

N° d'Ordre :

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



UNIVERSITÉ DJILLALI LIABES DE SIDI BEL ABBES

FACULTÉ DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DÉPARTEMENT Choisissez un élément.

Mémoire

De fin d'études pour l'obtention du diplôme de Master

Domaine : Sciences de la nature et de la vie (S.N.V.)

Filière : Sciences biologiques

Spécialité : Microbiologie Appliquée

Intitulé du thème :

Étude de l'effet de stress sur la croissance des bactéries lactiques

Présenté par : Mr Ramal Adnane Abdellatif

Melle Ouessai Nadjat

Mémoire soutenu devant l'honorable jury composé de :

Président de jury : Mme Bousmaha-Marroki Leila (M.C.A/ UDL/SBA)

Examineur : Mme Khaldi Amina (M.C.A/ UDL/SBA)

Promoteur : Mr Marroki Ahmed (M.C.A/ UDL/SBA)

Choisissez un élément.

Année universitaire 2019 – 2020

Remerciement

Au terme de ce travail, On tient à remercier **DIEU** le tout puissant de nous avoir donné le courage, la force, la volonté et la patience pour achever ce travail. Merci de nous avoir éclairé le chemin de la réussite.

Nous exprimons toute notre reconnaissance et notre grand respect à **Dr Marroki A**, pour avoir assuré l'encadrement de ce mémoire, depuis les premiers instants, sa pédagogie, son écoute, et son ouverture d'esprit, ont été importants pour nous que ses connaissances et ont largement contribué à l'évolution de cette étude. On ne peut sincèrement vous exprimer nos respects et notre gratitude.

Nous remercions par ailleurs vivement les membres du jury **Dr Mme Bousmaha-Marroki L** et **Mme Khaldi DI A** de nous avoir fait l'honneur de juger notre travail et d'assister à la soutenance.

Nos remerciements s'adressent aussi à nos camarades de master microbiologie, et à tous qui a contribué à l'évolution de cette étude de près ou de loin.

Dédicaces

J'ai l'honneur de dédier ce modeste travail réalisé grâce à l'aide de dieu tout puissant

A

Celle qui matant bercé, tant donné et tant enseigné. toi qui ma guidé dans le droit chemin, toi qui ma appris que rien n'est impossible...A toi

Ma chère maman

A

Celui qui ma toujours encouragé et soutenu durant toutes mes années d'études merci pour ta confiance totale...A toi

Très cher papa

A

Mes chers sœurs : Amira Maroua , Douaa Fatima Zahra

A

Mon adorable frère : Moncef Bahaa edine

A

Mes oncles et Mes tants

A

Ma cher grand-mère : Mira, que dieu lui donne une longue vie

A

Mes camarades de microbiologie sans exception

A

Mes chères amis : Ahmed, sifeddine, Adel, Djaber, Oussama, Nadir, Otman, Yasser, Brahim

Enfin j'adresse mes sincères remerciements à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail

Adnane

Dédicaces

Je dédie ce travail à :

Mon cher papa et ma chère maman

**Je souhaite que vous restiez toujours près de moi et que DIEU vous protège et
vous donne bonne santé**

Mes chers frères et sœurs

Mustapha, Makhoulf

Fatiha, Meriem, Nawal, Nadia et son mari

Je vous réserve toujours une place dans mon cœur

Toutes mes amies

Fatima, Amina, hanane,... Et toutes mes amies sans exception

NADJET

Liste des figures

| <i>N°</i> | <i>Titre</i> | <i>Page</i> |
|-----------|--|-------------|
| Figure 01 | classification des bactéries lactiques selon leurs métabolites de fermentation | 4 |
| Figure 02 | Mécanismes d'action des probiotiques contre les microorganismes pathogènes | 6 |
| Figure 03 | phénomène d'osmose | 9 |

Liste des tableaux

| <i>N°</i> | <i>Titre</i> | <i>page</i> |
|-----------|--|-------------|
| Tableau 1 | Principales espèces et sous espèces de lactobacilles utilisées en industrie laitière | 7 |

