

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université de Blida 1



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie « SNV »

Département Agro-alimentaire

Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention Du diplôme de Master en

Spécialité : Nutrition et Diététique Humaine « NDH »

Filière : Sciences Agro-alimentaire

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Thème

**Etude des caractères biochimiques et physiologiques
des Lactobacilles isolés à partir du lait caillé et
valorisation de leurs aptitudes technologiques**

Présenté par :

Mlle IAICHE ACHOUR Leila

Devant le jury :

- Mr **OUSSADOU L** Maitre de conférence B USDB1 Président
- Mme **METIDJI H** Maitre de conférence B USDB1 Examinatrice
- Mme **BOULKOUR S** Maitre de conférence B USDB1 Promotrice

Année universitaire : 2019-2020

Remerciement

Avant tout, je remercie Allah le tout puissant de m'avoir donné la force et le courage ainsi que la patience pour réaliser ce modeste travail.

*Je tiens à remercier Madame **BOULKOUR S**, pour m'avoir dirigé dans ce travail, pour la qualité de son encadrement et ses fructueux conseils, pour son extrême gentillesse, sa disponibilité, son aide et son accueil, toujours aussi agréable, Qu'elle accepte le témoignage de ma profonde gratitude.*

*J'exprime également mes vifs remerciements à Mr **OUSSADOU L** et Mme **METIDJI H** d'avoir accepté d'être membres de ce jury et d'avoir accepté d'évaluer ce travail.*

Je remercie également tous mes enseignants depuis ma première année à l'université jusqu'à ce jour-là, vraiment merci à vous beaucoup sans exception.

Enfin, je remercie tous ceux et celles qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce modeste travail, trouvent ainsi l'expression de mes profonde gratitude et respects.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à,

Ma chère mère

Mon cher père

Mes sœurs

Mes frères

Ma famille

Mes amies

RESUME

L'utilisation des bactéries lactiques dans le domaine alimentaire est connue depuis l'antiquité en raison de sa capacité à effectuer le processus de fermentation.

Les lactobacilles sont classés parmi les bactéries les plus importantes qui sont employées dans plusieurs industries alimentaires, en particulier dans la fermentation du lait et des produits laitiers.

Cette étude rétrospective vise à isoler les lactobacilles à partir d'un lait fermenté (lait caillé) et tester les caractères biochimiques (test de la catalase, type fermentaire, fermentation des sucres) et physiologiques (croissance à différentes températures, pH, NaCl) des différentes souches appartenant à ce genre, puis évaluer leurs aptitudes technologiques (pouvoir acidifiant, protéolytique, lipolytique, aromatisant, texturant, antibactérien), afin de déterminer les espèces des lactobacilles prometteuses et performantes en terme de capacité technologique qui intéresse le domaine industriel.

A cause de la pandémie Covid-19, la partie expérimentale n'était pas réalisé, donc, les résultats apportés dans ce travail ont été tirés d'autres études qui ont traités le même thème.

Les résultats des tests biochimiques ont montré que les lactobacilles possèdent une catalase négative, capables de fermenté une large gamme des sucres et ils peuvent être homofermentaires ou hétérofermentaires selon l'espèce.

Cependant, les résultats des tests physiologiques ont montré que les lactobacilles possèdent une résistance très importante vis-à-vis les conditions hostiles (T°C, pH, NaCl).

Ainsi, les résultats des aptitudes technologiques suggèrent que les paramètres étudiés varient selon l'espèce, mais en générale les lactobacilles possèdent un pouvoir acidifiant et protéolytique bien prononcer, un pouvoir lipolytique faible, un pouvoir aromatisant et texturant très important et un bon pouvoir antibactérien, qui est actif sur la majorité des bactéries pathogènes.

Mots clés : Lait caillé, Lactobacilles, Caractères physiologiques, Caractères biochimiques, Aptitudes technologiques.

ABSTRACT

The use of lactic bacteria in the food field is common and known from ancient times due to its ability to perform the fermentation process.

Lactobacilli are one of the most important lactic bacteria that are employed in several food industries, especially milk and dairy products.

This retrospective study aims to isolate lactobacilli from fermented milk with testing the biochemical (catalase test, fermentative type, fermentation of sugars) and physiological (growth in different temperatures, pH, NaCl) characteristics of different species of Lactobacilli, then assessing their technological capabilities (acidifying, proteolytic, lipolytic, flavoring, texturing and antibacterial power) and thus determining which of the lactobacillus species have the best performance in terms of technological capabilities that interest the industrial field.

Because of the Covid-19 pandemic, the experimental section was not done, so the results shown in this work were brought from other studies that worked on the same subject.

The results of biochemical tests revealed that lactobacilli have a negative catalase, they are capable of fermenting a wide range of sugars and they can be (homofermenting or heterofermenting) depending on the species.

However, the results of physiological tests revealed that lactobacilli have a high resistance for hostile conditions (T°, pH, NaCl).

Plus, the results of technological capacities suggest that the studied parameters depend on the species, but in general, lactobacilli have a well pronounced acidifying and proteolytic power, a low lipolytic power, a very important flavoring and texturing power and a good antibacterial power that is active on the majority of pathogenic bacteria.

Key words: fermented milk, Lactobacilli, physiological and biochemical characteristics, technological capabilities.

ملخص

استخدام البكتيريا اللبنية في المجال الغذائي هو أمر شائع ومعروف منذ القدم، نظرا لقدرتها على القيام بعملية التخمر.

تعتبر العصيات اللبنية من اهم الانواع البكتيرية التي يتم توظيفها في عدة صناعات غذائية وخاصة صناعة الحليب ومشتقاته.

تهدف هذه الدراسة المرجعية الى عزل العصيات اللبنية من الحليب المخمر (رائب) و اختبار الخصائص البيوكيماوية (اختبار الكاتالاز، نوع التخمر، هدم السكريات) و الفيزيولوجية (النمو في درجات مختلفة من الحرارة، الحموضة ، الملوحة) لمختلف فصائل هذا النوع بالإضافة إلى تقييم قدراتها التكنولوجية (القدرة على التخمير، هدم البروتين، هدم الدهون، القدرة العطرية و القوامية، القدرة المضادة للبكتيريا)، و بالتالي تحديد فصائل هذا النوع البكتيري التي تحوز على افضل الخصائص و تتمتع بأفضل اداء فيما يخص القدرات التكنولوجية التي تثير اهتمام الجانب الصناعي.

بسبب جائحة كوفيد-19 لم يتم القيام بالقسم التجريبي من هذه الدراسة ، لذلك تم اخذ النتائج المذكورة في هذا العمل من اعمال اخرى عالجت نفس الموضوع.

اظهرت نتائج الاختبارات البيوكيماوية ان العصيات اللبنية تحوز على كاتالاز سالب، قدرة على هدم مجموعة واسعة من السكريات كما يمكن ان تكون متماثلة او متخالفة التخمر بحسب الفصيلة.

اظهرت نتائج الاختبارات الفيزيولوجية ان العصيات اللبنية تتمتع بقدرة عالية في مقاومة الظروف القاسية (الحرارة، الحموضة، الملوحة)

كما اظهرت نتائج القدرات التكنولوجية ان المؤشرات المدروسة تختلف حسب الفصيلة ،على العموم، تتمتع العصيات اللبنية بقدرة عالية على التخمير وهدم البروتين، قدرة هدم دهون ضعيفة، قدرة عطرية و قوامية مهمة جدا بالإضافة الى مقدرة جيدة في حطر اغلبية البكتيريا الضارة.

الكلمات المفتاحية : حليب مخمر، العصيات اللبنية، خصائص فيزيولوجية و بيوكيماوية، قدرات تكنولوجية.

SOMMAIRE

RESUME	IV
ABSTRACT	V
ملخص	VI
SOMMAIRE	VII
LISTE DES TABLEAUX.....	IX
LISTE DES FIGURES	X
LISTE DES ABREVIATIONS.....	XI
INTRODUCTION.....	12
I SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE	13
I.1 LE LAIT.....	14
I.1.1 Définition du lait.....	14
I.1.2 Composition du lait	14
I.1.3 1.3 Caractéristiques physico-chimiques du lait.....	14
I.1.4 Microflore lactique du lait	15
I.1.5 Laits fermentés.....	15
I.1.5.1 Les différents types des laits fermentés.....	15
I.1.5.2 Lait caillé	15
I.2 LES BACTÉRIES LACTIQUES.....	16
I.2.1 Définition des bactéries lactiques	16
I.2.2 Les principaux genres des bactéries lactiques	17
I.2.3 La fermentation chez les bactéries lactiques (métabolisme des glucides).....	19
I.3 LES LACTOBACILLES	19
I.3.1 Définition des lactobacilles	19
I.3.2 Caractères physiologiques et biochimiques des Lactobacilles.....	21
I.3.3 Identification des Lactobacilles.....	21
I.3.4 Les aptitudes technologiques des Lactobacilles.....	21
I.3.4.1 Pouvoir acidifiant.....	21
I.3.4.2 Pouvoir protéolytique	22
I.3.4.3 Pouvoir lipolytique	22
I.3.4.4 Pouvoir aromatisant (production d'acétoïne).....	22
I.3.4.5 Pouvoir texturant (production des exopolysaccharides).....	22
I.3.4.6 Pouvoir antibactérien.....	23
I.3.5 Les lactobacilles et l'industrie	23
I.3.6 Les lactobacilles et la santé	23
II MATÉRIEL ET MÉTHODES	25
II.1 OBJECTIFS DE L'ÉTUDE	26
II.2 MATÉRIEL.....	26
II.2.1 Matériel biologique	26
II.2.2 Matériel non biologique	26
II.3 MÉTHODES.....	26
II.3.1 Isolement et purification.....	26
II.3.2 3.2 Conservation des souches	28
II.3.2.1 Conservation à court terme	28

II.3.2.2	Conservation à long terme.....	28
II.3.3	Examens macroscopiques et microscopiques.....	28
II.3.3.1	Aspect macroscopique	28
II.3.3.2	Aspect microscopique	28
II.3.4	Caractères biochimiques.....	28
II.3.4.1	Recherche de la Catalase	28
II.3.4.2	Recherche de type fermentaire (production de gaz).....	29
II.3.4.3	Test de fermentation des sucres.....	29
II.3.5	Caractères physiologiques.....	29
II.3.5.1	Test de croissance à différentes températures.....	29
II.3.5.2	Test de croissance à différents pH.....	30
II.3.5.3	Croissance à différentes concentrations de NaCl	30
II.3.6	Aptitudes technologiques.....	31
II.3.6.1	Test de pouvoir acidifiant.....	31
II.3.6.2	Test de pouvoir protéolytique	32
II.3.6.3	Test de pouvoir lipolytique	32
II.3.6.4	Test de pouvoir aromatisant (production d'acétoine).....	33
II.3.6.5	Test de pouvoir texturant : (production des exopolysaccharides).....	34
II.3.6.6	Test de pouvoir antibactérien.....	34
III	RESULTATS ET DISCUSSION	37
III.1	RESULTATS DES EXAMENS MACROSCOPIQUES ET MICROSCOPIQUES	38
III.1.1	Aspect macroscopique	38
III.1.1.1	Sur milieu solide	38
III.1.1.2	Sur milieu liquide.....	39
III.1.2	Aspect microscopique.....	39
III.2	RESULTATS DES CARACTERES BIOCHIMIQUES	40
III.2.1	Résultat de la catalase	40
III.2.2	Résultat de type fermentaire (production de gaz).....	40
III.2.3	Résultat de fermentation des sucres.....	42
III.3	RESULTATS DES CARACTERES PHYSIOLOGIQUES	42
III.3.1	Résultat de la croissance à différentes températures.....	42
III.3.2	Résultat de la croissance à différents pH	42
III.3.3	Résultat de la croissance à différents concentrations d'NaCl	43
III.4	RESULTATS DES APTITUDES TECHNOLOGIQUES	44
III.4.1	Résultat de pouvoir acidifiant.....	44
III.4.2	Résultat de pouvoir protéolytique	45
III.4.3	Résultat de pouvoir lipolytique	45
III.4.4	Résultat de pouvoir aromatisant (production d'acétoine).....	46
III.4.5	Résultat de pouvoir texturant.....	47
III.4.6	Résultat de pouvoir antibactérien	47
	CONCLUSION	50
	REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	52
	ANNEXES.....	59

LISTE DES TABLEAUX

TABLEAU 1 : COMPOSITION DU LAIT (VIGNOLA, 2002).	14
TABLEAU 2 : LES CARACTERISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES DU LAIT (BOURGEOIS ET AL., 1990).....	14
TABLEAU 3 : LES PRINCIPAUX GENRES DES BACTERIES LACTIQUES (FEDERIGHI ET AL., 2005).....	18
TABLEAU 4 : EFFETS BENEFIQUES DES LACTOBACILLES PROBIOTIQUES SUR LA SANTE HUMAINE (FAO/OMS, 2001; WGO, 2008).	24

LISTE DES FIGURES

FIGURE 1 : (A) FORME COCCI, (B) FORME BACILLE DES BACTERIES LACTIQUES OBSERVE AU MICROSCOPE ELECTRONIQUE A TRANSMISSION (MAKHOULFI, 2012).	16
FIGURE 2 : VOIES HOMOFERMENTAIRE, HETEROFERMENTAIRES ET BIFIDE DE LA DEGRADATION DU GLUCOSE CHEZ LES BACTERIES LACTIQUES (DRIDER ET PREVOST, 2009).....	19
FIGURE 3 : CONTRASTE DE PHASE (A-E) ET D'ELECTRONS (F) DES MICROGRAPHIES MONTRANT LA DIFFERENCE DE MORPHOLOGIE DES CELLULES DE LACTOBACILLES (DE VOS ET AL., 2009).....	20
FIGURE 4 : ISOLEMENT ET PURIFICATION DES LACTOBACILLES.	27
FIGURE 5 : RECHERCHE DE CROISSANCE A DIFFERENTES TEMPERATURES.	30
FIGURE 6 : RECHERCHE DE CROISSANCE A DIFFERENTES CONCENTRATIONS DE NaCl.....	31
FIGURE 7 : RECHERCHE D'ACTIVITE LIPOLYTIQUE.	33
FIGURE 8 : RECHERCHE D'ACTIVITE AROMATISANTE (PRODUCTION D'ACETOINE).....	34
FIGURE 9 : RECHERCHE D'ACTIVITE ANTIBACTERIENNE.....	36
FIGURE 10 : ASPECT DES LACTOBACILLES PURES SUR MILIEU SOLIDE (BRAHIMI, 2015).	38
FIGURE 11 : ASPECT MACROSCOPIQUE DES COLONIES DES LACTOBACILLES (MEHHADI ET BELKEDIEM, 2019).	38
FIGURE 12 : ASPECT DES LACTOBACILLES PURES SUR MILIEU LIQUIDE (HAMED, 2009).	39
FIGURE 13 : ASPECT MICROSCOPIQUE DES LACTOBACILLES APRES COLORATION DE GRAM (GROSSISSEMENT (x100)) (BAHRI, 2014).	40
FIGURE 14 : RESULTAT DE CATALASE (POSITIVE EN HAUT ET NEGATIVE EN BAS) (HTTP//WWW.MICROBIOLOGYINFO.COM)	40
FIGURE 15 : RESULTAT DE TYPE FERMENTAIRE DES LACTOBACILLES (TYPE HOMOFERMENTAIRE) (BAHRI, 2014).....	41
FIGURE 16 : RESULTAT DE FERMENTATION DES SUCRES (E ECHANTILLON, T TEMOIN) (BENNAI ET TEMINE, 2017).	42
FIGURE 17 : RESULTAT DE CROISSANCE A DIFFERENTS PH (4.6 A DROITE ET 9.6 A GAUCHE) (BRAHIMI, 2015).....	43
FIGURE 18 : ÉVOLUTION DE LA VARIATION DU PH DURANT LES SIX PREMIERS HEURS DES ISOLATS DU GENRE LACTOBACILLUS (LAIRINI, 2014).	44
FIGURE 19 : RESULTATS D'ACTIVITE PROTEOLYTIQUE DES LACTOBACILLES (BOULOUF, 2016).	45
FIGURE 20 : RESULTAT D'ACTIVITE LIPOLYTIQUE DES LACTOBACILLES (BRAHIMI, 2015).	46
FIGURE 21 : RESULTAT DE PRODUCTION D'ACETOINE PAR LES LACTOBACILLES (BOULOUF, 2016).....	46
FIGURE 22 : RESULTATS DE PRODUCTION DES EXOPOLYSACCHARIDES (COLONIES LARGES ET GLUANTES) (CHEKHCKOUKH ET AL., 2016).	47
FIGURE 23 : RESULTAT D'ACTIVITE ANTIBACTERIENNE (BRAHIMI, 2015).	48

LISTE DES ABREVIATIONS

ABREVIATION	SIGNIFICATION
ADN	ACIDE DESOXYRIBONUCLEIQUE
ADNR	ACIDE DESOXYRIBONUCLEIQUE RIBOSOMIQUE
°C	DEGRE CELSIUS
CO₂	DIOXYDE DE CARBONE
°D	DEGRE DORNIC
EPS	EXOPOLYSACCHARIDES
FAO	FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION
(G/C)	GUANINE / CYTOSINE
LAB	LACTIC BACTERIA
LB	LACTOBACILLUS
MRS	MAN, ROGOSA, SHARPE
N	NORMALITE
O₂	DIOXYGENE
OMS	ORGANISATION MONDIALE DE LA SANTE
pH	POTENTIEL HYDROGENE
UFC	UNITE FORMANT COLONIE
V	VOLUME
VP	VOGES – PROSKAUER
WGO	WORLD GASTROLOGY ORGANIZATION

INTRODUCTION

L'industrie laitière a connu des développements très importants dans le monde entier vis-à-vis les technologies de fabrication grâce à l'implication de différents microorganismes bénéfiques, tels que les bactéries lactiques qui contribuent à une production accrue et donc satisfaire les besoins des consommateurs.

