



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique et Populaire  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
جامعة محمد البشير الإبراهيمي برج بو عريزيج  
Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi B.B.A.  
كلية علوم الطبيعة والحياة وعلوم الارض والكون  
قسم العلوم البيولوجية  
Département des Sciences Biologiques



# Mémoire

En vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie  
Filière : Sciences Biologiques  
Spécialité : Microbiologie appliquée

## Thème

**Caractérisation technologique de bactéries lactiques  
autochtones isolées à partir de différents produits alimentaires  
de la région de Bordj Bou-Arréridj**

Présenté par : LAOUBI Ferial et BENBELAID Sana

Devant le jury:

Président :	M. BOUBELLOUTA Tahar	MCA	Univ. de Bordj Bou-Arréridj
Encadrant :	M. ALILI Dahmane	MAB	Univ. de Bordj Bou-Arréridj
Examineur :	M. MERIBAI Abdelmalek	MAA	Univ. de Bordj Bou-Arréridj

Année universitaire : 2017/2018

# Remerciements

Au terme de ce travail, *nous* tenons à exprimer nos remerciements en premier lieu à ALLAH le tout puissant pour nous avoir illuminé et ouvert les portes du savoir, et pour nous avoir donné la volonté et le courage d'élaborer ce modeste travail.

*Nous* tenons à exprimer nos remerciements à notre Promoteur **Docteur ALILI Dahmane.**, Maître assistant B à l'Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi de B.B.A., pour le temps qu'il nous a consacré pour achever ce travail, ses précieux conseils et ses encouragements. Merci infiniment Monsieur.

*Nous* remercions également **M. BOUBELLOUTA Tahar** Maître de conférence A à l'Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi de B.B.A., pour l'honneur qu'elle nous a fait en acceptant de présider le jury de notre soutenance.

*Nos* sincères remerciements s'adressent à **M. MERIBAI Abdelmalek** Maître assistant A à l'Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi de B.B.A., nous sommes heureuses de votre présence parmi les jurys en tant qu'examinateur, veuillez accepter l'expression de notre considération.

*Nos* vifs remerciements vont également à **A nos familles**

*Nous* vous remercions pour votre soutien sans entaille.

Merci infiniment à tous

**Feriel et Sana**

## Dédicace

Je dédie ce modeste travail :

À mes chers parents

À Mon frère

À Ma sœur

Feriel

## Dédicace

Je dédie ce modeste travail :

À mes chers parents

À Mes frères

À Ma sœur

À ma nièce chérie

Sana

# Table de matières

<b>Liste des figures</b>	
<b>Liste des tableaux</b>	
<b>Liste des abréviations</b>	
<b>Résumés</b>	
<b>Introduction</b> .....	1
<b><u>Première Partie</u> : Partie bibliographique</b>	
<b>Chapitre 1. Les laits crus et la margine</b>	
1.1. Définition du lait.....	2
1.2. Comparaison entre les trois types du lait selon la composition .....	2
1.3. Généralité sur la margine.....	4
1.3.1. Définition de la margine.....	4
1.3.2. Origine de la margine.....	4
<b>Chapitre 2. Les bactéries lactiques</b>	
2.1. Généralité sur les bactéries lactiques.....	5
2.1.1. Caractéristique des bactéries lactiques.....	5
2.1.2. Origine et habitat des bactéries lactiques.....	5
2.1.3. Classification des bactéries lactiques.....	5
2.2. Intérêts des bactéries lactiques.....	9
2.2.1. Domaine alimentaire.....	9
2.2.2. Domaine de santé.....	9
<b>Chapitre 3. Les ferments lactiques</b>	
3.1. Définition d'un ferment .....	11
3.2. Type de ferments lactiques .....	11
3.3. L'effet de symbiose ou de proto-coopération entre <i>Streptococcus thermophilus</i> et <i>Lactobacillus bulgaricus</i> .....	12
<b><u>Deuxième partie</u> : Partie expérimentale</b>	
<b>Chapitre 4. Matériel et méthodes</b>	
<b>4.1. Matériel</b> .....	14
4.1.1. Matériel biologique.....	14
4.1.2. Produits chimiques.....	14
4.1.3. Matériel de laboratoire.....	14
<b>4.2. Méthodes</b> .....	16
4.2.1. Lieu de l'étude.....	16
4.2.2. Échantillonnage.....	16
4.2.3. Contrôle de la qualité microbiologique des échantillons.....	18
4.2.4. Isolements des bactéries lactiques.....	27
4.2.5. Purification des souches lactiques.....	30
4.2.6. Identification des bactéries lactiques.....	32
4.2.7. Étude des caractéristiques technologiques des souches lactiques autochtone isolées .....	33
4.2.8. Procédé de fabrication du yaourt.....	35
4.2.9. Contrôle physico- chimique des échantillons .....	36
<b>Chapitre 5. Résultats et discussion</b>	
5.1. Résultats du contrôle microbiologique des échantillons .....	39
5.2. Résultats du contrôle physico- chimique des échantillons .....	40
5.3. Résultats d'isolement et d'identification des souches lactiques.....	42

5.4. Résultats des aptitudes technologiques des souches lactiques.....	45
5.5. Résultats et interprétation sur la production d'un produit laitier « yaourt » à base de souches lactiques isolées de la région de Bordj Bou Arreridj.....	48
<b>Conclusion</b> .....	50
<b>Références bibliographiques</b>	
<b>Annexes</b>	

## Liste des abréviations

**AFNOR** : Association Française de Normalisation

**CMI** : Concentration Minimale Inhibitrice

**°D** : Degré Dornic

**EST** : Extrait Sec Totale

**GRAS** : Generally Recognized As Safe

**ISO** : The International Organization for Standardization

**JORADP** : Journal Officiel de la République Algérienne Démocratique et Populaire

*Lc.* : *Lactococcus*

*Lb.* : *Lactobacillus*

**MH** : MUELLER HINTON

**MAT** : Matières Azotées Totales

**MG** : La Matière Grasse

**mS** : milli Siemens

**MRS** : Man, Rogosa et Sharpe

**OMS** : Organisation Mondiale de la Santé

**PCA** : Plate Count Agar

*St.* : *Streptococcus*

**UFC** : Unité Formant des Colonies

**VRBG** : Violet Red Bile Agar

**VF** : Viande-Foie

## Liste des figures

<b>Figure n°1</b> : Arbre phylogénétique des principaux genres de bactéries lactiques et des genres associés, obtenu par analyse des ARNr 16S.....	7
<b>Figure n°2</b> : Schéma illustrant la proto-coopération entre <i>Streptococcus thermophilus</i> et de <i>Lactobacillus bulgaricus</i> en culture mixte dans le lait.....	12
<b>Figure n°3</b> : Ferme d'élevage bovin Achbour.....	16
<b>Figure n°4</b> : Lait cru de vache.....	17
<b>Figure n°5</b> : Lait cru de brebis et de chèvre.....	17
<b>Figure n°6</b> : Préparation des dilutions décimales.....	18
<b>Figure n°7</b> : Isolements de la flore totale aérobie mésophiles.....	20
<b>Figure n°8</b> : Isolement des coliformes totaux et fécaux.....	22
<b>Figure n°9</b> : Isolement des <i>Clostridium</i> sulfito-réducteurs.....	24
<b>Figure n°10</b> : Isolement des champignons.....	26
<b>Figure n°11</b> : Obtention du caillé, du lactosérum et de la margine.....	27
<b>Figure n°12</b> : Isolement de <i>Streptococcus thermophilus</i> .....	28
<b>Figure n°13</b> : Isolement de <i>Lactobacillus bulgaricus</i> .....	29
<b>Figure n°14</b> : Purification des bactéries lactiques.....	30
<b>Figure n°15</b> : Purification de <i>Streptococcus thermophilus</i> .....	31
<b>Figure n°16</b> : Purification de <i>Lactobacillus bulgaricus</i> .....	31
<b>Figure n°17</b> : Sensibilité des souches lactiques aux antibiotiques.....	34
<b>Figure n°18</b> : Le diagramme de fabrication du yaourt.....	35
<b>Figure n°19</b> : pH mètre.....	36
<b>Figure n°20</b> : Conductimètre.....	37
<b>Figure n°21</b> : Titration de l'acide organique par une base.....	38
<b>Figure n°22</b> : Caractères physico-chimique des laits crus.....	41
<b>Figure n°23</b> : Caractères physico-chimique de la margine.....	42
<b>Figure n°24</b> : Résultat du test de la catalase (absence d'effervescence).....	43
<b>Figure n°25</b> : Aspect macroscopique de <i>Lb. bulgaricus</i> .....	44
<b>Figure n°26</b> : Aspect macroscopique de <i>St. thermophilus</i> .....	44
<b>Figure n°27</b> : Aspect microscopique de <i>Lb. bulgaricus</i> .....	44
<b>Figure n°28</b> : Aspect microscopique de <i>St. thermophilus</i> .....	44
<b>Figure n°29</b> : Résultats de la sensibilité de <i>Streptococcus thermophilus</i> aux antibiotiques.....	46
<b>Figure n°30</b> : Courbe de pouvoir acidifiant des ferments classique du yaourt autochtones isolés.....	47
<b>Figure n°31</b> : Evolution de pH au cour du temps.....	47
<b>Figure n°32</b> : Résultat de l'analyse sensorielle du « yaourt » obtenu avec les ferments autochtones isolés.....	49



## Liste des tableaux

<b>Tableau I</b> : Composition globale du lait de différents mammifères en g.100 g <sup>-1</sup> de lait.....	3
<b>Tableau II</b> : Composition normale moyenne du lait de vache.....	3
<b>Tableau III</b> : Matériel lourd.....	15
<b>Tableau IV</b> : Les disques d'antibiotiques utilisés.....	34
<b>Tableau V</b> : Les résultats des analyses microbiologiques des laits crus (nombre des UFC/mL).....	39
<b>Tableau VI</b> : Les résultats des analyses microbiologiques de la margine.....	39
<b>Tableau VII</b> : Résultats d'analyse physico-chimique des laits crus.....	40
<b>Tableau VIII</b> : Résultats d'analyse physico-chimique de la margine.....	41
<b>Tableau IX</b> : Caractéristiques macroscopiques et microscopique de <i>Streptococcus thermophilus</i> et de <i>Lactobacillus bulgaricus</i> .....	43
<b>Tableau X</b> : Résultats de l'antibiogramme.....	45
<b>Tableau XI</b> : Pouvoir acidifiant des ferments .....	46
<b>Tableau XII</b> : Résultats de l'analyse sensorielle.....	48

# Résumés

## Résumés

Les produits laitiers ont toujours été perçus auprès des consommateurs comme des produits sains et constituent une partie importante du régime alimentaire. L'incorporation de bactéries probiotiques comme additifs alimentaires dans les différents produits laitiers a renforcé les propriétés acclamées pour la santé et donné lieu à une consommation de plus en plus importante de ces produits.

Notre travail a été un essai de mettre en valeur ces bactéries probiotiques (lactiques) à travers leurs isollements à partir des aliments locaux ; soit les laits crus de vache, brebis et chèvres de la région d'Achbour, et la margine d'El main « Adrer Sidi Idir »

Un contrôle microbiologique des échantillons dont on a déduit la bonne qualité microbiologique par l'absence de tout germes fécaux et pathogènes les plus redoutables tels que *Clostridium* sulfito-réducteurs agents causals de grave intoxications alimentaires.

Après isolement et purification des bactéries lactiques a intérêt industriel : *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus*.

Une étude des caractères technologiques de ces bactéries lactiques :

-Evolution de l'acidité au cours du temps, après 24h d'incubation, les valeurs de pH varient entre pH 6,7 et pH 5,5 ; en parallèle l'acidité se situe entre 10 et 25 °D.

-Résistance et sensibilité *Streptococcus thermophilus* aux différents antibiotiques.

Afin d'employer les bactéries étudiée, un essai de production de yaourt suivi d'une analyse sensoriel (texture, odeur et couleur) par la comparaison avec un yaourt industriel.

### Mots clés

Laits crus, margine, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus bulgaricus*, yaourt

## الملخص

طالما اعتبر المستهلكون منتجات الألبان منتجات صحية وهم جزء مهم من النظام الغذائي. وقد أدى دمج البكتيريا المعززة الحيوية كمضافات غذائية في منتجات الألبان المختلفة إلى تعزيز الخصائص المشهود لها بالصحة وأدى إلى زيادة استهلاك هذه المنتجات. لقد كان عملنا محاولة لعرض هذه البكتيريا الحيوية من خلال عزلتها عن الأطعمة المحلية. البقرة الخام والأغنام والماعز من منطقة أشبور، و هوامش الزيتون من منطقة "الدرار سيدي ايدير"

بعد الدراسة الميكروبيولوجية للعينات تم استنباط الجودة الميكروبيولوجية الجيدة من خلال عدم وجود أي جراثيم برازية وأخطر مسببات الأمراض مثل العوامل المسببة للتسمم الغذائي ال خطيرة. *Clostridium sulfito-réducteurs* بعد عزل وتنقية بكتيريا حمض اللبن ذات الأهمية الصناعي : *Streptococcus thermophiles* و *Lactobacillus bulgaricus*.

تمت دراسة الخصائص التكنولوجية لهذه البكتيريا اللبنية:

من خلال متابعة تطور الحموضة مع مرور الوقت، بعد 24 ساعة من الحضانة، تتراوح قيم الأس الهيدروجيني بين درجة الحموضة 6.7 ودرجة الحموضة 5.5؛ بالتوازي، تتراوح الحموضة بين 10 و25 درجة وأيضاً مقاومة وحساسية *Streptococcus thermophilus* لمختلف المضادات الحيوية. من أجل توظيف البكتيريا المدروسة، اختبار إنتاج اللبن يتبعه تحليل حسي (الملمس والرائحة واللون) بالمقارنة مع الزبادي الصناعي.

الكلمات المفتاحية

الحليب الخام، هوامش الزيتون، *Lactobacillus bulgaricus*، *Streptococcus thermophilus*، الزبادي

## Abstract

Dairy products have always been perceived by consumers as healthy products and are an important part of the diet. The incorporation of probiotic bacteria as food additives into the various dairy products has enhanced the health-acclaimed properties and has led to increased consumption of these products. Our work has been an attempt to showcase these probiotic (lactic) bacteria through their isolations from local foods; the raw cow, sheep and goat milk from the Achbur region, and the El hand margins "Adrer Sidi Idir" A microbiological control of the samples from which the good microbiological quality has been deduced by the absence of any fecal germs and most dangerous pathogens such as *Clostridium* causal agents of serious food poisoning. After isolation and purification of lactic acid bacteria of industrial interest: *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus bulgaricus*. A study of the technological characteristics of these lactic acid bacteria:

-Evolution of the acidity over time, after 24 h of incubation, the pH values vary between pH 6.7 and pH 5.5; in parallel the acidity is between 10 and 25 °D.

-Resistance and sensitivity *Streptococcus thermophilus* to different antibiotics. In order to employ the bacteria studied, a yogurt production test followed by a sensory analysis (texture, odor and color) by comparison with an industrial yogurt.

### Key words

Raw Milks, Vegetables, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus bulgaricus*, yogurt

# **Introduction**

### Introduction

Les bactéries lactiques sont fréquemment associées de manière positive à l'alimentation humaine, à travers la fermentation d'une grande variété de produits (**Ross *et al.*, 2002**). Elles sont présentes en tant que flore technologique dans les produits laitiers (yaourts, fromages), les produits carnés (charcuteries), les produits végétaux (choucroute, pickles, olives fermentées), les levains de panification et les boissons alcoolisées (vins, bières blanches, saké) (**Leroy et De Vuyst, 2004**).

Les bactéries lactiques présentent des activités métaboliques assez diversifiées et une capacité d'adaptation à différents environnements (**Axelsson, 1998**). Cette diversité est responsable de leur large gamme d'applications à l'échelle industrielle (comme ferments lactiques, probiotiques, agents de conservation) (**Streit, 2008**).

En Algérie, les ferments lyophilisés du yaourt sont jusqu'à présent importés à des prix très onéreux ors il est possible de les produire localement dans des bioréacteurs. Le but de cette présente étude est de contribuer à isoler, purifier et identifier des souches lactiques autochtones de la région de Bordj Bou Arreridj pour une application expérimentale.

Un lait fermenté avec des bactéries lactiques thermophiles isolées localement a été mis au point ainsi qu'une analyse sensorielle par un jury non averti.

La première étape de cette présente étude est orientée vers l'isolement, la purification et l'identification des bactéries lactiques ;

La seconde étape concerne l'étude des aptitudes technologiques des souches lactiques autochtones isolées ;

La troisième partie s'intéresse à l'analyse sensorielle d'un produit laitier « yaourt » à base de souches lactiques isolées de la région de Bordj Bou Arreridj.

# **Première Partie :**

Partie bibliographique



# **Chapitre 1.**

Les laits crus et la margine

## 1.1. Définition du lait

Le lait destiné à l'alimentation humaine a été défini en 1909 par le Congrès International de la Répression des Fraudes : « le lait est le produit intégral de la traite totale et ininterrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée. Il doit être recueilli proprement et ne pas contenir de Colostrum ».

La dénomination « lait », sans indication de l'espèce animale de provenance est réservée au lait de la vache.

Tout lait provenant d'une femelle laitière autre que la vache doit être désigné par la dénomination « Lait » suivie de l'indication de l'espèce animale dont il provient, exemple : lait de chèvre, lait de brebis.

Les laits destinés à la consommation humaine peuvent être classés actuellement en deux catégories :

-Lait non traité thermiquement : cru (objet de notre travail) ou microfiltré.

-Lait traité thermiquement : pasteurisé ou stérilisé (**Romain Jeantet *et al.*, 2008**).

## 1.2. Comparaison entre les trois types du lait selon la composition

La composition des laits varie selon les espèces (tableau I) ; les laits des ruminants ont une teneur élevée en protéines et se distinguent aussi par une proportion importante de résidus d'acides gras (AG) à courte chaîne dans la constitution des triglycérides. Ce sont les laits de vache et de chèvre qui présentent les compositions les plus équilibrées en lipides, lactose et protéines.

**Tableau I :** Composition globale du lait de différents mammifères en g.100 g<sup>-1</sup> de lait

	EST	MAT	Protéines	Caséines	Urée	MG	Lactose	Cendres
Vache	13,0	3,9	3,2	2,8	0,014	3,9	4,9 (4 à 6)	0,9
Brebis	18,4	5,7	5,5	4,5	0,035	7,19	4,7	0,9
Chèvre	-	3,1	2,8	2,3	0,0385	3,38	4,4 à 4,7	0,5 à 0,8

MAT : matières azotées totales ; EST : extrait sec totale ; MG : La matière grasse (**Romain Jeantet *et al.*, 2008**).

