok, 2018) (Nicosia et al., 2023)**

I.4. Aptitudes technologiques des bactéries lactiques

I.4.1. Aptitude protéolytique

La protéolyse est considérée comme l'un des phénomènes biochimiques les plus importants au cours de la maturation fromagère. Outre la nutrition azotée, l'activité protéolytique contribue au développement de la texture et de la flaveur des fromages lors de l'affinage par libération d'acides aminés qui servent comme précurseurs des composés aromatiques. **(Chen et al., 2025)**

Le système protéolytique des BL est composé de protéases associées à la paroi cellulaire, qui catalysent l'hydrolyse de protéines en peptides contenant de 7 à 16 résidus aminés, ces peptides sont ensuite dégradés en petites peptides transportables d'acides aminés grâce à l'action des endopeptidases ou exopeptidases. **(Wang et al., 2021)**

Le développement de la texture du fromage est fortement influencé par la dégradation de la caséine. En outre, on croit que la dégradation secondaire des peptides et des acides aminés a un impact significatif sur la création de saveur dans le fromage. **(Boussouar, 2017) (Wang et al., 2021)**

Selon **(Kieliszek et al., 2021)** Les *lactobacilles thermophiles* présente de manière générale une activité protéolytique plus marquée que celle des streptocoques et autres bâtonnets lactiques, cependant cette activité varie considérablement Selon l'espèce, la sous-espèce, et même la souche. Parmi les Cocci, les espèces les plus actives sont *Lactococcus salivarius* subsp. *thermophilus* (anciennement *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*) et *Lc. lactis* subsp. *cremonis*, tandis que *Lc. lactis* subsp. *lactis* se distingue par une activité plus faible. Chez les lactobacilles d'intérêt technologique, les espèces les plus actives sont *Lacticaseibacillus casei*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Lb. helveticus* et *Lb. acidophilus*, tandis que l'espèce la moins active est *Lactiplantibacillus plantarum*.

I.4.2. Activité lipolytique

Les activités lipolytiques jouent un rôle important dans la formation des substances aromatiques des produits transformés, La lipolyse correspond à l'hydrolyse des triglycérides pour produire des acides gras libres, du glycérol et des intermédiaires tels que les mono- et diglycérides. Ces intermédiaires participent à l'émulsification d'autres composants alimentaires, contribuant ainsi au développement de la texture du produit final. Le degré de lipolyse par les BL constitue un critère essentiel pour le choix des souches à utiliser comme

cultures starter. Notamment ont fermentation végétale, en pâtisserie ou dans le développement des arômes des produits laitiers fermentés. Les BL sont généralement considérés comme faiblement lipolytiques en comparaison avec d'autre genres Comme *Penicillium* et *Pseudomonas*. Cependant, dans des produits tels que les fromages à affinage prolongé, l'activité lipolytique des LAB contribue au développement de la saveur et sert de substrat à d'autres réactions produisant des produits finaux cataboliques. bien que la lipolyse ne soit pas une propriété dominante chez les BL mais certaine souches de *Lactobacilles* ont montré une activité lipolytique notable. Des études ont notamment porté sur *L. helveticus*, *L. delbrueckii*, *L. bulgaricus*, *L. casei*, *L. plantarum* et *L. acidophilus*. (García-Cano et al., 2019)

I.4.3. Activité antimicrobienne

Les BL représentent un moyen biologique efficace pour assurer la préservation des qualités hygiéniques des aliments, on raison de leur capacité à inhibé la croissance des microorganismes nuisible en perturbant l'intégrité de la membrane cellulaire (Li et al., 2023). Cette propriété repose par la production des composés antimicrobiens de poids moléculaire varié appelés bactériocines. Ils ont une activité inhibitrice qui cible les bactéries proches de l'agent irritant, et leur plage d'action est souvent étroite. (Ogunbanwo et al., 2003) (Dortu & Thonart, 2009) (Xu et al., 2025)

La majorité des bactériocines isoler à partir des produits laitiers sont généralement produit par lactococcus et lactobacillus. (Xu et al., 2025)

Parmi les bactériocines utilisées pour la fabrication d'aliment, on retrouve :

- **la nisine** : produite par les lactocoques dirigés contre *Bacillus* et *clostridium*
- **la plantaricine et la sakacine** : produites toutes les deux par les lactobacilles actives sur *E. coli*, *listeria* et certaines levures. (Ogunbanwo et al., 2003) (Zambonelli et al., 2002) (Man & Xiang, 2023)

BENTOURA, (2018) ont rapporté que L'activité antibactérienne des lactobacilles isolés à partir du lait de chamelle à l'encontre de six souches pathogènes impliqués souvent dans les cas d'infections et d'intoxications alimentaires à savoir : *S. aureus*, *B. subtilis*, *Ps. Aeruginosa*, *E. coli*, *S. enteritidis*, *S. flexnerii*. Les *enterococcus* sont capables de produire des bactériocines (entérocinés) efficaces contre certaines bactéries pathogènes comme *Listeria monocytogenes*. (Salminen & Gueimonde, 2004) (Teso-Pérez et al., 2025)

Des travaux menés par **(Bellil et al., 2014)** ont permis d'isoler à partir du lait de chamelle cru des souches de *Leuconostoc* capable de produire des bactériocines appartenant à la classe II efficace contre *Listeria monocytogenes*, c'est peptides de taille inférieure à 10 kDa, stables à la chaleur, ne contenant pas d'acides aminés modifiés. Leur point isoélectrique varie entre 8 et 10 monocytogenes. **(Dortu & Thonart, 2009)**

I.4.4. Activité acidifiante

Parmi les propriétés métaboliques des bactéries lactiques, la fonction acidifiante est la plus recherchée dans les industries alimentaires. Elle se manifeste principalement par la production de l'acide lactique lors de la fermentation des hydrates de carbone au cours de la croissance bactérienne. **(Tang et al., 2023)**

Cette acidification entraîne plusieurs effets physicochimique et microbiologique importants :

- La saveur des aliments fermentés est due à L'accumulation de l'acide lactique
- Elle provoque un abaissement progressif du pH du milieu de culture et des matrices alimentaires.
- Elle permet de limiter le développement des flores pathogène et d'altération dans les produits finaux.
- Elle induit La déstabilisation des micelles des caséines et coagulation du lait. **(Rampanti et al., 2024)**

Grâce à l'enzyme B-galactosidase, Certains microorganismes hydrolysent le lactose du lait pour produire deux nouveaux sucres : le glucose et le galactose. et Les bactéries lactiques font partie de ce groupe.

Ensuite, le glucose sera fermenté pour produire des composés acides, du CO₂ dans certains cas ou de l'alcool. Ce processus entraîne une acidification progressive du produit qui peuvent aller jusqu'à la coagulation si on atteint le point isoélectrique de 4,6. **(Allouache & Smaoun, 2017) (Wang et al., 2021)**

L'acidification des aliments offre plusieurs avantages :

- Elle provoque la précipitation des protéines, ce qui rend les aliments plus digestes
- Elle prolonge la durée de conservation des produits en limitant la prolifération des micro-organismes responsables d'altérations.
- Elle joue également un rôle dans le développement des arômes

Parmi les espèces les plus reconnues pour leur fort pouvoir acidifiant, on retrouve *Lc. lactis subsp. Lactis*, *Lc. lactis ssp. Cremoris* et biovar. *Diacetylactis*, et ils sont largement utilisés dans la fermentation de certains aliments. **(Slamnia & Saddok, 2018)**

I.4.5. Aptitude aromatisant

Les bactéries lactiques sont capables de produire une grande variété de composés aromatiques tels que : l'acétolactate, l'acétaldéhyde, le diacétyl, l'acétoïne et 2,3-butanediol, l'éthanol, l'acétate, le formiate.

Ces composés sont principalement à partir du lactose, du citrate, des acides aminés et des matières grasses. Cette caractéristique aromatisant est particulièrement importante dans la fabrication de laits fermentés, des fromages frais, crèmes et beurre, dont l'arôme principal est lié à cette activité microbienne. **(Allouache & Smaoun, 2017) (Silva et al., 2023)**

Certaines d'entre elles contribuent également à l'arôme d'autres produits fermentés comme le vin, la bière ou le saucisson. En générale ces molécules aromatiques ont un effet bénéfique sur l'arôme des produits. Cependant, lorsqu'elles sont produites en trop grande quantité certaines peuvent être associées à des défauts d'arôme cela s'explique par le fait que leurs seuils de perception de toutes ces molécules sont généralement bas, de l'ordre de ppm, ce qui justifie leur fort impact sur l'arôme final des produits même s'ils ne sont pas en grande quantité. **(Chekhchoukh et al., 2016)**

I.4.6. Aptitude texturant

Certaines souches de BL ont la capacité de produire des exopolysaccharides (EPS) qui sont essentielles pour la texture et la rhéologie des produits transformés. Leur présence dans les produits fermentés présente un intérêt technologique majeur particulièrement dans l'industrie laitière.

En effet, l'utilisation des EPS dans la production alimentaire permettent d'apporter de nombreux avantages, puisqu'ils peuvent apporter des changements rhéologiques souhaitables dans la matrice alimentaire tels que viscosité accrue, synérèse réduite et texture améliorée. Ils possèdent également des propriétés émulsifiantes, épaississantes et stabilisantes. De plus, les EPS offrent une texture corporelle, une fermeté, une onctuosité et une sensation en bouche souhaitables, ou pourrait même être appliqué dans la préparation d'emballages alimentaires. **(Hammi, 2016) (Benhoua, 2019)**

Des souches telles que *Lb. Delbrueckii ssp. Bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus* connues pour leur capacité de produire des EPS. Sont largement utilisés dans la fabrication des

yaourts pour améliorer la texture, éviter la synérèse et augmenter la viscosité des produits finis. Par ailleurs, des études récentes ont mise en évidence que chez *Lactobacillus plantarum* la capacité de la production d'EPS est la propriété la plus importante. (Zhao & Liang, 2022)

De plus, les *Leuconostoc* ont la capacité de produire des quantités beaucoup plus élevées d'EPS. (Belkheir, 2017)

La production de ces polysaccharides contribue également à l'homogénéité du produit et faire sa présentation plus agréable. La texture du lait fermenté dépend également des interactions entre les bactéries et les différentes protéines. (Zhao & Liang, 2022)

Les BL produisent deux types d'ESP : les homopolysaccharides et les hétéropolysaccharides. Les dextranes et les glucanes produits respectivement par *leuconostoc mesenteroides* et *streptococcus mutans* sont des homopolysaccharides de glucose tandis que les levanes produits par *streptococcus salivarius* sont des homopolysaccharides de fructose. Les hétéropolysaccharides contenant deux ou plusieurs types d'oses constitutifs forment un groupe très hétérogène de polysaccharides élaborés par différentes BL thermophiles et mésophiles. (Tang et al., 2023)

1.5. Les propriétés probiotiques

Ce sont Metchnikoff et Tissier qui ont été les premiers à avancer dans leurs travaux des propositions scientifiques au sujet de l'utilisation probiotique des bactéries lactiques. L'expression « probiotique » dérive de deux mots grecs ; « pro » et « bios » qui signifient en faveur de la vie, ce sont des préparations microbiennes vivantes utilisées comme additifs alimentaires et qui ont une action bénéfique sur l'hôte en améliorant la digestion et l'hygiène intestinale. (Mami, 2013)

Les bactéries lactiques (BL) jouent un rôle essentiel dans le maintien de l'équilibre du microbiote intestinal, en contribuant à éviter une augmentation ou une diminution brutale du nombre d'une certaine flore intestinale, et en réduisant la prolifération des bactéries pathogènes, maintenant ainsi que l'homéostasie. Une perturbation de cet équilibre peut entraîner des maladies intestinales et affecter la santé de l'hôte. Dans ce cas, les BL peuvent rétablir l'équilibre du microbiote intestinal en modifiant sa composition et en favorisant sa stabilité. Cependant, lorsque le nombre de bactéries pathogènes augmente considérablement et que la proportion de probiotiques est faible, les BL jouent un rôle majeur dans le façonnement du microbiote intestinal perturbé par les maladies, en régulant l'augmentation de la teneur en bactéries bénéfiques et en réduisant les bactéries pathogènes. (Tang et al., 2023)

Plusieurs espèces de bactéries ou levures sont considérées comme étant probiotiques. Malgré cette grande diversité, les *bifidobactéries* et les *lactobacilles* sont les deux principales souches de bactéries probiotiques utilisées dans les produits alimentaires. (HEYMAN et *al.*, 2006) (Tang et *al.*, 2023)

Matériel et méthode

II.1. Lieu et période d'étude

Ce travail a été réalisé au niveau du laboratoire de microbiologie de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, université Saad Dahleb, Blida 1, sous la direction et l'orientation de Mme Benhouana. Dans ce travail différentes analyse ont été réalisées à fin d'étudier les caractéristiques biotechnologiques de bactéries lactiques isolées à partir de produits laitiers algériens. Le travail a été réalisé sur une période de trois mois.

