

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
populaire et démocratique algérienne République
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche
scientifique
بوشعيب بلحاج تموشنت عين جامعة
Université – Ain Temouchent- Belhadj
Bouchaib Faculté des Sciences et de
Technologie Département de Biologie



Projet de Find'Etudes

Pour l'obtention du diplôme de Master en : sciences
biologiques
Domaine: Sciences de la nature et de la vie

Filière : Sciences
biologiques
Spécialité :
Microbiologie appliquée
Thème

**Isolement et caractérisation de bactéries
lactiques à partir de yaourt commercialisé de
la région de Ain Temouchent**

Présenté Par:

- 1) Melle. BENSMAÏN Rania
- 2) Melle. BOUTALEB Nadjat

Devant le jury composé de:

Dr. BOUAMRAN Mohammed MCA	UAT.B.B (Ain Temouchent)	Président
Dr. MAHMOUDI Fatima MCA	UAT.B.B (Ain Temouchent)	Examinatrice
Pr. ZIANE Mohammed.....	Professeur UAT.B.B (Ain Temouchent)	Encadrant

Année Universitaire 2022/20223

SOMMAIRE

Remerciement	i
Dédicace	ii
Dédicace	iii
Liste des abréviationsListe desfiguresListedes tableaux	
INTRODUCTION	01
SYNTHESEBIOBLOGRAPHIQUE	
I. 1. Généralitésurle yaourt	03
I. 1.1. Historique	03
I.1.2. Définition	03
I.1.3. Différentstypes de yaourt	03
I.1.4. Compositiondeyaourt	04
I.1.5. Technologiedefabricationde yaourt	05
I.1.5.1. Ingrédients	05
I.1.5.2. Processusde fabrication	06
I.1.5. 3.Conservation	10
I.1.6. Accidentsde fabrication	10
I.1.7. QualitéduYaourt	11
I.1.7.1. Paramètres physico-chimiques duyaourt	11
I.1.7. 2. Qualitéshygiéniques	12
I.1.7.3. Qualitésnutritives	13
I.1.8. Normesmicrobiologiques pour les yaourts	13
I.1.9. Effetsbénéfiques surla santé humaine	13
I.2. Généralitésurles bactéries lactiques	17
I.2.1. Historique des bactéries lactiques	17
I.2.2. Définitiondes bactéries lactiques(LAB)	17
I.2.3. Besoinsnutritionnels	17
I.2.4. Fermentationlactique	18
I.2.5. Classification des bactéries lactiques	19
I.2.6. Milieuécologique des bactéries lactiques	23
I.2.7. Caractéristiquesdebactéries lactiques	24
I.2.8. Cultureetidentification des bactéries lactiques	25
I.2.8.1. Milieux et conditions deculture	25
I.2.8. 1.Identification desbactérieslactiques	25
I.2.9. Intérêtdes bactéries lactiques	26
I.2.9.1. Intérêtsindustrielle des bactéries lactiques	26
I.2.9.2. Effetsdes bactéries lactiques sur la santé	28
MATERIELETMETHODES	
II .1.Présentationdulieu detravail	30
II.1. 1. Échantillonnageetprélèvement desunités de Yaourt	30
II.1.2. Recherche etisolementdes bactéries lactiques	31

II.1.2.1. Préparation des échantillons	31
II.1. 2. 2. Préparation des dilutions décimales isolement et purification des bactéries lactiques	31
II.1.2. 3. Étude de caractères morphologiques	32
II.1.2.3.1. Examen macroscopique	32
II.1.2.3. 2. Sélection des isolats et examen microscopique	32
II.1.3. Identification biochimique des isolats de bactéries lactiques	33
II.1. 3.1. Tests classiques en tubes	33
II.1.3.2. Identification par galerie API Miniaturisé	33
II.1.3.2. 1. Préparation de l'inoculum	33
II.1. 3.2.2. Inoculation des galeries	34
a) Galerie API50CHL	34
b) Galerie API10S	34
II.1.4. Détermination du pH	34

RESULTATS ET DISCUSSION

II. 2. Résultats et discussion	36
II.2.1. Observation macroscopique des colonies	36
II.2. 2. Isolement et dénombrement de la flore lactique	36
II.2.2.1. Dénombrement de la flore lactique sur milieu M17	37
II.2.2. 2. Dénombrement de la flore lactique sur milieu Esty	37
II.2.2.3. Dénombrement de la flore lactique sur milieu MRS	37
II.2.3. Identification préliminaire des isolats	38
II.2. 3.1. Recherche de catalase	38
II.2.3.2. Observation microscopique	38
II.2.4. Identification biochimique et distribution des souches lactiques	39
II.2.5. Identification biochimique	42
II.2.5.1. Identification des bactéries lactiques par la galerie API 50 CH	42
II.2.5.1. Résultat de Plaque l'API10S	42
CONCLUSION	44
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	46
ANNEXES	55

ListedesTableaux

N°	Titre	Page
1	Différentstypesdeyaourtsetleurscaractéristiques	4
2	Compositiondeyaourt	5
3	Défautsdetexturesetd'apparences	10
4	Normesmicrobiologiquespour lesyaourts (Arrêté interministériel du2 Moharram 1438 correspondant au 4 octobre 2016 fixant les critèresmicrobiologiquesdes denrées alimentaires).	13
5	Milieuxécologiquesdesbactérieslactiques	24
6	Caractéristiquedeséchantillonsdeyaourt prélevédanscetteétudedurant lafin dumois defévrieretdébut deMars.	31
7	Concentrationsdebactérieslactiques dansleséchantillons analysés	37
8	Profilebiochimique de fermentation des sucres par les tests classiques	41
9	Profilebiochimique de certains tests biochimiques.	42

Listes des figures

N°	Titre	Page
1	Technologie delafabrication deyaourt	9
2	<i>Lactobacilluscasei</i> au microscopeélectronique	20
3	<i>Lactococcuslactis</i> ,au microscope électronique	20
4	<i>Leuconostocmesenteroïdes</i> au microscope électronique	21
5	<i>Streptococcus thermophilus</i> , au microscope électronique	22
6	<i>Enterococcusfaecalis</i> aumicroscope électronique	22
7	<i>Bifidobacterium</i> sp	23
8	Identificationdesgenresde bactéries lactiques(Coques)	26
9	Identificationdes bactéries lactiques (a: <i>Lactobacillus</i> , b) <i>Bifidobacterium</i>)	27
10	Utilisation industrielle desbactéries lactiques	28
11	Cartede la villed'Ain Témouchent	30
12	Montagedejarrepourl'incubation enanaérobiose(photooriginal Mars 2023)	32
13	Démonstrationdes galeriesAPIavec testnégatif.a. API50CHL, b.API 10S	35
14	Aspectmacroscopique descoloniesde bactérieslactiquesisolées sur milieuM17 à partir de l'échantillon 2	36
15	Observationmicroscopique de <i>Lactobacillus</i>	39
16	Résultatsde la galerieApi10s pour troisolats 1,2 et 3 issus de l'isolement en anaérobiose	43

Remerciement

Au Terme de cette étude, nous tenons d'abord et avant tout de remercier Dieu tout puissant d'avoir guidé et pour le courage, la patience et la santé qu'il nous a accordée durant toute ces années d'études en particulier, et de vie en générale, pour affronter toutes les difficultés et les obstacles, qui se sont hissés au travers de nos chemins.

Dans un premier temps nous tenons à remercier sincèrement M. ZIANEM professeur au Département de Biologie, faculté des sciences et de technologie, Université de Ain Témouchent, pour sa disponibilité tout au long de la réalisation de notre mémoire, pour sa patience, sa confiance, ses remarques et ses conseils. Un sincère merci pour votre gentillesse et votre soutien matériel et moral. Vous avez pris un plaisir très fond dans nos œuvres et nos mémoires peut importe à quel point nous allons avancer, notre point de départ sera grâce à vous seul. Que Dieu vous récompense.

Nous tenons à remercier les membres du jury M. BOUAMRA M & Mlle MAHMOUDI F, Maitres de conférences A, au département de Biologie, Faculté des sciences et de Technologie, Université de Ain Témouchent, d'accepter d'examiner et d'enrichir ce travail, Merci

Sans oublier de remercier l'ingénieur de laboratoire Mr Ahmed pour son aide et sa disponibilité durant la période de pratique.

Nous adressons également nos plus vifs remerciements à tous nos enseignants du Département de Biologie et d'agroalimentaire, faculté des sciences de l'Université BELHADJ Bouchaib d'Ain Témouchent, qui ont assuré notre formation durant ces cinq dernières années.

Nadjat & Rania

Dédicace

Du profond de mon cœur, je dédie ce travail à tous ceux qui me sont chers,

**A la femme qui a souffert sans me laisser souffrir, qui n'a jamais dit non à mes exigences et qui n'a épargné aucun effort pour me rendre heureuse :
mon adorable mère Chafika.**

Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien-être. Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours.

A l'homme, mon précieux offre du dieu, qui doit ma vie, ma réussite et tout mon respect: mon cher père: Sidi Mohammed

Quoi que je fasse ou que je dise, je ne saurai point vous remercier comme il se doit. Votre affection me couvre, votre bienveillance me guide, votre présence à mes côtés et votre confiance ont toujours été ma source de force pour affronter les différents obstacles

A mon cher frère: Walid

A tous les moments d'enfance passés avec toi mon frère en gage de ma profonde estime pour laide que tu m'as apporté. Tu m'as soutenu, réconforté et encouragé. Puissent nos liens fraternels se consolider et se pérenniser encore plus.

**A mes grands pères Abdelkader et Mohammed, ma grande mère Karima
qui étaient toujours la lumière de mon chemin et à toute la famille
HADDOUCHE et BOUTALEB**

A ma cherbinôme: Rania

A ma meilleure copine sœur et cher binôme qui m'a soutenue énormément durant tout mon parcours qui étais toujours là pour moi dans les hauts et les bas qui a toujours souhaité la réussite et le bonheur pour moi. Merci pour ton grand cœur, ta patience, ta compréhension et toutes vos qualités qui seraient trop longues à énumérer

A ma copine d'enfance: Khouira

La vie a essayé de nous déchirer, mais notre connexion n'est pas physique, elle est spirituelle. Même si tu es loin, tu es toujours avec moi dans mon cœur. Merci de me faire croire en mes capacités et m'encourager pour obtenir mon objectif.

A ma Meilleure: Kaouter

Qui m'a toujours soutenu, pour son aide et sa disponibilité, Je lui souhaite bonne chance dans sa vie et sa santé.

Nadjat

Dédicace

Grace à Dieu le tout puissant, j'ai achevé la réalisation de ce modeste travail que j'entends très chaleureusement à le dédier à:

Mamère, Mon bonheur, ma fierté et mon pilier dans la vie, qui me permet de poursuivre mon chemin tout en étant à mes côtés. Merci pour tes encouragements, ton amour et ton assistance. Je suis devenue ce que je suis grâce à toi, aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que tu mérites pour tous les sacrifices que tu m'as offerts depuis mon enfance et même à l'âge adulte;

Mon père qui n'a jamais cessé de combattre pour me voir réussir un jour, que Dieu vous protège pour nous;

Mère chère sœur Djihen et Mon petit frère Khalilou, votre encouragement et votre soutien étaient la bouffée d'oxygène que je me ressourçais. Je prie Dieu le tout puissant pour qu'il vous donne bonheur, réussite et prospérité;

Allah vous protège ma petite famille... je vous aime beaucoup;

À tous les membres de la famille Medjahdi et la famille Bensmain, et mes proches qui me donnent de l'amour et de la vivacité;

Une spéciale dédicace à ma meilleure copine et ma chérie Nadjat, qui a été une vraie amie pour moi, qui m'a soutenu et partagé avec moi tous les moments de ma joie et de ma peine tout au long de ces années, Merci. Puisse Allah vous préserver. J'espère conserver à jamais les souvenirs et les liens qui nous unissent.

Rania

INTRODUCTION

Introduction

Durant ces dernières années, le comportement alimentaire a été remarquablement changé à cause de l'industrialisation et le changement du mode de vie de la population notamment la fréquentation de fast-foods. Ce changement est accompagné de l'apparition et/ou l'amplification des maladies gastro-intestinales et/ou des troubles digestifs. Ces troubles ont un effet gênant sur le bien être des individus et parfois dangereux sur la santé humaine en causant par exemple un cancer colorectal. A cet effet, les médecins et diététiciens essaient continuellement d'améliorer la santé des patients et de les prévenir de maladies gastro-intestinales. Les diététiciens recommandent toujours une consommation équilibrée et riche en fibre, pour maintenir le système digestif dans le meilleur état de santé afin d'éviter l'aggravation des problèmes et l'accès aux cancers.

Aujourd'hui, le yaourt est considéré comme un produit de choix idéal pour faciliter la digestion, surtout le yaourt supplémenté par les probiotiques. En Algérie, plusieurs marques de yaourt riche en probiotiques sont commercialisées. Ces probiotiques sont soit autochtones issues de matières premières comme le groupe de bactéries lactiques, et/ou apporté comme ferments lactiques durant la fabrication de yaourt comme les *Bifidobacterium*.

Ces probiotiques présentent plusieurs effets bénéfiques sur la santé humaine. En effet, ils servent particulièrement au bon fonctionnement de la flore intestinale, la régulation du système immunitaire intestinale ou le renforcement de la barrière intestinale (Mechai, 2009).

Ces bactéries présentent également un grand intérêt dans l'industrie. Elles sont largement utilisées dans l'élaboration des produits alimentaires par des procédés de fermentations lactiques, comme elles assurent la production d'arôme et de texture. Elle conduit également à une bonne sécurité sanitaire alimentaire grâce à la production d'acides organiques (acides lactiques et acétiques) qui font baisser le pH dans le milieu, et des bactériocines. Les techniques de biologie moléculaires ont permis de mettre en évidence une forte diversité génomique qui a conduit à la classification récente de treize genres: *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus*, *Weissella*, *Aerococcus*, *Bifidobacterium* (Carine et al., 2009).

Après fabrication de yaourt, le produit est gardé au chaîne froide à 4°C jusqu'à la consommation. Plusieurs travaux ont montré l'effet négatif sur la viabilité des bactéries lactiques à des températures basses. Il est également montré que les *Bifidobacterium* sont des bactéries exigeantes difficilement revivifiées dans le produit alimentaire. En plus se sont des bactéries non sporulées qui ne peuvent pas être mourir durant le stockage au froid.

Introduction

Dans ce contexte, ce travail visait à évaluer la viabilité des bactéries lactiques, dans le yaourt contenant les *Bifidobacterium*, par des techniques de microbiologie classique.

Pour atteindre nos objectifs nous avons partagé notre travail en deux parties :

- La première partie est consacrée à la synthèse bibliographique sur le yaourt et les bactéries lactiques ;
- La deuxième partie décrit la méthodologie de cette recherche ainsi qu'elle expose les principaux résultats et leur discussion.

I. SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

I. 1. Généralités sur le yaourt

I. 1.1. Historique

Le yaourt est un aliment consommé par l'homme depuis plusieurs millénaires. D'après **Tamime et Deeth (1980)**, ce produit est d'origine turc, utilisé sous l'appellation «Yogumark » signifiant «épaissir». En 1902, deux médecins français, Ris et Khoury, ont isolé des bactéries présentes dans un lait fermenté égyptien. Elie Metchnikoff (1845-1916), élève de Louis Pasteur, prix Nobel en 1908 attribué au yaourt dont il a isolé le *Bacillus bulgare* nommé de nos jours *Lactobacillus bulgaricus*, (**Luquet et Carrieu, 2008**). Il a ensuite analysé l'action acidifiante du lait caillé et suggère une méthode de production sûre et régulière (Rousseau, 2005). En effet, c'est en 1919 qu'Isaac Carasso a commencé à produire du yaourt à Barcelone selon des procédés industriels (**Pelletier et al., 2007**).

I.1.2. Définition

Selon la définition donnée en 1977 par l'OMS (Organisation Mondiale de la Santé) et la FAO (Food Agriculture Organisation) : Le Yaourt ou yaghourt est le produit de coagulation par fermentation lactique acide due à deux ferments précis à l'exception de toute autre bactérie: *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus* (**Vierling, 2008 ; Fredot, 2009**) qui doivent être retrouvés vivants dans le produit avec une valeur au moins de 10^7 bactérie/g.

Ces produits doivent notamment être maintenus jusqu'à leur consommation à une chaîne froide pour que les bactéries lactiques restent vivantes (**Luquet et Carrieu, 2005**).

I.1.3. Différents types de yaourt

Différentes sortes de Yaourt sont trouvées sur le marché selon plusieurs critères : selon la technologie de fabrication, la teneur en matière grasse et les ingrédients ajoutés (**Tableau 1**).

Les critères pris en compte par le Codex Alimentaire et la FIL dans la réglementation du yaourt sont les suivants :

- **Dénomination du produit** : elle varie selon les langues, mais les termes les plus utilisés sont « Yoghurt » ou « yaourt. »
- **Types de produit** : en fonction de leur teneur en matières grasses ou de l'adjonction d'ingrédients.
- **Types de ferment utilisés** : l'utilisation obligatoire des deux ferments : *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus delbrueckii*

Synthèse bibliographique

Tableau 01 : Différents types de yaourt et leurs caractéristiques (Jora, 1998 ; Fredot, 2006).

Critère de classification	Types de Yaourt	Caractéristiques
Teneur en matière grasse	-gras	Matière grasse laitière est égale à 3% masse par masse.
	-partiellement écrémé.	de matière grasse laitière retirant moins de 3% masse mais plus de 0,5%.
	-écrémé.	La matière grasse laitière est inférieure à 0,5%
		Il ne subit aucune addition.
Technologie de fabrication	-nature.	Il est additionné de sucre.
	-sucré.	Il subit une addition inférieure à 30 de ces différents produits.
	-aux fruits, au miel, à la confiture.	Il contient des arômes naturels renforcés par un produit de synthèse.
	-aromatisé.	
Texture	-ferme.	Yaourt coagulé en pots
	-brasse.	Yaourt coagulé en cuve et brassé avant la mise en pot
	-à boire.	Yaourt à texture liquide.