- Le lait contient presque tous les éléments nutritifs nécessaires à la croissance, le tableau II est un exemple type de composition générale du lait de vache.

**Tableau II :** Composition normale moyenne du lait de vache (**Joffin et Joffin, 2003**)

Composants	Pour 1 dm <sup>3</sup>
Eau	900 g
Lactose	50 g
Lipides	35 g
Protéines	30 g
Ion minéraux	9 g
Vitamine	Traces
pH	7

### 1.3. Généralité sur la margine

#### 1.3.1. Définition de la margine

Les margines sont des sous-produits de la production d'huile d'olives obtenus lors de leur trituration au cours des procédés de centrifugation à 3 phases ou de presse. Cet effluent liquide, caractérisé par une intense couleur brun-violet ou brun-rouge à noir et une odeur de l'huile d'olive (**Daassi et al., 2014**) est composé des eaux de végétation du fruit de l'olivier, des eaux du process (lavage et traitement) et une portion de la pulpe et de l'huile résiduelle (**Lanciotti et al., 2005**).

#### 1.3.2. Origine de la margine

Les margines sont obtenues lors de l'extraction de l'huile d'olive à partir de l'eau contenue dans le fruit, ajoutée au cours du broyage et des étapes de trituration. La qualité et la quantité des margines dépendent de l'opération d'extraction d'huile d'olive. Elles sont aussi influencées par la variété d'olives, la saison de récolte, le taux de maturation des fruits et les conditions climatiques (**Fiorentino et al., 2003**).

# **Chapitre 2.**

## Les bactéries lactiques

## 2.1. Généralité sur les bactéries lactiques

### 2.1.1. Caractéristique des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques forment un groupe hétérogène composé de coques et de bacilles, dont la principale caractéristique est la production d'acide lactique à partir de la fermentation des sucres. Non pathogènes, ces bactéries à coloration (Gram<sup>+</sup>) ont un métabolisme anaérobie facultatif et ne produisent pas de catalase (**Badis et al., 2005**).

### 2.1.2. Origine et habitat des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques ont été retrouvées dans des sédiments datant de 2,75 milliards d'années bien avant l'apparition d'oxygène dans l'atmosphère, ce qui pourrait expliquer leur caractère anaérobie. De plus, des études sur la phylogénie bactérienne mentionnent leur apparition avant celle des cyanobactéries (**Quiberoni et al., 2001**).

Les bactéries colonisent des milieux naturels variés tel que la surface des végétaux et les muqueuses des mammifères (intestin, bouches, vagin et surface de la peau). Leur utilisation est apparue, depuis des millénaires, dans la fabrication des aliments comme les fromages, les charcuteries, les boissons fermentées, le pain au levain, les sauces, les saumures, les légumes fermentés, les ensilages etc. (**Badis et al., 2005**).

### 2.1.3. Classification des bactéries lactiques

Depuis la description du *Bacterium lactis* (actuellement *Lactococcus lactis*), la taxonomie des Bactéries lactiques est en évolution permanente (voir annexe 2). Le nombre de nouvelles espèces a augmenté énormément au cours de ces dix dernières années. Les réorganisations effectuées ont contribué à fusionner des espèces en une seule, ou identifier une espèce comme un nouveau genre (**Pot, 2008**).

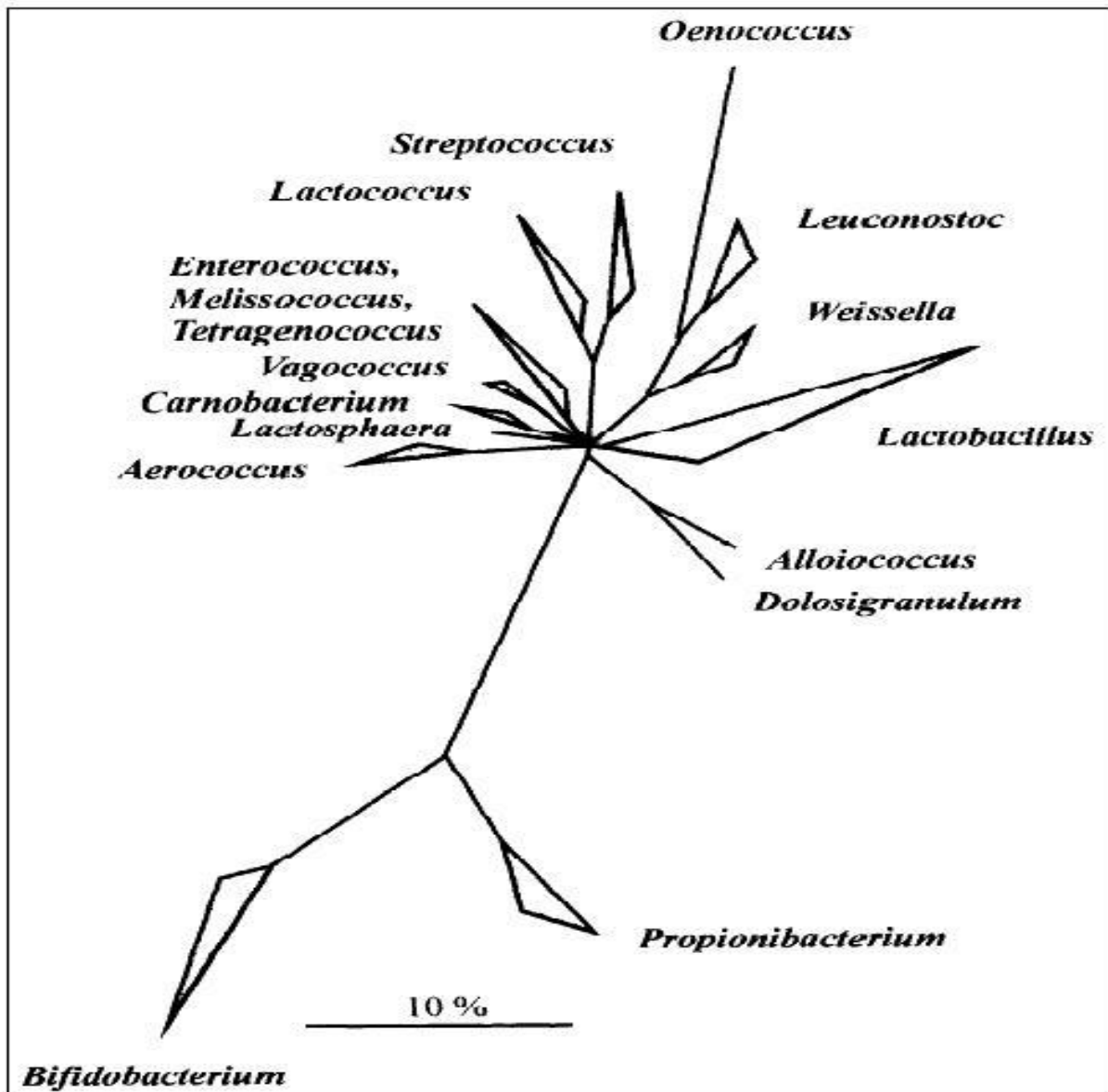
La classification des bactéries lactiques peut se faire selon des critères phylogénétiques par l'utilisation des méthodes moléculaires (figure 1). Cependant, la caractérisation phénotypique /biochimique classique demeure pratique dans l'identification préliminaire des microorganismes.

Certaines caractéristiques phénotypiques sont utilisées pour identifier les espèces à l'intérieur des genres comme la capacité à : fermenter les hydrates de carbone, tolérer différentes concentrations en bile, produire des polysaccharides extracellulaires, exiger des facteurs de croissance, produire de l'acétoïne et synthétiser certaines enzymes. La composition en G+C de l'ADN, la composition en acides gras, la mobilité électrophorétique du lactate

déshydrogénase sont également d'autres critères qui peuvent être étudiés pour l'identification des espèces lactiques (Vandamme, 1996 ; Stiles et Holzopfel, 1997 ; Ho *et al.*, 2007).

La morphologie est considérée comme la caractéristique clé pour décrire et classifier les genres des bactéries lactiques. De ce fait, les bactéries lactiques peuvent être divisées arbitrairement en bacilles (*Lactobacillus* et *Carnobacterium*) et coques (tous les autres genres). Le genre *Weissella*, récemment décrit, est le seul genre qui comporte à la fois des bacilles et des coques (Collins *et al.*, 1993 ; Ho *et al.*, 2007).

A ce groupe de bactéries lactiques, appartient plusieurs genres comme *Aerococcus*, *Atopobium*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus* et *Weissella*. (Stiles et Holzopfel, 1997 ; Pot, 2008). Des genres nouveaux, par exemple *Alloiococcus*, *Dolosicoccus*, *Dolosigranulum*, *Eremococcus*, *Facklamia*, *Globicatella*, *Helococcus*, *Ignavigranum* et *Lactosphaera*, ont également été décrits, comportant des souches qui montrent des liens physiologiques et phylogénétiques avec les groupe des bactéries lactiques (Broadbent, 2001 ; Axelsson, 2004).



**Figure 1:** Arbre phylogénétique des principaux genres de bactéries lactiques et des genres associés, obtenu par analyse des ARNr 16S (Stiles et Holzapel, 1997)



**⇒ Le genre *Lactobacillus***

Les lactobacilles sont les microorganismes probiotiques les plus en vue par leur association populaire avec les produits laitiers fermentés. Il s'agit en général de bâtonnets non flagellés, non sporulés, l'absence de catalase mais parfois une pseudo-catalase est détectée, Gram positifs faisant partie des bactéries lactiques. Elles sont importantes pour l'industrie alimentaire, notamment dans les fermentations lactières (**Corrieu, 2008 ; Izquierdo, 2009**). Elles sont anaérobies (mais aérotolérantes) et obtiennent leur énergie du métabolisme fermentatif, mais elles peuvent survivre en présence d'oxygène grâce à leur activité peroxydase capable d'inactiver le peroxyde d'hydrogène. Elles ont également la capacité de survivre à des pH bas dans les milieux qu'elles acidifient par la production d'acide lactique, produit final de la fermentation des carbohydrates. Cette capacité à produire de l'acide lactique donne aux lactobacilles un avantage compétitif dans les environnements riches en nutriments, ce qui peut en partie expliquer leur potentiel probiotique (**Ait-Belgnaoui, 2006**).

**⇒ Le genre *Streptococcus***

Le genre *Streptococcus* est toujours large et la classification est très mouvementée. Ce genre est généralement divisé en trois groupes : pyogène (la plus part des espèces pathogènes et hémolytiques), oral (tel que *St. salivarius*, *St. bovis*) et les autres streptocoques (**Scheilfer, 1987**).

***Streptococcus thermophilus* : un streptocoque atypique**

*St. thermophilus* est l'une des bactéries lactiques thermophiles, largement employée en tant que levain dans la fabrication de certains produits laitiers fermentés tel que le yaourt (en culture mixte avec *Lb. bulgaricus*) et les fromages à pâte cuite (en culture mixte avec *Lb. helveticus*), notamment la Mozzarella (**Hols et al., 2005 ; Delorme, 2008**).

Elle est connue par une forte production d'arôme tel que l'acétaldéhyde, et par sa capacité de produire de l'acide folique et des exopolysaccharides (**Chaves et al., 2002 ; Delorme, 2008**).

Cette espèce est caractérisée par l'utilisation du glucose seul à partir du lactose, ayant pour résultat des produits fermentés contenant du galactose résiduel (**Hols et al., 2005**).

*St. thermophilus* est la seule espèce non pathogène du genre *Streptococcus*, appartenant au groupe des bactéries ayant un intérêt industriel et nutritionnel reconnu sous le nom GRAS (**Dellaglio et al., 1994 ; Hols et al., 2005**).

## 2.2. Intérêts des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques présentent une capacité d'adaptation à différents environnements. Cette diversité est responsable de leur large gamme d'application à l'échelle industrielle (Streit *et al.*, 2007).

### 2.2.1. Domaine alimentaire

La fermentation lactique des aliments constitue l'une des plus anciennes formes de conservation de la nourriture. Les bactéries lactiques sont utilisées empiriquement depuis des siècles dans la fabrication de nombreux aliments fermentés comme les produits laitiers (yaourts et fromages). Ces bactéries interviennent également dans la fabrication des salaisons, du vin et des ensilages.

L'action de la flore lactique sur la conservation d'un aliment est liée à l'abaissement du pH consécutif à la production d'acide lactique. Les bactéries lactiques peuvent aussi produire de nombreux agents anti-bactériens tels que les bactériocines qui contribuent à inhiber la croissance de flores indésirables. Enfin elles ont une action déterminante sur les qualités organoleptiques des produits fermentés (texture et arôme par exemple) (Drouault *et al.*, 2001).

### 2.2.2. Domaine de santé

L'intérêt des bactéries lactiques en matière de santé humaine a été initialement proposé au début du XX<sup>ème</sup> siècle, en 1907 par le Russe Metchnikoff, selon lui les *Lactobacillus* sp. pouvaient réduire la putréfaction intestinale en modifiant sa flore. Le rôle des bactéries lactiques sur la santé était dans le cadre des probiotiques (Langella *et al.*, 2001 ; Calvez *et al.*, 2009).

Les bienfaits des bactéries lactiques dont de plus en plus étudiés, certains sont bien établis d'autres restent encore controversés (Langella *et al.*, 2001 ; Calvez *et al.*, 2009).

Parmi leurs applications on a :

- L'amélioration de la digestion du lactose.
- Réduction du taux de cholestérol sanguin.
- Diminution des allergies alimentaires.
- Réduction du risque de diarrhée.
- Le traitement des Maladies Inflammatoires Chroniques Intestinales (MICI).
- Le traitement gastrique.
- La prévention du cancer du colon et autres cancers.

# **Chapitre 3.**

## Les ferments lactiques

### 3.1. Définition d'un ferment

Un ferment est une préparation microbienne d'un grand nombre de cellules, d'un seul microorganisme ou plus, ajoutée à une matière première pour produire un aliment fermenté en accélérant et en orientant son procédé de fermentation. Le groupe des bactéries lactiques occupe un rôle important dans ces processus et une longue histoire d'application. Actuellement, on définit les levains ou ferments lactiques comme étant des cultures pures ou des mélanges de bactéries lactiques sélectionnées et utilisées pour la fabrication de produits fermentés comme le yaourts, le kéfir et les fromages (Leroy et De Vuyst, 2004 ; Mayra – Makinen et Bigret, 2004).

### 3.2. Types de ferments lactiques

Les ferments lactiques peuvent être classés en se basant sur leur fonction, leur température de croissance, ou leur composition (Carminati *et al.*, 2010).

#### ➤ Selon la composition

Selon la fédération internationale de laiterie (1997), les ferments lactiques peuvent être classés en trois catégories (Wouters *et al.*, 2002 ; Monnet *et al.*, 2008) :

**Les ferments purs** : constitués d'une souche d'une seule espèce bien caractérisée, c'est-à-dire une culture provenant en principe d'une seule cellule bactérienne.

**Les ferments mixtes** : ils sont formés d'un mélange de souches en nombre et en proportions indéfinis, ces souches appartiennent aux différents types lysotypiques et ont donc, en général, une bonne activité acidifiante.

**Les ferments mixtes sélectionnés** : contiennent plusieurs souches bien définies, issues d'une ou de plusieurs espèces et les proportions entre les souches sont connues et définies selon le cahier des charges de l'utilisateur.

#### ➤ Selon la température de croissance

Les ferments lactiques sont, selon les productions industrielles à réaliser, des ferments mésophiles et des ferments thermophiles :

**Ferments mésophiles** : Les bactéries lactiques qui constituent ces ferments ont une température optimale de croissance qui varie selon les souches entre 25°C et 30°C et peuvent atteindre une température maximale de fermentation de 38°C à 40°C. Ils sont constitués essentiellement des espèces acidifiantes (*Lactococcus lactis* ssp. *lactis*, *Lc. lactis* ssp. *Cremonis*) et des espèces aromatisantes (*Lc. lactis* ssp. *lactis*

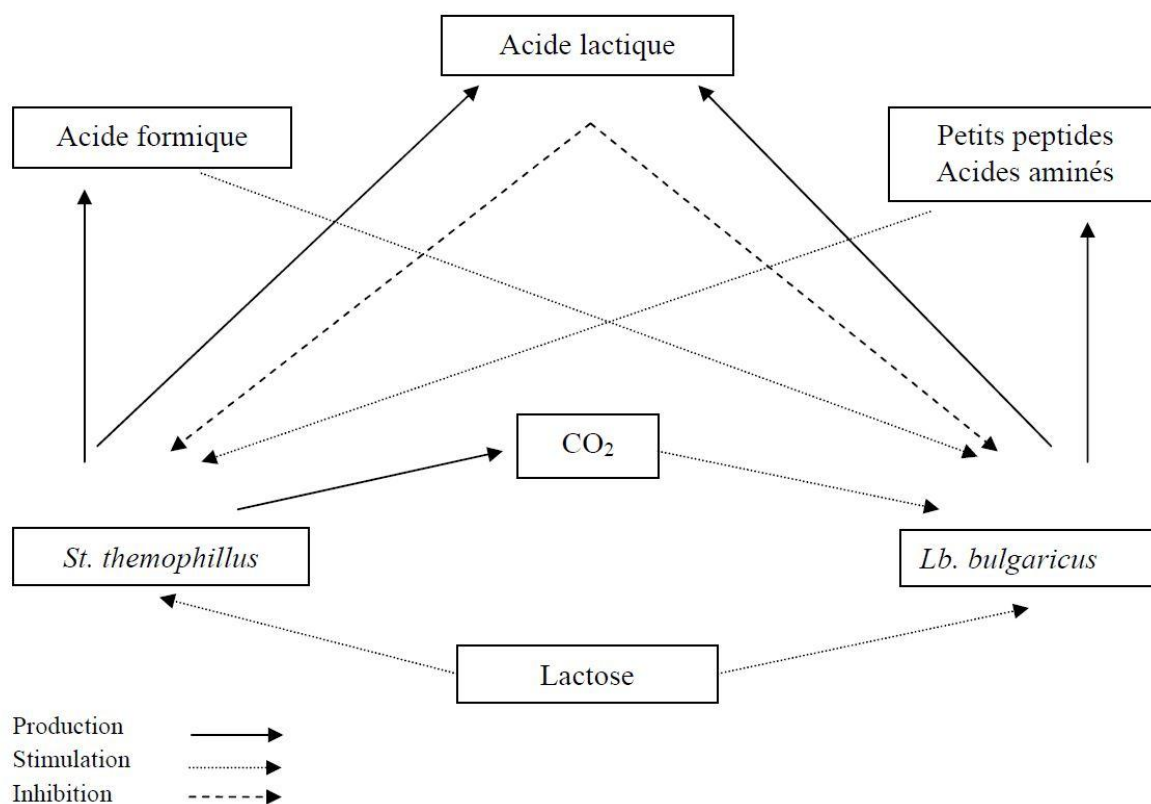
biovar. *diacetylactis*, *Leuconostoc mesenteroides* ssp. *cremoris*). Les ferments mésophiles sont habituellement utilisés dans la fabrication de plusieurs variétés de fromages, en particulier les fromages frais, de certains laits fermentés et du beurre (Chamba, 2008 ; Carminati *et al.*, 2010).