II.2. Provenance des bactéries utilisées

II.2.1. Bactéries lactiques

Les sept (07) souches de bactéries lactiques sélectionnées pour l'étude de leur caractéristique biotechnologique proviennent d'un travail antérieur de notre promotrice Ces souches ont été isolées de différents produits laitiers, purifiées et identifiées par voie moléculaire PCR, elles sont notées par des codes selon le tableau ci-dessous :

Tableau I: Provenance et identification des souches utilisées dans ce travail

Code de la souche	Origine	Espèce
LAB1	Lait de chamelle (Naama)	<i>Lactobacillus plantarum</i>
LAB2	Lait de vache (Oran)	<i>Lactobacillus plantarum</i>
LC1	Lait de chamelle (Bechar)	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>
LC2	Lait de vache (Oran)	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>
W1	Lait de vache (Oran)	<i>Weisella confusa</i>
W2	Beurre traditionnel	<i>Weisella confusa</i>
W3	Fromage traditionnel (Klila)	<i>Weisella confusa</i>

II.2.2. Les souches pathogènes

Les souches bactériennes pathogènes utilisées dans nos expérimentations proviennent du laboratoire d'hygiène de Tipaza. *Pseudomonas aeruginosa* CNR ISPA PS20, *E. coli* ATCC8739, *Staphylococcus aureus* ATCC 19095, *Listeria monocytogène* ATCC 9525, *Klebsiella pneumoniae* 13883.

II.3. Revivification des souches

Les souches de bactéries lactiques ont été revivifiées par repiquage dans du bouillon MRS suivie d'une incubation à une température de 30 °C pendant une durée de 48 h. Par la suite, les souches ont été ensemencées sur gélose MRS, versé en boîtes pétrie stériles. Les boîtes ont ensuite été incubées pendant une période de 48 heures à 30 °C.

Pour Les souches pathogènes, elles ont été revivifiées par repiquage dans du bouillon nutritives (BN) suivie d'une incubation à 37 °C pendant 48 h. ensuite, les souches ont été ensemencées sur des boîtes pétrie contenant la gélose nutritive (GN). Et à 37 °C pendant 48 heures.

II.4. Vérification de la pureté des souches

La pureté des souches de Bactéries lactique a été confirmée par l'observation morphologique des colonies sur gélose MRS, complétée par la coloration de Gram et la réaction de catalase. De la même manière, La pureté des souches pathogènes a été vérifiée par l'aspect des colonies sur gélose, la coloration de Gram et la réaction de catalase.

II.4.1. Étude macroscopique

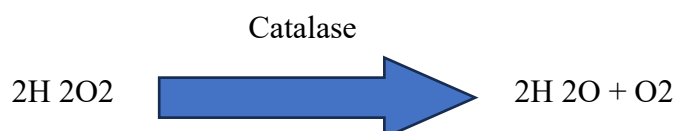
Une observation macroscopique permet décrire l'aspect des colonies, obtenues sur milieu solide (taille, couleur, forme, aspect,). Cette observation est faite après 24heurs d'incubation à 30 °C sur gélose MRS pour les bactéries lactiques (**Badis et al., 2005**), et à 37 °C sur Gelose nutritif pour les bactéries pathogènes .

II.4.2. Étude microscopique

L'examen du frottis coloré selon la méthode de Gram constitue une étape essentielle pour distinguer les bactéries en fonction de leur paroi cellulaire et de leur affinité pour les colorants. Cette technique permet également d'observer la morphologie bactérienne (forme, taille) ainsi que l'arrangement des cellules. Ces caractéristiques sont mises en évidence par observation microscopique après la coloration.

II.4.3. Test de la catalase

L'activité catalytique se traduit par l'intervention d'une enzyme respiratoire appelé catalase qui permet de dégrader le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) en eau (H₂O) et oxygène (O₂). Celle-ci décompose l'eau oxygénée selon la réaction suivante :



Pour réaliser ce test, on prélève une colonie issue d'une culture sur gélose MRS, puis on la mélange à une goutte de peroxyde d'hydrogène déposée sur une lame propre. Si des bulles apparaissent immédiatement, cela indique une réaction positive : la souche testée est donc catalase positive. **(Guiraud, 2003)** Dans notre étude, la souche *E.coli* a été utilisée comme témoin positif, ce qui a permis de valider la fiabilité du test.

II.5. Étude des caractéristiques technologiques des bactéries lactiques

II.5.1. Mise en évidence de l'activité protéolytique

L'activité protéolytique des bactéries lactique est caractériser par la dégradation de caséine qui joue un rôle important dans le développement de la texture des produits alimentaire. Cette activité est mise en évidence sur milieu PCA additionnée au 3%, 5%, 10% de lait écrémé (3, 5, 10 ml dans 100ml de gélose). Le milieu préparer est coulé dans des boites pétri, laissé a solidifiée puis séchée. Par la suite chaque souche a été ensemencées par touche à la surface du milieu. Après séchage, les boites sont incubées à 30 °C pendant 48 h,

Une zone claire autour des colonies indiqué l'activité protéolytique. Plus la zone est large plus l'activité protéolytique est importante. **(Vandenberg et al., 1993)**

II.5.2. Pouvoir aromatisant

La détection de la présence d'acétoïne comme un composé présente un intérêt taxonomique et industriel , le précursement de l'étoïne par le diacétyl molécule aromatique majeur jouant un rôle important de divers produits laitiers comme le fromage **(mokdad,2020)** La production des composés aromatiques par le processus de fermentation est mise en évidence sur milieu 5ml du milieu Clak et lubs .Inoculer avec la souche lactique à tester . Après incubation de 24h à 37°C les réactifs de voges- proskauer sont ajoutés par les réactifs VPI (NaOH à 16% dans l'éthanol) et le réactif VP2 6% dans éthanol, à parts égales (V/V), le mélange de la réaction est observé après incubation de 10 minutes par l'apparition d'un anneau rouge indique la production de composés aromatiques. **(Hadeef, 2011) (Colombo et al., 2020)**

II.5.3. Production des EPS

Les souches à tester sont ensemencées en stries sur gélose hypersaccharosée déjà coulée et solidifiée. Après incubation à 37°C pendant 24 à 48h, la production des exopolysaccharides (MRS +5% de saccharose) se manifeste par l'apparition de colonies larges et gluantes. (Slamnia & Saddok, 2018) (Benhouana, 2019) (Abdalrahim et al., 2019)

II.6. Etude de l'activité antimicrobienne

Les souches lactiques sélectionnées ont été testées pour leur activité antagoniste contre les bactéries indicatrices (*Pseudomonas aeruginosa* CNR ISPA PS20, *E. coli* ATCC 9525, *Staphylococcus aureus* ATCC 19095, *Listeria monocytogène* ATCC 9525, *Klebsiella pneumoniae* 13883) En utilisant la méthode : Interaction par méthode directe (Spot Agar Test) selon (Fleming et al., 1975).

II.6.1. Méthod direct (spot agar test (Fleming et al., 1975))

Ce test d'antagonisme est réalisé dans le but de révéler la production ou non des substances antibactériennes par les souches de bactéries lactiques envers les souches pathogènes. A partir d'une préculture de souches lactiques sélectionné obtenus après 18 heures d'incubation à 30°C, 5µl ont été ensemencées sous forme de spots sur gélose MRS de façon à obtenir quatre spots par boîtes de même taille et identiques.

L'incubation se fait en Aérobiose à 30°C pendant 24 heures. Après l'incubation les boîtes sont ensuite recouvertes de 10 ml de gélose MH (Muller Hinton) inoculé par 1ml d'une pré-culture de 18h de chaque bactérie pathogène (*Pseudomonas aeruginosa* CNR ISPA PS20, *E. coli* ATCC 9525, *Staphylococcus aureus* ATCC 19095, *Listeria monocytogène* ATCC 9525, *Klebsiella pneumoniae* 13883). Après 24 heures d'incubation à 37 °C des souches inhibitrices (souches lactiques) et indicatrices (souches pathogènes), les boîtes ont été examinées en vue de détecter les zones d'inhibition autour des spots et le diamètre de la zone d'inhibition est mesuré. (Fleming et al.,1975). Les résultats positifs se manifestent par l'apparition d'une zone claire ≥ 6 mm autour des souches Inhibitrices sont considérées comme productrices de substances antimicrobiennes.

II.7. Suivi de la cinétique d'acidification dans milieu MRS liquide

Parmi les différentes propriétés métaboliques des bactéries lactiques, la capacité acidifiante reste l'une des plus importantes dans les industries alimentaires. Et Pour l'évaluer des précultures ont été préparées dans un milieu MRS incubé pendant 18h, ensuit une

suspension bactérienne à une concentration de 10^8 UFC/ml a été ajoutée à des flacons contenant 50 ml de MRS liquide.

La cinétique d'acidification a été suivie à l'aide de ph mètre, à des intervalles de temps régulier suivant : 2h ,4h, 6h ,8h et ainsi de suite jusqu'à 48h, afin d'évaluer la capacité acidifiante des différentes souches dans les milieux. (Belhamra, 2018)

II.8. Suivi de la cinétique d'acidification dans le lait d'avoine

Pour évaluer l'aptitude des souches lactique à acidifier un lait végétal, des tests a été réaliser sur le lait d'avoine. Pour cela des précultures ont été préparées dans un milieu MRS incubé pendant 18h, ensuite, une suspension bactérienne à une concentration de 10^8 UFC/ml a été ajoutée dans un flacon contenant 50 ml du lait d'avoine

La cinétique d'acidification a été suivie à l'aide de ph mètre, à des intervalles de temps régulier suivant : 2h ,4h, 6h ,8h et ainsi de suite jusqu'à 48h. (Belhamra, 2018)

II.9. Suivi de la cinétique d'acidification et de la croissance des souches de *Lactobacillus plantarum* et *Weissella confusa* en cultures pures et mixtes avec des souches de *Listeria monocytogène* dans le lait d'amande

L'aptitude des souches lactiques sélectionnées à acidifier le milieu a été évaluée à partir de préculture de ces souches ainsi que la bactérie pathogène *Listeria monocytogenes*. Chaque culture (1 %) a été inoculer séparément dans 100 ml dans le lait d'amande complétée par 0,3 % d'extrait de levure.

La cinétique d'acidification a été suivie à l'aide de ph mètre, à des intervalles de temps régulier suivant : 2h ,4h, 6h ,8h jusqu'à 48h. la mesure de l'acidité Dornic a été également effectué afin d'évaluer la capacité acidifiante des différentes souches dans les milieux .pour ce faire un volume de 5 à 10 ml de lait fermenté est prélevé, puis on ajoute 2 à 3 goutte de phénolphthaléine, le titrage est effectué à l'aide du NaOH (0.1N) sous agitation magnétique jusqu'à l'apparition d'une couleur rose persistante indiquant la neutralisation de l'acidité présente.

Le volume de NaOH utilisé est noté et l'acidité est exprimée en degré Dornic selon la formule suivante :

L'acidité Dornic = V de NaOH utiliser $\times 10$ (Cirat et al., 2024)

II.10. Auto-agrégation bactérienne y

Une culture de 5 ml des souche *L.plantarum* : LB1 et, *W. Confusa* : W1 et W2, W3 (Concentration initiale : 10^8 UFC/ml) a été mélangé et homogénéisée par le vortex pour 10 secondes, le calcul de la densité optique selon la longueur d'onde 600nm et incubation 24 heures à 37°C.

Après centrifugation de chaque tube, la densité optique (DO) des surnagent a été mesurée, la première lecture a été effectuée à T0 afin de déterminer la DO initiale et des lectures a été réalisée pour suivre l'évaluation de la DO dans le temps à 2h, 4h et 24. Et le pourcentage d'auto-agrégation a été déterminé selon la formule suivante : $A = [1 - (DO_t / DO_t(0))] \times 100$. (Selmi et al., 2023) (Cirat et al., 2024)

II.11. La Co-agrégation

Culture de 4ml de souches LAB sélectionnés a été mélangé avec une culture de *Listeria monocytogenes* puis l'ensemble a été vortexé pendant 10s et incubé à 37°C. La DO du mélange a été mesurée à différents temps : initialement à 0h puis après 2h ,4h et 24h.

Le pourcentage de Co-agrégation a été calculer comme suit :

Co-agrégation (%) = $[1OD \text{ mix} / (OD \text{ souche} + OD \text{ pathogène}) / 2] \times 100$ (Cirat et al., 2024)

II.12. Activité hémolytique

Le caractère hémolytique a été évaluer par ensemencement en stries sur une gélose au sang (GN+ Sang5%). Après incubation pendant une période de 24h à 37°C l'activité hémolytique a été observée. Trois type d'hémolyse peuvent être distingué :

- α hémolytiques : couleur verte autour des colonies
- β hémolytiques : éclaircissement autour des colonies
- γ hémolytiques : le milieu n'est pas modifié.(Hadeif, 2011) (Casarott et al., 2017)

II.13. La résistance aux antibiotiques

Ce teste permet d'évaluer la sensibilité ou la résistance des souches étudier face à certains antibiotiques, en utilisant la méthode de diffusion en milieu solide.

