

تسبيحلا قبطار قميلا قيرنازلا قير ومجلا

République algérienne démocratique et populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique

جامعة عين تموشنت بلحاج بوشعيب

Université –Ain Temouchent- Belhadj Bouchaib

Faculté des Sciences et de Technologie

Département de Biologie



Projet de Fin d'Etudes

En vue de l'obtention du diplôme de Master en: Microbiologie

Domaine : Sciences de la nature et de la vie

Filière : Sciences biologiques

Spécialité : Microbiologie

Thème

**Evaluation des propriétés technologiques de souches de
lactobacillus pour starters laitiers**

Soutenu le : 28/06/2026

Présenté Par :

- 1) Melle. BENDAHDANE Fatima Zohra
- 2) Melle. BENEDDIF Fatima Zohra
- 3) Melle. DAHDANE Hana

Devant le jury composé de :

Pr. BENNABI Farid	Professeur	UAT.B. B (Ain T'émouchent)	Président
Dr. CHERIF Nadjib	M C A	UAT.B. B (Ain T'émouchent)	Examineur
Dr. DJOUAD Mokhtar Eddine	M A A	UAT.B. B (Ain T'émouchent)	Encadrant

Année Universitaire : 2025/2026

Remerciement

Avant tout, nous remercions Allah, le Tout-Puissant, de nous avoir accordé le courage, la force et la patience nécessaires pour mener à bien ce modeste travail. Nous Le remercions pour Sa guidance et Son éclairage tout au long de notre parcours.

Nous tenons à exprimer notre profonde reconnaissance, notre plus grand respect et notre sincère gratitude à notre encadrant, Monsieur DJOUAD Mokhtar Eddine, pour son accompagnement, ses conseils précieux, ses orientations pertinentes et le temps qu'il nous a consacré tout au long de ce travail.

Nos sincères remerciements s'adressent également aux membres du jury :

- Docteur Farid BENNABI, qui nous fait l'honneur de présider ce jury ;*
- Docteur Nadjib CHERIF, qui a accepté d'examiner ce travail et de participer à son évaluation.*

Nous adressons également nos vifs remerciements à l'ensemble de nos enseignants, qui ont contribué à notre formation académique et scientifique tout au long de notre parcours universitaire.

Nous remercions enfin toutes les personnes qui ont contribué, de près ou de loin, à la réalisation de ce travail et qui ont participé à son aboutissement.

Nous exprimons également notre profonde gratitude à nos familles pour leur soutien moral, leur patience et leurs encouragements constants.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail,

À mes très chers parents, mon père et ma mère, qui ont toujours été ma source de force, de confiance et d'inspiration. Merci pour votre amour infini, vos sacrifices, votre patience et votre soutien inconditionnel tout au long de mon parcours. Que ce travail soit le témoignage de ma profonde gratitude et de mon immense respect envers vous.

À mes chères sœurs, Farida et Ismahane, pour leur affection, leurs encouragements et leur présence constante à mes côtés dans les moments les plus importants de ma vie.

À mon cher frère, Amine, pour son soutien, sa confiance et sa bienveillance.

À mes chers neveux et nièces, Nesrine, Mohamed et Meriem, dont l'affection sincère, les sourires et la joie de vivre illuminent mon quotidien. Je leur souhaite un avenir rempli de réussite, de bonheur et d'épanouissement.

À mes adorables neveux, les jumeaux Chahine et Rassim, dont les sourires innocents et la tendresse illuminent notre famille et remplissent nos vies de bonheur.

À mes très chères amies, Fatima et Hana, en souvenir des beaux moments partagés, de leur amitié sincère, de leur soutien et de leurs encouragements tout au long de cette aventure.

À toute ma famille et à toutes les personnes qui m'ont soutenue, encouragée et accompagnée de près ou de loin dans la réalisation de ce mémoire.

Je dédie ce travail avec tout mon amour, ma reconnaissance et mon respect.

BENDAHMANE

Fatima Zohra

Dédicace

*Je dédie ce travail aux personnes les plus proches de mon cœur.
Ma famille, les "Beneddif", "Hadj Mohamed" et "Hadjri", mes chers
parents,
à qui je dois cette fierté et qui m'ont beaucoup soutenu et aidé.
Mon père, qui a toujours été et restera un exemple pour moi, et à celle qui
m'a
donné la vie, le symbole de la tendresse, ma douce et aimante mère.
Peu importe ce que je fais, je ne pourrais jamais vous rendre ce que vous
avez
fait pour moi.
Merci pour votre soutien, en particulier dans les moments difficiles, que
Dieu
vous protège et vous donne une longue vie.
À mes frères "Amine", "Yaçine", "Mohamed", mon neveu "Anis", et mon
mari "ilyes".
Avec eux, je partage ma vie, j'ai passé des moments agréables avec eux, ils
m'ont encouragé à réaliser mon rêve. Je leur souhaite succès et bonheur
dans
leur vie.
À tous mes chers amis : "Ferial", "Wissam", "Widad", "Fatima", "Hana" et
enfin à tous ceux qui m'ont aidé à réaliser ce travail.*

BENEDDIF

Fatima Zohra

Dédicace

J'ai achevé ce travail grâce à l'aide d'Allah, le Tout-Puissant, à qui reviennent toute louange, toute gratitude et toute reconnaissance.

Je dédie ce modeste travail à toutes les personnes qui ont contribué, de près ou de loin, à ma réussite.

*À mon père, ****Kada****, modèle de courage et de persévérance, dont les sacrifices et les efforts constants ont été une source inestimable de motivation.*

*À ma mère, ****Souad****, pour son amour inconditionnel, sa bienveillance et ses précieuses prières qui m'ont accompagnée tout au long de mes études.*

*À mes chers frères, ****Abd Elmoumen, Mohammed, Islam et Abd Elilah****, ainsi qu'à ma chère sœur ****Wafa****, pour leur affection, leur présence et leur confiance.*

À ma chère grand-mère, avec toute mon affection et mes vœux de santé, de bonheur et de longue vie.

*À mes chères amies et binômes, ****Fatima et Zahra****, avec qui j'ai partagé les efforts et les défis liés à la réalisation de ce mémoire. Je leur exprime ma sincère reconnaissance pour leur collaboration et leur esprit d'équipe.*

À mes amis(es), pour les agréables moments partagés et l'ambiance de convivialité qui a marqué ces années d'études.

À toute ma famille, pour sa confiance, ses conseils et son accompagnement.

*À toutes les personnes qui m'ont accordé leur estime et leur encouragement
tout au long de cette expérience.*

*Je dédie humblement ce travail, fruit de ma détermination, de ma
persévérance et de mon engagement.*

*Louange à Allah pour Ses innombrables bienfaits, pour m'avoir accordé la
force d'entreprendre ce travail et la grâce de l'achever.*

DAHMANE

Hana

Résumé

Au total, 46 souches apparenté au genre *Lactobacillus* sensu lato ont été obtenues et caractérisées sur le plan morphologiques, physiologiques et biochimiques.

Les souches S3, S13, S17, S27 ont été identifiées par galerie API 50 CHL comme *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus curvatus*, *Lactobacillus plantarum* et *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei*, respectivement, révélant une diversité microbiologique intéressante au sein des échantillons étudiés.

L'évaluation des propriétés technologiques a montré une bonne tolérance des souches aux concentrations de NaCl de 2 % et 4 %, ainsi qu'une production majoritaire de β -galactosidase. Les souches S23, S2, S3, S4, ont présenté une activité protéolytique importante, tandis qu'une activité lipolytique positive a été observée chez environ 55 % des souches testées. En revanche, aucune production d'exopolysaccharides n'a été mise en évidence.

L'étude des propriétés fonctionnelles a révélé une résistance variable aux conditions acides (pH 2 et pH 3) et aux sels biliaires où les souches S31, S34 se sont distinguées. Par ailleurs, les souches ont manifesté une activité antimicrobienne plus importante contre *Staphylococcus aureus* que contre *Escherichia coli*, traduisant leur capacité à inhiber certains microorganismes indésirables.

Ces résultats soulignent la richesse microbiologique du lait cru local et mettent en évidence l'intérêt de certaines souches pour des applications potentielles dans l'industrie laitière. Des études complémentaires demeurent toutefois nécessaires afin d'approfondir la caractérisation de ces isolats et de confirmer leurs potentialités d'utilisation.

Mots-clés : *Lactobacillus* , propriétés technologiques, propriétés fonctionnelles, activité antimicrobienne.

Abstract

A total of 46 strains related to the genus *Lactobacillus sensu lato* were isolated and characterized based on their morphological, physiological, and biochemical properties.

The strains S3, S13, S17, and S27 were identified using the API 50 CHL system as *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus curvatus*, *Lactobacillus plantarum*, and *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei*, respectively, revealing an interesting microbiological diversity within the studied samples.

The evaluation of technological properties showed that the strains exhibited good tolerance to NaCl concentrations of 2% and 4%, as well as a predominant production of β -galactosidase. Strains S23, S2, S3, and S4 demonstrated significant proteolytic activity, while positive lipolytic activity was observed in approximately 55% of the tested strains. In contrast, no exopolysaccharide production was detected.

The assessment of functional properties revealed variable resistance to acidic conditions (pH 2 and pH 3) and bile salts, with strains S31 and S34 showing the highest tolerance. Furthermore, the strains exhibited stronger antimicrobial activity against *Staphylococcus aureus* than against *Escherichia coli*, indicating their ability to inhibit certain undesirable microorganisms.

These results highlight the microbiological richness of local raw milk and emphasize the potential interest of certain strains for applications in the dairy industry. However, further studies are needed to deepen the characterization of these isolates and confirm their potential for practical use.

Keywords: *Lactobacillus*, technological properties, functional properties, antimicrobial activity.

ملخص

تم عزل ما مجموعه 46 سلالة تنتمي إلى مجموعة *Lactobacillus sensu lato* وتم توصيفها اعتمادًا على خصائصها المورفولوجية والفسيولوجية والكيميائية الحيوية.

تم التعرف على السلالات S3 و S13 و S17 و S27 باستعمال نظام API 50 CHL على أنها *Lactobacillus brevis* و *Lactobacillus curvatus* و *Lactobacillus plantarum* و *Lactobacillus paracasei subsp. paracasei* على التوالي، مما كشف عن تنوع ميكروبيولوجي مهم داخل العينات المدروسة.

أظهر تقييم الخصائص التكنولوجية قدرة جيدة للسلالات على تحمل تراكيز كلوريد الصوديوم (NaCl) بنسبة 2% و 4%، بالإضافة إلى إنتاج غالبية السلالات لإنزيم- β غالاكتوزيداز. كما أبدت السلالات S2 و S3 و S4 نشاطاً بروتوليتيكيًا (محللاً للبروتينات) هامًا، في حين لوحظ نشاط ليبوليتيكي إيجابي لدى حوالي 55% من السلالات المختبرة. بالمقابل، لم يتم تسجيل أي إنتاج للسكريات خارج الخلية (Exopolysaccharides).

وأظهرت دراسة الخصائص الوظيفية تفاوتًا في مقاومة الظروف الحمضية (pH 2) و (pH 3) وأملاح الصفراء، حيث تميزت السلالتان S31 و S34 بأفضل قدرة على التحمل. كما أظهرت السلالات نشاطًا مضادًا للميكروبات كان أكثر فعالية ضد المكورات العنقودية الذهبية (*Staphylococcus aureus*) مقارنة بـ *الإشريكية القولونية* (*Escherichia coli*)، مما يعكس قدرتها على تثبيط بعض الكائنات الحية الدقيقة غير المرغوب فيها.

تؤكد هذه النتائج الثراء الميكروبيولوجي للحليب الخام المحلي وتبرز أهمية بعض السلالات وإمكاناتها الواعدة في تطبيقات الصناعة اللبنية. ومع ذلك، تبقى هناك حاجة إلى دراسات إضافية لتعميق توصيف هذه العزلات والتأكد من إمكانات استخدامها التطبيقية.

الكلمات المفتاحية: اللاكتوباسيلوس (*Lactobacillus*) ، الخصائص التكنولوجية، الخصائص الوظيفية، النشاط المضاد للميكروبات.

Table des matières

Introduction	1
REVUE BIBLIOGRAPHIQUE	3
CHAPITRE I : LE LAIT ET LES PRODUITS LAITIERS FERMENTÉS	4
1. Le lait et les produits laitiers	3
1.1. Composition physico-chimique du lait.....	3
1.2. Microflore naturelle et propriétés microbiologiques du lait	5
1.3. Altérations et contaminations microbiennes.....	6
2. Produits laitiers fermentés.....	8
2.1. Définition.....	8
2.2. Classification.....	8
2.3. Importance économique.....	9
2.4. Rôle des BL dans les produits laitiers fermentés.....	10
CHAPITRE II : LES BACTÉRIES LACTIQUES.....	11
1. Définition et historique.....	11
2. Classification générale des bactéries lactiques	12
2.1. Classification taxonomique actuelle des BL	13
3. Métabolisme fermentaire	14
3.1. Voie homofermentaire (EMP)	14
3.2. Voie hétérofermentaire (PK)	15
4. Rôles des bactéries lactiques	16
4.1. Rôle technologique	16

4.2. Rôle nutritionnel.....	16
4.3. Rôle probiotique	17
5. Statut de sécurité (GRAS, QPS) et réglementation.....	17
5.1. Critères GRAS (FDA) et QPS (EFSA)	18
5.2. Maintien du statut post-reclassification	19
5.3. Réglementations UE pour les starters	19
5.4. Réglementations en Algérie	19

CHAPITRE III : LE GROUPE LACTOBACILLUS SENSU LATO ET LES CULTURES STARTERS

.....	21
1. Évolution taxonomique.....	21
1.2. Caractéristiques générales	23
1.3. Espèces majeures d'intérêt laitier	24
1.4. Propriétés technologiques et métaboliques par groupe taxonomique	26
2. Les cultures starters en industrie laitière	27
2.1. Définition des cultures starters	28
2.2. Fonctions des cultures starters	29
2.3. Types de starters	30
2.4. Critères de sélection des souches : acidification, résistance, enzymatique	31
3. Propriétés technologiques des souches issues du groupe <i>Lactobacillus</i> sensu lato.....	32
3.1. Pouvoir acidifiant et cinétique d'acidification	33
3.2. Activité protéolytique et lipolytique.....	33
3.3. Production d'exopolysaccharides (EPS)	34

3.4. Production de composés aromatiques et texturants	34
3.5. Tolérance aux contraintes technologiques (pH, NaCl, température).....	34
3.6. Stabilité génétique et aptitude à la fermentation du lait	35
MATERIELS ET METHODES	36
1. Echantillonnage et prélèvements.....	36
2. Isolement des bactéries lactiques	36
3. Purification des souches	36
4. Conservation des souches purifiées	37
4.1. Conservation à court terme	37
4.2. Conservation à long terme.....	37
5. Pré-identification des isolats.....	38
5.1. Critères morphologiques.....	39
5.2. Critères physiologiques et biochimique.....	40
6. Etude des aptitudes biotechnologiques	43
6.1. Test de production d'exopolysaccharides (EPS).....	43
6.2. Test de l'activité protéolytique et acidifiante	44
6.3. Test activité antimicrobienne.....	44
6.4. Test de tolérance à la bile	45
6.5. Teste lipolytique.....	45
RESULTAT ET DISCUSSION.....	47
1. Isolement des bactéries lactiques	47
2. Identification des isolats	47

2.1. Critères morphologiques.....	47
2.1.1. L'aspect macroscopique	47
2.1.2 .L'aspect microscopique	48
2.2. Critères physiologique et biochimique	49
2.2.1. Test catalase et oxydase	49
2.2.2. Type fermentaire	50
2.2.3. Test de tolérance au NaCl(2%,4%,6%)	51
2.2.4. Test thermorésistance.....	52
2.2.5. Recherche de la β -galactosidase.....	52
2.2.6 Test de tolérance de pH	55
2.2.7. Identification par galerie API 50 CHL.....	56
2.3. Etude des aptitudes biotechnologiques	58
2.3.1 Test de production d'exopolysaccharides (EPS).....	59
2.3.2. Test l'activité protéolytique et acidifiante	61
2.3.3. Test d'activité lipolytique	62
2.3.4. Test de l'activité antimicrobienne	62
2.3.5. Test de tolérance a la bile	64
CONCLUSION	67
REFERENCE BIBLIOGRAPHIE.....	69
ANNEXES	77

Liste des figures

FIGURES	PAGE
Figure 01 : Composition physico-chimique du lait de vache.	4
Figure 02 : Fermentation lactique du lait en yaourt.	8
Figure 03 : Morphologie et principaux genres des bactéries lactiques.	12
Figure 04 : Voies métaboliques homofermentaire et hétérofermentaire.	15
Figure 05 : Reclassification du genre Lactobacillus (2020).	22
Figure 06 : Fermentation du lait par les cultures starters.	28
Figure 07 : Protocole d'isolement des souches lactiques.	38
Figure 08 : inoculation de la galerie Api 50CH avec la suspension bactérienne de la souche.	43
Figure 09 : Etapes de réalisation du test des puits. (Modifié la figure) ensemencement par patch.	45
Figures 10 : observation macroscopique des souches.	47
Figures 11 : observation microscopique des souches des bactéries lactique après coloration simple (X100).	48
Figures 12 : teste oxydase et catalase.	49
Figures 13 : résultats de test fermentaire.	50
Figures 14 : résultats de test de tolérance NaCl.	51
Figures 15 : Résultat de teste β-galactosidase (disque ONPG).	53
Figures 16 : croissance des bactéries lactique a concentration pH 2.	55
Figures 17 : croissance des bactéries lactique a concentration pH 3.	56
Figure 18 : Résultats du Profil Fermentaire de la souche S27 (Lactobacillus plantarum) sur la galerie API50 CHL après 48h d'incubation.	57
Figures 19 : résultat de test de production d'expolysaccharides (EPS).	58

Figures 20 : résultats de test de l'activité protéolytique et acidifiante	59
Figures 21 : résultat de teste d'activité lipolutique.	61
Figures 22 : résultats du test de l'activité antimicrobienne.	62
Figures 23 : croissance des bactéries en presence de (0.1%) de sels biliaries.	65
Figures 24 : croissance des bactéries en presence de (0.3%) de sels biliaries.	65
Figures 25 : croissance des bactéries en presence de (0.5%) de sels biliaries.	66

Liste des tableaux

TABLEAUX	PAGE
Tableau 01 : Tableau de composition moyenne du lait de vache.	5
Tableau 02 : les principaux genres reclassés.	14
Tableau 03 : Tableau comparatif entre Homofermentaire (EMP) et Hétérofermentaire(PK).	16
Tableau 04 : Statut réglementaire et qualification de sécurité des bactéries lactiques selon la FDA (GRAS) et l'EFSA (QPS).	18
Tableau 05 : Genres principaux issus des anciens Lactobacillus.	22
Tableau 06 : Espèces majeures d'intérêt laitier issues des anciens lactobacillus.	24
Tableau 07 : Types de starters : purs, mixtes, commerciaux, naturels.	31
Tableau 8 : Les résultats de l'identification physiologique et biochimique des souches isolées.	54
Tableau 9 : Résultat de l'identification par galerie API CHL 50.	57
Tableau 10 : les résultats des tests biotechnologiques majeurs.	60
Tableau 11 : les résultats du test d'activité lipolytique.	62
Tableau 12 : les résultats de l'activité antimicrobienne.	64

Liste des abréviations

AAI : Average Amino Acid Identity

ANI : Average Nucleotide Identity

API : Analytical Profile Index

ATP : Adénosine Triphosphate

BL : Bactéries Lactiques

DDM : Date de Durabilité Minimale

DLUO : Date Limite d'Utilisation Optimale

DQRS : Direction de la Qualité et de la Répression des Fraudes

DVS : Direct Vat Set

EFSA : European Food Safety Authority

EMP : Voie d'Embden-Meyerhof-Parnas

EPS : Exopolysaccharides

FAO : Food and Agriculture Organization

FDA : Food and Drug Administration

FXR : Farnesoid X Receptor

G+C : Guanine + Cytosine

GRAS : Generally Recognized As Safe

IFN- γ : Interféron Gamma

IL-10 : Interleukine 10

INSP : Institut National de Santé Publique

LGG : Lactobacillus rhamnosus GG

Mb : Mégabase

MENA : Middle East and North Africa

MLST : Multi Locus Sequence Typing

MRS : de Man, Rogosa and Sharpe

NF- κ B : Nuclear Factor Kappa B

ONML : Office National de Métrologie Légale

PCR : Polymerase Chain Reaction

PH : Potentiel Hydrogène

PK : Voie Phosphokétolase

PTS : Phosphotransferase System

QPS : Qualified Presumption of Safety

RAM : Résistance aux Antimicrobiens

SII : Syndrome de l'Intestin Irritable

UFC : Unité Formant Colonie

UPGMA : Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean

USD : United States Dollar

WGS : Whole Genome Sequencing

WHO : World Health Organization

INTRODUCTION

Introduction

Les produits laitiers fermentés occupent une place centrale dans l'alimentation humaine en raison de leur saveur caractéristique, de leur texture agréable et de leurs effets bénéfiques potentiels sur la santé digestive et immunitaire. Ces propriétés sont principalement attribuées à l'activité des bactéries lactiques, notamment les souches du genre *Lactobacillus*, qui se développent dans le lait, fermentent le lactose et produisent de l'acide lactique, ce qui entraîne l'acidification, la coagulation et la conservation du lait (Tamime, 2006 ; Walstra *et al.*, 2006 ; FAO & WHO, 2001).

Dès lors, l'utilisation de cultures starters bien sélectionnées conditionne directement la qualité sensorielle, la sécurité microbiologique et la durée de conservation des yaourts, fromages et autres laits fermentés (Leroy & De Vuyst, 2004).

Dans ce contexte, la recherche de souches de *Lactobacillus* possédant des propriétés technologiques optimisées constitue un axe majeur de l'innovation laitière. Les aptitudes recherchées incluent notamment une forte capacité acidifiante rapide, une bonne gélification, une production de composés aromatiques (acétoïne, diacétyl, esters), une activité protéolytique et/ou lipolytique modérée, la capacité de produire des exopolysaccharides (EPS) favorisant la viscosité et la texture, ainsi qu'une résistance aux stress industriels (température, pH, sels, bactériophages) (Chandan & Kilara, 2013 ; Lucey, 2004 ; Welman & Maddox, 2003).

Des études récentes ont montré que certaines souches autochtones de *Lactobacillus* isolées de produits laitiers naturels ou traditionnels présentent des profils technologiques prometteurs, les rendant candidates comme composants de cultures starters spécifiques ou complémentaires (Settanni & Moschetti, 2010 ; Gobbetti *et al.*, 2018).

Cependant, l'adoption industrielle de ces souches nécessite une évaluation rigoureuse et systématique de leurs propriétés technologiques en conditions proches de celles de la production laitière réelle. Les travaux actuels mettent en avant l'intérêt de caractériser non seulement le pouvoir acidifiant et texturant, mais aussi la capacité de production d'arômes, de composés antimicrobiens (bactériocines) et d'EPS, ainsi que la tolérance aux antibiotiques et aux conditions de fermentation en culture pure ou mixte (Savijoki *et al.*, 2006 ; Cotter *et al.*, 2005 ; Papadimitriou *et al.*, 2016).

Ces caractéristiques conditionnent à la fois la qualité sensorielle des produits (goût, texture, arôme) et leur sécurité sanitaire, tout en ouvrant des perspectives pour le développement de starters fonctionnels ou probiotiques (Caplice & Fitzgerald, 1999).

Dans cette perspective, le présent mémoire de fin d'études s'inscrit dans le cadre de l'évaluation des propriétés technologiques de souches de *Lactobacillus* destinées à être utilisées comme starters laitiers. L'objectif principal est de caractériser, de manière expérimentale, les aptitudes

INTRODUCTION

technologiques de ces souches (acidification, gélification, production d'arômes, activités protéolytiques et/ou lipolytiques, production d'EPS, résistance aux stress) afin d'identifier les meilleurs candidats pour des applications industrielles dans la fabrication de yaourts, fromages ou autres laits fermentés.