Liste des abréviations

EPS : exopolysaccharides

Lb: *Lactobacillus*

LAB: Lactic Acid Bacteria

MRS: Man, Rogosa, Sharpe

SM : solution mère

Résumé

L'acidification et les procédés enzymatiques accompagnant influencent la qualité organoleptiques, nutritionnelle et la préservation de nombreux aliments. Les différents domaines d'applications des bactéries lactiques en agroalimentaires en particulier dans la transformation des laits en produits fermentés comme le fromage reposent sur l'utilisation de certaines espèces appartenant à ce groupe comme les *Lactobacillus*. L'objectif envisagé pour la réalisation de notre porte sur l'étude in vitro l'effet de stress sur la croissance d'une collection des souches de Lactobacilles isolées à partir du lait de chèvre. Vu la crise sanitaire qui a touchée notre pays par l'apparition du COVID-19 l'ensemble des travaux au niveau de laboratoire ont été suspendus. Notre mémoire a été rédigé de manière théorique et scindé en deux parties. La première résume et synthétise l'ensemble des données sur les bactéries lactiques et la taxonomie du genre de *Lactobacillus*. L'intérêt de ce groupe dans l'industrie fromagère comme auxiliaire technologique. Les méthodes envisagées pour la réalisation de notre expérimentation a été résumé sous forme des données théorique dans la deuxième partie. Enfin, une conclusion et des perspectives ont été proposées à la fin de notre mémoire.

Mots clés : *Lactobacillus ; Bactéries lactiques ; Stress acide ; Fromage ; Auxiliaire technologique,*

Abstract

Acidification and accompanying enzyme processes influence the organoleptic, nutritional and preservation quality of many foods. The different areas of application of lactic bacteria in agri-food, particularly in the transformation of milks into fermented products such as cheese, are based on the use of certain species belonging to this group such as *Lactobacillus*. The goal envisaged for the realization of our door on the study in glass the effect of stress on the growth of a collection of strains of *Lactobacilli* isolated from goat's milk. In view of the health crisis that affected our country by the emergence of COVID-19, all work at the laboratory level has been suspended. Our brief was written theoretically and split into two parts. The first summarizes and synthesizes the data on lactic bacteria and taxonomy of the *lactobacillus* genus. The interest of this group.

Keywords: *Lactobacillus; Lactic bacteria; Acid stress; Cheese; Technology auxiliary*

ملخص

يؤثر التخمض وعمليات الإنزيم المصاحبة له على جودة العديد من الأطعمة المعدية للأعضاء الغذائية والحفظ. وتستند مجالات مختلفة من تطبيق البكتيريا اللبنية في الأغذية الزراعية، ولا سيما في تحويل الحليب إلى منتجات المخمرة مثل الجبن، على استخدام بعض الأنواع التي تنتمي إلى هذه المجموعة مثل *لاكتوباشيليش* لتحقيق بابنا على الدراسة في الزجاج تأثير الإجهاد على نمو مجموعة من سلالات *لاكتوباشيليش* معزولة عن حليب الماعز. ونظراً للأزمة الصحية التي أصابت بلدنا بظهور "كوفيد-19"، فقد تم تعليق جميع الأعمال على مستوى المختبرات. وقد كتب لدينا موجز نظريا وتقسيمها إلى قسمين. الأول يلخص ويركب مجموعة البيانات عن البكتيريا اللبنية وتصنيف نوع *لاكتوباشيليش*. مصلحة هذه المجموعة في صناعة الجبن كمساعد التكنولوجية. وقد تم تلخيص الأساليب المتوخاة لتحقيق تجاربنا في شكل بيانات نظرية في الجزء الثاني. وأخيراً، اقترحت في نهاية موجزنا. استنتاجا ومناظير

كلمات مفتاحية *لاكتوباشيليش البكتيريا اللبنية; الإجهاد الحمضي; الجبن; التكنولوجيا المساعدة،*