Pour réaliser ce test, un antibiogramme en milieu solide est réalisé, chaque souche issue d'une culture jeune de 18 h d'incubation à 37 °C, est ensemencée en surface de la gélose MRS probablement coulée et solidifiée. Chaque souche est testée vis-à-vis six (6) disques d'antibiotiques : ciprofloxacine, imipénème, ceftriaxone, chloramphénicol, cefotaxine,

amoxicilline. Les disques sont déposés à la surface des boîtes ensemencées par les souches lactiques. Après incubation à 37 °C pendant 18 h, les diamètres des zones d'inhibition ont été mesurés (Leroy *et al.*, 2007 ; Liasi *et al.*, 2009)

II.14. Application alimentaire de *Lactobacillus plantarum* et *Weissella confusa* comme cultures bioprotectrices dans une boisson fermentée à base végétale (le lait d'amande) :

Dans cette étude, deux souches lactiques, *Lactobacillus plantarum* et *Weissella confusa*, ont été sélectionnées pour leur potentiel probiotique et biotechnologique, dans le but de formuler une boisson végétale fermentée (type yaourt) à base de lait d'amande. Pour la préparation, 1 % d'une culture fraîche de chaque souche (préincubée pendant une nuit) a été inoculée dans 10 ml de lait d'amande, puis incubée à 30 °C pendant 18 heures. Ensuite, 1 % de cette préculture a été transférée dans 100 ml de lait d'amande enrichi avec 0,3 % d'extrait de levure. Cette préparation a été incubée à 30 °C pendant 5 heures, puis conservée à 4 °C pendant une période de 28 jours. L'acidité (mesurée en degrés Dornic) a été évaluée aux jours JO, J1, J7, J14 et J28 afin de suivre l'évolution de la fermentation.

II.15. Application alimentaire de *Lactobacillus plantarum* et *Weissella confusa* en tant que starter primaire pour la conception de boisson fermenté à base végétale (le lait d'amande)

Pour évaluer le potentiel inhibiteur de ces souches contre *Listeria monocytogenes*, des tubes contenant 10 ml de lait d'amande ont été préparés. Chacun a reçu 1 % d'une culture fraîche de *L. plantarum*, *W. confusa* ou *L. monocytogenes*, incubée à 30 °C pendant 18 heures. Par la suite, ces cultures ont été utilisées à 1 % pour ensemencer 100 ml de lait d'amande (enrichi en 0,3 % d'extrait de levure), incubé à 30 °C pendant 5 heures, puis stocké à 4 °C pendant 28 jours. La charge microbienne a été suivie à intervalles réguliers (JO, J1, J7, J14, J28) à l'aide de milieux sélectifs. La présence de *Listeria monocytogenes* a été suivie sur gélose Oxford, tandis que les souches lactiques ont été dénombrées sur gélose MRS. Cette approche a permis d'évaluer non seulement la capacité inhibitrice des souches lactiques, mais aussi leur dominance dans le produit fermenté. (Cirat *et al.*, 2024)

II.16. Conservation

II.16.1. Conservation à court terme

La conservation à court terme des isolats purifiés est réalisée par ensemencement des souches pures sur gélose MRS inclinée à l'aide d'une anse en platine stérile. Après incubation de 18h à 30 °C, les tubes sont placés à 4 °C. le repiquage des souches est effectué toutes les trois à quatre semaines afin d'assurer leur viabilité. (Saldi *et al.*, 2002)

II.16.2. Conservation à long terme

Après 18 h de culture en milieu liquide, les cellules sont récupérées par centrifugation à 4000 tr/min pendant 10 min. Une fois le surnageant éliminé, on ajoute le milieu de conservation composé de : lait écrémé 70 % et 30 % de glycérol sur le culot. Les cultures sont ensuite transférées en Eppendorf et conservées à -20 °C. La **figure 01** montre le protocole de conservation à longue durée (Badis *et al.*, 2005). Les cultures peuvent être conservées plusieurs mois.

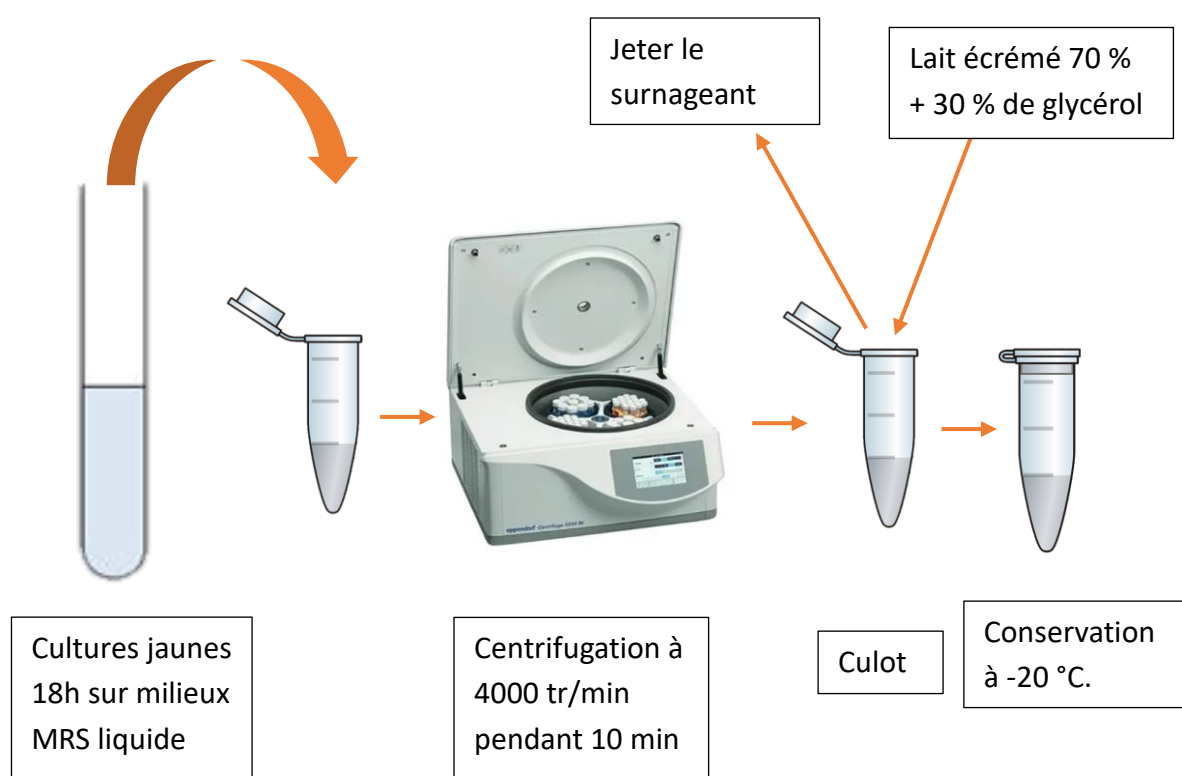


Figure 1: schéma de conservation à long durée des bactéries lactiques purifiées

Résultats

III.1. Vérification de la pureté des souches

III.1.1. Caractérisation macroscopique et microscopique

L'examen macroscopique a été fait à l'œil nu par l'étude l'aspect des isolats (colonies de petite taille, arrondies, bombées, lisses, de couleur blanchâtre et présentant un contour régulier.)

Les bactéries lactiques sur milieu liquide :

La croissance des bactéries apparaît sous forme de trouble homogène dans le milieu MRS liquide

III.1.2. Examen microscopique (coloration de Gram)

L'observation microscopique a permis de distinguer des cellules de forme Cocci ou bacilles

Tableau II: Résultats de l'observation microscopique des souches lactiques.

Souche	Forme	Gram
LAB1	Cocobacille	+
LAB2	Cocobacille	+
LC1	Cocci	+
LC2	Cocci	+
LAB1	Cocci	+
W2	Cocci	+
W3	Cocci	+

W1

(+) : positif

III.1.3. Test de catalase

Toutes les souches qui ont été testées n'a montré aucun dégagement de gaz (O_2), ce qui confirme que les isolats lactiques testés sont catalases négatives .En comparaison avec une bactérie pathogène utilisée comme témoin positif (*Escherichia coli*), cette dernière a montré une réaction catalase positive confirmée par l'apparition de bulles d'air.

- L'observation microscopique après coloration de gram a révélé que les souches est gram positives, traduisant une paroi cellulaire épaisse typique de ce groupe bactérien
- Par ailleurs, l'absence de dégagement de gaz lors du teste de catalase indique une réaction négative.

C'est deux critères confirment l'appartenance des souche étudiées au groupe des bactéries lactiques.

III.2. Pouvoir protéolytique

L'activité protéolytique des BL a été largement étudiée grâce à leur mécanisme bien compris qui peut aider à l'hydrolyse des protéines complexes pour libérer les AA utilisés dans l'industrie et, surtout, dans la formulation de compléments alimentaires. (Lim et al., 2019)

Dans notre étude L'activité protéolytique des souches isolées a été évaluée sur milieux PCA enrichie du 3%, 5%, 10% de lait écrémé afin de visualiser directement l'activité de protéolyse extracellulaire. Les résultats obtenus lors de la réalisation de ce test sont résumés dans le **tableau III**.

Toutes les souches testées ont montré une activité protéolytique qui a été évaluée avec l'augmentation de pourcentage des protéines du lait 3%, 5%, 10% cette activité est mise en évidence par l'apparition d'un halo clair autour des colonies ensemencées ceci est grâce à la dégradation de la caséine (**figure6**).

Tableau III: diamètre de protéolyse des souches lactique testées (en mm)

Souche	Diamètres des halos (mm)		
	3 %	5%	10%
LAB1	12	13	15
LAB2	16	17	21
LC1	18	19	22
LC2	12	15	17
W1	12	15	20
W2	11	12	15
W3	12	13	18

III.3. Pouvoir aromatisant

La production d'acétoïne par les BL présente un intérêt majeur dans l'industrie agroalimentaire. Son rôle dans l'amélioration de l'arôme, de la saveur, de la qualité et de la conservation des produits alimentaires fermentés en fait un élément clé de nombreux processus de fabrication. (Xiong et al., 2017)

On a trouvé que tous les 7 souches testées ont montré une aptitude aromatisante avec une intensité variable selon les espaces, la présence d'un anneau rouge autour des colonies indique un potentiel aromatisant élevé important qui va participer aux caractéristiques organoleptiques des aliments fermentés

III.4. Production des EPS

De nombreuses études ont démontré que les exopolysaccharides (EPS) sécrétés par les BL présente un fort potentiel d'application dans divers produits alimentaires (**Freitas et al., 2017**) (**Benhoua, 2019**). Ces bactéries contribuent à l'augmentation de la viscosité des aliments en générant et en sécrétant des polymères saccharidiques; en raison de leur solubilité, ces polymères peuvent également être utilisés pour améliorer la stabilité des produits alimentaires. (**Silva et al., 2023**) (**Benhoua, 2019**)

La capacité de production d'exopolysaccharides par les souches testées a été évaluée sur milieux hypersaccharosée.

La production d'EPS s'est manifestée par l'apparition des colonies larges et visqueuses.

III.5. Activité antibactérienne

Afin d'évaluer la capacité de nos souches à produire des substances antimicrobiennes, des tests ont été réalisés selon la méthode directe, en présence de souches indicatrices telles que *Pseudomonas aeruginosa* CNR ISPA PS20, *E. coli* ATCC 9525, *Staphylococcus aureus* ATCC 19095, *Listeria monocytogène* ATCC 9525, *Klebsiella pneumoniae* 13883.

Les résultats obtenus ont été enregistrés par des zones d'inhibition notées par un halo clair autour des points d'ensemencement.

Les diamètres des zones d'inhibition sont résumés dans le **tableau III, figure 10 et 11**.

Les mesures des spectres d'inhibition ont révélé que toutes les souches lactiques testées possèdent une capacité antimicrobienne vis-à-vis des souches pathogènes ciblées, avec des diamètres de zones d'inhibition variant de 15 mm à 35 mm. Parmi elles, la souche LC1 s'est distinguée par une forte activité inhibitrice contre *Listeria monocytogenes*, avec une zone d'inhibition atteignant 35 mm. De même, la souche LAB1 a montré une activité antimicrobienne remarquable, en particulier contre *Listeria monocytogenes* (29 mm), ainsi que contre *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* et *Escherichia coli* (25 mm chacune). À l'inverse, la souche W2 a affiché une plus faible activité antibactérienne, avec une zone d'inhibition de 15,3 mm seulement contre *Pseudomonas aeruginosa*. Ces résultats mettent en évidence la variabilité de l'efficacité antimicrobienne selon les souches lactiques, suggérant un potentiel sélectif dans leur application comme agents de biocontrôle.

III.6. Auto-agrégation

La capacité d'auto-agrégation constitue un critère clé dans l'évaluation du potentiel probiotique, car elle influence directement l'adhésion des souches à différentes muqueuses, notamment la cavité buccale, le tractus gastro-intestinal et le tractus urogénital (**Cirat et al., 2024**). Les résultats obtenus ont mis en évidence une variabilité significative de cette propriété entre les souches testées, avec une dépendance marquée à la durée d'incubation. En remarque que la W1 présente la plus forte capacité d'auto agrégation avec 18,52% après 2h et 35,50% après 4h et 70,25% après 24h sui par la souche LAB1 avec 15,09%, 31,26%, 60,70% au même temps d'incubation, la plus faible activité été W3 qui a monté 7,05% d'auto agrégation après 2h et 20,60% après 4h et 50,14% après 24h.