Dans le contexte de notre travail, l'objectif principal est d'évaluer les propriétés technologiques des souches de *Lactobacillus* isolées à partir de lait cru afin de sélectionner celles présentant le meilleur potentiel pour une utilisation comme starters laitiers. Plus spécifiquement, cette étude vise à caractériser les souches à l'aide de tests microbiologiques et biochimiques, à évaluer leur résistance à différentes conditions (pH, NaCl et température), à étudier leurs activités technologiques, notamment les activités protéolytique, lipolytique et β -galactosidase, et enfin à sélectionner les souches les plus prometteuses pour leur application dans la fabrication des produits laitiers fermentés .

REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I : LE LAIT ET LES PRODUITS LAITIERS FERMENTÉS

1. Le lait et les produits laitiers

Le lait et les produits laitiers constituent un substrat idéal pour les bactéries lactiques (BL) grâce à leur richesse en lactose, protéines, lipides et minéraux (**Tamime & Robinson, 2007 ; Walstra et al., 2006**). Sur le plan scientifique, le lait de vache offre un milieu nutritif favorable, où les bactéries (*ex. Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*) transforment le lactose en acide lactique, provoquant une baisse du pH et la coagulation des caséines, essentielle à la texture des produits fermentés (**FAO, 2013 ; Fox et al., 2015 ; Tamime, 2006 ; De Vuyst & Leroy, 2007**).

Sur le plan économique mondial, les produits laitiers fermentés représentaient un marché de plus de 300 milliards USD en 2025, avec une croissance annuelle de 5-7 % portée par la demande en probiotiques. Ils constituent 20-30 % de la production laitière globale, l'Europe et l'Asie dominant les exportations (**Databridge Market Research, 2024 ; Li et al., 2023 ; Research Reports World, 2025**). En Algérie, l'industrie transforme environ 3,4 milliards de litres de lait par an, dont près de 0,8 milliard destiné aux yaourts et fermentés ; le marché des laits caillés atteint 300 000 tonnes/an. Malgré une dépendance aux importations de poudre de lait (260 000–300 000 t/an, 800–900 millions €), des initiatives comme le projet Baladna visent à renforcer l'autosuffisance. Les produits traditionnels (L'ben, Raïb) soutiennent l'emploi et les filières locales (**Ginidex, 2021 ; Algérie360, 2024 ; GEA, 2025**).

1.1. Composition physico-chimique du lait

Le lait est une émulsion complexe composée d'environ 87 % d'eau et de matière sèche (glucides, lipides, protéines, minéraux, vitamines), offrant un environnement favorable aux BL (**Walstra et al., 2006 ; Pougeon et al., 2001**).

- **Protéines (32–35 g/L)**

80 % de caséines (α_1 , α_2 , β , κ) organisées en micelles, et 20 % de protéines sériques (β -lactoglobuline, α -lactalbumine...). Les BL hydrolysent les caséines via leurs systèmes protéolytiques, obtenant peptides et acides aminés nécessaires à leur croissance et à la production d'arômes (**Savijoki et al., 2006 ; Walstra et al., 2006**).

- **Lipides (35–40 g/L)**

>95 % de triglycérides en globules gras. Non substrat principal des BL, leur hydrolyse libère des acides gras participant aux arômes (notes butyriques, caproïques) (**Jensen, 2002 ; Walstra et al., 2006**).

- **Lactose (45–50 g/L)**

Principal substrat fermentescible pour les BL (Walstra *et al.*, 2006).

- **Minéraux (7–9 g/L)**

Ca, P, K, Na, Mg. Les cations (Ca^{2+} , Mg^{2+} , K^{+}) sont cofacteurs d'enzymes du métabolisme glucidique et protéique ; l'ionocité influence viabilité et tolérance à l'acidité (Gaucheron, 2005).

- **Vitamines**

Hydrosolubles (groupe B, C) et liposolubles (A, D, E, K). Certaines BL (*ex. Lactobacillus, Bifidobacterium*) synthétisent des vitamines du groupe B, enrichissant les laits fermentés (Saubade *et al.*, 2017 ; FIDOLait, 2005).

- **Lien avec la croissance des BL**

Le lactose fournit le substrat fermentescible ; les caséines et minéraux apportent azote et cofacteurs. L'acidification modifie la solubilité du calcium et la structure des micelles, inhibant les flores d'altération et permettant la coagulation (Leroy & De Vuyst, 2004 ; Tamime & Robinson, 2007).



Figure 01 : Composition physico-chimique du lait de vache.

Tableau 01 : Tableau de composition moyenne du lait de vache.

Constituants	Teneur moyenne (g/L)
Eau	≈ 870
Matière sèche totale	≈ 130
Lactose	45–50
Matière grasse (lipides totaux)	35–40
Protéines totales	32–35
Caséines	≈ 28
Protéines sériques	≈ 4,5–5
Matières minérales (cendres)	7–9

1.2. Microflore naturelle et propriétés microbiologiques du lait

- **Microorganismes endogènes**

La microflore naturelle du lait cru (10³ à 10⁶ UFC/mL) comprend des bactéries lactiques (BL: *Lactococcus lactis*, *Lactobacillus plantarum*, *Streptococcus thermophilus*, *Leuconostoc mesenteroides*), des levures (*Kluyveromyces marxianus*, *Candida spp.*) et des moisissures.

Ces populations proviennent de la mamelle, de la peau des trayons, de l'environnement de traite et de l'ensilage (Saidi, 2020 ; Laithier *et al.*, 2023).

Les bactéries endogènes dominantes sont des Gram-positives psychrotrophes ou mésophiles (coques et bacilles) ; des levures anaérobies transforment le lactose en composés aromatiques.

Dans les laits crus algériens, des isolats comme *Enterococcus hirae* et *Leuconostoc mesenteroides* ont été identifiés par séquençage 16S rRNA (Saidi, 2020 ; Kanouni, 2020).

- **Rôle des BL naturelles**

Les BL acidifient le lait par fermentation du lactose en acide lactique (pH final ~4,0), produisent des bactériocines inhibitrices (contre *Clostridium* ou *Listeria*), et génèrent des exopolysaccharides améliorant la texture fromagère. Elles favorisent la protéolyse/lipolyse pour les arômes typiques, avec un potentiel starter prouvé chez des souches autochtones produisant acétoïne et dextrane (Saidi, 2020).

- **Facteurs influençant la microflore**

L'hygiène de traite (nettoyage des trayons, rinçage) réduit les coliformes et *Clostridium butyricum* ; un stockage à <4°C limite les psychrotrophes comme *Pseudomonas* (**Web-Agri, 2022**). La santé du pis, l'eau de rinçage et l'ensilage contaminé modulent la flore utile. Des pratiques alpines préservent les BL via un usage raisonné du prétrempage (**Neolait, 2023**).

- **Exemples d'isolements autochtones**

Des souches de *Lactococcus lactis* (6 isolats, ΔpH=2,6) et *Lactobacillus rhamnosus* (7 isolats) ont été isolées de lait de dromadaire algérien, avec activité antimicrobienne mais production d'amines biogènes (tyramine/putrescine) à surveiller. En montagne algérienne, *L. plantarum* et *Leuconostoc* spp. De lait cru de vache montrent un fort potentiel technologique (PCR, UPGMA) (**Saidi, 2020 ; Kanouni, 2020**).

1.3. Altérations et contaminations microbiennes

1.3.1. Pathogènes alimentaires

- ***Listeria* et *Salmonella* :**

Listeria monocytogenes (bacille Gram positif) est ubiquitaire (sol, eau, végétaux, matières fécales). Elle se multiplie à basse température (0–4°C) et à des concentrations salines élevées, provoquant listériose (septicémies, méningo-encéphalites, formes graves chez femmes enceintes, nouveau-nés, immunodéprimés) (**Dabboussi et al., 2013 ; EFSA Panel on Biological Hazards, 2020 ; Institut Pasteur, 2015 ; Nakashima et al., 2021**).

- ***Salmonella* spp. :**

Salmonella spp. (Bacilles Gram négatif entériques) est responsable de salmonelloses (gastro-entérite aiguë) après 1–3 jours d'incubation, liée au lait cru, viandes, œufs, ovoproduits (**Dabboussi et al., 2013 ; Institut Pasteur, 2015 ; Public Health Agency of Canada, 2022**).

Ces pathogènes peuvent persister plusieurs semaines sur surfaces de contact alimentaire (biofilms), nécessitant des procédures strictes de nettoyage-désinfection (**Dabboussi et al., 2013 ; EFSA Panel on Biological Hazards, 2020**).

1.3.2. Altérations par bactéries lactiques (BL) indésirables

Certaines BL (fermentation hétérofermentaire : *Lactobacillus*, *Carnobacterium*, *Pediococcus*, *Leuconostoc*, *Lactococcus*) produisent du CO₂, aldéhydes et cétones, entraînant gonflement, trous, odeurs anormales (rances/piquantes), acidification excessive, ramollissement de texture ou décollements de croûte (**Todorov et al., 2010 ; Leroy & De Vuyst, 2004**). Des *lactobacilles* résistants à pH 3,5–3,8 peuvent poursuivre la fermentation résiduelle des sucres. Des BL psychrotrophes dans les produits réfrigérés à longue durée de vie provoquent acidité excessive, effervescence ou trouble avant la DDM (**Fister et al., 2012 ; Loacroix et al., 2000**).

Les pathogènes (*Salmonella*, *L. monocytogenes*) provoquent une maladie même à faible dose, soumis à des critères stricts (absence dans 25 g) (Règlement (CE) n° 2073/2005 de la Commission européenne, 2005). Les BL d'altération sont généralement non pathogènes, mais causent des pertes économiques (déclassement, image de marque) (**Université USTO, 2020**).

Écologiquement, *Listeria* et *Salmonella* persistent dans les usines (biofilms), tandis que les BL sont plus spécifiques de substrats acides riches en glucides. Une même BL peut être à la fois starter souhaité et flore d'altération, d'où l'importance du choix de souches et de la maîtrise du procédé (**Règlement (CE) n° 2073/2005 de la Commission européenne, 2005**).

1.3.3. Méthodes de contrôle

La pasteurisation (72°C, 15 s) élimine la majorité des bactéries végétatives (dont *Salmonella* et une grande partie des *Listeria*) tout en préservant les qualités sensorielles (**Université USTO, 2020**). Cependant, elle n'élimine pas toujours totalement *L. monocytogenes* si mal maîtrisée ; une recontamination post-thermique est fréquente (**Institut Pasteur, 2015 ; ELSAN, 2024 ; Commission européenne, 2020**). Le contrôle repose sur des barrières multiples : bonnes pratiques d'hygiène (nettoyage-désinfection, gestion des eaux/drains, flux de personnel), chaîne du froid, formulation (pH, eau, sel, additifs), conditionnement. Des études montrent une persistance de *Salmonella* et *L. monocytogenes* ≥90 jours sur surfaces, soulignant l'importance de la lutte contre les biofilms (**Actalia, 2025 ; Commission européenne, 2020**).

1.3.4. Lien avec la sécurité des cultures starters

Les starters (souches BL sélectionnées) assurent acidification rapide, production contrôlée d'arômes et action antimicrobienne. Le choix de souches GRAS/QPS, l'absence de gènes de virulence, de toxines ou de biogènes à niveaux significatifs, et un profil de résistance aux

antibiotiques acceptables sont essentiels (**Université USTO, 2020**). Les starters robustes limitent les flores opportunistes (BL d'altération) par compétition, abaissement rapide du pH, et parfois production de bactériocines anti-*Listeria*. La sécurité implique aussi la maîtrise de la production industrielle (fermentation, lyophilisation, conditionnement, stockage) pour éviter toute contamination croisée (**Université USTO, 2020**).

2. Produits laitiers fermentés

2.1. Définition

Les produits laitiers fermentés sont obtenus par fermentation lactique (homofermentaire ou hétérofermentaire) du lactose par des bactéries lactiques (BL, **ex.** *Lactobacillus spp.* *Streptococcus thermophilus*), entraînant une acidification (pH 4–4,6), une coagulation des caséines par déstabilisation des micelles et une gélification (**Chandan & Kilara, 2013**). Ce processus convertit le lactose en acide lactique (voie d'Embden-Meyerhof ou phosphokétolase), produit des composés volatils (acétoïne, diacétyl) pour les arômes et des exopolysaccharides (EPS) pour la texture visqueuse. La coagulation est purement acide (contrairement à la présure des fromages), améliorant la digestibilité et la conservation par inhibition des pathogènes (baisse du pH, bactériocines). Ces caractéristiques sont reconnues par le Codex Alimentarius –Norme pour les laits fermentés (**FAO, 2023**).

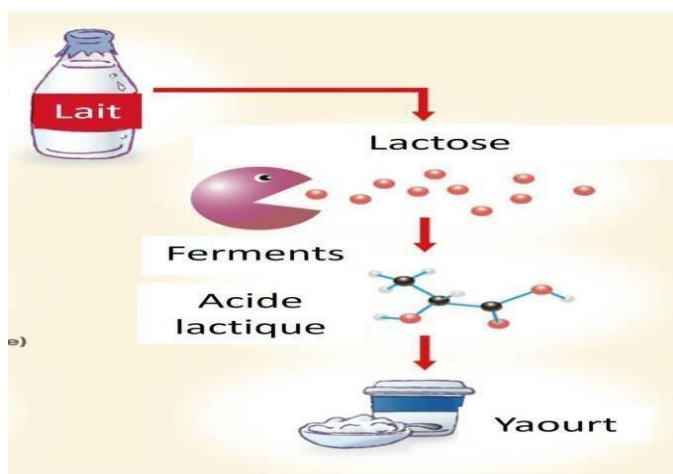


Figure 02 : Fermentation lactique du lait en yaourt.

2.2. Classification

Les produits laitiers fermentés se classent selon les micro-organismes, la texture, la teneur en matière grasse et les additifs, comme exemples :

- **Yaourts** : thermo-négoatifs, association *L. bulgaricus* + *S. thermophilus*, texture gélifiée (nature ou aux fruits).
- **Fromages frais (type fromage blanc)** : *Lactococcus lactis*, texture molle.
- **Kéfir** : symbiose BL + levures (*Kluyveromyces marxianus*), effervescent, polysaccharides (kéfirans) donnant une texture filante.
- **Laits fermentés (képhir, smetanka)** : avec *L. acidophilus* ou bifidobactéries pour les probiotiques (Chandan & Kilara, 2013 ; Lucey, 2004).

Les yaourts représentent 70–80 % du marché des laits fermentés, suivis des produits mixtes (yaourts aux fruits, croissance +3–4 %/an). La classification du Codex Alimentarius distingue les produits par souches et pH final (WiseGuy Reports, 2024). Cette diversité repose sur les métabolismes BL spécifiques influençant texture (EPS), arômes (cétones, aldéhydes) et conservation (jusqu'à 28 jours au froid) (Chandan & Kilara, 2013).

2.3. Importance économique

- **Monde :**

Le marché mondial des produits laitiers fermentés valait 66,26 milliards USD en 2023, projeté à 105 milliards USD d'ici 2032 (TCAC 5,25 %), porté par la demande en probiotiques et santé digestive (yaourts et kéfir en tête) (PMarketResearch, 2025). La France se positionne comme leader européen avec 1,3 million de tonnes en 2000 et une croissance de +4 %/an (tendance maintenue, yaourt grec en boom) (Milk-Insiders, 2025).

- **Algérie :**

L'industrie laitière (incluant les fermentés) croît via importations et production locale, soutenue par la FAO pour la diversification (données FAO 2022-2025 indiquent +10–15 % de chiffre d'affaires en Afrique du Nord) (Milk-Insiders, 2025).

Économiquement, ces produits génèrent des emplois (transformation, export) et réduisent les pertes de lait cru (20–30 % grâce à la fermentation), avec des exportations françaises et algériennes vers la région MENA (Axelsson, 2004).

2.4. Rôle des BL dans les produits laitiers fermentés

- **Texture** : Les BL modulent la texture via des EPS extracellulaires (augmentation de la viscosité de 2 à 5 fois, réduction de la synérèse) et une protéolyse limitée (texture ferme) (**Chandan & Kilara, 2013**).
- **Arômes** : Production d'acide lactique (acidité), de diacétyl (arôme beurre) et d'acétaldéhyde (arôme yaourt frais) via les voies glycolytiques (**Chandan & Kilara, 2013 ; Lucey, 2004**).
- **Conservation** : L'acidification inhibe *Listeria* et *Salmonella* (baisse de l'activité de l'eau, $\text{pH} < 4,5$) et les bactériocines (nisine) prolongent la durée limite d'utilisation (DLUO). Les probiotiques (*L. casei*) boostent l'immunité et réduisent les maladies métaboliques (Journal of Nutrition) (**Milk-Insiders, 2025**).

Ces rôles synergiques expliquent leur valeur : 80 % de la qualité sensorielle est due aux BL (**Chandan & Kilara, 2013**).

CHAPITRE II : LES BACTÉRIES LACTIQUES

Les BL forment un groupe hétérogène de bactéries Gram-positives, tolérantes à l'acidité (pH 3,5–4,5), à morphologie variée (coques ou bâtonnets immobiles et asporulés), capables de fermenter les glucides en produisant principalement de l'acide lactique (Axelsson, 2004 ; Axelsson, 2020). Ce sont des procaryotes chimio-organotrophes, souvent anaérobies facultatifs ou aérotolérants, aux exigences nutritionnelles complexes (acides aminés, peptides, vitamines, sels minéraux, acides gras, glucides fermentescibles) (Dellaglio *et al.*, 1994 ; Salminen *et al.*, 2004 ; König & Fröhlich, 2009).

En agroalimentaire, elles sont des auxiliaires microbiens majeurs pour la fermentation de produits laitiers (yaourts, fromages), végétaux (choucroute, olives), boissons alcoolisées (vin, bière, cidre) et charcuterie, contribuant aux arômes, textures, conservation (acides organiques) et à l'inhibition des pathogènes (Desmazeaud, 1996 ; Guiraud, 2003 ; European Food Information Council, 2025). En santé, leurs propriétés probiotiques modulent le microbiote intestinal, renforcent l'immunité et réduisent la durée des diarrhées infantiles. Les souches industrielles doivent être non pathogènes, dominantes, faciles à cultiver et stables au stockage (Mensah *et al.*, 1990 ; Kimmons *et al.*, 1999 ; Marth & Steele, 2001 ; Sharma *et al.*, 2019).

1. Définition et historique

Les BL sont un groupe taxonomique de l'ordre des *Lactobacillales*, incluant des genres tels que *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, ainsi que *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Oenococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus*, *Weissella* et *Aerococcus*. Ils convertissent les hexoses et pentoses en acide lactique via glycolyse anaérobie, parfois avec production d'éthanol ou CO₂ (Orla-Jensen, 1919 ; Guiraud, 2003 ; Limsowtin *et al.*, 2004 ; Wikipedia, 2025).

Conceptualisées par Orla-Jensen au début du XX^e siècle, elles furent isolées dès 1873 par Joseph Lister (*Bacterium lactis*, probablement *Lactococcus lactis*), et en 1878 comme « bactéries lactiques » confirmant leur rôle sur le lactose (Lister, 1878 ; Poulain, 1994). Leur utilisation remonte à plus de 4000 ans pour la conservation des aliments, avant les découvertes de Pasteur (1857) démontrant le rôle microbien dans la fermentation du lait, et de Von Freudenreich (1897) isolant un streptocoque laitier (Sallofke, 1994 ; Drider & Prevost, 2009). Le développement industriel des ferments starters émerge au début du XX^e siècle, avec une classification affinée par Orla Jensen (1919) basée sur morphologie et physiologie, évoluant vers des études génomiques post-2000 (Orla-Jensen, 1919 ; De Roissart, 1986 ; Hogg, 2005).

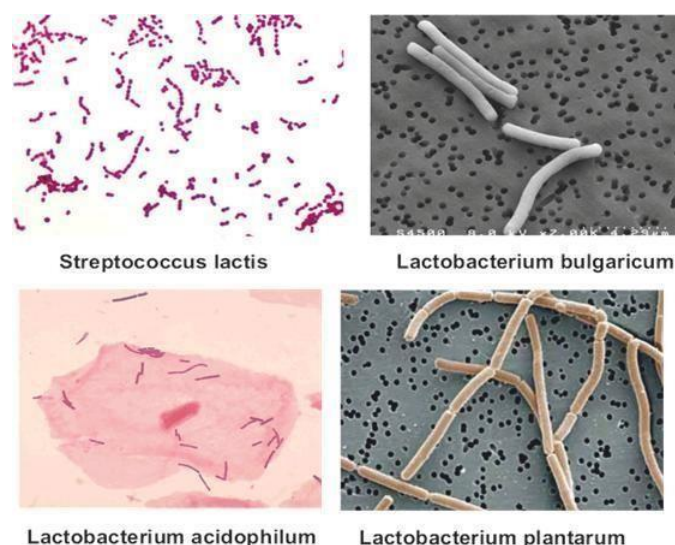


Figure 03 : Morphologie et principaux genres des bactéries lactiques.

2. Classification générale des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques (BL) constituent un groupe phylogénétiquement diversifié de bactéries à Gram positif, non sporulées, généralement catalase négative et caractérisées par la production d'acide lactique comme principal produit final de la fermentation des glucides. Sur le plan taxonomique, elles appartiennent principalement à l'ordre des *Lactobacillales* au sein du *phylum Bacillota* (anciennement Firmicutes). Cet ordre comprend actuellement plusieurs familles majeures, notamment *Lactobacillaceae*, *Streptococcaceae*, *Enterococcaceae*, *Carnobacteriaceae*, *Aerococcaceae* et *Leuconostocaceae*, regroupant des genres d'importance alimentaire, industrielle et médicale tels que *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Weissella*, *Oenococcus*, *Carnobacterium* et *Vagococcus* (Zheng *et al.*, 2020 ; Holzapfel & Wood, 2014).

La classification moderne des bactéries lactiques repose sur une approche polyphasique combinant les caractéristiques phénotypiques, les données phylogénétiques basées sur le gène de l'ARNr 16S et les analyses génomiques complètes. Les méthodes de taxonomie génomique telles que l'Average Nucleotide Identity (ANI), l'Average Amino Acid Identity (AAI) et la phylogénomique basée sur le core-genome ont considérablement amélioré la résolution taxonomique et permis de mieux définir les relations évolutives entre les différents genres et espèces de bactéries lactiques. Cette approche a conduit à plusieurs révisions taxonomiques importantes, notamment la restructuration de la famille *Lactobacillaceae* et du genre *Lactobacillus* en 2020 (Huang *et al.*, 2022).

2.1. Classification taxonomique actuelle des BL

La classification actuelle, au sein de la famille unifiée *Lactobacillaceae*, résulte d'une réorganisation majeure en 2020 ayant reclassé plus de 300 espèces auparavant réparties en 7 genres et 2 familles (*Lactobacillaceae* et *Leuconostocaceae*) en un cadre phylogénomique cohérent de 31 genres, dont 25 dérivés de l'ancien genre *Lactobacillus* (restreint aux groupes *L. delbrueckii* et *Paralactobacillus*) (Zheng et al., 2020).

Avant 2020, décrire de nouveaux genres était quasi impossible ; ce cadre facilite désormais l'identification via séquençage 16S rRNA (>98,65 % pour une espèce candidate, suivi d'ANI <95–96 %), avec des critères clairs : monophylie, AAI/cAAI (intra-genre >68 %, inter-genre <68 % avec zone 65–71 %), et traits métaboliques/écologiques distincts (Zheng et al., 2020 ; Chun et al., 2018).

Parmi les 23 nouveaux genres issus de *Lactobacillus* figurent *Lacticaseibacillus* (ex. *L. casei*, *L. rhamnosus*), *Lactiplantibacillus* (ex. *L. plantarum*), *Limosilactobacillus* (ex. *L. reuteri*), *Levilactobacillus* (ex. *L. brevis*), et des niches spécifiques comme *Apilactobacillus* ou *Bombilactobacillus* (insectes), intégrant aussi *Leuconostoc*, *Weissella*, *Oenococcus*, *Pediococcus* et *Fructobacillus* (Zheng et al., 2020).