Table de matière

| | |
|---|----|
| Remerciements | |
| Dédicaces | |
| Liste des figures | |
| Liste des tableaux | |
| Liste des abréviations | |
| Introduction ----- | 1 |
| Synthèse bibliographique----- | 2 |
| Chapitre I : Les bactéries lactiques ----- | 3 |
| Plan | |
| Revue bibliographique | |
| I. Les bactéries lactiques ----- | 3 |
| I-Généralités sur les bactéries lactiques ----- | 3 |
| I.1. -Définition et caractéristiques----- | 3 |
| I.2. -Habitat et origine----- | 3 |
| I.3. -Classification des bactéries lactiques----- | 3 |
| I.4. - Intérêt des bactéries lactiques dans l'industrie alimentaire----- | 4 |
| II-Le genre <i>Lactobacillus</i> ----- | 4 |
| II-2.1- Habitat----- | 4 |
| II.2.2- Taxonomie et Intérêts technologiques et probiotique des <i>lactobacillus</i> | 5 |
| II.2.2.1-Généralité sur les lactobacilles----- | 5 |
| II.2.2.2-Taxonomie des lactobacilles ----- | 5 |
| II.2.2.3-Evolution de la taxonomie des lactobacilles----- | 5 |
| 1.2. Intérêts probiotique des <i>Lactobacillus</i> ----- | 6 |
| 1.3. Intérêts technologiques des <i>Lactobacillus</i> ----- | 7 |
| III. Rôle des lactobacilles dans l'industrie fromagère ----- | 8 |
| 1-Pouvoir texturant----- | 8 |
| 2-Pouvoir aromatisant----- | 8 |
| 3-Pouvoir acidifiant----- | 8 |
| 4-Pouvoir protéolytique----- | 8 |
| 5-Pouvoir lipolytique ----- | 9 |
| 6-Pouvoir antibactérien----- | 9 |
| I.5. Stress et bactéries dans les aliments ----- | 9 |
| 1-5.1 Comment étudier un stress ?----- | 9 |
| I-5.2 Les types de stress ----- | 9 |
| 1. Stress thermique----- | 9 |
| 2. Stress osmotique----- | 10 |
| Définition d'osmose ----- | 10 |
| 3. Stress oxydatif----- | 10 |
| 4. Stress acide----- | 10 |
| I-6 Effet du stress osmotique et acide sur les bactéries ----- | 10 |
| I-6.1. Effet de stress osmotique sur les bactéries----- | 10 |
| I-6.1.1. Le mécanisme de stress osmotique----- | 11 |
| I-6.1.2.La réponse au stress osmotique par des lactobacilles dans les aliments----- | 11 |
| I-6.2 B. Stress acide ----- | 11 |
| I-6.2.1. Effet de stress acide sur les bactéries----- | 11 |

| | |
|---|-----------|
| I-6.2.2 Le mécanisme de stress acide----- | 12 |
| I-6.2.3 La réponse au stress acide par des lactobacilles dans les aliments----- | 12 |
| 1-6.3 Réponse des lactobacilles au stress oxydant----- | 12 |
| V. Matériel et méthodes----- | 14 |
| 1. Méthodologie----- | 14 |
| 2. prélèvement et échantillonnage du lait cru----- | 15 |
| 3. Revivification des souches ----- | 15 |
| 4. Isolement des bactéries lactiques----- | 15 |
| 5. purification des souches----- | 15 |
| 6. Conservation des souches----- | 16 |
| 7. Test morphologiques----- | 16 |
| 7.1. Test morphologiques----- | 16 |
| 7.1.1. Test macroscopique ----- | 16 |
| 7.1.2. Examen microscopique ----- | 16 |
| 7.1.3. Technique de préparation de frottis----- | 16 |
| 7.1.4. Méthode de coloration de bleu de méthylène ----- | 17 |
| 7.1.5. Méthode de coloration de gram----- | 17 |
| 7.2. Test physiologique----- | 18 |
| 7.2.1. Test de catalase ----- | 18 |
| 7.2.2. Recherche de type fermentaire ----- | 19 |
| 7.3. Test biochimiques ----- | 19 |
| 7.3.1. Les tests classiques pour l'identification de lactobacilles----- | 19 |
| 7.3.1.1. La méthode du système API 50CHL ----- | 19 |
| 7.4. Méthodes d'études de Stress----- | 20 |
| 7.4.1. Croissance a PH 3.5 ; 4 et 6.5----- | 20 |
| 7.4.2. Croissance a différent concentration de NaCl----- | 20 |
| 7.4.3. Le stress acide----- | 20 |
| 7.5. Etude de la tolérance à la bile (0,5% et 1%) ----- | 20 |
| Conclusion----- | 22 |
| Référence bibliographique----- | 24 |
| Annexes----- | 31 |

Introduction

Introduction

La microflore microbienne du lait cru, composée de plusieurs microorganismes tels que les bactéries d'altération et bactéries lactiques (**Licitra, 2010**). Le secteur des industries agroalimentaires utilise un certain nombre d'auxiliaires technologiques, parmi lesquels les bactéries lactiques, pour élaborer des aliments fermentés. Les bactéries lactiques constituent un groupe hétérogène qui rassemble des bactéries capables de produire de l'acide lactique par un métabolisme fermentaire (Rigaux, 2008). Elles sont fréquemment exposées à des variations des propriétés physicochimiques du milieu environnant: la température, l'osmolarité ou encore l'acidité de ce milieu qui y sont constamment confrontées (**Özer *et al.*, 2009**). Le terme de stress bactérien est défini comme une condition hostile qui tend à empêcher un système de fonctionner de façon optimale et peut être considéré comme l'ensemble des conditions qui provoquent des changements de processus physiologiques conduisant éventuellement à une inhibition de croissance voir en dommages cellulaires (**Booth, 2002**). Un des enjeux majeur actuelle dans l'industrie de transformation laitières consiste à comprendre la capacité des souches des bactéries lactiques en particulier les lactobacilles utilisées comme auxiliaire à ces variations de stress osmotique et thermique et particulièrement au stress acide.