L'Algérie est un pays de tradition laitière, le lait et les produits laitiers occupent une place prépondérante dans la ration alimentaire des algériens, ils apportent la plus grosse part de protéines d'origine animale. En regard de son contenu en énergie métabolisable, le lait présent une forte concentration en nutriments (**Temmar, 2007**).

Depuis l'antiquité, les bactéries lactiques ont été utilisées pour la fabrication et la conservation des aliments. La découverte de leurs actions sur le lait fut probablement accidentelle mais leur utilisation fut perpétuée sous formes de levains naturels (**Chammas et al. 2006 ; Zamfir et al. 2006**).

De nos jours, les bactéries lactiques représentent le deuxième plus grand marché de production en biomasse après les levures, principalement utilisés lors d'applications dans l'industrie alimentaire comme la fabrication des fromages, des laits fermentés, de certains légumes et produits carnés fermentés et de certains vins, elles interviennent aussi dans l'industrie chimique pour la production d'acide lactique et de biopolymères (**Streit, 2008**).

La microflore microbienne du lait cru composée essentiellement de bactéries lactiques, participe de façon importante de l'élaboration des caractéristiques organoleptiques des produits laitiers fermentés (lait fermenté, fromage) (**Rehman et al. 2000**).

Dans la plupart des procédés industriels de transformation du lait, les bactéries lactiques qui sont détruites lors de la pasteurisation doivent être réintroduites par des ferments composés de souches sélectionnées. Ces derniers doivent présenter plusieurs propriétés technologiques et organoleptiques tels que, la dégradation des protéines et des lipides, la production des exopolysaccharides, des acides organiques et des composés aromatiques.

L'un des défis le plus important de l'industrie laitière, est de choisir les espèces et les souches bactériennes les mieux adaptés aux fonctions qui leurs sont impartis des laits par fermentation (**Hassaine, 2013**).

Dans ce contexte, nous avons orienté notre travail dans le but de déterminer les espèces des lactobacilles prometteuses et performantes en termes des capacités technologiques qui intéressent le domaine industriel. Cette présente étude consiste dans le premier temps, à isoler des lactobacilles à partir de lait caillé de vache, puis réaliser des tests biochimiques (test de catalase, test de type fermentaire, fermentation des sucres), physiologiques (croissance à différentes températures, pH, et différentes concentrations de NaCl) et valoriser ses aptitudes technologiques (pouvoir acidifiant, pouvoir protéolytique, pouvoir lipolytique, pouvoir aromatisant, pouvoir texturant, et pouvoir antibactérien).

I SYNTHÈSE
BIBLIOGRAPHIQUE

I.1 Le lait

I.1.1 Définition du lait

Le lait est une sécrétion mammaire normale d'animaux de traite, destiné à la consommation comme lait liquide ou à un traitement ultérieur (FAO, 2000). Il est défini en 1908 au cours du congrès international de répression des fraudes à Genève comme étant : « le produit intégral de la traite totale et ininterrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenées. Le lait doit être recueilli proprement et ne doit pas contenir de colostrum », est un fluide aqueux, opaque, blanc, légèrement bleuté, d'une saveur douceâtre et d'un pH (6.6 à 6.8) légèrement acide, proche de la neutralité (Gérard, 2001).

I.1.2 Composition du lait

Cette composition varie selon différents facteurs liés généralement aux animaux, les principaux sont : l'individualité, la race, les périodes de lactations, l'alimentation, la saison, l'âge et l'espèce. (Vignola, 2002).

Tableau 1 : Composition du lait (Vignola, 2002).

Constituants majeurs	Variations limites (%)	Valeurs moyennes (%)
Eau	85.5 - 89.5	87.6
Matières grasses	2.4 - 5.5	3.7
Protides	2.9 - 5.0	3.2
Glucides	3.6 - 5.5	4.6
Minéraux	0.7 - 0.9	0.8
Constituants mineurs	Vitamines, enzymes, pigments	Cellules divers, gaz

I.1.3 1.3 Caractéristiques physico-chimiques du lait

Tableau 2 : Les caractéristiques physico-chimiques du lait (Bourgeois et al., 1990).

Caractéristiques physiques :	Valeurs
pH	6.6 - 6.8
Densité	1.030 - 1.033
Température de congélation	-0.53°C
Caractéristiques chimiques :	Valeurs
Teneur en eau	87.3
Extrait sec total	3.9
Taux de matière grasse	9.2

Extrait sec dégraissé	3.4
Teneur en matière azoté totale	2.8
Teneur en caséine	0.5
Teneur en lactose	4.9
Teneur en cendre	0.90
Vitamines, enzymes et gaz dissous	Traces

I.1.4 Microflore lactique du lait

Elle fait partie de la flore normale du lait et se caractérise par son aptitude à fermenter le lactose avec production d'acide lactique et donc abaissement du pH. Les ferments lactiques laitiers constituent un groupe diversifié de bactéries qui ont néanmoins un certain nombre de caractéristiques communes : elles sont Gram positifs, catalase négatifs, anaérobies facultatifs ou micro aérophiles et hétérotrophes (**Alais, 1984**).

Parmi les bactéries lactiques ayant comme habitat le lait, nous avons les genres : *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Leuconostoc* (**Luquet et Corriau, 2005**)

I.1.5 Lait fermentés

Ils sont obtenus par la multiplication des bactéries lactiques, dans une préparation de lait. L'acide lactique produit à partir du lactose, contenu dans le lait permet la coagulation, du lait et confère une saveur acide aux produits.

Les caractéristiques propres des différents laits fermentés sont dues à la variation particulière de certains facteurs, tels que la composition du lait, la température d'incubation ou les ferments utilisés (**Luquet et Corriau, 2005**).

I.1.5.1 Les différents types des laits fermentés

Il existe un grand nombre des laits fermentés qui diffèrent par leurs matières premières, leurs flores microbiennes, leurs technologies, leurs textures, leurs gout et leurs durée de conservation. Certains sont voisins, mais présentés sous des noms variés (**Conte, 2008**). Nous avons : yaourt, kéfir, koumis, leben, lait filé, lait caillé...

I.1.5.2 Lait caillé

Le lait caillé est un lait acidifié obtenu, soit par fermentation naturelle après ensemencement à l'aide des levains lactiques préparés à l'avance ou du lait caillé de la veille, avec ou sans addition de substance coagulante (présure, pepsine) (**Dieng, 2001**).

La matière première peut être du lait cru ou du lait en poudre, les bactéries lactiques dégradent le lactose en acide lactiques et confèrent par la suite une acidité favorable à la conservation du produit et à la coagulation de la caséine qui forme un gel, avec très peu d'exsudation du lactosérum (**Seydi et Ndlaye, 1998**).

Le Rayeb (ou Raib) est du lait caillé, traditionnellement obtenu après acidification spontanée à température ambiante de lait cru, durant une période variant de 24 h à 72 h selon la saison. Le Rayeb est consommé tel quel ou transformé. Traditionnellement, la fermentation est associée à des LAB mésophiles présents naturellement dans les laits crus mis en œuvre. De nos jours, dans les zones urbaines et industriellement, la fermentation spontanée, lente, est remplacée par une fermentation plus rapide par des LAB thermophiles apportés sous forme de levains, comme décrit au Moyen-Orient par (**Guizani et al., 2001**) et au Maroc par (**Benkerroum, 2004**).

I.2 Les bactéries lactiques

I.2.1 Définition des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques (LAB) sont des cellules procaryotes organotrophes formant un groupe hétérogène (**Badis et al. 2005**). Elles peuvent avoir différentes formes : sphériques (coques / genre *streptococcus* et *Lactococcus*), en bâtonnets (bacilles/ genre *Lactobacillus*) ou encore ovoïde (*Leuconostoc ssp*) (**Luquet et Corrieu, 2005 ; Galvez et al., 2011**).

Ils sont hétérotrophes et chimiotrophes à quelques exceptions, les bactéries lactiques sont généralement gram positifs, immobiles, asporulés, anaérobies ou aérotolérantes, et ne possèdent pas de catalase (certaines souches possèdent un pseudo catalase), de nitrate réductase, et de cytochrome oxydase, elles ont des exigences nutritionnelles nombreuses (acides aminés, peptides, sels, acide gras et glucides (**Holzappel et al., 2001**)).

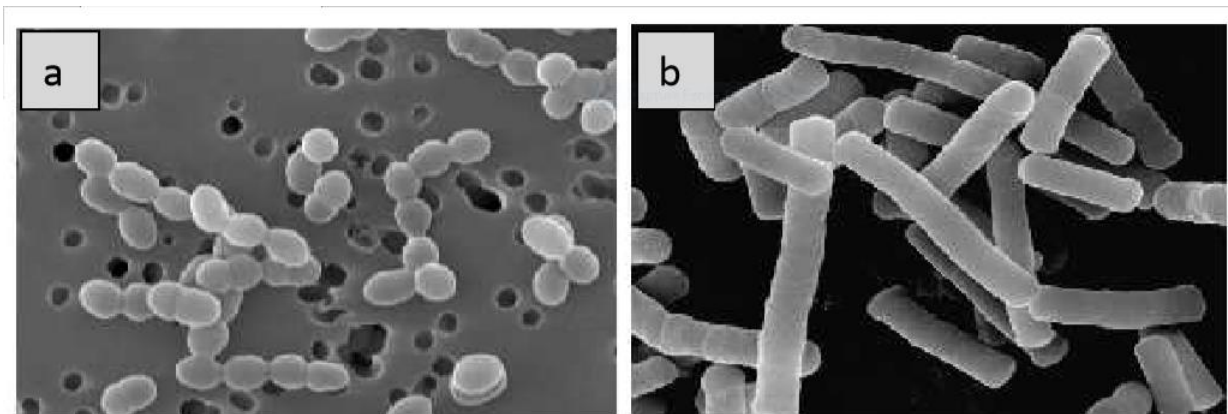


Figure 1 : (a) Forme cocci, (b) Forme bacille des bactéries lactiques observé au microscope électronique à transmission (Makhloufi, 2012).

Les bactéries lactiques sont très fréquentes dans la nature elles se trouvent généralement associés à des aliments riches en sucres simples. Elles peuvent être isolées du lait, du fromage, de la viande, des végétaux ou des alimentsensemencés par les végétaux. Elles se développent avec la levure dans le vin, la bière et le pain, quelques espèces colonisent le tube digestif (**Leveau et Bouix, 1993**).

Certaines espèces semblent adapté à un environnement spécifique, et ne semblent guère se retrouver ailleurs que dans leur habitat naturel, grâce à leur souplesse d'adaptation

physiologique, les LAB peuvent coloniser des milieux très différents du point de vue physicochimique et biologique (**De Roissart et Luquet, 1994**).

I.2.2 Les principaux genres des bactéries lactiques

Actuellement, les bactéries lactiques regroupent 11 genres bactériens différents selon (**Federighi et al., 2005**).

Tableau 3 : Les principaux genres des bactéries lactiques (Federighi et al., 2005).

Genre	Morphologie	Fermentation	Caractéristiques Principales	Habitat principale
<i>Lactobacillus</i>	Bacille	Homofermentaire Ou Hétérofermentaire	Thermophile ou Mésophile	Homme, Produits laitiers, carnés, Végétaux
<i>Carnobacterium</i>	Bacille	Hétérofermentaire	Psychrotrophe, peu acidotolerant	Produits carnés, Poissons, produits laitiers
<i>Lactococcus</i>	Coque	Homofermentaire	Mésophile, Croissance à 10°C et non à 45°C	Produits laitiers, végétaux
<i>Streptococcus</i>	Coque	Homofermentaire	Thermophile	Produits laitiers
<i>Enterococcus</i>	Coque	Homofermentaire	Mésophile, Croissance à 45°C et non à 10°C, Thermorésistante	Intestin de l'homme et des animaux, produits laitiers
<i>Pediococcus</i>	Coque en Tetrad	Homofermentaire	Mésophile, Halotolerant	Bière, produits Végétaux, Saucissons
<i>Tetragenococcus</i>	Coque en tetrad	Homofermentaire	Mésophile, Halophile	Saumures
<i>Leuconostoc</i>	Coque	Hétérofermentaire	Mésophile	végétaux et produits laitiers
<i>Aerococcus</i>	Coque	Hétérofermentaire	Mésophile	Vin
<i>Bifidobacterium</i>	Forme irrégulière	Acide acétique et Lactique	Mésophile	Intestins d'homme et des animaux
<i>Vagococcus</i>	Coque Mobile	Homofermentaire	Mésophile	Intestins d'homme et des animaux, produits laitiers

I.2.3 La fermentation chez les bactéries lactiques (métabolisme des glucides)

Les bactéries lactiques étant incapables d'obtenir leurs énergies par la respiration, elles transforment les glucides en acide lactique par voie fermentaire.

Suivant les espèces, les sucres sont canalisés suivant une des 3 voie différentes : la voie homofermentaire, la voie hétérofermentaire et la voie bifide (Figure 2).

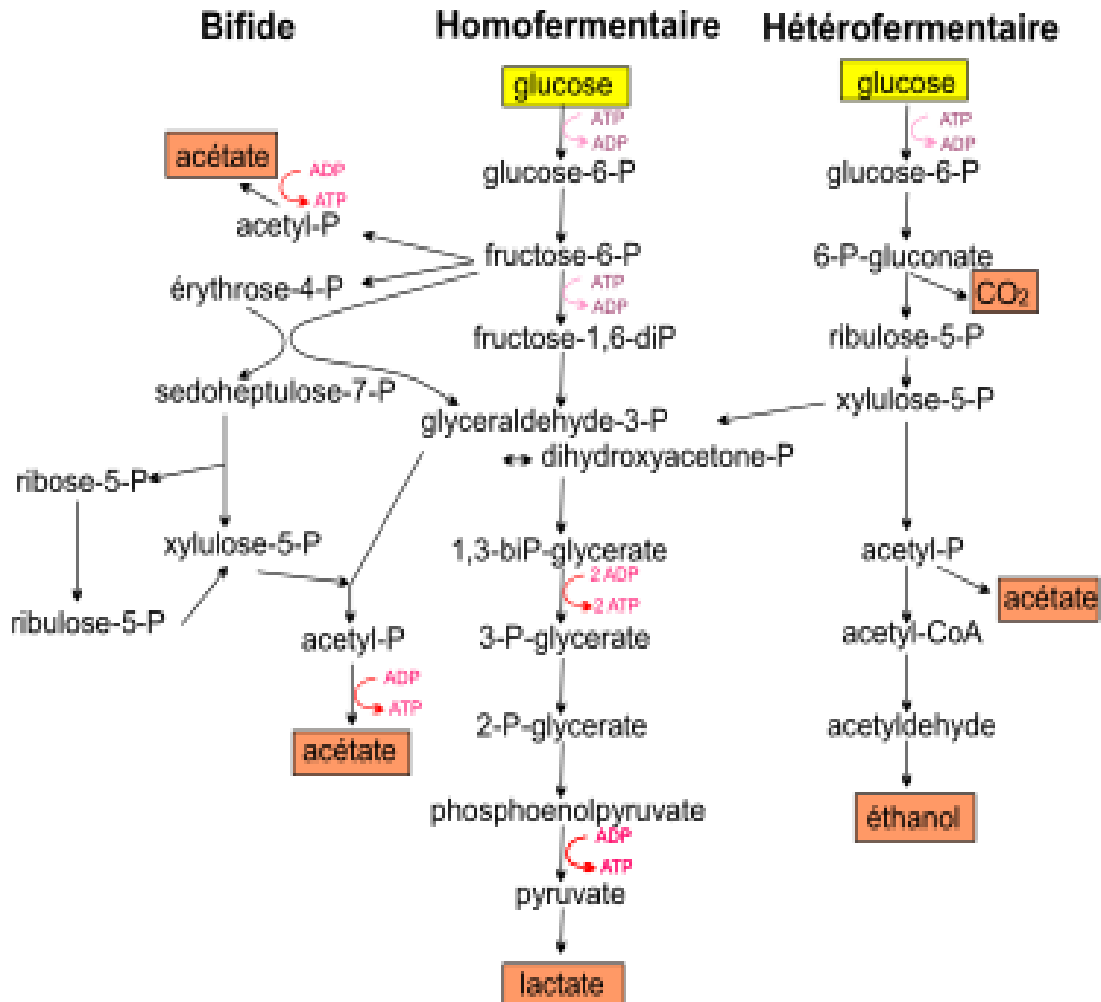


Figure 2 : Voies homofermentaire, hétérofermentaires et bifide de la dégradation du glucose chez les bactéries lactiques (Drider et Prevost, 2009).