L'arbre phylogénétique Basé sur le core-genome (gènes concaténés, bootstraps >90 %), il sépare les clades homofermentaires (*Lactiplantibacillus plantarum*) des hétérofermentaires (*Levilactobacillus brevis*), avec des clusters écologiques distincts : vertébrés (*Limosilactobacillus*), plantes (*Lactiplantibacillus*), insectes (*Bombilactobacillus*) (Zheng et al., 2020 ; Qiao et al., 2022). Les bases 16S rRNA actualisées (SILVA v138.1, RDP v18, GTDB, EzBioCloud 2021, NCBI) améliorent la résolution genus-level en métagénomique (ex. *Lactiplantibacillus* dominant en jus de carotte, *Lentilactobacillus* dans le kéfir) ; des scripts comme reclassify_lactos facilitent la reclassification (Parks et al., 2022 ; Wuyts et al., 2018). Pour les isolats non clusterisés, core-genome et AAI/cAAI déterminent les nouveaux genres, alignant phylogénie, métabolisme (absence de phosphofructokinase chez les hétérofermentaires) et écologie (Xie, 2019).

Depuis 2020, plus de 37 nouvelles espèces respectent les critères ANI/AAI, dont *Lactobacillus* salitolerans (tolérance à 10 % NaCl), *Limosilactobacillus balticus/agrestis/albertensis/rudii/fastidiosus* (vertébrés, 6 sous-espèces de *L. reuteri*), *Companilactobacillus salsicarnum*, *Paucilactobacillus* (pentose-spécifiques), et *Apilactobacillus* (fructose-limitées, sans mannitol déshydrogénase). Des différenciations comme *L. casei/paracasei* reposent sur des gènes de stress oxydatif (Li et al., 2021 ; Endsley et al., 2019 ; Wuyts et al., 2017). Cette taxonomie lie métabolisme (tolérance à O₂, pentoses/hexoses, mutualisme via mannitol/ornithine) aux niches, facilitant les probiotiques (effet santé clade-spécifique), les statuts

CHAPITRE II : LES BACTÉRIES LACTIQUES

QPS/GRAS (EFSA/FDA, Health Canada ; résistance aux antibiotiques/amines biogènes liées au genre) et les découvertes (Duar *et al.*, 2017 ; Lebeer *et al.*, 2018 ; Rychen *et al.*, 2018 ; Koutsoumanis *et al.*, 2020).

Tableau 02 : les principaux genres reclassés.

Nouveau genre	Exemple d'espace	Ancienne Classification	Niche écologique Principale
<i>Lacticaseibacillus</i>	<i>Lacticaseibacillus casei</i> ; <i>Lacticaseibacillus Rhamnosus</i>	<i>Lactobaccillus casei</i> ; <i>Lactobaccillus Rhamnosus</i>	Produits laitiers / Probiotiques
<i>Lactiplantibacillus</i>	<i>Lactiplantibacillus Plantarum</i>	<i>Lactobaccillus Plantarum</i>	Matrices végétales Fermentées
<i>Limosilactobacillus</i>	<i>Limosilactobacillus reuteri</i>	<i>Lactobaccillus reuteri</i>	Tractus intestinal des vertébrés
<i>Levilactobacillus</i>	<i>Levilactobacillus Brevis</i>	<i>Lactobaccillus brevis</i>	Espèce Hétérofermentaires
<i>Apilactobacillus</i>	Espèces associées aux abeilles	Anciennement <i>Lactobacillus</i>	Insectes
<i>Bombilactobacillus</i>	Espèces associées aux insectes	Anciennement <i>Lactobacillus</i>	Insectes

3. Métabolisme fermentaire

Le métabolisme fermentaire des bactéries lactiques se divise en deux voies principales : homofermentaire et hétérofermentaire, impliquant des voies glycolytiques distinctes pour la production d'acide lactique et d'autres métabolites (Wang *et al.*, 2021 ; Akpogheli *et al.*, 2025).

3.1. Voie homofermentaire (EMP)

Elle utilise la voie glycolytique d'Embden-Meyerhof-Parnas (EMP), où le glucose est converti en deux molécules de pyruvate, puis en acide lactique via le lactate déshydrogénase, produisant 2 ATP par glucose sans dégagement significatif de CO₂ (Wang *et al.*, 2021). Cette voie domine chez les espèces issues de l'ancien genre *Lactobacillus*, notamment *Lactiplantibacillus plantarum* et

Lactocaseibacillus casei, qui produisent presque exclusivement de l'acide lactique (>90 % des produits finaux) (Akpogheli *et al.*, 2025 ; Devi *et al.*, 2023). Des études récentes confirment son efficacité pour la production industrielle d'acide L(+)-lactique, avec des souches comme *Enterococcus faecalis* CBRD01 (Morales-Landa *et al.*, 2025).

3.2. Voie hétérofermentaire (PK)

Elle repose sur la voie phosphokétolase (PK), impliquant la décarboxylation du 6-phosphogluconate, produisant par glucose une molécule d'acide lactique, une molécule d'éthanol (ou d'acétate) et une molécule de CO₂, avec un rendement énergétique réduit à 1 ATP (Wang *et al.*, 2021). Elle caractérise des espèces telles que *Levilactobacillus brevis* (anciennement *Lactobacillus brevis*), dont le métabolisme contribue à la production de CO₂ et de composés aromatiques dans les fermentations alimentaires (Akpogheli *et al.*, 2025). Cette diversité métabolique joue un rôle majeur dans la biotechnologie alimentaire et les fermentations végétales (Morales-Landa *et al.*, 2025).

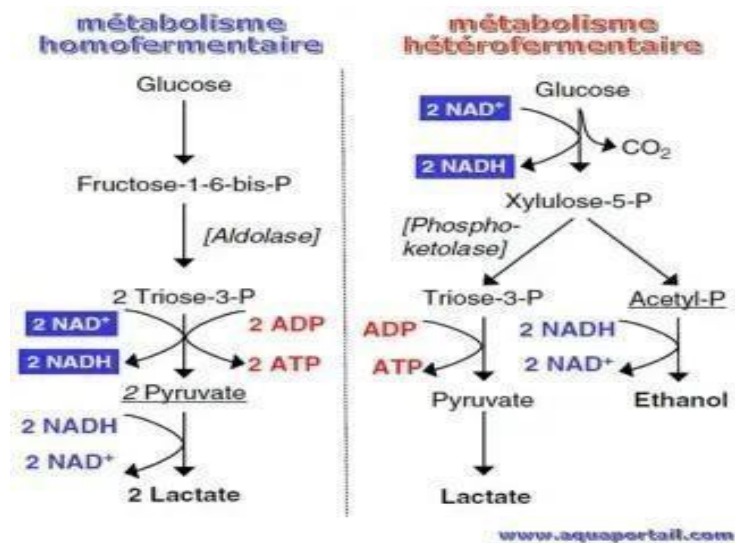


Figure 04 : Voies métaboliques homofermentaire et hétérofermentaire.

Tableau 03 : Tableau comparatif entre Homofermentaire (EMP) et Hétérofermentaire(PK).

Aspect	Homofermentaire (EMP)	Hétérofermentaire(PK)
Produit principaux	Acide lactique (>90%)	Acide lactique (50%), CO ₂ , éthanol-acétate
Rendement ATP	2ATP /glucose	1ATP/glucose
Exemple de genres	<i>Lactobacillus</i> émendé (<i>L.plantarum</i> , <i>L.rhamnosus</i>)	<i>Levilactobacillus</i> (<i>L.brevis</i>)
Application	Production haute pureté d'acide lactique	Fermentation aromatisées, Ensilage

4. Rôles des bactéries lactiques

4.1. Rôle technologique

Les BL acidifient le lait (pH < 5,3 en 6 h à 30 °C pour des souches performantes comme *Lc. lactis* TAUL8000/9000) (Câmara *et al.*, 2019 ; Dias, 2019). Les genres *Levilactobacillus*, *Lactiplantibacillus*, *Lactocaseibacillus* et *Leuconostoc* montrent une acidification plus faible en raison d'un métabolisme limité du lactose (Carafa *et al.*, 2015 ; Meng *et al.*, 2018). L'acidification rapide favorise l'agrégation des micelles de caséine, tandis que les exopolysaccharides (EPS) produits renforcent la texture (viscosité, réduction de la synérèse) (Sandra *et al.*, 2012 ; Bachtarzi *et al.*, 2019 ; Korcz *et al.*, 2018). Des EPS à haut rendement (ex. *Leuconostoc* : 30,5 g/L de dextrane ; *Weissella cibaria*) présentent des propriétés rhéologiques (cisaillement aminci, liaison d'eau, émulsifiantes, antioxydantes, formant des films) idéales pour les aliments faibles en calories et les emballages comestibles (Wang *et al.*, 2019 ; Llamas-Arriba *et al.*, 2019 ; Yang *et al.*, 2015 ; Ye *et al.*, 2018 ; Cao *et al.*, 2021).

4.2. Rôle nutritionnel

Les BL agissent comme « enrichisseurs » biologiques, synthétisant des vitamines, libérant des nutriments piégés (minéraux, acides aminés, composés bioactifs) et améliorant leur biodisponibilité intestinale (Koirala & Mainali, 2024 ; Zhang *et al.*, 2026). Elles produisent des vitamines du groupe B (riboflavine B₂, folates B₉, plus rarement cobalamine B₁₂) chez des souches de

Lactobacillus, *Lactococcus* et *Streptococcus*, permettant le bio-enrichissement de produits fermentés (Hakim *et al.*, 2023 ; Šmatová *et al.*, 2024 ; LeBlanc *et al.*, 2011 ; Linares *et al.*, 2023). Les BL dégradent l'acide phytique (présent dans céréales/légumineuses) via des phytases et phosphatases acides, améliorant la solubilisation des minéraux (Fe, Zn, Ca, Mg) (Palacios *et al.*, 2008 ; Reale *et al.*, 2007 ; Sadaghian *et al.*, 2020). Leurs activités protéolytiques hydrolysent les protéines en peptides et acides aminés libres, améliorant la digestibilité et générant des peptides bioactifs (antioxydants, antihypertenseurs) (Hakim *et al.*, 2023 ; Šmatová *et al.*, 2024).

4.3. Rôle probiotique

- **Modulation du microbiote**

Les BL (*ex. Lactobacillus, Bifidobacterium*) corrigent la dysbiose en produisant des bactériocines ciblant les pathogènes (*Clostridium difficile*, *E. coli*), réduisent les *Proteobacteria*, augmentent les acides biliaires secondaires via l'activation du récepteur FXR intestinal, et stimulent les Firmicutes et Bacteroidetes bénéfiques (Azad *et al.*, 2018 ; Gui *et al.*, 2025 ; Pérez-Ramos *et al.*, 2021).

- **Effets sur l'immunité**

Elles modulent l'immunité innée et adaptative (stimulation phagocytose, maturation cellules dendritiques, production d'IFN- γ), équilibrent les cytokines IL-10/TNF- α (améliorant la tolérance immunitaire), et renforcent la barrière intestinale en réduisant la translocation bactérienne (Azad *et al.*, 2018 ; Pérez-Ramos *et al.*, 2021 ; Singh & Rao, 2021).

Comme exemple *Lactobacillus rhamnosus* GG (LGG) est considérée comme excellente pour la santé intestinale : réduction de la durée des diarrhées, amélioration des symptômes du syndrome de l'intestin irritable (SII), activation de FXR, augmentation des acides biliaires secondaires (favorisant l'adaptation intestinale dans le syndrome de l'intestin court), et renforcement de l'immunité respiratoire/digestive chez l'enfant (Gui *et al.*, 2025 ; Segers & Lebeer, 2025).

5. Statut de sécurité (GRAS, QPS) et réglementation

Les bactéries lactiques (BL) utilisées comme starters ou probiotiques bénéficient généralement d'un statut de sécurité reconnu : GRAS (Generally Recognized As Safe) aux États-Unis ou QPS (Qualified Presumption of Safety) en Europe, grâce à leur longue histoire d'utilisation sûre dans les

aliments fermentés (EFSA, 2026a ; PiLeJe, 2025). Ces statuts, évalués par la FDA et l'EFSA, reposent sur des critères stricts incluant l'identité taxonomique, l'absence de pathogénicité, ce qui simplifie les autorisations réglementaires (EFSA, 2025 ; GenoScreen, 2017).

5.1. Critères GRAS (FDA) et QPS (EFSA)

- FDA (GRAS)

Attribué sur la base d'une histoire documentée d'utilisation sécuritaire avant 1958 ou via une évaluation scientifique démontrant l'absence de risque significatif. Critères : absence de toxines, de gènes de résistance aux antibiotiques acquis (RAM) et de potentiel pathogène (SYNBPA, 2023 ; FDA, 2024 ; EFSA, 2026a).

- EFSA (QPS)

Accordé au niveau de l'espèce, exigeant une identité taxonomique claire, un historique d'utilisation sûre et l'absence de préoccupations de sécurité pour l'homme, l'animal ou l'environnement. Qualifications spécifiques : « absence de gènes de RAM cliniquement importants » pour toutes les unités QPS, ou « à des fins de production uniquement » pour les souches non viables (EFSA, 2026a ; EFSA, 2025).

Tableau 04 : Statut réglementaire et qualification de sécurité des bactéries lactiques selon la FDA (GRAS) et l'EFSA (QPS).

Espace	GRAS(FDA)	QPS(EFSA)	Observation/qualification
<i>Lactiplantibacillus Plantarum</i>	Oui (GRN 469)	Oui	Absence de RAM
<i>Lacticaseibacillus Casei</i>	Oui (GRN 90)	Oui	Toutes applications
<i>Lacticaseibacillus Rhamnosus</i>	Oui (GRN 786)	Oui	Usage humain uniquement
<i>Limosilactobacillus Fermentum</i>	Oui (GRN 872)	Oui	Non toxinogène

CHAPITRE II : LES BACTÉRIES LACTIQUES

<i>Lactococcus lactis</i> <i>subsp.lactis</i>		Oui	Production uniquement
<i>Streptococcus</i> <i>Thermophilus</i>	Oui (GRN 79)	Oui	Production alimentaire
<i>Leuconostoc</i> <i>Mesenteroides</i>	Oui (GRN 437)	Oui (nouveau 2026)	légumes fermentés

5.2. Maintien du statut post-reclassification

La reclassification de 2020 (261 espèces en 25 genres) a nécessité une mise à jour de la liste QPS : 37 espèces QPS reclassées en 13 genres conservent leur présomption d'innocuité grâce à la continuité des connaissances sur leur sécurité. **Ex.** *Lactobacillus casei* reste QPS ; *Lacticaseibacillus rhamnosus* et *Limosilactobacillus fermentum* maintiennent leur statut sous qualifications (absence de RAM, non-toxinogène). Les mises à jour QPS 2026 confirment l'éligibilité des bactériophages et l'expansion à de nouvelles souches de *Leuconostoc* et *Lactococcus* (EFSA, 2026a ; Omni-Biotic, 2025).

5.3. Réglementations UE pour les starters

Les BL starters sont réglementées sous le Règlement (CE) n° 1333/2008 (additifs alimentaires) et (CE) n° 1831/2003 (additifs pour l'alimentation animale), nécessitant une autorisation préalable basée sur le statut QPS ou une évaluation complète de sécurité. Les probiotiques viables nécessitent une notification via le système QPS (identité par séquençage 16S/WGS, absence de RAM et toxines). Les produits finaux doivent respecter les seuils de contamination (Règlement (CE) n° 2073/2005) (EFSA, 2026a ; EFSA, 2025 ; Omni-Biotic, 2025).

5.4. Réglementations en Algérie

L'utilisation des BL comme starters est encadrée par la loi n° 09-03 du 25 février 2009 (protection du consommateur) et le décret exécutif n° 14- 162 (hygiène des denrées alimentaires), alignés sur les normes Codex Alimentarius et UE via l'ONML et l'INSP.

Les starters doivent provenir de souches GRAS/QPS, avec contrôle analytique par la DQRS.

CHAPITRE II : LES BACTÉRIES LACTIQUES

Aucune liste nationale spécifique n'existe, mais les importations d'enzymes et cultures starter nécessitent une autorisation du Ministère de la Santé, privilégiant les souches EFSA/FDA-approved (**PiLeJe, 2025 ; SYNBPA, 2023**).

**CHAPITRE III : LE GROUPE
LACTOBACILLUS SENSU LATO ET LES
CULTURES STARTERS**

Le groupe des anciens *Lactobacillus* désigne les espèces historiquement classées dans le genre *Lactobacillus* avant sa reclassification majeure en 2020 (Zheng *et al.*, 2020). Ces bactéries sont essentielles en probiotiques pour la santé intestinale, immunitaire et la prévention des diarrhées associées aux antibiotiques (FAO & WHO, 2001). Pour l'industrie laitière, cette fragmentation a des implications directes : les souches starters historiques (*L. bulgaricus*, *L. casei*, *L. plantarum*) ont été renommées, mais les abréviations traditionnelles (ex. *L. rhamnosus*) restent utilisables pour assurer la continuité scientifique et commerciale dans l'étiquetage des produits (Zheng *et al.*, 2020). La reclassification facilite les études fonctionnelles sans changer l'étiquetage des produits. En 2025, des mises à jour confirment cinq genres principaux issus de la révision.

1. Évolution taxonomique

Le genre *Lactobacillus* a été décrit pour la première fois en 1901 par Beijerinck, regroupant des bâtonnets Gram-positifs producteurs d'acide lactique, présents dans les aliments fermentés, le microbiote intestinal et vaginal. Jusqu'en 2020, il comptait plus de 250 espèces, mais des analyses génomiques ont révélé une grande diversité phylogénétique (hétérogénéité et polyphylie), justifiant une révision.

Une analyse phylogénomique basée sur les génomes complets a évalué : la phylogénie du génome central, l'identité moyenne des acides aminés (AAI), l'identité nucléotidique moyenne (ANI), les gènes signatures spécifiques de clade, et les caractéristiques physiologiques/écologiques (Zheng *et al.*, 2020). Zheng *et al.* (2020) ont proposé la reclassification du genre *Lactobacillus* en 25 genres distincts : le genre *Lactobacillus* redéfini (sensu stricto), l'ancien genre *Paralactobacillus* et 23 nouveaux genres.

Cette réorganisation a également conduit à l'extension de la famille *Lactobacillaceae*, englobant désormais les genres des anciennes familles *Lactobacillaceae* et *Leuconostocaceae* (Zheng *et al.*, 2020). Le terme générique « lactobacilles » reste toutefois utilisé pour désigner l'ensemble des bactéries historiquement classées dans cette famille.

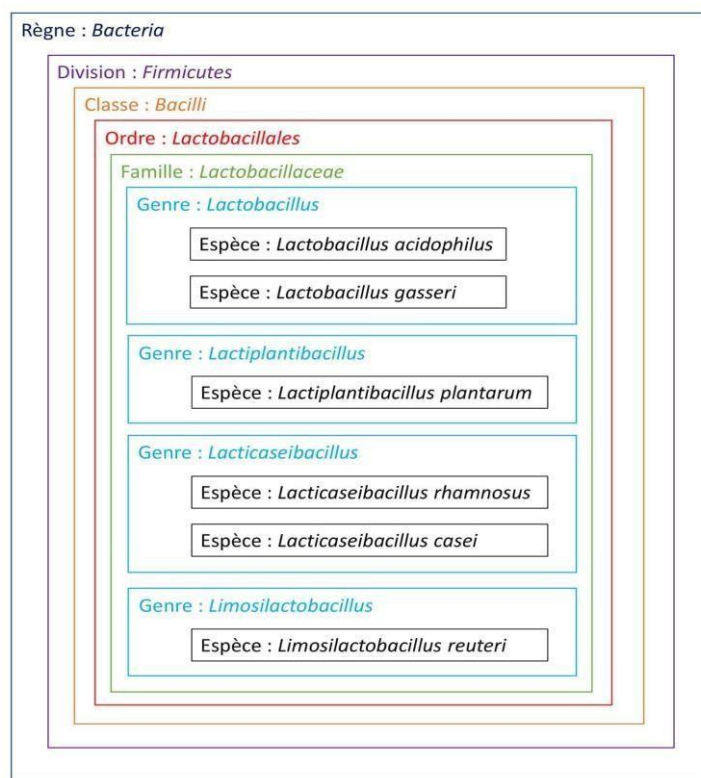


Figure 05 : Reclassification du genre *Lactobacillus* (2020).

Tableau 05 : Genres principaux issus des anciens *Lactobacillus*.

Genre nouveau	Anciens exemples	Habitat principal
<i>Lactobacillus</i> (sensu stricto)	<i>L.delbrueckii</i> , <i>L.acidophilus</i> , <i>L.crispatus</i> , <i>L.gosseri</i> , <i>L.jesenii</i> , <i>L.apis</i>	Lait, muqueuses humaines/vertébrés
<i>Lacticaseibacillus</i>	<i>L.casei</i> , <i>L.rhamnosus</i> , <i>L.paracasei</i> , <i>L.zae</i> , <i>L.zhaodongensis</i>	Probiotiques intestinaux, produits laitiers
<i>Lactiplantibacillus</i>	<i>L.plantarum</i> , <i>L.argentoratensis</i>	Légumes fermenté, matrices végétales
<i>Limosilactobacillus</i>	<i>L.reuteri</i> , <i>L.fermentum</i>	Intestin des vertébrés, aliments
<i>Levilactobacillus</i>	<i>L.brevis</i>	Bière, légumes (espèces hétérofermentaires)

Fructilactobacillus	<i>L.fructivorans</i>	Fruits, miel
Ligilactobacillus	<i>L.salivarius</i>	Muqueuses animales
Latilactobacillus	<i>L.sakei</i>	Viandes fermentées

Le genre *Lactobacillus* redéfini regroupe désormais un nombre restreint d'espèces principalement adaptées aux vertébrés (*L. delbrueckii*, *L. acidophilus*, *L. crispatus*, *L. gasseri*, *L. jensenii*) ainsi que certaines espèces associées aux invertébrés comme *L. apis* (Zheng *et al.*, 2020).

Cette nouvelle classification facilite la compréhension des relations évolutives et des fonctions biologiques, notamment dans les domaines alimentaires, probiotiques et médicaux. Les mises à jour récentes confirment l'importance de cette reclassification, désormais adoptée dans les cadres réglementaires et scientifiques, car elle améliore la précision des études fonctionnelles sans modifier les bénéfices probiotiques associés.

1.2. Caractéristiques générales

Les anciens *Lactobacillus* (sensu lato) partagent des caractéristiques communes malgré leur diversité (Walstra *et al.*, 2006).

1.2.1. Morphologie

Ce sont des bacilles (bâtonnets) droits ou légèrement courbés, de 0,5–1,2 µm de large et 2–10 µm de long, parfois en chaînettes. Elles sont Gram-positives avec une paroi épaisse, non sporulantes, non mobiles (sans flagelles) et non encapsulées (Walstra *et al.*, 2006).

1.2.2. Physiologie

Anaérobies facultatives ou microaérophiles, elles tolèrent un pH acide (4–6) et une température de 15–45 °C (optimum 30–40 °C) (58) (Walstra *et al.*, 2006). Catalase-négatives, elles fermentent les glucides en acide lactique : homofermentaires (>85 % acide lactique L(+)), hétérofermentaires (acide lactique + CO₂ + éthanol/acétique) ou bifidogènes.

Elles sont exigeantes nutritionnellement (auxotrophes pour acides aminés, vitamines), cultivables sur gélose MRS à 37 °C sous anaérobiose.

1.2.3. Génétique

Taille génomique de 1,8–3,5 Mb, faible teneur en G+C (32–53 mol%) (146) (136). Génomes compacts avec plasmides adaptatifs ; identification via ANI >95 %, séquençage 16S rRNA ou MLST ; riches en microsatellites et gènes de transport (PTS, perméases) (Zheng *et al.*, 2020).