Dans ce contexte, l'objectif de notre travail porte sur l'étude de l'effet de stress sur la croissance de certaines souches de lactobacilles isolées à partir du lait de chèvre afin de sélectionner des souches utilisées comme auxiliaire technologique ou probiotique dans l'industrie agro-alimentaire en Algérie. Vu la crise sanitaire qui a touchée notre pays par l'apparition du COVID-19, notre mémoire a été rédigé de manière théorique et scindé en deux parties théoriques. La première résume et synthétise l'ensemble des données actuelles sur les bactéries lactiques et le genre de *Lactobacillus*. Les méthodes envisagées pour la réalisation de notre expérimentation.

La première partie ou nous avons présenté une synthèse bibliographique sur les bactéries lactiques et la taxonomie le genre *Lactobacillus*. Ensuite, le rôle et l'intérêts technologiques et probiotique du *Lactobacillus* dans l'industrie fromagère. L'Effet du stress thermique, osmotique, de la bile et acide sur croissance des lactobacilles ont été également présentés. Une deuxième partie porte sur les déférentes méthodes mise en œuvre pour la réalisation des objectifs tracés dans ce manuscrit à savoir les tests physiologiques et biochimiques. Enfin, une conclusion et des perspectives sur l'utilisation des bactéries appartenant au genre de *Lactobacillus* comme auxiliaire technologique dans l'industrie fromagère

Synthèse bibliographique

Chapitre I : Les bactéries lactiques

Chapitre I : Les bactéries lactiques

I- Généralités sur les bactéries lactiques

I-1. Définition et caractéristiques

Les bactéries lactiques sont des cellules procaryotes, généralement aérobies facultatifs, ou micro aérophiles, hétérotrophes et chimio-organotrophes à Gram positif, généralement immobiles, non sporulés, catalase (-). Elles ont des exigences nutritionnelles complexes pour les acides aminés, les peptides, les vitamines, les sels, les acides gras et les glucides fermentescibles, leur importante propriété est la production d'acide lactique à partir des sucres (**Dellaglio et al., 1994**). Elles sont présentes sous forme bacilles (bâtonnets) ou coques. Ces bactéries occupent une place importante dans l'alimentation, et sont responsables de la fermentation de produits alimentaires, qu'ils soient d'origine carnée (saucisson), laitière ou végétale (choucroute) (**Leveau et Bouix, 1993 ; Hassan et Frank, 2001**). A ce groupe de bactéries lactiques, appartient plusieurs genres comme *Entérocooccus*, *Lactobacilles*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Oerococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus* et *Weissella* (**Stiles et Holzapful, 1997 ; Pot, 2008**).

I-2. -Habitat et origine

Les bactéries lactiques sont très fréquentes dans la nature. Elles se trouvent généralement associées à des aliments riches en sucres simples. Elles peuvent être isolées du lait, du fromage, de la viande, des végétaux ou des alimentsensemencés par les végétaux. Quelques espèces colonisent le tube digestif de l'homme et des animaux (**Leveau et Bouix, 1993 ; Hassan et Frank, 2001**).

I-3-Classification des bactéries lactiques

De nombreuses classifications des bactéries lactiques ont été proposées. La classification selon la composition de la paroi cellulaire bactérienne (**Thompson et Gentry-Weeks, 1994**). En 1919, **Orla-Jensen** a séparé les bactéries lactiques en deux groupes : homofermentaires et hétérofermentaires.

Une autre classification, basée sur les différents modèles de fermentation du glucose définit 3 groupes (**Kandler et Weiss, 1986**) :

Le groupe I : les bactéries l'homofermentaire

Le groupe II : Inclut les bactéries hétéro-fermentaire.

Le groupe III : Ce groupe présente une position intermédiaire entre le groupe I et II réalisant ainsi l'homo-fermentation ou l'hétéro fermentation selon les conditions Environnementales (**Thompson et Gentry-Weeks, 1994**).

Chapitre I : Les bactéries lactiques

Il est possible de les classer suivant la nature des produits du métabolisme bactérien obtenus à partir des glucides (figure 01) (Thompson et Gentry-Weeks, 1994).