I.1.4. Composition de yaourt

La composition nutritionnelle moyenne d'un yaourt (**Tableau 2**) est de 80-90% d'eau, 2,8 - 4,3 g / 100g de protéines, de 0-3,5 g / 100g de lipides et 110-170mg en calcium pour 100g de la poudre de lait (**Syndifrais, 2002**). La teneur en glucide est de 4-18g/100g mais la teneur en glucides est augmentée dans les yaourts sucrés, aromatisés ou aux fruits (**Daniel, 2002**). Concernant les vitamines sont présentes dans les yaourts en quantités intéressantes, les vitamines du groupe B, provenant du lait utilisé et de ferments lactiques, tels que vitamine B1 connue sous le nom (Thiamine), B2 (Riboflavine), B3 (Niacine), B5 (Caroténoïde), B6 (Pyridoxine), B8 (Biotine), B9 (Acide folique) et B12 (Cobalamine) (**Daniel, 2002**), tandis que les vitamines A et D ne sont présentes que dans les produits issus de lait entier (**Tome, 2002**).

Tableau 02: Composition de yaourt (Laurence et Cohen, 2004)

Caractéristiques	Compositions
Protéines	4%
Lipides	0-4g
Cholestérol	15 mg
Glucides	5-18%
Lactose	3%
Ph	4,5
Calcium	155-200mg(17à24%)
Vitamine	A,D,B(B2,B12)
Calorie	90Kcal
Teneur en matière sèche laitière	10-16%

I.1.5. Technologie de fabrication de yaourt

La fabrication de yaourt consiste à préparer les ingrédients puis entamer la fabrication.

I.1.5. 1. Ingrédients

➤ Le Lait frais

La principale matière première pour la production de yaourt est le lait frais. Ce dernier définit selon le congrès international de la répression des fraudes en 1909 : un produit intégral de la traite totale et ininterrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée. Ce liquide blanc compose d'environ 88 % d'eau et 12 % de matière sèche contenant des glucides, des protéines, des lipides et des minéraux (Joffinet Joffin, 2010).

➤ Poudre de lait

Selon le *codex Alimentarius* standard 207-1999, les poudres de lait sont définies comme « produits laitiers qui peuvent être obtenus par l'enlèvement partiel de l'eau du lait » il se compose essentiellement de matière sèche du lait et d'un très faible taux d'humidité (de 2 à 5%). Selon le Journal Officiel de République Algérienne. 1998, le lait en poudre ou lait déshydraté ou lait séché est le produit obtenu directement en éliminant l'eau du lait.

➤ Sucre

Le sucre est généralement constitué de saccharose, cristallisé ou sous forme liquide (sirop). Il est aussi courant d'utiliser du sucre converti (sirop de saccharose hydrolysé), qui

contient, à parts égales, du glucose et du fructose. Son intérêt est qu'il reste liquide à des teneurs élevées en matières sèches (65 à 67%) (**Soudakiet Attaf, 2009**)

➤ Arome

Selon la norme ISO 5492:AFNOR, 2002 « c'est l'ensemble ajouté ou trouvé naturellement qui apportent un goût ou une odeur spécifique, il est incorporé à très petite dose (**Salles, 2012**).

➤ Les ferments lactiques

Ces sont des bactéries lactiques bénéfiques agram (+) qui se regroupent en 13 genres, se trouvent dans différentes formes: bâtonnet ou en coque et sont immobiles et nesporulentes pas.

Ces bactéries sont capables de fermenter les sucres en acide lactique (**Pissang, 1992**) et se trouvent dans différentes niches écologiques comme le lait, les produits laitiers fermentés, les végétaux, la viande et le poisson (**Dabire, 2002**).

I.1.5. 2. Processus de fabrication

La production de yaourt est connue depuis très longtemps, Cela reste un processus assez complexe et en perpétuelle évolution car il s'intègre à chaque fois les progrès réalisés dans divers domaines.

Le procédé de fabrication diffère selon le type de yaourt, et les principales étapes sont illustrées dans le diagramme de la **figure 1**.

➤ Réception du lait

Le lait destiné à la production de yaourt doit être de très haute qualité bactériologique et de faible teneur en bactéries et substances susceptibles d'empêcher le développement du levain du yaourt. Le lait ne doit pas contenir des antibiotiques et des bactériophages (**Sodini et Béal, 2012**).

Il est primordial d'installer des procédures qui permettent la détection des anomalies et les pertes possibles de contrôle dès la réception du lait et toutes matières premières (**Amellal-Chibane, 2008**).

➤ Standardisation

Le lait est standardisé au taux de matière grasse désiré (écrémage total ou partiel) et peut être enrichi en extrait sec laitier par addition de la poudre de lait ou les protéines lactières ou addition d'autres ingrédients comme le sucre et les arômes. Et ceci, afin de répondre aux spécifications nutritionnelles et organoleptiques du produit (**Pernoudet al., 2005**) et aussi améliorer la qualité organoleptique du yaourt.

➤ Homogénéisation

L'homogénéisation a principalement des effets sur deux composantes du lait soit, les matières grasses et les protéines :

- Effet sur la matière grasse : l'homogénéisation empêche la graisse de se séparer du reste du mélange, évitant ainsi la remontée de la crème à la surface durant la fermentation (**Lamontagne, 2002**).
- Effet sur les protéines : cette opération augmente également la viscosité du lait et par conséquent, celle du yaourt en lui conférant une meilleure stabilité des protéines et réduisant l'exsudation du sérum lors du stockage.

Enfin, l'homogénéisation se traduit par un aspect plus blanc au produit fini (**Pernoud et al., 2005**). Pour des raisons d'hygiène et pour éviter une contamination secondaire du lait, l'étape d'homogénéisation est généralement précédée d'un traitement thermique du mélange ou lors d'une montée en température de 64°-70°C (**Lamontagne, 2002 ; Sodini et Béal, 2012**).

➤ Traitement thermique

Le lait prêt soumis à un traitement thermique de pasteurisation (90°C à 95°C pendant 3 à 5 min). Ce traitement permet de :

- Créer des conditions favorables au développement des bactéries lactiques, éliminer les bactéries pathogènes et indésirables, et inactiver les inhibiteurs de croissance (**Pacikora, 2004 ; Jeantet et al., 2008**). Le traitement thermique a également un effet sur la conformation tridimensionnelle des protéines, induisant la modification de leurs propriétés fonctionnelles. Il dénature la majorité des protéines du lactosérum (85%) qui se fixent ainsi sur les molécules de caséines.
- En fin, il modifie les équilibres salins, entraînant une augmentation de la taille des micelles de caséines, de leur stabilité et de la qualité de l'eau liée (**Mahaut et al., 2000**).

➤ Fermentation lactique

Ce sont des bactéries lactiques bénéfiques à Gram (+) qui se regroupent en 13 genres, se trouvent dans différentes formes : bâtonnet ou en coque et sont immobiles et ne sporulent pas.

Ces bactéries sont capables de fermenter les sucres en acide lactique (**Pissang, 1992**) et se trouvent dans différentes niches écologiques comme le lait, les produits laitiers fermentés, les végétaux, la viande et le poisson (**Dabire, 2002**).

Synthèse bibliographique

Le lait enrichi traité thermiquement est refroidi à une température de fermentation de 40-45°C, ce qui correspond à une température optimale pour le développement symbiotique des bactéries lactiques (Loones, 1994). Leur inoculation se fait à un taux assez élevé, variant de 1 à 7%, pour un ensemencement indirect à partir d'un levain avec un ratio *Streptococcus thermophilus*/ *Lactobacillus bulgaricus* de 1,2 à 2% pour les yaourts naturels, et pouvant atteindre 10 % pour les yaourts aux fruits (Mahaut et al., 2000).

Le taux d'inoculation directe des bactéries lactiques concentrées congelées est d'environ 0,03 %. Une bonne agitation est nécessaire pour obtenir un mélange lait/ferment parfaitement homogène.

Le lait ainsi semencé est passé dans une plaque chauffante à une température généralement voisine de 45°C. La température de croissance optimale pour les streptocoques est de 42 à 45°C et pour les bactéries lactiques de 47 à 50°C. Selon les régions, les consommateurs préfèrent les yaourts plus ou moins acides et plus ou moins aromatiques. Les caractères recherchés dépendent de la souche utilisée et de la température d'incubation.

L'abaissement de celle-ci de 1 à 3°C (42-44°C), favorise le développement du streptocoque et donc la production d'arômes. L'augmentation légère (45-46°C), favorise le lactobacille donc la production d'acides (Enkelejda, 2004).

➤ Conditionnement et stockage

L'ajout éventuel des fruits intervient avant le conditionnement. Enfin, les yaourts, conditionnés dans des pots en verre ou en plastique, sont stockés en chambre froide à 4°C.

À ce stade, ils sont prêts à être consommés. La durée limitée de leur consommation est de 28 jours (Pacikora, 2004 ; Luquet et Carrieu, 2005).

Pendant le stockage, les bactéries lactiques maintiennent une activité réduite. Cette évolution, appelée post-acidification provoque une légère baisse du pH notamment pendant les 2 premiers jours de stockage (Amellal-Chibane, 2008).

Synthèse bibliographique

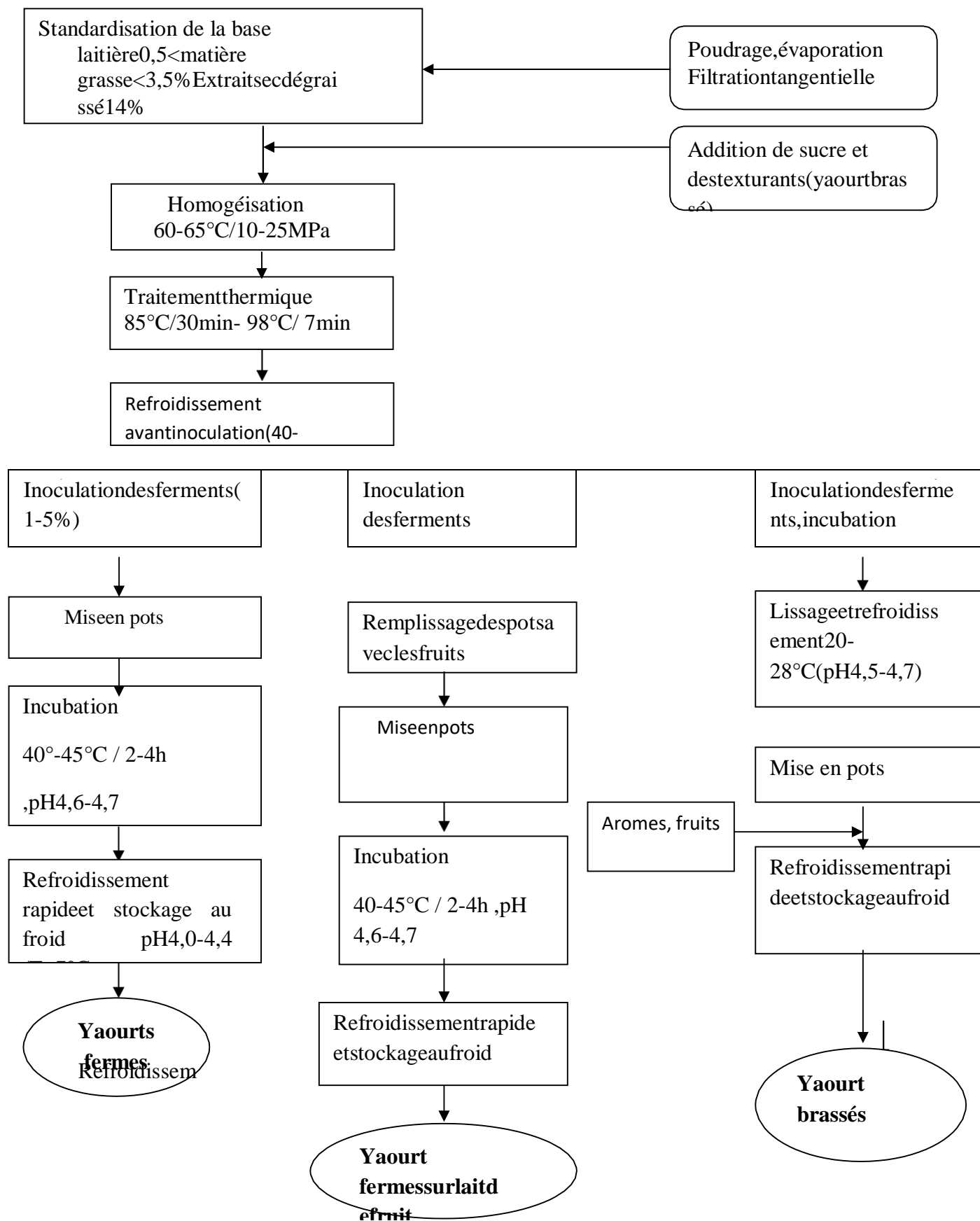


Figure 01: Technologie de la fabrication de yaourt (Lucey, 2004)

I.1.5. 3. Conservation

L'yaourt doit être conservé au réfrigérateur. Sa consommation doit intervenir avant la date de péremption figurant sur l'emballage (24 jours après la fabrication).

Lorsqu'un récipient est ouvert, il convient de consommer son contenu rapidement pour éviter l'installation de moisissures (**Dupin et al., 1992**).

I.1.6. Accidents de fabrication

On peut les regrouper en trois catégories: les défauts d'apparence et de texture et les défauts de goût, indiqué dans le **tableau 03**

Tableau 03: Défauts de texture et d'apparences (Luquet, 1985).

Défaut	Causes	
Défauts de Texture	Déculottage	- Agitation ou vibration pendant le transport.
	Trop liquide (pour le yaourt brassé)	- Brassage trop violent, mauvaise incubation, matière sèche trop faible.
Défauts d'apparences	Trop filant	- Mauvais ferment; température d'incubation trop faible.
	Texture sableuse	- Homogénéisation à température trop élevée; poudrage trop fort; mauvais brassage; acidification faible.
	Texture granuleuse	- Teneur en matière grasse élevée; mauvais choix de ferment
Défauts de Goûts	Décantation, synérèse	- Sur-acidification; conservation trop longue; teneur en matière sèche trop faible.
	Production de gaz coliformes. Colonie en surface moisissures Couches de crème	- Contamination par des levures et - Contamination par des levures et - Mauvaise ou absence d'homogénéisation.
	Produit sur le couvercle	- Mauvaise manutention
Défauts de Goûts	Amertume	- Protéolyse trop forte, trop longue conservation.
	Levure, fruité, moisissures. manque d'acidité levains	- Contamination par levures et - Mauvaise activité des

I.1.7. Qualité du Yaourt

Le yaourt peut présenter plusieurs qualités.

I.1.7. 1. Paramètres physico-chimiques du yaourt

La qualité du yaourt peut être évaluée selon plusieurs critères.

➤ la viscosité

Connaître les propriétés rhéologiques du yaourt permet également d'évaluer la qualité en termes de texture du produit fini (**Pacikora, 2004**).

Le yaourt est défini comme un fluide viscoélastique, il possède à la fois les propriétés visqueuses d'un liquide et les propriétés élastiques d'un fluide (**Boubchir-ladj, 2004**).

La viscosité du yaourt représente la dureté, adhérence, cohésion, et résistance à l'écoulement du yaourt et lait fermentés (**Siuta et al., 2002**).

Les études menées sur la microstructure du gel ainsi formé montrent que celle-ci dépend de différents facteurs dont la concentration en matière sèche, la méthode d'enrichissement du lait, le traitement thermique subi en fin de la nature des souches bactériennes utilisées. (**Boubchir-ladj, 2004**).

Différents appareils de laboratoire sont utilisés pour caractériser les propriétés rhéologiques d'un yaourt, à savoir le viscosimètre Brookfield, les rhéomètres rotatifs, les pénétromètres, ou encore, l'entonnoir de Posthumus (**Pacikora, 2004**).

➤ Le pH

L'abaissement de pH par acidification entraîne une déminéralisation progressive des micelles de caséines. Celles-ci vont s'associer ensemble par des liaisons hydrophobes, hydrogène et électrostatiques formant un réseau protéique retenant la phase aqueuse (**Boubchir-ladj, 2004**). Une fois le milieu acidifié, les protéines du lait coagulent : c'est le caillé (**Righi, 2006**).

Le temps pris à l'extension pH 4,6 a été utilisé comme indicateur de fermentation comme pH 4,6 est typiquement utilisé comme point final pour la fermentation dans la fabrication du yaourt (**Puvanenthiran, 2002**).

Pendant la fermentation, le pH du lait diminue et les propriétés physico-chimiques des micelles de caséines subissent de profondes modifications (**Sodini et Béal, 2008**).

➤ La température

Le chauffage du mix (lait et constituants éventuellement ajoutés), ainsi que le choix des ferments jouent un rôle essentiel pour l'élaboration de la texture du yaourt. Un traitement thermique intense provoque la précipitation des protéines sériques à la surface des

micellesde

caséine, limitant la possibilité de dissociation micellaire entre pH 5,3 et 4,8. Le traitement thermique vise à réduire la charge microbienne et à améliorer les performances viscosité physique du yaourt, capacité de rétention d'eau (**Soudini et Béal, 2008**).

➤ Extrait Sec Total (EST)

Les solides totaux sont tous les composants solides du lait, soit les matières grasses, les protéines, les glucides et les minéraux (**Amiot et al., 2002**).

Une faible teneur en solides totaux peut entraîner une synérèse, définie comme la séparation entre le sérum et la structure solide, entraînant une accumulation de liquide à la surface du gel. Le pourcentage des solides totaux dans le mélange de yaourt peut être augmenté en ajoutant de la poudre de lait entier ou partiellement écrémé, de caséinate, d'un concentré de protéines de lactosérum ou de protéines hydrolysées (**Lamontagne, 2002**).