1.2.4. Différences inter-genres (ex. adaptation à l'hôte)

Les espèces du genre *Lactobacillus* (sensu stricto, **ex.** *L. delbrueckii*, *L. acidophilus*) sont principalement adaptées aux vertébrés (lait, muqueuses humaines), tandis que *Lactiplantibacillus* est davantage associé aux matrices végétales, et *Limosilactobacillus* au tractus intestinal (Zheng *et al.*, 2020).

1.3. Espèces majeures d'intérêt laitier

Les espèces majeures d'intérêt laitier parmi les anciens *Lactobacillus* sont essentielles dans la production de yaourts, fromages et laits fermentés pour leur capacité d'acidification rapide et de développement de saveurs (Chandan & Kilara, 2013).

Tableau 06 : Espèces majeures d'intérêt laitier issues des anciens *lactobacillus*.

Espèce (nouveau nom)	Ancien nom	Rôle laitier principal	Métabolisme	Tem. optimum	Habitat / particularités
<i>Lactobacillus delbrueckii subsp. Bulgaricus</i>	<i>L. delbrueckii subsp. bulgaricus</i>	Yaourt, acidification rapide, arôme (acétaldéhyde)	Homofermentaire thermophile	42–45 °C	Symbiose avec <i>S. thermophilus</i> ; produit acide lactique D(-) (96–99 %)
<i>Lactobacillus delbrueckii subsp. Lactis</i>	<i>L. delbrueckii subsp. Lactis</i>	Fromages Thermophiles	Homofermentaire thermophile	42–45 °C	Utilisée en fromagerie
<i>Lacticaseibacillus</i>	<i>L. casei</i>	Fromages	Homofermentaire	30–37	Acidification lente,

CHAPITRE III : LE GROUPE LACTOBACILLUS SENSU LATO ET LES CULTURES STARTERS

<i>Casei</i>		(Cheddar, Emmental), yaourts probiotiques	ntai re mésophile	°C	tolérance sel et bile, immunomodulation via NF- κB
<i>Lactacaseibacillus Paracasei</i>	<i>L. paracasei</i>	Fromages, Probiotiques	Homoferme ntai re mésophile	30–37 °C	Proche de <i>L. casei</i>
<i>Lactacaseibacillus Rhamnosus</i>	<i>L. rhamnosus</i>	Probiotiques Laitiers	Homoferme ntai re mésophile	30–37 °C	Santé intestinale
<i>Lactiplantibacillus Plantarum</i>	<i>L. plantarum</i>	Maturation fromages (Roquefort, Saint-Nectaire), laits Fermentés	Homo/hétérofermentaire Facultative	30–40 °C	Robuste (pH 3–8, 10–50 °C), hydrolyse protéines/lipides, produit diacétyl/bactériocins (plantaricines)
<i>Levilactobacillus Brevis</i>	<i>L. brevis</i>	Maturation fromages (Gouda), laits fermentés effervescents	Hétérofermentaire	25–30 °C	Produit CO ₂ , éthanol, arômes fruités; tolère alcool/hops
<i>Limosilactobacillus fermentum</i>	<i>L. fermentum</i>	Fromages, Probiotiques	Hétérofermentaire	30–37 °C	Activité immunomodulatrice
<i>Limosilactobacillus reuteri</i>	<i>L. reuteri</i>	Probiotiques Laitiers	Hétérofermentaire	30–37 °C	Produit reutéline (agent antimicrobien)

1.4. Propriétés technologiques et métaboliques par groupe taxonomique

La reclassification des anciens *Lactobacillus* en genres phylogénétiquement cohérents a permis d'établir une corrélation plus précise entre la taxonomie et les propriétés technologiques et métaboliques. Chaque groupe post-2020 présente un profil fonctionnel lié à son adaptation écologique et à son potentiel fermentaire (Zheng *et al.*, 2020).

1.4.1. Groupe *Lactobacillus* (sensu stricto) – ancien groupe *Thermobacterium*

Représenté par *Lactobacillus delbrueckii*, *L. acidophilus* et *L. crispatus*, ces espèces sont homofermentaires obligatoires et thermophiles (croissance optimale $\approx 45\text{ }^{\circ}\text{C}$) (Chandan & Kilara, 2013).

Elles fermentent le lactose via la voie d'Emden-Meyerhof avec une production majoritaire d'acide lactique ($> 90\%$). Leur diversité d'utilisation des sucres est limitée, traduisant une spécialisation écologique. Certaines souches produisent de l'acétaldéhyde, composé clé de l'arôme du yaourt (Tamime, 2006). Technologiquement, elles se caractérisent par une acidification rapide du lait, une tolérance aux pH acides, une production d'exopolysaccharides (EPS) améliorant la texturation, et un rôle essentiel dans la fermentation du yaourt et des fromages thermophiles (Welman & Maddox, 2003).

1.4.2. Groupe *Lacticaseibacillus* et *Lactiplantibacillus* – ancien groupe *Streptobacterium*

Incluant *Lacticaseibacillus casei*, *L. rhamnosus* et *Lactiplantibacillus plantarum*, ces bactéries sont hétérofermentaires facultatives et mésophiles ($30\text{--}40\text{ }^{\circ}\text{C}$) (Gobbetti *et al.*, 2018). Elles présentent une large capacité d'utilisation des glucides, une forte activité protéolytique (hydrolyse des caséines en peptides), une lipolyse variable, une production de diacétyl et d'acétoïne (arômes beurrés), ainsi qu'une production fréquente d'EPS (Savijoki *et al.*, 2006 ; Welman & Maddox, 2003).

Technologiquement, elles assurent une acidification modérée mais stable, une contribution majeure à la maturation des fromages (développement de la texture et des arômes), une bonne tolérance au sel et à la bile, et une utilisation polyvalente dans les fromages (Cheddar, pâtes pressées), les produits fermentés végétaux et les probiotiques.

Lactiplantibacillus plantarum se distingue par sa grande plasticité génomique et sa capacité à produire des bactériocines (plantaricines), utiles en bioconservation (Cotter *et al.*, 2005).

1.4.3. Groupe *Limosilactobacillus* et *Levilactobacillus* – ancien groupe *Betabacterium*

Représenté par *Limosilactobacillus fermentum*, *L. reuteri* et *Levilactobacillus brevis*, ces espèces sont hétérofermentaires obligatoires (**Zheng et al., 2020**). Elles produisent de l'acide lactique (souvent L(+)), du CO₂ et de l'éthanol/acétate. Elles possèdent un métabolisme du citrate (production de diacétyle) et produisent des composés antimicrobiens comme la reutéline. Leur acidification est plus lente que celle des homofermentaires.

Technologiquement, elles participent à la production de CO₂ (formation d'« yeux » dans certains fromages), présentent une tolérance à l'alcool et aux conditions anaérobies, contribuent à la fermentation des légumes et des bières, jouent un rôle dans les fromages à maturation spécifique (**ex. Gouda**), et possèdent une activité probiotique et immunomodulatrice marquée (**FAO & WHO, 2001**).

2. Les cultures starters en industrie laitière

Les cultures starters jouent un rôle essentiel dans la fermentation contrôlée de l'industrie laitière en garantissant une acidification rapide et uniforme du lait via la conversion du lactose en acide lactique, ce qui abaisse le pH, favorise la coagulation et inhibe les pathogènes indésirables (**Leroy & De Vuyst, 2004**). Ces micro-organismes, principalement des bactéries lactiques comme *Lactococcus lactis*, *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus delbrueckii subsp. Bulgaricus*, assurent une fermentation prévisible et reproductible, essentielle pour la texture, la saveur et la sécurité des produits tels que yaourts, fromages et laits fermentés (**Tamime, 2006 ; Chandan & Kilara, 2013**).

Leur activité protéolytique complémentaire dégrade les protéines du lait en peptides et acides aminés, contribuant à l'aromatisation lors de la maturation (**Savijoki et al., 2006**). Sur le plan biochimique, les starters primaires initient la voie homofermentaire, produisant jusqu'à 90-95 % d'acide lactique à partir du lactose, réduisant le pH à moins de 5,3 en 6 heures à 30-45 °C, étape critique pour la synérèse et la protection microbiologique (**Lucey, 2004**). La synergie entre souches mésophiles et thermophiles optimise le métabolisme, avec production d'acétate ou de CO₂ pour des textures spécifiques (fromages à pâte filée). Les avantages technologiques incluent l'efficacité industrielle (**ex. : 1 g de starter lyophilisé inocule 1 L de lait, puis un pré-démarrreur peut inoculer jusqu'à 100 L**) et un système protéolytique (protéases, peptidases) assurant la croissance en milieu pauvre en azote libre. Une bonne souche starter doit acidifier rapidement (pH < 5,3 en 6 h à 30 °C), résister au stress acide et posséder une activité protéolytique élevée (**Papadimitriou et al., 2016**).

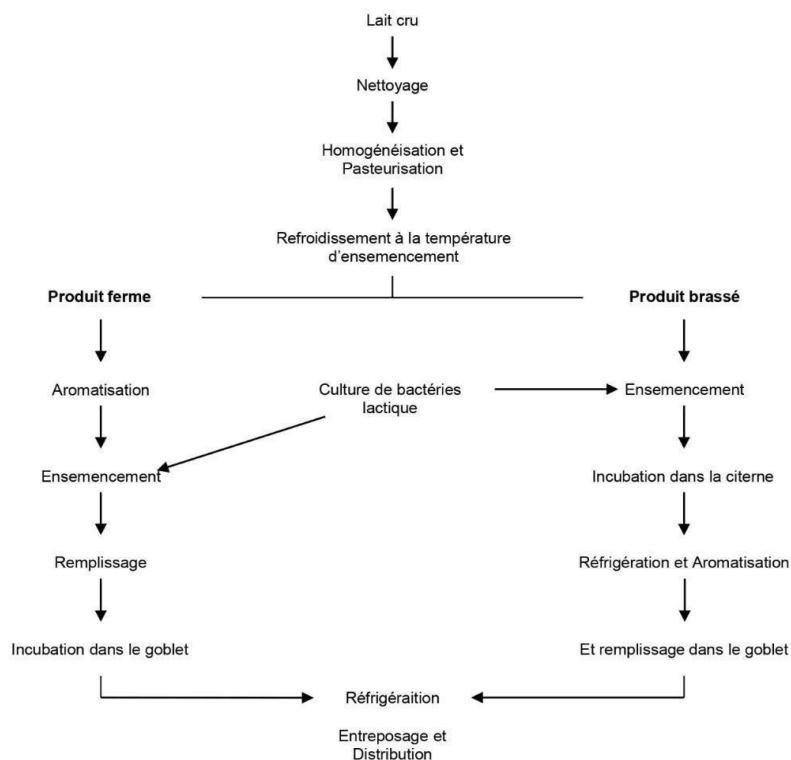


Figure 06 : Fermentation du lait par les cultures starters.

2.1. Définition des cultures starters

Les cultures starters (ou cultures de démarrage) sont des inoculums microbiens sélectionnés, constitués de souches pures ou de mélanges de micro-organismes (bactéries lactiques, levures, moisissures) introduits de façon contrôlée dans une matrice alimentaire pour initier, diriger et standardiser la fermentation (**Leroy & De Vuyst, 2004**). Elles se distinguent de la microflore spontanée par leur origine contrôlée, leur stabilité génétique et leurs performances technologiques caractérisées (taux d'acidification, production d'arômes, tolérance au sel, à la température, etc.).

Opérationnellement, c'est une préparation concentrée de cellules viables et actives, produite en conditions aseptiques, conservée (surgelée, lyophilisée ou liquide réfrigérée) et ajoutée à une dose précise (inoculum). On distingue les cultures « définies » (nombre restreint de souches bien identifiées) et les cultures « indéfinies » (issues de ferments natifs traditionnels).

La tendance récente est au développement de cultures starters autochtones, isolées des produits traditionnels locaux, pour reproduire leurs qualités sensorielles tout en respectant les normes industrielles (**Settanni & Moschetti, 2010**).

2.2. Fonctions des cultures starters

- **Acidification**

Fonction la plus fondamentale. Les bactéries lactiques convertissent les sucres fermentescibles (lactose dans le lait) en acide lactique, entraînant une baisse du pH, une dénaturation partielle des protéines et la coagulation de la caséine (structuration des yaourts, fromages, laits fermentés). La baisse rapide du pH inhibe la flore d'altération et de nombreux pathogènes, contribuant à la sécurité sanitaire et permettant d'optimiser les temps de procédé (**Lucey, 2004**).

- **Préservation et biopréservation**

Production de métabolites antimicrobiens : acide lactique/acétique, peroxyde d'hydrogène, diacétyle, bactériocines (nisine, pédiocine), molécules antifongiques. Ces composés inhibent *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, levures et moisissures. L'utilisation de starters ou de cultures « protectrices » prolonge la durée de conservation, réduit le gaspillage et peut diminuer le recours aux conservateurs chimiques (nitrites, sorbates, benzoates) (**Cotter et al., 2005**).

- **Importance économique**

Les cultures starters sont un intrant stratégique pour l'industrie agroalimentaire (produits laitiers, viandes, céréales fermentés, boissons). Elles permettent de standardiser la qualité, réduire les pertes et augmenter la valeur ajoutée (**Leroy & De Vuyst, 2004**). Le marché mondial des starters connaît une croissance soutenue (TCAC ~5-7 % sur 2024-2030, valorisation >1 milliard USD), portée par la demande en aliments fermentés, la biopréservation naturelle et les produits « better-for-you ». Avantages économiques : réduction des temps de procédé (productivité accrue), diminution des pertes liées aux défauts microbiologiques/sensoriels (amélioration du rendement), développement de produits différenciés (profils aromatiques, probiotiques) facilitant l'accès à des segments à plus forte marge (**Leroy & De Vuyst, 2004**). Dans les pays en développement et émergents, le développement de starters autochtones adaptés aux matières premières locales est un levier de valorisation des produits traditionnels, d'accès aux marchés d'exportation et de sécurisation des systèmes alimentaires. Pour l'Algérie et l'Afrique du Nord, la sélection de souches à partir de produits laitiers fermentés traditionnels peut industrialiser ces produits sans en altérer l'identité sensorielle, renforçant la compétitivité des filières locales (**Leroy & De Vuyst, 2004**).

2.3. Types de starters

- **Starters purs**

Une seule souche microbienne (**ex.** *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* ou *cremoris*), sélectionnée pour sa performance spécifique (acidifiante ou protéolytique). Ils garantissent une cinétique de fermentation prévisible, une standardisation élevée, et minimisent les risques de contamination. Avantages : haute reproductibilité, contrôle précis du pH, rapidité d'acidification (réduction du temps de fermentation de 20-30 %). Inconvénients : manque de diversité métabolique (baisse de 15-25 % en composés volatils vs mixtes) et vulnérabilité aux bactériophages due à l'uniformité génétique (**Papadimitriou et al., 2016**).

- **Starters mixtes**

Association de plusieurs souches (2 à 5 typiquement), comme un ratio 1:1 de *L. lactis* et *Streptococcus thermophilus*, pour synergiser acidité, protéolyse et production d'exopolysaccharides. Ils reproduisent partiellement la biodiversité naturelle, améliorant texture et saveurs (augmentation de 40 % de la production d'acétoïne). Avantages : équilibre métabolique (meilleure floculation, arômes fruités), résistance accrue aux stress (température, sel). Inconvénients : interactions imprévisibles entre souches (compétition réduisant l'efficacité de 10-15 %) et complexité de formulation.

- **Starters commerciaux (DVS)**

Lyophilisats ou concentrés congelés prêts à l'emploi (Direct Vat Set), contenant des souches définies (pures ou mixtes), produits par des firmes comme Chr. Hansen ou DSM. Ils offrent une viabilité >10¹⁰ UFC/g et une stabilité post-stockage, réduisant les pertes de lots jusqu'à 90 % (4). Avantages : facilité d'usage (pas de propagation requise), traçabilité, conformité réglementaire (ISO 22000). Inconvénients : coût élevé (2-5 fois plus que les naturels), dépendance aux fournisseurs, uniformisation potentielle des profils sensoriels.

- **Starters naturels (backslopping)**

Réutilisation d'une partie du produit fermenté précédent comme inoculum (5-10 % v/v), enrichissant une flore mixte autochtone (*Lactobacillus*, *Leuconostoc*, levures). Cette méthode traditionnelle favorise l'adaptation locale et génère des arômes uniques (diversité de 50+ souches vs 5 en DVS). Avantages : authenticité sensorielle (hausse de 30-50 % en esters et aldéhydes), coût nul, robustesse aux conditions locales. Inconvénients : variabilité (échecs de fermentation à 20-30 %), risques microbiens (pathogènes comme *Listeria*), absence de standardisation (**Settanni & Moschetti, 2010**).

Tableau 07 : Types de starters : purs, mixtes, commerciaux, naturels.

Type	Avantage clé	Inconvénient clé	Application typique
Purs	Précision	Vulnérabilité phage	Fromages frais industriels
Mixtes	Synergie arômes	Interactions complexes	Yaourts texturés
Commerciaux DVS	Facilité	Coût élevé	Production à grande Echelle
Naturels	Authenticité	Variabilité	Produits AOP Artisansaux

2.4. Critères de sélection des souches : acidification, résistance, enzymatique

2.4.1. Vitesse d'acidification

Évalue la production rapide d'acide lactique (baisse de pH de 6,5 à <5,3 en 6 h à 30 °C), essentielle pour la coagulation du lait. Les meilleures souches réduisent le pH à 4,6 en 4-6 h via une fermentation homolactique. Chez *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus*, cette aptitude est synergique en co-culture, accélérant la formation du caillé. Elle dépend du lactate déshydrogénase, avec des variations inter-espèces (**Tamime, 2006**).

2.4.2. Tolérance aux stress

Inclut la viabilité >60 % à pH 2-3, en présence de sels biliaries (0,3 0,5 %) et de pepsine (0,5 % à 37 °C), cruciale pour les probiotiques gastro-intestinaux. Des isolats algériens (*Weissella cibaria*, *L. plantarum*) survivent >80 % sous ces conditions via des biomarqueurs comme *mleA*. L'absence de pathogènes est confirmée par antibiogrammes et tests hémolytiques. Cette résilience est phylogénétique, liée à des taxons QPS (EFSA) comme *Lactiplantibacillus* (Tsega *et al.*, 2023 ; Gökmen *et al.*, 2024).

2.4.3. Activités enzymatiques

Incluent la protéolyse (caséine → peptides pour arômes), une faible lipolyse (<0,5 U/g) et la production d'exopolysaccharides (EPS, 1-4 mg/mL pour la texture). Chez des souches de lait de chamelle, la protéolyse atteint 15-20 % et la production de riboflavine 2,4 mg/L. *L. plantarum* excelle en dégradation malique (acétoïne >30 g/L) et possède un citrate lyase pour les saveurs. Ces profils sont évalués par API-ZYM (Savijoki *et al.*, 2006 ; Welman & Maddox, 2003).

2.4.4. Lien taxonomique et sécurité

Les souches doivent être GRAS (FDA, *ex. L. lactis*) ou QPS (EFSA, *L. plantarum* >99 % d'identité 16S rDNA), intégrant sécurité et performance. L'homogénéité génétique exclut les pathogènes et les gènes de virulence. La taxonomie phylogénétique (API 50CH, MALDI-TOF) lie le phénotype (croissance à pH 4-7) à l'innocuité industrielle. Exemple : *Bifidobacterium* en co-culture avec des thermophiles pour des yaourts stables 28 jours à 4 °C.

3. Propriétés technologiques des souches issues du groupe *Lactobacillus* sensu lato

Les souches du groupe *Lactobacillus* sensu lato possèdent des propriétés technologiques essentielles, particulièrement adaptées aux performances en milieu laitier, où elles agissent comme cultures starters pour l'acidification rapide, la texturisation et la maturation des produits laitiers fermentés tels que yaourts et fromages. Ces propriétés incluent un pouvoir acidifiant élevé, une activité protéolytique et lipolytique contrôlées, qui contribuent à la qualité organoleptique et à la conservation, avec *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* et *L. helveticus* comme espèces phares en raison de leur cinétique rapide et de leur tolérance aux conditions acides (Chandan &

Kilara, 2013 ; Gobbetti et al., 2018). Leur sélection industrielle repose sur une dominance en milieu laitier riche en lactose, une stabilité métabolique et une synergie avec *Streptococcus thermophilus*.

3.1. Pouvoir acidifiant et cinétique d'acidification

Le pouvoir acidifiant des souches *Lactobacillus* sensu lato se mesure par la variation de pH par unité de temps ($\Delta\text{pH}/\text{temps}$), souvent exprimée en vitesse maximale d'acidification (V_{max} , typiquement -0,3 à -0,9 h⁻¹ en milieu laitier), via la production d'acide L(+)-lactique à partir du lactose par la voie homofermentaire (**Walstra et al., 2006**). La cinétique est influencée par la température (optimum 40-45 °C pour *L. delbrueckii subsp. bulgaricus*), la disponibilité des substrats (lactose, peptides issus de la protocoopération avec *S. thermophilus*), le pH initial et la présence d'extraits levurins favorisant la croissance. Par exemple, *L. delbrueckii subsp. Bulgaricus* acidifie rapidement le lait de chèvre jusqu'à pH 4,12 en 6-8 h avec une acidité titrable de 84 °D, surpassant *L. helveticus* en vitesse initiale mais restant sensible à la post-acidification (**Tamime, 2006**).

3.2. Activité protéolytique et lipolytique

L'activité protéolytique des *Lactobacillus* sensu lato implique des protéases extracellulaires (PepO, PepP) et des peptidases qui dégradent les caséines en peptides et acides aminés libres, essentiels pour l'arôme (composés volatils comme aldéhydes et cétones) et la texture (coagulation et réduction de la synérèse) lors de la maturation fromagère (**Savijoki et al., 2006**).

L'activité lipolytique, via des lipases/estérases, hydrolyse les triglycérides en acides gras libres (notamment courts et moyens), contribuant aux saveurs rances ou piquantes dans les fromages affinés comme le Cheddar ou le Roquefort, bien que contrôlée pour éviter les défauts. Ces enzymes impactent positivement la maturation en libérant des précurseurs aromatiques, mais une activité excessive peut causer de l'amertume ou de la rancidité, nécessitant une sélection de souches modérées comme *L. casei* (**Gobbetti et al., 2018**).

3.3. Production d'exopolysaccharides (EPS)

Les EPS produits par *Lactobacillus* sensu lato sont des biopolymères extracellulaires homopolysaccharidiques (hoEPS, **ex.** : dextranes, mutanes) ou hétéropolysaccharidiques (héEPS, **ex.** : galactanes), synthétisés via un cluster génique *eps* (*epsA-K*) impliquant polymérases, glycosyltransférases et flippases, avec une régulation par quorum-sensing et stress osmotique en milieu laitier (**Welman & Maddox, 2003**).

Ils augmentent la viscosité in situ des yaourts (réduction de la synérèse de 20-40 %, amélioration du module G' de 2 à 5 fois), conférant une texture crémeuse sans additifs, comme chez *Lactiplantibacillus plantarum* WCFS1 produisant 300 mg/L d'EPS ropy sous saccharose/lactose. Des études récentes montrent que la surexpression du locus *eps* chez *L. rhamnosus* booste la production à 450 mg/L, corrélée à une meilleure adhésion épithéliale et à une stabilité rhéologique accrue.

3.4. Production de composés aromatiques et texturants

Lactobacillus sensu lato génère des composés aromatiques clés via la fermentation lactique et du citrate, dont le diacétyl (arôme beurré, 0,5-2 mg/kg dans les yaourts) par réduction asymétrique du citrate en acétolactate, et l'acétaldéhyde (notes vertes/fruitées, 5-20 ppm) par décarboxylation du pyruvate, modulés par des aldéhydes déshydrogénases (AldDH) et α -acétolactate décarboxylases (α -ALD) (**Tamime, 2006**). Ces voies métaboliques, optimisées chez *L. casei* et *L. helveticus*, contribuent aussi à des texturants comme l'acétate d'éthyle (fruité) et le 3-méthylbutanal (malty), analysés par GC-MS/GC-O pour des panels sensoriels confirmant une préférence pour les souches high-producers (intensité aromatique +25-35 %).