**Ferments thermophiles :** Ils comprennent les lactobacilles, les bifidobactéries et l'espèce *Streptococcus thermophilus*. Leur température optimale de croissance se situe entre 40°C et 50°C. Les ferments thermophiles sont souvent utilisés pour la fabrication des yaourts, certains laits fermentés et quelques fromages à pâte cuite tels que l'Emmental et le Gruyère (Mäyrä-Mäkinen et Bigret, 2004 ; Carminati *et al.*, 2010).

Connaître la caractéristique du comportement d'une culture selon la température est cruciale en technologie laitière. La température sert à contrôler les vitesses d'acidification et constitue un outil important dans la gestion de l'équilibre des flores (Lamontagne *et al.*, 2002).

### 3.3. L'effet de symbiose ou de proto-coopération entre *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus*

*St. thermophilus* et *Lb. bulgaricus* sont les bactéries lactiques utilisées dans la fabrication du yaourt. En milieu laitier, cette association est appelée proto-coopération lorsqu'elle est bénéfique au développement de chacune des espèces (figure 2).



**Figure 2 :** Schéma illustrant la proto-coopération entre *Streptococcus thermophilus* et de *Lactobacillus bulgaricus* en culture mixte dans le lait (Mahaut *et al.*, 2000)

La stimulation de *St. thermophilus* par *Lb. bulgaricus* est réalisée grâce à l'activité protéolytique du lactobacille, qui libère des petits peptides et des acides aminés au profit du streptocoque (Driessen et Kingma, 1982 ; Tammam *et al.*, 2000). Les plus importants de ces acides aminés nécessaires à la croissance mutuelle des deux souches sont : l'histidine, la thréonine, la valine (Tamime et Robinson, 2003). En retour, *St. thermophilus* fournit de l'acide formique et du CO<sub>2</sub> qui tous deux vont stimuler la croissance de *Lb. bulgaricus* (Bottazzi *et al.*, 1972; Kosikowski, 1982 ; Tamime et Robinson, 2003). *St. thermophilus* assimile l'oxygène dans le lait plus rapidement, créant ainsi des conditions favorables pour la croissance de *Lb. bulgaricus* (Yaygin, 1970 ; Kosikowski, 1982 ; Tamime et Robinson, 2003).

Selon certains auteurs *St. thermophilus* produit de grandes quantités de dioxyde de carbone (CO<sub>2</sub>) qui n'est pas issu du métabolisme du lactose (Driessen et Kingma, 1982 ; Thunell et Sandine, 1985), ce CO<sub>2</sub> produit est dû à l'activité de l'uréase qui hydrolyse l'urée du lait en CO<sub>2</sub> et NH<sub>3</sub> (Eck et Gillis, 1997 ; Juillard *et al.*, 1998). Certaines souches de *St. thermophilus* ne possèdent pas cette activité protéasique (Simova, 2007 ; Angelov *et al.*, 2009), par conséquent certains auteurs expliquent cette production de CO<sub>2</sub> par la voie de Leloir selon laquelle le galactose produit est transformé en acide lactique et en CO<sub>2</sub>, assurant ainsi les conditions d'anaérobiose pour la croissance des lactobacilles.

Lorsque d'autres bactéries notamment probiotiques sont associées aux bactéries du yaourt, d'autres interactions prennent place. Par exemple, les bifidobactéries sont stimulées par l'activité protéolytique des lactobacilles alors que *Lb. bulgaricus* limite le développement de *Lb. acidophilus* (phénomènes de compétition et d'inhibition). En outre, des phénomènes de croissance associative ont été démontrés entre *St. thermophilus* et *Lb. helveticus* ou *Lb. acidophilus*. Enfin, des mécanismes d'inhibition spécifique entre les souches liés à la production de bactériocines existent chez les bactéries probiotiques comme chez les bactéries du yaourt. Ces caractères sont toutefois dépendants des souches présentes dans le milieu. Il est donc nécessaire de vérifier la compatibilité des souches avant de les associer (Beal et Sodini, 2003).

**Deuxième partie :**  
Partie expérimentale



# **Chapitre 4.**

## **Matériel et méthodes**

## 4.1. Matériel

### 4.1.1. Matériel biologique

Il est représenté par :

Le lait de vache cru et caillé ; lait cru de chèvre ; lait cru de brebis, les bactéries lactiques autochtones isolées de la région de Bordj Bou Arreridj (*St. thermophilus* et *Lb. bulgaricus*), et les disques d'antibiotiques.

**Milieus de culture** (dont la composition est citée en annexe 1) :

**Gélose** : PCA ; VRBG ; VF ; Sabouraud ; MRS ; M17 et MH

**Bouillon** : MRS et M17

**Autres** : lait écrémé (milieu pour conservation des souches lactiques).

### 4.1.2. Produits chimiques

Parmi les divers produits chimiques utilisés lors de cette présente étude :

**Additifs** : Alun de fer et Sulfite de sodium.

**Colorants** : Violet de Gentiane ; fuschine ; lugol et phénolphtaléine.

**Acides et bases** : Soude Dornic N /9 et NaCl.

**Alcool et autres** : Ethanol ; eau oxygénée ; eau de Javel.

### 4.1.3. Matériel de laboratoire

#### Verreries

Flacons de 250 mL et de 500 mL, tubes à essai, bécher, éprouvette, pipettes Pasteur, Lames et lamelles, Erlenmeyers.

#### Ustensiles

Anses de platine (Anses à ensemencement), boîtes de Pétri, pinces, ciseau, pissettes, poires, portoirs, spatules, papier Josef, parafilm.

**Matériel lourd**

Le matériel lourd utilisé lors de cette présente étude est regroupé comme suit (Tableau III) :

**Tableau III** : Matériel lourd

<b>Matériel</b>	<b>Référence</b>
Hotte microbiologique (à flux laminaire)	STERIL_GEMINI
Hotte chimique	Equipe LABO
Autoclave	-P- SELECTA
Distillateur	GFL
Balance de précision	KERN KB
Agitateur magnétique et plaque chauffante	SCIOGEX MS -H – S
Réfrigérateur – congélateur	SAMSUNG 300 L
Bain Marie	Memmert
Vortex	Fisher scientifique top mix FB 15024
Etuves réglées à 37°C, 42°C, 23°C et à 30°C	Memmert
Compteur de colonies	SELECTA DIGITAL S
pH mètre	Ino Lab wtw serie
Microscope	OPTIKA
Conductimètre	Ino Lab wtw serie

## 4.2. Méthodes

### 4.2.1. Lieu de l'étude

Cette présente étude a été réalisée au sein du laboratoire de microbiologie et du laboratoire d'analyses physico-chimiques de l'université de Bordj Bou Arreridj.

### 4.2.2. Echantillonnage

Les échantillons qui ont fait objet d'analyses physico-chimiques et microbiologiques sont représentés par le lait de vache, de brebis et de chèvre prélevés de la région d'Achbour (figure n°3).

La margine a été prélevée de la région d'El main « Adrer Sidi Idir »

### Conditions de traite



**Figure n°3 : Ferme d'élevage bovin Achbour  
(photographie originale)**

Le lait doit répondre à un certain nombre de critères de qualités physico-chimiques et microbiennes (**Lambert, 1988**).

L'échantillonnage, a été effectué à partir d'animaux sains, non traités par des antibiotiques.

Les règles à suivre pour obtenir un lait de bonne qualité microbienne sont les suivantes :

-L'extérieur de la mamelle est souvent fortement souillé par la litière ou par les excréments ; un nettoyage préalable avant la traite est donc indispensable ; celui-ci peut être réalisé à l'aide d'un linge préalablement trempé dans une solution désinfectante, tiède ; la mamelle doit ensuite être séchée.

-Les premiers jets de lait provenant de chaque quartier de la mamelle sont toujours plus fortement chargés en germes ; il y a lieu de les collecter séparément et de ne pas les mélanger avec le lait recueilli ultérieurement.

-Le lait est récupéré dans des Erlenmeyers (figures n°4 et 5) stériles placés tout près de mamelons pour éviter toute contamination extérieure.

-Une contamination microbienne peut être également provoquée par le trayeur lorsque celui-ci ne possède pas la technique requise. Les précautions suivantes sont nécessaires pour l'obtention d'un lait de bonne qualité : choisir une personne en bonne santé et ne présentant pas de plaies sur les mains.

-Se laver soigneusement et se sécher les mains avant la traite.

-Assurer une réfrigération rapide du lait (0-4°C) ceci peut être obtenu par une glacière.



**Figure n°4 : Lait cru de vache  
(photographie originale)**

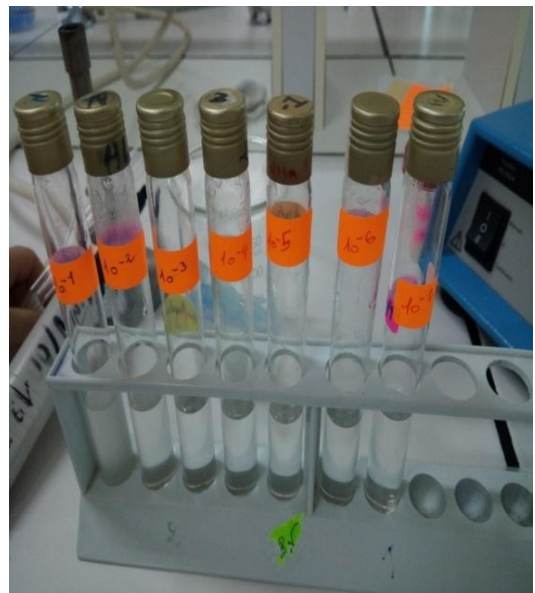


**Figure n°5 : lait cru de brebis et de chèvre  
(photographie originale)**

### 4.2.3. Contrôle de la qualité microbiologique des échantillons

#### Les dilutions (ISO 6887-4 : 2004)

- Introduire aseptiquement à l'aide d'une micropipette, 1 mL de l'échantillon, dans un tube à vis stérile contenant au préalable 9 mL d'eau physiologique cette dilution est alors au  $1/10$  ou  $10^{-1}$ .
- Introduire par la suite 1mL de la dilution  $10^{-1}$  dans un tube à vis stérile contenant au préalable 9 mL du même diluant : cette dilution est alors au  $1/100$  ou  $10^{-2}$ .
- Introduire ensuite aseptiquement à l'aide d'une pipette en verre graduée et stérile, 1 mL de la dilution  $10^{-2}$  dans un tube à vis stérile contenant au préalable 9 mL du même diluant ; cette dilution est alors au  $1/1000$  ou  $10^{-3}$  ainsi de suite jusqu'à obtention de la dilution  $10^{-7}$  (figure n°6).



**Figure n°6 : Préparation des dilutions décimales  
(photographie originale)**

## Dénombrement

Les normes **AFNOR** utilisent un mode de calcul plus complexe, prenant en compte les boîtes de deux dilutions successives. De manière générale, elles doivent contenir moins de 300 colonies et une boîte doit contenir plus de 15 colonies.

Dans cette méthode, si l'on nomme :

$\Sigma$  : somme des colonies comptées sur toutes les boîtes retenues de deux dilutions.

$n_1$  : nombre de boîtes retenues à la première dilution.

$n_2$  : nombre de boîtes retenues à la deuxième dilution.

$d$  : taux de dilution de la première dilution.

Alors:  $N = \frac{\Sigma c}{(n_1 + 0,1n_2) d}$  dans le volume d'inoculum (**Joffin et Joffin, 2003**)

## Recherche de la flore totale aérobique mésophiles

Le terme « Flore totale » ou encore « flore mésophile aérobique revivifiable » FMAR désigne l'ensemble des bactéries mésophiles aérobies qui se développent à 30°C pendant 72 heures en laboratoire sur un milieu nutritif gélosé standard. Il comporte un grand nombre de bactéries : lactique, psychrotrophe, thermorésistante, coliformes mêmes pathogènes. Le dénombrement de cette flore est un indicateur pertinent pour évaluer le degré de contamination du lait. (**Anonyme, 2009**).

- **Mode opératoire : (NF V 08-051)**

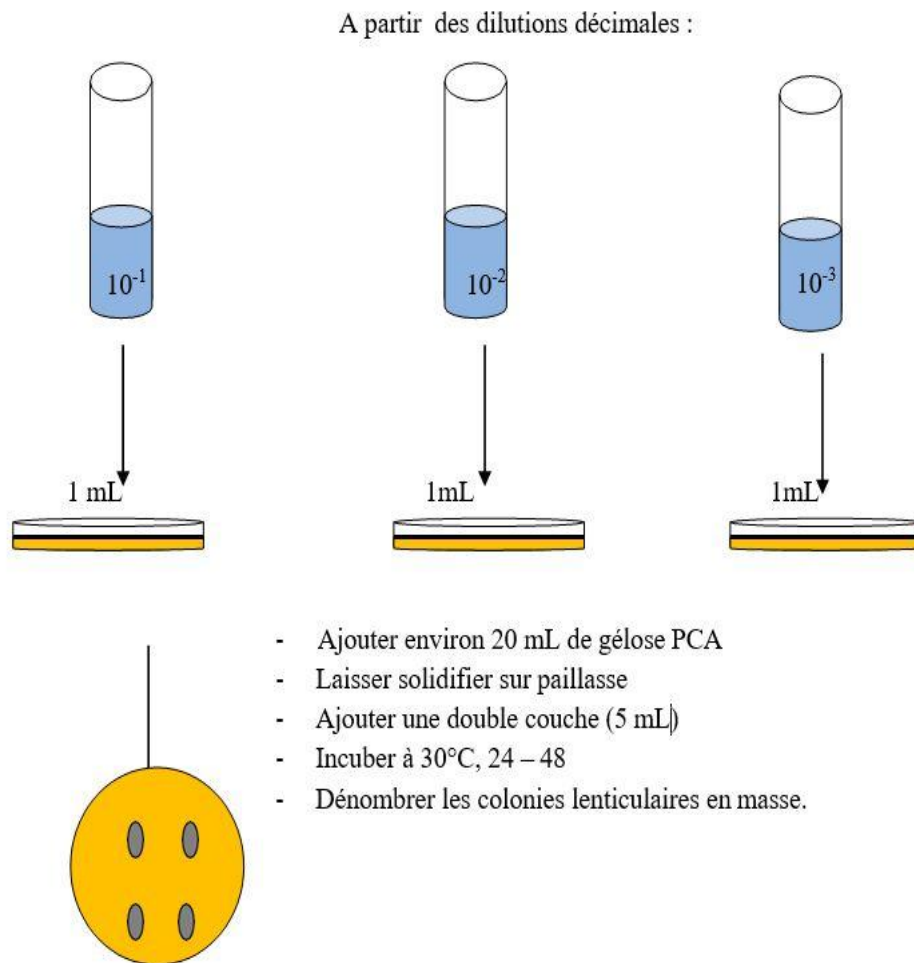
A partir des dilutions décimales allant de  $10^{-3}$  à  $10^{-1}$ , on porte aseptiquement 1 mL dans une boîte de Pétri vide préparée à cet usage et numérotée.

On complète ensuite avec 12 à 15 mL de gélose PCA fondue puis on refroidit à  $45^{\circ}\text{C} \pm 1$ . On fait ensuite des mouvements circulaires et de va-et-vient en forme de (8) pour permettre à l'inoculum de se mélanger à la gélose utilisée. On laisse solidifier sur la paillasse, puis on rajoute une deuxième couche d'environ 5 mL de la même gélose, cette double couche à un rôle protecteur contre les contaminations diverses (figure n°7)

- **Incubation**

Les boîtes seront incubées couvercle en bas à 30°C pendant 72 h avec :

- Première lecture après 24 h d'incubation.
- Deuxième lecture après 48 h d'incubation.
- La troisième lecture après 72 h d'incubation.



**Figure n° 7 :** Isolements de la flore totale aérobie mésophile



### Recherche des coliformes totaux et des coliformes fécaux

Les coliformes sont des bactéries Gram<sup>-</sup> non sporulées, aérobies ou anaérobies facultatives capable de se multiplier en présence de sels biliaires et de fermenter le lactose avec production d'acide et de gaz (CO<sub>2</sub> et H<sub>2</sub>) en assez grande quantité. Ce sont des entérobactéries moyennement acidifiantes (pH égal à 5). Leur développement est freiné par l'abaissement du pH et leur croissance stoppée lorsque le pH est inférieur à 4,5. Elles sont peu résistantes à la chaleur.

Les coliformes se répartissent en 2 groupes distincts :

-Les non fécaux dont l'origine est l'environnement général des vaches, ils sont détectés dès 30°C.

-Les fécaux dont l'origine essentielle est le tube digestif, qui sont plus thermotolérants (détectés à 44°C). *Escherichia coli* fait partie de ce dernier groupe (Anonyme, 2009).

- **Mode opératoire : NA 6803 (ISO 4832 : 2006 )**

A partir des dilutions décimales allant de 10<sup>-3</sup> à 10<sup>-1</sup>, porter aseptiquement 2 fois 1 mL dans deux boîtes de Pétri vides préparées à cet usage et numérotées.