➤ Matière grasse (MG)

La matière grasse est parmi les composants importants du lait, celui qui est le plus variable en proportion ainsi qu'au niveau de sa composition. Elle se présente sous forme globulaire et dispersée dans la phase aqueuse que représente le lait écrémé (**Boutonnier, 2008**).

Les matières grasses du lait se composent principalement de triglycérides, de phospholipides et d'une fraction insaponifiable constituée en grande partie de cholestérol et de β -carotène (**Amiot et al., 2002**).

Le yaourt doit répondre aux caractéristiques suivantes:

- Couleur franche et uniforme ;
- Goût franc et parfum caractéristique ;
- texture homogène (pour le yaourt brassé) et ferme (yaourt étuvé) (**Tamime et Robinson, 2007**).

I.1.7. 2. Qualité hygiéniques

Selon la norme nationale de 2 Juillet 2017, N°39 parue au Journal Officiel, les yaourts ne doivent contenir aucun germe pathogène. Le traitement thermique appliqué sur le lait avant fabrication du yaourt est suffisant pour détruire les micro-organismes non sporulés pathogènes ou non. Leur présence dans le yaourt ne peut être que de manière accidentelle. Le pH acide du yaourt le rend hostile aux germes pathogènes, comme pour la plupart des autres germes indésirables. Les levures et les moisissures peuvent se développer dans le yaourt. Ces dernières proviennent principalement de l'air ambiant dont la contamination se situe au stade du conditionnement (**Larpen et Bourgeois, 1989**).

I.1.7.3. Qualités nutritives

Les meilleures valeurs nutritionnelles du yaourt résultent de la composition du lait après sa modification, ainsi selon (Beal et Sodini, 2012), le yaourt est :

- Une bonne source de protéines
- Une bonne source de minéraux tels que le calcium
- Une bonne source de molécules biologiques, comme les vitamines (vitamine D, et vitamine de groupe B) ou les facteurs de croissance (acides aminés, acides gras essentiels, ...)

I.1.8. Normes microbiologiques pour les yaourts

Le tableau 4 suivant résume les normes microbiologiques des germes recherchés.

Tableau 04: Normes microbiologiques pour les yaourts (Arrêté interministériel du 2 Moharram 1438 correspondant au 4 octobre 2016 fixant les critères microbiologiques des denrées alimentaires).

Yaourts ou yoghourts et desserts lactés	Enterobacteriaceae	5	2	10	10 ²
	Staphylocoques à coagulase +	5	2	10	10 ²
	<i>Salmonella</i>	5	0	Absence dans 25 g	
	<i>Listeria monocytogenes</i>	5	0	100	

I.1.9. Effets bénéfiques du Yaourt sur la santé humaine

Depuis l'enfance, les médias, les publicités et même les organismes de santé nous conseillent de consommer le yaourt puisqu'il est riche en nutriments essentiels au bon fonctionnement du corps humain.

➤ Le yaourt est riche en calcium

Selon l'enquête individuelle et nationale sur la consommation alimentaires un pot de yaourt fournit 140 à 180 mg de calcium, Ce calcium du yaourt et des produits laitiers en général est particulièrement assimilable (l'organisme en retient 30%, contre seulement 5 à 10% du calcium d'origine végétale), grâce à la présence simultanée de lactose, de caséinates (protéines du lait) et de phosphore dans une proportion adéquate.

Il est recommandé de prendre « 3 produits laitiers par jour » - dont au moins 1 yaourt - pour atteindre les apports conseillés en calcium, dont manquent la plupart des petits consommateurs de lait.

➤ Léyaourt fournit d'excellentes protéines

Bon à savoir pour les végétariens, les protéines du lait sont aussi de bonne qualité que celles de la viande. Elles contiennent autant d'acides aminés indispensables, qui permettent à l'organisme d'élaborer ses propres protéines.

Tandis que le yaourt contient l'ensemble des protéines du lait, le fromage blanc et les fromages sont privés des protéines solubles.

Léyaourt est un bon aliment pour les personnes âgées qui n'ont plus envie de viande et ont pourtant des besoins en protéines élevés en prévention de la fonte musculaire.

Des études récentes ont montré que le lait ou le yaourt sont les plus préférables pour la récupération après un entraînement sportif : consommés dans la demi-heure suivant l'exercice, leurs protéines sont particulièrement efficaces pour réparer les muscles endommagés par l'exercice, même pour développer la masse musculaire. (**Elliot et al., 2006**)(**Josset et al., 2010**).

➤ Un cocktail de vitamines

D'après le tableau de composition du Ciqual 2003, le yaourt apporte toutes les vitamines du groupe B. Un pot représente 20% de l'apport quotidien conseillé en vitamine B2 (le point fort des produits laitiers), 10% en B5, B9 et B12.

Lorsqu'il est élaboré à partir de lait entier, il fournit aussi de la vitamine A : 8% de l'apport conseillé (**Elliot et al., 2006**).

Enfin, certains yaourts sont enrichis en vitamine D - dont manquent la plupart des Français - à hauteur de 25% de l'apport quotidien conseillé.

➤ Aide à maigrir

Le yaourt, classique des régimes amaigrissants, est préféré au fromage, plus riche et calorique. Il peut être servi aussi bien en dessert qu'en collation. Il contient des protéines aux propriétés coupe-faim qui aident à prévenir la fonte musculaire pendant la perte de poids.

Il y a quelques années, plusieurs études montraient un lien entre un faible apport en calcium et une tendance à prendre du poids. Des études récentes ont montré que les plus gros consommateurs de yaourt ont moins de graisse abdominale (ce qui constitue un facteur de risque cardiovasculaire). Un suivi de 4 ans de 3 grandes cohortes a montré une perte de poids d'environ 400 grammes par portion de yaourt consommée par jour.

Des essais comparant un régime hypocalorique pauvre ou riche en produits laitiers ont abouti dans les groupes de volontaires consommant d'avantage de produits laitiers à une perte de poids ou de masse grasse supérieure (**Abargouei et al., 2012**)(**Chen et al., 2012**).

Le calcium favoriserait la combustion des graisses des cellules adipeuses et freinerait leur mise en réserve (Astrup, 2014).

➤ Prévenir le diabète de type 2

De nombreuses études au cours des dernières années ont montré un lien entre une consommation plus élevée de produits laitiers et une incidence plus faible du diabète de type 2. Les produits laitiers en question sont faibles en gras dans la plupart des cas et comprennent les yaourts et autres laits fermentés.

Par exemple, dans l'étude française D.E.S.I.R. (Données Épidémiologiques sur le Syndrome d'Insulino-Résistance), qui a suivi 5200 volontaires pendant 9 ans, le risque de développer un diabète de type 2 est réduit d'environ 15% chez les consommateurs d'au moins 3 portions quotidiennes de yaourt ou de lait comparés à ceux qui en consomment moins d'1 par jour. (Frédéric, 2014).

➤ Baisser la tension

Cet effet du yaourt avait déjà été suggéré par des chercheurs il y a quelques années, attribué à certains peptides qui se forment au cours de la fermentation du lait. En effet, l'acidité liée au processus de fermentation lactique (transformation d'une partie du lactose en acide lactique) induit des modifications des protéines du lait (elle fait notamment coaguler les principales protéines du lait appelées caséines, ce qui confère sa texture épaisse au yaourt). Selon un travail récent, ces fameux peptides agiraient en réduisant la vasoconstriction des vaisseaux sanguins. (Ricci et al., 2010) L'étude D.E.S.I.R. retrouve une plus faible pression diastolique (le deuxième chiffre de la tension) chez les plus forts consommateurs de produits laitiers.

➤ Digestibilité du lactose

La présence des bactéries vivantes dans le yaourt permet une meilleure assimilation du lactose chez les personnes déficientes en lactase (Roissart et Luquet, 1994). Le yaourt peut être consommé en cas d'intolérance au lactose.

➤ Stimulation du système immunitaire

Le yaourt a un effet pro-inflammatoire en stimulant la production de cytokines et anti-inflammatoires et cela est probablement lié aux différents souches utilisées, la consommation régulière de yaourt stimule le système immunitaire chez l'homme et diminue les symptômes d'allergie (Vandewater et al., 1999 ; Meyer et al., 2007).

➤ Guérison des diarrhées

Le yaourt diminue la durée de certains types de diarrhées, en particulier chez l'enfant, ces ferments régularisent l'activité intestinale et tendent à rétablir un équilibre bactérien favorable à la normalisation du tube digestif (Bouraa et al., 1990).

➤ Prévention du cancer

La consommation de yaourt réduit les risques de cancer colorectal en particulier chez l'homme et peut prévenir le risque de cancer du colon en exerçant une activité antitumorale et ce en augmentant l'apposé, et peut aussi agir en diminuant les taux d'enzymes pro-cancérogènes dans le contenu caecal, et peut réduire significativement le nombre de tumeurs (Narushima et al., 2010 ; Pala et al., 2011).

➤ Influence sur la cholestérolémie

L'hypercholestérolémie est un des facteurs de risque de maladies cardiovasculaires qui constituent une cause majeure de mortalité dans les pays développés, la littérature montre des aspects contradictoires en ce qui concerne le rôle des bactéries lactiques ou du yaourt sur les taux de cholestérol sanguin des tests in vitro ont montré une réduction du taux de cholestérol dans un milieu de culture avec certains *Lactobacillus* (Zhanget al., 2008).

➤ Yaourt et cerveau

Selon des études expérimentales chez des femmes en bonne santé ont prouvé que la prise d'un produit laitier fermenté pendant 4 semaines modifiait l'activité cérébrale responsable des émotions (Tillisch et al., 2013). La consommation de yaourt supprime les signes d'encéphalopathie hépatique minimise et améliore les tests cognitifs (Bajaj et al., 2008).

I.2. Généralités sur les bactéries lactiques

I.2.1. Historique des bactéries lactiques

Des bactéries lactiques ont été trouvées dans les sédiments il y a 2,75 milliards d'années, avant que l'oxygène n'apparaisse dans l'atmosphère, ce qui pourrait expliquer leurs propriétés anaérobies. Par ailleurs, des études phylogénétiques bactériennes mentionnent leur émergence plus précoce que les cyanobactéries (**Belyagoubi, 2014**). Aujourd'hui, les bactéries lactiques constituent le deuxième marché de production de biomasse après la levure. Principalement utilisé dans l'industrie alimentaire, pour la production et la fermentation des aliments, mais aussi dans l'industrie chimique pour la production d'acide lactique et de biopolymères, avec un rôle croissant dans la santé humaine et animale au fil des ans (**Brahimi, 2015**).

I.2.2. Définition des bactéries lactiques (LAB)

Les bactéries lactiques sont un grand groupe de micro-organismes unicellulaires assez hétérogènes, non pathogènes de catégorie alimentaire. (**Labiouiet al., 2005**). Ce sont des cellules procaryotes hétérotrophes et chimio-organotrophes, ayant la forme de coque, et de bacille. (**Badiset al., 2005**).

Selon **Salminen et al. (2004)** ; **König et Fröhlich (2009)**; **Pringsulaka et al. (2011)**, les bactéries lactiques sont des bactéries à Gram positif dont la teneur en guanine et cytosine (G+C) est inférieure à 50%, capables de croître à des températures comprises entre 10°C et 45°C et à des pH allant de 4.0 à 4.5. Ces bactéries sont généralement immobiles et se caractérisent par la production d'acide lactique comme produit majeur du métabolisme.

Les principaux genres qui constituent le groupe des bactéries lactiques sont : *Lactobacillus*, *Carnobacterium*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Lactococcus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc* et le genre *Bifidobacterium* est actuellement considéré comme un genre de bactéries lactiques (**Guertani, 2007**).

I.2.3. Besoins nutritionnels

Selon **Drider et Prevost (2009)**, les bactéries lactiques ont un besoin pour leur nutrition car elles sont incapables de synthétiser certains éléments qui sont variables d'une espèce à une autre.

➤ Besoins en bases azotées

Les bases puriques et pyrimidiques ne sont pas vraiment essentielles au métabolisme des bactéries lactiques (**Desmazeaud, 1996**).

➤ Besoins en acides aminés

Les bactéries lactiques sont incapables d'effectuer la synthèse des acides aminés, et doivent par conséquent faire appel à des sources exogènes pour assurer leur métabolisme (Luquet, 1986).

Les exigences en acides aminés des *Streptococcus* sont différentes de celles des lactobacillus, ils ont besoin d'acide glutamique, d'histidine, de cystéine, de méthionine et aussi de valine, de leucine, de tryptophane ou de tyrosine, les lactobacilles ont besoin d'aspartate, d'histidine, de lysine, de leucine, de méthionine et de valine (Lenoir *et al.*, 1992).

➤ Besoins en sels minéraux

Les besoins en éléments minéraux des bactéries lactiques ne sont encore partiellement connus, les principaux éléments tels que le magnésium et le manganèse sont généralement requis (Corrieu et Luquet, 2008), jouent un rôle important dans la nutrition des *Lactobacillus*, alors que les besoins en calcium et en potassium sont moins systématiques, les besoins en fer dépendent des micro-organismes (Impert et Blandeau, 1998).

Le zinc présente un effet positif pour la croissance de certains lactobacilles, mais il est toxique à forte concentration, à l'opposé, le sodium, le cadmium, et le cuivre démontrent un effet inhibiteur (Corrieu *et al.*, 2008).

Des cations jouent un rôle important dans la résistance à l'oxygène, dans les différentes réactions métaboliques et dans la nutrition des bactéries lactiques et le rôle du Mg^{++} sur *Streptococcus thermophilus*. La forme ionisée entraîne une activation de la fermentation lactique par une meilleure utilisation des sucres (Boyava *et al.*, 1988).

➤ Besoins en vitamines

Les bactéries lactiques sont incapables de synthétiser les vitamines qui jouent un rôle irremplaçable de coenzymes dans le métabolisme cellulaire. *Streptococcus thermophilus* a une exigence absolue en acide pantothénique (vitamine B5) et en riboflavine (vitamine B2) et a moins de besoins en thiamine (vitamine B1), en nicotinamide ou en acide nicotinique (vitamine B3) et en biotine (vitamine B8), le pyroxène ou ses dérivés (vitamine B6) stimulent fortement sa croissance (Desmazeaud, 1996).

I.2.4. Fermentation lactique

En se basant sur la voie empruntée et le produit final de la fermentation, les

Synthèse bibliographique

bactéries lactiques sont divisées en deux groupes :

➤ Homofermentaires

Les bactéries lactiques qu'adoptent dans la glycolyse pour dégrader les hexoses (glucose) qui est subie une déférente étape de transformation pour donner le pyruvate qui est réduite en acide lactique qui est le produit unique, dans les conditions défavorables ces bactéries produisent également l'acide formique, l'acide acétique, l'éthanol et/ou le CO₂ par la voie de fermentation des acides mixtes (Mozzi *et al.*, 2010).

➤ Hétérofermentaires

Sont les bactéries lactiques qui produisent l'acide lactique, l'éthanol et le CO₂ à partir de la fermentation de glucose en produisant, les groupes principaux des bactéries présentant ce type de métabolisme sont les *Leuconostoc* et certains *Lactobacillus* (Hadeif, 2012).

I.2.5. Classification des bactéries lactiques

La classification des LAB est basée sur un large ensemble de critères : des caractéristiques écologiques, phénotypiques, biochimiques et génétiques, le mode de fermentation du glucose, la croissance à différentes températures, l'isomère de l'acide lactique produit et la fermentation des différents hydrates de carbone (Zergoug, 2017).

Les genres les plus étudiés sont *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Enterococcus*, *Pediococcus* et *Bifidobacterium* (Drouault et Corthier, 2001).

➤ *Lactobacillus*

Lactobacillus sont soit des bacilles longs, parfois incurvés ou des coccobacilles courts isolés, comme elles peuvent former des chaînes. Elles sont généralement immobiles à l'exception de quelques espèces qui possèdent des flagelles péritriches. Les souches sont acidophiles, elles peuvent se développer à un pH égal à 5 ou moins avec un optimum de 5,5 à 6,2.

La température optimale de croissance est de 30°C à 40°C, mais elles peuvent croître à un intervalle de température allant de 2°C jusqu'à 53°C (Ababsa, 2012) (figure 02).

➤ *Lactococcus*

Les lactocoques sont des cocci, leur taille varie de 0.5 à 1.5 µm en paires ou en chaînettes. Elles sont des homo-fermentaires qui produisent l'acide lactique L(+) à partir de glucose. Elles sont toutes mésophiles avec une température optimale de croissance variant de 28 à 34°C et leur pH optimal varie de 6.0-

6.5 aussi elles se développent généralement à 4% de NaCl (Bouadjaib, 2013) (figure 03).

Une étude réalisée par Karam (2006) a montré la présence dans le lait camelin de souches *Lactococcus lactis ssp lactis* et *Lactococcus lactis ssp cremoris* avec une résistance inattendue à une concentration de 6.5% de NaCl.



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

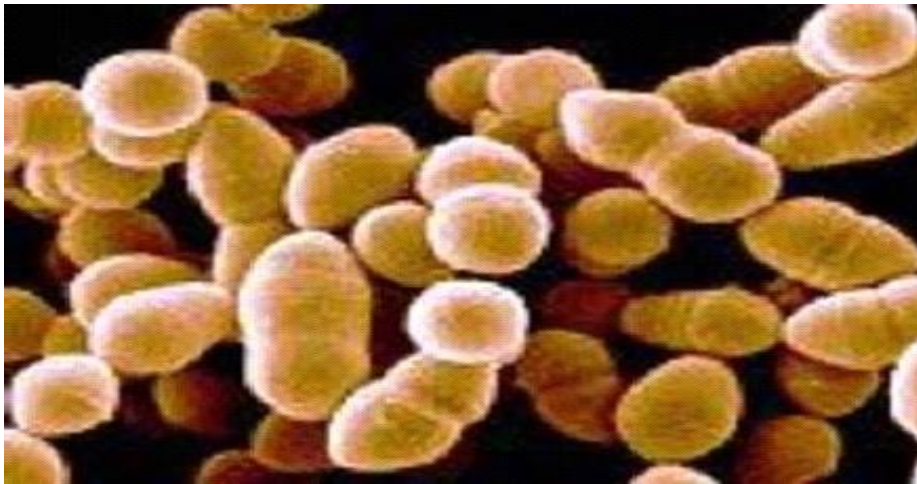


Figure 03: *Lactococcus lactis*, au microscope électronique (Corrieu et Luquet, 2008).