L'impact est critique en fromagerie, où ces composés accélèrent la maturation et masquent les notes amères (**Tamime, 2006**).

3.5. Tolérance aux contraintes technologiques (pH, NaCl, température)

La tolérance est évaluée par des tests de survie (viabilité logarithmique après 2-4 h d'exposition) : >10⁶ UFC/mL à pH 3,0-4,0 (via pompes H⁺-ATPases et accumulation de glutamate), à 4-6,5 % NaCl (jusqu'à 1,1 mol/L, par uptake d'ions K⁺ et glycine-bétaïne) et à des températures extrêmes (4 °C stockage, 45 °C fermentation, 50 °C thermosonication) chez *Lactiplantibacillus plantarum* BG24 et *L. helveticus* (**Drosinos et al., 2019 ; Pérez-Chabela et al., 2018**). Des adaptations

génétiques incluent la surexpression de betL (osmoprotectant) sous NaCl et de clpP (protéolyse de stress) à basses températures, pertinentes pour le stockage réfrigéré (pH final 4,2-4,5 stable >30 jours) et la sécurité des produits laitiers. *L. plantarum* ATCC 8014 tolère jusqu'à 6 % NaCl à 16 °C via modélisation RSM, prédisant $\mu_{\max} = 0,15 \text{ h}^{-1}$ sous contraintes combinées.

3.6. Stabilité génétique et aptitude à la fermentation du lait

La stabilité génétique repose sur la conservation de plasmides codant des protéases (pepO/N) et des systèmes anti-phages (CRISPR-Cas, infection abortive), avec <0,5 % de mutants défectueux sur 100 générations en lait reconstitué (10 % skim milk, 42°C), assurant un pouvoir acidifiant constant ($\Delta\text{pH}/3\text{h} = -0,5$) et une dominance >95 %. Des essais confirment le maintien des propriétés (EPS, protéolyse) malgré une exposition aux phages P335 ou 936, grâce à des souches lysogènes stables et une sélection par génotypage MLST. En lait UHT reconstitué, *L.delbrueckii subsp. bulgaricus* fermente jusqu'à 105 L/batch sans perte de cinétique, validée par qPCR monitorant la stabilité plasmidique (**Papadimitriou et al., 2016**).

MATERIELS ET METHODES

La présente étude a été réalisée au sein du laboratoire de microbiologie de l'Université Belhadj Bouchaïb d'Aïn Témouchent la période de travail s'est du mois de février jusqu'au au mois de mai 2026.

1. Echantillonnage et prélèvements

Un total de 8 échantillons de lait cru de vache et de chèvre a été collecté dans cinq régions d'Algérie (Aïn Témouchent, Chlef, Biskra, Oran et Touggourt). Les échantillons ont été prélevés à partir de différentes sources locales dans des conditions hygiéniques appropriées. Après prélèvement, les échantillons ont été transportés immédiatement vers le laboratoire dans une glacière maintenue à une température d'environ 4 °C, afin de préserver leur qualité microbiologique jusqu'aux analyses.

2. Isolement des bactéries lactiques

L'isolement des bactéries lactiques a été effectué à partir des échantillons étudiés sur milieu MRS (de Man, Rogosa et Sharpe), reconnu pour sa sélectivité vis-à-vis de ce groupe bactérien. L'ensemencement a été réalisé aseptiquement par la méthode des stries à la surface des boîtes de Pétri contenant le milieu gélosé, dans le but d'obtenir des colonies bien individualisées.

Après incubation à 37 °C pendant 24 à 48 heures, les colonies présentant une morphologie caractéristique des bactéries lactiques ont été sélectionnées pour les étapes ultérieures d'étude (**De Man et al, 1960 ; Holzapfel & Schillinger, 1992**).

3. Purification des souches

La purification des souches isolées a été réalisée par des repiquages successifs sur gélose MRS selon la méthode des stries. Des colonies bien distinctes ont été prélevées aseptiquement puis transférées sur de nouvelles boîtes contenant le même milieu de culture. Après incubation à 37 °C pendant 24 heures, l'opération a été renouvelée jusqu'à l'obtention de colonies homogènes présentant des caractéristiques macroscopiques identiques, témoignant de la pureté des cultures.

Les souches purifiées ont ensuite été maintenues sur milieu MRS en vue de leur conservation et de leur utilisation dans les analyses microbiologiques ultérieures (**Cappuccino & Welsh, 2017 ; Harrigan, 1998**).

4. Conservation des souches purifiées

Après l'isolement des bactéries lactiques sur milieu MRS et l'obtention de colonies bien individualisées, des colonies représentatives ont été sélectionnées pour une caractérisation préliminaire. Une coloration de Gram ainsi qu'un test de la catalase ont été réalisés afin de confirmer leur appartenance au groupe des bactéries lactiques. Seules les souches Gram positives et catalase négative ont été retenues pour les étapes de purification et de conservation (**Harrigan, 1998 ; Holzapfel & Schillinger, 1992**).

4.1. Conservation à court terme

Les souches purifiées ont été repiquées sur gélose MRS inclinée puis incubées à 30–37 °C pendant 24 h. Après développement bactérien, les cultures ont été conservées à 4 °C afin de maintenir leur viabilité et de permettre leur utilisation lors des analyses microbiologiques ultérieures (**Harrigan, 1998**).

4.2. Conservation à long terme

Pour la conservation à long terme, les cellules bactériennes issues d'une culture fraîche en milieu liquide ont été récupérées par centrifugation à 4000 tr/min pendant 10 min. Après élimination du surnageant et lavage des cellules avec une solution physiologique stérile, le culot bactérien a été mis en suspension dans un milieu cryoprotecteur composé de lait écrémé et de glycérol. Les suspensions obtenues ont ensuite été réparties dans des microtubes stériles et conservées à –20 °C pour assurer le maintien des souches sur une longue durée (**Saidi *et al*, 2002**).

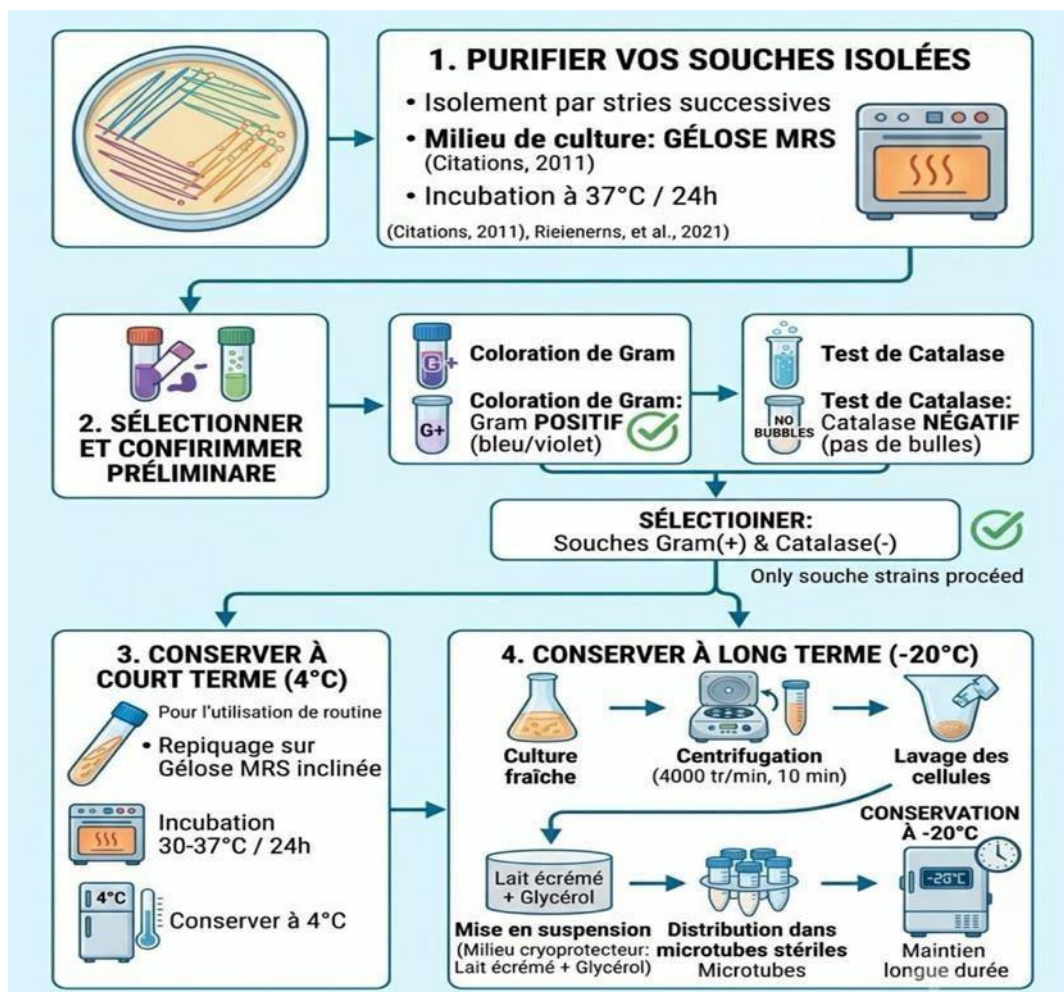


Figure 07 : Protocole d'isolement des souches lactiques.

5. Pré-identification des isolats

La pré-identification a été basée sur des plusieurs critères tel que des caractères morphologiques physiologiques divers caractères biochimiques : production d'enzymes, température de croissance, production de gaz carbonique, fermentation de divers sucre, la thermorésistance, la croissance dans des différentes concentrations de NaCl et pH....etc

5.1. Critères morphologiques

5.1.1. Caractéristiques macroscopiques

L'étude macroscopique a été réalisée après culture des souches sur gélose MRS et incubation. Cette observation permet d'évaluer la forme, la taille, la couleur, le relief et l'aspect de surface des colonies bactériennes (**De Vos *et al*, 2009**).

Les bactéries lactiques forment généralement des colonies circulaires, lisses, convexes, de couleur blanche à crème et à bords réguliers, caractéristiques fréquemment rapportées pour ce groupe bactérien (**Holzapfel & Wood, 2014**).

5.1.2. Caractéristiques microscopiques

L'examen microscopique a été effectué afin de déterminer la morphologie cellulaire, le mode de regroupement ainsi que la réaction des souches à la coloration de Gram (**Jay *et al*, 2005**).

Les bactéries lactiques sont généralement des microorganismes Gram positifs se présentant sous forme de coques ou de bacilles, isolés, en paires ou en chaînes (**De Vos *et al*, 2009 ; Holzapfel & Wood, 2014**).

➤ Observation à l'état frais

L'observation à l'état frais permet d'examiner directement la morphologie des cellules et d'apprécier leur mobilité éventuelle à partir de cultures liquides observées entre lame et lamelle sous microscope optique (**Cappuccino & Welsh, 2017**).

➤ Coloration de Gram

La coloration de Gram est une méthode différentielle fondée sur la structure de la paroi bactérienne. Les bactéries Gram positives retiennent le complexe cristal violet-iodine et apparaissent violettes, tandis que les bactéries Gram négatives se colorent en rose après contre-coloration (**Gram, 1884 ; Cappuccino & Welsh, 2017**).

5.2. Critères physiologiques et biochimique

5.2.1. Test de l'oxydase

Le test de l'oxydase permet de mettre en évidence la présence de l'enzyme cytochrome oxydase chez les bactéries. Une colonie fraîche issue d'une culture sur gélose MRS est prélevée à l'aide d'une anse stérile puis mise en contact avec un disque ou un papier imprégné de réactif oxydase. L'apparition d'une coloration violette foncée dans les 10 à 30 secondes indique une réaction positive, tandis que l'absence de coloration traduit une réaction négative. Les bactéries lactiques présentent généralement un test oxydase négatif en raison de l'absence de cette enzyme (**Delarras, 2007**).

5.2.2. Test de la catalase

Le test de la catalase est utilisé pour mettre en évidence la présence de l'enzyme catalase capable de dégrader le peroxyde d'hydrogène. Une colonie bactérienne fraîche est prélevée sur gélose MRS puis déposée dans une goutte d'eau oxygénée (H₂O₂) à 3 %. L'apparition immédiate de bulles d'oxygène indique une réaction positive, alors que l'absence de dégagement gazeux correspond à une réaction négative. Les bactéries lactiques sont généralement catalase négative (**Ahmed & Irene, 2007**).

- La réaction de décomposition est la suivante



5.2.3. Type fermentaire

Le test fermentaire permet d'évaluer la capacité des souches bactériennes à fermenter les substrats présents dans le milieu de culture avec production éventuelle de gaz.

Les souches bactériennes sont inoculées dans des tubes contenant du bouillon MRS munis d'une cloche de Durham, puis incubées à 37°C pendant 24 à 48 heures.

Après incubation, la croissance bactérienne est évaluée par l'apparition d'une turbidité du milieu, tandis que la production de gaz est mise en évidence par la présence de bulles d'air à l'intérieur de la cloche de Durham.

Une turbidité accompagnée ou non d'une production de gaz indique une activité fermentaire positive, alors que l'absence de trouble et de gaz traduit un résultat négatif. Ce test permet ainsi de caractériser le métabolisme fermentaire des bactéries lactiques étudiées (**Zhang *et al.* , 2021**).

5.2.4. Croissance de différentes concentrations de NaCl

Le test de tolérance au NaCl permet d'évaluer la capacité des souches bactériennes à se développer en présence de différentes concentrations de chlorure de sodium.

Les souches sont inoculées dans du bouillon MRS supplémenté en NaCl à 2 %, 4 % et 6 %, puis incubées à 37°C pendant 24 à 48 heures.

La présence d'une turbidité du milieu indique une croissance bactérienne et donc une tolérance à la concentration testée, tandis qu'un milieu limpide traduit une absence de croissance.

Les bactéries lactiques présentent généralement une bonne tolérance aux concentrations modérées en sel (**Touret *et al.*, 2023**).

5.2.5. Thermorésistance

Le test de thermorésistance permet d'évaluer la capacité des souches bactériennes à survivre à un traitement thermique élevé.

Une suspension bactérienne fraîche préparée dans du bouillon MRS est exposée à une température de 90°C pendant 30 minutes. Après ce traitement, les tubes sont rapidement refroidis dans un bain d'eau froide afin de stopper l'effet de la chaleur. Un ensemencement est ensuite réalisé sur gélose MRS suivi d'une incubation à 37°C pendant 24 à 48 heures.

La présence de croissance bactérienne après incubation indique la survie des souches au traitement thermique (résultat positif), tandis que l'absence de croissance traduit leur sensibilité à la chaleur.

Ce test permet d'évaluer la résistance thermique des bactéries lactiques destinées à certaines applications industrielles (**Pérez Montoro *et al.*, 2022**).

5.2.6. Recherche de la β -galactosidase les disques ONPG

Le test ONPG permet de mettre en évidence la présence de l'enzyme β -galactosidase responsable de l'hydrolyse de l'orthonitrophényl- β -D-galactopyranoside.

Une suspension bactérienne fraîche est mise en contact avec un disque ONPG puis incubée à température appropriée.

En présence de l'enzyme β -galactosidase, l'ONPG est hydrolysé en orthonitrophénol provoquant l'apparition d'une coloration jaune caractéristique.

L'apparition d'une coloration jaune indique une réaction positive, tandis que l'absence de coloration correspond à un résultat négatif.

Ce test permet notamment de caractériser certaines bactéries capables de fermenter le lactose (Zhang *et al*, 2021).

5.2.7. Tolérances au pH acide (pH 2 et pH 3)

Ce test permet d'évaluer la capacité des souches bactériennes à survivre et à se développer dans des conditions fortement acides simulant l'environnement gastrique.

Les souches sont inoculées dans un bouillon MRS ajusté à pH 2 et pH 3, puis incubées à température appropriée. La croissance bactérienne est suivie par mesure de la densité optique à différents temps d'incubation.

Une augmentation de l'absorbance indique une bonne tolérance aux conditions acides, tandis qu'une diminution des valeurs traduit une inhibition de la croissance bactérienne.

La résistance aux faibles pH représente une propriété importante des bactéries lactiques destinées à des applications technologiques et probiotiques (Dlamini *et al*, 2019).

5.2.8. Identification par galerie API 50 CHL

Pour la détermination de l'espèce, des galeries API (BioMerieux, France) ont été utilisées pour la mise en évidence de l'activité enzymatique et le profil de fermentation des hydrates de carbone. Les souches ont été isolées depuis une boîte MRS cultivée à 30°C. Dans 10 ml de suspension medium d'API 50 CHL afin d'obtenir une suspension dense. Cette préparation était égale à une opacité supérieure à 2 Mc Ferland (densité des cellules équivalente à 6.10^8

UFC.mL⁻¹). Après l'homogénéisation, la suspension médium ainsi inoculée a été répartie dans des microtubes qui contiennent des substrats déshydratés. Les tests soulignés ont été recouverts d'huile de vaseline (ou huile de paraffine) pour éviter un éventuel dégagement gazeux. La galerie a été incubée à 37°C pendant 48h. La lecture du profil biochimique pour identifier les bactéries lactiques a été faite à l'aide de la plateforme d'identification UPBM

(<https://lab.upbm.org/identifieur/>).



Figure 08 : inoculation de la galerie Api 50CH avec la suspension bactérienne de la souche.

6. Etude des aptitudes biotechnologiques

6.1. Test de production d'exopolysaccharides (EPS)

Le test de production d'exopolysaccharides (EPS) permet d'évaluer la capacité des souches bactériennes à produire des polysaccharides extracellulaires impliqués dans l'amélioration de la texture des produits laitiers.

Les souches sont ensemencées sur gélose MRS supplémentée en saccharose à 2 %, puis incubées pendant 24 à 48 heures.

La production d'EPS est mise en évidence par l'apparition de colonies muqueuses ou filantes ainsi qu'une consistance visqueuse autour des colonies.

Un aspect muqueux et filant indique une production positive d'EPS, tandis qu'un aspect sec et non visqueux traduit une faible ou une absence de production.

La production d'EPS constitue une propriété technologique importante chez les bactéries lactiques utilisées dans l'industrie laitière (**Abedi et Hashemi, 2020**).

6.2. Test de l'activité protéolytique et acidifiante

Le test de l'activité protéolytique vise à mettre en évidence la capacité des souches bactériennes à hydrolyser les protéines du lait, principalement la caséine. Initialement, le milieu prévu pour cette étude était le milieu DTA additionné de 5 % de lait totalement écrémé.

Les souches étudiées sont ensemencées par stries à la surface de la gélose au lait (DTA + lait), puis incubées à 37 °C pendant 24 à 48 heures. Après incubation, l'apparition d'un halo clair autour des colonies traduit une activité protéolytique positive, correspondant à l'hydrolyse de la caséine du lait, tandis que l'absence de zone de clarification indique une activité négative (**Pérez Montoro et al, 2022**). Cette activité enzymatique peut contribuer aux propriétés technologiques et organoleptiques des produits laitiers fermentés (**Cappuccino & Welsh, 2017 ; Madigan et al, 2018**).

Le virage de la couleur du milieu vers le jaune autour des colonies indique une activité acidifiante positive liée à libération de l'acide lactique dans le milieu (**Madigan et al, 2018**).

6.3. Test activité antimicrobienne

Le test d'activité antimicrobienne permet d'évaluer le pouvoir inhibiteur des souches bactériennes vis-à-vis de microorganismes pathogènes.

La méthode de diffusion sur gélose Mueller-Hinton est utilisée après ensemencement en surface des souches indicatrices telles que *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Enterobacter cloacae*.

Des puits sont réalisés dans la gélose puis remplis avec une micropipette 100 µL de surnageant des bactéries lactiques testées.

Après incubation à 37°C pendant 24 à 48 heures, l'activité antimicrobienne est mise en évidence par l'apparition de zones d'inhibition autour des puits.

La mesure du diamètre des halos d'inhibition permet d'évaluer le degré d'activité antagoniste des bactéries lactiques vis-à-vis des souches pathogènes (**Touret et al., 2023**).

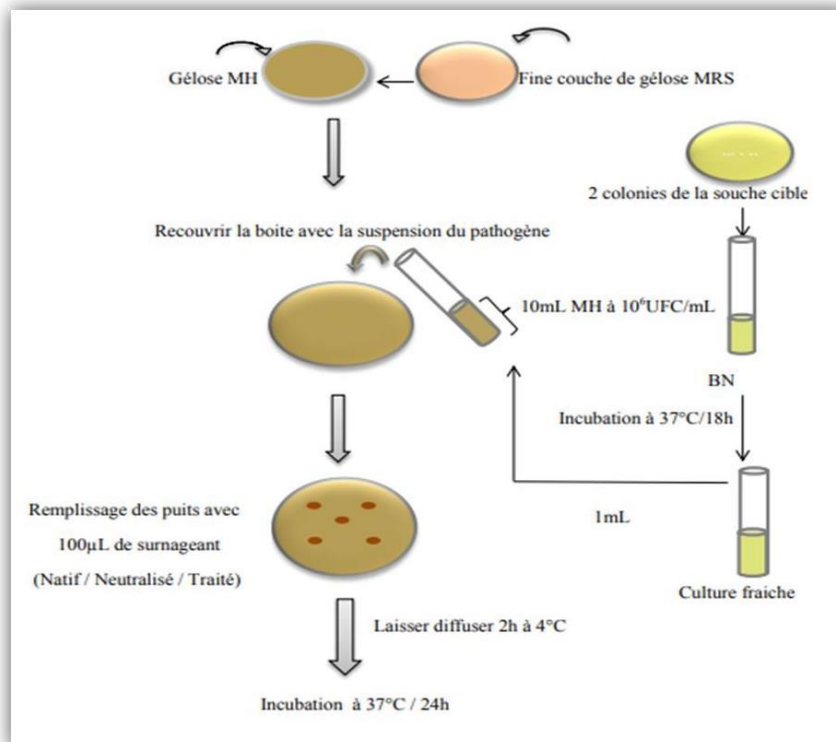


Figure 09 : Etapes de réalisation du test des puits. (Modifié la figure) ensemencement par patch.

6.4. Test de tolérance à la bile

Le test de tolérance à la bile permet d'évaluer la capacité des souches bactériennes à survivre en présence de sels biliars simulant les conditions intestinales.

Les souches bactériennes sont inoculées dans du bouillon MRS supplémenté en sels biliars (0.1 et 0.3 %) puis incubées pendant 24 heures à température appropriée.

La croissance bactérienne est évaluée par mesure de la densité optique ou par observation de la turbidité du milieu à une longueur d'onde de 600 nm. Une croissance maintenue indique une bonne tolérance à la bile, tandis qu'une diminution importante de la croissance traduit une sensibilité aux sels biliars.

Cette propriété représente un critère important dans la sélection des bactéries lactiques à potentiel probiotique (**Dlamini et al, 2019**).

6.5. Test lipolytique :

Le test d'activité lipolytique a été réalisé afin d'évaluer la capacité des souches bactériennes à hydrolyser les lipides et à produire des enzymes lipolytiques. Dans un premier temps, un milieu MRS supplémenté en huile d'olive a été préparé et utilisé comme substrat lipidique pour la mise en évidence de l'activité lipolytique des souches étudiées. Cependant, après incubation, une contamination du milieu a été observée, rendant les

résultats non exploitables et empêchant une interprétation fiable de l'activité lipolytique. Afin de remédier à ce problème, le test a été repris sur un milieu MRS additionné de Rhodamine B, un indicateur fluorescent permettant une détection plus précise de l'hydrolyse des lipides.

Les souches bactériennes ont été inoculées puis incubées à 37 °C pendant 24 à 48 heures. L'activité lipolytique a été mise en évidence par l'apparition d'une fluorescence ou d'un halo autour des colonies sous lumière UV, traduisant l'hydrolyse des lipides et la libération d'acides gras. L'absence de fluorescence ou de halo a été interprétée comme une activité lipolytique négative (Kouker & Jaeger, 1987 ; Mendes & de Castro, 2004).