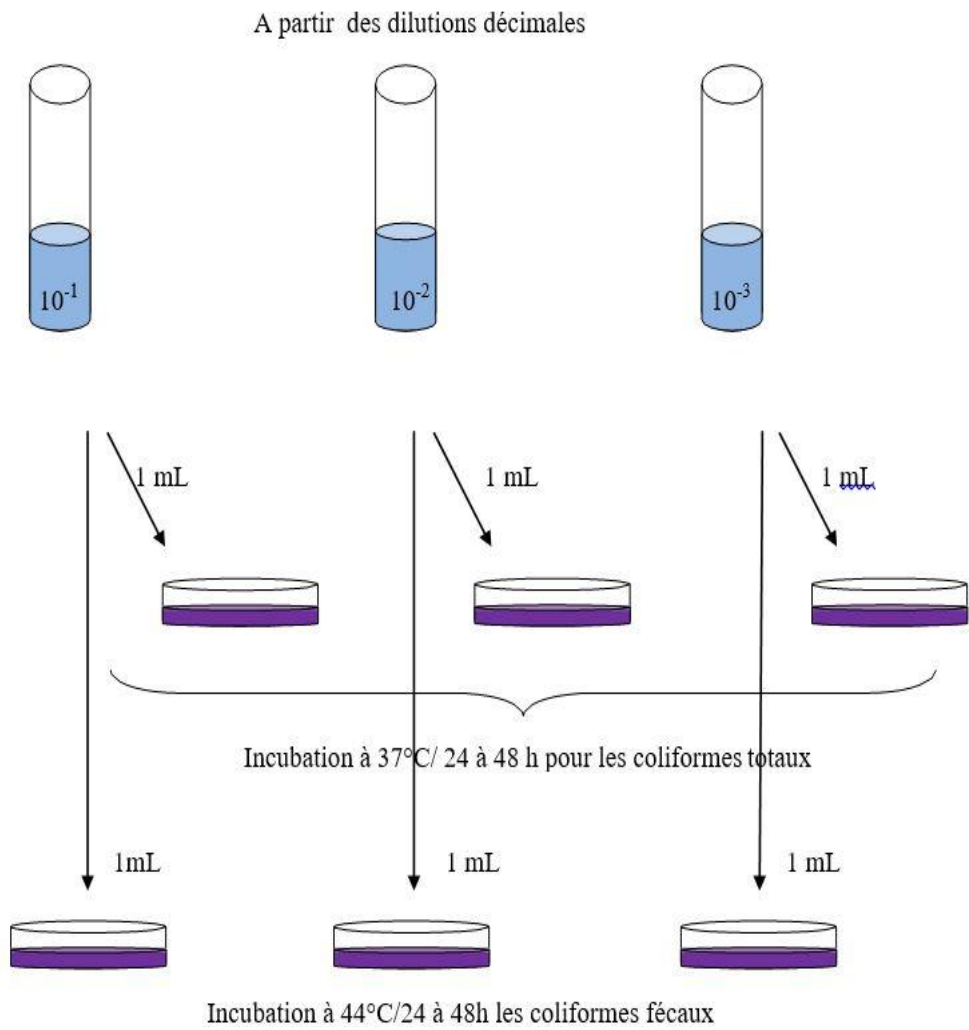
Compléter ensuite chaque boîte avec environ 20 mL de gélose VRBG, fondue puis refroidie à 45±1°C.

Faire ensuite des mouvements circulaires et de va-et-vient en forme de « 8 » pour permettre à l'inoculum de bien se mélanger à la gélose utilisée (figure n°8).

- **Incubation**

-Une série de boîtes sera incubée à 37°C, pendant 24 à 48 h et servira à la recherche de Coliformes totaux.

-L'autre série sera incubée à 44°C pendant 24 à 48 h et servira à la recherche de Coliformes fécaux.



Ajouter auparavant environ 20 mL de gélose au désoxycholate à 1 %  
Laisser solidifier sur paillasse.

**Figure n°8 : Isolement des coliformes totaux et fécaux**

### Recherche des *Clostridium* sulfito-réducteurs

Ce sont des bacilles Gram<sup>+</sup>, sporulés (à spores terminales, subterminales ou centrales anaérobies stricts). De nombreux *Clostridium* peuvent être retrouvés dans les produits alimentaires (Larpent, 2013).

- **Mode opératoire : (NF V59-109, 1982)**

Prévoir une série de tubes stériles à raison de deux tubes par dilution, répartir l'échantillon à analyser comme suit (figure n°9) :

- 1mL de la dilution décimale  $10^{-1}$  dans chacun des deux premiers tubes.
- 1mL de la dilution décimale  $10^{-2}$  dans chacun des deux tubes suivants.
- 1mL de la dilution décimale  $10^{-3}$  dans chacun des deux derniers tubes.

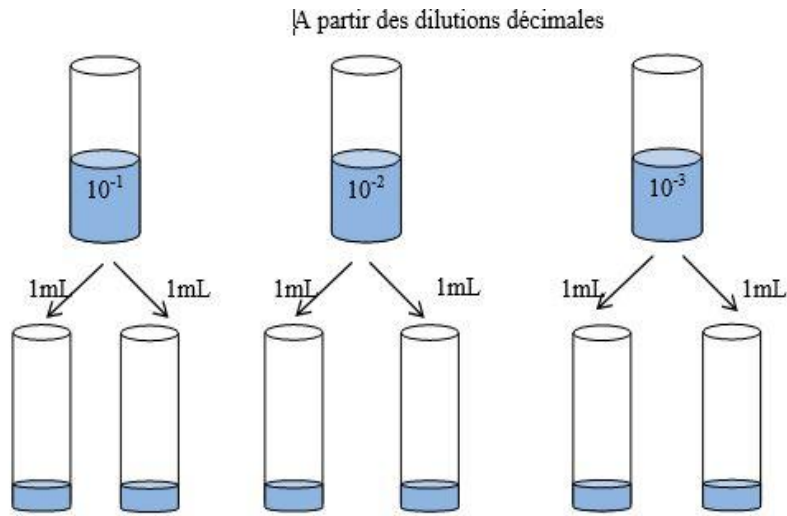
- Chauffer les tubes au bain Marie à 80°C pendant 10 minutes, puis refroidir brutalement sous un jet d'eau du robinet, afin de créer un choc thermique pour éliminer toute forme végétative et ne laisser que les formes sporulées.

- Ajouter à chaque tube, 20 mL de gélose VF (Viande-Foie) en surfusion à 45°C, 1mL de sulfite de sodium et 0,5mL d'Alun de fer.

- Homogénéiser et laisser solidifier sur pailasse à température ambiante.

- **Incubation**

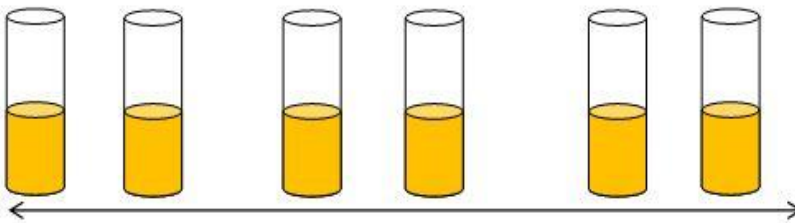
Incuber les tubes à 46°C pendant 24 à 48 heures.



-Chauffage à 80°C pendant 8 à 10 min.

-Refroidir brutalement sous l'eau de robinet.

-Ajouter 15 mL de gélose Viande fois par tube.



Incubation à 46°C pendant 24 à 48 heures.



Dénombrement des colonies noires en masse.

**Figure n°9 :** Isolement des *Clostridium* sulfito-réducteurs

### Recherche des levures et moisissures

Levures et moisissures sont des champignons, organismes eucaryotes uni ou multicellulaires. La structure de la cellule est celle d'une cellule eucaryote classique. Les levures sont des champignons unicellulaires (au moins dans la plus grande partie de leur cycle biologique) qui constituent un groupe morphologique et physiologique relativement homogène. Les moisissures sont des champignons filamenteux uni ou multicellulaires. Ces organismes possèdent deux types de reproduction : reproduction végétative toujours présente et reproduction sexuée qui n'existe que pour certaines espèces (**Guiraud, 1998**).

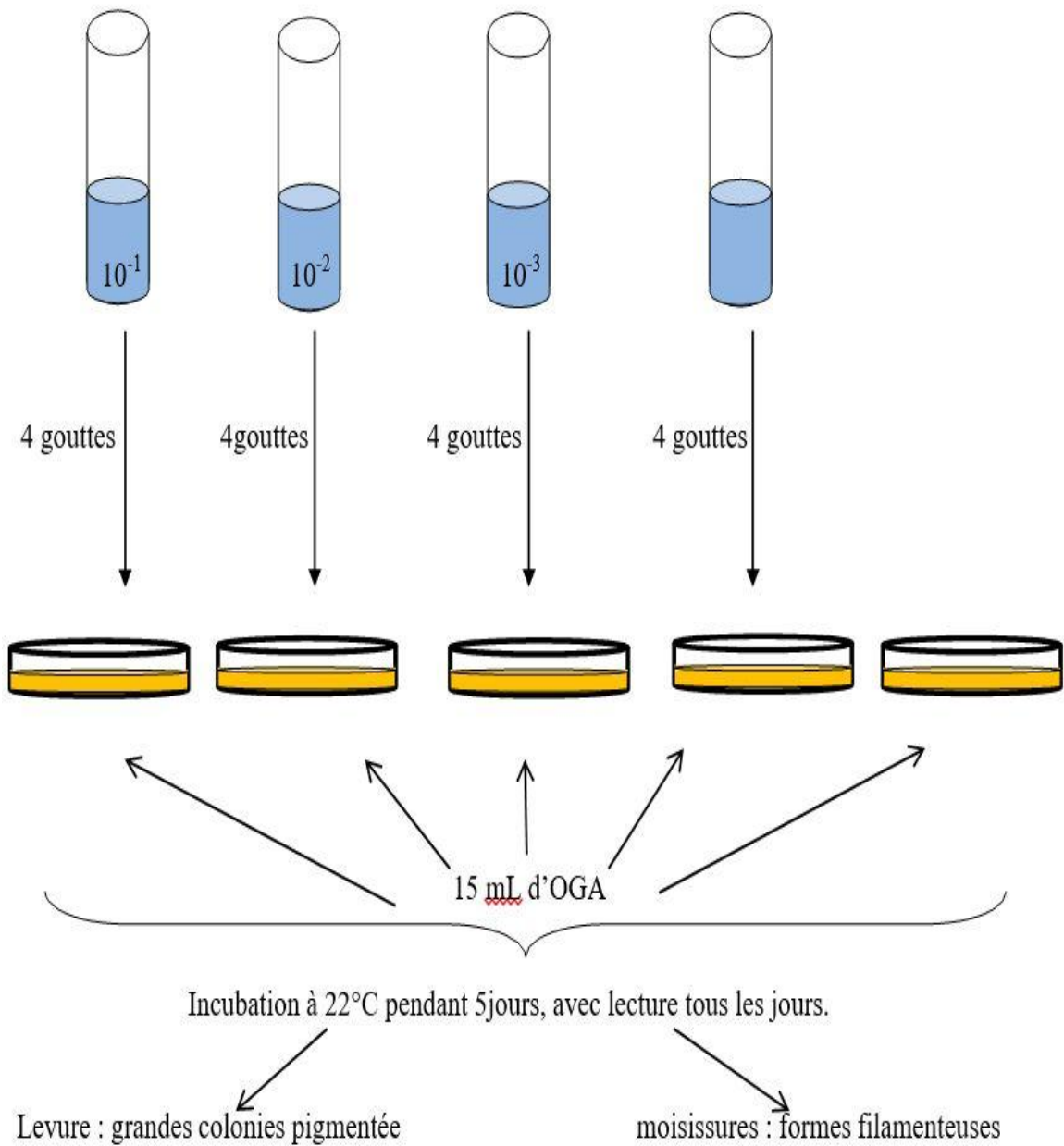
- **Mode opératoire: NA 5911 (ISO 6611)**

A partir des dilutions décimales,  $10^{-3}$  à  $10^{-1}$ , porter aseptiquement 4 gouttes dans une boîte de pétri contenant de la gélose Sabouraud au Chloramphénicol.

Étaler les gouttes à l'aide d'un râteau stérile (figure n°10).

- **Incubation**

Incuber à 22°C pendant 5 jours.



**Figure n°10 : Isolement des levures et des moisissures**

#### 4.2.4. Isolements des bactéries lactiques (JORADP 2014)

##### Dilutions décimales

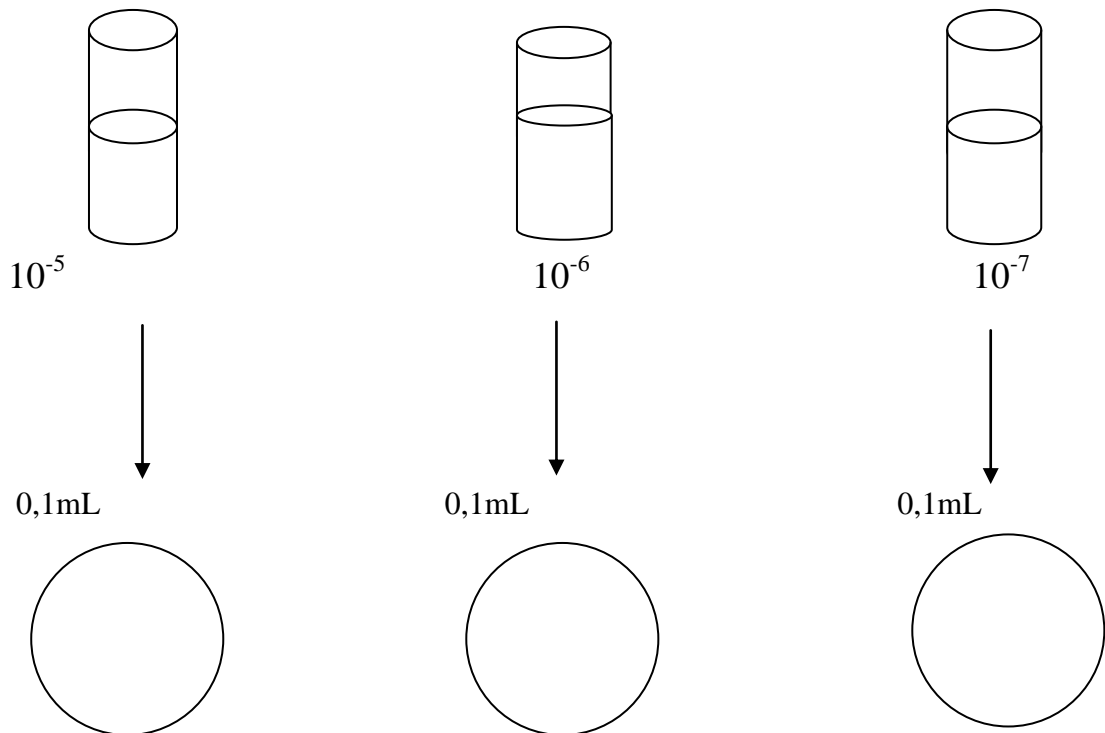
Introduire aseptiquement à l'aide d'une pipette pasteur stérile, 1 mL de lactosérum et margine (figure n°11), dans un tube à vis stérile contenant au préalable 9 mL d'eau physiologique cette dilution est alors au 1/10 ou  $10^{-1}$ .

- Introduire par la suite 1mL de la dilution  $10^{-1}$  dans un tube à vis stérile contenant au préalable 9 mL du même diluant : cette dilution est alors au 1/100 ou  $10^{-2}$ .
- Introduire ensuite aseptiquement à l'aide d'une pipette en verre graduée et stérile, 1 mL de la dilution  $10^{-2}$  dans un tube à vis stérile contenant au préalable 9 mL du même diluant ; cette dilution est alors au 1/1000 ou  $10^{-3}$  ainsi de suite jusqu'à obtention de la dilution  $10^{-7}$ .



**Figure n°11** : Obtention du caillé, du lactosérum et de la margine  
(photographie originale)

A partir des trois dernières dilutions décimales :



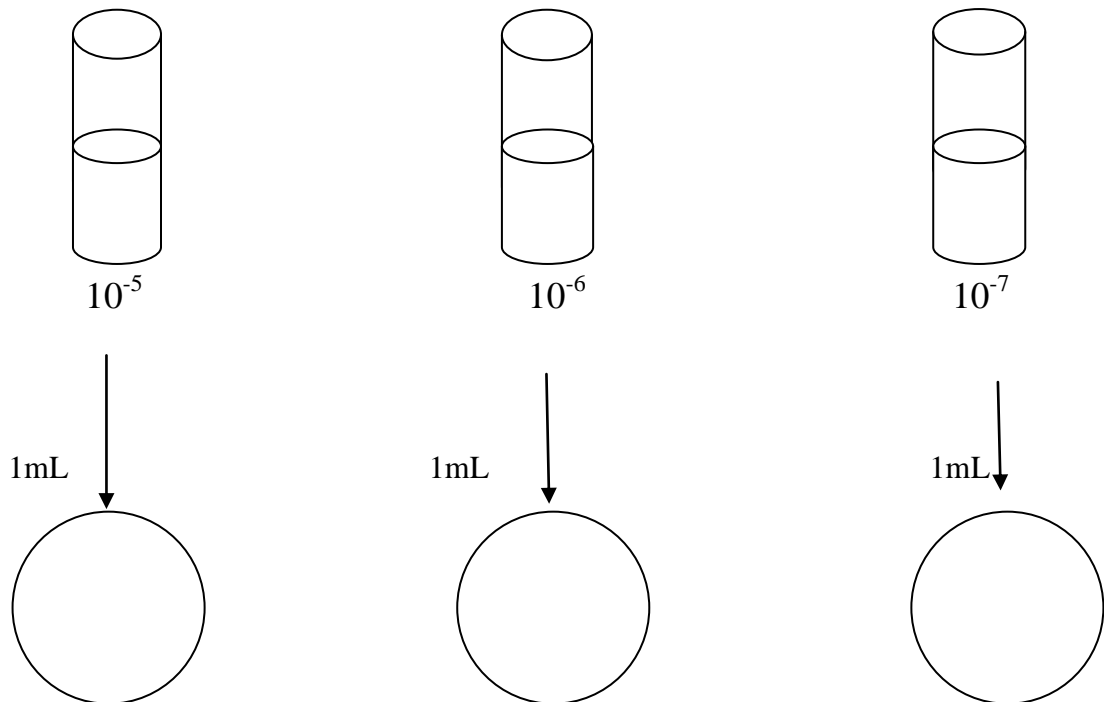
Boite de Pétri contenant au préalable de la gélose M17

Etuve à 42°C/ 24 à 48h Dénombrement (nombre des UFC/mL et Log du nombre des UFC/mL)

**Figure n°12** : Isolement de *Streptococcus thermophilus*



A partir des trois dernières dilutions décimales :