I.3 Les lactobacilles

I.3.1 Définition des lactobacilles

Les lactobacilles appartiennent au groupe des Firmicutes, à la classe des bacillis, à l'ordre des lactobacillales et à la famille de lactobacillaceae (De Vos et al., 2009).

Le genre *Lactobacillus* est quantitativement le plus important des genres du groupe des bactéries lactiques. Créé pour la première fois par Beijerinck en 1901, il comprend

actuellement au moins 145 espèces reconnues qui présentent une diversité phylogéniques, phénotypiques et écologiques extrême (Corrieu et Luquet, 2008 ; Barinov et al., 2011).

Cette diversité est due à la variation en contenu guanine/cytosine (G/C) qui varie entre 30 et 55% selon les espèces (De Vos et al. 2009). Les lactobacilles sont :

- Des bactéries lactiques à Gram positive, immobiles, non flagellés, non sporulés.
- Homofermentaires, produisant du glucose plus de 85% d'acide lactique, ou hétérofermentaires et produisant du CO₂, de l'acide lactiques, de l'éthanol (et/ou l'acide acétique) en quantités équimolaires.
- Aérotolérantes ou anaérobies et ayant des besoins nutritionnels complexes (milieu riche en glucide, acides aminés, peptides, lipides, sels et vitamines. (Holzapfel et Wood ,1995).

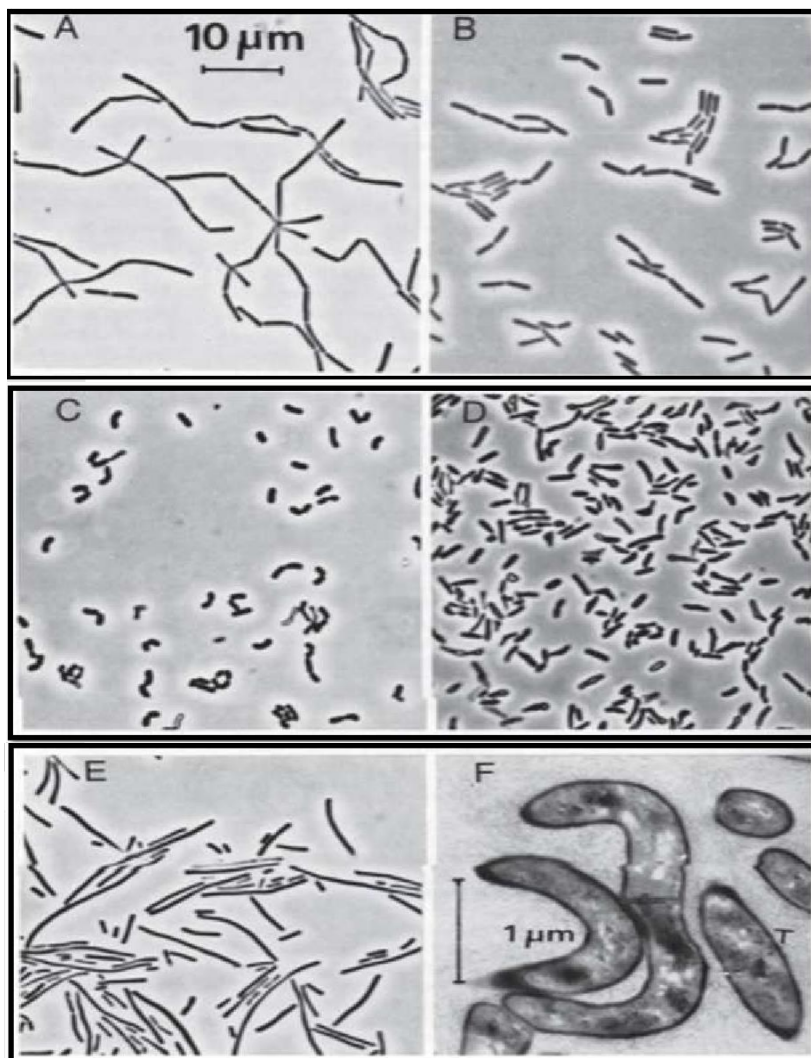


Figure 3 : Contraste de phase (A-E) et d'électrons (F) des micrographies montrant la différence de morphologie des cellules de lactobacilles (De vos et al., 2009)

I.3.2 Caractères physiologiques et biochimiques des Lactobacilles

Le genre *Lactobacillus* a été subdivisé par Orla-Jensen en trois groupes (**Guiraud et Rosec, 2004**) :

Groupe 1 : comprend les espèces homofermentaires obligatoires, thermophiles qui se développent à 45°C mais pas à 15°C. Produisent uniquement de l'acide lactique à partir de glucose et qui sont incapables de fermenter les pentoses ou le gluconate. Ce groupe est constitué majoritairement d'espèces présentes chez l'homme et les animaux et qui participent à l'équilibre de la microflore de l'organisme.

Groupe 2 : sont des espèces hétérofermentaires facultatifs, c'est-à-dire capables d'utiliser la voie hétérofermentaire à partir du glucose dans certaines conditions comme une concentration du glucose limitée. Ces lactobacilles sont mésophiles qui se développent à 15°C et comportent l'espèce *Lb casei* qui est également le lactobacille dominant du lait.

Groupe 3 : comprend les Lactobacilles hétérofermentaires obligatoires qui forment des quantités équimolaires de CO₂, l'acide lactique et acétiques et /ou éthanol. Ce groupe rassemble des espèces relativement hétérogènes surtout mésophiles, dont certains font partie de la flore des levains de panification (**Guiraud, 2003 ; Guiraud et Rosec, 2004 ; Federighi et al., 2005 ; De vos et al., 2009**).

I.3.3 Identification des Lactobacilles

L'identification d'espèces des lactobacilles peut être difficile à réaliser par les méthodes biochimiques en raison du très grand nombre d'espèces existants. Elle repose essentiellement sur des tests de fermentation des sucres.

La galerie API 50 CH est la méthode biochimique la plus utilisée et probablement la plus fiable (**DE Roissart et Luquet, 1994 ; Ozgan et Vural, 2011**).

L'utilisation des outils de taxonomie moléculaire comme l'hybridation quantitative ADN/ADN et le séquençage des gènes d'ADNr 16s ont permis de lever l'ambiguïté et de nommer précisément les espèces des lactobacilles d'intérêt en santé et en alimentation (**Dellaglio et Felis, 2005**).

I.3.4 Les aptitudes technologiques des Lactobacilles

I.3.4.1 Pouvoir acidifiant

La fonction acidifiante constitue la propriété métabolique la plus recherchée chez les bactéries utilisées dans l'industrie alimentaire. Elle est étroitement associée à la croissance bactérienne après accumulation progressive d'acide lactique qui est produit à partir du lactose (**Corrieu, 2005**).

L'acide lactique est l'acide qui déstabilise les micelles des caséines et induit ainsi la formation du gel résultant de la coagulation des produits du lait suite à la diminution du pH (**Ozen, 1992**).

Les conséquences des phénomènes d'acidité des bactéries lactiques d'ordre physicochimique et microbiologique sont :

- L'accumulation de l'acide lactique participe à la saveur des aliments fermentés.
- L'abaissement progressif de pH du milieu de culture et des matrices alimentaires.
- La limitation des risques de développement des flores pathogènes et d'altération dans les produits finaux.
- La déstabilisation des micelles des caséines et coagulation du lait (**Checkchoukhe et al., 2016**).

1.3.4.2 Pouvoir protéolytique

L'incapacité des bactéries lactiques à synthétiser les acides aminés à la synthèse, nécessite un fonctionnement actif de leur système protéolytique, dans les environnements où les protéines constituent, la principale source d'azote (**Law et Haandrillman, 1997**).

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

Les lactobacilles présentent généralement une activité protéolytique plus prononcée que les Lactocoques (**Monnet et al., 2008 ; Roudj et al., 2009**).

1.3.4.3 Pouvoir lipolytique

La lipolyse a été largement étudiée dans le domaine alimentaire. Elle joue un rôle important dans la formation des substances aromatiques des produits transformés. (**Zalacain et al., 1996**).

Les lipases bactériennes catalysent en partie la production des acides gras à longues chaînes à partir des mono et diglycérides, alors que les estérases permettent la libération des acides gras volatiles, qui seraient responsables en partie de la saveur (**Siegumfeldt et al., 2000**).

1.3.4.4 Pouvoir aromatisant (production d'acétoïne)

Certaines bactéries lactiques sont capables de produire des composés d'arôme qui participent aux qualités organoleptiques, la plupart des composés d'arômes sont issus du métabolisme du citrate, l'acétoïne et le diacétyl sont les plus importants (**Tamime, 1990**).

1.3.4.5 Pouvoir texturant (production des exopolysaccharides)

Les exopolysaccharides sont des macromolécules hautement diversifiées, dont les propriétés fonctionnelles sont exploitées dans plusieurs domaines industriels, ils peuvent être localisés à l'intérieur de la cellule, dans la paroi, ou la surface bactérienne, avec ou sans attachement. Généralement le terme EPS réfère à tous les polysaccharides excrétés à l'extérieur de la cellule bactérienne et relâchés dans le milieu.

Les EPS sont supposées avoir un rôle dans la protection de la cellule bactérienne contre les conditions physiques, chimiques et biologiques de leur environnement (**Clarck et al., 2000 ; Scholl et al., 2001**).

Les EPS ont l'avantage d'être naturels, requis en faible concentration et peuvent remplacer les agents stabilisant, leurs propriétés de modifié positivement la texture, la viscosité et la sensation en bouche des laits fermentés (**Marshall et Rawson, 1999**).

I.3.4.6 Pouvoir antimicrobien

Les lactobacilles agissent comme élément protecteur de la qualité hygiénique et sanitaire de l'aliment qu'ils colonisent et ainsi augmenter la durée de la vie de celui-ci. Cette protection s'effectue soit grâce à la production d'acides organiques en réduisent le pH du milieu, qui inhibe par la suite la plupart des bactéries pathogènes, dont la majorité sont neutrophiles, soit par compétition pour nutriment ou soit grâce à la production des substances dites bactériocines (**Mami, 2007**). Le mode d'action des bactériocines des Lactobacilles est bactéricide et leurs spectres d'activité sont restreints à des espèces voisines (**Leveau et Bouix, 1993**).

Les bactériocines agissent généralement sur les membranes cytoplasmiques par la formation des pores membranaires (**Luquet et Corrieu, 2005**).

I.3.5 Les lactobacilles et l'industrie

Le champ d'application des bactéries lactiques est large, plusieurs de leurs propriétés sont importantes pour la qualité finale des produits alimentaires, il permet d'assurer la qualité sensorielle des produits et de mieux maîtriser le processus de fermentation (**Casaburi et al., 2008 ; Muthukumarasamy et al., 2006**).

Les lactobacilles sont utilisés dans plusieurs domaines, dont la manufacture des produits laitiers comme cultures starters, ils participent aussi dans la fabrication du pain, les ensilages et sont aussi proposé comme biopréservants naturels dans les produits non fermentés (**De Angellis et Gobbetti, 2004**).

Ils sont ajoutés dans le but d'accélérer le processus de fermentation, d'améliorer les qualités organoleptiques et de réduire les accidents de fabrication (**Larpen et Bourgeois, 1989**).

I.3.6 Les lactobacilles et la santé

Au sein des bactéries lactiques, les lactobacilles constituent un genre important reconnu pour sa capacité fermentaire, ainsi que pour ses bienfaits pour la santé et la nutrition humaine (**Kannahi et Viji, 2014**).

Les lactobacilles comptent parmi la flore dominante du microbiote intestinale et sont présent tout au long du tractus gastro-intestinal avec des quantités variables. Ils représentent environ 1% des microorganismes, soit approximativement 10^3 à 10^9 bactéries/g de contenu intestinal (**Dal Bello et al., 2003 ; Tannock, 2005**).

Les espèces des lactobacilles les plus célèbres dans le domaine de santé sont (**Syngai et al., 2015**) :

- *Lactobacillus reuteri*
- *Lactobacillus acidophilus*

- *Lactobacillus casei*
- *Lactobacillus plantarum*
- *Lactobacillus rhamnosus*

Ils sont considérés comme des microorganismes très utiles pour l'homme et l'animal grâce à leurs effets probiotiques bénéfiques par l'implication des différents modes d'actions.

Tableau 4 : Effets bénéfiques des lactobacilles probiotiques sur la santé humaine (FAO/OMS, 2001; WGO, 2008).

Effet probiotique	Mode d'activité proposé
Réduction des risques des diarrhées	<ul style="list-style-type: none"> - Résistance à la colonisation des pathogènes. - Stimulation des systèmes immunitaires.
Diminution des allergies alimentaires	<ul style="list-style-type: none"> - Diminution du passage des protéines alimentaires par diminution de la perméabilité membranaire intestinale. - Stimulation du système immunitaire
Amélioration de la digestion du lactose	<ul style="list-style-type: none"> - Action de b-galactosidase dans l'intestin grêle.
Traitement des maladies inflammatoires	<ul style="list-style-type: none"> - Modulation de la flore intestinale. - Stimulation du système immunitaire.
Réduction du cholestérol	<ul style="list-style-type: none"> - Assimilation du cholestérol. - Déconjugaison des sels biliaires.
Prévention du cancer du colon	<ul style="list-style-type: none"> - Stimulation du système immunitaire. - Production de composées antimutagéniques. - Modulation des enzymes fécales carcinogéniques. - Dégradation des carcinogènes. - Elimination des bactéries impliquées dans la production des carcinogènes.

II MATERIEL ET METHODES

II.1 Objectifs de l'étude

Notre travail est basé sur l'étude de l'isolement des lactobacilles à partir du lait caillé (lait de vache) préparé à la maison, puis l'étude des caractères physiologiques et biochimiques des souches isolées, et valorisation de ses aptitudes technologiques.

Cette expérimentation s'agit d'une synthèse bibliographique d'une étude rétrospective des tests réalisés dans des travaux précédents.

II.2 Matériel

II.2.1 Matériel biologique

Le matériel biologique utilisé dans cette étude est comme suit :

- Les échantillons alimentaires à analyser : le lait caillé (lait de vache), qui est préparé par la mise d'1 litre de lait cru à température ambiante pendant 48h.
- Les souches bactériennes isolées : les lactobacilles.

II.2.2 Matériel non biologique

Les milieux de culture, la verrerie, l'appareillage et les réactifs utilisés dans cette étude sont présentés dans les annexes.

II.3 Méthodes

II.3.1 Isolement et purification

Pour isoler les lactobacilles on a suivi les étapes suivantes :

- 1g de lait caillé a été pesé et déposer aseptiquement dans une fiole contenant 9mL d'eau physiologique, puis bien homogénéiser la suspension pour obtenir une solution mère, ensuite l'application d'une dilution décimale.
- Transfert d'1mL de la solution mère dans un tube à essai contenant 9 ml d'eau physiologique et obtention de la dilution 10^{-1} .
- Préparation des dilutions suivantes à partir de chaque tube de la même manière jusqu'à la dilution 10^{-9} .
- Couler en surfusion et étaler 1mL de chaque dilution sur une série de trois boites de pétrie contenant le milieu MRS à un pH= 6.5 pour la sélection des lactobacilles.
- Incubation des boites de pétries à 30°C pendant 24h / 48h dans l'anaérobiose, par la mise dans des sachets en plastiques stériles et bien fermés.

La purification des souches isolées a été réalisée par des repiquages successifs (2 repiquages), sur gélose MRS par la méthode des stries, l'incubation des boites de pétri à 30°C pendant 48h. Les repiquages sont effectués pour purifier les souches et des colorations de Gram sont réalisées afin de vérifier Leurs puretés. Les souches considérées comme pures et qui possèdent les caractéristiques morphologiques des lactobacilles (petites colonies blanchâtres, Gram +, forme bacilles) sont retenus et conservées pour des études macroscopiques et microscopiques ultérieurs (coloration de Gram, catalase) (Hadjidj et Mabrek, 2019).