III.7. Co-agrégation

Les résultats de la co-agrégation avec *Listeria monocytogenes* ont montré que la souche W1 présentait la meilleure stabilité, avec des taux de co-agrégation de 22,68 % après 2 heures, 22,41 % après 4 heures et 22,29 % après 24 heures d'incubation. La souche LAB1 a également montré une interaction significative, atteignant 18,40 % à 2 heures, 18,26 % à 4 heures et 17,96 % à 24 heures. En revanche, W3 a affiché les pourcentages les plus faibles, avec 15.66 % après 2 heures et 15,79 % après 4 heures et 16.10 % après 24heures, Suivi de la cinétique d'acidification dans milieu MRS liquide

À partir de l'analyse de la cinétique d'acidification dans le milieu MRS, il est intéressant de noter que les cinq souches testées présentent un profil similaire. On observe une baisse progressive du pH entre 0 et 15 h indiquant une bonne capacité acidifiante. Au-delà de cette période le pH tend à se stabiliser atteignant une valeur comprise entre 3,90 et 4,10 selon la souche étudiée.

III.8. Suivi de la cinétique d'acidification dans le lait d'avoine

L'analyse des résultats obtenus a montré que toutes les souches testées possèdent un pouvoir acidifiant remarquable. On observe une diminution significative du pH du lait végétal (lait d'avoine) durant les premières heures d'incubation, notamment de 0 h jusqu'à 15 h, traduisant une forte activité métabolique. Au-delà de cette période, le pH tend se stabilise autour de 4 indiquant que l'acidification a atteint un seuil

III.9. Suivi de la cinétique d'acidification et de la croissance des souches de *Lactobacillus plantarum* et *Weisella confusa* en cultures pures et mixtes avec des souches de *Listeria monocytogène* dans le lait d'amande

Une analyse a été réalisée pour évaluer l'évolution de la croissance des bactéries lactiques en culture pure. Les résultats ont mis en évidence une progression significative de la densité cellulaire, allant de 7.29 log UFC/ml à 0 h jusqu'à atteindre un pic de 8.70 log UFC/ml à 29 h d'incubation. Cette augmentation traduit une bonne adaptation et une forte activité métabolique des souches dans le milieu. Après 29 h, une légère baisse de la population est observée atteignant 8.53 log UFC/ml à 48 h, probablement due à l'accumulation d'acides organiques qui acidifient le milieu et freinent la croissance bactérienne.

Les résultats obtenus en culture mixte révèlent une diminution notable de la croissance de *Listeria monocytogenes*, passant de 7.16 log UFC/ml à 0 h à 5.82 log UFC/ml à 48 h. Cette réduction témoigne d'une inhibition efficace exercée par les souches lactiques.

Cette activité antagoniste résulte probablement d'une combinaison entre l'acidification progressive du milieu et la production de composés antimicrobiens par les bactéries lactiques.

Suite aux mesures d'acidité réalisées en culture pure et en culture mixte, une diminution progressive du pH a été observée durant les 15 premières heures d'incubation indiquant une forte activité acidifiante. Après cette phase, le pH se stabilise atteignant 4,02 en culture pure et 3,96 en culture mixte. Cette différence suggère que l'environnement mixte favorise une acidification légèrement plus prononcée probablement en lien avec l'interaction entre les bactéries lactiques et *Listeria monocytogenes*.

Les mesures d'acidité par la méthode Dornic vont influencer les résultats obtenus par la baisse du pH. En effet, une augmentation progressive de l'acidité a été observée aussi bien en culture pure qu'en culture mixte. Les valeurs initiales étaient de 7°D pour la culture pure et de 8°D pour la culture mixte à 0 h. Cette acidité a évolué avec les temps pour atteindre 99°D en culture pure et 103°D en culture mixte après 48 heures d'incubation, traduisant une intensification de l'activité acidifiante, particulièrement marquée en culture mixte.

III.10. Activité coagulante

La coagulation correspond à la déstabilisation des micelles de caséine, qui s'agglutinent puis se soudent pour former un gel capable d'emprisonner les éléments solubles du lait. Ce phénomène peut être déclenché soit par une acidification, soit par l'action d'enzymes, soit encore par la combinaison des deux. (Vignola, 2002)

Les résultats obtenus concernant la coagulation dans différents types de laits : lait d'amande, lait écrémé et lait d'avoine sont présentés dans la figure 18.

III.11. Hémostatique

L'analyse sur gélose au sang n'a révélé aucune zone d'hémolyse, ni alpha ni bêta, autour des colonies de souches testées, ce qui suggère que ces dernières ne présentent pas d'activité hémostatique.

III.12. Antibiogramme

La résistance aux antibiotiques constitue un critère essentiel dans le processus de sélection d'une souche probiotique. Les résultats obtenus concernant la sensibilité et la résistance des souches testées sont regroupés dans le tableau 10.

L'ensemble des souches testées s'est révélé sensible à la majorité des antibiotiques étudiés, notamment l'imipénème (IPM), le chloramphénicol (CL) et l'amoxicilline (AMO). En revanche, les souches LAB2, LC1, LC2, W1, W2 et W3 ont révélées résistantes à la ciprofloxacine, tandis que LAB1 a présenté une sensibilité intermédiaire. Concernant le céfotaxime, les souches LAB1, LAB2, LC1, W1 et W3 ont affiché une résistance, alors que W2 s'est révélée sensible et LC2 a présenté une sensibilité intermédiaire. Les résultats sont résumés dans le **Tableau IV**

Tableau V: résultats du test de sensibilité aux antibiotiques des souches lactiques

Souche	Antibiotique					
	cip	ipm	ctr	Cl	ctx	amo
LAB1	I	S	S	S	R	S
LAB2	R	S	I	S	R	I
LC1	R	S	S	S	R	S
LC2	R	S	R	I	I	S
W1	R	S	I	I	R	S
W2	R	S	I	I	S	S
W3	R	S	R	S	R	I

Cip : ciprofloxacine , ipm : imipénème , Ctr : ceftriaxone , Cl : chloramphénicol ,
Ctx : cefotaxine , Amo : amoxicilline / S : sensible / R : résistant / I : intermédiaire

III.13. Application alimentaire de *Lactobacillus plantarum* et *Weisella confusa* en tant que starter primaire et comme cultures bioprotectrices pour la conception de boisson fermenté a base végétale (le lait d'amande)

Au cours du processus de fermentation du lait d'amande, l'acidité Dornic a été mesurée aux jours JO, J1, J7 et J14 pour les cultures pures, mixtes et le témoin. Les résultats montrent une augmentation progressive de l'acidité au fil du temps. Pour la culture pure, les valeurs sont passées de 5°D à JO, à 29°D à J1, 51°D à J7 et 63°D à J14. Pour la culture mixte, l'acidité était de 5°D à J0, 37°D à J1, 63°D à J7 et 71°D à J14, indiquant une acidification plus marquée par rapport à la culture pure. En revanche, le témoin présente une acidification plus faible avec des valeurs de 3°D à J0, 16°D à J1, 42°D à J7 et 47°D à J14.

Concernant le contrôle microbiologique de la boisson fermentée , Dans la culture mixte l'association des souches LAB1 et W2 a permis une inhibition complète de *Listeria monocytogenes* avec 0 % de croissance détectée sur gélose Oxford dès le jour 7

À l'inverse en culture pure, une croissance progressive des souches passant de 7,43 log UFC/ml à J14 à 8,07 log UFC/ml à J14. Cependant, une légère baisse de la population bactérienne a été notée à J14 atteignant 7,92 log UFC/ml, probablement en raison de l'accumulation d'acides organiques dans le milieu, ce qui a entraîné une acidification défavorable à la croissance cellulaire

Discussion

Les bactéries lactiques (BL) jouent un double rôle fondamental : d'une part, elles sont au cœur de nombreux procédés industriels, notamment dans l'agroalimentaire, où elles sont largement utilisées pour maîtriser la fermentation et améliorer les qualités organoleptiques des produits (arôme, texture, goût). D'autre part, elles sont reconnues pour leurs effets bénéfiques sur la santé. En effet, au cours de la fermentation, ces bactéries produisent une variété de composés bioactifs qui leur confèrent des propriétés fonctionnelles précieuses. La consommation d'aliments fermentés riches en BL est ainsi associée à de nombreux bienfaits, comme l'activité antimicrobienne, le renforcement du système immunitaire, ainsi que des effets antioxydants, anti-inflammatoires ou encore hypoglycémians. Ces propriétés font des BL des candidats idéaux pour la formulation d'aliments fonctionnels à visée thérapeutique. Leur étude et leur valorisation, tant sur le plan technologique que nutritionnel, représentent donc un enjeu majeur pour le développement de solutions innovantes en alimentation et en santé. **(Abdul Hakim et al., 2023)**

Dans ce travail, nous avons vérifié la pureté de sept souches de bactéries lactiques, déjà isolées et identifiées à partir de produits laitiers traditionnels tels que le lait de vache, le lait de chamelle, le beurre et le fromage. L'objectif est d'évaluer leurs principales caractéristiques biotechnologiques en vue de leur utilisation potentielle dans l'industrie agroalimentaire

Les bactéries lactiques regroupent principalement des bacilles et des coques à Gram positif, généralement immobiles, ne formant pas de spores et présentant un métabolisme anaérobie facultatif. Elles sont, pour la majorité, dépourvues de catalase, de cytochrome oxydase et de nitrate réductase. **(Papadimitriou et al., 2016)**

L'observation microscopique réalisée au cours de notre étude a révélé la présence de différentes morphologies cellulaires, notamment des coques et des coccobacilles, avec une prédominance marquée des formes coques. Ces résultats sont en accord avec plusieurs travaux antérieurs menés sur des souches isolées à partir de produits laitiers traditionnels. **(Benhoua, 2019)**

IV.1. Activité protéolytique

Selon la définition proposée par **(Yelnetty et al., 2014)** une souche lactique est considérée comme protéolytique lorsqu'elle génère une zone de lyse comprise entre 5 et 15 mm, résultant de la dégradation de la caséine. Sur la base de ce critère, nos isolats se révèlent protéolytiques avec des diamètres de zones de lyse variant entre 11 et 22 mm. Les souches LAB2 et LC1 ont présenté la plus forte activité avec des zones de 21 mm et 22 mm respectivement tandis que la

souche W2 a montré une activité plus faible traduite par un diamètre réduit reflétant sa capacité limitée à hydrolyser la caséine.

Nos résultats collaborent avec ceux rapportés par **(Fguiri et al., 2017)** qui ont également démontré l'activité protéolytique marquée de certaines souches de *Lactobacillus* issues de produits fermentés. Ces propriétés leur confèrent un intérêt technologique important pour les applications industrielles.

Les résultats de **(Saidi, 2020)** viennent également appuyer nos observations, en montrant une activité notable chez *Lc. lactis*, *Lb. rhamnosus* et *Ln. mesenteroides*, contrairement aux espèces *Enterococcus faecium* et *Enterococcus hirae*, qui se sont révélées moins actives.

Plus récemment, **(Genet et al., 2023)** ont mis en le fort potentiel protéolytique des *Leuconostoc* dans la dégradation des protéines laitières, ce qui collabore également avec nos données expérimentales

IV.2. Activité aromatisant

Les résultats obtenus ont révélé la formation d'un anneau rouge caractéristique chez l'ensemble des souches testées (LAB1, LAB2, LC1, LC2, W1, W2, W3) indiquant la production d'acétoïne et suggérant la présence potentielle de diacétyle, Cette observation met en évidence le pouvoir aromatisant de toutes les souches étudiées.

Ces résultats collaborent avec ceux de **(Rahli, 2015)**, qui a signalé que certaines espèces telles que *Lactococcus lactis ssp. lactis biovar. diacetylactis* et *Leuconostoc mesenteroides ssp. cremoris* sont réputées pour leur aptitude à générer des composés aromatiques en convertissant le pyruvate en diacétyle, acétone, 2,3-butanediol et α -acétolactate des molécules responsables des arômes typiques des produits laitiers , De plus **(Mukisa et al., 2016)** ont mis en évidence la capacité de *Lactobacillus plantarum* et *Weissella confusa* à produire efficacement des composés aromatiques jouant un rôle crucial dans l'amélioration sensorielle des aliments fermentés.

Ces résultats sont également en accord avec ceux de **(Benhoua, 2019)** qui a souligné l'aptitude remarquable des lactobacilles à produire de l'acétoïne contrairement à d'autres souches qui ne présentaient pas cette capacité.

Enfin, **(Saidi, 2020)** a rapporté une production positive d'acétoïne indiquée par la formation d'un anneau rose dans le bouillon Clark et Lubs chez toutes les souches de *Lb. rhamnosus*, ainsi que chez les isolats d'*Enterococcus faecium* et *E. hirae*, et une souche de *Leuconostoc*, tandis que les isolats de *Lactococcus* sont restés négatifs au test.

IV.3. Pouvoir Texturant

Parmi les trois souches analysées, les isolats appartenant au genre *Leuconostoc* n'ont pas produit d'exopolysaccharides (EPS), ce qui est également le cas pour la majorité des isolats de *Weissella*, à l'exception de l'isolat W2 (49). En comparaison, *Weissella* a montré une capacité notable à produire des EPS, alors que *Leuconostoc* présente une production plus modeste. Cette différence pourrait être liée à l'utilisation du sucre comme source de carbone, comme l'ont rapporté (Cirat et al., 2024)

D'autre part (Chekhchoukh et al., 2016) également rapporté que la production des EPS dépend principalement de la souche, du taux de croissance, de la température d'incubation, du milieu de culture, de la vitesse d'acidification, du pH et de la quantité d'oxygène requis dans le milieu de culture

Par ailleurs, aucun EPS est produite chez les isolats de *Lactobacillus*, ce qui rejoint les observations de (Benhoua, 2019), qui souligne que ces souches utilisent également le saccharose comme source de carbone, tout comme les souches de *Leuconostoc*. Cependant, l'utilisation du saccharose ne semble pas garantir la synthèse d'EPS chez toutes les espèces étudiées.