➤ ***Leuconostoc***

Les cellules de *Leuconostoc* sont des cocci, souvent allongés, en paires ou en chaînes. Elles sont toutes des hétéro-fermentaires obligatoires produisant de l'acide D(-)lactique de l'éthanol et du CO₂. Ils sont mésophiles avec un optimum de température entre 20-30°C (Guiraud, 2003) (figure 04)

En production fromagère, ces bactéries sont particulièrement utilisées pour leur capacité de formation des composés aromatiques et de production de CO₂ à partir du métabolisme du citrate. Le CO₂ produit par ces bactéries contribue à la formation des yeux typiquement retrouvés dans certains fromages. Les espèces les plus utilisées pour la fermentation des produits laitiers sont : *Ln. Mesenteroides* et *Ln. Lactis* (Idder, 2014).

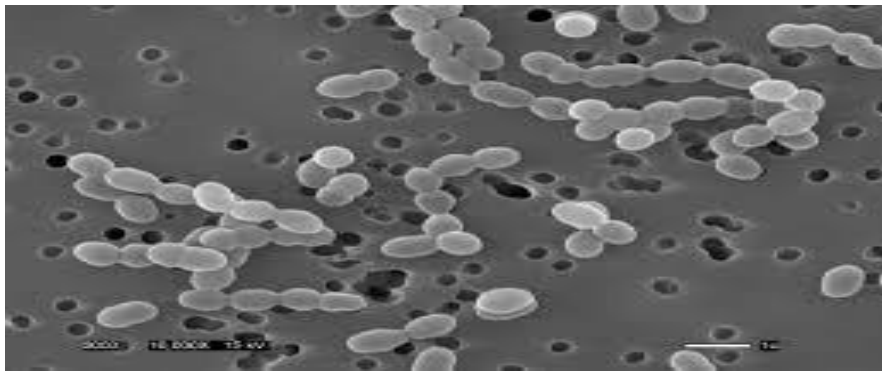


Figure 04: *Leuconostoc mesenteroides* au microscope électronique (Wallace et al., 2003)

➤ **Streptococcus**

Ce genre est essentiellement constitué des espèces d'origine humaine ou animale dont certaines sont pathogènes comme *S. pyogenes* et *S. agalactiae*, d'autres sont impliquées dans la formation de la plaque dentaire (*S. mutans*) non pathogène.

L'espèce thermophile *Streptococcus thermophilus* se différencie par son habitat (lait et produits laitiers), et son caractère non pathogène. Du fait de ses propriétés technologiques, c'est la seule espèce considérée comme un streptocoque lactique (Bouadjaib, 2013) (figure 05).

➤ **Pediococcus**

Les cellules de ce genre sont immobiles de forme sphérique parfois ovoïde. Elles sont isolées ou en paires qui se divisent dans deux directions perpendiculaires formant des tétrades. Leur température optimale de croissance se situe entre 25°C et 35°C (Ababsa, 2012). Elles sont mésophiles et le plus souvent incapables d'utiliser le lactose.

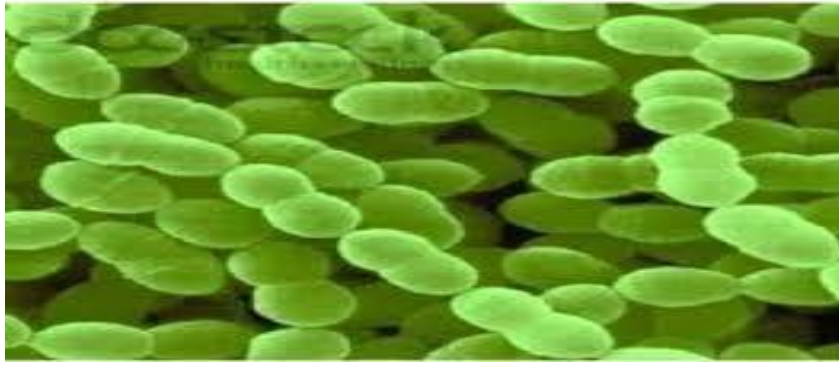


Figure 05: *Streptococcus thermophilus*, au microscope électronique (Corrieu et Luquet, 2008).

➤ ***Enterococcus***

Les espèces de ce genre sont des aéro-anaérobies facultatives, généralement microaérophiles et très exigeantes au point de vue nutritionnel (Guirand et al., 2004) (figure 06).

Leurs cellules sont immobiles, sphériques ou ovoïdes, qui ont un diamètre inférieur à 2 μm avec une disposition en paires ou en chaînes longues. La température optimale de leur croissance est 37°C (Ababsa, 2012).

La plupart des espèces ont en général non capsulées, leur fermentation est homolactique, (Guirand et al., 2004). Elles sont dépourvues de la catalase et du nitrate (Ait Abdelouahab, 2001).

Plusieurs entérocoques sont commensaux ou parasites de l'homme et des animaux et certains sont hautement pathogènes (Guirand et al., 2004).



Figure 06: *Enterococcus faecalis* au microscope électronique (Wallace et al., 2003).

➤ *Bifidobacterium*

Les *Bifidobacterium* sont des bâtonnets, Gram positives, non sporulées, immobiles, ont des formes variées (incurvées, rarement ramifiées) celles de formes bâtonnets peuvent généralement être isolées ou en amas et en paires ou en forme de V (**Figure 7**).

Les *Bifidobacterium* sont anaérobies, saccharolytiques, fermentent les glucides en donnant de l'acide acétique et l'acide lactique sans production de dioxyde de carbone pas de production d'ammoniaque ou de H₂S à partir des acides aminés et elles ne réduisent pas les nitrites en nitrates (**Lansing et al. 2003**). Le métabolisme des hydrates de carbone par des *Bifidobactéries* est différent de bactéries homofermentaires et hétérofermentaires. En effet, le fructose-6-phosphocétolase, une enzyme typique du genre *Bifidobacterium*, est responsable de la dégradation du glucose. La détermination de cette enzyme est un test crucial pour l'identification de ces microorganismes (**Shah, 2000**).

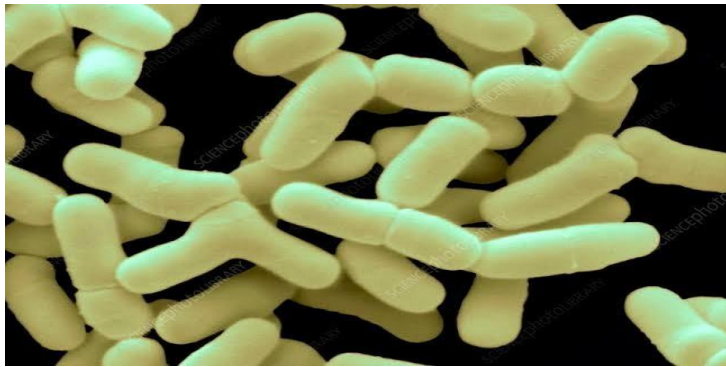


Figure 07: *Bifidobacterium* sp (Wallace et al., 2003).

I.2.6. Milieu écologique des bactéries lactiques

Les LAB sont trouvées dans diverses niches écologiques, tel que le lait, ainsi que certains aliments, la bouche, du tractus gastro-intestinaux (GI) et urogénitaux des humains et des animaux (**El Shafei et al., 2000**), (**Mathara et al., 2004**). Elles constituent aussi la flore microbienne dominante responsable de la fermentation des céréales et des plantes fourragères ensilées (**Carr et al., 2002; Gelfand et Kotelnikova, 2002**).

Tableau 05: Milieux écologiques des bactéries lactiques.

Genre	Milieux écologiques	
<i>Streptococcus</i>	Flore intestinale des nouveau-né, l'intestin, le vagin, cavité buccale des adultes, tractus intestinaux des animaux. Les plantes, l'eau, le sol.	Jerome, et al, 2004
<i>Lactococcus</i>	Végétaux frais. Peau des animaux. Le lait, laits fermentés, les fromages	Sandine et al, 2000
<i>Leuconostoc</i>	Ils sont habituellement rencontrés sur les végétaux, les produits laitiers, le vin, et les liquides à base de sucre. Leur présence intervient dans le goût et l'arôme	Cibik et al, 2000
<i>Bifidobacterium</i>	Flore intestinale d'un nouveau-né, le vagin, cavité buccale des adultes.	Jerome, et al, 2004
<i>Pediococcus</i>	Végétaux, fruits, produits carnés, la bière. Produits fermentés, choucroute, olives, poissons conservés, les fromages.	Luquet, 1994
<i>Enterococcus</i>	L'homme et l'animal (10% de la flore intestinale), dans la nature en raison de la contamination de l'environnement par l'intermédiaire de la matière fécale et des eaux d'égouts.	

I.2.7. Caractéristiques de bactéries lactiques

Les bactéries lactiques sont procaryotes, Gram positives, immobiles, hétérotrophes et chimio-organotrophes. Elles sont jamais sporulées, catalase et oxydase négative, sont des microorganismes anaérobies qui tolèrent l'oxygène dans une certaine mesure (**Tailliez, 2001**). Même si elles se développent dans une variété d'habitats, elles exigent des carbohydrates fermentés cibles, des acides aminés, des acides gras, des sels et des vitamines pour leur croissance (**Shihata et Shah, 2000**).

Selon le type de fermentation utilisé, les bactéries lactiques sont dites :

- Homofermentaires: l'acide lactique est le seul produit de la fermentation du glucose.
- Hétérofermentaires: la fermentation du glucose aboutit à la formation d'acide lactique et d'autres composés: éthanol, CO₂, et autres acides organiques.

I.2.8. Culture et identification des bactéries lactiques

I.2.8. 1. Milieux et conditions de culture

Il n'existe pas de milieux sélectifs pour le dénombrement et l'isolement des bactéries lactiques. En effet, du fait de leurs exigences nutritionnelles, les milieux de cultures doivent être très riches en sucres, matières azotées et surtout facteurs de croissance.

- Le milieu de Man, Rogosa et Sharpe (MRS) : est plus utilisé pour l'isolement et le dénombrement des *Lactobacillus* et d'autres genres de bactéries lactiques puisqu'il possède des sources de carbone, glucose, acétate, citrate. Il est ajusté à pH 6,5 ou 5,5 (Man, 1960), et peut être utilisé pour l'identification de *Bifidobacterium*.
- Le milieu M17 : utilisé pour l'identification des *Lactococcus*, dont l'acidification de ce genre est importante et rapide, et le milieu M17 contient du beta-glycérophosphate de sodium pour le tamponner.
- Milieu Slanetz et Bartley : utilisé pour l'isolement et le dénombrement des streptocoques, contenant du sels de tétrazolium qui sont réduits par ce genre de bactéries et donnent des colonies rouges foncées ou marron.

Le dénombrement des bactéries lactiques du yaourt fait l'objet d'une norme officielle (arrêté du 27/11/77, J.O. du 4/1/78) : les *Lactobacillus* sont dénombrés sur milieu MRS à pH 4,5 à 37°C, et *Streptococcus thermophilus* sur le milieu M17 à 37°C.

I.2.8. 1. Identification des bactéries lactiques

➤ Méthodes classiques

Sur les milieux précités, les bactéries lactiques forment des petites colonies, blanches à crèmes bombées. La classification par groupe est basée sur la coloration de Gram positive, la catalase négative et par l'absence de réduction de nitrate.

L'identification du genre est orientée par la morphologie, puis les types fermentaires (production de CO₂ à partir de glucose) et les conditions physiologiques de croissance (Température, sel, pH). L'identification des espèces est basée sur le profil de fermentation de différents glucides, la dégradation de l'arginine, la production de dextrane (*Leuconostoc*) (Figure 08-09)

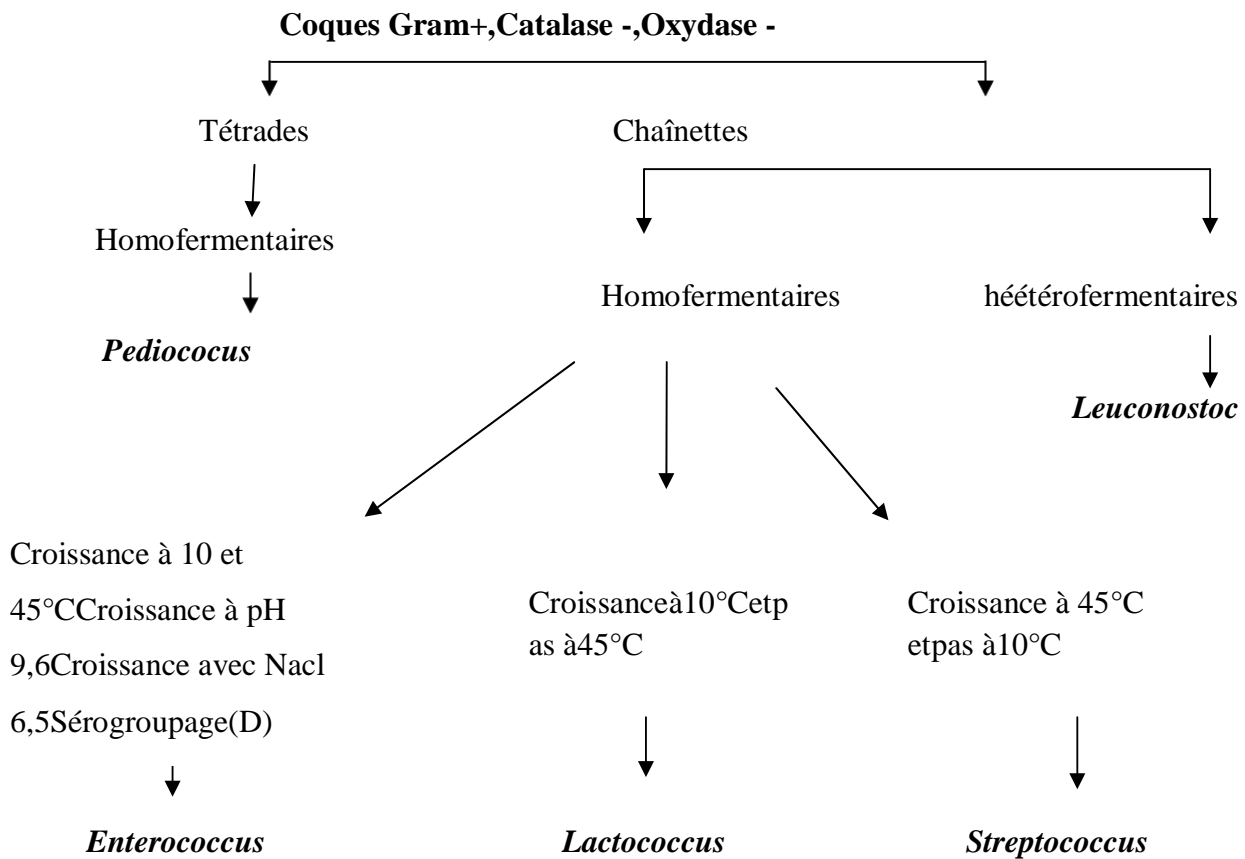


Figure 08: Identification des genres de bactéries lactiques (Coques) (Sutra et al., 1998).

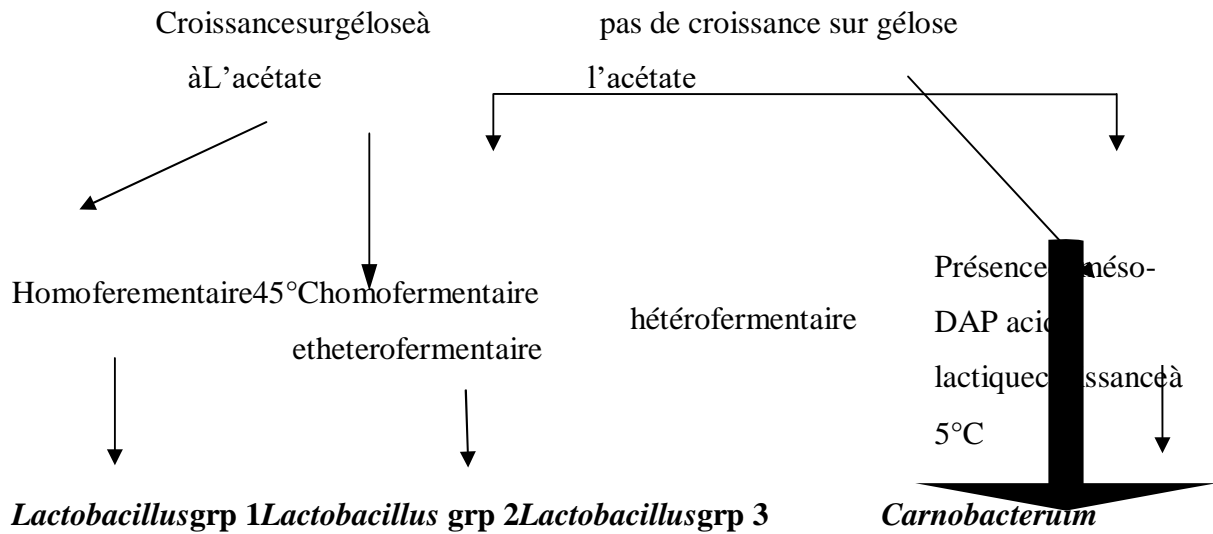
I.2.9. Intérêt des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques jouent un rôle important que ce soit dans le domaine médical ou dans le domaine technologique, la fermentation par les bactéries lactiques constitue l'une des plus anciennes formes de conservation de la nourriture, ils sont utilisés empiriquement depuis des siècles dans la fabrication de nombreux aliments fermentés comme les produits laitiers.