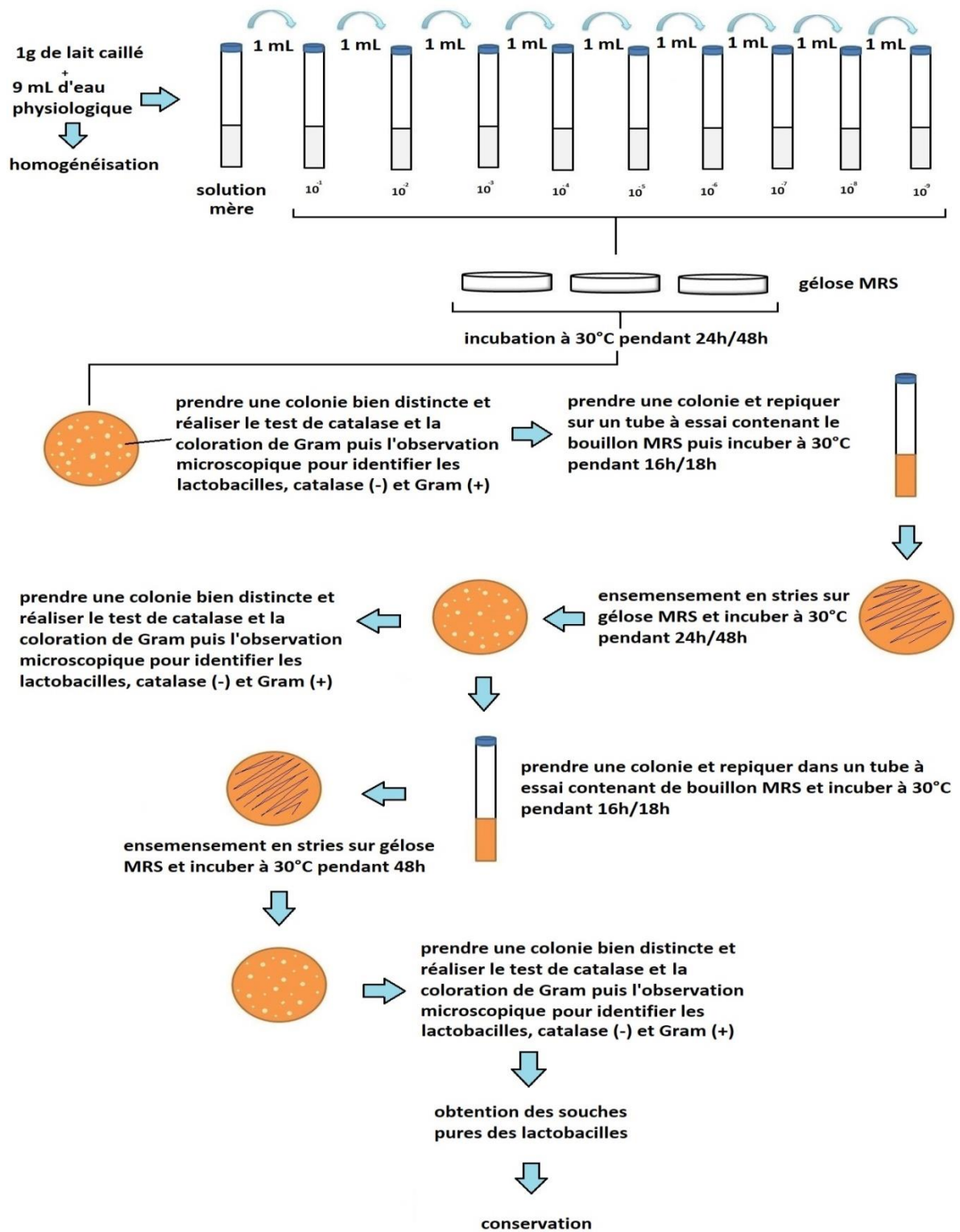


Figure 4 : Isolement et purification des lactobacilles.

II.3.2 3.2 Conservation des souches

II.3.2.1 Conservation à court terme

La conservation à court terme des souches pures est effectuée sur milieu solide MRS incliné. Après croissance à la température optimale, les cultures sont maintenues à 4°C, et le renouvellement des souches se fait par repiquage toutes les quatre semaines. (Badis et al., 2005).

II.3.2.2 Conservation à long terme

A partir des cultures de 18h (milieu liquide) les cellules sont récupérées par centrifugation à 4000 tours par minute pendant 10 min, une fois le surnageant est éliminé, on ajoute le milieu de culture de conservation sur le culot. Le milieu de conservation contient 70% de lait écrémé et 30% de glycérol. Les cultures sont conservées en suspension dense et en tube eppendorf à (-20) °C. En cas de besoin, les cultures sont repiquées dans du lait écrémé enrichi avec l'extrait de levure, deux fois avant l'utilisation (Badis et al., 2005).

II.3.3 Examens macroscopiques et microscopiques

II.3.3.1 Aspect macroscopique

C'est l'observation visuelle des colonies sur la surface de milieu MRS solide, pour caractériser leurs formes, leurs tailles, leurs contours, et leurs couleurs (Hennine et Serière, 2017).

II.3.3.2 Aspect microscopique

L'aspect microscopique consiste à observer la forme, la taille, le mode d'association et le type de Gram des cellules après coloration de Gram. Cette dernière est une coloration classique en microbiologie, elle permet de différencier sur la base de la composition de la paroi cellulaire entre les bactéries à Gram positif de celles à Gram négatif (Benabbou, 2012).

Coloration de Gram : Un frottis qui est préparé et fixé à la chaleur, est recouvert par le Violet de gentiane pendant une minute, puis rincer à l'eau distillée et recouvert par Lugol et laisser agir pendant une minute. Le frottis est rincé à l'eau distillée, puis décolorer à l'alcool à 95° pendant 15 à 30 secondes et rincer à nouveau par l'eau distillée. Il est recoloré par l'ajout de Fushine et laisser agir 10 à 30 secondes, puis rincer à l'eau distillée. Le frottis est séché au-dessus de la flamme d'un bec Bunsen, et observer au microscope à l'objectif x100 à immersion. Avec cette coloration doublée, les bactéries « Gram+ » apparaissent en violet foncé tandis que les bactéries « Gram- » sont colorées en rose (Débarras, 2014).

II.3.4 Caractères biochimiques

II.3.4.1 Recherche de la Catalase

Chez les bactéries douées d'un métabolisme oxydatif, le système respiratoire compte parmi d'autres enzymes une catalase, celle-ci décompose l'eau oxygénée selon la réaction

Suivante :



La méthode de recherche de la catalase consiste à mettre en contact une colonie de la bactérie à tester, en présence d'une goutte d'eau oxygénée. Un dégagement gazeux abondant (dû à un dégagement de dioxygène) sous forme de mousse, traduit la décomposition de l'eau oxygénée, sous l'action de l'enzyme à tester (**Belyagoubi, 2014 ; Kassas, 2017**).

II.3.4.2 Recherche de type fermentaire (production de gaz)

Ce test permet de différencier les bactéries lactiques homofermentaires de celles hétérofermentaires. Il consiste à mettre en évidence la production de gaz (CO₂).

Pour ce faire, le milieu Gibson-Abdelmalek préalablement fondu, refroidi et solidifié a été ensemencé par les cultures bactériennes par piqûre centrale, puis un bouchon de la gélose blanche stérile a été coulé en surface. L'incubation est faite à 37°C pendant 7 jours.

Le développement d'une bactérie homofermentaire ne provoque pas de discontinuité entre le milieu et le bouchon de la gélose blanche. Le gaz produit par un métabolisme hétérofermentaire pousse, au contraire, le bouchon de gélose vers le haut du tube (**Larpent, 1997**).

II.3.4.3 Test de fermentation des sucres

Le test est réalisé en cultivant les souches (une colonie), dans 2 mL de bouillon MRS sans extrait de viande et sans glucose, additionné d'un indicateur de pH (le rouge de phénol).

Le glucose est remplacé par le sucre à tester introduit en solution, à une concentration finale de 1%. Le choix et le nombre des sucres doit être effectués selon leur disponibilité. Dans cette étude on a utilisé les sucres suivants : mannose, L-arabinose, fructose, maltose, sorbitol. Les solutions de sucres sont préparées en ajoutant 1 gramme de sucre dans 100 ml d'eau désilée, ensuite les solutions sont stérilisées au bain marie pendant 30 minutes à 100°C. Après inoculation du milieu MRS à 1% de sucre, il est recouvert d'une fine couche de l'huile de paraffine afin d'assurer les conditions d'anaérobiose. Après incubation pendant 48h à 37°C, la fermentation des sucres se traduit par un trouble du milieu accompagné par le virage de couleur. Dans le cas d'absence de virage de couleur de pourpre vers le jaune, on déduit que le sucre testé n'est pas fermenté par la souche (**Tourneur, 1972 ; Samelis et al., 1986**).

II.3.5 Caractères physiologiques

II.3.5.1 Test de croissance à différentes températures

Ce test est important car il permet de distinguer les bactéries lactiques mésophiles à des bactéries lactiques thermophiles. Après inoculation de bouillon MRS par les cultures pures, les tubes sont incubés pendant 48h aux températures 30°C, 37°C et 45°C. Au bout de ce délai, la croissance est appréciée par examen des milieux. Les bactéries mésophiles poussent à 30°C alors que les bactéries thermophiles ne le font pas (**Bouricha, 2018**).

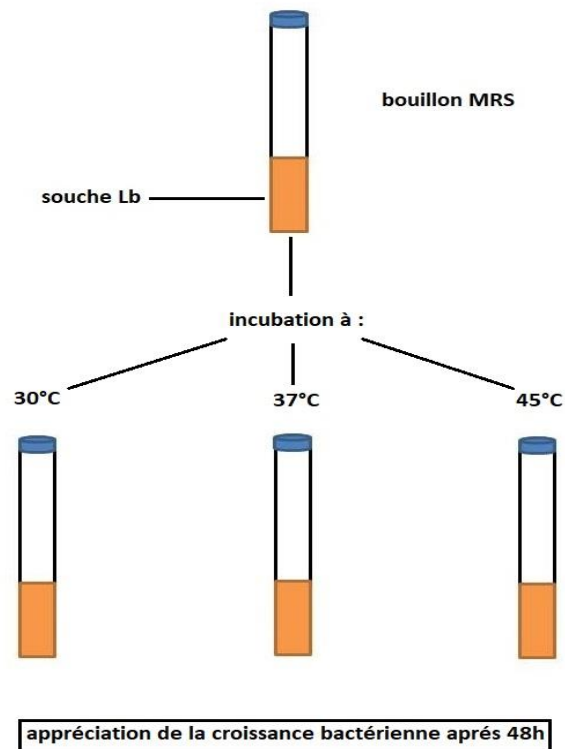


Figure 5 : Recherche de croissance à différentes températures.

II.3.5.2 Test de croissance à différents pH

Des milieux MRS ont été préparés, dont le pH est ajusté à 4.6 et à pH 9.6. La présence d'un trouble signifie une croissance. Pour chaque souche, une série de tubes contenant 5 ml du milieu MRS à différents pH, ont été ensemencés par une colonie de 48h sur milieu MRS, puis incubés à la température optimale de croissance de cette souche (**Guiraud, 1998**).

II.3.5.3 Croissance à différentes concentrations de NaCl

La croissance des souches a été testée à différentes concentrations de NaCl (4% et 6.5%) la croissance se manifeste par un trouble en milieu MRS liquide (**Guiraud, 1998**).

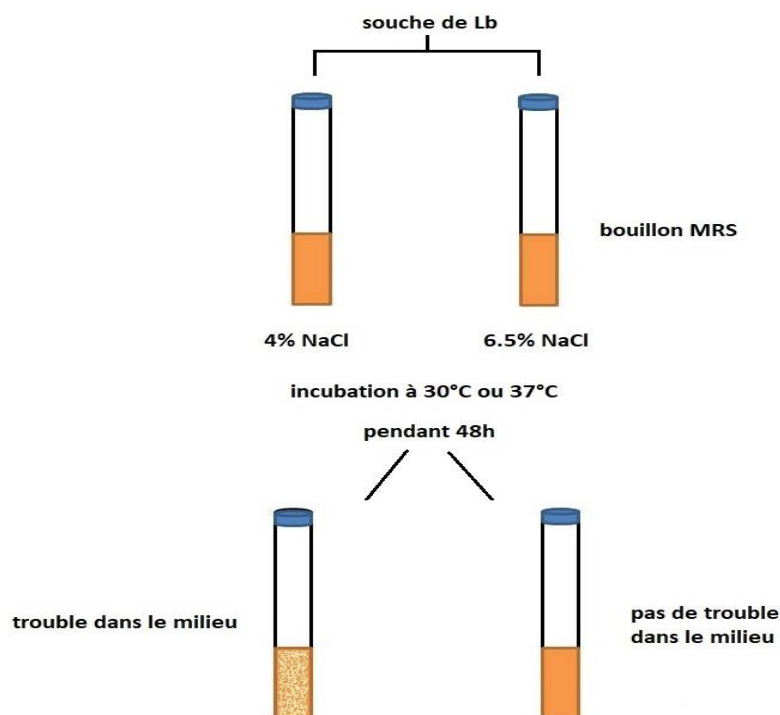


Figure 6 : Recherche de croissance à différentes concentrations de NaCl.

II.3.6 Aptitudes technologiques

II.3.6.1 Test de pouvoir acidifiant

La mesure de l'activité acidifiante consiste à suivre d'une part, l'évolution du pH des différentes cultures, en fonction du temps et d'autre part, à doser simultanément l'acidité totale par la soude.

On commence par la préparation de lait écrémé à 10% dans des flacons de capacité 250mL. Après stérilisation et refroidissement à la température d'ensemencement, chaque flacon estensemencé par une culture lactique (V/100V).

Après incubation à 37°C et à un intervalle du temps 2 h, 4 h, 6 h et 24 h, 10 mL du lait est prélevé puis titrer par la soude Dornic (N/9) en présence de 5 gouttes de phénolphtaléine, jusqu'au virage de la couleur au rose pâle, persistant au moins 10 secondes (**Larpen, 1997**).

L'acidité est déterminée par la formule :

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

Où : V NaOH : Volume de NaOH utilisé pour titrer l'acide lactique contenu dans les 10 mL de lait. La mesure de pH est faite directement par le pH-mètre, en plongeant l'électrode dans le volume du lait. Le pH a été déterminé à chaque fois qu'on procède au dosage de l'acide lactique.

II.3.6.2 Test de pouvoir protéolytique

L'activité protéolytique des bactéries est mise en évidence sur un milieu solide riche. Pour cela la gélose nutritive additionnée de 10% du lait écrémé a été utilisée (**Van Den Berg et al., 1995**).

Des aliquots (2µl) de cultures bactériennes ont été déposés sur la surface sèche des boîtes de Pétri, contenant la gélose au lait. Après incubation à 37°C pendant (24 -48 h), l'activité protéolytique de ces isolats se manifeste par l'apparition d'un halo clair autour des colonies.

Le diamètre de la zone de lyse = diamètre de halo – le diamètre de centre

II.3.6.3 Test de pouvoir lipolytique

Le pouvoir lipolytique des lactobacilles a été testé sur un milieu MRS solide, additionné de 1% de tween 20.

Des aliquots (2µl) de chaque souche lactique ont été déposés sur la gélose sèche. Après incubation à 30°C pendant 7 jour, l'activité lipolytique se traduit par l'apparition d'un halo opaque autour de la colonie (**Van Den Berg et al., 1995**).

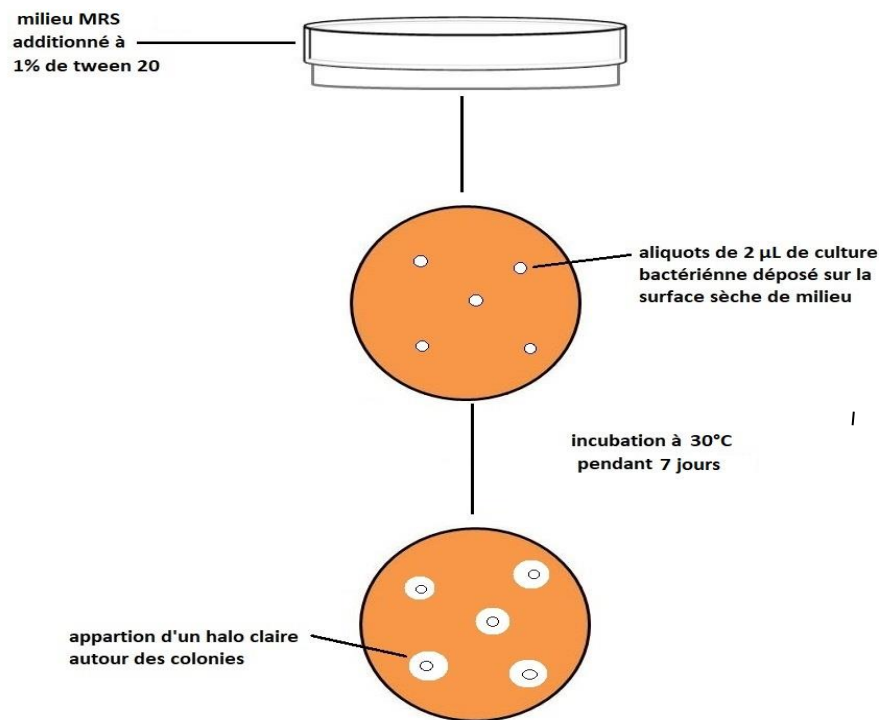


Figure 7 : Recherche d'activité lipolytique.

II.3.6.4 Test de pouvoir aromatisant (production d'acétoïne)

La production d'acétoïne (acétylméthylcarbinol) est testée sur milieu Clark et Lubs, les souches sont cultivées sur ce milieu. Après 24 h d'incubation, on test par la réaction de Voges- Proskauer dite réaction de VP.

Dans un tube à essai, 2 mL de cette culture sont transvasés, 0.5 mL d'une solution de soude (NaOH) à 16% dans l'eau distillée (VP1) et 0.5 mL de réactif α -naphтол à 6% dans l'alcool absolu (VP2). On agite soigneusement les tubes et on laisse au repos 5 à 10 min à température ambiante. La production d'acétoïne se traduit par l'apparition d'un anneau ou la diffusion de la couleur rouge à la surface du milieu. (Guessas, 2006).