IV.4. Activité antimicrobienne

Les résultats obtenus par la méthode d'interaction directe entre les souches inhibitrices (bactéries lactiques) et les souches indicatrices (bactéries pathogènes) ont montré que toutes les souches lactiques testées étaient capables d'inhiber la croissance des pathogènes. Les diamètres des zones d'inhibition variaient selon la souche de bactérie lactique et la souche indicatrice utilisée, reflétant une activité antimicrobienne différente d'une souche à une autre. Ces observations rejoignent celles rapportées par (Keerthini et al., 2017) (Obabiyi et al., 2018) et (Bouguerra, 2021) qui ont également noté que tous les isolats lactiques isolés de produits fermentés représentent un effet actif contre les bactéries indicatrices à Gram positive et à Gram négative telles que : *Pseudomonas aeruginosa* CNR ISPA PS20, *E. coli* ATCC8739, *Staphylococcus aureus* ATCC 19095, *Listeria monocytogène* ATCC 9525, *Klebsiella pneumoniae* 13883.

Dans notre étude, l'activité antimicrobienne des souches testées a été évaluée et les diamètres de zones d'inhibition contre cette bactérie variaient de 15mm à 35 mm

IV.4.1. L'activité antimicrobienne vis-à-vis *Escherichia coli*

Les figures 10 et 11 montrent que toutes les souches étudiées : *Lactobacillus plantarum*, *Leuconostoc mesenteroides* et *Weissella confusa* ont inhibé la souche indicatrice *Escherichia coli*. L'ensemble des isolats ont présenté une activité significative, avec des zones d'inhibition comprises entre 17,5 mm et 25,5 mm. Il est à souligner que les souches LAB1 et W1 ont démontré une forte activité antimicrobienne, avec un spectre d'inhibition de 25,5 mm et 23,5 mm respectivement ce qui indique leur capacité à produire des biomolécules antibactériennes actives.

Les *Escherichia coli* sont des micro-organismes très polyvalents, faisant partie intégrante du microbiote intestinal normal chez l'homme et chez les animaux. Bien que généralement inoffensives en tant que bactéries commensales, certaines souches peuvent acquérir des éléments génétiques mobiles contenant des gènes de virulence, les transformant ainsi en pathogènes capables de provoquer un large éventail de maladies intestinales et extra-intestinales. À ce jour, neuf pathotypes entériques d'*E. coli* ont été bien caractérisés ; ceux-ci sont responsables de diverses affections, allant de troubles gastro-intestinaux à des infections urinaires. Ces pathotypes utilisent plusieurs facteurs de virulence et effecteurs moléculaires pour altérer les fonctions des cellules hôtes, modulant ainsi leur capacité pathogène et leur virulence (Pakbin et al., 2021)

Les résultats obtenus concernant l'inhibition de *E. coli* sont en accord avec ceux rapportés par (Anuarbekova et al., 2024), qui a mis en évidence une activité antimicrobienne des *Lactobacillus*, en particulier *Lactobacillus plantarum*, avec une zone d'inhibition mesurant 12 mm.

IV.4.2. L'activité antimicrobienne vis-à-vis *Klebsiella pneumoniae*

Klebsiella pneumoniae est un pathogène opportuniste capable de coloniser les muqueuses et de se propager à d'autres tissus, entraînant ainsi des infections graves, parfois mortelles. Cette bactérie est impliquée dans plusieurs maladies telles que les abcès hépatiques, les bactériémies, les pneumonies et les infections urinaires. Les personnes immunodéprimées constituent les principales cibles de ces infections sévères. Cependant, l'émergence et la propagation de souches hypervirulentes ont élargi le spectre de l'infection, touchant désormais également des individus en bonne santé. (Abbas et al., 2024)

Les résultats de l'activité antibactérienne des souches lactiques vis-à-vis *Klebsiella* ont montré que toutes les souches testées possèdent un pouvoir inhibiteur, avec des diamètres de

zones d'inhibition variant entre 17 mm et 25,5 mm Il est important de souligner que la souche LAB1 a présenté la plus forte activité, avec un spectre d'inhibition de 25,5 mm. Ces résultats sont en accord avec ceux rapportés par **(El-Hokhtar et al., 2020)**, qui ont démontré l'efficacité antimicrobienne des lactobacilles contre *Klebsiella pneumoniae*. Plus précisément, *Lactobacillus plantarum* et *Lactobacillus rhamnosus* ont montré des performances inhibitrices notables, avec des zones d'inhibition respectives de 21 mm et 19 mm.

IV.4.3. L'activité antimicrobienne vis-à-vis *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa est un pathogène opportuniste à Gram négatif qui infecte les patients atteints de mucoviscidose, de brûlures, d'immunodéficience, de bronchopneumopathie chronique obstructive (BPCO), de cancer et d'infections graves nécessitant une ventilation, comme la COVID-19. **(Qin et al., 2022)**

En ce qui concerne l'activité antibactérienne des souches lactiques vis-à-vis de *Pseudomonas aeruginosa*, les résultats obtenus révèlent des diamètres de zones d'inhibition variant de 15 à 24 mm. La souche LC2 a présenté l'effet inhibiteur le plus prononcé, avec un diamètre de 24 mm, suivi des souches W3 et LAB1, avec des diamètres respectifs de 18 mm et 17 mm. Ces résultats sont en accord avec ceux rapportés par **(Mokdad, 2020)**, qui a observé des diamètres d'inhibition allant de 15,44 mm à 19,99 mm. Ils concordent également avec les travaux de **(Li et al., 2023)**, qui ont rapporté des valeurs comprises entre 11 mm et 22 mm

IV.4.4. L'activité antimicrobienne vis-à-vis *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus est une bactérie opportuniste à Gram positif, responsable de nombreuses infections, notamment ostéoarticulaires, pulmonaires, cardiovasculaires et nosocomiales. Sa forte prévalence, surtout chez les individus immunodéprimés, en fait un pathogène majeur. Son pouvoir infectieux repose sur divers facteurs de virulence lui permettant d'adhérer, d'envahir les tissus et d'échapper aux défenses immunitaires de l'hôte. **(Rasquel-Oliveira et al., 2025)**

D'après les résultats du test d'antagonisme, toutes les souches lactiques étudiées ont démontré une activité antibactérienne vis-à-vis *Staphylococcus aureus*, avec des diamètres de zones d'inhibition variant entre 18 et 25 mm. Les souches LB1, LC1 et W1 se distinguent par une forte activité inhibitrice, atteignant respectivement 25 mm, 23 mm et 24 mm. Ces résultats sont en accord avec ceux rapportés par **(Sharma et Lee, 2025)**, qui ont montré que des souches telles que *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus casei*, *Leuconostoc* et *Weissella mesenteroides* possèdent un fort pouvoir antagoniste contre plusieurs pathogènes alimentaires,

notamment *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*. Cette action antimicrobienne est principalement attribuée à la production de bactériocines, d'acides organiques et d'autres métabolites inhibiteurs.

(Anuarbekova et al., 2024) a également mis en évidence le fort potentiel antimicrobien des souches de *Lactobacillus*, en particulier *Lactobacillus plantarum*, qui a présenté une activité inhibitrice significative contre *Staphylococcus aureus*, avec une zone d'inhibition mesurée à 16 mm.

(Mami et al., 2008), ainsi que (Bhola & Bhadekar, 2019) ont rapporté que les souches de *Lactobacillus plantarum* isolées à partir de lait cru de chèvre présentent une activité inhibitrice notable contre *Staphylococcus aureus*.

IV.4.5. L'activité antimicrobienne vis-à-vis *Listeria monocytogenes*

Selon les figures 12 et 13, les diamètres des zones d'inhibition des souches lactiques vis-à-vis de *Listeria monocytogenes* varient entre 16 mm et 35 mm. La souche LC2 a présenté l'activité antimicrobienne la plus marquée, avec un diamètre de 35 mm, suivie par LAB1 et LC1, qui ont respectivement montré des zones d'inhibition de 29 mm et 27mm. Ces résultats sont en accord avec ceux de (Mokdad, 2020), qui a rapporté des diamètres allant de 16,37 à 20,28 mm Ils rejoignent également les travaux de (Zuo et al., 2014), (Sharma et Lee, 2025), qui ont démontré que des souches telles que *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus casei* *Leuconostoc* et *Weissella mesenteroides* présentent un fort pouvoir antagoniste contre divers pathogènes alimentaires, y compris *Listeria monocytogenes*.

Listeria monocytogenes est une bactérie pathogène d'origine alimentaire, Gram positive et intracellulaire, capable de survivre dans des conditions environnementales difficiles. Psychrotrophe, non sporulée et anaérobie facultative, elle est responsable de la listériose, une infection rare mais grave, souvent associée à une mortalité élevée, notamment chez les personnes fragiles. Cette bactérie se distingue par sa capacité à former des biofilms sur les surfaces industrielles et à résister aux désinfectants, ce qui la rend persistante dans les environnements de production alimentaire. Présente dans de nombreux milieux naturels (sol, eau, végétaux, produits laitiers et carnés), elle alterne entre une vie saprophyte libre et un comportement pathogène chez l'hôte. La contamination se fait principalement par des aliments prêts à consommer. Une fois ingérée, *L. monocytogenes* peut provoquer une gastro-entérite bénigne ou une infection invasive sévère. Sa résilience et sa virulence font partie des dangers

majeurs pour la sécurité alimentaire et constituent un défi constant pour l'industrie agroalimentaire. (Manyi-Loh & Lues, 2025)

Notre résultat obtenu nous permettant de conclure que tout notre souche étudié (LAB1, LAB2, LC1 ; LC2, W1, W2, W3) caractérisées par un pouvoir inhibiteur dirigé contre les bactéries pathogènes testé : *Pseudomonas aeruginosa* CNR ISPA PS20, *E. coli* ATCC8739, *Staphylococcus aureus* ATCC 19095, *Listeria monocytogène* ATCC 9525, *Klebsiella pneumoniae* 13883.

L'activité antibactérienne des bactéries lactiques résulte principalement de la production d'acides organiques, de H₂O₂, de CO₂, de composés volatils (diacétyl, acétone) et de bactériocines. Les acides lactique et acétique agissent en acidifiant le milieu et en perturbant la membrane cellulaire des pathogènes, entraînant ainsi leur inhibition. (Ryu & Chang, 2013) (Šušaković et al., 2010) (Essayas et al., 2020)

IV.5. Auto agrégation

Les résultats relatifs à l'auto-agrégation ont montré des variations notables entre les souches de *Weissella* testées. La souche W1 a présenté la plus grande capacité d'auto-agrégation, avec un pourcentage de 18,52 % après 2 heures et de 35,50 % après 4 heures et 70,25 % après 24h. Ces valeurs sont relativement proches de celles rapportées par (Cirrat et al., 2024), qui ont observé 37,8 % après 4 heures et 65,7 % après 24 heures.

Concernant la souche de *Lactobacillus plantarum*, les résultats de (Cirrat et al., 2024), indiquent un faible taux d'auto-agrégation de 27,0 % après 4 heures. En comparaison, notre souche LB1 a affiché une capacité légèrement supérieure, atteignant 31,26 % à 4 heures et s'élevant à 60,70 % après 24 heures.

Les pourcentages d'auto-agrégation variant entre 30 % et 76 % ont été rapportés pour différentes souches de *Lactobacillus* par. (Kessaa et al., 2014).

IV.6. Co-agrégation

Les résultats obtenus pour toutes les souches du genre *Weissella* ont démontré une performance stable en Co-agrégation, avec des pourcentages de 18 % après 2 heures, 20 % après 4 heures, et 22 % après 24 heures, ce qui est en accord avec les résultats de (Cirrat et al., 2024). Et plus, les souches de *Lactobacillus* ont présenté des taux de co-agrégation plus faibles, avec une moyenne d'environ 18 %, et ce, malgré les différentes durées d'incubation.

IV.7. Cinétique d'acidification dans MRS liquide

À partir des résultats obtenus, l'ensemble de nos souches (LC2, W1, W2, W3, LAB1) ont présenté des valeurs de pH initiales allant de 6.05 à 6.17, avec notamment LC2 à 6.17, W2 à 6.05, LAB1 à 6.07, et W3 et W1 à 6.13. Ces valeurs sont comparables à celles rapportées par (Allouche et al., 2010), qui indiquent un pH à temps 0 compris entre 6 et 6.20. Une baisse du pH a ensuite été observée après 24 heures d'incubation, atteignant des valeurs comprises entre 4.19 et 4.09, en accord avec les observations de (Allouche et al., 2010) (Belahmar, 2022). Après 48 heures, le pH a continué de diminuer pour atteindre 3.98.

IV.8. Cinétique d'acidification dans le lait d'avoine

Le pH mesuré à temps 0 pour nos résultats montre que les souches LAB1 et W2 présentent un pH acide respectivement de 6.14 et 6.12, tandis que la souche W3 affiche un pH de 6.17. Pour la souche W2, le pH est de 6.21, et pour la souche W1, il atteint 6.22. Ces valeurs sont comparables à celles observées par (Raja. 2024), qui indique un pH initial compris entre 6 et 6.19 pour l'ensemble de ces souches. Après 24 à 48 heures d'incubation, une diminution progressive du pH est observée pour toutes nos souches, atteignant des valeurs comprises entre 4.56 et 4.04, ce qui est le même rythme avec les résultats de (Raja. 2024), où un pH de 4.02 a été relevé dans les mêmes conditions après 24 ou 48 heures.