Couler 15 mL de gélose MRS

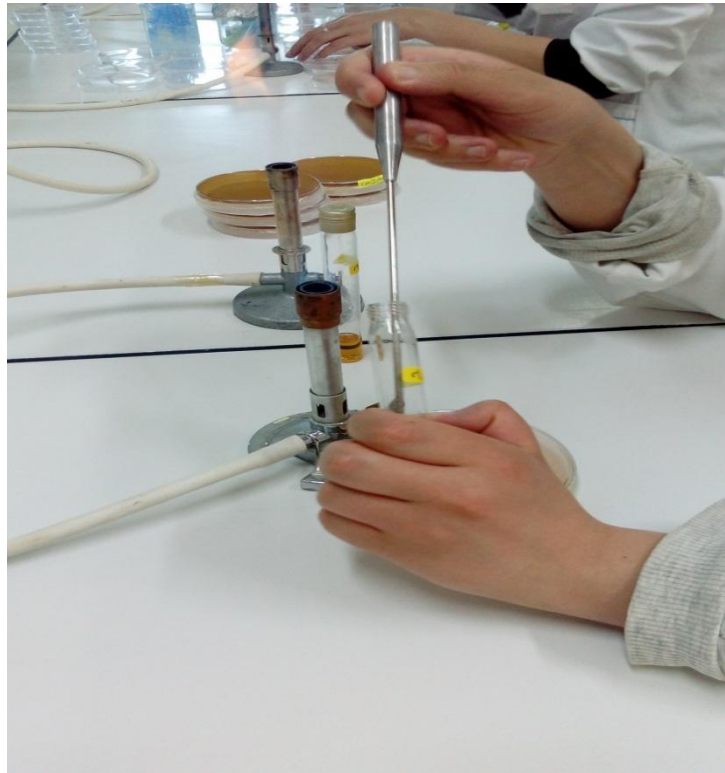
Etuve à 37°C/ 24 à 48 h

Dénombrement (nombre des UFC/mL et Log du nombre des UFC/mL)

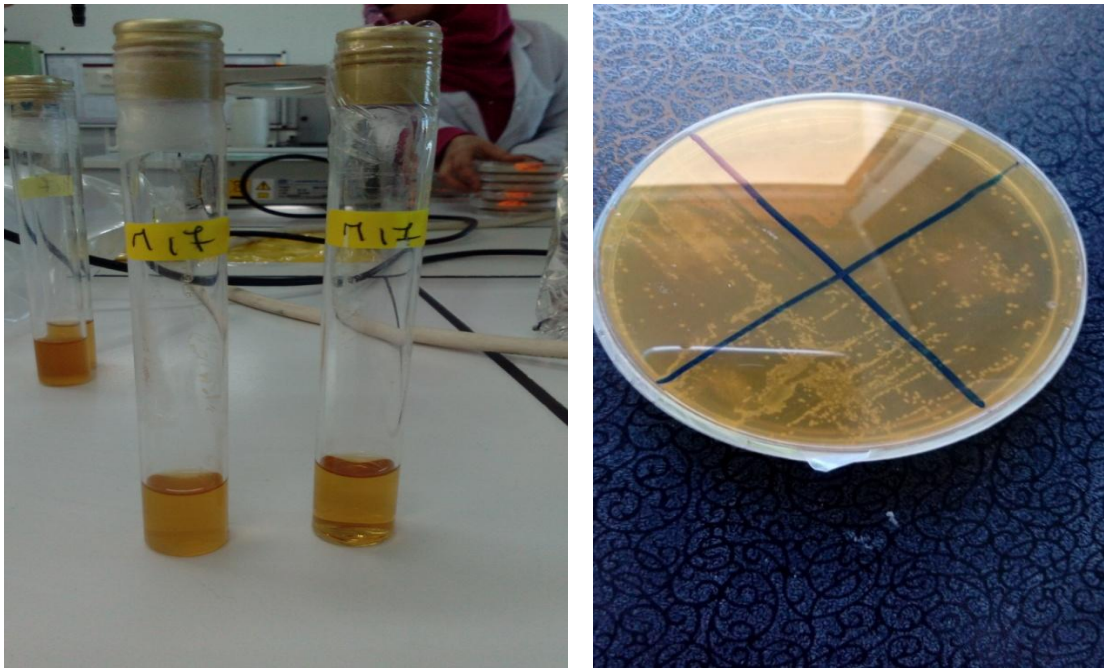
**Figure n°13** : Isolement de *Lactobacillus bulgaricus*

### 4.2.5. Purification des souches lactiques

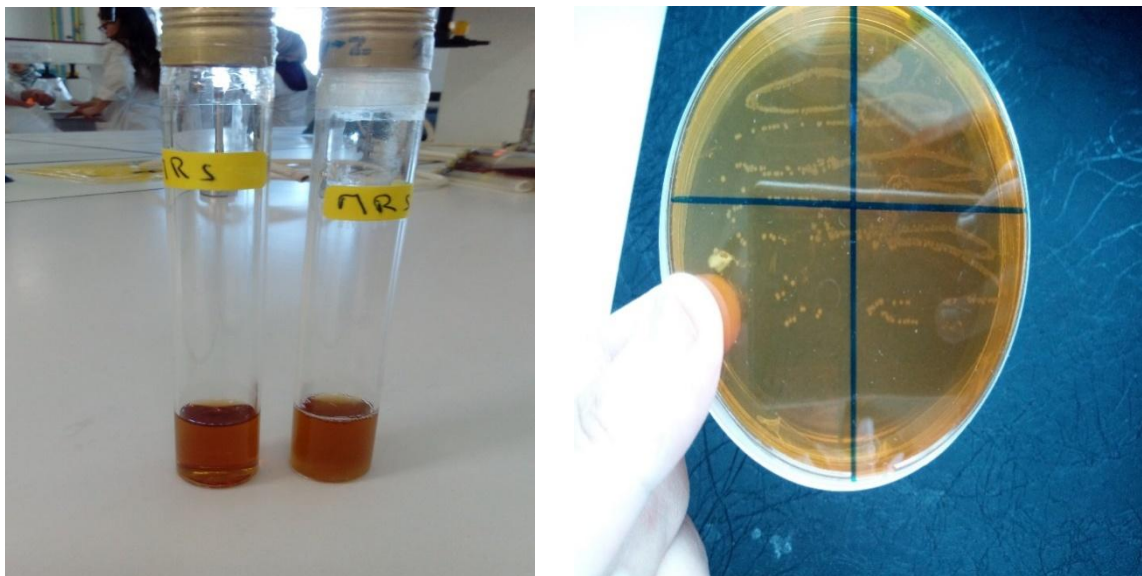
La purification consiste, à réaliser des repiquages successifs (série de 03-04 repiquages), sur gélose et bouillon MRS, pour les lactobacilles thermophiles, et sur gélose et bouillon M17, pour les streptocoques thermophile, avec une incubation à 37°C/42°C respectivement, pendant 24h, jusqu'à l'obtention de colonies de même taille, de même forme et de même couleur, renseignant sur la pureté des souches (figures n°14, 15 et 16) Voir annexe 4. (**Karam et Karam, 1994 ; Larpent *et al.*, 2009**).



**Figure n°14 : Purification des bactéries lactiques  
(photographie originale)**



**Figure n° 15 : Purification de *Streptococcus thermophilus***  
(photographie originale)



**Figure n°16 : Purification de *Lactobacillus bulgaricus***  
(photographie originale)

### 4.2.6. Identification des bactéries lactiques

L'identification des souches a été réalisée par l'application des techniques classiques de microbiologie, basées sur la recherche d'un certain nombre de caractères morphologiques, physiologiques et biochimiques. Toutes les techniques d'identification ont été décrites par **Larpent (1997)**, **Idoui et Karam (2008)** et **Gusils *et al.* (2010)**.

Les isolats ont été soumis à la coloration de Gram :

#### ➤ Coloration de Gram

La réalisation de la coloration de Gram passe par les étapes suivantes :

1. Préparation du frottis : étalement de La suspension bactérien sur une lame puis fixation par la chaleur.
2. Première coloration avec le violet de Gentiane durant environ 1 minute. Tous les éléments sont colorés en violet.
3. Laver à l'eau.
4. Faire agir Lugol durant environ 1 min ; Le Lugol fixe le violet sur les structures membranaires des bactéries Gram<sup>+</sup>. Tous les éléments sont colorés en noir.
5. Laver à l'eau.
6. Décolorer par la solution éthanol 90°C/30 secondes ; Les bactéries Gram<sup>+</sup> sont colorées en violet foncé, les autres éléments sont incolores.
7. Laver à l'eau.
8. Colorer à la fuchsine et laisser agir de 1 à 2 minutes, Les éléments tissulaires et les bactéries Gram<sup>-</sup> sont colorées en rose. Les bactéries Gram<sup>+</sup> sont toujours colorées en violet.

#### ➤ Recherche de la catalase

La catalase est mise en évidence en émulsionnant la culture bactérienne à tester dans une solution fraîche d'eau oxygénée à 10 volumes. Un dégagement gazeux abondant sous forme de mousse traduit la décomposition de l'eau oxygénée sous l'action de l'enzyme à tester.



## 4.2.7. Etude de caractéristiques technologiques des souches lactiques autochtones isolées

### 4.2.7.1. Pouvoir acidifiant

C'est l'un des principales fonctions des bactéries lactiques en technologie laitière. Il s'agit de la production d'acide lactique aboutissant ainsi à une forte diminution de pH. L'acidification du milieu entraîne la coagulation du lait (Terre 1986 et Zourari *et al.*, 1992).

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 250 mL. Après stérilisation et refroidissement à la température d'ensemencement, chaque flacon estensemencé par une culture lactique (V/ 100V). Après incubation à 37°C, à un intervalle du temps 2h, 6h et 24h ; 10mL 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 (Larpent, 1997).

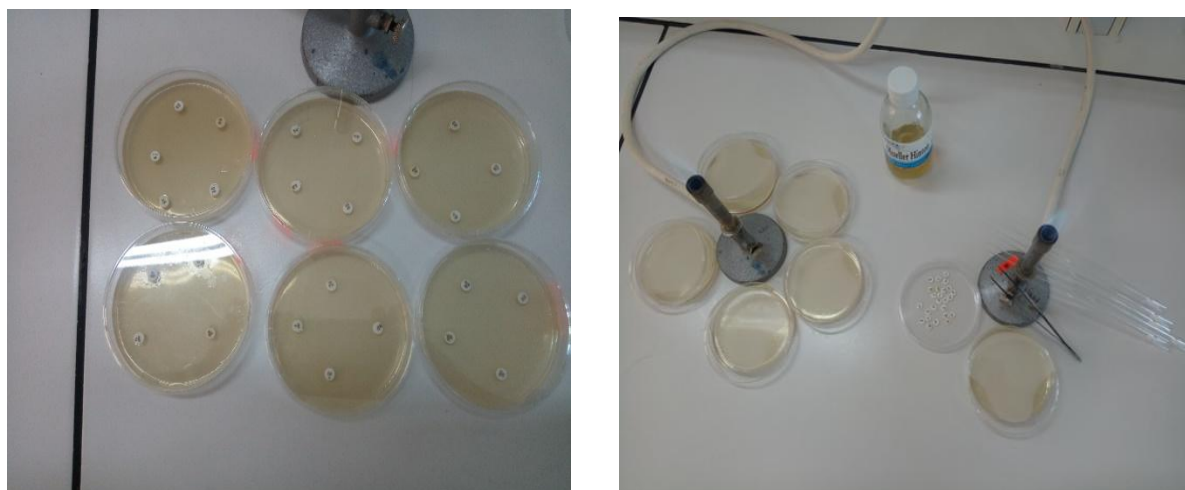
### 4.2.7.2. L'antibiogramme

L'antibiogramme Pasteur fournit des résultats quantitatifs en CMI et qualitatifs en catégories cliniques (sensible, intermédiaire et résistant).

Outre son intérêt clinique, l'antibiogramme pasteur permet de dresser un relevé des caractères de sensibilité ou de résistance du germe étudié (antibiotype).

La méthode Pasteur est reproductible grâce à une normalisation de la fabrication des disques et du milieu, des conditions opératoires et du contrôle de qualité selon les normes OMS (normes n°26 pour les substances biologiques, révision 1981. Rapport technique OMS n°673) (Pasteur, 1988).

L'antibiogramme est fait à partir d'une culture pure de *Streptococcus thermophilus* en milieu liquide obtenu à partir d'un isolement sur gélose (figure17 et tableau IV).



**Figure n°17 : Sensibilité des souches lactiques aux antibiotiques  
(photographie originale)**

**Tableau IV : Les disques d'antibiotiques utilisés**

L'antibiotique	Abréviation	La charge en $\mu\text{g}$
Chloramphénicol	C	30
Amikacine	AK	30
Oxacilline	OX	5
Ciprofloxacine	CIP	5
Gentamicine	HLG	120
Fosfomycine	FO	200
Colistine	CL	25
Acide fusidique	FC	10
Erythromycine	E	15
Ticavcilline+Ac clavulanique	TTC	85
Amoxyclav	AMC	30
Tétracycline	TE	30
Imipénèm	IMI	10
Acide nalidixique	NA	30
Ticarcilline	TC	75
Cefoxitin	CX	30

### 4.2.8. Procédé de fabrication du yaourt

Selon le « Guide des déterminations analytiques des laits et produits laitiers », élaboré par la Direction Générale du contrôle Economique et de la Répression des Fraudes (**Ministère du Commerce, 2005**), le diagramme de fabrication du yaourt (figure n°18) est comme suit :

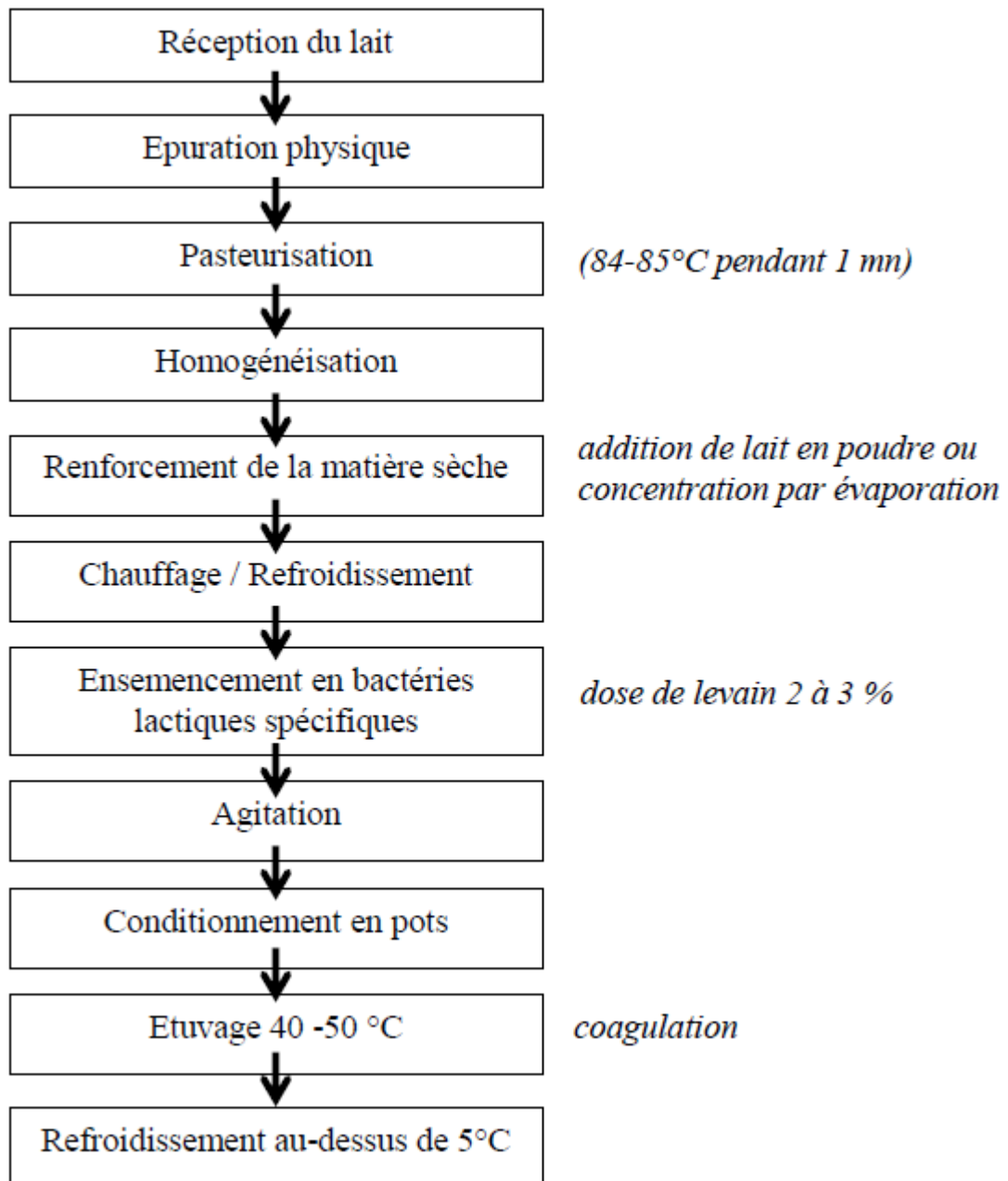


Figure n°18 : Le diagramme de fabrication du yaourt



## 4.2.9. Contrôle physico- chimique des échantillons

### 4.2.9.1. Mesure du pH (AFNOR, 1986)

#### -Principe

Le principe consiste à la mesure électrométrique direct du pH (acidité ionique) à l'aide d'un pH mètre.

#### -Mode opératoire

On prélève une prise d'essai d'un volume suffisamment pour permettre l'immersion de l'électrode du pH (électronique) (figure n°19), après la stabilisation de la valeur affichée sur l'écran.



**Figure n°19 : pH mètre**



#### 4.2.9.2. Conductivité électrique

##### -Principe

Le but de ce test est la détermination des espèces ionisantes (**Rodier, 1984**).

##### -Mode opératoire

On prélève une prise d'essai d'un volume suffisamment pour permettre l'immersion de l'électrode du conductimètre (figure n°20), après la stabilisation de la valeur affichée sur l'écran.



**Figure n°20 : Conductimètre**

### 4.2.9.3. Détermination de l'acidité titrable (AFNOR, 1986)

#### -Principe

Titration de l'acidité par l'hydroxyde de sodium en présence de phénol phtaléine comme indicateur colorée (figure n°21)

#### -Mode opératoire

On introduit dans un bécher 10 mL de lait prélevé à la pipette, on y ajoute 3 à 4 gouttes de phénolphtaléine, on titre par la solution de hydroxyde de sodium de N/9, toute en ajoutant jusqu'à l'obtention d'une couleur rose persistante pendant 30 secondes

Expression des résultats :

L'acidité titrable exprimé en degrés Dornic °D est égale à :  $v * 10$

v : volume en millilitre de chute de la burette



**Figure n°21 : Titration de l'acide organique par une base  
(photographie originale)**

# **Chapitre 5.**

## Résultats et discussion

## 5.1. Résultats du contrôle microbiologique des échantillons

### 5.1.1. Résultats

Les résultats obtenus après le contrôle microbiologique sont regroupés au niveau des tableaux V et VI.