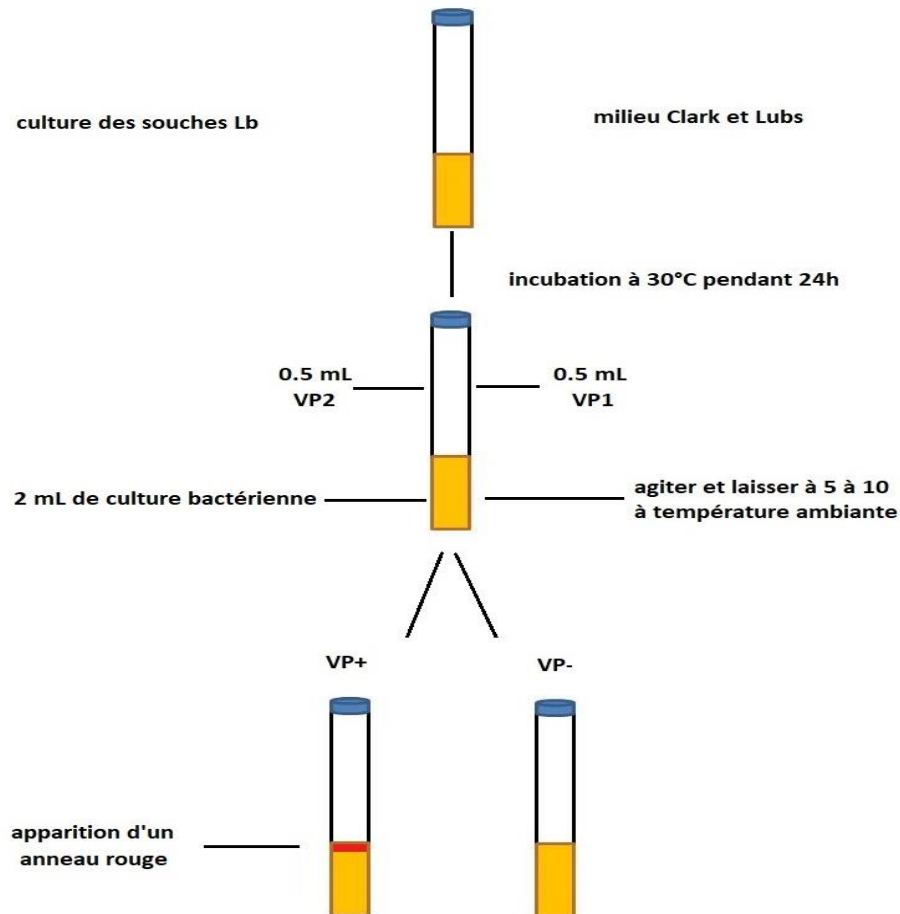


Figure 8 : Recherche d'activité aromatisante (production d'acétone).

II.3.6.5 Test de pouvoir texturant : (production des exopolysaccharides)

La détection des exopolysaccharides produites par les souches lactiques a été testée après ensemencement en stries sur la gélose hypersaccharosé (composition voir annexe N°1) déjà coulée et solidifiée. Après incubation à 30°C pendant 24h, la production des exopolysaccharides se manifeste par l'apparition des colonies larges et gluantes (**Hadef, 2012**).

II.3.6.6 Test de pouvoir antibicrobien

Ce test permet d'étudier la capacité des lactobacilles à inhiber les souches pathogènes par la méthode de double couche. Cette activité est mise en évidence par le test de spots. On observe l'apparition de zones d'inhibition, dont le diamètre est mesuré en (mm) (**Fleming et al., 1975**).

Au préalable, une revivification des souches pathogènes et une standardisation des souches cibles testées a été réalisée. La revivification des souches consiste à transférer 1ml de chaque culture des souches pathogènes dans des tubes contenant 9 ml de bouillon nutritif.

Ces bouillons ont été incubés à 37°C pendant 18h à 24h. Le but de cette opération est d'obtenir des cultures fraîches.

- **Standardisation des inoculas :**

Le but de la standardisation de l'inoculum bactérien, est d'avoir le même nombre de cellules bactériennes dans 1 ml de culture durant toute l'expérimentation.

La standardisation a été réalisée par l'isolement de chaque souche de Lb sur gélose MRS. Après incubation à 30°C et à 37°C selon la souche durant une période de 48h, six colonies identiques et bien isolées de chaque souche, ont été repiquées dans 9ml de bouillon MRS.

Ces dernières ont été incubées à 30°C et à 37°C selon la souche durant 18h. La même procédure a été répétée avec les souches pathogènes, en repiquant une colonie (après 24h d'incubation sur gélose nutritive), chaque souche dans le bouillon nutritif incubé à 37°C pendant 18h. Au terme de l'incubation, des dilutions décimales jusqu'à 10^{-10} ont été réalisées pour toutes les souches (cibles et testées), dans de l'eau physiologique.

Un dénombrement des colonies a été réalisé respectivement sur gélose MRS, pour les bactéries testées et sur gélose nutritive pour les bactéries cibles. Dans cette étude on a des Gram (+) : *Staphylococcus aureus* et des Gram (-) : *E.coli* ATCC 25922, *Proteus sp*, *Klebsiella pneumoniae* (CTX-M-15), *Enterobacter cloacae* (CTX-M-15)

- **Réalisation du test des spots :**

5µl de la culture de lactobacilles fraîche (18h) à raison de 109 UFC/ml, ont été déposés en spot sur la gélose MRS. Les spots sur gélose ont été séchés 10 min devant le bec benzène. Les boites sont incubées à la température de croissance de chaque souche (30° ou 37°C) pendant 18h.

Au terme de l'incubation, les spots sont recouverts par 9ml de gélose nutritive en surfusionensemencée à raison de 109 UFC/ml des souches cibles. Une fois solidifiées, les boites sont incubées à 37°C pendant 18h à 24h (**Bennai et Temine, 2017**).

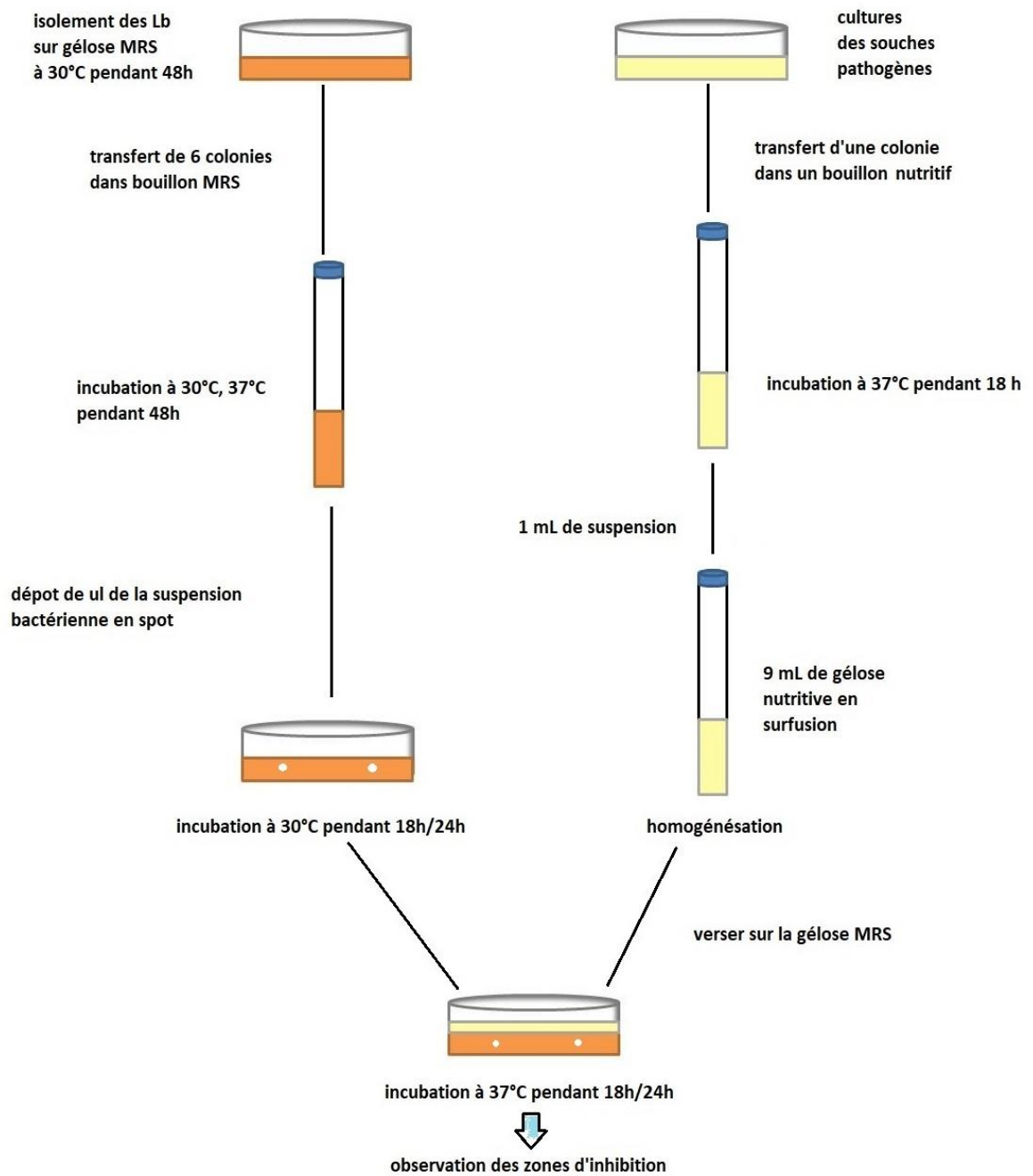


Figure 9 : Recherche d'activité antibactérienne.

III RESULTATS ET DISCUSSION

A cause de la pandémie covid-19 qui a touché tout le monde ainsi que notre pays l'Algérie, et vu l'application du système de confinement, la réalisation de la partie expérimentale n'était pas possible. Les résultats présentés dans notre travail sont tirés des travaux précédents qui ont étudié les caractères biochimiques, physiologiques et les aptitudes technologiques des lactobacilles après leurs isollements et identifications.

III.1 Résultats des examens macroscopiques et microscopiques

III.1.1 Aspect macroscopique

III.1.1.1 Sur milieu solide

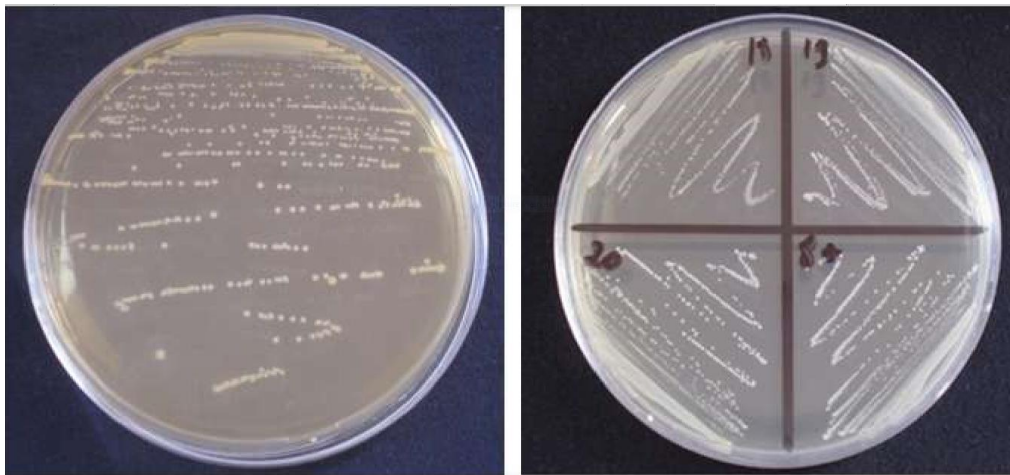


Figure 10 : Aspect des lactobacilles pures sur milieu solide (Brahimi, 2015).

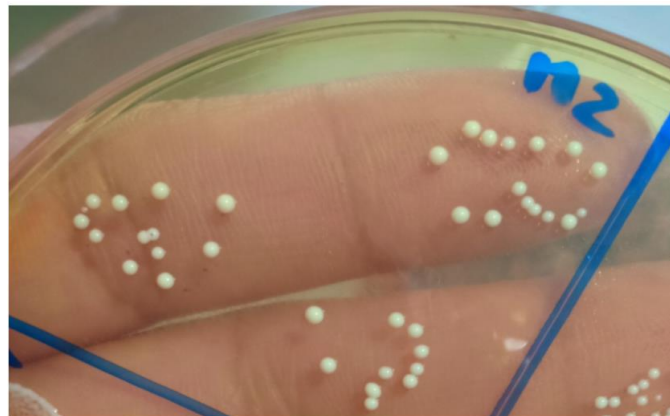


Figure 11 : Aspect macroscopique des colonies des lactobacilles (Mehhadi et Belkediem, 2019).

Selon **Badis et al., (2005)**, les cultures obtenues par isolement sur milieux MRS, sont observées à l'œil nu pour caractériser la forme, la taille, l'aspect ainsi que la couleur des colonies.

Selon **Hamedi (2009)**, lorsqu'elles sont isolées, les espèces de lactobacilles apparaissent généralement sous forme de colonies lenticulaire, brunâtres facilement repérables. En

surface par contre, elles apparaissent sous forme de colonies blanchâtres à bord arrondie et net, elles dégagent aussi une odeur très particulière semblables à celle des laits fermentés due à la production d'acide lactique.

L'examen macroscopique des colonies obtenues sur gélose MRS, a révélé qu'elles étaient circulaires ou lenticulaires, de couleurs blanchâtres ou jaunâtres, rugueuses ou lisses. Elles appartenaient, via ces critères, au genre *Lactobacillus* (De Vos et al., 2009).

III.1.1.2 Sur milieu liquide



Figure 12 : Aspect des lactobacilles pures sur milieu liquide (Hamedi, 2009).

Selon Carr et al. (2002), la croissance des bactéries apparait sous forme de trouble homogène et fumeux dans le milieu MRS liquide, dans certains tubes, ce trouble est concentré au fond du tube à la recherche des conditions anaérobiques.

Selon Hamedi (2009), pour s'assurer de la pureté d'une souche de lactobacilles, il faut que le milieu soit dense en dessous et claire au-dessus. La différence entre les espèces reste l'aspect de trouble, il peut être soit brumeux soit cotonneux. C'est très facilement détectable en remuant le tube légèrement en formant de petit cercle.

III.1.2 Aspect microscopique

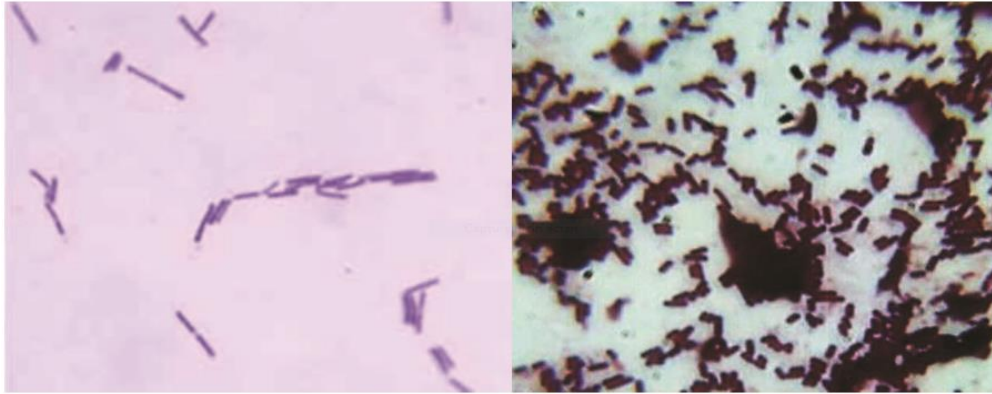


Figure 13 : Aspect microscopique des lactobacilles après coloration de Gram (Grossissement (x100)) (Bahri, 2014).

Selon **Kandler et Weiss (1989)**, les Bactéries lactiques sont Gram positive, catalase négative. Les lactobacilles se présentent sous forme de bacilles ou coccobacilles, longs ou courts, isolés, regroupés en deux, en amas, palissade ou en chaîne, par contre les Lactocoques (Entérocoques, Streptocoques, Pédicoques, etc....) se présentent sous forme circulaire (cocci), avec différents modes d'associations.

III.2 Résultats des caractères biochimiques

III.2.1 Résultat de la catalase

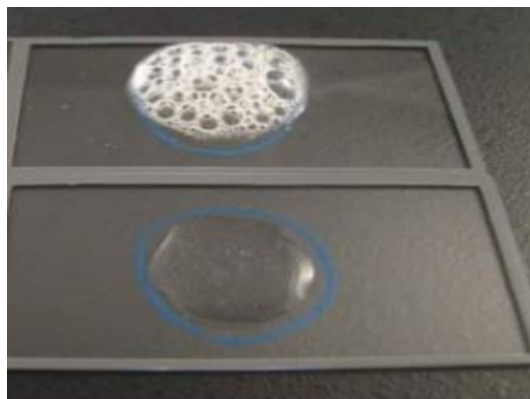


Figure 14 : Résultat de catalase (positive en haut et négative en bas) (<http://www.microbiologyinfo.com>)

Les bactéries lactiques en générale ne possèdent pas de catalase donc automatiquement les lactobacilles vont suivre cette règle.