RESULTAT ET DISCUSSION

1. Isolement des bactéries lactiques

À partir de 8 échantillons de lait collectés dans différentes régions, 46 souches bactériennes ont été isolées. Après préidentification, 35 souches présentant les caractéristiques des Lactobacilles apparenté aux genres recherchés ont été retenues pour la suite de l'étude, tandis que les autres isolats ont été éliminés.

La purification des souches sélectionnées a été réalisée par des repiquages successifs sur les milieux MRS afin d'obtenir des cultures pures. Les colonies obtenues présentaient des caractéristiques morphologiques homogènes typiques des bactéries lactiques, notamment une couleur blanc crème, une forme régulière et une surface lisse (**De Vos et al., 2009 ; Holzapfel & Wood, 2014**).

2. Identification des isolats

2.1. Critères morphologiques

2.1.1. L'aspect macroscopique

L'observation macroscopique a été réalisée après incubation des 35 souches sur gélose MRS pendant 24 à 48 h à 37 °C. L'examen visuel des colonies a révélé des caractéristiques homogènes et typiques des bactéries lactiques.

Les colonies observées sont de forme circulaire, de taille petite à moyenne, et présentent une coloration blanc crème à blanchâtre. Leur surface est lisse et brillante, avec un relief convexe et des bords réguliers bien définis. Aucune pigmentation particulière ni aspect irrégulier n'a été observé.

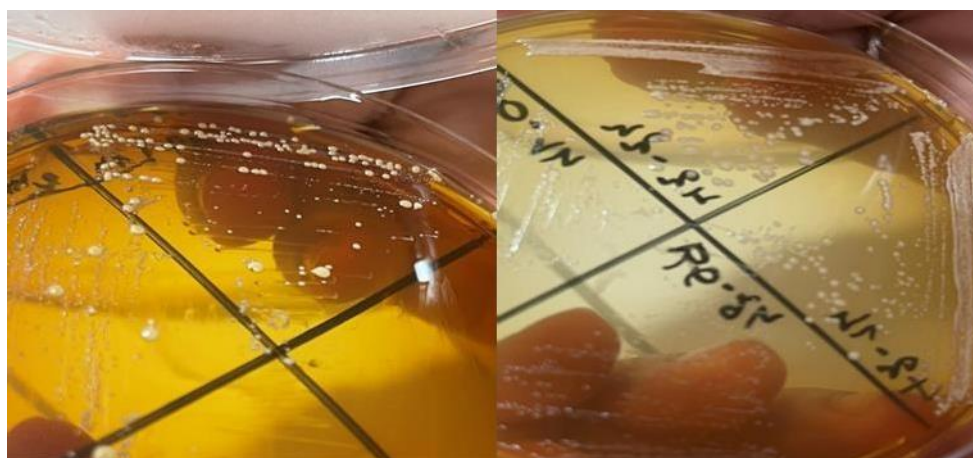


Figure 10 : observation macroscopique des souches.

Ces observations concordent avec les descriptions classiques des bactéries lactiques isolées à partir de produits laitiers. En effet, ces microorganismes forment généralement des colonies blanches à crème, lisses et convexes sur gélose MRS (**Axelsson, 2004**).

Par ailleurs, l'homogénéité des colonies observées suggère la pureté des souches isolées et confirme l'efficacité des étapes d'isolement et de purification réalisées au cours de l'étude (**Holzapfel & Wood, 2014 ; Hutkins, 2008**).

2.1.2. L'aspect microscopique

Après coloration de Gram et coloration simple, les souches ont été observées au microscope optique afin de déterminer leur morphologie cellulaire, leur réaction de Gram ainsi que leur arrangement cellulaire.

Les résultats obtenus montrent que l'ensemble des souches étudiées sont Gram positif. L'observation microscopique révèle une diversité morphologique comprenant principalement des bacilles, ainsi que des formes coccobacillaires. Ces cellules apparaissent isolées ou regroupées en courtes chaînettes, caractéristiques des bactéries lactiques.

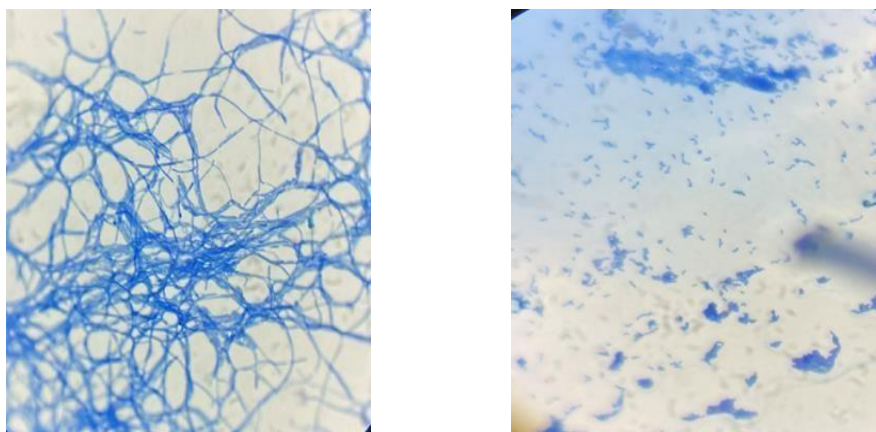


Figure 11 : observation microscopique des souches des bactéries lactique après coloration simple (X100).

La coloration de Gram constitue une étape fondamentale dans l'identification préliminaire des bactéries lactiques, car ces microorganismes possèdent une paroi riche en peptidoglycane responsable de la coloration violette caractéristique (**Axelsson, 2004**). La coloration simple permet également une meilleure visualisation de la morphologie cellulaire et facilite la distinction des différentes formes observées, notamment les bacilles, coccobacilles et cocci.

RESULTAT ET DISCUSSION

Les résultats obtenus concordent avec les caractéristiques générales des bactéries lactiques décrites dans la littérature, lesquelles sont majoritairement Gram positif et non sporulées (**Holzapfel & Wood, 2014**). La diversité morphologique observée peut être liée aux différences physiologiques entre les souches ainsi qu'aux conditions de culture, phénomène fréquemment rapporté chez les bactéries lactiques.

La morphologie bacillaire demeure cependant prédominante et reste typique des bactéries appartenant au groupe des *Lactobacillus sensu lato*, connues pour leur forme allongée et leur disposition en cellules isolées ou en courtes chaînettes (**Hammes & Vogel, 1995**).

2.2. Critères physiologiques et biochimiques

2.2.1. Test oxydase et catalase

Les souches représentatives ont été sélectionnées et soumises aux tests de la catalase et de l'oxydase afin de compléter leur identification. Le test de la catalase n'a révélé aucune formation de bulles après addition du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), tandis que le test de l'oxydase n'a montré aucune coloration violette après ajout du réactif spécifique. Ainsi, l'ensemble des souches étudiées se sont révélées négatives au test de la catalase et oxydase (Tableau 8).

Ces résultats constituent une caractéristique typique des bactéries lactiques, qui sont généralement incapables de dégrader le peroxyde d'hydrogène et dépourvues de cytochromes fonctionnels, leur métabolisme reposant principalement sur des voies fermentaires (**Axelsson, 2004**). L'absence de ces deux activités enzymatiques est largement utilisée comme critère d'identification des bactéries lactiques dans les études microbiologiques et permet de les distinguer de nombreuses bactéries aérobies (**Holzapfel & Wood, 2014 ; Hammes & Vogel, 1995**).

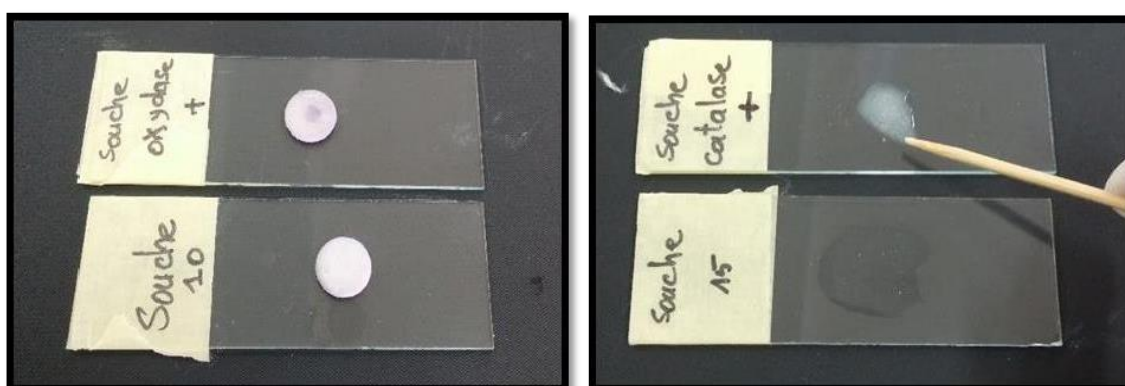


Figure 12 : tests oxydase et de la catalase.

2.2.2 type fermentaire

Les résultats du test fermentaire montrent que les 35 souches étudiées présentent une réaction négative. Aucune production de gaz n'a été observée dans les tubes de Durham après incubation (Figure 13), traduisant l'absence de dégagement de CO₂ lors de la fermentation des glucides.



Figure 13 : résultats du test fermentaire.

D'après les résultats obtenus (Tableau 8), les souches étudiées présentent majoritairement un profil homofermentaire, caractérisé essentiellement par la production d'acide lactique sans formation de gaz.

Ce type de métabolisme est fréquemment observé chez plusieurs bactéries lactiques isolées des produits laitiers, notamment chez des espèces telles que *Lactococcus lactis*, *Lacticaseibacillus casei* et *Lactiplantibacillus plantarum*, reconnues pour leur activité homofermentaire (Axelsson, 2004 ; Holzapfel & Wood, 2014).

La fermentation homofermentaire constitue une propriété technologique importante dans l'industrie agroalimentaire, en raison de son rôle dans l'acidification des produits fermentés et l'amélioration de leur stabilité microbiologique.

2.2.3 Teste de tolérance au NaCl :(2%,4%,6%)

Le test de tolérance au NaCl a été réalisé afin d'évaluer la capacité des souches à croître de croissance en présence de différentes concentrations en sel (2 %, 4 % et 6 %). Après incubation, une croissance visible a été observée pour la majorité des souches aux faibles concentrations, tandis qu'une diminution progressive de la croissance a été notée à la concentration la plus élevée.



Figure 14 : résultats de test de tolérance NaCl.

La croissance observée en présence de NaCl traduit la capacité d'adaptation osmotique des bactéries lactiques. Les résultats obtenus (Tableau 8) montrent que les souches étudiées tolèrent bien les concentrations faibles et modérées en sel, alors que la croissance devient plus limitée aux concentrations élevées en NaCl.

Cette observation concorde avec les données de la littérature indiquant que les bactéries lactiques présentent généralement une bonne tolérance jusqu'à 4 % de NaCl, tandis que la croissance devient limitée à 6 % selon la souche (Axelsson, 2004 ; Holzapfel & Wood, 2014).

La tolérance au sel constitue un critère technologique important dans la sélection des souches destinées à la fabrication des produits fermentés salés.

2.2.4. Test thermorésistance

Le test de thermorésistance a été réalisé sur les souches soumises à un traitement thermique de 90 °C pendant 30 minutes, suivi d'une incubation à 37 °C afin d'évaluer leur capacité de survie après stress thermique.

Les résultats obtenus (Tableau 8) montrent une variabilité de croissance entre les différentes souches, mettant en évidence des niveaux de tolérance à la chaleur différents selon les isolats.

La présence de souches capables de survivre après le traitement thermique témoigne de leur aptitude à s'adapter à des conditions de stress sévères. Cette caractéristique est particulièrement intéressante dans le domaine agroalimentaire, où les procédés technologiques impliquent souvent des étapes de chauffage.

Bien que les bactéries lactiques soient généralement considérées comme sensibles à la chaleur, certaines souches possèdent des mécanismes de protection cellulaire leur conférant une meilleure résistance thermique à des températures élevées (**Hutkins, 2008**).

Ainsi, la variabilité observée confirme que la thermorésistance est une caractéristique dépendante de la souche, ce qui a également été rapporté par plusieurs auteurs, indiquant que la résistance thermique varie selon l'espèce et les conditions expérimentales (**Holzapfel & Wood, 2014 ; Axelsson, 2004**).

2.2.5. Recherche de la β -galactosidase

Le test de l'activité β -galactosidase a été réalisé à l'aide du disque ONPG afin d'évaluer la capacité des souches à hydrolyser le lactose. Après incubation, la majorité des souches a présenté une coloration jaune indiquant une réaction positive, tandis qu'une seule souche n'a montré aucun changement de couleur.



Figure 15 : Résultat de test β -galactosidase (disque ONPG).

Ces résultats (Tableau 8) montrent que la majorité des souches étudiées possèdent l'enzyme β -galactosidase, confirmant ainsi leur capacité à hydrolyser le lactose. Cette propriété constitue une caractéristique importante des bactéries lactiques isolées de produits laitiers, puisqu'elle permet l'utilisation du lactose comme source d'énergie au cours de la fermentation (**Axelsson, 2004**).

La présence de cette enzyme chez les bactéries lactiques a été largement décrite dans la littérature et représente un critère technologique essentiel dans les procédés de fermentation laitière (**Hutkins, 2008 ; Holzapfel & Wood, 2014**). Par ailleurs, l'activité β -galactosidase joue un rôle important dans l'amélioration de la digestibilité du lactose et contribue au développement des caractéristiques organoleptiques des produits fermentés.

RESULTAT ET DISCUSSION

Tableau 8 : Les résultats de l'identification physiologique et biochimique des souches isolées.

Test Souche	Oxydase	Catalase	Fermentaire	Tolérance NaCl			test thermorésistante	β-galactosidase
				2%	4%	6%		
S1	-	-	-	-	-	-	-	+
S2	-	-	-	+/-	-	-	+	-
S3	-	-	-	+/-	-	-	+	+
S4	-	-	-	+	-	-	-/+	+
S5	-	-	-	+	+	+	+	+
S6	-	-	-	+	+	+	+	+
S7	-	-	-	+	+	-	-	+
S8	-	-	-	+	+	+	-/+	+
S9	-	-	-	+	+	-	-	+
S10	-	-	-	+	+	+	+	+
S11	-	-	-	+	+	-	+	+
S12	-	-	-	+	+	+	-/+	+
S13	-	-	-	+	+	+	-	+
S14	-	-	-	+	+	+	-/+	+
S15	-	-	-	+	+	-	-/+	+
S16	-	-	-	+	-	-	-	+
S17	-	-	-	+	+	-	-	+
S18	-	-	-	+	+	-	-/+	+
S19	-	-	-	+	-	-	-	+
S20	-	-	-	+	+	+	-	+

2.2.6 Test de tolérance aux pH acides

La croissance des souches bactériennes étudiées a été évaluée dans un bouillon MRS ajusté à différents pH acides (pH 2 et pH 3). Les résultats obtenus sont représentés dans les figures 16 et 17. D'après les résultats de notre étude, les souches testées présentent des comportements différents vis-à-vis du stress acide. À pH 2, certaines souches telles que S5 et S29 ont montré une croissance relativement importante au cours de l'incubation, tandis que d'autres souches ont présenté une croissance faible ou une diminution progressive de leur densité cellulaire. En revanche, à pH 3, la majorité des souches ont montré une croissance plus stable et plus élevée comparativement au pH 2, indiquant une meilleure adaptation aux conditions modérément acides.

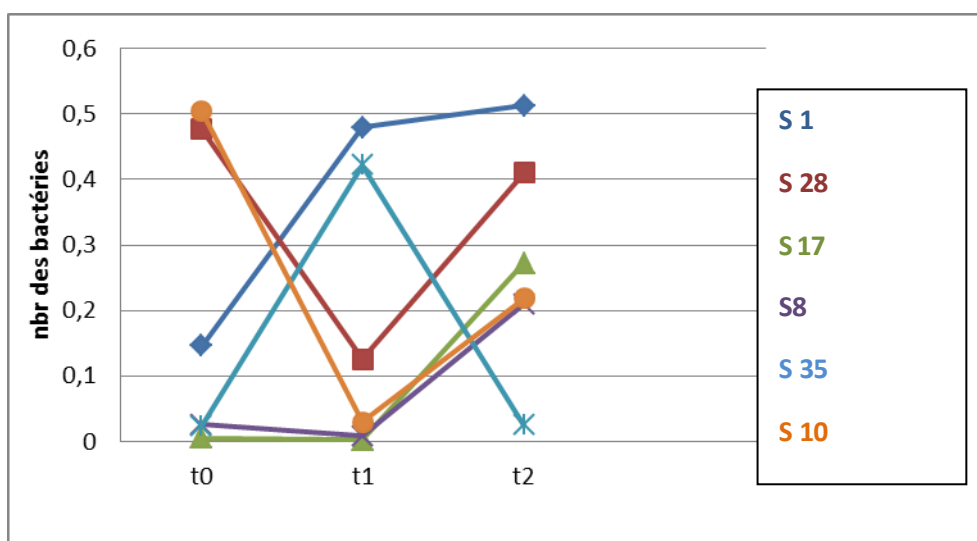


Figure 16 : croissance des bactéries lactique a concentration pH 2.

Les faibles valeurs de pH sont connues pour exercer un effet inhibiteur sur les bactéries en provoquant des perturbations au niveau de la membrane cellulaire, du transport membranaire ainsi que de l'activité enzymatique intracellulaire (**Papadimitriou *et al.*, 2016**). Malgré cela, certaines bactéries lactiques possèdent des mécanismes de résistance au stress acide leur permettant de maintenir leur viabilité dans des conditions défavorables.

La tolérance à l'acidité constitue une propriété essentielle dans la sélection des bactéries lactiques à potentiel probiotique, puisque ces microorganismes doivent survivre au passage dans l'environnement gastrique avant d'atteindre l'intestin (**Charteris *et al.*, 1998**).

RESULTAT ET DISCUSSION

Des résultats similaires ont été rapportés par plusieurs auteurs montrant que les bactéries lactiques isolées des produits laitiers présentent généralement une bonne résistance aux milieux acides, bien que cette capacité varie selon la souche et les conditions expérimentales (Axelsson, 2004 ; Holzapfel & Wood, 2014).

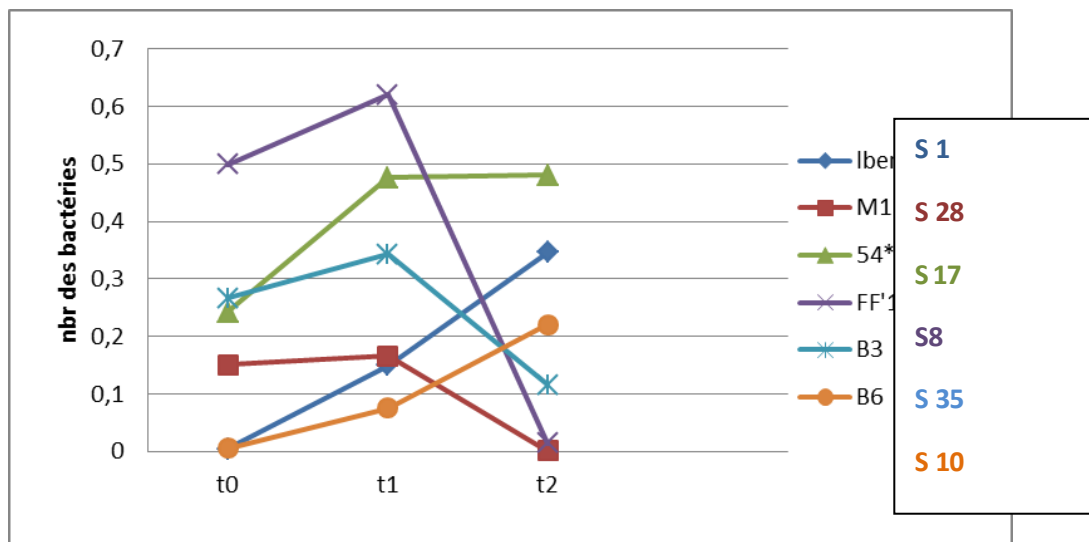


Figure 17 : croissance des bactéries lactique a concentration pH 3.

2.2.7. Identification par galerie API 50 CHL

Les résultats de la fermentation des hydrates de carbone sur la galerie API CHL 50 ont permis l'identification des espèces. Le tableau (9) indique les résultats de profils fermentaires des hydrates de carbone.

Les résultats de l'identification révèlent que les souches appartiennent aux espèces *Lactococcus brevis*, *Lactobacillus curvatus* et *Lactobacillus paracasei ssp paracasei*. Les résultats sont représentés dans le tableau 9 et la Figures 18.

Tableau 9 : Résultat de l’identification par galerie API CHL 50.

Souches	Résultats	Pourcentage
S17	<i>Lactobacillus brevis</i>	99%
S3	<i>Lactobacillus curvatus</i>	99.1%
S27	<i>Lactobacillus plantarum</i>	99.9%
S13	<i>Lactobacillus paracasei ssp paracasei</i>	99%

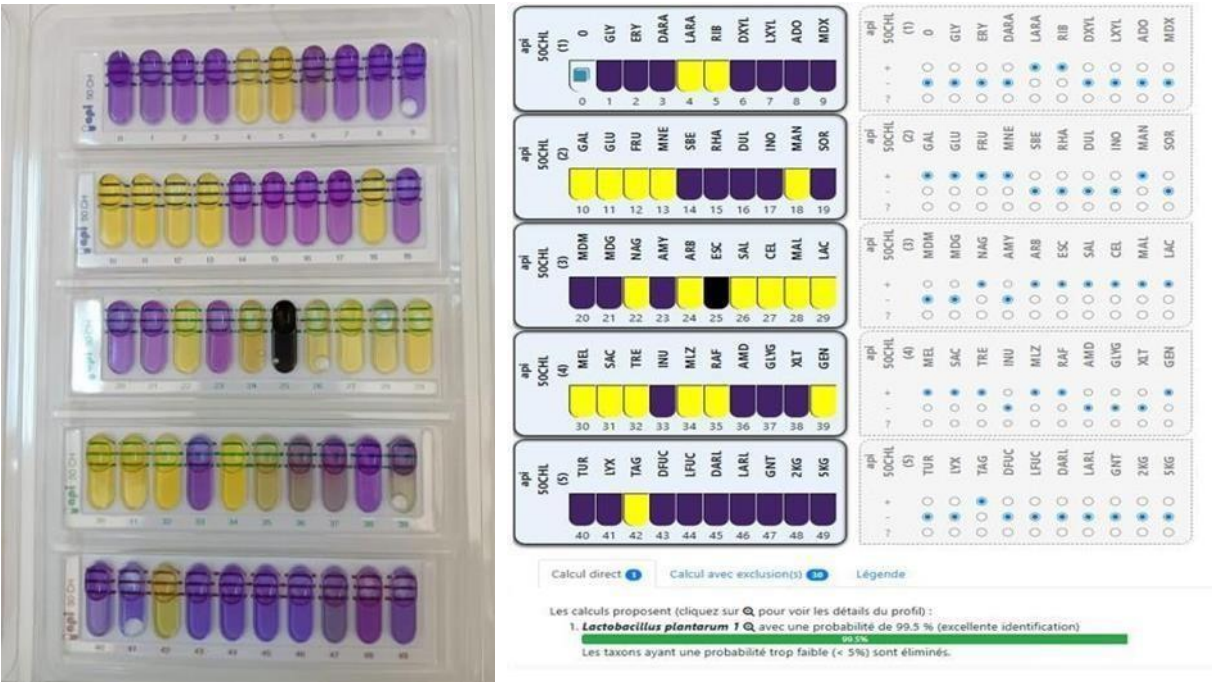


Figure 18 : Rés ulta ts du Pro fil Fer me ntaire de la souche S27 (Lactobacillus plantarum) sur la galerie API50 CHL après 48h d’incubation.