I.2.9.1. Intérêt industrielle des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques interviennent dans la fermentation et la bio conservation de différents aliments. Ainsi, les souches de *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus* sont utilisées pour la production du yaourt, des fromages et des laits fermentés (Yateem et al, 2008). Le vin, les poissons, les viandes, les charcuteries, le pain au levain, sont aussi des produits de fermentation par des bactéries lactiques (Badiset al., 2005).

a) Bacilles, Gram+, Catalase-, Oxydase-, forme régulière



b) Bacille Gram+, catalase -,oxydase-,forme irrégulière

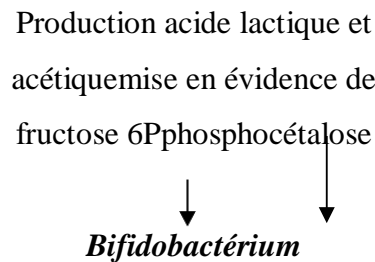


Figure 09: Identification des bactéries lactiques (a: *Lactobacillus*, b) *Bifidobacterium*).

L'utilisation de ces dernières a pour but l'amélioration des caractéristiques organoleptiques des produits fermentés et l'augmentation de leur durée de conservation sans l'utilisation de conservateurs chimiques grâce aux substances antimicrobiennes qu'elles sécrètent (Dortu et Thonart, 2009). Les souches utilisées en industrie alimentaire sont sélectionnées en se basant sur certains critères : absence de pathogénicité ou activité toxique, capacité d'améliorer les caractéristiques organoleptiques, capacité de dominance, facilité de culture et de conservation, et maintenance des propriétés souhaitables durant le stockage (Marth et Steele, 2001).

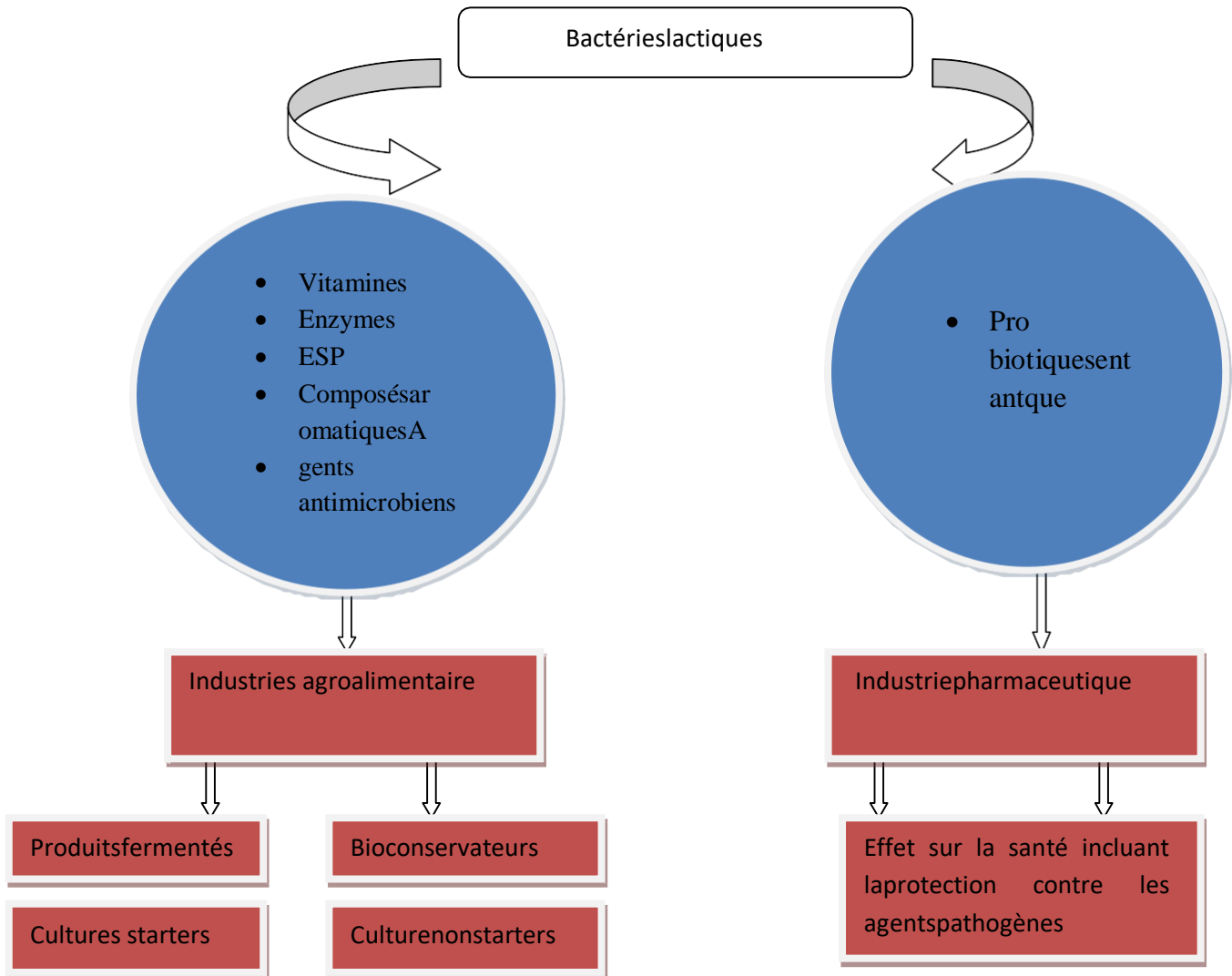


Figure 10: Utilisation industrielle des bactéries lactiques (Florou-Paneriet al., 2013).

I.2.9.2. Effets des bactéries lactiques sur la santé

L'intérêt des bactéries lactiques sur santé humaine a été montré en 1907, par le russe Metchnikoff dont il a précisé que les lactobacilles pouvaient réduire la putréfaction intestinale, en modifiant la microflore intestinale.

Les LAB ont des effets bénéfiques nombreux et variés tels que l'amélioration de la digestion du lactose et le traitement des désordres diarrhéiques, la réduction de la formation de tumeurs (Schaafsma, 1996). Ainsi une activité hypocholestérolémiant décrite par Gilliland en 1985 montre que certaines souches de bactéries lactiques ont la capacité d'assimiler le cholestérol. En effet, d'autres bactéries lactiques inhibent la conversion de l'acétate en cholestérol dont les exopolysaccharides des bactéries lactiques incluent l'abaissement du cholestérol. (Savado et Traor., 2011).

MATERIEL ET METHODES

II .1.Présentationdulieu detravail

La partie pratique de ce travail a été réalisé au niveau de laboratoire pédagogique demicrobiologiedelafaculté desscienceset detechnologies,départementdebiologie,UniversitéBel hadj Bouchaib d'Ain Témouchent.

II.1. 1. Échantillonnageetprélèvement desunités de Yaourt

Au total 17 pots de yaourt,contenant de probiotique, ont été collecté de différents point devente de la ville de Ain Témouchent (**Tableau06**). Le choix des points deprélèvement a été sélectionné au hasard par la méthode aréolaire décrite par Schwarz (1995). Cette méthode consiste à repérer des zones au hasard sur unecarte de la ville d'Ain Témouchent (**Figure 11**), puis visité ces zones pour sélectionner des points de prélèvement. Ensuite, une unité a été prélevée de chaque point devente.

Les unités prélevées étaient ensuite transféré au laboratoire pour l'analyse, le jour même, dans unglacièrefroid e+4°C avant d'être analysés.

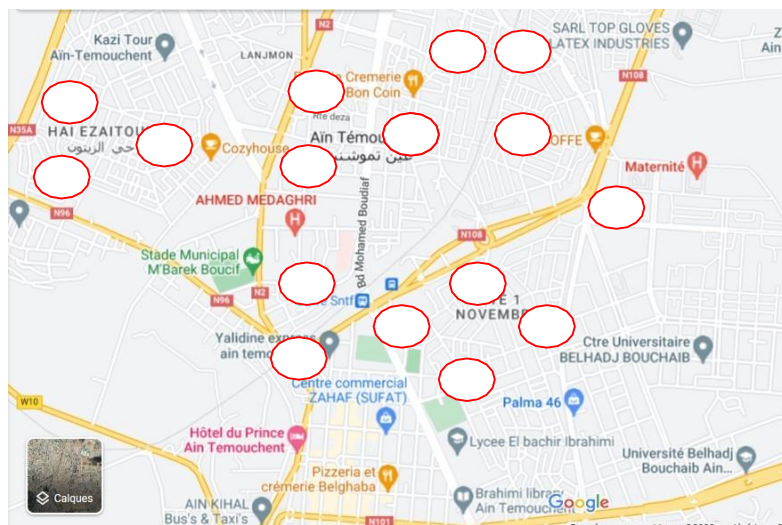


Figure 11: Carte de la ville d'Ain Témouchent (<https://www.google.dz/maps/@35.3004096,-1.131518,15z?hl=fr-DZ&entry=ttu>).

Tableau06:Caractéristiques des échantillons de yaourt prélevés dans cette étude durant la fin du mois de février et début de Mars.

Unité	Lieu de prélèvement	Date de péremption	Gout
01	Nouvelle ville-Ouest	08/03/2023	Nature
02	Nouvelle ville -Est	29/03/2023	Miel
03	Nouvelle ville -Sud	24/03/2023	Fraise
04	Djawhara-Nord	05/03/2023	Citron
05	Djawhara -Ouest	21/03/2023	Abricot
06	Djawhara -Est	16/03/2023	Vanille
07	Djawhara -Sud	19/03/2023	Miel
08	Oliviers-Nord	21/03/2023	Fraise
09	Oliviers-Ouest	24/03/2023	Citron
10	Oliviers-Est	29/03/2023	Miel
11	Oliviers-Sud	21/03/2023	Fraise
12	Centreville -Nord	10/03/2023	Miel
13	Centre ville-Ouest	21/03/2023	Abricot
14	Centre ville-Est	21/03/2023	Cerise
15	Centre ville-Sud	29/03/2023	Miel
16	Kods-1	11/03/2023	Fraise
17	Kods-2	24/03/2023	Mangue gourmande

II.1.2. Recherche et isolement des bactéries lactiques

II.1.2.1. Préparation des échantillons

Au départ, les pots collectés ont été désinfectés avec prudence par l'éthanol pur. Les pots étaient rigoureusement agités. Ensuite, un volume de 1 mL de chaque unité était prélevé puis dilué dans 9 mL de Tryptone-sel (TSE). Cette dilution représente la dilution 10^{-1} . Le mélange était ensuite agité rigoureusement au vortex.

II.1. 2. 2. Préparation des dilutions décimales isolement et purification des bactéries lactiques

La préparation des dilutions consistait à diluer 1 mL de la dilution (10^{-1}) dans le même diluant TSE. Puis, un volume de 100 μ L de chaque dilution précédemment préparée (10^{-1} , 10^{-2} et 10^{-3}) était étalé par épuisement sur les milieux géloses à savoir MRS (après l'ajout de cystéine), M17, Est pour l'isolement et la recherche de Lactobacilles, cocci et *Sterptococcus thermophilus*. Les

boîtes

inoculées ont été ensuite incubées à des températures préconisées pour chaque groupe de bactéries lactiques :

- à 30°C pendant 24h pour les cultures de milieu M17 ;
- à 44°C pendant 48h C pour les cultures de milieu Esty Agar;
- à 37°C dans une jarre d'anaérobiose pendant 72h pour les cultures de milieu MRS (Figure 13).



Figure 12: Montage de jarre pour l'incubation en anaérobiose (photo original Mars 2023).

Après incubation les colonies obtenues ont été repiquées, pour les purifier, sur les mêmes milieux d'isolement et dans les mêmes conditions d'incubation. Une fois les colonies étaient purifiées, les isolats étaient caractérisés par des tests biochimiques. Ils étaient soumis à des tests

La préparation des milieux de cultures utilisées est décrite dans l'annexe 1.

II.1.2.3. Etude de caractères morphologiques

II.1.2.3.1. Examen macroscopique

Cette étude consiste à effectuer une observation visuelle des colonies des isolats pour la détermination des caractères morphologiques tels que la forme, la taille, la couleur et la consistance.

II.1.2.3.2. Sélection des isolats et examen microscopique

Les isolats présumés de groupe de bactéries lactiques sont ceux qui interagissent négativement avec l'eau oxygénée, réaction caractéristique de la catalase négative (**Annexe 2a**). Il était considéré également les isolats pseudo-catalase (dégagent légèrement les bulles d'air). Ensuite,

les isolats présumés de groupe bactéries lactiques ont été subit à une coloration de Gram (Annexe 2b) puis observation microscopique.

II.1.3. Identification biochimique des isolats de bactéries lactiques

L'identification des isolats de bactéries lactiques par les procédures phénotypiques conventionnelles sont basées sur les tests morphologiques et biochimiques décrite par **Badis et al. 2005**.

Tenant compte le manque de moyens, le système API (50 CHL) a été utilisé seulement pour l'identification des isolats obtenus dans les conditions d'isolement de *Bifidobacterium* et *Streptococcus thermophilus*. Cependant les tests d'identification biochimiques classique ont été utilisés pour l'ensemble des isolats obtenus à partir de différents milieux d'isolement.

II.1. 3.1. Tests classique en tubes

Les sucres testés pour l'identification des isolats de bactéries lactiques sont ceux proposés par **Badis et al. 2005**. Au total sept sucres ont été testés : D-cellulose, D-galactose, D-Raffinose, D-Xylose, D-Lactose, D-Glucose et Esculine ainsi que le test de l'Indole.

La gamme des sucres ont été préparée comme décrite par **Guiraud et al. (2004)**. La procédure consiste à ajouter séparément les solutions des sucres dans le milieu Heigh et Leifson en surfusion, pour atteindre une concentration finale de 0,1%. Ensuite, le milieu Heigh et Leifson en surfusion supplémenté des sucres à tester ont été ensemencé par piqure centrale. Au total 24 isolats ont été repiqués. L'incubation a été réalisée dans les conditions de l'isolement de chaque isolat.

II.1.3.2. Identification par galerie API Miniaturisé

Le système miniaturisé API 50CHL a été utilisé seulement pour l'identification des isolats présumés *Bifidobacterium* ou *Streptococcus thermophilus*. Quant au système 10S est utilisé seulement pour voir le profil biochimique de quelques caractères selon la disponibilité de moyens.

II.1.3.2. 1. Préparation de l'inoculum

La suspension bactérienne de trois isolats (9⁻¹, 6⁻¹, 7⁻¹) ont été préparée pour inoculer les galeries API 50CH et API 10S. Des colonies ont été suspendues dans 3 ml d'eau

physiologique stérile jusqu'au avoir une densité équivalente à 0,5 de l'échelle de McFarland. Cette densité est ajustée à l'aide de l'échelle McFarland préparée ultérieurement.

II.1.3.2. 2. Inoculation des galeries

c) Galerie API 50CHL

Les tests d'assimilation des substrats carbonés sont réalisés avec des galeries API 50CHL pour les bactéries non sporulantes notamment les bactéries lactiques (**Biomérieux S.A., La Balme les Grottes, Montalieu Vercieu, France**).

Les alvéoles ont été humidifiées par l'eau distillée stérile. Ensuite les bandes de la galerie ont été déposées dans la boîte puis à l'aide d'une micro pipette, les 50 micro-tubes de la bande de la galerie ont été inoculés avec la suspension bactérienne précédemment préparée. Les galeries inoculées ont été incubées à 30 °C pendant 48 heures en anaérobiose. (**figure 13 a**).

d) Galerie API 10S

De la même façon que les galeries 50CHL, les galeries API 10 S ont été préparées et inoculées par les mêmes souches. Les micro-tubes (LDC, ODC, H₂S) étaient recouverts par l'huile de paraffine. Les galeries ont été ensuite incubées à 30 °C pendant 24h à 48h.

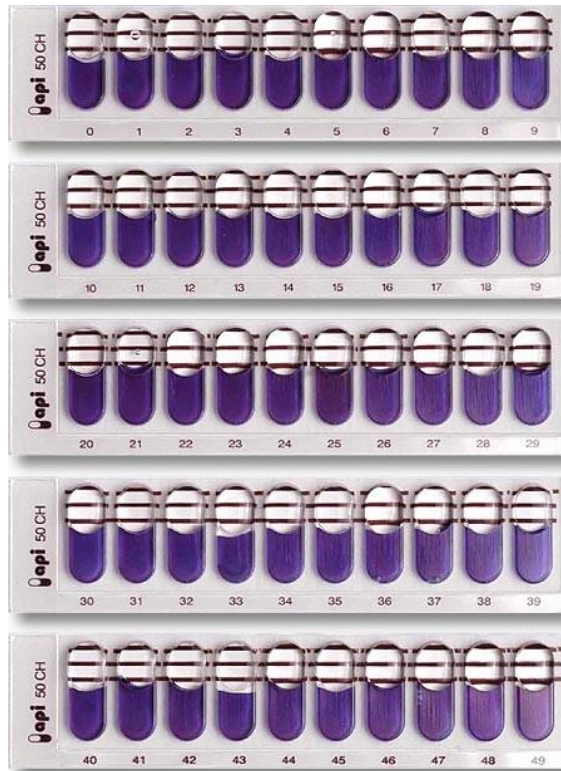
Au cours de la lecture, une goutte de réactif covacs a été ajoutée au micro tube IND et une goutte de Nit 1 et Nit 2 ont été ajoutées au micro tube Glu. (**figure 13 b**).