III.2.2 Résultat de type fermentaire (production de gaz)

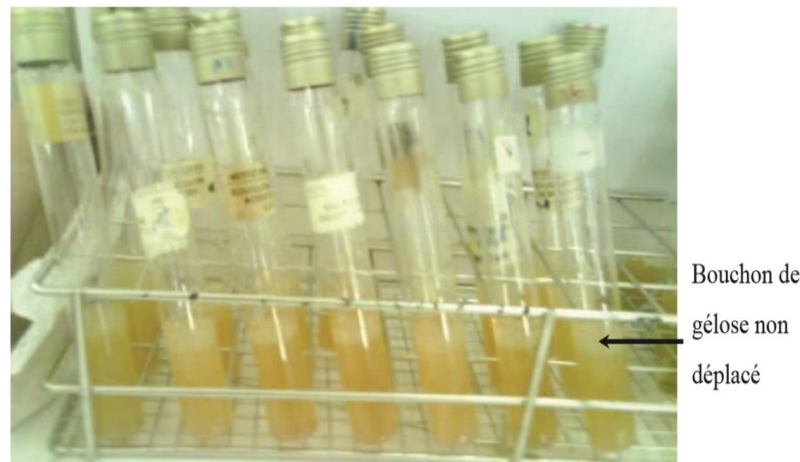


Figure 15 : Résultat de type fermentaire des lactobacilles (type homofermentaire) (Bahri, 2014).

Selon **De Vos et al., (2009)**, le test de Gibson Abdelmalek ne détermine pas le caractère obligatoire ou facultatif du type fermentaire. Par ailleurs, les Lactobacilles se subdivisent selon leur type fermentaire en trois groupes, suivant la classification d'Orla-Jensen remaniée par Kandler et Weiss et donnée par le Bergey's Manuel de la Systématique Bactérienne « les Firmicutes » :

- *Lb acidophilus*, *Lb gasseri*, *Lb ruminis* et *Lb salivarius* sont homofermentaires obligatoires.
- *Lb casei*, *Lb paracasei*, *Lb paracasei sp paracasei* et *Lb plantarum* sont homofermentaires et hétérofermentaires facultatifs.
- *Lb brevis*, *Lb fermentum*, *Lb reuteri* et *Lb vaginalis* sont hétérofermentaires obligatoires.

Selon **De Vos et al., (2009)** et **Nanatani et Abe, (2011)**, certaines espèces sont homofermentaires (homolactiques) ne produisant que l'acide lactique d'autres hétérofermentaires (hétérolactiques) produisant de l'acide acétique, de l'acétaldéhyde, de l'éthanol et du dioxyde de carbone (CO₂) à côté de l'acide lactique.

III.2.3 Résultat de fermentation des sucres

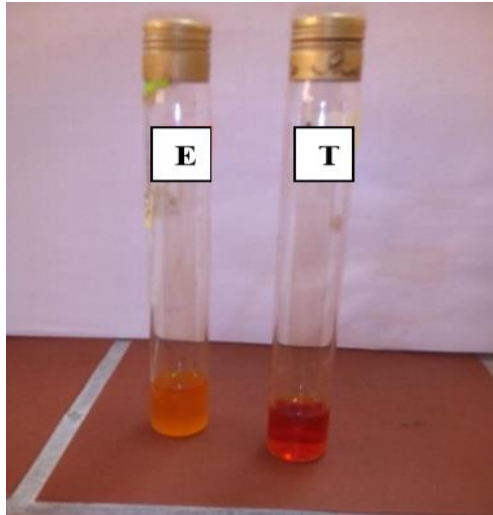


Figure 16 : Résultat de fermentation des sucres (E échantillon, T témoin) (Bennai et Temine, 2017).

Selon **Boulouf (2016)**, toutes les souches de lactobacilles testées, sont capables de dégrader le glucose, saccharose, mannitol, sucrose, maltose, lactose, mannose, dextrine.

L'espèce *Lb plantarum* est capable de dégrader le saccharose, le mannitol, le maltose, le lactose et l'espèce *Lb rhamnosus* est capable à dégrader le mannitol, lactose, maltose et sucrose (**Stiles et Holzappel, 1997**).

D'après **Litopoulo-Tzanetaki et Tzanetakis (2011)**, *Lb casei* est capable de dégrader le mannitol, le maltose, le lactose, et le saccharose.

III.3 Résultats des caractères physiologiques

III.3.1 Résultat de la croissance à différentes températures

Selon **Tailliez (2004)**, la plupart des lactobacilles se multiplie dans une gamme de températures comprise entre 15 °C et 42 °C. Certaines souches de lactobacilles dites « thermophiles » restent viables à 55 °C.

La température optimale de croissance des lactobacilles est généralement comprise entre 30 et 40°C, elle est de 37°C pour la plupart des espèces. Néanmoins, une culture peut être observée à des températures allant de 2 à 53°C chez certaines espèces (**Collins et Falsen, 2009**).

D'après **Larpent et Bourgeois (1989)**, les souches du genre *Lb* se cultivent à 7 °C, 15 °C, 30 °C et 45°C. Une culture de lactobacille peut être observée à des températures allant de 2 à 53°C (**De Roissart et Luquet, 1994**).

III.3.2 Résultat de la croissance à différents pH

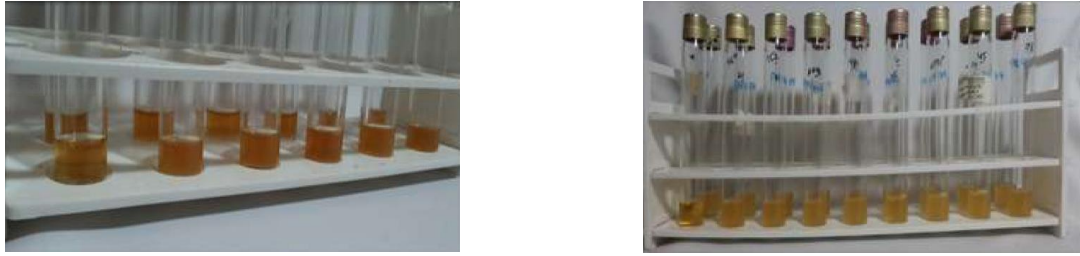


Figure 17 : Résultat de croissance à différents pH (4.6 à droite et 9.6 à gauche) (Brahimi, 2015).

Selon **Van de Guchte et al., (2002)**, les lactobacilles sont naturellement bien adaptés à des pH bas par leurs production d'acide(s) organique(s) lors de la fermentation lactique.

Par conséquent, chez l'Homme après ingestion, les lactobacilles rencontrent un autre environnement acide, l'estomac, et certaines souches peuvent s'adapter au pH stomacal très bas (**Nanatani et Abe, 2011**).

D'après **Lim et al., (2000)** ; **Lorca et al., (2002)**, les lactobacilles peuvent réagir au stress acide par trois mécanismes :

- En alcalinisant le milieu intracellulaire grâce aux ATPases.
- En limitant l'entrée des acides dans leur cytoplasme (**Nanatani et Abe, 2011**).
- En protégeant les macromolécules contre les dérivés chargés par les protéines chaperonnes dont la fonction est d'assister d'autres protéines en assurant un repliement spatial adéquat (**Lim et al., 2000** ; **Lorca et al., 2002**).

Selon **Larpent (2000)**, toutes les souches de lactobacilles présentent une très bonne croissance à pH= 5 mais aucune ne croit à pH 9= 6. En effet, les lactobacilles ne poussent pas à pH= 9. Le pH optimum de leur croissance est de 5.5 mais poussent aussi à pH neutre (**Collins et al., 2009**).

Selon **Larpent (2000)**, les lactobacilles croient à pH= 4.5, ce sont des acidotolérants, dont de nombreuses espèces sont impliquées dans des fermentations alimentaires (**Federighi et al., 2005**).

Les lactobacilles résistent à des pH acides allant jusqu'à 3.5 (**Leveau et Bouix, 1993**).

III.3.3 Résultat de la croissance à différents concentrations d'NaCl

Selon **Larpent et Bourgeois, (1989)**, Les lactobacilles peuvent résister à des concentrations de 4 à 10% de NaCl, ce qui induit leurs utilisations dans la préparation des saumures et en charcuterie (**Giraud et Rosec, 2004**).

III.4 Résultats des aptitudes technologiques

III.4.1 Résultat de pouvoir acidifiant

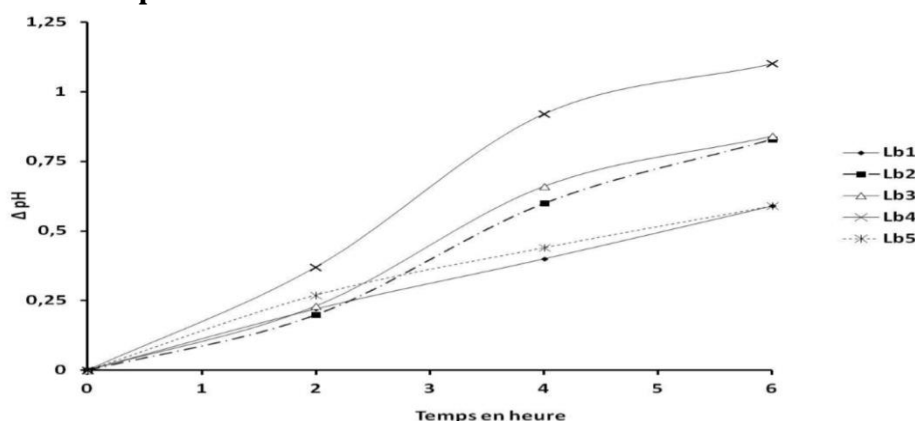


Figure 18 : Evolution de la variation du pH durant les six premiers heures des isolats du genre *Lactobacillus* (Lairini, 2014).

Selon **Lairini et al., (2014)**, les lactobacilles provoquent une diminution de pH de lait de 6.5 au 4.2, au bout de 24h de fermentation.

Selon **Boulouf (2016)**, les lactobacilles possèdent un pouvoir acidifiant important avec un degré d'acidité, qui se varie de 40°D à 67°D après 24h d'incubation à 37°C. Toutes les espèces du genre *Lactobacillus* testés, présentent une production progressive en acide lactique, cette dernière est accompagnée d'un abaissement du pH du milieu.

Après deux heures d'incubation à 37°C, les valeurs de pH ont diminuées de 6.77 à 6.63, en parallèle la quantité d'acide lactique produite se situe entre 1,5 g et 2,1 g d'acide lactique par litre de lait. Au bout de 24 h, les valeurs de pH se trouvent situées entre 4.65 et 5.46, de même la quantité d'acide lactique se situe entre 4.0 g/L et 6.7 g/L pour les lactobacilles. Ce caractère se diffère d'une espèce à une autre.

Selon **Mami (2013)**, la souche de *Lb plantarum* produit une valeur élevée d'acide lactique de 68°D (6.8 g/L) après 24 h d'incubation à 30°C, et de 130°D (13 g/L) après 48 h. Une étude de **Maghnia (2011)**, a montré un pouvoir acidifiant important des souches de lactobacilles, avec une concentration d'acide lactique de 59°D et un pH de 3.99, après une incubation à 37°C pendant 24 h.

D'après **Moon et al., (2012)**, l'espèce *Lb paracasei* ssp. *Paracasei* CHB2121 est une espèce prometteuse pour une production industrielle. Cette espèce produit 192 g/L d'acide lactique dans un milieu contenant 200 g/L de glucose.

III.4.2 Résultat de pouvoir protéolytique

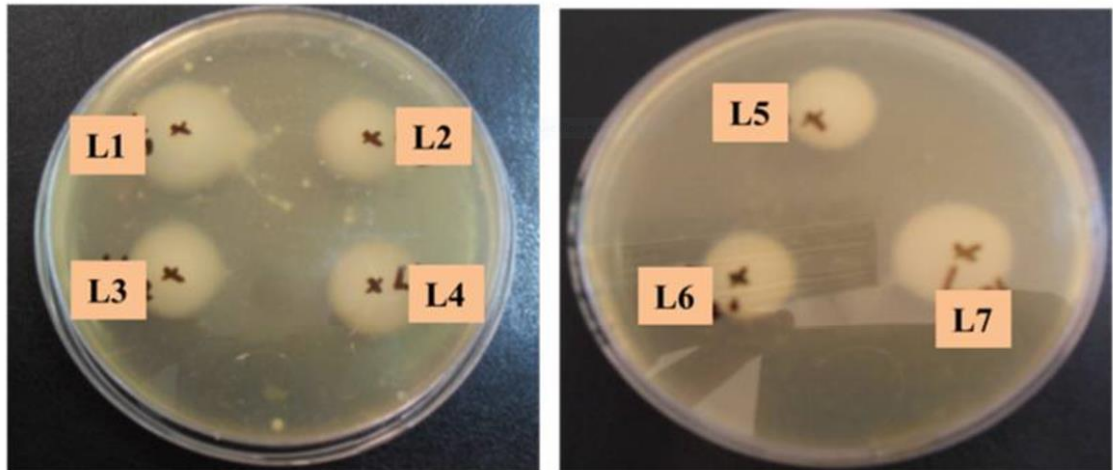


Figure 19 : Résultats d'activité protéolytique des lactobacilles (Boulouf, 2016).

Ces résultats montrent que les espèces du genre *Lactobacillus*, sont fortement protéolytique comparativement aux autres espèces, avec des valeurs entre 16,5 et 18,5 mm de diamètre (Boulouf, 2016).

Selon **Castberg et Morris (1976)**, les lactobacilles produisent généralement des protéinases neutres actives sur le α , β et γ caséine, mais l'intensité de leur activité est extrêmement variable d'une espèce à une autre.

D'après **Litopoulo-Tzanetaki et Tzanetakis (2011)**, les activités d'aminopeptidase sont largement dues aux lactobacilles.

L'activité protéolytique des bactéries lactiques est essentielle pour leur croissance dans le lait ainsi, que pour le développement des propriétés organoleptiques des différents produits laitiers (Savoy et Hébert, 2001 ; Hassaine et *al.*, 2007).

III.4.3 Résultat de pouvoir lipolytique

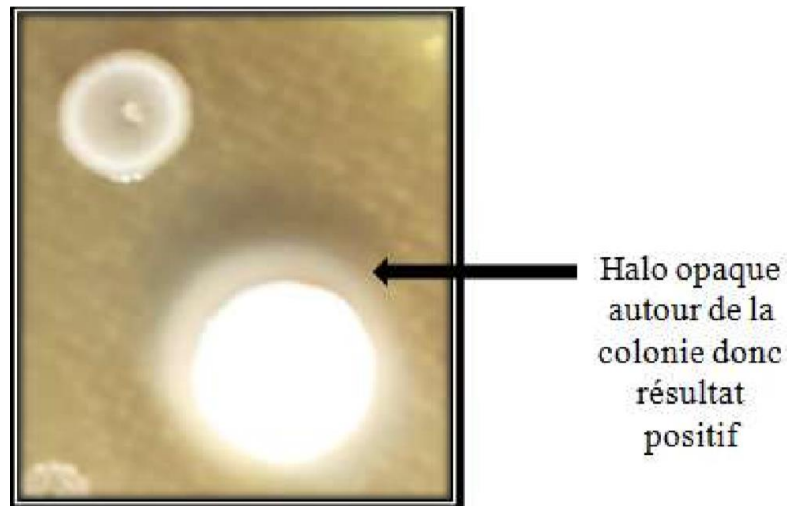


Figure 20 : Résultat d'activité lipolytique des lactobacilles (Brahimi, 2015).

Selon **Broadbent et Steele (2005)**, la plupart des souches lactiques ont de faibles activités lipolytiques et ont de très faibles activités estérolytiques, mais dans les fromages avec de long temps de maturation, elles peuvent produire des acides, et esters gras libres pour modifier les saveurs.

III.4.4 Résultat de pouvoir aromatisant (production d'acétoïne)

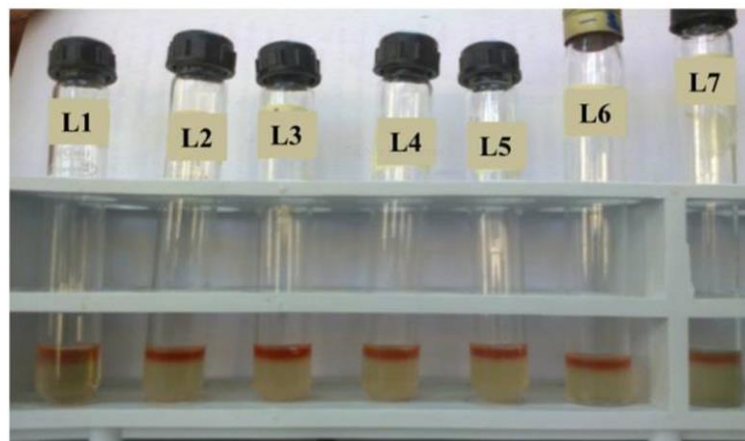


Figure 21 : Résultat de production d'acétoïne par les lactobacilles (Boulouf, 2016).

Selon **Boulouf (2016)**, les résultats de toutes les souches des lactobacilles étudiées arrivent à produire des arômes (acétoïne).