**Tableau V** : Les résultats des analyses microbiologiques des laits crus (nombre des UFC/mL)

Echantillon Germes (nombre des UFC/mL)	Lait de vache	Lait de chèvre	Lait de brebis	Normes JORADP (N°39, 2017)
Flore mésophile totale.	1,90 10 <sup>3</sup>	1,79 10 <sup>3</sup>	4,18 10 <sup>2</sup>	3.10 <sup>5</sup>
Coliformes totaux.	2,25 10 <sup>4</sup>	3,18 10 <sup>3</sup>	Absence	-
Coliformes fécaux.	Absence	Absence	Absence	5. 10 <sup>2</sup>
<i>Clostridium</i> sulfito- réducteurs.	Absence	Absence	Absence	50
Levures.	3,09 10 <sup>3</sup>	3,36 10 <sup>4</sup>	ID	-
Moisissures.	Absence	Absence	Absence	-

ID : indénombrable.

**Tableau VI** : Les résultats des analyses microbiologiques de la margine

Echantillon Genre	La margine
Flore mésophile totale.	7,45 10 <sup>2</sup>
Coliformes totaux.	Absence
Coliformes fécaux.	Absence
<i>Clostridium</i> sulfito- réducteurs.	Absence
Levures.	Absence
Moisissures.	2,9 10 <sup>2</sup>

### 5.1.2. Interprétation

#### ➤ Les laits crus

Selon la norme indiquées au tableau ci-dessus on remarque que les différents échantillons du lait cru sont de bonne qualité bactériologique puisqu'ils sont exemptes de tout germes fécaux et pathogènes les plus redoutables tels que *Clostridium* sulfito-réducteurs agents causals de grave intoxications alimentaires.

On conclue que l'établissement Achbour d'où nos échantillons ont été prélevés, ont bien respectés les bonnes pratiques d'hygiène et que les laits crus proviennent des animaux sains, ainsi que les règles d'hygiène ont été respectées au cours de notre travaille.

#### ➤ La margine

D'après les résultats obtenue la margine est exempte de tout germes pathogènes ou d'altération donc on conclue qu'elle est de bonne qualité microbiologique.

## 5.2. Résultats du contrôle physico-chimique des échantillons

### 5.2.1. Résultats

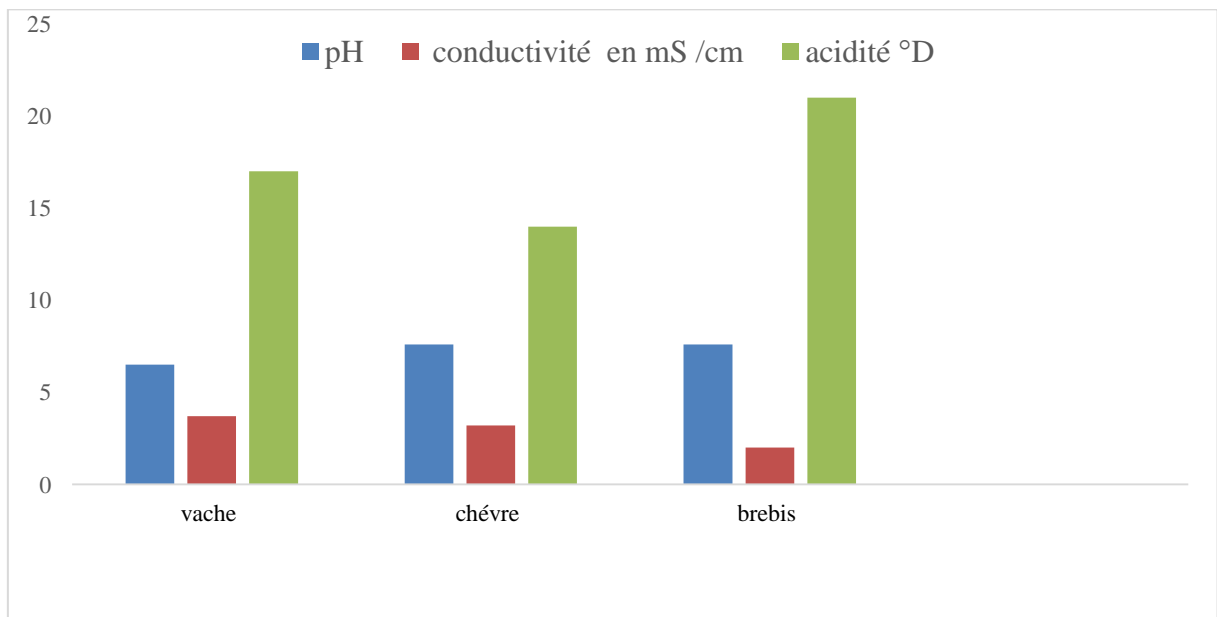
Résultats d'analyse physico-chimique des laits crus et de la margine sont donnés dans le tableau VII, VIII et les figures n°22 et 23.

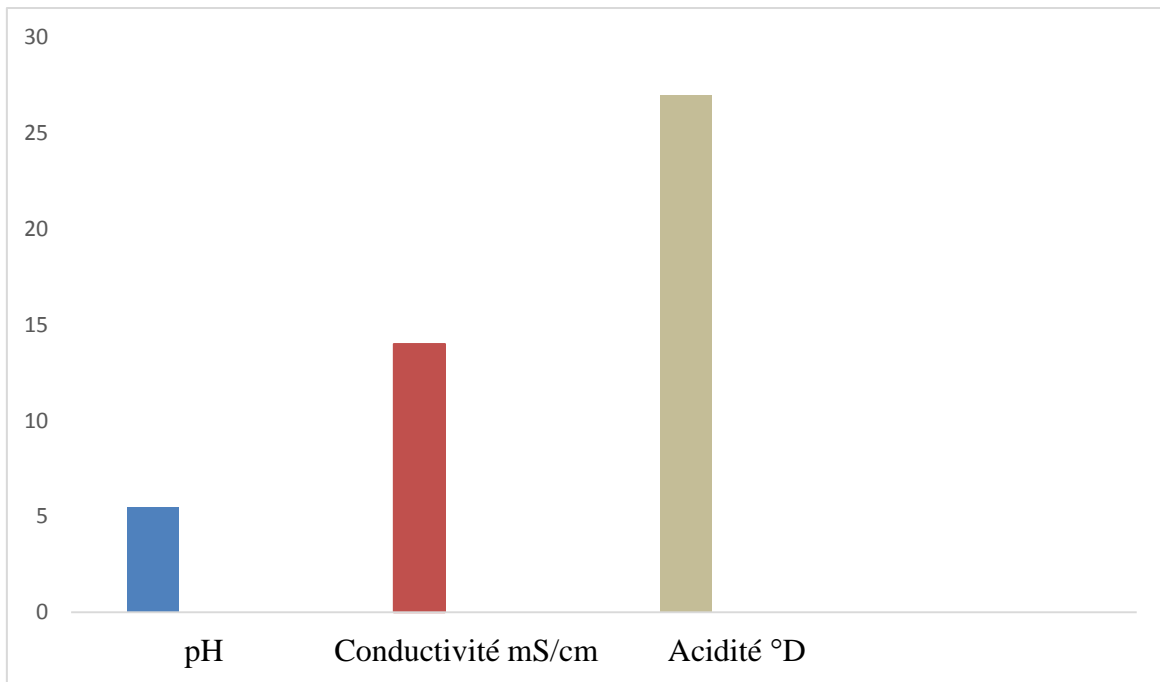
**Tableau VII :** Résultats d'analyse physico-chimique des laits crus

Echantillons Analyses Effectuées	Lait de vache	Anonyme, (1995)	Lait de brebis	Anonyme, (1995)	Lait de chèvre	Anonyme, (1995)
pH	6,5	6,50-6,60	7,6	6,50-6,85	7,6	6,45-6,50
Conductivité	3,7	-	2	-	3,2	-
Acidité titrable	17	16-18	21	22-25	14	14-18

**Tableau VIII** : Résultats d'analyse physico-chimique de la margine

Echantillon	Les valeurs trouvées dans notre travail	Norme selon ( <b>Mekki <i>et al.</i>, 2008</b> )
Les analyses effectuées		
pH	5,5	5,0
Conductivité	14	10,50
Acidité titrable	27	-

**Figure n°22** : Caractères physico-chimique des laits crus



**Figure n°23 : Caractères physico-chimique de la margine**

### 5.2.2. Interprétation

#### ➤ Les laits crus

D'après la comparaison avec les Normes (**Anonyme, 1995**) on déduit que les laits crus sont acceptable au niveau de la qualité physico-chimique donc les échantillons analysés vient des animaux sains.

#### ➤ La margine

D'après les résultats obtenue et selon les normes, la margine étudiée est de charge ionique plus au moins élevée que les normes et cela peut être due aux conditions climatiques, variété d'olive, la région, ...

## 5.3. Résultats d'isolement et d'identification des souches lactiques

Les cultures obtenues sur le milieu M17 à 42°C et MRS à 37°C montrent qu'il y a eu croissance de colonies appartenant à des souches lactique (*Streptococcus* et *Lactobacillus*). Le tableau IX et les figures 24, 25, 26, 27 et 28 rapportant toutes les caractéristiques macroscopiques et microscopiques des souches isolées localement.

**Tableau IX** : Caractéristiques macroscopiques et microscopique de *Streptococcus thermophilus* et de *Lactobacillus bulgaricus*

Souche isolées	<i>Lactobacillus bulgaricus</i>	<i>Streptococcus thermophilus</i>
Milieu d'isolement	MRS	M17
Aspect des colonies	Grises, ronde à bords irréguliers.	Blanches, rondes.
Catalase	-	-
Gram	+	+
Aspect cellulaire	Bâtonnets	Coccies
Mode de regroupement	Isolées en paires ou en chaînettes.	Isolées en diplocoques ou en chaînettes.

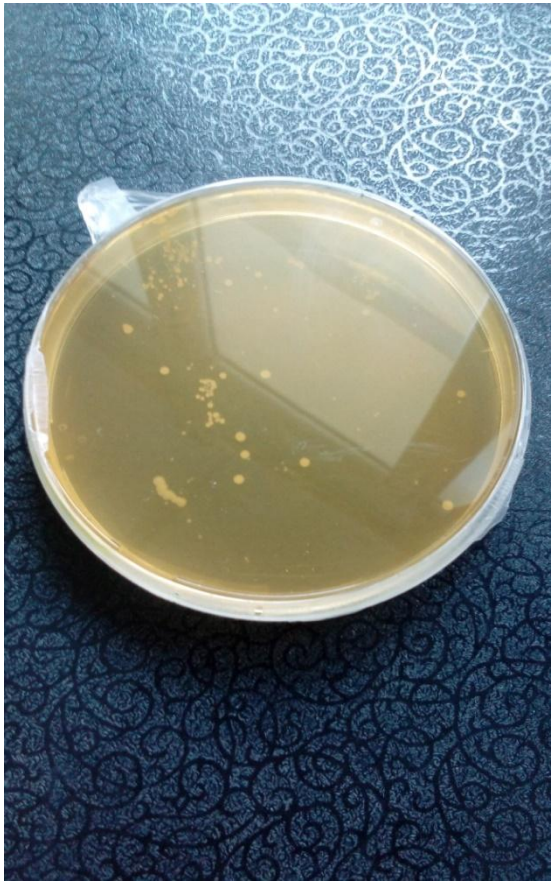


**Figure n°24** : Résultat du test de la catalase (absence d'effervescence)  
(photographie originale)

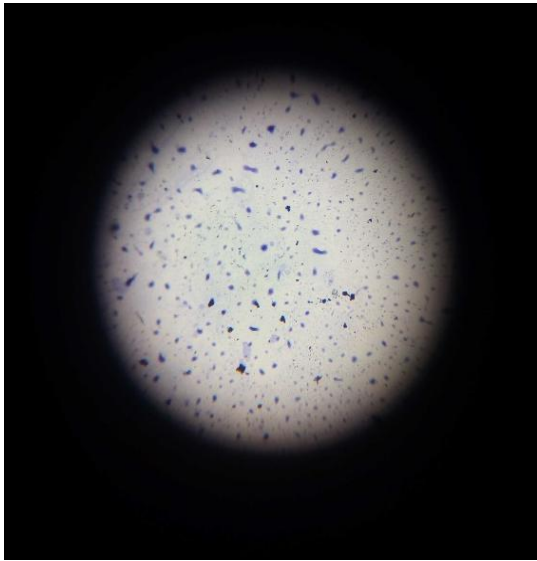




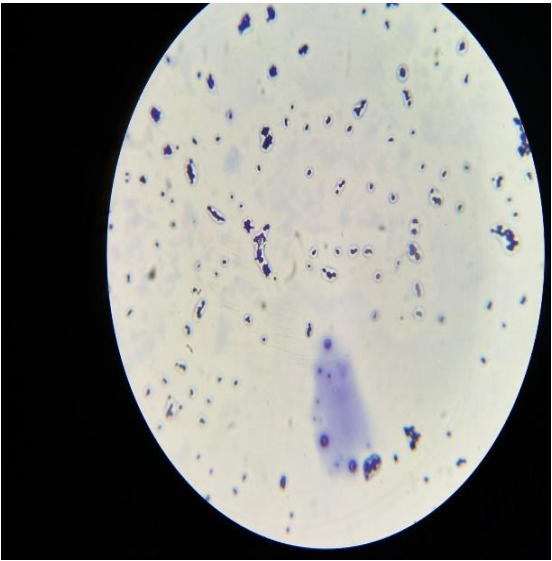
**Figure n°25 :** Aspect macroscopique de *Lb. bulgaricus* (photographie originale)



**Figure n°26 :** Aspect macroscopique de *St. thermophilus*. (photographie originale)



**Figure n°27 :** Aspect microscopique *Lb. bulgaricus* (photographie originale)



**Figure n°28 :** Aspect microscopique de *St. thermophilus* (photographie originale)

## 5.4. Résultats des aptitudes technologiques des souches lactiques

### 5.4.1. Résultats et interprétation de la sensibilité des souches lactiques aux antibiotiques

Les résultats de la résistance et la sensibilité de *Streptococcus thermophilus* aux antibiotiques sont groupés dans le tableau X et la figure n°29.

**Tableau X** : Résultats de l'antibiogramme

Sensible	Intermédiaire	Résistant
Chloramphenicol	Colistine	Erythromycine
amikacine	Acide fusidique	Ticavcilline+Ac
Ciprofloxacin		clavulanique
Gentamicine		Amoxyclav
Fosfomycine		Tétracycline
		Imipénèm
		Acide nalidixique
		Ticarcilline
		Cefoxitin
		Oxacilline

D'après les résultats obtenus, *Streptococcus thermophilus* est **résistante** aux antibiotiques suivant : Erythromycine, Ticavcilline+Ac clavulanique, Amoxyclav, Tétracycline, Imipénèm, Acide nalidixique, Ticarcilline, Cefoxitin, oxacilline.

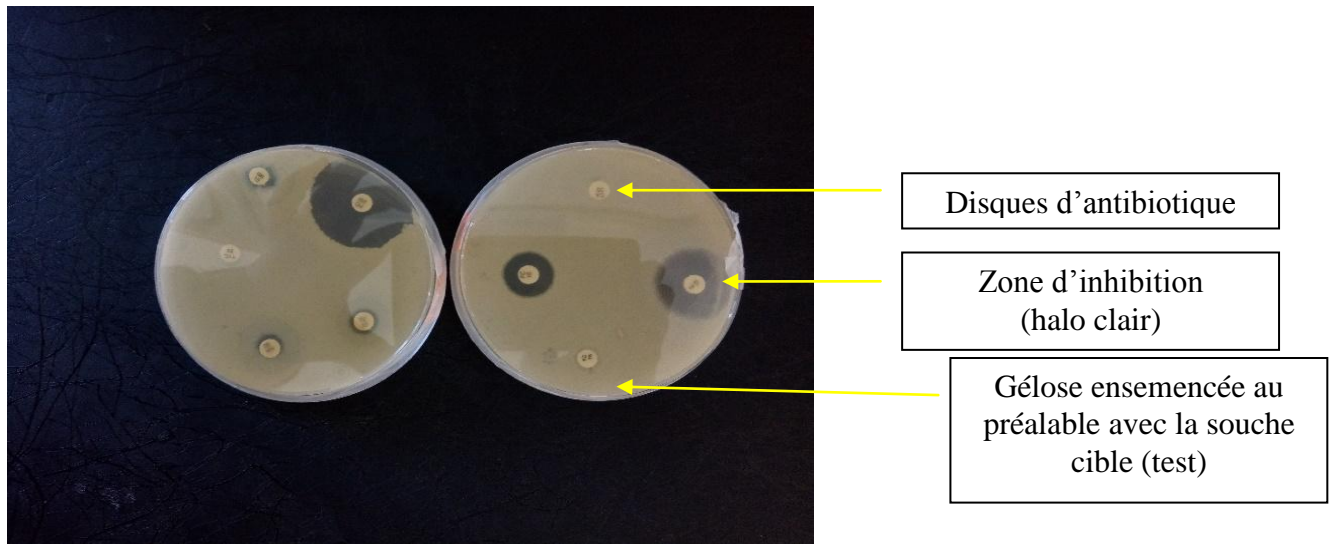
**Sensible** : Chloramphenicol, amikacine, Ciprofloxacin, Gentamicine, Fosfomycine.