IV.9. Cinétique d'acidification et de la croissance des souches de *Lactobacillus plantarum* et *Weissella confusa* en cultures pures et mixtes avec des souches de *Listeria monocytogène* dans le lait d'amande

IV.9.1. Cinétique de la culture pure

À partir de l'analyse des cinétiques de croissance, toutes les souches toutes les souches lactiques sélectionnées présentent un profil similaire en début de phase exponentielle.

En ce qui concerne nos résultats, la croissance en culture pure à temps 0 des deux souches, *Lactobacillus* et *Weissella*, a présenté des valeurs initiales relativement élevées, atteignant 7,29 log UFC/ml. Après 24 heures d'incubation, une augmentation significative de la croissance a été constatée atteignant 8,59 log UFC/ml de la phase exponentielle. Ces résultats sont très proches de ceux rapportés par (Benyoucef, 2018), qui avait observé une concentration de 7log UFC/ml à temps 0 et 8,5 log UFC/ml après 24 heures. De plus, nos données indiquent une stabilité de la croissance jusqu'à 48 h, avec des valeurs entre 8,59 et 8,53 log UFC/ml, suggérant un rythme de croissance constant sur cette période.

IV.9.2. Cinétique de la culture mixtes

Les résultats démontrent une diminution de la croissance de *Listeria*, une concentration initiale (7.5 log UFC/ml) à temps 0 de *Listeria* diminue après 24h jusqu'à 5.7 log UFC/ml jusqu'à 5.5 log UFC/ml, en comparaison avec les résultats de (Benyoucef, 2018) qui a observé une diminution de la croissance de *Listeria* dans une culture mixte de Concentration 7 log UFC/ml jusqu'à 6.5 log UFC/ml après 24h, Cette diminution remarquable dans notre résultats et les résultats comparatif peut être attribué par une inhibition exercée par nos souches qui a utilisé le sucre pour la synthèse d'acides organique qui acidifié le milieu pour un PH acide, le milieu est devenue défavorable pour la croissance de *Listeria*.

IV.9.3. PH et acidité Dornic cultures pures et mixtes

La production d'acide lactique a été suivie au cours du temps en utilisant des cultures pures des souches LAB1 et W2 ainsi qu'une culture mixte avec *Listeria*, en parallèle avec la mesure du pH et de l'acidité Dornic.

-L'évolution du pH et de l'acidité Dornic de nos souches a mis en évidence un pH maximal de 6,24 et une acidité de 3,5°D au temps initial, des valeurs similaires à celles rapportées par Raja C. (2024), qui a observé un pH de 6,2 à T0. Une diminution progressive du pH a été observée entre 24 h et 48 h, atteignant des valeurs comparables à celles obtenues par Raja C. (2024), soit entre 4,03 et 3,96, accompagnée d'une augmentation de l'acidité Dornic, variant entre 45,5°D et 49,5° ».

Concernant les résultats obtenus avec la culture mixte en présence de *Listeria*, le pH initial mesuré à T0 était de 6,14. Une baisse significative du pH a été observée après 48 heures, atteignant des valeurs comprises entre 4,03 et 3,96, accompagnée d'une augmentation de l'acidité Dornic jusqu'à 51,5°D. Ces résultats sont comparables à ceux rapportés par Raja C. (2024), qui a également noté une diminution du pH atteignant 4,19.

IV.10. Activité hémolytique

L'évaluation de l'activité hémolytique a révélé que l'ensemble des souches isolées ne présente aucune activité hémolytique, ce qui suggère un profil de sécurité favorable pour une utilisation potentielle comme probiotiques, nos observations sont en accord avec les travaux de (Mokdad, 2020) concernant les souches de *Leuconostoc mesenteroides*, lesquelles se sont également révélées non hémolytiques, confirmant l'absence de capacité à hydrolyser les globules rouges humains et renforçant ainsi leur innocuité sur le plan hématologique.

IV.11. Antibiogramme

Toutes les souches testées ont montré une sensibilité notable à plusieurs antibiotiques, notamment l'imipénème (IPM), le chloramphénicol (CL) et l'amoxicilline (AMO), ce qui est un critère favorable dans le cadre de leur utilisation potentielle comme probiotiques. Néanmoins, certaines souches ont affiché une résistance à différents antibiotiques.

Toutefois, une résistance a été observée chez les souches LAB2, LC1, LC2, W1, W2 et W3 à la ciprofloxacine (CIP), et une résistance à la céfotaxime chez les souches LAB1, LAB2, LC1, W1 et W3.

Ces résultats soulignent l'importance d'évaluer le profil de sensibilité aux antibiotiques lors du choix de souches à potentiel probiotique, afin d'écartier tout risque de dissémination de gènes de résistance. En accord avec les travaux de **Mokdad (2020)**, certaines bactéries lactiques peuvent naturellement exprimer des résistances, ce qui nécessite une vigilance particulière avant leur application en industrie agroalimentaire ou en santé humaine.

IV.12. Application alimentaire de *Lactobacillus plantarum* et *Weissella confusa* en tant que starter primaire et comme cultures bioprotectrices pour la conception de boisson fermenté à base végétale (le lait d'amande)

Les résultats de l'acidification mesurés à travers l'acidité Dornic aux jours JO, J1, J7 et J14 confirment la capacité des souches *Lactobacillus plantarum* et *Weissella confusa* à agir comme cultures de départ (starter primaire) pour la fermentation du lait d'amande. En culture pure, l'acidité est passée de 5 °D à JO à 63 °D à J14, tandis qu'en culture mixte, elle a atteint 71 °D à J14, montrant une activité acidifiante plus marquée. À l'inverse, le témoin a présenté une acidification nettement plus faible (47 °D à J14).

Cette acidification soutenue reflète une intense activité métabolique des souches utilisées contribuant à l'abaissement du pH ce qui est essentiel pour la coagulation, la conservation et la stabilité microbiologique de la boisson fermentée. Ces résultats sont en parfaite concordance avec les données de **(Raja, 2024)**, qui a rapporté une diminution du pH à 4,3 pour la culture pure, 4,1 pour la culture mixte et 4,4 pour le témoin à J14.

Concernant le contrôle microbiologique de la boisson fermentée, les résultats montrent que l'association des souches LAB1 (*Lactobacillus plantarum*) et W2 (*Weissella confusa*) en culture mixte a conduit à une inhibition totale de *Listeria monocytogenes*, avec aucune croissance détectée sur gélose Oxford dès le 7 jours.

En revanche, en culture pure, *L. plantarum* et *W. confusa* ont montré une croissance progressive, atteignant 8,07 log UFC/ml à J14, avant de diminuer légèrement à 7,92 log UFC/ml, probablement en raison de l'accumulation d'acides organiques ayant entraîné une acidification du milieu, défavorable à la croissance bactérienne.

Ces observations corroborent les travaux de **(Raja, 2024)**, qui ont montré que *Listeria monocytogenes* est efficacement éliminée par *Lactobacillus plantarum* et *Weissella confusa* dès les premières étapes de fermentation. Par ailleurs, ces deux souches ont démontré une bonne capacité de croissance en culture pure, avec des populations vont de 7,5 à 8,5 log UFC/ml, confirmant leur potentiel en tant que cultures de départ pour la formulation de boissons fermentées d'origine végétale.

Conclusion

Les BL occupent une place prépondérante dans les industries alimentaire et pharmaceutique en raison de leurs nombreuses applications. Utilisées comme cultures de démarrage, elles jouent un rôle clé dans le processus de fermentation des aliments, ce qui améliore leurs propriétés gustatives, leur texture et leur durée de conservation.

Par ailleurs les BL agissent comme un agent de contrôle biologique, elles empêchent la croissance des micro-organismes nuisibles ce qui garantit la sécurité microbiologique des aliments.

En tant que probiotiques, les BL exercent des effets bénéfiques sur la santé humaine en participant à l'équilibre du microbiote intestinal, et au renforcement de système immunitaire et en facilitant la digestion

Notre étude a permis d'approfondir nos connaissances sur les caractéristiques biotechnologiques et probiotiques des sept souches étudiées (LAB1, LAB2 , LC1 , LC , W1 , W2 , W3) les tests réalisés ont porté sur l'évaluation de plusieurs aptitudes technologiques : Le suivi de l'activité protéolytique, lipolytique, pouvoir texturant (production d'EPS), le potentiel aromatisant ainsi que la capacité à produire des substances antimicrobiennes contre des espèces pathogènes suivantes: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Listeria monocytogenes* . Et la cinétique d'acidification et de la croissance, les capacités d'agrégation et de Co-agrégation, ainsi que la sensibilité aux antibiotiques (l'antibiogramme) ont également été suivies afin de mieux caractériser le potentiel probiotique de ces souches

À travers ces tests il a été confirmé que l'ensemble des souches étudiées présente une bonne aptitude à la production d'acide lactique, cette acidité produite contribue à la coagulation du lait et à la conservation de nombreux produits alimentaires, un pouvoir protéolytique notable a été observé chez toutes les souches, et la souche W2 est distinguée par une production significative d'EPS indiquant un bon potentiel texturant. Par ailleurs, toutes les souches ont démontré une activité antimicrobienne élevée inhibent efficacement plusieurs agents pathogènes tels que : *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Listeria monocytogenes*

Les résultats obtenus montrent que les souches sélectionnées présentent des caractéristiques biotechnologiques intéressantes, notamment dans leur utilisation comme ferments de départ pour la production de boissons végétales fermentées à base de lait d'amande. Cette application, encore peu développée en Algérie, ouvre la voie à de nouvelles perspectives

dans l'industrie agroalimentaire, en particulier dans le domaine des aliments fonctionnels d'origine végétale.

Références bibliographiques

- Ababsa, A. (2018). Recherche de bactériocines produites par les bactéries lactiques du lait
[Thesis, Université Ferhat Abbas]. <http://dspace.univ-setif.dz:8888/jspui/handle/123456789/2127>
- Abbas, R., Chakkour, M., Zein El Dine, H., Obaseki, E. F., Obeid, S. T., Jezzini, A., Ghssein, G., & Ezzeddine, Z. (2024). General Overview of *Klebsiella pneumoniae* : Epidemiology and the Role of Siderophores in Its Pathogenicity. *Biology*, 13(2), 78.
<https://doi.org/10.3390/biology13020078>
- Abdalrahim, S., Abdel-Naser, K., & Manal & El-Dean. (2019). Phenotypic and Genotypic Characterization of Exopolysaccharide Producing Bacteria Isolated from Fermented Fruits, *Vegetables and Dairy Products*.
https://www.researchgate.net/publication/336153421_Phenotypic_and_Genotypic_Characterization_of_Exopolysaccharide_Producing_Bacteria_Isolated_from_Fermented_Fruits_Vegetables_and_Dairy_Products
- Abdel-Rahman, M. A., Tashiro, Y., & Sonomoto, K. (2011). Lactic acid production from lignocellulose-derived sugars using lactic acid bacteria : Overview and limits. *Special issue: IBS 2010 - Industrial Biotechnology*, 156(4), 286-301.
<https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2011.06.017>
- Abdul Hakim, B. N., Xuan, N. J., & Oslan, S. N. H. (2023). A Comprehensive Review of Bioactive Compounds from Lactic Acid Bacteria : Potential Functions as Functional Food in Dietetics and the Food Industry. *Foods (Basel, Switzerland)*, 12(15), 2850.
<https://doi.org/10.3390/foods12152850>
- Abhyankar, P. S., Gunjal, A. B., Kapadnis, B. P., & Ambade, S. V. (2022). Potential of Lactic Acid Bacteria in Plant Growth Promotion. *Bhartiya Krishi Anusandhan Patrika*.
<https://arccjournals.com/journal/bhartiya-krishi-anusandhan-patrika/BKAP374>

- Akpogheli, P. O., Edo, G. I., Ali, A. B. M., Yousif, E., Zainulabdeen, K., Owheru, J. O., Isoje, E. F., Igbuku, U. A., Essaghah, A. E. A., Makia, R. S., Ahmed, D. S., Umar, H., & Alamiery, A. A. (2025). Lactic acid bacteria : Nature, characterization, mode of action, products and applications. *Process Biochemistry*, 152, 1-28.
<https://doi.org/10.1016/j.procbio.2025.02.010>
- Allouache, K., & Smaoun, O. (2017). Caractérisation de souches locales de bactéries lactiques isolées à partir de quelques produits laitiers artisanaux et mise au point d'un produit type « Raib » [*Memoire de Master*]. Université A. MIRA.
- Allouche, F., Hellal, A., & Laraba, A. (2010). Étude de l'activité antimicrobienne des souches de lactobacilles thermophiles utilisées dans l'industrie laitière. *Revue Nature et Technologie, Série B – Biotechnologies*.
- Anuarbekova, S., Bekshin, Z., Shaikhin, S., Alzhanova, G., Sadykov, A., Temirkhanov, A., Sarmurzina, Z., & Kanafin, Y. N. (2024). Exploring the Antimicrobial and Probiotic Potential of Microorganisms Derived from Kazakh Dairy Products. *Microbiology Research*, 15(3), Article 3. <https://doi.org/10.3390/microbiolres15030087>
- Ayed, L., M'hir, S., Nuzzolese, D., Di Cagno, R., & Filannino, P. (2024). Harnessing the Health and Techno-Functional Potential of Lactic Acid Bacteria : A Comprehensive Review. *Foods*, 13(10), Article 10. <https://doi.org/10.3390/foods13101538>
- Badis, A., Laouabdia-sellami, N., Guetarni, D., Kihal, M., & Ouzrout, R. (2005). Caractérisation phénotypique des bactéries lactiques isolées à partir de lait cru de chèvre de deux populations caprines locales « arabia et kabyle ». *Sciences & technologie. C, Biotechnologies*, 23, 30-37.
- Barka, I., & Khakha, H. S. (2021). Etude et caractérisation des bactéries lactiques de S'men élaboré à partir du lait de chamelle [*Memoire de Mater, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie*]. <http://dspace.univ-ouargla.dz/jspui/handle/123456789/29262>