La majorité des lactobacilles produisent d'acétoïne en formant un anneau important sur milieu Clark et Lubs (**Maghnia 2011**).

D'après **Hammes et Hertel (2006)**, les lactobacilles peuvent participer à la fermentation malolactique, qui contribue à la saveur du cidre, ils peuvent également métaboliser le

citrate et le pyruvate, produisant l'acétate, le lactate et l'acétoïne. Des études ont montré que la production d'acétoïne à partir du pyruvate par *Lb. plantarum*. (Montville et al., 1987).

III.4.5 Résultat de pouvoir texturant

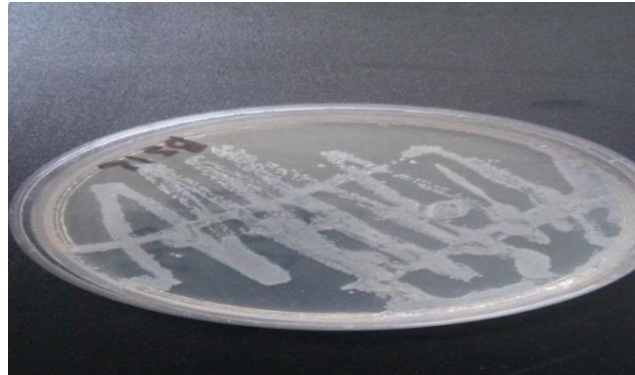


Figure 22 : Résultats de production des exopolysaccharides (colonies larges et gluantes) (Chekhckoukh et al., 2016).

Selon **Latreche (2016)**, la production d'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.

Le phénomène le plus favorable, à des nombreux processus industriels alimentaires, est la production des EPS par les bactéries lactiques (**Walling et al. 2001**).

D'après **Cerning (1990)**, la capacité des bactéries lactiques à synthétiser des exopolysaccharides (EPS), joue un rôle important pour les produits transformés, ceci afin d'améliorer la texture, éviter la synérèse et augmenter la viscosité des produits finis.

III.4.6 Résultat de pouvoir antibactérien

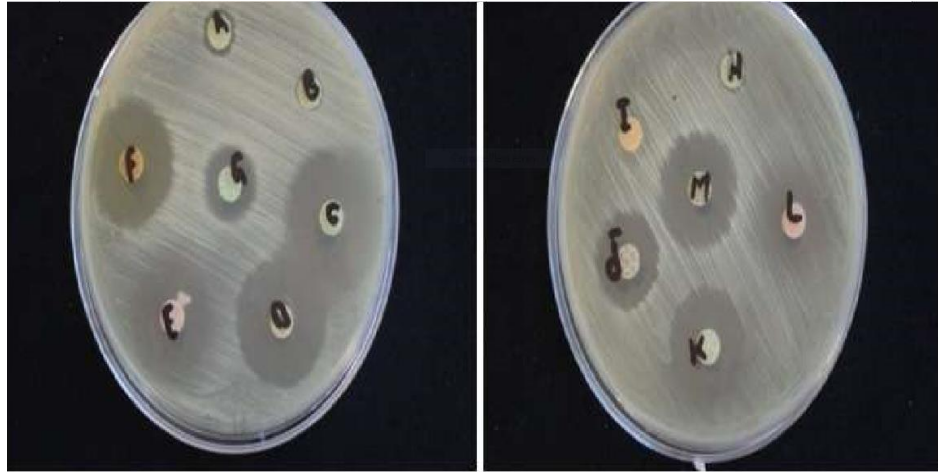


Figure 23 : Résultat d'activité antibactérienne (Brahimi, 2015).

Selon **Joffraud et al., (2006)**, l'activité antibactérienne peut souvent être due à la production des acides organiques, avec une réduction conséquente en pH, ou à la production des peroxydes d'hydrogène, elle peut également être due à la production des bactériocines ou de diacytile. Ceci suggère que les propriétés antibactériennes des bactéries lactiques fonctionnelles permettent, de réduire le nombre de d'autres microorganismes indésirables, dont les produits laitiers, ainsi d'effectuer un rôle essentiel dans la préservation de produits destinés à la consommation humaine.

Les propriétés inhibitrices des bactéries lactiques sont liées à différents mécanismes, comme la compétition nutritionnelle et la production de métabolites qu'elles produisent naturellement lors de la fermentation (**Méchai 2009**).

D'après **Podolak et al., (1996)** ; **Wilson et al., (2005)**, l'activité inhibitrice des lactobacilles peut avoir deux origines :

- La première est la production de l'acide lactique et/ou acétique, en effet les lactobacilles sont connus pour avoir une grande résistance au pH acide contrairement aux autres genres de bactéries lactiques.
- La deuxième provient de la production de substances organiques et probablement des bactériocines.

L'acide lactique provoque une détérioration par acidification, ainsi son effet inhibiteur dues principalement à sa forme, qui diffuse à travers la membrane cellulaire vers le cytosol et le rendre plus alcaline, et interfère avec les fonctions métaboliques essentielles. L'effet toxique de l'acide lactique comprend, la réduction de pH intracellulaire et dissipation du potentiel membranaire (**Jagoda-Suskovi et al., 2010**).

L'abaissement du pH dans le milieu MRS liquide à des valeurs entre 4.39 et 5.44, signifie que les lactobacilles possèdent un effet acidifiant en produisant des acides organiques. Cette diminution est due à la production de l'acide lactique à partir du glucose présent dans le milieu MRS, qui modifie le pH du milieu (**Heillig et al., 2005**).

Selon **Jinet et al., (1996)**, l'inhibition des lactobacilles à l'égard des souches pathogènes de *Salmonella* et *Escherichia coli*, est due à la production d'acides organiques par *Lactobacillus*.

D'après **Gudkow (1987)** et **Taylor (2005)**, *Escherichia coli* est inhibé par l'acide lactique à pH de 5.1.

Les potentialités inhibitrices naturelles par des tests d'interaction entre les bactéries pathogènes et les isolats de bactéries lactiques, permettent de remarquer que le diamètre des zones d'inhibition varie selon l'espèce (**Prioult 2003**).

Les souches de *Lb paracasei*, *Lb brevis* et *Lb plantarum* avaient des activités antibactériennes très intéressantes. Elles ont présenté des spectres d'activité actifs sur toute la collection des souches indicatrices testées, aussi bien les Gram positives que les Gram négatives, avec des zones d'inhibition de 6mm et plus, traduisant un bon ou fort potentiel antagoniste (**Bahri, 2014**).

CONCLUSION

L'utilisation des bactéries lactiques en industrie laitière a connu une énorme évolution dans les pays technologiquement avancés, l'exploitation de ce genre est par contre très limitée, dans certains autres pays comme l'Algérie, cette limitation concerne la diversité des produits présents sur le marché, mais également le nombre des souches introduites dans les produits laitiers, cela est lié aux contraintes posées par les bactéries lactiques entre autre les lactobacilles. **(Ladja et Rakhis, 2016)**. Des efforts considérables ont été consacrés pour affermir la compréhension de la physiologie, de la biochimie et de la génétique des bactéries lactiques. **(Bourel et al., 2001 ; Djadouni et Kihal, 2012)**.

Il est aujourd'hui possible de sélectionner, identifier et cultiver des germes pour toute sorte d'usage : alimentaire (starters de fermentation), médical (probiotiques) ou biotechnologique (production de molécules, bactériocines, polysaccharides. **(Hassan et Frank, 2001)**). La connaissance de nouvelles souches de bactéries lactiques, utilisées dans l'industrie agroalimentaire offre une nouvelle voie dans le domaine de la recherche scientifique en microbiologie appliquée, dont le but de produire à l'avenir de nouveaux produits **(Boulouf, 2016)**.

Le travail entrepris au cours de cette présente étude rétrospective, consiste à isoler les lactobacilles à partir d'un lait fermenté (lait caillé) et tester les caractères physiologiques (croissance à différentes températures, pH, NaCl), et biochimiques (test de la catalase, type fermentaire, fermentation des sucres) de différentes souches appartenant à ce genre, puis évaluer leurs aptitudes technologiques (pouvoir acidifiant, protéolytique, lipolytique, aromatisant, texturant, et pouvoir antibactérien).

Les résultats obtenus sont une synthèse bibliographique qui a montré que les lactobacilles, comme tous les bactéries lactiques possèdent une catalase négative, Gram positif, ils peuvent être homofermentaires ou hétérofermentaires selon l'espèce étudiée, ils ont une grande capacité à métaboliser plusieurs sucres. Les lactobacilles peuvent s'adapter à des pH très bas, certaines espèces sont mésophiles et d'autres sont thermophiles, et ils peuvent résister dans des milieux hypersalés.

D'après plusieurs auteurs qui ont réalisé des études extensives sur les aptitudes technologiques des lactobacilles, nous constatons la présence d'un pouvoir acidifiant actif, un pouvoir protéolytique bien prononcé, un pouvoir lipolytique faible généralement comme toutes les bactéries lactiques. Un pouvoir aromatisant très important par la production de plusieurs substances aromatisantes et majoritairement l'acétoïne, un pouvoir texturant qui se caractérise par l'augmentation de viscosité suite à la production des exopolysaccharides, et finalement un pouvoir antibactérien majeur contre de nombreuses bactéries pathogènes, par des mécanismes multiples ce qui sert surtout à la bioconservation des aliments.

Comme perspectives, nous proposons de :

- Faire des études sur les bactéries lactiques en générale, pour atteindre une connaissance mieux sur les différentes espèces de lactobacillus.
- L'exploration et l'utilisation des nouvelles techniques, dans l'étude des caractères morphologique, culturaux, physiologiques et biochimiques, ce qui aide à l'identification et la compréhension des exigences et propriétés des bactéries lactiques
- Une étude plus approfondie des propriétés technologiques, ce qui aide à développer le domaine industriel et même le domaine de santé.
- Faire des essais extensifs pour une sélection plus précis des souches performantes, dans les différents champs technologiques et aussi la création de nouveaux produits.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Alais C, (1984) :** Science du lait, principes des techniques laitières, 4ème Edition, SEPAIC, Paris, 814p.
- Badis A, Laouabdia-Sellam N, Guetarni D, Kihal M et Ouzrout R, (2005) :** Caractérisation phénotypiques des bactéries lactiques isolés à partir du lait cru de chèvre de deux populations caprines locales « arabia et kabyle », 30-27p.
- Bahri F, (2014) :** Isolement et caractérisation des souches de lactobacilles à caractères probiotiques à partir de selles d'enfants, doctorat, université de Constantine, 65-66p.
- Barinov A, Bolotin A, Langella P, Maguin F et Van De Guchte, (2011) :** Genomic of the genus lactobacillus, in « lactic acid bacteria and bifidobacteria », Caister academic press edition, Norfolk, United Kingdom, 3-32p.
- Belyagoubi L, (2014) :** Antibiotiques produits par des bactéries (actinomycètes et bactéries lactiques) issus de différents écosystèmes naturels algériens, université de Tlemcen, Doctorat 209p.
- Benabbou A, (2012) :** Antibiorésistance des bactéries lactiques isolées de produits artisanaux algériens, Oran, Magister, 121p.
- Benkerroum N, Mekkaoui M, Bennani N et Hidane k, (2004) :** Antimicrobial activity of camel's milk against pathogenic strains of Escherichia coli and Listeria monocytogenes, Int, J, Dairy biotechnol,1, 39-43p.
- Bennai T et Temine S, (2017) :** Isolement des souches de lactobacilles performants, université de Bejaïa, Master, 18-27p.
- Boulouf A, (2016) :** Etude du pouvoir technologique de quelques bactéries lactiques du fromage traditionnel « BOUHEZZA », Master, université de Constantine, 55 -71p.
- Bourgeois C, Mescle JF et Zucan, (2000) :** Microbiologie alimentaire, aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité alimentaire, Lavoisier, Paris, 422p.
- Bouricha H, (2018) :** Caractérisation du lait cru de la ferme expérimentale de « Hassi Mamèche » Précisément la flore thermophile et mésophile, Master, 37p.
- Bourel B, Hedouin, Martin-Bouyer L, Becart A, Tournel D, Deveaux M et Gosset D, (2000) :** Effects of morphine in decomposing bodies on the development of *Lucilia sericata* (diptera caliphoridae), 354-358p.
- Brahimi S, (2015) :** Isolement et caractérisation biotechnologique des bactéries lactiques isolés à partir des margarines d'olive (Amoredj) fermentés, Magister, université d'oran, 111-146p.
- Broadbent, J et Steele J, (2005):** Cheese flavour and the genomics of lactic acid bacteria, 121-128p.
- Carr FJ, ChilL, D et Maida N, (2002):** The lactic acid bacteria, A literature survey Critical Rev. Microbiol, 281-370p.

- Casaburi A, Di Monaco R, Cavella S, Toldra F, Ercolini D et Villani F , (2008) :** Proteolytic and lipolytic starter cultures and their effect on traditional fermented sausages ripening and sensory traits, food microbiology, 335-347p.
- Castberg HB et Morris HA, (1976) :** Degradation of milk proteins by enzymes from lactic acid bacteria used in cheese-making, 85-90p.
- Cerning J, (1990) :** Exocellular polysaccharide produced by lactic acid bacteria, Microbiol. Rev, 113-130p.
- Chammas GI, Saliba R et Béal C, (2006) :** Characterization of the fermented milk-Laban with sensory analysis and instrumental measurements, 156-162p.
- Chekhcough M, Zitouni A et Souici NR, (2016) :** Intérêt technologique des bactéries lactiques du lait de chamelle, Master, université de Mostaghanem, 10p.
- Clark BR, Esumeh F et Roberts IS, (2000):** Journal of bacteriology, 182p.
- Collins MD, Falsen E, (2009):** Genus *Vagococcus*, bergey's manual of systematic bacteriology, the firmicutes, second Edition, Vol 3, Springer.
- Conte S, (2008) :** Evaluation des caractéristiques organoleptiques, physico-chimiques et microbiologiques du lait caillé traditionnel, Magister, 19p.
- Corrieu G, (2005) :** Les bactéries lactiques et probiotiques, Tec &Doc, Paris, 26-28p.
- Corrieu G et Luquet FM, (2008) :** The taxonomy of lactic acid bacteria, in « bactéries lactiques, de la génétique aux ferments », Tec & Doc, Lavoisier Edition, Paris, 19- 106p.
- Dal Bello F, Walter J, Hammes WP et Hertel C, (2003) :** Increased complexity of the species composition of lactic acid bacteria in human feces revealed by alternative incubation condition, 455-463p
- De Angelis M et Gobbetti M, (2004) :** Environmental stress responses in *Lactobacillus*, 22-106p.
- Débarras C, (2014) :** Pratique en microbiologie de laboratoire. Recherche de bactéries et de levures-Moisissures, Editions Lavoisier, 65p.
- Dellaglio F et Felis G, (2005) :** Taxonomy of lactobacilli and bifidobacteria, issues intestinal microbial, Verona, Italy 44-61p.
- De Roissart H et Luquet FM, (1994) :** Bactéries lactiques, Lorica, Uriage, 1-6p.
- De Vos P, Garrity GM, Jones D, Krieg NR, Ludwig W, Rainey FA, Schleifer KH et Whitman WB, (2009) :** Genus *Lactobacillus*, *Bacillus* and *Listeria*, in « bergey's manual of systematic bacteriology-the firmicutes », springer Ed, New York, 19-511p.
- Djadouni F et Kihal M, (2012) :** Antimicrobial activity of lactic acid bacteria and the spectrum of their bio peptides against spoiling germs in food, 435-443p.
- Dieng, 2001 :** étude de la qualité des laits caillés artisanaux fabriqués par GIE des éleveurs de Nguékouh, mémoire de DEA, production animal, Dakar.