2.3 Etude des aptitudes biotechnologiques

2.3.1. Test de production d'exopolysaccharides (EPS)

La production d'exopolysaccharides a été évaluée chez 35 souches de bactéries lactiques après culture sur gélose MRS enrichie en sucre. Après incubation, aucune colonie n'a présenté d'aspect muqueux ou filant. Les colonies observées sont restées sèches, lisses et non visqueuses.



Figure 19 : résultat de test de production d'exopolysaccharides (EPS).

Ces résultats (Tableau 10) indiquent que toutes les souches étudiées sont non productrices d'exopolysaccharides dans les conditions expérimentales utilisées.

La production d'exopolysaccharides constitue une propriété technologique dépendante de la souche bactérienne ainsi que des conditions de culture, notamment la composition du milieu et la source de carbone disponible (**De Vuyst & Degeest, 1999**). Certaines bactéries lactiques sont capables de synthétiser des EPS contribuant à l'amélioration de la texture, de la viscosité et de la stabilité des produits fermentés, mais cette capacité demeure variable selon les espèces et les souches (**Leroy & De Vuyst, 2004**).

L'absence de production d'EPS observée dans cette étude met en évidence la variabilité technologique des bactéries lactiques et suggère que les souches étudiées ne possèdent pas, dans les conditions testées, un potentiel important de synthèse d'exopolysaccharides.

2.3.2. Test l'activité protéolytique et acidifiante

Le test protéolytique a été réalisé sur milieu DTA enrichi en 5% lait totalement écrémé afin d'évaluer leur capacité à hydrolyser la caséine. Après incubation, certaines souches ont présenté des halos clairs autour des colonies, tandis que d'autres n'ont montré aucune zone de clarification (figure 20) (Tableau 10).

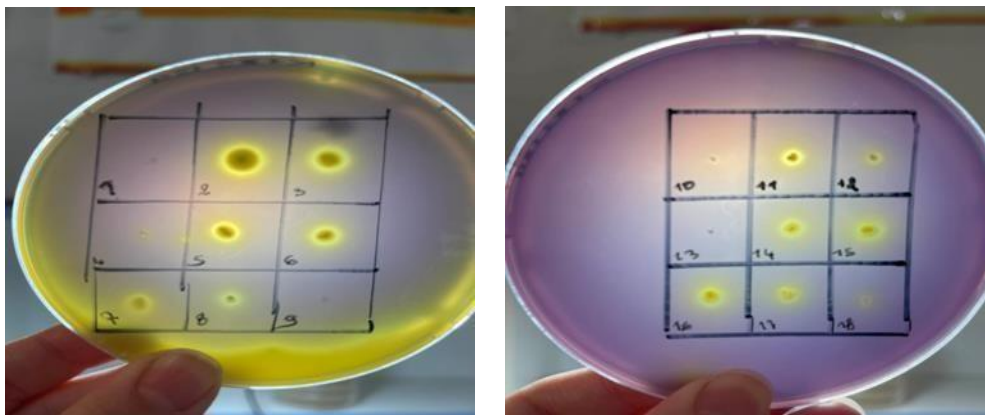


Figure 20 : résultats de test de l'activité protéolytique et acidifiante

La présence de halos clairs autour des colonies traduit une hydrolyse des caséines du lait, révélant ainsi une activité protéolytique des souches étudiées. Cette propriété joue un rôle important dans les procédés de fermentation laitière, puisqu'elle contribue à la libération de peptides et d'acides aminés impliqués dans le développement des caractéristiques organoleptiques, notamment les arômes et la texture des produits fermentés (**Hutkins, 2008**).

La variabilité observée entre les souches indique que l'activité protéolytique dépend fortement des caractéristiques physiologiques et enzymatiques propres à chaque souche bactérienne. Cette différence de comportement a également été rapportée dans plusieurs études portant sur les bactéries lactiques utilisées dans les produits laitiers fermentés (**Holzapfel & Wood, 2014 ; Law & Haandrikman, 1997**).

Par ailleurs, les souches présentant une activité protéolytique importante pourraient être particulièrement intéressantes pour les applications technologiques en industrie laitière, en raison de leur contribution potentielle à la maturation et à l'amélioration de la qualité sensorielle des produits fermentés.

RESULTAT ET DISCUSSION

L'activité protéolytique permet l'hydrolyse de la caséine en peptides et acides aminés essentiels à la croissance bactérienne dans le lait. Elle joue également un rôle important dans le développement des caractéristiques organoleptiques des produits laitiers fermentés, notamment les arômes, la saveur et la texture (Savijoki *et al.*, 2006 ; Fox & McSweeney, 2010).

Par ailleurs, les souches présentant une activité protéolytique élevée peuvent être particulièrement intéressantes pour les applications technologiques en industrie laitière, en raison de leur contribution potentielle à la maturation et à l'amélioration de la qualité des produits fermentés.

Tableau 10 : les résultats des tests biotechnologiques majeurs.

Test	EPS	Tests Biotechnologique	
les souches		Activité Acidifiante	Activité protéolytique
S 21	-	+++	++
S 22	-	+++	++
S 23	-	+++	+++++
S 24	-	+++	+
S 25	-	-	-
S 26	-	+	+
S 1	-	-	-
S 13	-	+++	+++
S 12	-	++	+++
S 2	-	+++	++++
S 3	-	++	+++++
S 16	-	++++	+
S 17	-	+++++	++
S 27	-	+++	++
S 28	-	++	+++
S 19	-	++	+
S 4	-	+++++	+++++
S 29	-	+	+

S 30	-	-	-
S 11	-	++	-
S 31	-	-	+
S 20	-	++	-
S 13	-	+	++
S 9	-	+++++	++

2.3.3. Test d'activité lipolytique

Les résultats d'activité lipolytique sur gélose supplémentée en rhodamine B à une concentration de 0,001% (10 mg/L) montrent que, parmi les 20 souches étudiées, 11 souches présentent une activité lipolytique positive, tandis que 9 souches ne montrent aucune activité lipolytique détectable. (Tableau 11)

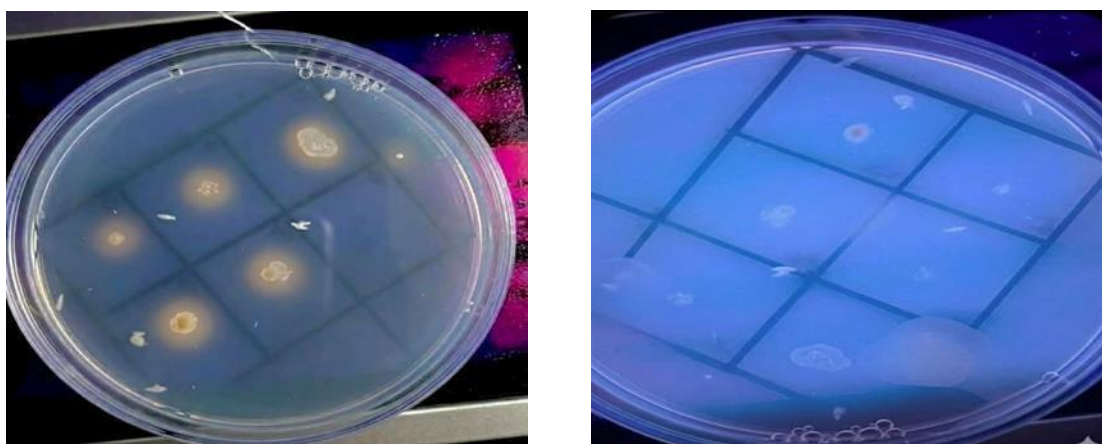


Figure 21 : résultat de teste d'activité lipolutique.

L'activité enzymatique se manifeste par l'apparition de halos fluorescents autour des colonies observés sous lumière UV (Figure 21), indiquant l'hydrolyse des lipides et la production de lipases extracellulaires.

Ces résultats mettent en évidence une variabilité entre les souches testées, suggérant que le potentiel lipolytique dépend fortement de la souche. La proportion relativement élevée de souches positives (55 %) indique néanmoins que cette activité est assez fréquente parmi les isolats étudiés.

Ce résultat est en accord avec plusieurs travaux rapportant que certaines bactéries lactiques ou bactéries associées aux produits laitiers peuvent exprimer une activité lipolytique, bien que cette

RESULTAT ET DISCUSSION

propriété reste généralement dépendante de l'espèce ainsi que des conditions de culture (**Halkier et al.**, 1992 ; **Macedo et al.**, 2000).

Tableau 11 : les résultats du test d'activité lipolytique.

Les souches	Test d'activité lipolytique	Les souches	Test d'activité lipolytique
S 1	+	S 11	-
S 2	+	S 12	+
S 3	+	S 13	+
S 4	-	S 14	-
S 5	+	S 15	+
S 6	+	S 16	-
S 7	+	S 17	-
S 8	+	S 18	-
S 9	-	S 19	-
S 10	+	S 20	-

2.3.4. Test de l'activité antimicrobienne

Les résultats de l'évaluation de l'activité antimicrobienne des différents extraits/composés par la méthode de diffusion en puits (Agar well diffusion) vis-à-vis des deux souches bactériennes de référence (*Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*) sont regroupés dans le Tableau 12 et illustrés par les Figure 22.

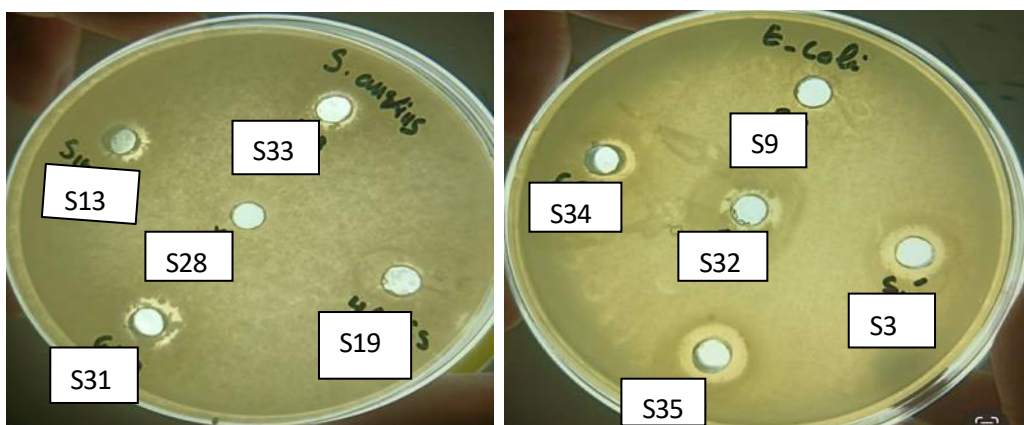


Figure 22 : résultats du test de l'activité antimicrobienne.

D'après l'analyse macroscopique des boîtes de Pétri et les données du (tableau 12), nous constatons une variabilité remarquable et sélective de la sensibilité bactérienne en fonction du profil structural de chaque souche. La souche à Gram-positif (*Staphylococcus aureus*) s'est révélée globalement très sensible à la majorité des composés testés, où des zones d'inhibition claires, nettes et circulaires ont été observées. L'efficacité maximale a été enregistrée pour les extraits S 31 et S 33 (qualifiée de forte : +++), suivis d'une activité modérée (++) pour le puits central S 28 et le puits S 32. En revanche, les autres puits périphériques (S9, S 34, S3, S35, S13, et S 19) n'ont induit que des zones d'inhibition plus réduites, traduisant une activité plus faible (+).

À l'inverse, la souche à Gram-négatif (*Escherichia coli*) a manifesté un profil de tolérance nettement plus prononcé, avec une activité antimicrobienne très sélective et restreinte. Une absence totale de zone d'inhibition (-) a été constatée pour les puits S 9, S 33, S13, S 28 (Tg), et S 19, où le tapis bactérien a proliféré jusqu'aux bordures des puits. Seuls le puits central S 32 (activité modérée : ++) ainsi que les puits S 3' et B3 (activité faible : +) ont réussi à freiner partiellement la croissance de cette bactérie Gram-négative.

Ces observations mettent en évidence le pouvoir inhibiteur différentiel des extraits testés, ce qui concorde parfaitement avec l'étude de **Balouiri et al. (2016)**, affirmant que la méthode de diffusion en puits sur gélose est un outil phénotypique standardisé crucial pour discriminer la sensibilité des micro-organismes face aux agents bioactifs.

Cette divergence majeure de sensibilité entre les deux profils bactériens s'explique intrinsèquement par les dissemblances architecturales et physico-chimiques qui caractérisent leur enveloppe cellulaire. La tolérance élevée d'*Escherichia coli* est directement liée à la présence d'une membrane externe asymétrique, hydrophile et hautement sélective, riche en lipopolysaccharides (LPS). Cette barrière lipidique externe joue le rôle d'un bouclier de perméabilité efficace, qui restreint drastiquement l'influx et la pénétration intracellulaire des macromolécules ou des composés hydrophobes à travers les porines (**Nikaido, 2019**).

À l'opposé, *Staphylococcus aureus* ne possède pas cette membrane externe protectrice. Sa surface cellulaire est enveloppée uniquement d'une couche épaisse mais hautement poreuse de peptidoglycane (muriéine). Cette porosité structurale permet le libre passage et la diffusion rapide des principes antimicrobiens vers l'espace périplasmique, facilitant leur interaction directe avec la membrane cytoplasmique cible, ce qui perturbe son intégrité et conduit inévitablement à la lyse cellulaire (**Burt, 2004**).

De plus, les variations d'efficacité enregistrées entre les différents puits sur une même gélose (par exemple, la forte sensibilité de *S. aureus* à S 31 par rapport à S 19) démontrent que l'activité antimicrobienne dépend non seulement de la concentration des composés, mais aussi de leur nature

chimique, de leur polarité et de leur coefficient de diffusion moléculaire à travers le réseau polymérique de la gélose (Sharma *et al.*, 2013).

Tableau 12 : les résultats de l'activité antimicrobienne.

Les souches	E.coli	S. aureus
S 9	-	+
S 34	++	+
S 32	+++	+
S 3	++	+
S 4	++	+
S 33	++	+
S 13	++	+
S 28	-	+
S 19	-	-
S 11	++	-

2.3.5. Test de tolérance a la bile

La tolérance des souches bactériennes aux sels biliars a été évaluée dans un milieu MRS supplémenté à différentes concentrations de sels biliars (0,1 %, 0,3 % et 0,5 %). Les résultats obtenus sont représentés dans les figures 23, 24.

D'après les résultats de notre étude, les souches testées présentent des niveaux variables de résistance aux sels biliars. À la concentration de 0,1 %, certaines souches, notamment S 34 et S35, ont montré une croissance relativement importante après 4 h d'incubation, suivie d'une diminution progressive au cours du temps. Les autres souches ont présenté une croissance faible à modérée, traduisant une sensibilité différente vis-à-vis des sels biliars.

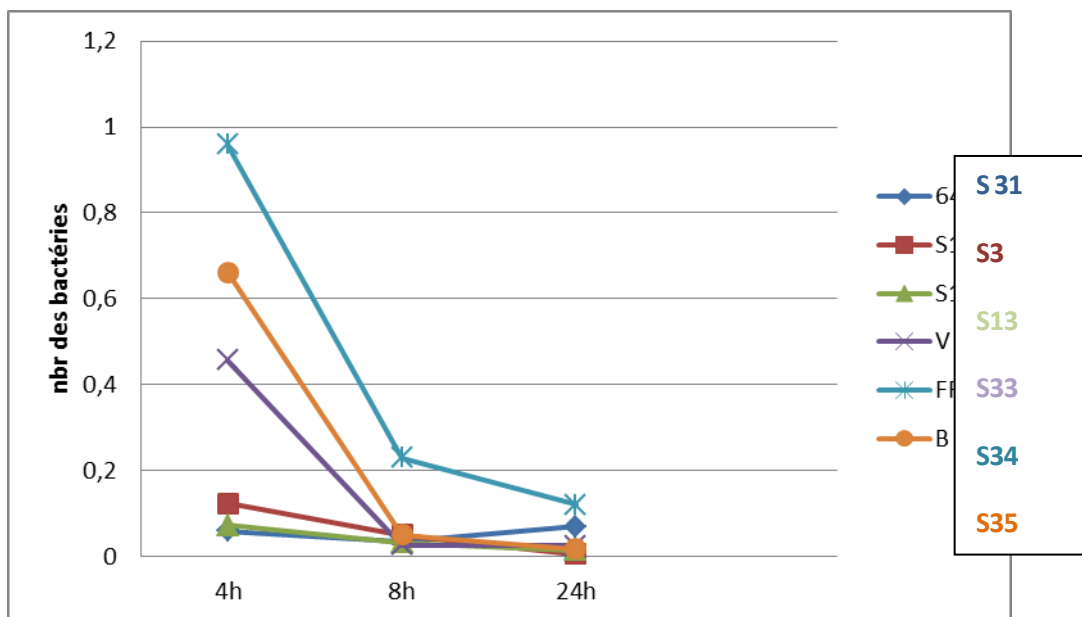


Figure 23 : croissance des bactéries en presence de (0.1%) de sels biliaries.

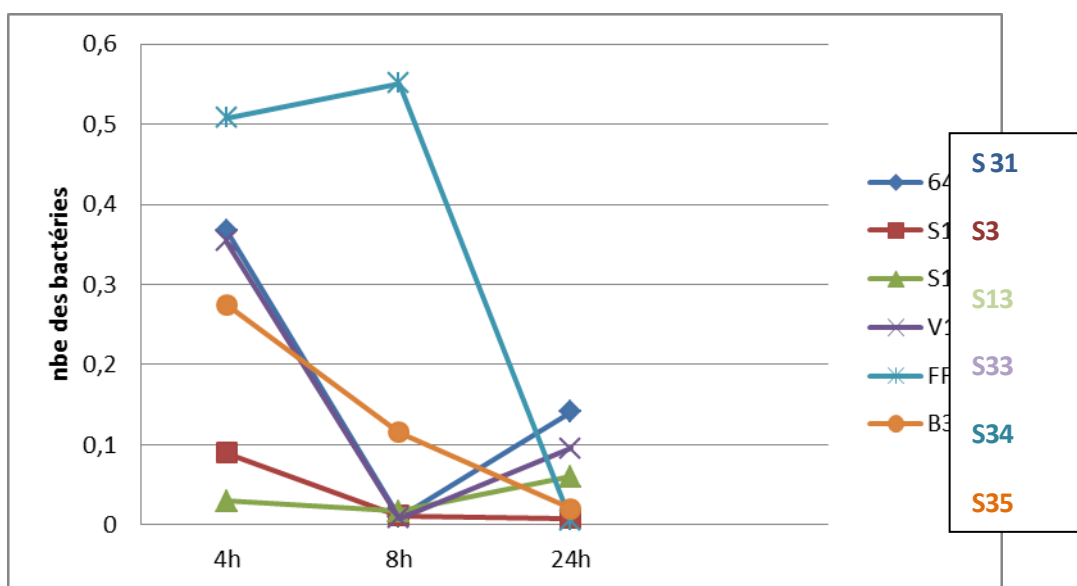


Figure 24 : croissance des bactéries en presence de (0.3%) de sels biliaries.

À 0,3 % de sels biliaries, une diminution plus marquée de la croissance bactérienne a été observée chez la majorité des souches. Cependant, certaines souches telles que S 34 et S 31 ont conservé une croissance relativement stable après 24 h d'incubation, indiquant une meilleure capacité d'adaptation aux conditions de stress biliaire.

À la concentration la plus élevée (0,5 %), une inhibition importante de la croissance a été observée chez la majorité des isolats. Malgré cela, la souche S 31 a montré une augmentation notable de sa

RESULTAT ET DISCUSSION

croissance après 24 h, suggérant une forte tolérance aux sels biliars comparativement aux autres souches étudiées.

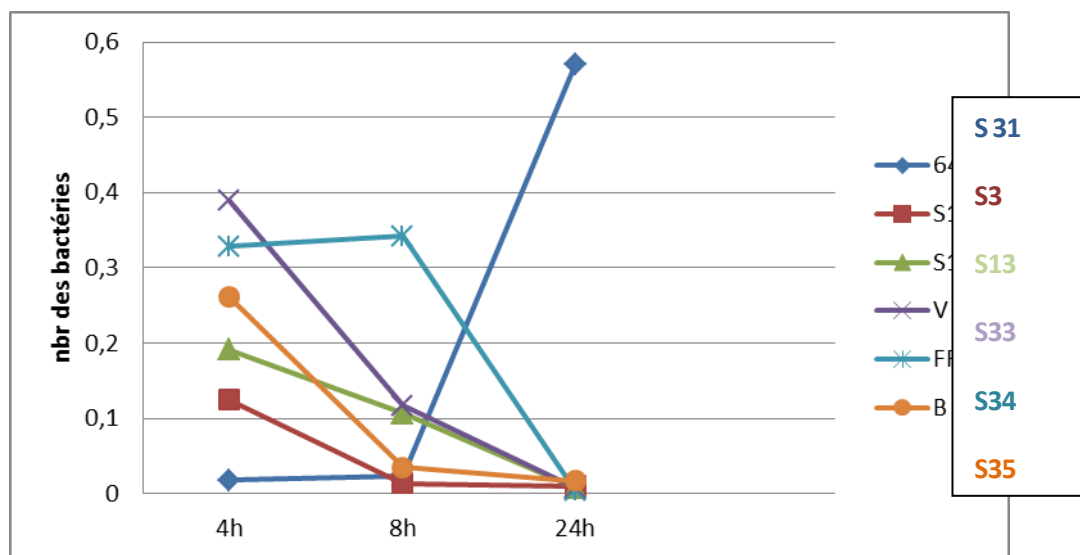


Figure 25 : croissance des bactéries en présence de (0.5%) de sels biliars.

Les sels biliars sont considérés comme des agents antimicrobiens capables d'altérer la membrane cytoplasmique bactérienne, provoquant une perturbation du métabolisme cellulaire et une diminution de la viabilité bactérienne (**Begley et al., 2005**). Ainsi, la diminution progressive de la croissance observée avec l'augmentation de la concentration en sels biliars peut être expliquée par l'effet toxique exercé sur les cellules bactériennes.

Cependant, certaines bactéries lactiques possèdent des mécanismes d'adaptation leur permettant de survivre en présence des sels biliars, notamment grâce à l'activité de l'enzyme bile salt hydrolase (BSH), impliquée dans la détoxification des sels biliars (**Ruiz et al., 2013**).

La résistance aux sels biliars constitue une propriété essentielle dans la sélection des bactéries lactiques à potentiel probiotique, car ces microorganismes doivent survivre aux conditions intestinales après leur passage dans l'estomac (**Papadimitriou et al., 2016**).

Des résultats similaires ont été rapportés par plusieurs auteurs montrant que la tolérance aux sels biliars varie considérablement selon la souche bactérienne et les conditions expérimentales (**Begley et al., 2005 ; Charteris et al., 1998**).

CONCLUSION

CONCLUSION

À partir de 8 échantillons de lait cru collectés dans cinq régions d'Algérie plusieurs souches bactériennes ont été isolées et soumises à une sélection préliminaire. Parmi celles-ci, 46 souches représentatives ont fait l'objet d'une caractérisation morphologique, physiologique, biochimique et biotechnologique approfondie.

L'identification par galerie API 50 CHL a permis de mettre en évidence plusieurs espèces appartenant principalement aux genres *Lactiplantibacillus*, *Latilactobacillus*, *Levilactobacillus* et *Lacticaseibacillus*, notamment *Lactiplantibacillus plantarum*, *Latilactobacillus curvatus*, *Levilactobacillus brevis* et *Lacticaseibacillus paracasei subsp. paracasei*. Cette nomenclature est conforme à la révision taxonomique récente du genre *Lactobacillus* proposée par **Zheng et al., (2020)**.

L'étude des propriétés technologiques a révélé une diversité importante entre les souches. La majorité des isolats ont présenté un profil homofermentaire, une bonne capacité d'utilisation du lactose grâce à l'activité β -galactosidase ainsi qu'une tolérance variable au NaCl, aux faibles pH, aux sels biliaires et aux traitements thermiques. Ces caractéristiques constituent des critères essentiels pour la sélection de souches destinées aux applications agroalimentaires et probiotiques (**Hutkins, 2008 ; Papadimitriou et al., 2016**).