- Belahmar, H. (2022). Cinétique d'acidification et activité protéolytique d'un *Lactobacillus brevis* et application fromagère [*Memoire de Master, Université Abdelhamid*]. <http://e-biblio.univ-mosta.dz/handle/123456789/21753>
- Belhamra, Z. (2018). Croissance et survie des probiotiques en présence des édulcorants et des additifs alimentaires [*Thesis, Université Ferhat Abbas*]. <http://dspace.univ-setif.dz:8888/jspui/handle/123456789/1146>
- Belkheir, K. (2017). Caractérisation technologique de nouvelles souches de bactéries lactiques isolées du lait de chamelle d'Algérie. Réalisation de ferments lactiques [*Thesis, Université Ahmed ben bela*]. <https://dspace.univ-oran1.dz/handle/123456789/2151>
- Belyagoubi, L. (2014). Antibiotiques produits par des bactéries (actinomycètes et bactéries lactiques) issus de différents écosystèmes naturels Algériens [*Thesis, Université Aboubakr Belkaïd*]. <http://dspace1.univ-tlemcen.dz/handle/112/5635>
- Benhouana, I. S. (2019). Recherche et exploitation des exo polysaccharides produits par les bactéries lactique et leur application [*These de doctorat, Université Ahmed Ben Bella - Oran 1*]. <https://www.theses-algerie.com>
- Benyoucef. (2018). Etude Des Propriétés Fonctionnelles Des Bactéries Lactiques Produisant Des Substances Antibactériennes [*université d'Oran 1*]. <https://www.theses-algerie.com>
- Bhola, J., & Bhadekar, R. (2019). Invitro synergistic activity of lactic acid bacteria against multi-drug resistant staphylococci. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 19(1), 70. <https://doi.org/10.1186/s12906-019-2470-3>
- Bouchibane, M. (2023). Identification des bactéries lactiques isolées des produits laitiers artisanaux : Aptitudes technologiques et essais de fabrication d'un lait fermenté [*Thesis, l'Université de Mostaganem*]. <http://e-biblio.univ-mosta.dz/handle/123456789/23274>

- Bouguerra, A. (2021). Evaluation du potentiel probiotique des souches lactiques isolées à partir du lait de chamelle [*Thesis, Université Ferhat Abbas, Sétif 1*].
<http://dSPACE.univ-setif.dz:8888/jspui/handle/123456789/3785>
- Boussouar, N. (2017). Caractérisation technologique et sanitaire des enterocoques isolés à partir de lait de chamelle du sud-ouest algérien [*Thesis, UNIVERSITE ABOUBEKR BELKAID*]. <http://dSPACE1.univ-tlemcen.dz/handle/112/10293>
- Casarott, S., Carneiro, B., Todorov, S., Nero, L., Rahal, P., & Penna, A. (2017). Évaluation in vitro de l'innocuité et des caractéristiques du potentiel probiotique des souches de *Lactobacillus* isolées de *Annales de microbiologie* (67(4), 289-301.).
- Chekhchoukh, M., Souici, N., & Zitouni, A. (2016). Intérêt Technologique Des Bactéries Lactiques Du Lait De Chamelle [*Memoire de Master, Université M'hamed Bougara*].
<https://theses-algerie.com/3116906631598123/non-identifie/universite-m-hamed-bougara---boumerdes/int%C3%A9r%C3%AAt-technologique-des-bact%C3%A9ries-lactiques-du-lait-de-chamelle>
- Chen, N., Zhang, Z., Zhang, M., Liu, J., Yang, M., Zeng, Y., Yang, Z., Sun, T., Lan, H., Hung, W.-L., & Zhang, J. (2025). Accelerating effect of cold-tolerant *Lactiplantibacillus plantarum* on microbial succession, proteolysis, and flavor development during cheddar cheese ripening. *Food Bioscience*, 63, 105785.
<https://doi.org/10.1016/j.fbio.2024.105785>
- Chentouf, H. (2015). Effet Des Substances Antimicrobiennes Produites Par *Leuconostoc Mesenteroides* Isolées À Partir Du Lait De Chamelle Algérien Sur *Listeria Spp.* Dans Les Produits Alimentaires [*Université Ahmed Ben Bella - Oran 1*].
<https://www.theses-algerie.com>
- Cirat, R., Benmechernene, Z., Cunedioğlu, H., Rutigliano, M., Scauro, A., Abderrahmani, K., Mebrouk, K., Capozzi, V., Spano, G., la Gatta, B., Rocchetti, M. T., Fiocco, D., &

- Fragasso, M. (2024). Cross-Over Application of Algerian Dairy Lactic Acid Bacteria for the Design of Plant-Based Products : Characterization of *Weissella cibaria* and *Lactiplantibacillus plantarum* for the Formulation of Quinoa-Based Beverage. *Microorganisms*, 12(10), Article 10. <https://doi.org/10.3390/microorganisms12102042>
- Colombo, M., Todorov, S. D., Carvalho, A. F., & Nero, L. A. (2020). Technological properties of beneficial bacteria from the dairy environment and development of a fermented milk with the beneficial strain *Lactobacillus casei* MRUV6. *The Journal of Dairy Research*, 87(2), 259-262. <https://doi.org/10.1017/S0022029920000308>
- Dempsey, E., & Corr, S. C. (2022). *Lactobacillus* spp. for Gastrointestinal Health : Current and Future Perspectives. *Frontiers in Immunology*, 13, 840245. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.840245>
- Dortu, C., & Thonart, P. (2009). Les bactériocines des bactéries lactiques : Caractéristiques et intérêts pour la bioconservation des produits alimentaires. *BASE*. <https://popups.uliege.be/1780-4507/index.php?id=3626>
- Dribine, A., & Khellal, Y. (2018). Evaluation de l'activité antibactérienne de quelques souches de bactéries lactiques [Thesis, Université de Bouira]. <http://dspace.univ-bouira.dz:8080/jspui/handle/123456789/3022>
- Essayas, A., Pandit, S., & Taneja, P. (2020). Anti-microbial activity of potential probiotic lactic acid bacteria against Methicillin-Resistant *Staphylococcus Aureus* (MRSA) (p. 2020.03.08.982512). *bioRxiv*. <https://doi.org/10.1101/2020.03.08.982512>
- Felis, G., Salvetti, E., & Sandra, T. (2015). Systematics of Lactic Acid Bacteria—Biotechnology of Lactic Acid Bacteria—Wiley Online Library. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/9781118868386.ch2>
- Fguiri, I., Ziadi, M., Karchoufi, R., Arroum, S., & Khorchani, T. (2017). Isolation and Characterization of Lactic Acid Bacteria Strains from Raw Camel Milk for Potential

- Use in the Production of Yogurt. *Food Science & Nutrition*, 3(3), 1-8.
<https://doi.org/10.24966/FSN-1076/100026>
- Gänzle, M. G. (2015). Lactic metabolism revisited : Metabolism of lactic acid bacteria in food fermentations and food spoilage. *Food Microbiology • Functional Foods and Nutrition*, 2, 106-117. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2015.03.001>
- García-Cano, I., Rocha-Mendoza, D., Ortega-Anaya, J., Wang, K., Kosmerl, E., & Jiménez-Flores, R. (2019). Lactic acid bacteria isolated from dairy products as potential producers of lipolytic, proteolytic and antibacterial proteins. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 103(13), 5243-5257. <https://doi.org/10.1007/s00253-019-09844-6>
- Genet, B. M. L., Xiao, H., Christensen, L. F., Laforce, I. N., Mohammadifar, M. A., Bang-Berthelsen, C. H., & Hansen, E. B. (2023). Selection of proteolytic LAB starter cultures for acidification of soy based dairy alternatives. *LWT*, 184(115082).
<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2023.115082>
- González, C. J., Encinas, J. P., García-López, M. L., & Otero, A. (2000). Characterization and identification of lactic acid bacteria from freshwater fishes. *Food Microbiology*, 17(4), 383-391. <https://doi.org/10.1006/fmic.1999.0330>
- Guiraud, J.-P. (2003). Microbiologie alimentaire Catalogue en ligne. Dunod RIA.
https://bibliotheque.ensv.dz/index.php?lvl=notice_display&id=2857
- Hadef. (2011). Évaluation des Aptitudes Technologiques et Probiotiques des Bactéries Lactiques [Memoire de magister, Université Kasdi Merbah].
<https://www.studocu.com/row/document/universite-blida/memoir-fine-detude/evaluation-des-aptitudes-technologiques-et-probiotiques-des-bacteries-lactiques/124391821>
- Hammi, I. (2016). Isolement et caractérisation de bactériocines produites par des souches de bactéries lactiques isolées à partir de produits fermentés marocains et de différentes

- variétés de fromages français [*Phdthesis, Université de Strasbourg ; Université Sidi Mohamed ben Abdellah (Fès, Maroc)*]. <https://theses.hal.science/tel-01508549>
- IDDER, Z. (2014). *Etude du pouvoir acidifiant des bacteries lactiques appartenant au genre leuconostoc [Mémoire de master]*. Université abobaker belkaid.
- Keerthini, S., Kapilan, R., & Vasantharuba, S. (2017). *Isolation and Characterization of Potential Bacteriocin Producing Lactic Acid Bacteria From Fermented Food Products*. Research Square. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-815679/v1>
- Kerry, R. G., Patra, J. K., Gouda, S., Park, Y., Shin, H.-S., & Das, G. (2018). Benefaction of probiotics for human health : A review. *Journal of Food and Drug Analysis*, 26(3), 927-939. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2018.01.002>
- Li, J., Chen, X., Xie, Z., Liang, L., Li, A., Zhao, C., Wen, Y., & Lou, Z. (2023). Screening and Metabolomic Analysis of Lactic Acid Bacteria-Antagonizing *Pseudomonas aeruginosa*. *Foods*, 12(14), Article 14. <https://doi.org/10.3390/foods12142799>
- Lim, Y. H., Foo, H. L., Loh, T. C., Mohamad, R., & Abdullah, N. (2019). Comparative studies of versatile extracellular proteolytic activities of lactic acid bacteria and their potential for extracellular amino acid productions as feed supplements. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 10, 15. <https://doi.org/10.1186/s40104-019-0323-z>
- Mami, A., Eddine, H. J., & Mebrouk, K. (2008). *Antimicrobial Activity of Lactobacillus Species Isolated from Algerian Raw Goat's Milk Against Staphylococcus aureus*.
- Man, L.-L., & Xiang, D.-J. (2023). Effect of LuxS/AI-2-mediated quorum sensing system on bacteriocin production of *Lactobacillus plantarum* NMD-17. *Folia Microbiologica*, 68(6), 855-866. <https://doi.org/10.1007/s12223-023-01060-0>
- Manyi-Loh, C. E., & Lues, R. (2025). *Listeria monocytogenes* and Listeriosis : The Global Enigma. *Foods*, 14(7), Article 7. <https://doi.org/10.3390/foods14071266>

- Mathur, H., Beresford, T. P., & Cotter, P. D. (2020). Health Benefits of Lactic Acid Bacteria (LAB) Fermentates. *Nutrients*, 12(6), 1679. <https://doi.org/10.3390/nu12061679>
- Menad, N. (2017). *Effet antagoniste des bactéries lactiques isolées à partir du lait de vache vis à vis de salmonella SP*. [Université Abdelhamid Ibn Badis].
<https://www.ccdz.cerist.dz/admin/notice.php?id=00000000000000839567000891>
- Meng, L., Li, S., Liu, G., Fan, X., Qiao, Y., Zhang, A., Lin, Y., Zhao, X., Huang, K., & Feng, Z. (2021). The nutrient requirements of *Lactobacillus acidophilus* LA-5 and their application to fermented milk. *Journal of Dairy Science*, 104(1), 138-150.
<https://doi.org/10.3168/jds.2020-18953>
- Mokdad, F. H. (2020). *Influence des leuconostocs produisant des bactériocines sur les caractéristiques industrielles des produits laitiers [en ligne]* [These de doctorat]. Université Ahmed Ben Bella.
- Mukisa, I. M., Byaruhanga, Y. B., Muyanja, C. M. B. K., Langsrud, T., & Narvhus, J. A. (2016). Production of organic flavor compounds by dominant lactic acid bacteria and yeasts from Obushera, a traditional sorghum malt fermented beverage. *Food Science & Nutrition*, 5(3), 702-712. <https://doi.org/10.1002/fsn3.450>
- Nicosia, F. D., Pino, A., Maciel, G. L. R., Sanfilippo, R. R., Caggia, C., de Carvalho, A. F., & Randazzo, C. L. (2023). Technological Characterization of Lactic Acid Bacteria Strains for Potential Use in Cheese Manufacture. *Foods*, 12(6), Article 6.
<https://doi.org/10.3390/foods12061154>
- Ogunbanwo, S. T., Sanni, A. I., & Onilude, A. A. (2003). Characterization of bacteriocin produced by *Lactobacillus plantarum* F1 and *Lactobacillus brevis* OG1. *African Journal of Biotechnology*, 2(8), 219-227. <https://doi.org/10.5897/AJB2003.000-1045>