- Dridier D et Prevost H, 2009** : bactéries lactiques, physiologie, métabolisme, génomique et applications industrielles, *ecomomica*, chapitreII, 593p.
- FAO, (2000)** : Codex alimentarius, lait et produits laitiers, 2^{ème} Edition, Rome, 136p.
- FAO/OMS, (2001)** : Health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria, food and agriculture organization of the United Nations and world health organization, working report, Cordoba, Argentina.
- Federighi M. Magras C et pilet f, (2005)** : Bactériologie alimentaire, compendium d'hygiène des aliments, 2^{ème} Edition, Paris, 220p.
- Fleming HP, Etchells JL et Costilow RN, (1975)**: Microbiol Inhibition by an Isolate of pediococcus from Brines, 1040-1042p.
- Jagoda Suskovi, Jasna B, Lebo-Pavunc A, Habjani K, Mato S, (2010)**: Antimicrobial Activity – The Most Important Property of Probiotic and Starter Lactic Acid Bacteria Food Technol, *Biotechnol*, 296-307p.
- Jinet A, Champagne CP, Girard F et Morin N, (1996)** : Bacteriophage development in an immobilized lactic acid bacteria system, *Biotechnol*, 463p.
- Joffraud JJ, Cardinal M, Cornet J, Chasles JS, Léon S, Gigout F, Leroi F, (2006)**: Effect of bacterial interactions on the spoilage of cold-smoked salmon, *International Journal of Food Microbiology*, 51-61p.
- Hadef S, (2012)** : Evaluation des aptitudes technologiques et probiotiques des bactéries lactiques locales. Thèse de magister. Université Ouargla, 135p
- Hadjidj S et Mabrek A, (2019)** : Identification des bactéries probiotiques présente dans la propolis (lactobacilles), Master, université de Borg Bouareredj, 22p.
- Hamedi AR, (2009)** : Etude des potentiel probiotique et technologiques des lactobacilles isolés du lait cru de chamelle, Magister université d'Oran, 41p. 205p.
- Hammes WP et Hertel C, (2006)**: The genera *Lactobacillus* and *Carnobacterium*, 320-403p.
- Hassan AN et Frank JF, (2001)** : Starter cultures and their use in applied dairy microbiology, 2^{ème} Edition, Marcel Dekker, 151-
- Hassaine O, Zadi-Karam H, et Karam NE, (2007)** : Technologically important properties of lactic acid bacteria isolated from raw milk of three breeds of Algerian dromedary (*Camelus dromedarius*). *Afr. J. Biotechnol.* 6 (14) : 1720-1726P.
- Hassaine O, (2013)** : Caractéristiques d'intérêt technologiques de souches de bactéries lactiques isolés de lait camelin du sud Algérie, Doctorat, université d'Oran, 180p.
- Heilig LF, D'ambrosia R, Drake AL et Dellavalle RP, (2005)** : Inhibitory Effect of Metabolites from Probiotics *Lactobacillus acidophilus* Strains on Growth of Pathogenic Bacteria, 533-540p.
- Hennine Y et Serière H, (2017)** : Isolement et caractérisation des bactéries lactiques dans le smen traditionnel algérien, Master, 31p.

- Holzapfel WH et Wood BJ, (1995) :** The genera of lactic acid bacteria, Springer-Verlag, 1er Edition.
- Holzapfel WH, Haberer P, Geiseu R., Bjorkroth J et Schilinger U, (2001) :** Taxonomy and important features of probiotic microorganisms in food and nutrition, the American journal of clinical nutrition, 365-373p.
- Galvez A, Abriouel H, Ben Omar N et Lucas R, (2011) :** food applications and regulations, Springer Verlag, Spain, 253-390p.
- Gérard D, (2001) :** Lait, nutrition et santé, Edition tec& doc, Paris, 566p.
- Gudkow AV, (1987) :** Starters as mean controlling contaminating organisms, Milk- the vital force, 83-93p.
- Guessas B, Hadadji M, Saidi N et Kihal M, (2006) :** Inhibition of Staphylococcus aureus Growth by Lactic Acid Bacteria in Milk, Dirasat, Agricultural Sci, 304-312p.
- Guiraud JP, (1998) :** Microbiologie alimentaire, Edition Dunod, 91-292p.
- Guiraud JP et Rosec JP, (2004) :** Pratiques des normes en microbiologie alimentaire AFNOR, 241p.
- Kanahi M et Viji N, (2014) :** Isolation et caractérisation of bacteriocine producing lactobacilli from dairy butter sample, international journal of pharmaceuticalsciences, 183-186p.
- Kandler O et Weiss N, (1989) :** Genus lactobacillus, bergey's manual of systematic bacteriology, Vol 2, 9ème Edition, Baltimore, USA.
- Kassas Z, (2017) :** Croissance de souches de bactéries lactiques d'intérêts technologiques et/ou probiotiques sur MRS végétal modifié, université de Badji Mokhtar-Annaba, 158p.
- Ladja A et Rakhis S, (2016) :** Etude de quelques propriétés probiotiques de quelques souches lactobacillus isolés de lait de chamelle et de chèvre, Master, université de Mostaganem.
- Lairini S, Beqqali N, Bouslamti R, Bekhou R, Zerrouq F, (2014) :** Isolement des bactéries lactiques à partir des produits laitiers traditionnels marocains et formulation d'un lait fermenté proche de kefir, Maroc, 272p.
- Lane CN et Fox PF, (1996) :** Contribution of starter and adjunct lactobacilli to proteolysis in cheddar cheese during ripening, international dairy journal, 715-728p.
- Larpent JP et Bourgois CM, (1989) :** Microbiologie alimentaire, Les fermentations alimentaires.
- Larpent J.P, (1997) :** Microbiologie alimentaire, Tec & doc, Lavoisier, Paris, 10-72p.
- Larpent JP, (2000):** Introduction à la nouvelle classification bactérienne, Les principaux groupes bactériens, 180p.
- Latreche B, (2016) :** Caractérisation des bactéries lactiques isolées du beurre cru, évaluation de leurs aptitudes technologiques et leur utilisation dans la fabrication de la crème sure, Magister, université de Constantine.

- Law J et Hanndrikman A, (1997) :** Proteolytic enzymes of lactic bacteria, international dairy journal, 1-7p.
- Leveaux JY et Bouix M, (1993) :** Microbiologie industrielle, les microorganismes d'intéret industriel, Edition Tec & Doc, Lavoisier, 170-181p.
- Lim EM, Ehrlich SD, Maguin E, (2000):** Identification of stress-inducible proteins in *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *Bulgaricus*, 2557-2561p.
- Luquet FM et Corrieu G, (2005) :** Bactéries lactiques et probiotiques, Edition Tec & doc, Lavoisier, 307p.
- Lorca GL, Font de Valdez G, Ljungh A, (2002) :** Characterization of the protein-synthesis dependent adaptive acid tolerance response in *Lactobacillus acidophilus*, J. Mol. Microbiol. Biotechnol, 525-537p.
- Lynch CM, Mc Sweeney P, Fox PF, Cogan TM et Drian FD, (1997) :** Contribution of starter lactococci and non-starter lactobacilli to proteolysis in cheddar cheese with a controlled microflora, 441-459p.
- Maghnia D, (2011) :** Etude de potentiel technologique des bactéries lactiques isolées des aliments fermentés traditionnels algériens, Magister, Université d'Oran, 126p.
- Makhloufi KM, (2012) :** Caractérisation d'une bactériocine produite par une bactérie lactique *Leuconostoc pseudomesenteroide* isolé du boza pierre et marrie curie, Doctorat, Paris, 229p.
- Mami A, 2007 :** Le biocontrôle de *Staphylococcus aureus* par les bactéries lactiques du genre *Lactobacillus* isolé du lait cru de chèvre, Magister, université d'Oran, 1-156p.
- Mami A, (2013) :** Recherche des bactéries lactiques productrices de bactériocines à large spectre d'action vis-à-vis des germes impliqués dans les toxi-infections alimentaires en Algérie. Doctorat, Université d'Oran, 176p.
- Marshall VN et Rawson HL, (1999) :** Effects of exopolysaccharides producing strains of thermophilic lactic acid bacteria on the texture of stirred yogurt, Int food sci technol, 137-143p.
- Mechai A, (2009) :** Isolement, caractérisation et purification de bactériocines produites par des bactéries lactiques autochtones, études physiologiques et biochimiques, Doctorat, Badji Mokhtar-Annaba, 99p.
- Mehhadi D et belkediem A (2019) :** Etude in vitro d'effet des enzymes digestives sur la survie des lactobacilles isolés du lait de vache, Master, université de Mostaghanem, 27p.
- Moon SK, Wee YJ et Choi GW, (2012):** A novel lactic acid bacterium for the production of high purity L-lactic acid, *Lactobacillus paracasei* subsp *paracasei* CHB2121, Journal of Bioscience and Bioengineering, 155-159p.
- Monnet V, Latrille E, Beal C et Corrieu G, (2008) :** croissance et propriétés fonctionnelles des bactéries lactiques, Tec & Doc, Lavoisier, Paris, 512-592p.

- Montville TJ, Meyer ME, Hsu A et Huang GT, (1987):** High pressure liquid chromatography and wide bore capillary gas-liquid chromatography methods for quantification of acetoin and diacetyl from bacterial cultures, 1- 8p.
- Muthukumarasamy P et Holley RA, (2006) :** Microbiological and sensory quality of dry fermented sausages containing alginate-microencapsulated *Lactobacillus reiteri*, international journal of food microbiology, 164-169p.
- Nanatani K et Abe K, (2011) :** Energy generation coupled with decarboxylation reaction in lactic acid bacteria. In « Lactic Acid Bacteria and Bifidobacteria: Current Progress in Advanced Research » Sonomoto and Yokota, Norfolk, United kingdom, 67-88 p.
- Ozen MO, (1992) :** Effects of substrat concentration on growth and lactic acid production pyramired cultures of *Lactobacillus bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus*, j.chem technol et biotachnol, 57-61p.
- Ozgan D et Vural HC, (2011) :** Identification of lactobacillus strains isolated from fecal specimens of babies and human milk colostrum by APL 50CHL system, 46-49p.
- Podolak PK, Zayas JF, Kastner CL. et Fung DYC, (1996):** Inhibition of *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli* O157:H7 on beef by application of organicacids. J. Food Prot, 370-373p.
- Prioult G, (2003) :** Effet des probiotiques sur l'induction et le maintien de la tolérance orale à la β -lactoglobuline chez la souris et étude de leurs mécanismes d'action, Doctorat, Université Laval, Canada, 157p.
- Rehman S, Mcsweeney P, Banks JM, Brechany EY, Muir DD et Fox PE, (2000) :** Ripenind of cheddar cheese made from blens of raw and pasteurized milk, international dairy journal, 33-44p.
- Roudj S, Belkheir K, Zadi, Karam H et Karam NE, (2009) :** Protéolyse et autolyse chez deux lactobacilles isolé de lait camelin du sud-ouest Algérie, European.j.sci, 218-227p.
- Savoy N, De Giori G et Hébert M, (2001):** Methods to determine proteolytic activity of lactic acid bacteria, Methods in biotechnology, Humana Press, Totowa, 197-202p.
- Samelis, J. Maurogenakis, F et Metaxopoulos J, (1994):** Characterization of lactic acid bacteria isolated from naturally fermented Greek dry salami, Int Food Microbiol, 179-196p.
- Scholl D, Rogers S, Adhya S et Merrill CR, (2001) :** Journal of virology, 2509-2515p.
- Seydi MG et Ndlaye M, (1993) :** Acidité et flore microbienne du ladit reconstitué caillé artisanal sénégalais, Dakar, 61-67p.
- Siegumfeldt H, Rechinger KB et Jakobsen M, (2000) :** Dynamic changes of intracellular pH in individual lactic acid bacterium cells in response to a rapid drop in extracellular pH, Appl, environnement, microbial, 66, 2330-2335p.
- Stilles ME et Holzapfel WH, (1997):** Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy, int.J.food microbiol, 1-29p.

- Streit F, (2008):** Influence des conditions de récolte et de concentration sur l'état physiologique et la cryotolérance de *Lactobacillus delbruekii* subsp. *blugaricus* CF11, Doctorat, institut des sciences et industries du vivant et l'environnement, Paris.
- Syngai GG, Gopi R, Bharali R et Dey S, (2015) :** Probiotics the versatile functional food ingredients, journal of food science and technology, 921-933p.
- Tailliez P, (2004) :** Les lactobacilles : propriétés, habitats, rôle physiologique et intérêt en santé humaine, Actualités microbiologiques, 35-41p.
- Tamime AY, (1990) :** Microbiology of starter culture, dairy microbiology, London,131-201p.
- Tannock GW, (2005) :** Probiotics and prebiotics: scientific aspects, Caister academic press, and Wymondham.
- Taylor MJ, Bandi C et Hoerauf A, (2005) :** Wolbachia bacterial endosymbionts of filarial nematodes, Adv in Parasitol, 245-284p.
- Temmar A, (2007):** Probiotic dairy products, dairy science and technology consultant, Ayr, UK, Blackwell publishing, LTD, 216p.
- Tourneur C, (1972) :** Aptitude à la protéolyse des bacilles présents dans les fromages et les lactosérums de fromage, 149-174p.
- Van den Berg DJ, Robin GW, Janssen , A, Giuseppin, M L, Vreeker, R, Kamerling JP, Vliegthart JF, Ledebor AM et Verrips CT, (1995):** Production of a novel extracellular polysaccharide by *Lactobacillus sake* 0-1 and characterization of the polysaccharide, Appl, Environ. Microbiol, 61:2840-2844p.
- Van de Guchte M, Serror P, Chervaux C, Smokvina T, Ehrlich SD, Maguin E, (2002):** Stress responses in lactic acid bacteria, 187-216p.
- Vignola CL, (2000) :** Science et technologie du lait : transformation du lait, presse international polytechnique, Montréal, 600p.
- Walling EG, Indreau E et Lonvaud-Funel A, (2001) :** La biosynthèse d'exopolysaccharides par des souches de *pediococcus damnosus* isolées du vin : mise au point de d'outils moléculaires de détection, Inra, 289-300p.
- Wilson AR, Sige D et Epton Ha, (2005):** Anti-bacterial activity of *Lactobacillus plantarum* strain SK1 against *Listeria monocytogenes* is due to lactic acid production, J. Appl. Microbiol, 99: 1516-1522p.
- WGO, 2008 :** World gastroenterology organisation, probiotiques et probiotiques recommandation, pratiques.
- Zalacain I, Zapelene MJ, Asitiasaran I et Bello J, (1996):** Addition of lipase from *candida cylindracea* to a traditional formulation of a dry fermented sausage, meat science, 42, 155-163p.
- Zamfir M, Vancanneyt M, Makras L, Vaningelgem F, Lefebvre K, POT B, Swings J and De Vuyst L, (2006) :** Biodiversity of acid bacteria in Romanian dairy products, système, appl, microbiol, 487-495p.

ANNEXES

Annexe N° 1 : Milieux de Cultures**Milieu MRS : pH=6.5 +/- 0.2 (formule en g/L d'eau distillé)**

Composition du milieu de culture	Valeur (g)
Peptone	10
Extrait de Viande	10
Extrait de Levure	5
Glucose	20
Phosphate dipotassique	2
Acétate de sodium	5
Tween 80	1
Citrate d'ammonium	2
Sulfate de magnésium	0.2
Sulfate de manganèse	0.1
Agar	15

Milieu Gibson Abdelmalek : pH=7 (formule en g/L d'eau distillé)

Composition du milieu de culture	Valeur (g)
Extrait de levure	2.5
Glucose	50
Jus de tomate	100
Lait écrémé	50
Gélose nutritive	200

Lait Ecrémé : (formule en g/L d'eau distillé)

Composition du milieu de culture	Valeur (g)
Lait écrémé En Poudre	10
Extrait de levure	0.5

Eau Physiologique : (formule en g/L d'eau distillé)

Composition du milieu de culture	Valeur (g)
Chlorure de sodium	8.5
Peptone	0.5

Milieu Clark Et Lubs : pH=6.8 (formule en g/L d'eau distillé)

Composition du milieu de culture	Valeur (g)
Peptone	5
Phosphate dipotassique	5
Glucose	5

Bouillon Nutritif : pH=7.4 (formule en g/L d'eau distillé)

Composition du milieu de culture	Valeur (g)
Extrait de levure	2
Extrait de viande	1
Peptone	5
Chlorure de sodium	5

Milieu Hypersaccharosé : pH= 6.8 (formule en g/L d'eau distillé)

Composition du milieu de culture	Valeur (g)
Extrait de viande	10
Extrait de levure	3
Peptone	2.5
Saccharose	150
Phosphate dipotassique	2
Chlorure de sodium	1
Sulfate de magnésium	0.2
Agar	15

Gélose Nutritive: pH= 7.3+/- 0.2 (formule en g/L d'eau distillé)

Composition du milieu de culture	Valeur (g)
Peptone	10
Extrait de viande	3
Extrait de levure	3
Chlorure de sodium	5
Agar	18

Gélose blanche : (formule en g/L d'eau distillé)

Composition du milieu de culture	Valeur (g)
Gélose	15

Bouillon MRS : pH = 6.5 (formule en g/L d'eau distillé)

Composition du milieu de culture	Valeur (g)
Peptone	10
Extrait de viande	10
Extrait de levure	5
Glucose	20
Tween 80	1
Phosphate dipotassique	2
Acétate de sodium	5
Citrate triammonique	0.2
Sulfate de magnésium	0.05
Saccharose	5

Annexe N°2 : Réactifs, Indicateurs, Additifs et Solutions

- Alcool à 90°
- Chlorure de sodium NaCl
- Eau oxygénée H₂O₂
- Fushine
- Huile de paraffine
- Glycérol
- Phénolphtaléine

- Rouge de phénol
- Soude NaOH
- Violet cristal oxalaté
- vp1 : solution de soude (NaOH) à 16% dans l'eau distillé
- vp2 : réactif α -naphthol à 6% dans l'alcool absolu

Annexe N° 3 : Appareillage et Verrerie

- Fiole
- Boite de Petri
- Lame en verre
- Pipette pasteur
- Tube à essai
- Tube Eppendorf
- Micropipette
- Autoclave
- Balance électronique
- pH mètre
- Agitateur
- Etuve
- Centrifugeuse
- Bain-marie
- Microscope à immersion
- Bec Bunsen

Photos des appareils



Bain-marie



Agitateur magnétique



Autoclave



Centrifugeuse



Etuve



Bec Bunsen



Balance électronique



Microscope à immersion



pH-mètre

Photos de la verrerie



Boîte de Pétri



Tube à essai



Tube Eppendorf



Pipette Pasteur



Fiole



Lame en verre



Micropipette