II.1.4. Détermination du pH

La mesure de pH était réalisée simplement à l'aide de papier pH simple appelé bandelettes urinaires de pH.

Après nettoyage et désinfection de la surface de pot de yaourt, la bandelette à été trempée dans le pot de yaourt puis comparée la couleur obtenue avec l'échelle colorimétrique de la boîte pour connaître le pH.

a



b



Figure 1 3:Démonstration desgaleriesAPIavectest négatif. a.API 50CHL, b.API10S.

RESULTATSETDISCUSSION

II. 2. Résultats et discussion

2.1 Test pH

Pour toutes les souches testées le pouvoir acidifiant remarquables dont la valeur comprise à pH 5 après un virage de couleur orange.

II.2.2. Observation macroscopique des colonies

L'observation macroscopique des colonies sur les trois milieux utilisés M17, MRS et ESTY, montre même aspect de colonies circulaires, de couleur blanche, de taille variable (de 1 à 4 mm de diamètre), de surface lisse plus ou moins bombées et de contour régulier (**Figure 14**), à l'exception de quelques colonies. Selon les conditions d'incubation, la température et l'aérobiose, des cultures dont elles issues, les isolats obtenus peuvent être répartie en groupe de bactéries aérobies mésophiles pour les cultures sur M17 incubé à 30°C, tandis que les isolats développés sur MRS en aérobiose sont des anaérobies. Par ailleurs, les cultures poussées sur ESTY sont des thermophiles qui tolèrent 45°C. Cependant certaines formes non caractéristiques aux bactéries lactiques ont été constatées à savoir des colonies atypiques aux genres *Bacillus* et au genre *Staphylococcus*.

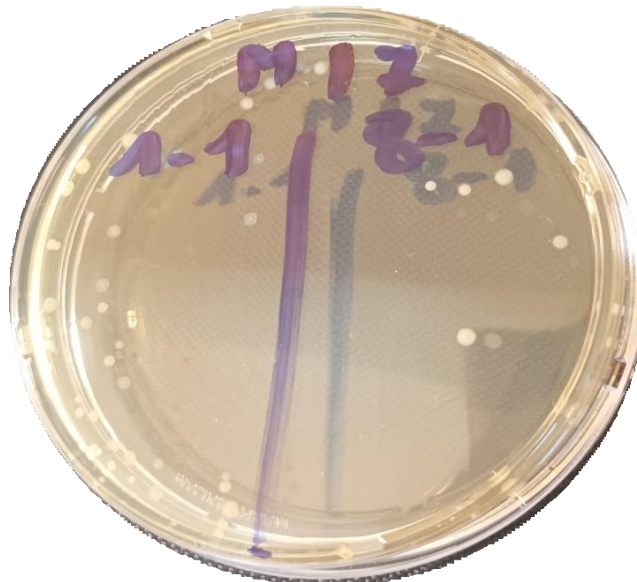


Figure 14: Aspect macroscopique des colonies de bactéries lactiques isolées sur milieu M17 à partir de l'échantillon 2.

II.2. 3. Isolement et dénombrement de la flore lactique

A partir des boîtes de l'isolement de trois milieux, chaque aspect de colonies a été dénombré à l'aide de contour des colonies. Les résultats de dénombrement des bactéries

lactiques sont présentés dans le Tableau 7. La concentration en bactéries lactiques est dépendante de l'isolat et de l'échantillon.

II.2.2.1. Dénombrement de la flore lactique sur milieu M17

Le comptage des colonies sur le milieu M17 a montré l'apparition de petites colonies indénombrables pour tous les échantillons de dilution 10^{-1} avec une absence de grandes colonies à l'exception de l'échantillon 14 (Présence de grande colonie présumée de *B.cereus* sp.). Pour la dilution 10^{-2} , certains échantillons étaient dénombrable (200 UFC/mL par dilution), tandis que d'autres sont dénombrable qu'à partir de la dilution 10^{-3} (100 UFC/mL). Par conséquent, les concentrations de bactéries lactiques s'étalent entre 2 à 5 log UFC/mL avec une moyenne de 4 log UFC/mL pour milieu M17 (Tableau 7).

II.2.2.2. Dénombrement de la flore lactique sur milieu Esty

Selon les résultats de dénombrement des bactéries lactiques dont l'ensemencement est réalisé sur le milieu de culture Esty, on remarque dans la dilution 10^{-1} , l'absence de colonies dans 3 échantillon, et des petites colonies indénombrables dans le reste d'échantillons avec une apparition des grandes colonies dénombrables pour 5 échantillons seulement. Pour la dilution 10^{-2} on constate des petites colonies indénombrables sur 15 boîtes de pétri et en parallèle des grandes colonies apparus dans 3 boîtes et les deux boîtes restantes présentent des résultats négatives.

II.2.2.3. Dénombrement de la flore lactique sur milieu MRS

Comme montre le tableau 7, une concentration de 2 à 4,3 log UFC/mL ont été reportées sur l'ensemble des échantillons analysés.

Tableau 7: Concentrations de bactéries lactiques dans les échantillons analysés.

Milieu d'isolement	M17	Esty	MRS
Nombre des échantillons		17	
Fréquence de détection (%)	60	50	30
[bactéries lactiques] log ufc/mL	4	4.5	3
	[2-5]	[3-6]	[2-4,3]

II.2.3. Identification préliminaire des isolats

II.2. 3.1. Recherche de catalase

Selon Guiraud, 2003, la recherche de catalase, et le type de coloration de Gram confirment l'appartenance des isolats au groupe des bactéries lactiques. En basant sur ces deux critères, 24 isolats étaient isolés à partir de trois milieux utilisés dont 09 isolats sur milieu M17, 5 isolats de milieu MRSet 10 de milieu Esty.

Au début les isolats obtenus ont été testés pour la production de catalase. Les résultats de ce test ont montré que 04 isolats ont un pseudo catalase. Ces isolats sont obtenus à partir de milieu Esty. Quand aux 15 autres isolats ont révélé une catalase négative. Cependant, les autres isolats dont l'aspect macroscopique est atypique aux *Bacillus* et *Staphylococcus* ont interagi positivement avec l'eau oxygène qui révèlent leur catalase positive. Les 19 isolats donnant une catalase négative confirme leur appartenance au groupe de bactéries lactiques.

II.2.3.2. Observation microscopique

Quand à l'observation microscopique après coloration de Gram indiquant que l'ensemble des isolats, catalase négative, obtenus présentent des cellules à Gram positif en forme différentes en fonction des isolats. Aucune relation avec la forme et le milieu d'isolement n'était observée. En effet, différentes formes ont été observées pour des isolats isolés de même milieu par exemple M17 (**Figure 15a**). Des formes bacillaires ont été observées appartenant au groupe de *Lactobacillus* sp. Ce genre renferme 192 espèces en 2013 selon **De Roissart et Luquet (1994)**. En revanche, sur le même milieu des cellules avec une forme cocci ont été observées pour 18 isolats (**Figure 15b**). Par conséquent, ces isolats sont de groupes de bactéries lactiques cocci. Ce groupe contient plusieurs genres à savoir notamment *Lactococcus* sp, *Enterococcus* sp, *Streptococcus* sp, *Pediococcus* sp. A ce niveau et avec les simples tests réalisés, le genre n'est pas encore possible de l'identifier. A l'issue de ces deux tests, dix-sept isolats représentés par deux principaux groupes de bactéries lactiques *Lactobacillus* et les coques lactiques.

La fiabilité de ces deux tests (coloration de Gram, recherche de catalase) était également révélée par **Kandler et al. (1986)**; **Feresu et Muzondo (1990)**.

Ces critères ne sont pas suffisants pour identifier les genres de coques lactiques.

II.2.4. Identification biochimique et distribution des souches lactiques

Les dix-neuf isolats de bactéries lactiques isolées de yaourt se distribuaient comme montre la figure 17. L'identification classique a permis d'identifier 4 genres de bactéries lactiques : 01 souche de *Lactobaccillus spp.*, 03 souches d'*Enterococcus sp*, 07 souches de *Lactococcus sp*, et 08 souches de *Streptococcus sp*. Les fréquences des genres identifiées sont montrées dans la figure 1.

Au total, plus de la moitié des bactéries lactiques isolées appartenait au genre *Streptococcus sp* (47,06%), *Lactococcus sp* (41,18%), d'*Enterococcus sp* (17,65) et une faible proportion pour le genre *Lactobaccillus* (5,88%).

Nos résultats se rapprochent de ceux cités par plusieurs études **Semaan et al. (2002)** ; **Guiraud (2012)** ; **Mechai (2000)**. D'autres études ont isolés ces genres produits laitiers tels que les laits crus, les fromages et les yaourts (**Badis et al., 2005** ; **Bekhouche et Boulahrouf, 2005**). Cette liste des genres isolés dans cette étude n'est pas exhaustive. En effet, des chercheurs ont pu isolés d'autres genres à savoir *Leuconostoc sp*, *Pediococcus sp*.

Le profil biochimique de fermentation des sucres était illustré sur le Tableau 08. L'ensemble des isolats fermente le glucose, tandis que les autres sucres ont connu une fermentation variable dépendant des isolats. Ces résultats sont semblables à ceux reportés par **Karam (2006)**.

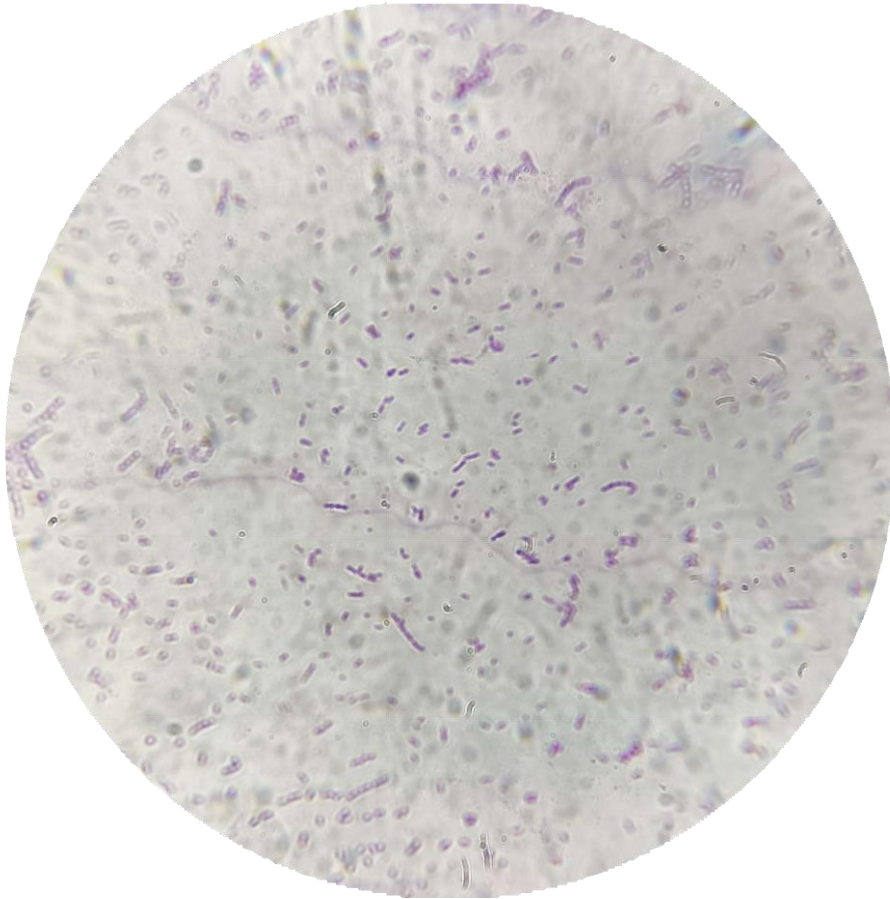


Figure15: Observation microscopique de *Lactobacillus*

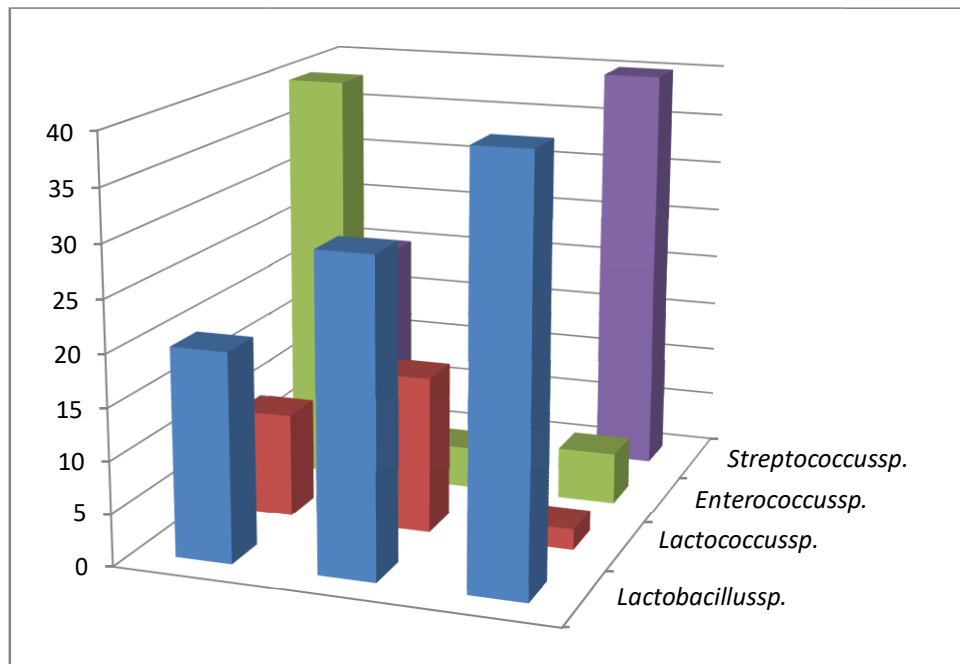


Figure 16: Répartition des genres identifiés en fonction de milieu d'isolement.

Tableau08: Profile biochimique de fermentation des sucres par les tests classiques.

Unité	Milieu	Isolat	Catalase	Gram	Form	Glucose	Cell.	Lac.	Gal.	Raff.	Xyl.	Ind.	Esc.	Identification
1	M17	10 ⁻¹	-	+	Cocci	+	+	+	+	+	-	-	-	<i>Lactococcus</i> sp
3	M17	10 ⁻²	-	+	Cocci	+	+	+	+	+	+	+	-	<i>Enterococcus</i> sp
3	Esty	10 ⁻²	-	+	Cocci	+	-	-	-	-	+	-	-	<i>Streptococcus</i> sp
6	M17	10 ⁻²	-	+	Cocci	+	+	+	+	+	-	+	-	<i>Enterococcus</i> sp
6	Esty	10 ⁻²	-	+	Cocci	+	-	-	-	-	+	-	-	<i>Streptococcus</i> sp
7	M17	10 ⁻¹	-	+	Bacille	+	-	+	+	+	-	-	-	<i>Lactobacillus</i> sp
9	M17	10 ⁻²	-	+	Cocci	+	+	+	+	+	+	+	-	<i>Lactococcus</i> sp
9	Esty	10 ⁻¹	-	+	Cocci	+	+	-	-	-	+	+	+	<i>Streptococcus</i> sp
10	M17	10 ⁻¹	pseudo	+	Cocci	+	-	+	+	+	+	-	-	<i>Lactococcus</i> sp
10	Esty	10 ⁻²	-	+	Cocci	+	-	-	-	-	+	-	-	<i>Streptococcus</i> sp
11	M17	10 ⁻²	-	+	Cocci	+	+	+	+	+	+	+	-	<i>Lactococcus</i> sp
11	Esty	10 ⁻²	-	+	Cocci	+	+	-	-	-	+	+	+	<i>Streptococcus</i> sp
12	Esty	10 ⁻¹	-	+	Cocci	+	+	-	-	+	+	-	+	<i>Streptococcus</i> sp
14	Esty	10 ⁻²	pseudo	+	Cocci	+	+	-	-		+	+	+	<i>Streptococcus</i> sp
15	M17	10 ⁻¹	pseudo	+	Cocci	+	+	+	+	+	+	+	-	<i>Lactococcus</i> sp
15	Esty	10 ⁻²	-	+	Cocci	+	+	-	-	-	+	+	+	<i>Lactococcus</i> sp
16	M17	10 ⁻¹	pseudo	+	Cocci	+	-	+	+	+	-	-	-	<i>Lactococcus</i> sp
16	Esty	10 ⁻²	-	+	Cocci	+	+	-	-	-	+	+	+	<i>Streptococcus</i> sp
17	Esty	10 ⁻²	-	+	Cocci	+	+	-	-	-	-	-	-	<i>Enterococcus</i> sp

Cell:Cellulose;Lac:Lactose;Gal:Galactose;Raff: Raffinose; Xyl: Xylose;Ind : Indole ;Esc:Esculine.

II.2.5. Identification biochimique

II.2.5.1. Identification des bactéries lactiques par la galerie API 50 CH

Parmi les 24 isolats obtenus, seulement 3 isolats présumés de *Bifidobacterium* ont été identifiés API 50 CHL. Les profils biochimiques et numériques ont été interprétés à l'aide du logiciel biomérieux APIweb™ (<https://apiweb.biomerieux.com/login>). Les résultats sont présentés dans l'annexe 2.

Après 48 h d'incubation l'identification par les galeries API 50 CHL a confirmé les profils obtenus avec les résultats des profils fermentaire de la galerie classique, et en comparant avec les données de la littérature.

La fermentation des hydrates de carbone et dérivés de la galerie a permis d'identifier une seule espèce des lactobacilles appartient à l'espèce *Lactobacillus delbrukii* sbsp *delbrukii*, une deuxième espèce au *Lactococcus lactis* et une troisième aux *Streptococcus thermophilus*.

La présence de ces espèces a été montrée également par Belkhir (2009).