- Pakbin, B., Brück, W. M., & Rossen, J. W. A. (2021). Virulence Factors of Enteric Pathogenic *Escherichia coli* : A Review. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(18), 9922. <https://doi.org/10.3390/ijms22189922>
- 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., & Kok, J. (2016). Stress Physiology of Lactic Acid Bacteria. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*: *MMBR*, 80(3), 837-890. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00076-15>
- Peng, K., Koubaa, M., Bals, O., & Vorobiev, E. (2020). Recent insights in the impact of emerging technologies on lactic acid bacteria : A review. *Food Research International*, 137, 109544. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109544>
- Pot, B., & Tsakalidou, E. (2009). Taxonomy and metabolism of *Lactobacillus*. *ResearchGate*. https://www.researchgate.net/publication/270451581_Taxonomy_and_metabolism_of_Lactobacillus
- Qin, S., Xiao, W., Zhou, C., Pu, Q., Deng, X., Lan, L., Liang, H., Song, X., & Wu, M. (2022). *Pseudomonas aeruginosa* : Pathogenesis, virulence factors, antibiotic resistance, interaction with host, technology advances and emerging therapeutics. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 7(1), 199. <https://doi.org/10.1038/s41392-022-01056-1>
- Rasquel-Oliveira, F. S., Ribeiro, J. M., Martelossi-Cebinelli, G., Costa, F. B., Nakazato, G., Casagrande, R., & Verri, W. A. (2025). *Staphylococcus aureus* in Inflammation and Pain : Update on Pathologic Mechanisms. *Pathogens*, 14(2), Article 2. <https://doi.org/10.3390/pathogens14020185>

- Ryu, E. H., & Chang, H. C. (2013). In vitro study of potentially probiotic lactic acid bacteria strains isolated from kimchi. *Annals of Microbiology*, 63(4), Article 4.
<https://doi.org/10.1007/s13213-013-0599-8>
- Saidi, Y. (2020). Biodiversité de la microflore lactique du lait cru de dromadaire et évaluation de ses caractères technologique [Thèse de doctorat, Université d'Oran Ahmed ben bela]. <https://dspace.univ-oran1.dz/handle/123456789/3478>
- Salminen, S., & Gueimonde, M. (2004). Human Studies on Probiotics : What Is Scientifically Proven. *Journal of Food Science*, 69(5), M137-M140. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2004.tb10723.x>
- Selmi, H., Rocchetti, M. T., Capozzi, V., Semedo-Lemsaddek, T., Fiocco, D., Spano, G., & Abidi, F. (2023). Lactiplantibacillus plantarum from Unexplored Tunisian Ecological Niches : Antimicrobial Potential, Probiotic and Food Applications. *Microorganisms*, 11(11), Article 11. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11112679>
- Silva, L. F., Sunakozawa, T. N., Monteiro, D. A., Casella, T., Conti, A. C., Todorov, S. D., & Barretto Penna, A. L. (2023). Potential of Cheese-Associated Lactic Acid Bacteria to Metabolize Citrate and Produce Organic Acids and Acetoin. *Metabolites*, 13(11), 1134. <https://doi.org/10.3390/metabo13111134>
- Slamnia, I., & Saddok, A. Z. (2018). *Aptitudes technologiques des souches lactiques locales. Mémoire de master en science alimentaire* [Memoire de Master]. Université Abdelhamid Ibn Badis.
- Šušković, J., Kos, B., Beganović, J., Leboš Pavunc, A., Habjanič, K., & Matošić, S. (2010). Antimicrobial Activity – The Most Important Property of Probiotic and Starter Lactic Acid Bacteria. *Food Technology and Biotechnology*, 48(3), 296-307.

- Tahlaiti, H. (2019). *Etude des propriétés technologiques et inhibitrices de bactéries lactiques isolées à partir de blé fermenté [Thesis, Université de Abdelhamid Ibn Badis]*. <http://e-biblio.univ-mosta.dz/handle/123456789/13521>
- Tang, H., Huang, W., & Yao, Y.-F. (2023). The metabolites of lactic acid bacteria : Classification, biosynthesis and modulation of gut microbiota. *Microbial Cell (Graz, Austria)*, 10(3), 49-62. <https://doi.org/10.15698/mic2023.03.792>
- Teso-Pérez, C., López-Gazcón, A., Peralta-Sánchez, J. M., Martínez-Bueno, M., Valdivia, E., Fárez-Vidal, M. E., & Martín-Platero, A. M. (2025). Bacteriocin-Producing Enterococci Modulate Cheese Microbial Diversity. *Microbial Ecology*, 87(1), 175. <https://doi.org/10.1007/s00248-025-02491-7>
- Vandenberg, D., Smits, A., Pot, B., Ledeboer, A., Kersters, K., Verbakel, J., & Verrips, C. (1993). Isolation, screening and identification of lactic-acid bacteria from traditional food fermentation processes and culture collections. *Food biotechnology*, 7(3), Article 3.
- Wang, Y., Wu, J., Lv, M., Shao, Z., Hungwe, M., Wang, J., Bai, X., Xie, J., Wang, Y., & Geng, W. (2021a). Metabolism Characteristics of Lactic Acid Bacteria and the Expanding Applications in Food Industry. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 9, 612285. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.612285>
- Wang, Y., Wu, J., Lv, M., Shao, Z., Hungwe, M., Wang, J., Bai, X., Xie, J., Wang, Y., & Geng, W. (2021b). Metabolism Characteristics of Lactic Acid Bacteria and the Expanding Applications in Food Industry. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 9, 612285. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.612285>
- Xiong, T., Xie, M., & Bu, D. (2017). Production améliorée d'acétoïne et de 2,3-butanediol par *Lactococcus lactis* métaboliquement modifié. *Frontiers in microbiology*.

- Xu, J., Wang, Z., Shi, Z., Liu, M., Fan, X., Zhang, T., Wu, Z., Zhu, M., Tu, M., & Pan, D. (2025). Detection and development of lactic acid bacteria bacteriocins—A hint on the screening of bacteriocins of lactic acid bacteria. *LWT*, 222, 117627. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2025.117627>
- Yelnetty, A., Purnomo, H., Purwadi, & Mirah, A. (2014). Biochemical Characteristics of Lactic Acid Bacteria with Proteolytic Activity and Capability as Starter Culture Isolated From Spontaneous Fermented Local Goat Milk. *Journal of Natural Sciences Research*, 4(10), 137.
- Zambonelli, C., Chiavari, C., Benevelli, M., & Coloretti, F. (2002). Effects of Lactic Acid Bacteria Autolysis on Sensorial Characteristics of Fermented Foods. *Food Technology and Biotechnology*, 40(4), 347-351.
- Zhang, K., Liu, S., Liang, S., Xiang, F., Wang, X., Lian, H., Li, B., & Liu, F. (2024). Exopolysaccharides of lactic acid bacteria : Structure, biological activity, structure-activity relationship, and application in the food industry : A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 257, 128733. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.128733>
- Zhao, X., & Liang, Q. (2022). EPS-Producing *Lactobacillus plantarum* MC5 as a Compound Starter Improves Rheology, Texture, and Antioxidant Activity of Yogurt during Storage. *Foods*, 11(11), Article 11. <https://doi.org/10.3390/foods11111660>
- Zuo, F. L., Feng, X. J., Chen, L. L., & Chen, S. W. (2014). Identification and partial characterization of lactic acid bacteria isolated from traditional dairy products produced by herders in the western Tianshan Mountains of China. *Letters in Applied Microbiology*, 59(5), 549-556. <https://doi.org/10.1111/lam.12313>

Annexes

Annexe 1 : matérielle étudier dans cette étude

I. Matériel

I.1 Milieux de culture (Voir l'annexe ...)

Plusieurs milieux de culture ont été utilisés au cours de cette étude expérimentale, il s'agit des milieux suivants :

- Géloses : MRS, PCA, GN, gélose au sang, MH
- Bouillons : MRS liquide, BN, Clark et Lubs, lait écrémé ,oxford

I.2.Produits chimiques et réactifs :

- Colorants:Violet de Gentiane, fuschine, cristal violet, , Phénolphtaléine,
- Les réactifs : réactifs de Vogues Proskauer (VPI et VPII),
- Sucres (glucose)
- Tween 80, d'huile d'olive, H₂O
- huile d'immersion

Solution utiliser : eau physiologique, eau distillée

Appareillage :

- Étuve bactériologique (WISVEN).
- Bain-marie (MEMMET).
- Réfrigérateur (Condor).
- Autoclave (WISCLAVE).
- Vortex (VELP).
- Balance de précision (KEREN).
- Balance électrique (KEREN).
- Microscope optique (ZEISS).
- Agitateur muni d'une plaque chauffante (VWR).

Autres matériels :

- Bec-benzène.
- Boîtes de Pétri.
- Tubes à essai.
- Lames.
- Lamelles.
- Anse de platine.
- Pipettes Pasteur.
- Portoirs.

- Flacons stériles.
- Papier parafilm

Annexe 2: composition des milieux de culture :

➤ Tableau 01 : Composition du bouillon nutritif

Composants	Quantité
Extrait de viande	5g
Peptone	10g
Chlorure de sodium	5g
Eau distillée	1000ml
pH final	7.2
Autoclavage 120°C pendant 20 min	

➤ Tableau 02 : Composition du bouillon MRS.

Composants	Quantité
Acétate de sodium	5g
Eau distillée	1000ml
Extrait de levure	5g
Extrait de viande	10g
Glucose	20g
Phosphate bi potassique	2g
Peptone	10g
Citrate d'ammonium	2g
Sulfate de magnésium	0.2g
Sulfate de manganèse	0.05g
Tween20	1ml
pH final	6.5+/-0.1
Autoclavage 120°C pendant 20 min	

➤ 03: Composition du milieu MRS

-27,5 g dans 500 ml PH=6,8, autoclavage 20 min à 121°C

➤ **Tableau 04:** Composition du milieu Mueller Hinton.

Composants	Quantité
Agar	10
Amidon	1.5
Extrait de viande	2g
Hydrolysant acide de caséine	17.5
pH final	7.4
Autoclavage 120°C pendant 20 min	

➤ **Tableau 05:** Composition du milieu clark et Lubs

Composants	Quantité
- Peptone tryptique ou poly peptone	5-7 g
Glucose	5 g
Phosphate dipotassique	5g
pH final	7
Autoclavage 120°C pendant 20 min	

➤ **Tableau 06:** Composition du milieu PCA

Composants	Quantité
- Peptone de caséine	5 g
Extrait de levure	2,5 g
Glucose	1 g
Agar	15 g
pH final	7
Autoclavage 120°C pendant 20 min	

Annexe 3: photos des appareils utiliser dans cette étude



Annexe 4: coloration de Gram

Technique de la coloration de Gram

- Sur une lame propre, on dépose une goutte d'eau physiologique, puis on réalise une suspension bactérienne à partir d'une culture pure, en étalant les bactéries en une couche fine.
- On laisse sécher le frottis à l'air libre, puis on le fixe en passant rapidement la lame dans la flamme d'un bec Bunsen. Cette étape permet de tuer les bactéries, de conserver leur structure cytologique et de les fixer à la surface de la lame.
- Ensuite, on applique quelques gouttes de violet de gentiane sur le frottis et on laisse agir pendant une minute avant de rincer à l'eau.
- On ajoute ensuite quelques gouttes de Lugol, qui agit comme mordant, et on laisse agir entre 30 secondes et une minute, puis on rince à nouveau.
- On procède à la décoloration en versant délicatement quelques gouttes d'alcool tout en inclinant la lame, pendant 20 à 30 secondes. On rince ensuite abondamment à l'eau pour arrêter la décoloration.
- On applique ensuite quelques gouttes de fuchsine, qu'on laisse agir entre 30 secondes et une minute, puis on rince doucement à l'eau distillée.
- On sèche ensuite la lame à l'aide d'une platine chauffante réglée à 50 °C.
- Enfin, une fois le frottis bien sec, on observe l'échantillon au microscope, en déposant une goutte d'huile à immersion, avec l'objectif $\times 100$.

République Algérienne Démocratique Et Populaire
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique

Université Saad Dahleb de Blida



Faculté des sciences de la nature et de la vie

Département de Biologie

Mémoire du master

Spécialité : microbiologie

**Etude des caractéristiques biotechnologiques de bactéries
lactiques isolées à partir de produits laitiers algériens**

Présente par :

SEBAI Imene

FARI Leila



Date de soutenance :

08/07/2025

Devant le jury composé de :

Mme, KADRI. F

MCA/USDB

Présidente

Mme, AIT SAADI. N

MCA/USDB

Examinatrice

Mme, BENHOUNA. I

MCB/USDB

Promotrice

Année universitaire : 2024 / 2025

Mme Ait Saadi
[Signature]