**Intermédiaire** : Colistine, Acid fusidique.

Comme exemple on se referant à **Pasteur (1988)** :

**Oxacilline** : résistante <20 mm<sensible

Diametre de zone d'inhibition obtenu = 1,3 cm ou 13mm



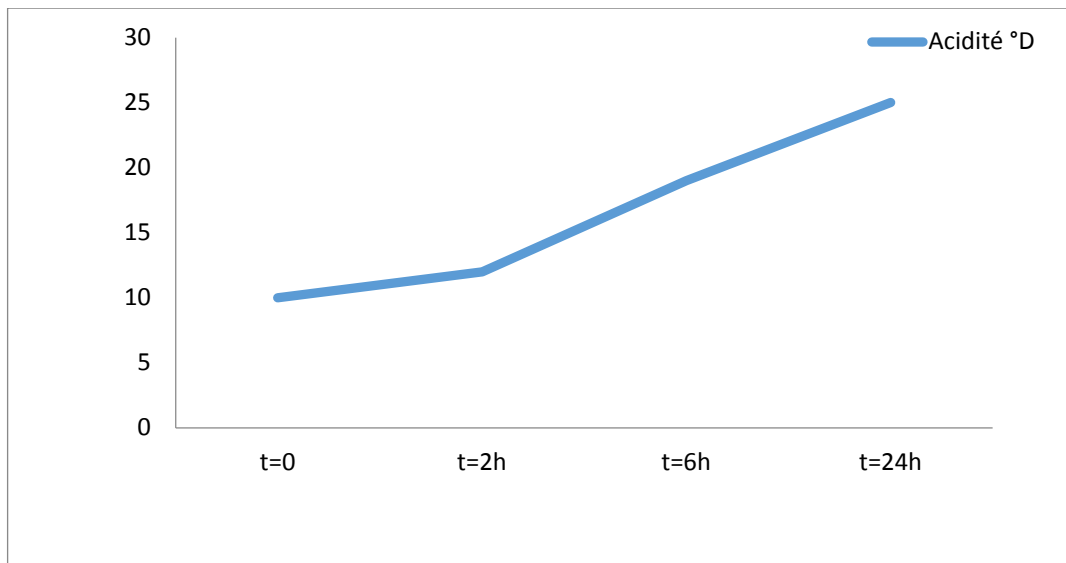
**Figure n°29** : Résultat de la sensibilité de *Streptococcus thermophilus* aux antibiotiques (photographie originale)

### 5.4.2. Résultats et interprétation de la titration de l'acide organique

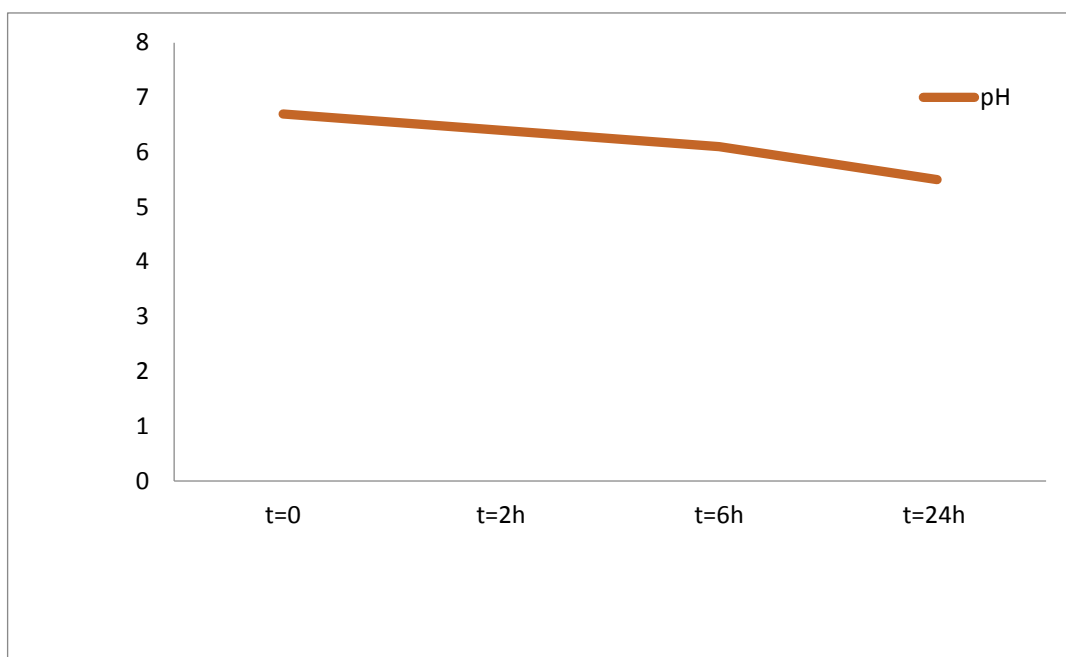
L'activité acidifiante est l'une des principales fonctions des bactéries lactiques. Les résultats obtenus sont illustrés par le tableau XI et figures 30, 31.

**Tableau XI** : Pouvoir acidifiant des ferments

T =0		Après 2h d'incubation		Après 6h d'incubation		Après 24h d'incubation	
pH	Acidité °D	pH	Acidité °D	pH	Acidité °D	pH	Acidité °D
6,7	10	6,4	12	6,1	19	5,5	25



**Figure n°30 :** Courbe de pouvoir acidifiant des ferments classique du yaourt autochtones isolés



**Figure n°31 :** Evolution de pH au cour du temps

D'après ces résultats, nous remarquons que la totalité des bactéries lactiques identifiées présentent une production progressive en acide lactique. Cette dernière est accompagnée d'un abaissement du pH du milieu.

Après 24h d'incubation, les valeurs de pH varient entre pH 6,7 et pH 5,5 ; en parallèle l'acidité se situe entre 10 °D et 25 °D.

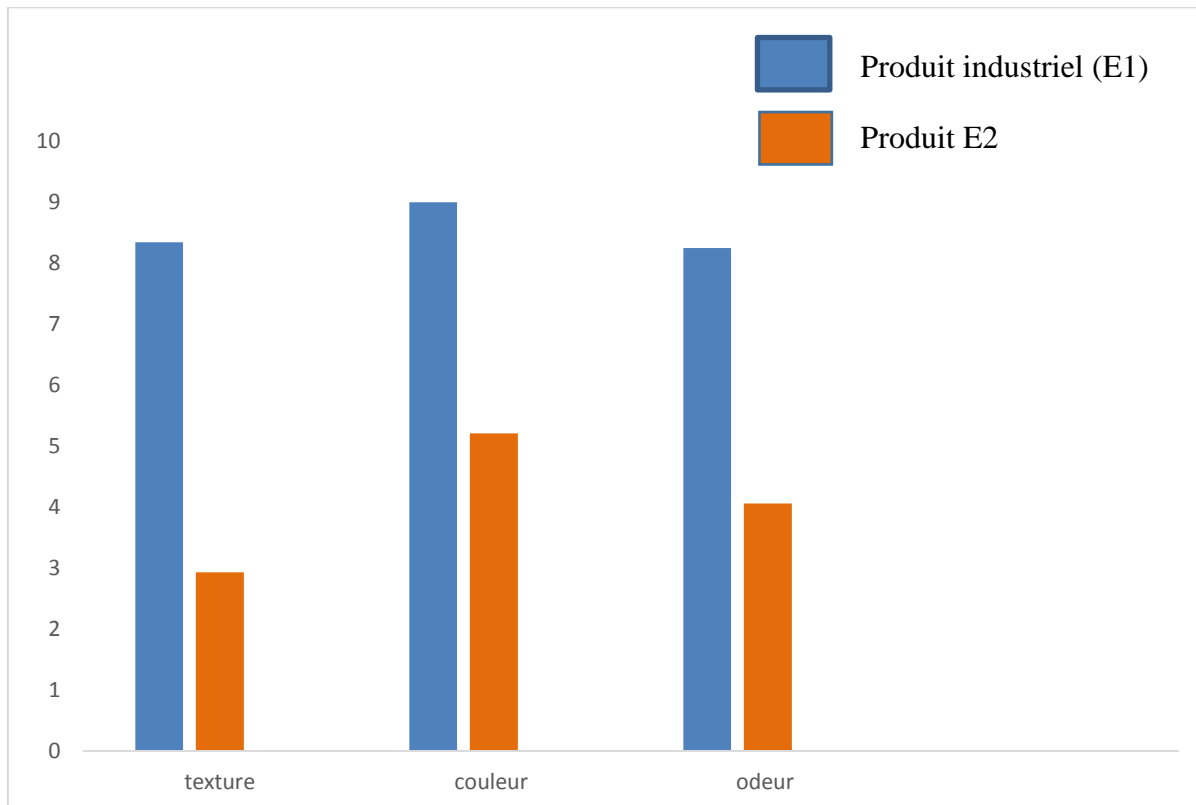
## 5.5. Résultats et interprétation sur la production d'un produit laitier « yaourt » à base de souches lactiques isolées de la région de Bordj Bou Arreridj

### 5.5.1. Résultats

Comparaison entre produit industriel (E1) et produit laitier « yaourt » à base de souches lactiques isolé de la région de Bordj Bou Arreridj (tableau XII et figure n°32).

**Tableau XII :** Résultats de l'analyse sensorielle

Caractères organoleptiques Produits	Texture	Odeur	Couleur
E1	8,34	8,25	9
E2	2,93	4,06	5,21



**Figure n°32 :** Résultat de l'analyse sensorielle du « yaourt » obtenu avec les ferments autochtones isolés

### 5.5.2. Interprétation

D'après la comparaison entre les deux produits à travers un test sensoriel (texture, couleur, odeur) on trouve que le E1 industriel avec une moyenne générale (8,5/10) est plus préférable et a plus d'acceptabilité que le produit E2 (souches lactiques) locales pour les dégustateurs moyenne générale (4/10).

# **Conclusion**

## Conclusion

---

### Conclusion

Dans le cadre de notre étude, deux souches lactiques (*Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus*) sont isolées, purifiées, identifiées et caractérisées technologiquement à partir des aliments locaux : laits crus de vache et de brebis et margine.

Ces deux souches ont été utilisées autant qu'un ferment pour une tentative de production d'un lait fermenté (yaourt). Ce dernier était mis en comparaison à travers les critères organoleptiques (odeur, textures et couleur) avec un yaourt naturel industriel.

Les résultats que nous avons obtenus au cours de notre expérimentation démontrent que le E1 (yaourt produit par les souches lyophilisées importées) était plus préférable (texture, couleur et odeur) que le produit E2 (yaourt produit par les souches locales) pour les dégustateurs (une trentaine de personnes âgée de 20 à 40 ans) la moyenne des notes donnés pour les trois caractères organoleptique étudiées est comme suite 8,5/10 pour le E1 et 4/10 pour le E2.

En Perspectives, il serait intéressant de réaliser les points suivants :

- Approfondir les études sur des souches locale à travers le génie génétique ;
- Essayer d'améliorer la texture afin de répondre aux exigences industrielles ;
- Etudier d'autres paramètres technologiques propres aux souches autochtones tel que la production d'arômes ;
- La recherche de bactéries lactiques bactériocinogènes (productrice de bactériocine) ;
- Etude de l'effet de la conservation (lyophilisation) des souches isolées sur leurs aptitudes technologiques (production de biomasse,...).



# **Références bibliographiques**

## Références bibliographiques

1. **Ait-Belgnaoui, 2006.** Yaourts probiotiques algériens et ferments commerciaux utilisés dans leur fabrication : contrôle de qualité et de l'étiquetage. Mémoire en vue de l'obtention du Diplôme de Magistère. Université Mentouri de Constantine. P : 8 (118)
2. **Agence Française de la Normalisation, (1986).** Contrôle de la qualité des produits laitiers, analyses physiques et chimiques. Ed : AFNOR, 2003, 3<sup>ème</sup> édition. 1030p
3. **Angelov, 2009.** Approche méthodologique à la modélisation par les plans d'expériences pour l'élaboration d'un yaourt. Mémoire de Magister. Université d'Oran. P : 10 (65)
4. **Anonyme, 1995.** 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. Thèse de Doctorat. Université d'Oran. P : 102 (164)
5. **Anonyme, 2009.** Traite des vaches laitières: matériel, installation, entretien. P : 410-411.
6. **Axelsson, 1998.** Isolement et caractérisation des bactéries lactiques productrices d'arômes (diacétyle). Mémoire de Magister. Ecole supérieur d'Agronomie El-Harrach Alger. P : 14 (138)
7. **Axelsson, 2004.** Evaluation des aptitudes technologiques et probiotiques des bactéries lactiques locales. Mémoire de Magister. Université Kasdi Merbah-Ouargla. P : 4 (88)
8. **Badis, 2005.** Caractérisation phénotypique des bactéries lactiques isolées à partir de lait cru de chèvre de deux populations caprines locales "ARABIA ET KABYLE". Sciences & Technologie C – N°23, juin (2005), pp. 30-37.
9. **Beal et Sodini, 2003.** Approche méthodologique à la modélisation par les plans d'expériences pour l'élaboration d'un yaourt. Mémoire de Magister. Université d'Oran. P : 10 (65)
10. **Bottazzi, 1972.** Approche méthodologique à la modélisation par les plans d'expériences pour l'élaboration d'un yaourt. Mémoire de Magister. Université d'Oran. P : 10 (65)
11. **Broadbent, 2001.** Evaluation des aptitudes technologiques et probiotiques des bactéries lactiques locales. Mémoire de Magister. Université Kasdi Merbah-Ouargla. P : 4 (88)

12. **Calvez, 2009.** Isolement et caractérisation biotechnologiques des bactéries lactiques isolées à partir des margines d'olives « AMOREDJ » fermentés. Mémoire de Magister. Université D'Oran 1 Ahmed Ben Bella. P : 52 (172)
13. **Carminati, 2010.** Evaluation des aptitudes technologiques et probiotiques des bactéries lactiques locales. Mémoire de Magister. Université Kasdi Merbah-Ouargla. P : 9-10 (88)
14. **Chamba, 2008.** Evaluation des aptitudes technologiques et probiotiques des bactéries lactiques locales. Mémoire de Magister. Université Kasdi Merbah-Ouargla. P : 9-10 (88)
15. **Chaves, 2002.** Isolement et caractérisation biotechnologiques des bactéries lactiques isolées à partir des margines d'olives « AMOREDJ » fermentés. Mémoire de Magister. Université D'Oran 1 Ahmed Ben Bella. P : 27-28 (172)
16. **Corrieu, 2008.** Yaourts probiotiques algériens et ferments commerciaux utilisés dans leur fabrication : contrôle de qualité et de l'étiquetage. Mémoire de Magister. Université Mentouri de Constantine. P : 8 (118)
17. **Collins, 1993.** Evaluation des aptitudes technologiques et probiotiques des bactéries lactiques locales. Mémoire de Magister. Université Kasdi Merbah-Ouargla. P : 3 (88)
18. **Daassi, 2014.** Caractérisation de la composition en microconstituants des margines issues de la production oléicole et utilisabilité comme complément dans la ration chez la vache laitière. Thèse de doctorat. Université Frères Mentouri-Constantine. P : 19 (175)
19. **Drouault, 2001.** Effets des bactéries lactiques ingérées avec des laits fermentés sur la santé INRA, EDP Sciences, 2001 Vet. Res. 32 : 101–117
20. **Delorme, 2008.** Isolement et caractérisation biotechnologiques des bactéries lactiques isolées à partir des margines d'olives « AMOREDJ » fermentés. Mémoire de Magister. Université D'Oran 1 Ahmed Ben Bella. P : 27-28 (172)
21. **Dellaglio, 1994.** Isolement et caractérisation biotechnologiques des bactéries lactiques isolées à partir des margines d'olives « AMOREDJ » fermentés. Mémoire de Magister. Université D'Oran 1 Ahmed Ben Bella. P : 27-28 (172)
22. **Driessen et Kingma, 1982.** Approche méthodologique à la modélisation par les plans d'expériences pour l'élaboration d'un yaourt. Mémoire de Magister. Université d'Oran. P : 10 (65)

23. **Eck et Gillis, 1997.** Approche méthodologique à la modélisation par les plans d'expériences pour l'élaboration d'un yaourt. Mémoire de Magister. Université d'Oran. P : 10 (65)
24. **Fiorentino, 2003.** Caractéristiques physico-chimiques des margines issues de deux systèmes d'extraction. Mémoire de master. Université A. MIRA – Béjaia. P : 4 (32)
25. **Gusils, 2010.** Evaluation des aptitudes technologiques et probiotiques des bactéries lactiques locales. Mémoire de Magister. Université Kasdi Merbah-Ouargla. P : 28 (88)
26. **Guiraud, 1998.** Microbiologie alimentaire. P : 7. Saint-Just-la-Pendue. DUNOD Première édition 1998.
27. **Guiraud et Galzy, 1980.** Recherche de bactéries lactiques à caractère bacteriocinogène à partir du lait de vache, de chèvre, de brebis et de chamelle. Mémoire d'Ingénieur d'Etat. P : 86-89 (164)
28. **Ho, 2007.** Evaluation des aptitudes technologiques et probiotiques des bactéries lactiques locales. Mémoire de Magister. Université Kasdi Merbah-Ouargla. P : 3 (88)
29. **Hols, 2005.** Isolement et caractérisation biotechnologiques des bactéries lactiques isolées à partir des margines d'olives « AMOREDJ » fermentés. Mémoire de Magister. Université D'Oran 1 Ahmed Ben Bella. P : 27-28 (172)
30. **Idoui et Karam, 2008.** Evaluation des aptitudes technologiques et probiotiques des bactéries lactiques locales. Mémoire de Magister. Université Kasdi Merbah-Ouargla. P : 28 (88)
31. **Izquierdo, 2009.** Yaourts probiotiques algériens et ferments commerciaux utilisés dans leur fabrication : contrôle de qualité et de l'étiquetage. Mémoire Magister. Université Mentouri de Constantine. P : 8 (118)
32. **Juillard, 1998.** Approche méthodologique à la modélisation par les plans d'expériences pour l'élaboration d'un yaourt. Mémoire de Magister. Université d'Oran. P : 10 (65)
33. **Joffin et Joffin, 2003.** Collection Biologie Technique « Microbiologie Alimentaire » 5ème édition scérEn CRDP AQUITAINE. P : 91
34. **Karam et Karam, 1994.** Caractérisation physico-chimique et microbiologique des laits crus de trois espèces laitières, caprine, bovine et ovine, sélection des souches lactiques thermophiles, ayant un profil probiotique et technologique. Mémoire de Master 2. Université de Bordj Bou Arreridj. P : 29 (89)