II.2.5.1. Résultat de Plaque l'API 10S

Le tableau 09 montre le profil biochimique des souches identifiées. Les résultats montrent une variabilité vis-à-vis les substrats mais pas une variabilité vis-à-vis les souches. Ces résultats probablement dus à la qualité de galeries API 10S. Nous recommandons d'utiliser une souche de référence pour le contrôle de qualité des galeries.

Tableau 09: Profil biochimique de certains tests biochimiques.

	ONPG	Glu	ARA	LDC	ODC	CIT	H ₂ S	URE	TDA	IND
<i>Lactobacillus delbrukii</i> sbsp <i>delbrukii</i>	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Lactococcus lactis</i>	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Streptococcus thermophilus</i>	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-



Figure 17: Résultats de la galerie Api 10 pour trois isolats 1, 2 et 3 issus de l'isolement en anaérobiose.

CONCLUSION

Les bactéries lactiques sont un groupe hétérogène de microorganismes produisant de l'acide lactique comme produit principal du métabolisme. Elles sont impliquées dans un grand nombre de fermentations industrielles de produits alimentaires (Stiles et al., 1997).

Dans notre travail, nous avons isolé des bactéries lactiques à partir de yaourt commercialisé de la région d'Ain Témouchent. Les résultats ont montré la présence de bactéries lactiques dans le yaourt. Les techniques utilisées n'ont pas permis d'isoler les *Bifidobacterium*, mais ne confirment pas leur absence dans le produit. Au terme de ce travail, 4 genres ont été identifiés à savoir *Lactococcus* sp, *Enterococcus* sp, *Lactobacillus* sp et *Streptococcus* sp.

Comme perspective, il est nécessaire de vérifier la viabilité des bactéries lactiques dans le yaourt par différentes techniques d'enrichissement et d'isolement. Il est aussi important d'étudier la biodiversité de bactéries lactiques par les méthodes de méta-génomiques pour avoir une information sur la distribution de ces bactéries surtout très exigeantes et parfois non cultivables.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Ababsa, A. (2012).** Recherche de bactériocines produites par les bactéries lactiques du lait. Mémoire de Magister en Génie microbiologique, université Ferhat Abbas- Sétif faculté des sciences de la nature et de la vie.
- Abargouei, A.S., Janghorbani, M., Salehi-Marzjarani, M., Esmailzadeh, A. (2012).** Effect of dairy consumption on weight and body composition in adults: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled clinical trials. *Int J Obes* 36: 1485-93.
- Ait Abdelouahab, N. (2001)** : saint-denis la plaine AFNOR DL 200493-saint-denis la plaine Impr.: Microbiologie alimentaire. Office des Publications Universitaires. Ed N° 1.04. 4362. Université de Constantine. Algérie.
- Bouadjaib, S. (2014).** Etude physicochimique du produit laitier traditionnel du Sud Algérien «Jben» recherche du pouvoir antimicrobien des bactéries lactiques. Mémoire Master. Université de Tlemcen. P80.
- Am J Clin Nut 2014.** Cohortes NHS, NHS II et HPFS. Astrup A. Yogurt and dairy product consumption prevent cardiometabolic diseases: epidemiologic and experimental studies.; 99 : 1235S-1242S.
- Amellal-Chibane, H. (2008).** Aptitude technologiques de quelques variétés communes de dattes: formulation d'un yaourt naturellement sucré et aromatisé. Thèse de doctorat en technologies alimentaires. Faculté des sciences de l'ingénieur. Université BOUMERDES. p.164.
- Amiot, J., Fournier, S., Lebeuf, Y., Paquin, P., Simpson, R. (2002).** Composition, propriétés physicochimiques, valeur nutritive, qualité technologique et techniques d'analyse du lait. IN «science et technologie du lait». Tec et Doc LAVOISIER. pp : 1-73.
- Badis, A., Laouabdi-Sellami, N., Guetarni, D., Kihal, M. E. T. Ouzrout, R. (2005).** Caractérisation phénotypique des bactéries lactiques isolées à partir de lait cru de chèvre de deux populations caprines locales «Arabia et Kabyle». *Sci. Technol.*, 23:30-37
- Bajaj, J.S., Saeian, K., Christensen, K.M., Hafeezullah, M., Varma, R.R., Franco, J. (2008).** Probiotic yogurt for the treatment of mini-Mal hepatic encephalopathy. *Am J. Gastro-enterol* 103(7) : 1707–15
- Beal, C. Sodini, I. (2012).** Fabrication des yaourts et des laits fermentés, Techniques de l'Ingénieur 6315, Paris-France, 16 p..
- Bekhouche F., Boulahrouf A. (2005).** Etudes quantitative et qualitative des bactéries Lactiques de lait cru produits par des vaches locales appartenant à six stations d'élevage de Constantine. *Sciences & Technologie C (23)*:38-45.

Références bibliographiques

- Boubchir-ladj, K. (2004).** Effets de l'enrichissement (avec des concentrés de protéines laitières) et des paramètres technologiques sur la qualité du yaourt fabriqué à la laiterie Soummam d'AKBOU. Mémoire de Magister: Sciences biologiques. Biochimie appliquée et biotechnologies. Université de Tizi-Ouzou. Pp: 86.
- Boudraa, G., Touhami, M., Pochrt, P., Soltana, R., Mary, J. Y. Desieux, F. (1990).** Effect of yogurt versus milk in children with persistent diarrhea. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 11pp509-512.
- Boutonnier, J.L. (2008).** Matière grasse laitière Composition, organisation et propriétés. Pp :15.
- Boyaval P., Terre S. Corre C. (1988)** - Production d'acide lactique à partir de perméat de lactosérum par fermentation continue en réaction à membrane lait 1pp 65-84.
- Brahimi, S. (2015).** Isolement et caractérisation biotechnologique des bactéries lactiques isolées à partir des margines d'olives « AMORDJ » fermenté, Oran 1 Ahmed ben Bella. Magister: 203.
- Dortu, C. Thonart P. (2009)** - Les bactériocines des bactéries lactiques : caractéristiques et intérêts pour la bio conservation des produits alimentaires, 13, 143-154.
- Carr, F.J., Chill, D. Maida, N. (2002).** The lactic acid bacteria: A literature survey. *Crit. Rev. in Microbiol.* 28(4):281-370.
- Chen, M., Pan, A., Malik, V.S., Hu, F.B. (2012).** Effects of dairy intake on body weight and fat: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Am J Clin Nutr* 96: 735-747.
- Cibik, R. Lepage, E. Tailliez, P. (2000).** Molecular diversity of *Leuconostoc mesenteroides* and *Leuconostoc citreum* isolated from traditional French cheeses as revealed by RAPD fingerprinting; 16S DNA sequencing and 16S DNA fragment Amplification. *Sys. Appl. Microbiol.* 23, 267, 278.
- Corrieu, G., Luquet, F.M. (2008).** Bactéries lactiques de la génétique aux ferments. Ed. Lavoisier. Paris. France, pp 472 -849.
- Dabire, B.D. (2002).** "Analyse biochimique et microbiologique de yaourts et laits fermentés. Mémoire maîtrise des Sciences et Technique: Ouagadougou"
- Daniel, H.C. (2002).** Pollution and Property: Comparing Ownership Institutions for Environmental Protection. Published by the press syndicate of the University of Cambridge. 202p.
- DeRoissart, H., Luquet, F.M. (1994).** Bactéries lactiques : Volume 2. Edition SAINT-GEORGE: LORICA

Références bibliographiques

- Desmazed M. (1996).** Les bactéries lactiques dans l'alimentation humaine, utilisation et innocuité: cahier agriculture. DOC, Lavoisier, Paris. 5 pp 331-343.
- Djelouat S. (1990).** Le diagnostic biochimique. Bactérien-
Edition Sciences et Technique. Constantine-Algérie, Pp : 21-79.
- Djouani, W. Mehemmaoui, K. (2005) :** » contribution à la stabilisation de yaourt brassé par l'addition de pectine en vue de sa stérilisation, mémoire de projet de fin d'étude, Université de Blida».
- Dortu, C., Thonart, P. (2009).** Les bactériocines des bactéries lactiques : caractéristiques et Biotechnol. Agron. Soc. Environ 13 : 143-154.
- Drider, D. Prevost, H. (2009).** Bactéries lactique Physiologie, Métabolisme, Ed. Economica. Paris, pp 224-233.
- Drouault, S. Corthier, G. (2001).** Effets des bactéries lactiques ingérées avec des
- Dupin, H., Cup, J.L., Maleviak, I., Leynaud-Rouaud, C. Berthier, A.M. (1992).** Alimentation et nutrition humaine. Ed : esf, paris, 1515p.
- Elliot, T. A. et al.** Milk ingestion stimulates net muscle protein synthesis following resistance
- El-shafei, H.A., Abd-el-Sabour, H., Ibrahim, N. Mostafa, Y.A. (2000).** Isolation, screening and characterization of the bacteriocin-producing lactic acid bacteria isolated from traditional fermented Food. *microbiol. Res.* 154(4):321-331
- Enkelejda, P. (2004).** Interactions physico-chimiques et sensorielles dans le yaourt brassé aromatisé : quels impacts respectifs sur la perception de la texture et de la saveur. Thèse de doctorat en Sciences des Aliments. Institut national agronomique paris grignon. Pp 205.
- Florou-Paneri, P., Christaki, E. Bonos, E. (2013).** Lactic acid bacteria as source of functional ingredients. Lactic Acid Bacteria-R & D for Food, Health and Livestock Purposes. IntechOpen.
- FRANCE/Cidil et Inra, 2009** Du lait aux produits laitiers. –Paris: Cidil.–19p.
- Fredot, E. (2009).** Connaissance des aliments-Bases alimentaires et nutritionnelles de la diététique, Tecet Doc, Lavoisier: 10-14 (397 pages).
- Freyney, J.R., Hansen, W. Bollet, C. (2000).** Précis de bactériologie Clinique. Ed. ESA. 1692 pages
- from Traditional Butter Produced in Djelfa Province of Algeria. *Biosciences Biotechnology Research Asia.* 15(3), 737-746.
- Gilliland, S.E. (1985).** Role of starter culture bacteria in food preservation. Dans *Bacterial starter cultures for food.* Gilliland SE (Ed). CRC Press Inc., Boca Raton, USA, 175-185

Références bibliographiques

- Guetarni, (2007).** Produced by lactic acid bacteria isolated from Thai fermented meat and fish products. *Food Control*, 23: 547-551.
- Guiraud, J.P. (2003).** *Microbiologie Alimentaire*. Edition :Dunod, Paris, 652p.
- Guiraud, J.P. (2012).** *Microbiologie Alimentaire*, édition DUNOD, Paris, France, p 92-139-140-141
- Guiraud, P.J. Rosec, P.J. (2004).** *Pratiques des normes en microbiologie Alimentaire*. Édition Par AFNOR
- Guteriani, H. (2007).** Etude de l'effet des bactéries lactiques sur l'inhibition des bactéries impliquées dans la physiopathologie digestive in vitro. Hassibabenbouali Chlef. Magister: 120.
- Hadef, S. (2012).** Evaluation des aptitudes technologiques et Probiotiques des lactiques locales. Mémoire de magister: pp 7-8.
- Idder, Z. (2014).** Etude du pouvoir acidifiant des bactéries lactiques appartenant au genre *Leuconostoc*. Mémoire de master en microbiologie. Université abobakerbelkaid Tlemcen.
- Imbert, M., Blandeau, R. (1998).** On the iron requirement of lactobacilli grown in *Lactobacillus* strains for their effect on bile tolerance, taurocholate de conjugation and cholesterol removal. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 24, pp 7-14.
- Jeanet, R., Croguennes, T., Mahaut, M., Schuck, P., Brulé, G. (2008).** *Les produits laitiers*. Ed Techniques et Documentations. Lavoisier-Paris. Pp 185.
- Jerome, J. Perry, J.T. Lory, S. (2004).** *Microbiologie*. Collection « Dunod », Paris, page 891.
- Josse, A. R. et al.** Body composition and strength changes in women with milk and resistance exercise. *MedSci Sports Exec* 2010; 42: 1122-1130
- Kandler, O., Weiss, N. (1986).** Regular, nonsporing gram-positive rods. *Bergey's manual of Systematic Bacteriology*. Williams and Wilkins, 2, 1208-1234. Keller],], and Jordan 1, 1990. Fermented milks for the South African market. *S.Afr. J. Dairy Sei.* 22, 47-49.
- König, H., Fröhlich, J. (2009).** *Biology of microorganisms on grapes, in must and in wine*. Ed Springer-Verlag., Berlin Heidelberg. 109p.
- Kotelnikova, E.A. Gelfand, M.S. (2002).** Bacteriocin Production by Gram positive bacteria and the mechanisms of transcriptional regulation. *Russian Journal of Genetics*. **38**(6): 628-641.
- Labioui, H., L.E., ELYachioui, M., Outshine, M. (2005).** Sélection des souches de bactéries lactiques antibactériennes. *bull. soc. Pharm. bordeaux*, 144, 237-250
- Laits fermentés sur la santé. *Vet. Res.*, 32 :101 -117.

Références bibliographiques

- Lamontagne, M. (2002).** Produits laitiers fermentés. In Science et technologie du lait: transformation du lait. Chapitre 8. Vignola C.I, Ed Presses internationales. Polytechnique, Pp93-139. 557
- Lansing, M., Prescott, John P., Harley, Donald. Et A. Klein, (2003).** Microbiologie De Boeck Supérieur, P 549
- Larpent, J.P. (1989).** Microbiologie alimentaire. Ed, techniques et documentation Lavoisier. Paris, 46, 1-117.
- Laurence, A.V. Cohen M.E. (2004).** Conserve traditionnelle et fermière Paris 2^e édition Tec et Doc. Lavoisier, p 633.
- Lenoir, J., Hermier, J., Weber, F. (1992).** Les groupes microbiens d'intérêt, Ed Cidil, pp30-50.
- Lompo, L., Niculescu, N., Broutain, C. (2006).** Démarche d'élaboration d'un guide de bonnes pratiques d'hygiène : Maîtrise de la qualité dans la transformation laitière. Ouagadougou: GRET 44p.- Comptes rendus Ateliers sous régional de restitution.
- Loones, A. (1994).** Lait fermentés par les bactéries lactiques : Aspects fondamentaux et technologiques. Vol 2. De Roissart, Het Luquet, F.M (Ed); Lorica, Uriage, 135-154.
- Lopez- Diaz, T.M., Alonso, C., Roman, C., Gracia-Lopez, M.L. Moreno, B. (2000).** Lactic acid bacteria isolated from a hand-made blue cheese. *Food microbiol.* **17**(1):23-32.
- Lucey, J.A. (2004).** Cultured dairy product: an overview of their gelation and texture properties. *Int. J. Dairy Technol* **57** :77-84.
- Luquet F.M. (1986).** Lait et produits laitiers (vache, brebis, chèvre, T3., qualité, énergie et tables de composition). Ed. Tec et Doc. Paris, p 343.
- Luquet, F.M. (1985).** Lait et produits laitiers. transformation et technologies. édition techniques et documentation, Lavoisier. 633.
- Luquet, F.M. Corrieu, G. (2005).** Bactéries lactiques et probiotiques. Edition: *Tec et Doc. Lavoisier*. Londres, Paris, New York. 304P.
- Mahaut, M., Jeantet, R., Brulé, G., Schuck, P. (2000).** Les produits industriels laitiers. Tech & Doc, Lavoisier, Paris. Pp178.
- Man J.C. et al. (1960), J. Appl. Bacteriol., 23: 130-135.**
- Marth, E.H. Steele, J.L. (2001).** Applied dairy microbiology. Marcel Dekker, Inc., New York.
- Mathara, J.M., Schillinger, U., Kutima, P.M., Mbugua, S.K. Holzapfel, W.H. (2004).** Isolation, identification and characterisation of the dominant microorganisms of kulenaoto:

- the Maasai traditional fermented milk in Kenya. *Journal of Applied Microbiology*. **94**(3):269-278.
- Mechai A. (2009)**. Isolement, caractérisation et purification de bactériocines produites par des Bactéries lactiques autochtones : études physiologiques et biochimiques, Thèse : Faculté des Sciences, Université Badji-Mokhtar-Annaba, Algérie, p 05, 12, 13, 92-95.
- Meyer, A.L., Elmadfa, I., Herbace, L. Micksche, M. (2007)**. Probiotic, as well as conventional yogurt, can enhance the stimulated production of proinflammatory cytokines. *Journal of Human Nutrition and Dietetics* 20, pp590-598.
- Mozzi, F., Raya, R. Vignilo, G.M. (2010)**. Biotechnology of Lactic Acid Bacteria Novel Applications, Wiley-Blackwell Publishing, USA, p 393.
- Narushima, S., Sakata, T., Hioki, K., Itoh, T., Nomura, T. Itoh, K. (2010)**. Inhibitory Effect of Yogurt on Aberrant Crypt Foci Formation in the Rat Colon and Colorectal Tumorigenesis in RasH2 Mice. *Experimental Animals* 59, pp487-494.
- Navarro, L., Zarazaga, M., Aenz, J.S., Ruiz-larrea, F. Torres, C. (2000)**. Bactériocin production by lactic acid bacteria isolated from Rioja red wines. *Journal of Applied Microbiology*. **88**(1):44-51.
- Pacikora, E. (2004)**. Interaction physico-chimiques et sensorielles dans le yaourt brassé aromatisé : quels impacts respectifs sur la perception de la texture et de la saveur. Thèse de doctorat. Sciences des aliments. Institut national agronomique PARIS GRIGRON. PP:206.
- Pala, V., Sieri, S., Berrino, F. (2011)**. Yogurt consumption and risk of colorectal cancer in the Italian European prospective investigation into cancer and nutrition cohort. *International Journal of Cancer* 129, pp2712-2719.
- Pelletier J.F., Michelfaurie, J., François, A., Teissier, P. (2007)**. Lait fermenté: la technologie au service du goût, *International Journal of Dairy Technology*, 42 pp 15-20
- Pernoud, S., Schneid, C., Breton, S. (2005)**. Application des bactéries lactiques dans les produits frais à effet probiotiques. In bactéries lactiques et probiotiques. Coord Luquet F.M., Corrieug., Ed Tec et Doc, pp : 235-260. 306p.
- Pissang, T.D (1992)** : "Contribution à l'étude de la qualité microbiologique des laits et produits laitiers commercialisés au Togo. Thèse: Med. Vet. :Dakar (EISMV);9 "
- Pringsulaka, O., Thongam, N., Suwannasai, N., Atthakor, W., Pothivejkul, K. Rangsiruji, A. (2011)**. Partial characterization of bacteriocins