Concernant les aptitudes biotechnologiques, aucune souche n'a montré de production d'exopolysaccharides (EPS) dans les conditions expérimentales utilisées. En revanche, plusieurs souches ont présenté une activité protéolytique intéressante, traduisant leur capacité à hydrolyser les protéines du lait et à contribuer au développement des qualités technologiques et organoleptiques des produits fermentés. Certaines souches ont également manifesté une activité antagoniste vis-à-vis des bactéries pathogènes testées, mettant en évidence leur potentiel de bioconservation et leur intérêt dans la sécurité microbiologique des aliments (**Leroy & De Vuyst, 2004 ; Papadimitriou et al., 2016**).

Dans l'ensemble, les résultats obtenus mettent en évidence le potentiel technologique de plusieurs souches de bactéries lactiques isolées à partir du lait cru. Ces souches présentent des caractéristiques favorables à leur utilisation comme cultures starters ou comme microorganismes d'intérêt dans l'élaboration de produits fermentés. Toutefois, des investigations complémentaires demeurent nécessaires afin de confirmer leur identification et d'approfondir leurs propriétés fonctionnelles.

CONCLUSION

Les résultats obtenus ouvrent des perspectives prometteuses pour la valorisation des souches sélectionnées. Il serait intéressant de compléter leur identification par des techniques moléculaires, notamment le séquençage du gène 16S rRNA, afin de confirmer avec précision leur position taxonomique. Des études complémentaires pourraient également être réalisées pour évaluer leur potentiel probiotique, notamment leur capacité d'adhésion aux cellules intestinales, leur innocuité et leur stabilité au cours du stockage.

Par ailleurs, l'intégration des souches les plus performantes dans la fabrication expérimentale de produits laitiers fermentés permettrait d'évaluer leur influence sur les caractéristiques microbiologiques, technologiques et organoleptiques des produits obtenus. Enfin, l'étude approfondie des substances antimicrobiennes produites par ces bactéries pourrait contribuer au développement de nouvelles stratégies naturelles de bioconservation dans l'industrie agroalimentaire.

REFERENCE BIBLIOGRAPHIE

Les références :

1. Actalia. (2025). Maîtrise des biofilms et sécurité microbiologique dans l'industrie agroalimentaire. Actalia, France.
2. Ahmed, T., & Irene, S. (2007). Microbiologie pratique et techniques d'identification bactérienne.
3. Akpogheli, J. O., et al. (2025). Advances in lactic acid bacteria metabolism and industrial applications. *Journal of Applied Microbiology*, 138(2), 215–228.
4. Anonymous. (2026). Heterofermentative pathways in lactic acid bacteria. *Microbial Biotechnology Reports*, 12(1), 45–53.
5. Axelsson, L. (2004). Lactic acid bacteria: Classification and physiology. In S. Salminen, A. von Wright, & A. Ouwehand (Eds.), *Lactic Acid Bacteria: Microbiological and Functional Aspects* (3rd ed.). Marcel Dekker.
6. Axelsson, L. (2020). Lactic acid bacteria: taxonomy and physiology. *Food Science Review*, 15(3), 101–120.
7. Azad, M. A. K., et al. (2018). Probiotic species in the modulation of gut microbiota. *BioMed Research International*, 2018, 9478630.
8. Bachtarzi, N., et al. (2019). Exopolysaccharides production by lactic acid bacteria and technological applications. *Food Bioscience*, 30, 100414.
9. Badis, A., et al. (2005). Identification and technological characterization of lactic acid bacteria isolated from raw goat milk. *Food Microbiology*, 22(2–3), 217–224.
10. Balouiri, M., Sadiki, M., & Ibnsouda, S. K. (2016). Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 6(2), 71–79.
11. Begley, M., Gahan, C. G. M., & Hill, C. (2005). The interaction between bacteria and bile. *FEMS Microbiology Reviews*, 29(4), 625–651.
12. BioMérieux. (2015). API 20 Strep – Identification system for Streptococci and related organisms: Instruction manual. bioMérieux SA, Marcy-l'Étoile, France.
13. Câmara, S. P. A., et al. (2019). Acidification performance of *Lactococcus lactis* strains in dairy fermentation. *Dairy Science & Technology*, 99, 501–514.
14. Cao, Y., et al. (2021). Functional properties of exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria. *Foods*, 10(4), 739.
15. Cappuccino, J. G., & Welsh, C. T. (2017). *Microbiology: A Laboratory Manual* (11th ed.). Pearson.
16. Carafa, I., et al. (2015). Technological properties of lactic acid bacteria in dairy products. *Food Microbiology*, 50, 44–52.

REFERENCE BIBLIOGRAPHIE

17. Charteris, W. P., Kelly, P. M., Morelli, L., & Collins, J. K. (1998). Development and application of an in vitro methodology to determine the transit tolerance of potentially probiotic *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* species in the upper human gastrointestinal tract. *Journal of Applied Microbiology*, 84(5), 759–768.
18. Chandan, R. C., & Kilara, A. (2013). *Manufacturing Yogurt and Fermented Milks* (2nd ed.). Wiley-Blackwell.
19. Chun, J., et al. (2018). Proposed minimal standards for the use of genome data for the taxonomy of prokaryotes. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 68, 461–466.
20. Commission européenne. (2020). Food safety and control of *Listeria monocytogenes* in food industries.
21. Cotter, P. D., Hill, C., & Ross, R. P. (2005). Bacteriocins: developing innate immunity for food. *Nature Reviews Microbiology*, 3, 777–788.
22. Dabboussi, F., et al. (2013). *Microbiologie alimentaire*. Éditions Universitaires.
23. De Man, J. C., Rogosa, M., & Sharpe, M. E. (1960). A medium for the cultivation of lactobacilli. *Journal of Applied Bacteriology*, 23(1), 130–135.
24. De Vos, P., Garrity, G. M., Jones, D., Krieg, N. R., Ludwig, W., Rainey, F. A., Schleifer, K. H., & Whitman, W. B. (2009). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* (2nd ed.). Springer.
25. De Vuyst, L., & Degeest, B. (1999). Heteropolysaccharides from lactic acid bacteria.
26. Delarras, C. (2007). *Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire*. Lavoisier, Paris.
27. Dellaglio, F., et al. (1994). The lactic acid bacteria: classification and taxonomy. *Microbiological Reviews*, 58, 1–34.
28. Desmazeaud, M. (1996). Les bactéries lactiques dans les fermentations alimentaires. *Le Lait*, 76, 411–432.
29. Devi, S., et al. (2023). Homofermentative metabolism in *Lactiplantibacillus* species. *Journal of Dairy Research*, 90(3), 301–309.
30. Dias, R. S. (2019). Dairy starter cultures and acidification kinetics. *International Dairy Journal*, 95, 67–75.
31. Drider, D., & Prévost, H. (2009). *Les bactéries lactiques : physiologie, métabolisme, génétique et applications industrielles*. Tec & Doc.
32. EFSA. (2025). Qualified Presumption of Safety (QPS) – Updated list of biological agents intentionally added to food and feed. European Food Safety Authority.

REFERENCE BIBLIOGRAPHIE

33. EFSA. (2026a). Scientific Opinion on the Qualified Presumption of Safety (QPS) list update. European Food Safety Authority.
34. EFSA Panel on Biological Hazards. (2020). Scientific opinion on *Listeria monocytogenes* contamination in foods. *EFSA Journal*, 18(1), 5996.
35. ELSAN. (2024). *Listeria monocytogenes* : prévention et risques sanitaires.
36. Endsley, M. A., et al. (2019). Genomic differentiation among *Lactobacillus* species. *Frontiers in Microbiology*, 10, 2827.
37. European Food Information Council. (2025). Lactic acid bacteria and fermented foods.
38. FAO. (2023). Codex Alimentarius – Standard for Fermented Milks. Food and Agriculture Organization.
39. FAO & WHO. (2001). Health and Nutritional Properties of Probiotics in Food. Joint FAO/WHO Expert Consultation.
40. FDA. (2024). Generally Recognized As Safe (GRAS) Notices Database.
41. Fister, S., et al. (2012). Spoilage lactic acid bacteria in refrigerated dairy products. *Food Control*, 25, 123–130.
42. Fox, P. F., & McSweeney, P. L. H. (2010). *Enzymes in Food Technology*. CRC Press.
43. GenoScreen. (2017). Safety assessment of microbial strains for food applications.
44. Gobbetti, M., et al. (2018). Lactic acid bacteria in dairy fermentations. *Current Opinion in Food Science*, 20, 45–52.
45. Gram, H. C. (1884). Über die isolierte Färbung der Schizomyceten in Schnitt- und Trockenpräparaten. *Fortschritte der Medizin*, 2, 185–189.
46. Guiraud, J. P. (2003). *Microbiologie alimentaire*. Dunod.
47. Gui, Q., et al. (2025). Lactic acid bacteria and intestinal health. *Frontiers in Nutrition*, 12, 145230.
48. Hakim, A., et al. (2023). Nutritional benefits of lactic acid bacteria. *Foods*, 12(5), 1114.
49. Halkier, T., & Petersen, S. B. (1992). Screening of lipolytic enzyme activity in microorganisms using rhodamine B agar. *Journal of Microbiological Methods*, 16(3), 227–234.
50. Hammes, W. P., & Vogel, R. F. (1995). *The Genera of Lactic Acid Bacteria*. Blackie Academic & Professional.
51. Harrigan, W. F. (1998). *Laboratory Methods in Food Microbiology* (3rd ed.). Academic Press.
52. Hogg, S. (2005). *Essential Microbiology*. Wiley.

53. Holzapfel, W. H., & Schillinger, U. (1992). The genera of lactic acid bacteria in the classical description of the genera *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* and *Streptococcus*. *Food Microbiology*, 9(1), 31–40.
54. Holzapfel, W. H., & Wood, B. J. B. (2014). *Lactic Acid Bacteria: Biodiversity and Taxonomy*. Wiley-Blackwell.
55. Huang, C., et al. (2022). Genomic approaches in lactic acid bacteria taxonomy. *Microorganisms*, 10(7), 1314.
56. Hutkins, R. (2008). *Microbiology and Technology of Fermented Foods*. Blackwell Publishing.
57. Institut Pasteur. (2015). *La listériose et les salmonelloses : informations et prévention*.
58. Jay, J. M., Loessner, M. J., & Golden, D. A. (2005). *Modern Food Microbiology* (7th ed.). Springer.
59. Kandler, O., & Weiss, N. (1986). Regular, nonsporing Gram-positive rods. In *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* (Vol. 2). Williams & Wilkins.
60. Kimmons, J., et al. (1999). Probiotic properties of lactic acid bacteria. *Journal of Food Protection*, 62, 1321–1327.
61. König, H., & Fröhlich, J. (2009). *Biology of Microorganisms on Grapes, in Must and in Wine*. Springer.
62. Koirala, S., & Mainali, S. (2024). Nutritional enhancement by lactic acid bacteria. *Food Reviews International*, 40(2), 221–239.
63. Korcz, E., et al. (2018). Exopolysaccharides and texture improvement in fermented dairy products. *International Dairy Journal*, 85, 173–180.
64. Kouker, G., & Jaeger, K. E. (1987). Specific and sensitive plate assay for bacterial lipases. *Applied and Environmental Microbiology*, 53(1), 211–213.
65. Koutsoumanis, K., et al. (2020). Microbial safety assessment of food cultures. *EFSA Journal*, 18(7), 6188.
66. Law, B. A., & Haandrikman, A. J. (1997). Proteolytic enzymes of lactic acid bacteria.
67. LeBlanc, J. G., et al. (2011). B-group vitamin production by lactic acid bacteria. *Current Opinion in Biotechnology*, 22, 138–145.
68. Lebeer, S., et al. (2018). Functional analysis of probiotic lactobacilli. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 15, 105–119.
69. Leroy, F., & De Vuyst, L. (2004). Lactic acid bacteria as functional starter cultures. *Trends in Food Science & Technology*, 15, 67–78.

REFERENCE BIBLIOGRAPHIE

70. Li, W., et al. (2021). Comparative genomics of Lactobacillaceae. *Microbial Genomics*, 7(9), 000642.
71. Linares, D. M., et al. (2023). Vitamin biosynthesis by lactic acid bacteria. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 107, 4567–4580.
72. Limsowtin, G. K. Y., et al. (2004). Taxonomy of lactic acid bacteria. In *Lactic Acid Bacteria*. Marcel Dekker.
73. Lister, J. (1878). On lactic fermentation and milk bacteria. *Quarterly Journal of Microscopical Science*, 18, 177–186.
74. Llamas-Arriba, M. G., et al. (2019). Functional properties of dextran-producing bacteria. *Food Hydrocolloids*, 87, 672–680.
75. Loacroix, C., et al. (2000). Psychrotrophic lactic acid bacteria in refrigerated foods. *Food Microbiology*, 17, 527–536.
76. Lucey, J. A. (2004). Cultured dairy products and their rheological properties. *International Journal of Dairy Technology*, 57, 77–84.
77. Macedo, A. C., Malcata, F. X., & Hogg, T. A. (2000). Lipolytic and proteolytic activities of lactic acid bacteria isolated from Serra da Estrela cheese. *International Dairy Journal*, 13(4), 321–327.
78. Madigan, M. T., Bender, K. S., Buckley, D. H., Sattley, W. M., & Stahl, D. A. (2018). *Brock Biology of Microorganisms* (15th ed.). Pearson.
79. Marth, E. H., & Steele, J. L. (2001). *Applied Dairy Microbiology* (2nd ed.). Marcel Dekker.
80. Mendes, A. A., & de Castro, H. F. (2004). Screening of lipases from microorganisms and their applications. *Food Technology and Biotechnology*, 42(2), 73–85.
81. Mensah, P., et al. (1990). Fermented foods and health benefits. *World Health Forum*, 11, 149–153.
82. Morales-Landa, D., et al. (2025). Industrial production of lactic acid by LAB. *Biotechnology Reports*, 35, e00854.
83. Nakashima, A., et al. (2021). Epidemiology of *Listeria monocytogenes*. *Foodborne Pathogens and Disease*, 18(4), 245–256.
84. Nikaido, H. (2019). Molecular outer membrane of Gram-negative bacteria. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 67(4), 593–656.
85. Omni-Biotic. (2025). Regulatory status of probiotics and QPS organisms.
86. Orla-Jensen, S. (1919). *The Lactic Acid Bacteria*. Copenhagen.

87. Papadimitriou, K., Alegría, Á., Bron, P. A., De Angelis, M., Gobbetti, M., Kleerebezem, M., et al. (2016). Stress physiology of lactic acid bacteria. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 80(3), 837–890.
88. Parks, D. H., et al. (2022). GTDB taxonomy update. *Nature Biotechnology*, 40, 1026–1035.
89. Pérez Montoro, B., et al. (2022). Lactic acid bacteria proteolytic activity and dairy applications. *Food Microbiology*.
90. Pérez-Ramos, A., et al. (2021). Probiotics and immune response modulation. *Nutrients*, 13, 2194.
91. Poulain, J. (1994). Histoire des bactéries lactiques. *Revue de Microbiologie*, 45, 201–212.
92. Qiao, H., et al. (2022). Phylogenomics of Lactobacillaceae. *Frontiers in Microbiology*, 13, 845622.
93. Reale, A., et al. (2007). Phytase activity in lactic acid bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, 114, 12–18.
94. Ruiz, L., Margolles, A., & Sánchez, B. (2013). Bile resistance mechanisms in *Lactobacillus* and *Bifidobacterium*. *Frontiers in Microbiology*, 4, 396.
95. Rychen, G., et al. (2018). Guidance on characterization of microorganisms used as feed additives. *EFSA Journal*, 16(3), 5206.
96. Saidi, N., Kihal, M., Smichi, N., & Henni, D. E. (2002). Étude des bactéries lactiques isolées de produits laitiers traditionnels algériens.
97. Salminen, S., von Wright, A., & Ouwehand, A. (2004). *Lactic Acid Bacteria: Microbiological and Functional Aspects* (3rd ed.). Marcel Dekker.
98. Sandra, M., et al. (2012). Exopolysaccharides and dairy texture. *Food Hydrocolloids*, 29, 243–251.
99. Savijoki, K., Ingmer, H., & Varmanen, P. (2006). Proteolytic systems of lactic acid bacteria. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 71, 394–406.
100. Segers, M. E., & Lebeer, S. (2025). Health effects of *Lactocaseibacillus rhamnosus* GG. *Microbial Cell Factories*, 24, 56.
101. Settanni, L., & Moschetti, G. (2010). Non-starter lactic acid bacteria in dairy products. *Food Microbiology*, 27, 691–697.
102. Sharma, P., et al. (2013). Mechanisms of bacterial resistance to antimicrobial agents. *Microbial Pathogenesis*, 152, 104614.
103. Sharma, R., et al. (2019). Functional characteristics of probiotic bacteria. *Journal of Functional Foods*, 57, 75–88.

REFERENCE BIBLIOGRAPHIE

104. Singh, V., & Rao, A. (2021). Immunomodulatory effects of probiotics. *Nutrients*, 13(2), 684.
105. Šmatová, M., et al. (2024). Vitamin production by food-grade bacteria. *Foods*, 13, 452.
106. SYNBPA. (2023). Safety criteria for probiotic microorganisms.
107. Tamime, A. Y. (2006). *Fermented Milks*. Blackwell Publishing.
108. Todorov, S. D., et al. (2010). Spoilage lactic acid bacteria in dairy products. *Food Research International*, 43, 1271–1282.
109. Université USTO. (2020). *Cours de microbiologie alimentaire et technologies laitières*. Université des Sciences et de la Technologie d’Oran.
110. Walstra, P., Wouters, J. T. M., & Geurts, T. J. (2006). *Dairy Science and Technology* (2nd ed.). CRC Press.
111. Wang, K., et al. (2019). Exopolysaccharides from lactic acid bacteria. *International Journal of Biological Macromolecules*, 134, 1039–1048.
112. Wang, Y., et al. (2021). Fermentative pathways in lactic acid bacteria. *Microbial Biotechnology*, 14(5), 1825–1840.
113. Welman, A. D., & Maddox, I. S. (2003). Exopolysaccharides from lactic acid bacteria. *Trends in Biotechnology*, 21, 269–274.
114. Wuyts, S., et al. (2017). Comparative genomics of *Lactobacillus* species. *Applied and Environmental Microbiology*, 83(5), e02852-16.
115. Wuyts, S., et al. (2018). Reclassification tools for *Lactobacillus* taxonomy. *Systematic and Applied Microbiology*, 41, 509–517.
116. Xie, Y. (2019). Genomic approaches in *Lactobacillaceae* systematics. *Microbial Genomics*, 5, e000289.
117. Yang, J., et al. (2015). Functional properties of bacterial exopolysaccharides. *Carbohydrate Polymers*, 132, 319–326.
118. Ye, M., et al. (2018). Applications of microbial polysaccharides in food technology. *Food Hydrocolloids*, 83, 332–341.
119. Zhang, H., et al. (2026). Nutritional contributions of lactic acid bacteria. *Food Science and Human Wellness*, 15(1), 55–67.
120. Zheng, J., Wittouck, S., Salvetti, E., Franz, C. M. A. P., Harris, H. M. B., Mattarelli, P., et al. (2020). A taxonomic note on the genus *Lactobacillus*: Description of 23 novel genera. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 70, 2782–2858.

ANNEXES

Annexe 1 : Composition des milieux de culture et des solutions utilisées

Tableau 1.1 : Composition du milieu MRS

Composition du milieu MRS (De Man, Rogosa et Sharpe) utilisé pour l'isolement et la culture des bactéries lactiques

Composants	Quantité
Peptone	10 g
Extrait de viande	8 g
Extrait de levure	4 g
Glucose	20 g
Acétate de sodium	5 g
Citrate d'ammonium	2 g
Phosphate dipotassique (K_2HPO_4)	2 g
Sulfate de magnésium ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$)	0,2 g
Sulfate de manganèse ($MnSO_4 \cdot H_2O$)	0,05 g
Tween 80	1 mL
Agar (milieu solide)	15 g
Eau distillée	1000 mL
pH final	6,2 ± 0,2

Tableau 1.2 : Composition du milieu M17:

Composition du milieu M17 utilisé pour la culture des streptocoques lactiques et des lactocoques

Composants	Quantité
Peptone	5 g
Peptone de caséine (tryptone)	5 g
Extrait de levure	2,5 g
Extrait de viande	5 g
Lactose	5 g

β-glycérophosphate de sodium	19 g
Ascorbate de sodium	0,5 g
Sulfate de magnésium (MgSO₄·7H₂O)	0,25 g
Sulfate ferreux (FeSO₄·7H₂O)	0,5 g
Eau distillée	1000 mL
pH final	7,1 ± 0,2

Tableau 1.3 : Composition de la gélose Mueller-Hinton

Composition de la gélose Mueller–Hinton utilisée pour les tests de sensibilité aux antibiotiques

Composants	Quantité
Hydrolysate acide de caséine	17,5 g
Extrait de viande de bœuf	2 g
Amidon	1,5 g
Agar	17 g
Eau distillée	1000 ml
pH final	7,3 ± 0,1

Tableau 1.4 : Composition de la gélose au sang

Composition du milieu Dextrose Tryptone Agar (DTA)

Composants	Quantité (g/L)
Tryptone	10,0
Dextrose (glucose)	5,0
Pourpre de bromocrésol	0,04
Agar	15,0
Eau distillée	1000 mL
pH final	6,7 ± 0,2

Tableau 1.5 : Composition de la solution saline physiologique

Composition de la solution saline physiologique utilisée pour les dilutions et la préparation des suspensions bactériennes

Composants	Quantité
Chlorure de sodium (NaCl)	8,5 g
Eau distillée	1000 mL
pH final	7,0 ± 0,2

Tableau 1.6 : Composition de la solution d'Oxgall à 0,3 %

Composition de la solution d'Oxgall à 0,3 % utilisée pour l'évaluation de la tolérance aux sels biliaires

Composants	Quantité
Oxgall (sels biliaires)	0,3 g
Bouillon MRS	100 ML

Annexe 2 : Résultats détaillés des tests

Tableau 2.1: Croissance en présence de 0,1 % d'Oxgall

Croissance des souches de bactéries lactiques en présence de 0,1 % d'Oxgall (sels biliaires)

Souche	0 h (DO ₆₀₀)	4 h (DO ₆₀₀)	8 h (DO ₆₀₀)	24 h (DO ₆₀₀)
S31	0,100	0,059	0,034	0,070
S3	0,090	0,012	0,018	0,023
S13	0,080	0,072	0,032	0,014
S33	0,100	0,457	0,227	0,225
S34	0,120	0,959	0,229	0,121
S23	0,100	0,162	0,051	0,017

Tableau 2.2 : Croissance en présence de 0,1 % d'Oxgall

Croissance des souches de bactéries lactiques en présence de 0,1 % d'Oxgall (sels biliaires)

Souche	0 h (DO ₆₀₀)	4 h (DO ₆₀₀)	8 h (DO ₆₀₀)	24 h (DO ₆₀₀)
S31	0,100	0,059	0,034	0,070
S3	0,090	0,012	0,018	0,023
S13	0,080	0,072	0,032	0,014
S33	0,100	0,457	0,227	0,225
S34	0,120	0,959	0,229	0,121
S23	0,100	0,162	0,051	0,017

Tableau 2.3 : Croissance en présence de 0,3 % d'Oxgall

Croissance des souches de bactéries lactiques en présence de 0,3 % d'Oxgall (sels biliaries)

Souche	0 h (DO ₆₀₀)	4 h (DO ₆₀₀)	8 h (DO ₆₀₀)	24 h (DO ₆₀₀)
S31	0,100	0,368	0,141	0,010
S3	0,090	0,090	0,011	0,008
S13	0,080	0,030	0,017	0,060
S33	0,100	0,354	0,095	0,008
S34	0,120	0,508	0,551	0,005
S23	0,100	0,275	0,115	0,020