35. **Kosikowski, 1982.** Approche méthodologique à la modélisation par les plans d'expériences pour l'élaboration d'un yaourt. Mémoire de Magister. Université d'Oran. P : 10 (65)
36. **Lambert, 1988.** Recherche de bactéries lactiques à caractère bacteriocinogène à partir du lait de vache, de chèvre, de brebis et de chamelle. Mémoire d'Ingénieur d'Etat. P : 59-60 (116)
37. **Lamontagne, 2002.** 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. Thèse de Doctorat. Université d'Oran. P : 20 (164)
38. **Langella, 2001.** Isolement et caractérisation biotechnologiques des bactéries lactiques isolées à partir des margines d'olives « AMOREDJ » fermentés. Mémoire de Magister. Université D'Oran 1 Ahmed Ben Bella. P : 52 (172)
39. **Lanciotti, 2005.** Caractérisation de la composition en microconstituants des margines issues de la production oléicole et utilisabilité comme complément dans la ration chez la vache laitière. Thèse de doctorat. Université Frères Mentouri-Constantine. P : 19 (175)
40. **Larpent, 1997.** Evaluation des aptitudes technologiques et probiotiques des bactéries lactiques locales. Mémoire de Magister. Université Kasdi Merbah-Ouargla. P : 28-30 (88)
41. **Larpent, 2009.** Caractérisation physico-chimique et microbiologique des laits crus de trois espèces laitières, caprine, bovine et ovine, sélection des souches lactiques thermophiles, ayant un profil probiotique et technologique. Mémoire Master 2. Université de Bordj Bou Arréridj. P : 29 (89)
42. **Larpent, 2013.** Microbiologie alimentaire techniques de laboratoire. Lavoisier Paris Editions TEC & DOC. P : 338.
43. **Leroy et De Vuyst, 2004.** Caractérisation de bactéries lactiques psychrotrophes en vue de leur utilisation dans la biopréservation des aliments. Étude physiologique et moléculaire des mécanismes d'adaptation au froid. Thèse de Doctorat. Université de Nantes. P : 19 (160)
44. **Mäyrä-Mäkinen et Bigret, 2004.** Evaluation des aptitudes technologiques et probiotiques des bactéries lactiques locales. Mémoire de Magister. Université Kasdi Merbah-Ouargla. P : 9-10 (88)

45. **Mahaut, 2000.** Approche méthodologique à la modélisation par les plans d'expériences pour l'élaboration d'un yaourt. Mémoire de Magister. Université d'Oran. P : 11 (65)
46. **Mekki., 2008.** Etude expérimentale et théorique de procédés de valorisation de sous-produits oléicoles par voies thermique et physico-chimique ; Ajmia Chouchene 4 Jun 2012. P : 12 (208)
47. **Monnet, 2008.** Evaluation des aptitudes technologiques et probiotiques des bactéries lactiques locales. Mémoire de Magister. Université Kasdi Merbah-Ouargla. P : 9-10 (88)
48. **Pasteur, 1988.** Diagnostic Pasteur « ANTIBIOGRAMME PASTEUR ».
49. **Pot, 2008.** Evaluation des aptitudes technologiques et probiotiques des bactéries lactiques locales. Mémoire de Magister. Université Kasdi Merbah-Ouargla. P : 3-4 (88)
50. **Quiberoni, 2001.** Isolement, purification, identification et étude des caractéristiques biotechnologiques de *Leuconostoc mesenteroides* isolé à partir du lait cru de chèvre. Mémoire de Magister. Université d'Oran Ahmed Benbela. P : 18 (133)
51. **Rodier, 1984.** Caractéristiques physico-chimiques des margines issues de deux systèmes d'extraction. Mémoire de master. Université A. MIRA – Béjaia. P : 15 (32)
52. **Romain Jeantet, 2008.** Les produits laitiers, 2ème édition, Editions TSE et DOC, LAVOISIER. P : 1-3.
53. **Ross, 2002.** Caractérisation de bactéries lactiques psychrotrophes en vue de leur utilisation dans la biopréservation des aliments. Étude physiologique et moléculaire des mécanismes d'adaptation au froid. Thèse de Doctorat. Université de Nantes. P : 19 (160)
54. **Scheilfer, 1987.** Isolement et caractérisation biotechnologiques des bactéries lactiques isolées à partir des margines d'olives « AMOREDJ » fermentés. Mémoire de Magister. Université D'Oran 1 Ahmed Ben Bella. P : 27-28 (172)
55. **Simova, 2007.** Approche méthodologique à la modélisation par les plans d'expériences pour l'élaboration d'un yaourt. Mémoire de Magister. Université d'Oran. P : 10 (65)
56. **Streit, 2008.** Isolement et caractérisation des bactéries lactiques productrice d'arôme. Mémoire de Magister. Ecole supérieur d'Agronomie El-Harrach Alger. P : 14 (118)

57. **Streit, 2007.** Isolement et caractérisation biotechnologiques des bactéries lactiques isolées à partir des margines d'olives « AMOREDJ » fermentés. Mémoire de Magister. Université D'Oran 1 Ahmed Ben Bella. P : 49 (172)
58. **Stiles et Holzopfel, 1997.** Evaluation des aptitudes technologiques et probiotiques des bactéries lactiques locales. Mémoire de Magister. Université Kasdi Merbah-Ouargla. P : 3-4 (88)
59. **Tamime et Robinson, 2003.** Approche méthodologique à la modélisation par les plans d'expériences pour l'élaboration d'un yaourt. Mémoire de Magister. Université d'Oran. P : 10 (65)
60. **Tammam, 2000.** Approche méthodologique à la modélisation par les plans d'expériences pour l'élaboration d'un yaourt. Mémoire de Magister. Université d'Oran. P : 10 (65)
61. **Terre, 1986.** Effet de l'association des bactéries lactiques thermophiles isolées localement sur le taux de la croissance et le pouvoir acidifiant cultivées sur lactosérum. Thèse d'ingénieur d'état. Université de Blida P : 7 (75)
62. **Thunell et Sandine, 1985.** Approche méthodologique à la modélisation par les plans d'expériences pour l'élaboration d'un yaourt. Mémoire de Magister. Université d'Oran. P : 10 (65)
63. **Vandamme, 1996.** Evaluation des aptitudes technologiques et probiotiques des bactéries lactiques locales. Mémoire de Magister. Université Kasdi Merbah-Ouargla. P : 3 (88)
64. **Wouters, 2002.** Evaluation des aptitudes technologiques et probiotiques des bactéries lactiques locales. Mémoire de Magister. Université Kasdi Merbah-Ouargla. P : 9-10 (88)
65. **Yaygin, 1970.** Approche méthodologique à la modélisation par les plans d'expériences pour l'élaboration d'un yaourt. Mémoire de Magister. Université d'Oran. P : 10 (65)
66. **Zourari, 1992.** Effet de l'association des bactéries lactiques thermophiles isolées localement sur le taux de la croissance et le pouvoir acidifiant cultivées sur lactosérum. Thèse d'ingénieur d'état. Université de Blida. P : 7 (75)

# **Annexes**



## Annexe 1

### Milieux de cultures :

#### Composition (g /L)

##### PCA : Plate count agar

Peptone	5 g
Extrait de levure	2,5 g
Glucose	1 g
Gélose	15 g
Eau distillée	1000 mL

#### Sabouraud :

Peptone de viande	5 g
Peptone de caséine	5 g
Glucose	20 g
Agar agar	15 g
Eau distillée	1000 mL

#### VRBG : gélose billée au cristal violet et au rouge neutre

Peptone	7 g
Extrait de levure	5 g
Sels biliaires	1,5 g
Glucose	10 g
Chlorure de sodium	5 g
Rouge neutre	30 mg
Cristal violet	2 mg
Agar agar	12 g
Eau distillée	1000 mL

### **VF : gélose Viande –Foie**

<b>Extrait viande-foie</b>	<b>10 g</b>
<b>Peptone</b>	<b>20 g</b>
<b>Extrait de levure</b>	<b>10 g</b>
<b>Glucose</b>	<b>5 g</b>
<b>Agar agar</b>	<b>15 g</b>
<b>Eau distillée</b>	<b>1000 mL</b>

### **Gélose M 17 :**

<b>Peptone de soja</b>	<b>5 g</b>
<b>Peptone de viande</b>	<b>2,5 g</b>
<b>Peptone de caséine</b>	<b>2,5 g</b>
<b>Extrait de viande</b>	<b>5 g</b>
<b>Extrait de levure</b>	<b>2,5 g</b>
<b>Lactose</b>	<b>5 g</b>
<b>Acide ascorbique</b>	<b>0,5 g</b>
<b>Glycérophosphate de sodium</b>	<b>19 g</b>
<b>Sulfate de magnésium</b>	<b>0,25 g</b>
<b>Agar agar</b>	<b>15 g</b>
<b>Eau distillée</b>	<b>1000 mL</b>

### **Gélose MRS : Man, Rogosa et Sharp**

<b>Glucose</b>	<b>20 g</b>
<b>Peptone</b>	<b>10 g</b>
<b>Extrait de viande de bœuf</b>	<b>8 g</b>
<b>Acétate de sodium, 3H<sub>2</sub>O</b>	<b>5 g</b>
<b>Extrait de levure</b>	<b>4 g</b>
<b>K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub></b>	<b>0,2 g</b>

<b>Citrate d'ammonium</b>	<b>2 g</b>
<b>MgSO<sub>4</sub></b>	<b>0,2 g</b>
<b>MnSO<sub>4</sub></b>	<b>0,05 g</b>
<b>Tween 80</b>	<b>1 mL</b>
<b>Agar agar</b>	<b>15 g</b>
<b>Eau distillée</b>	<b>1000 mL</b>

### **MH : MUELLER HINTON**

**Infusion de 300 g de viande de bœuf déshydratée**

<b>Hydrolysate acide de caséine</b>	<b>17,5 g</b>
<b>Amidon de maïs</b>	<b>1,5 g</b>
<b>Eau distillée q .s. p</b>	<b>1000 mL</b>
<b>Agar agar</b>	<b>10 g</b>

### **Composition de lait écrémé reconstitué**

**Poudre de lait écrémé 250g**  
**Eau distillée 1000 mL**  
**Autoclaver à 110° C pendant 10 min**

### **La poudre de lait écrémé**

**Poudre de lait entier**  
**Lécithine Vitamines C, A, K, D3, E**  
**Azote**

### **Eau physiologique**

**NaCl: 9 g**  
**Eau distillée: 1000 mL**  
**Autoclaver à 120°C pendant 20 min**

*Lactobacillus delbruckii* subsp. *bulgaricus*

□ Taxonomie :

Règne : Bacteria

Division : Firmicutes

Classe : Bacill

Ordre : Lactobacillales

Famille : Lactobacillaceae

Genre : *Lactobacillus*

Espèce : *Lactobacillus delbruckii*

Sous-espèce : *Lactobacillus delbruckii bulgaricus*

*Streptococcus thermophilus*

□ Taxonomie :

Règne : Bacteria

Division : Firmicutes

Classe : Coccus

Ordre : Lactobacillales

Famille : Streptococcaceae

Genre : *Streptococcus*

Espèce : *Streptococcus thermophilus*



### Test de dégustation

Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi B.B.A.

Spécialité: Master 2 Microbiologie Appliquée

## Ce test de dégustation concerne les personnes non-fumeur

Male  / femelle

Pour des sujets âgés de 15 à 60 ans.

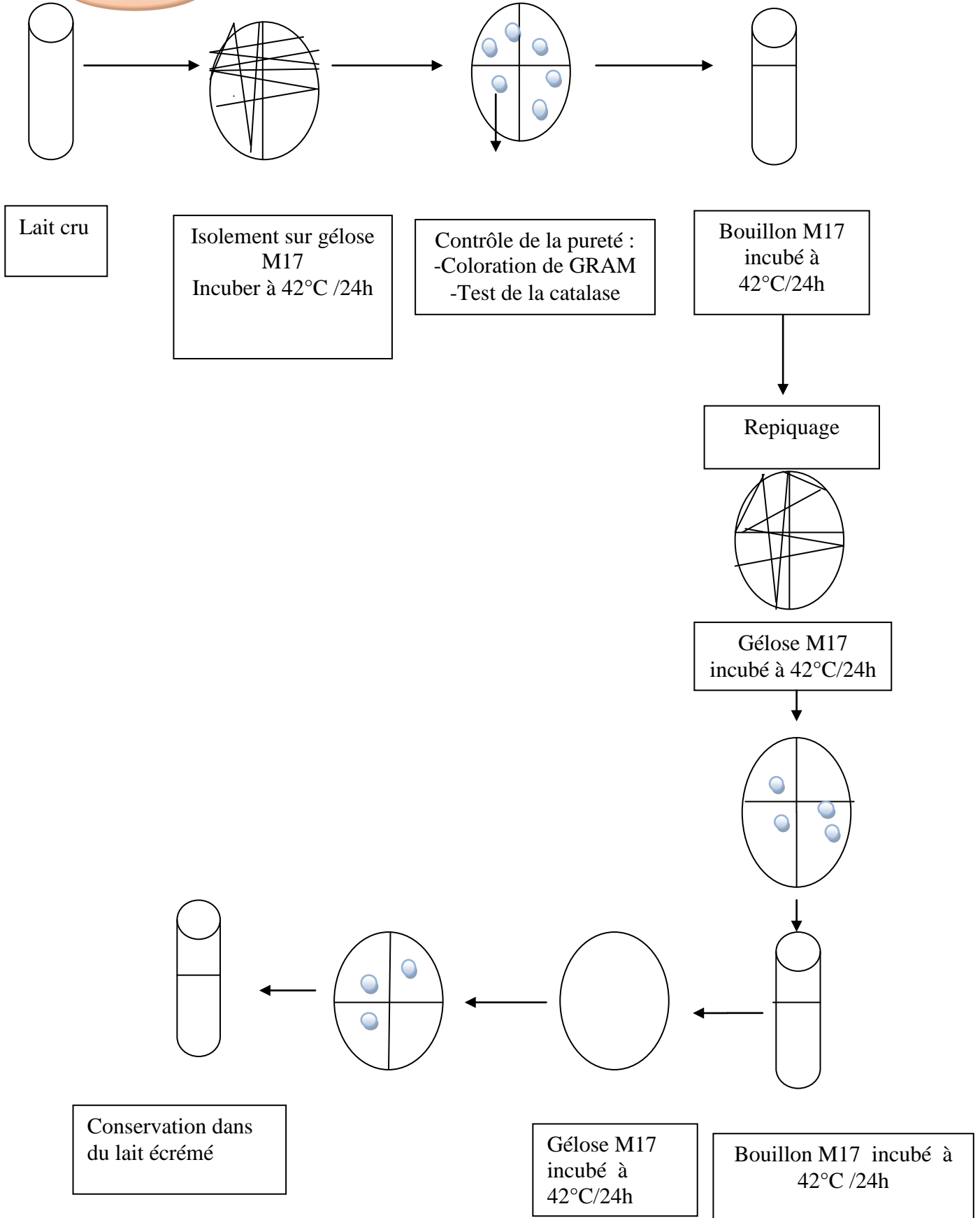
Échantillon	Caractéristiques	La note
E1	Texture	
	Couleur	
	Odeur	
E2	Texture	
	Couleur	
	Odeur	

Légendez ici

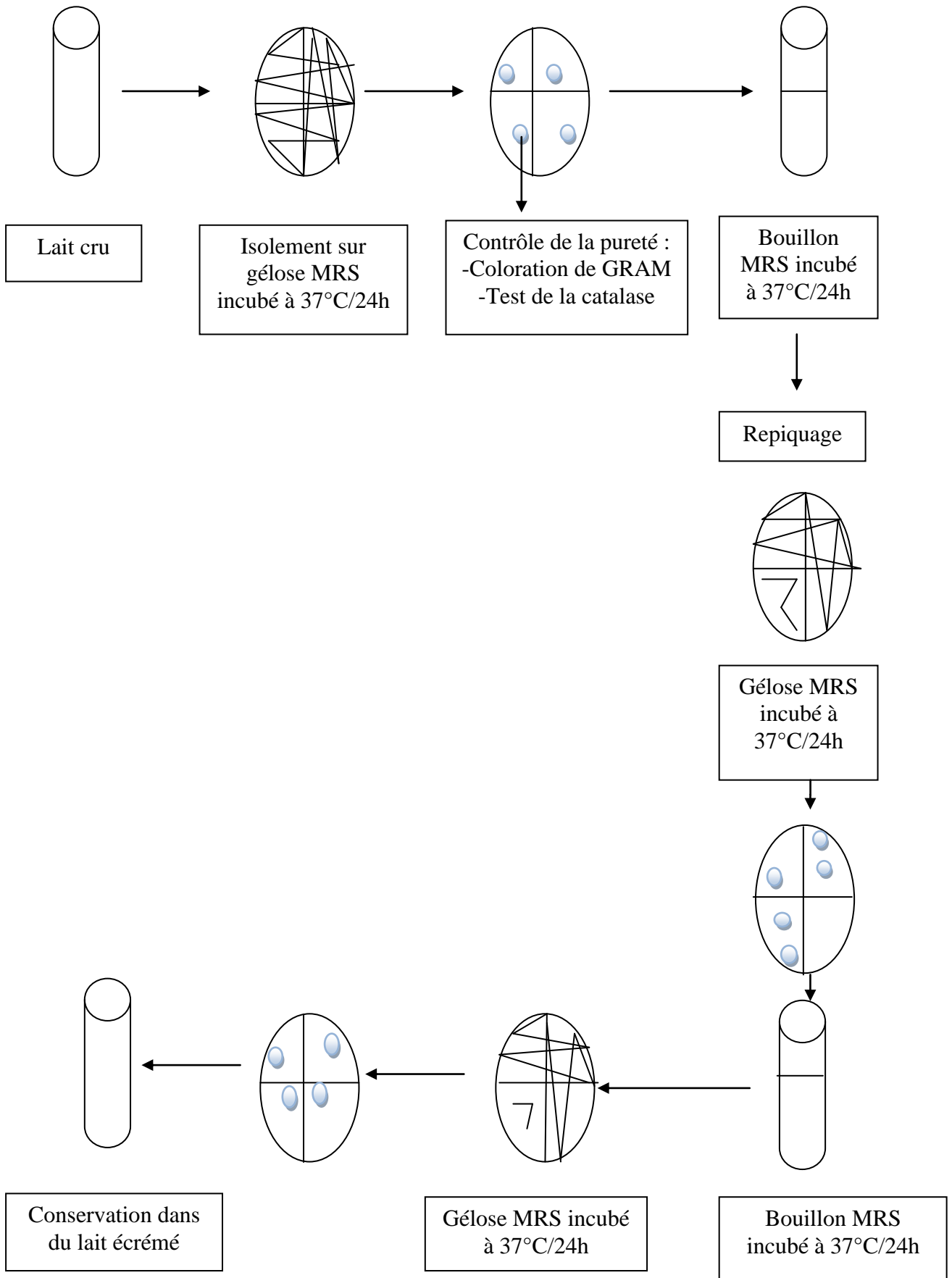
E1 : yaourt industriel, E2 : « yaourt » obtenu avec les ferments autochtones isolés

NB / La note de 1 à 10

Annexe 4



Protocole d'isolement de *Streptococcus thermophilus*.



Protocole d'isolement de *Lactobacillus bulgaricus*