Références bibliographiques

- Puvanenthiran, A., Williams, R.P.W., Augustin, M.A. (2002).** Structure and viscoelastic properties of set yogurt with altered casein to whey protein ratios. *International Dairy Journal*. 12:383–391.
- R: Jiang W.G et al,** Tissue invasion and metastasis: Molecular, biological and clinical perspectives. *Seminars in Cancer Biology*, (2015), 35:S244-S275
- Ricci I and al.** Milk protein peptides with angiotensin I-converting enzyme inhibitory (ACEI) activity. *Crit Rev Food Sci Nutr*: 2010; 50: 390-402.
- Riedel S., Morse S., Mietzner T., Miller S. (2019).** *Medical Microbiology*. McGraw-Hill, 28ème Ed, 827p.
- Rousseau, M. (2005).** La fabrication du yaourt, les connaissances. INRA. 9 pages.
- Salminen, S., Wright, A.V., Ouwehand, A. (2004).** Microbiological and functional aspects. Marcel Dekker, Inc., U.S.A. p 628.
- Salles, C., Briand, L., Brachais, L., Voilley, A. (2012).** Molécules aromatisants et sapides. In: texture et flaveur des aliments: vers une conception maîtrisée. (Ed.). Éducagri. France..
- Sandine, W.E., Radich, P.C., Auiker, P.R. (2000).** Ecology of the lactic streptococci. *J. Dairy Sci.* 35:176-184. 1972.
- Savado, A., Traore, A.S., (2011).** *Int. J. Biol. Chem. Sci.* 5(5):2057-2075.
- Schaafsma, G. (1996).** State of the art concerning probiotic strains in milk products. *Int. Dairy Fed. Nutr. News* 5 (1996) 23-24.
- Seignalet, J. (2004).** L'alimentation ou la troisième médecine. 5ème édition. Paris : Ecologie humaine; p. 23-114.
- Shah, N.P. (2000).** Probiotic Bacteria: Selective Enumeration and Survival in Dairy-Foods. *Journal of Dairy Science*. 83: 894-907.
- Shihata, A., Shah, N.P. (2000).** Proteolytic profiles of yogurt and probiotic bacteria. *J. Dairy Sci.* 10(5-6): 401-408
- Siuta, B.A., Bonczara, G., Wszoleka, M. (2002).** The effect of certain factors on the properties of yogurt made from ewe's milk. *Food Chemistry*. 79 : 85–91.
- Sodini, C., Béal, I. (2008).** Fabrication des yaourts et des laits fermentés.
- Sodini, I., Béal, C. (2012).** Fabrication des yaourts et laits fermentés. *Techniques de l'Ingénieur* (F6315). Paris- France : Pp16
- Soudaki, K., Attaf, Y. (2009).** «procédés de fabrication du yaourt alimentaire unité d'ARIB. Mémoire de fin d'étude. Université de Khemis Miliana».

- Syndifrais. (1997).** Yaourt, lait fermentés. Mission Scientifique de syndifrais. Les laits 77(3):321-358.
- Tailliez,P.(2001).** Mini-revue : Les bactéries lactiques, ces êtres vivants apparus il y a près de 3 milliards d'années. *Lait*. **81**(1-3): 1-11.
- Tamime, A. Y., Robinson, R. K. (2007).** Tamime and Robinson's Yoghurt. Science and technology. Third edition. Woodhead Publishing, CRC Press 791 pages.
- Tamine, A. Y. Deeth, H. C. (1980).** Yogurt: technology and biochemistry. Journal of Food Protection, 43, 12, 939-977.
- Tillisch, K., Labus, J., Kilpatrick, L., Jiang, Z., Stains, J., Ebrat, B. (2013).** Consumption of Fermented milk product with probiotic Modulates brain activity. *Gastroenterology*; 144(7):1394–401, 1401.e1–4.
- Tome,D.(2002).** Laits fermentés : des antiquités vertueuses aux nouvelles propriétés. Le Quotidien du médecin in : agronomie et nutrition. Institut national agronomique Paris-Grignon (INA P-G)
- Van de water, J., Keen, C. L. Gershwin, M. E. (1999).** The Influence of Chronic Yogurt Consumption on Immunity. *The Journal of Nutrition*, pp 129, 1492.
- Vierling,E.(2008).** Aliments et boissons filières et produits. Ed. Dion. 3ème. Edition. Aquitaine 'le corosa'. 277p.
- Yateem,A.,Balba,M.T.,Al-Surrayai,T.,Al-Mutairi,B.andAl-Daher,R.(2008).** Isolation of lactic acid bacteria with probiotic potential from camel milk. *Int. J. Dairy Sci.*, 3:194-199.
- Yateem,A.,Balba,M.T.,Al-Surrayai,T.,Al-Mutairi,B.andAl-Daher,R.(2008).** Isolation of lactic acid bacteria with probiotic potential from camel milk. *Int. J. Dairy Sci.*, 3 :194-199.
- Zergoug,A.(2017).** Effet des probiotiques et bactériocines vis-à-vis des pathogènes responsables des infections Abdelhamid Benbadis-Mostaganem. Doctorat:166.
- Zhang, M., Hang, X., Fan, D., Li, H. Yang, X. (2008).** Characterization and selection of *Lactobacillus* strains for their effect on bile tolerance, taurocholate deconjugation and cholesterol removal. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 24, pp7-14.

ANNEXES

Milieux pour l'isolement et

purification Milieu Man Rogosa et
Sharpe (MRSEastyBroth.

M17

Réactifs, et colorants :

Bleu de

méthylène Eau

distillée

stérile Eau oxygéné

e

Eau

physiologique Etha

nol 96° Fuchsien

Huile

d'immersion Lugol

NaOH

Réactifs de covacs

Réactifs nitrés NR1 et

NR2 Rouge de phénol

Violet de

Gentiane. **Appareill**

ages : Autoclave.

Agitateur

magnétique Agitateur

de tubes Bain Marie

Becbunsen. Balance

de précision Etuves

Jarre

d'anaérobiose Micro

scope

optique. Vortex

Verrerie et autres matériels

: Lames et lamelles

Références bibliographiques

Pipettes

graduées Pipettes

Pasteur

Références bibliographiques

Becher

Tubes à essai stérile..

Flacons de 250 ml, 500 ml et 1000

ml Boîtes de Petri en plastique

Papier

aluminium Spatul

es

Préparation des milieux de

culture Gélrose MRS

Peptone	10g
Extrait de viande	10g
Extrait de levure	5 g
Glucose	20g
Citrate d'ammonium	2 g
Acétate de sodium	5 g
Sulfate de magnésium	0,2g
Sulfate de manganèse	0,05g
Phosphate dipotassique	2 g
Agar	5 g
Tween	1ml
pH	6,2±0,2
Autoclavage	120°C/20min

Références bibliographiques

Tableau: lecture de galeries API10S

TESTS	ACTIVE INGREDIENTS	QTY (mg/ cupule)	REACTIONS/ ENZYMES	RESULTS	
				NEGATIVE	POSITIVE
ONPG	2-Nitrophenyl-βD-galactopyranoside	0.223	β-Galactosidase (ortho nitrophenyl-βD-galactopyranosidase)	Colorless	Yellow ¹⁾
GLU	D-Glucose	1.9	Fermentation - oxidation (glucose) ³⁾	Blue/Blue-green	Yellow/Greyish yellow
ARA	L-Arabinose	1.9	Fermentation - oxidation (arabinose) ³⁾	Blue/Blue-green	Yellow
LDC	L-Lysine	1.9	Lysine decarboxylase	Yellow	Red/Orange
ODC	L-Ornithine	1.9	Ornithine decarboxylase	Yellow	Red/Orange
[CIT]	Trisodium citrate	0.756	Citrate utilization	Pale green/Yellow	Blue-green/Blue ²⁾
H ₂ S	Sodium thiosulfate	0.075	H ₂ S production	Colorless/Greyish	Black deposit/Thin line
URE	Urea	0.76	Urease	Yellow	Red/Orange
TDA	L-Tryptophan	0.38	Tryptophan deaminase	<u>TDA/immediate</u>	
				Yellow	Reddish brown
IND	L-Tryptophan	0.19	Indole production	<u>JAMES/immediate</u>	
				Colorless/Pale green/Yellow	Pink
OX	(See the oxidase test package insert)	-	Cytochrome oxidase	(See the oxidase test package insert)	
NO ₂	(GLU tube)	-	NO ₂ production	<u>NIT 1 + NIT 2/2-5 min</u>	
				Yellow	Red

Remarque:

Mettre les 4 flacons dans un bain marie durant le temps nécessaire à sa dissolution complète. Stériliser à l'autoclave à 115 °C pendant 20 minutes.

Refroidir et maintenir le milieu à 44-47

°C. Préparation de la solution Tryptone water:

Dans un bêcher prépare 500 ml de l'eau distillé avec 7.5 de Tryptone water. Remplir les tubes (9ml dans chaque tube) à l'aide d'une burette.

Mettre les tubes dans autoclave à 115° C pendant 20 minutes. Laisser les refroidir.

Couler les milieux dans des boîtes pétries (176 boites) et laisser les solidifier.

Coloration de gram

Références bibliographiques

Principe : La coloration de Gram permet de différencier les bactéries Gram positif et Gram négatif, comme elle nous renseigne sur leurs morphologies (Riedel et al., 2019).

Technique : Elle s'effectue sur une lame dégraissée et séchée, on n'y dépose une goutte d'eau physiologique et à l'aide d'une anse stérile et dans des conditions d'asepsie on prépare un frottis à partir d'une culture sur gélose nutritive, on sèche ensuite au bec bunsen

On recouvre le frottis avec une quantité suffisante de solution de violet de gentiane jusqu'à recouvrir totalement la lame. On laisse au contact de l'air pendant une minute en inclinant la lame afin d'éviter un dépôt de colorant. On rejette le violet de gentiane et on lave à l'eau distillée. On recouvre une fois de plus la préparation avec la solution de lugol et on laisse agir pendant 30 secondes à une minute. On rejette le lugol et on lave à l'eau distillée puis à l'alcool éthylique à 95° avec délicatesse (en maintenant la lame en oblique et on verse l'alcool goutte à goutte jusqu'à ce qu'il devienne incolore). On passe ensuite la lame sous l'eau de robinet ensuite on recolore avec la fuschine quelques secondes à une minute puis on lave à l'eau. On sèche la lame entre deux papiers et on examine à l'aide d'un microscope optique sous un objectif à immersion (X 100). La lecture des résultats permet de distinguer:

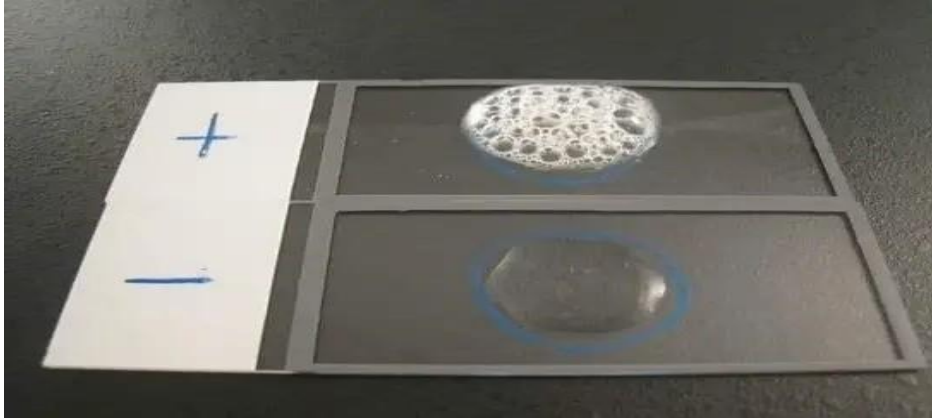
Gram (+) : les bactéries colorées en violet.
Gram (-) : les bactéries apparaissent en rose.
Test de catalase

A l'aide d'une pipette pasteur, une goutte d'eau oxygénée a été déposée sur une lame. Une colonie de germe a été prélevée à l'aide d'une anse de platine et a été immergée dans la goutte d'eau oxygénée.

La colonie a été bien dissociée dans la goutte.

Lecture

Apparition de bulles de gaz (O₂) signifie un résultat positif et l'absence de ces derniers indique un résultat négatif (absence de l'enzyme de catalase). (Djelouat, 1990).



ملخص

تلعب بكتيريا حمض اللاكتيك دوراً أساسياً في التخمر والحفاظ الحيوي على الطعام. بالإضافة إلى اهتمامهم التكنولوجي ، فقد أظهروا دائماً ما أثبتوا مفيدة على توازن النباتات المعوية وصحة الإنسان. هدفت هذه الدراسة إلى تقييم جدوى بكتيريا حمض اللاكتيك في اللبن الذي يحتوي على بكتيريا *Bifidobacterium*. لهذا الغرض تم تحليل 17 عينة من اللبن المسوق في مدينة عين تموشنت. تم البحث عن عزل بكتيريا حمض اللاكتيك على ثلاث وسائط M17 و MRS و Esty. أظهرت نتائج العزل وجود بكتيريا حمض اللاكتيك في جميع العينات التي تم تحليلها. تم الحصول على ما مجموعه 24 عزلة ومن ثم التعرف عليها عن طريق الاختبارات التقليدية مقابل 6 سكريات بالإضافة إلى الإندول والأيسكولين. أظهرت نتائج التحديد وجود 4 أجناس من بكتيريا حمض اللاكتيك: *Streptococcus sp.* (47.06%) لاكتوكوكوس سب. ، (41.18% من البكتيريا). *PI 50CHL1* أما بالنسبة لتحديد *Lactobacillus* (5.88%) و *Enterococcus sp* (17.65%) ، *Lactobacillus delbrukii sbsp delbrukii* ، فقد ثبت أن العزلات تنتمي إلى *Bifidobacterium* المعزولة تحت ظروف عزل. في النهاية *Streptococcus thermophilus* والثالث إلى *Lactococcus lactis* ، النوع الثاني من *delbrukii* أظهرت نتائج هذا البحث جدوى بكتيريا حمض اللاكتيك في الزبادي ولكنها لا تنفي وجود بكتيريا *Bifidobacterium*.
الكلمات المفتاحية: بكتيريا حمض اللاكتيك ، الزبادي ، البيفيدوبكتيريوم ، سلامة الغذاء

Résumé

Les bactéries lactiques jouent un rôle essentiel dans la fermentation et la bio conservation des aliments. En plus de leur intérêt technologique, elles ont, également, toujours montré des effets bénéfiques sur l'équilibre de la flore intestinale et la santé humaine. Cette étude visait à évaluer la viabilité des bactéries lactiques dans le yaourt contenus les *Bifidobacterium*. A cet effet, 17 échantillons de yaourt commercialisé dans la ville d'Ain Témouchent, ont été analysés. L'isolement des bactéries lactiques ont été recherché sur trois milieux M17, MRS et Esty. Les résultats de dénombrement ont montré la présence de bactéries lactiques dans l'ensemble des échantillons analysés. Au total 24 isolats ont été obtenus puis identifiés par les testes classiques vis-à-vis 6 sucres plus indole et esculine. Les résultats de l'identification ont montré 4 genres de bactéries lactiques : *Streptococcus sp.* (47,06%), *Lactococcus sp.* (41,18%), d'*Enterococcus sp* (17,65) et *Lactobacillus* (5,88%). Quant à l'identification 1PI 50CHL des bactéries isolées dans les conditions d'isolement *Bifidobacterium*, les isolats était avéré appartiennent aux *Lactobacillus delbrukii sbsp delbrukii*, une deuxième espèce au *Lactococcus lactis* et une troisième aux *Streptococcus thermophilus*. En fin, les résultats de cette recherche monte la viabilité de bactéries lactiques dans le yaourt mais ne ni pas la présence de *Bifidobacterium*.

Mots clés : Bactéries lactiques, Yaourt, *Bifidobacterium*, Sécurité des aliments

Abstract

Lactic acid bacteria play an essential role in the fermentation and bio-preservation of food. In addition to their technological interest, they have also always shown beneficial effects on the balance of the intestinal flora and human health. This study aimed to assess the viability of lactic acid bacteria in yogurt containing *Bifidobacterium*. For this purpose, 17 samples of yogurt marketed in the city of Ain Témouchent, were analyzed. The isolation of lactic acid bacteria was sought on three media M17, MRS and Esty. The count results showed the presence of lactic acid bacteria in all the samples analyzed. A total of 24 isolates were obtained and then identified by conventional tests against 6 sugars plus indole and esculin. The identification results showed 4 genera of lactic acid bacteria: *Streptococcus sp.* (47.06%), *Lactococcus sp.* (41.18%), *Enterococcus sp* (17.65) and *Lactobacillus* (5.88%). As for the identification 1PI 50CHL of bacteria isolated under *Bifidobacterium* isolation conditions, the isolates were proven to belong to *Lactobacillus delbrukii sbsp delbrukii*, a second species to *Lactococcus lactis* and a third to *Streptococcus thermophilus*. In the end, the results of this research show the viability of lactic acid bacteria in yogurt but do not negate the presence of *Bifidobacterium*.

Keywords: Lactic acid bacteria, Yoghurt, *Bifidobacterium*, Food safety