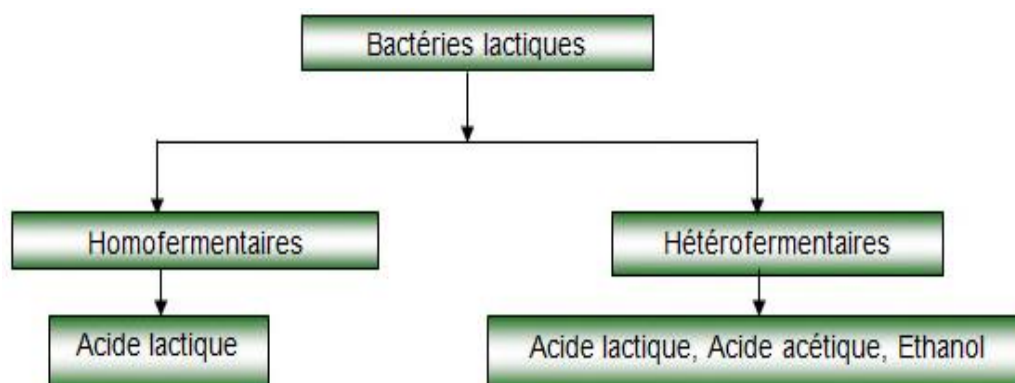


Figure 1 : classification des bactéries lactiques selon leurs métabolites de fermentation (Thompson et Gentry-Weeks, 1994).

I-4- Intérêt des bactéries lactiques dans l'industrie alimentaire

Tous les types de produits alimentaires sont concernés par la fermentation lactique. Le lait et produits de transformation comme les fromages et les yaourts, les produits carnés aux saucissons et saucisses, les poissons à des sauces. Les produits végétaux peuvent aussi être transformés par cette fermentation qui assurera une bonne sécurité alimentaire, par acidification et production de bactériocines, ainsi que la qualité finale des aliments, par production de composés d'arôme (Desmazeaud, 1996).

Les bactéries lactiques sont généralement reconnues comme non toxiques. De plus, on peut leur attribuer un rôle indéniable, bénéfique pour la santé Humaine. Cependant, des cas extrêmement rares d'infections ont été relevés. Certaines souches ont été transformées par génie génétique, ce qui améliore leurs performances technologiques, mais ceci peut conduire à un risque écologique, nécessitant la mise en œuvre de vecteurs de clonage acceptables pour l'alimentation (Desmazeaud, 1996).

I-2. Le genre *Lactobacillus*

I-2.1. Habitat

Les lactobacilles sont présent naturellement dans de nombreux biotopes: eau, sol, surface des plantes, lait et dérivés, viande, fruits, les eaux d'égouts. Chez l'Homme et de nombreuses espèces animales, ils sont commensaux ou symbiotiques et sont rarement pathogènes. Ce sont des

Chapitre I : Les bactéries lactiques

cellules allongées, régulières en forme de bâtonnets ou coccobacilles isolés ou en chaînettes de taille variable, asporogènes, immobiles ou mobiles grâce à des flagelles péritriches, anaérobies facultatifs. Leurs exigences nutritionnelles complexes (les acides aminés, les peptides, les vitamines, les sels, les acides

gras et les glucides (**Dellaglio et al., 1994**), et leur température de croissance varie d'une espèce à une autre allant de 2 à 53°C avec un optimum de 30 à 40°C et un pH optimal de croissance de 5,5 à 6,2. Leurs GC% se situent entre 36 et 47% (**Collins et al., 1989**).

I-2-2 Taxonomie et Intérêts technologiques et probiotique des *Lactobacillus*

I-2-2-1. Généralité sur les lactobacilles

Le genre *Lactobacillus* représente le plus large groupe des bactéries lactiques. Ils peuvent être isolés de différents biotopes (humains, animaux, plantes...etc) (Stilles et Holzappel, 1997). Le genre *Lactobacillus* contient un assemblage divers de 140 espèces avec des aspects variés allant du bacille long et fin au coccobacille. Ils sont Gram positif, non sporulés, fréquemment associés en chaînettes et habituellement immobiles (Siegumfeldt et al., 2000 et Singh et al., 2009). Le métabolisme des sucres chez *Lactobacillus* est hétéro- ou homofermentaire. Certaines souches sont thermophiles, d'autres mésophiles (Nannen et al., 1991). Les espèces homofermentaires strictes fermentent les hexoses en acide lactique en utilisant la voie EMP (Embden-Meyerhoff Parnas) (Law et Haandrikman, 1997). L'autre groupe renferme l'espèce de *Lb. acidophilus* et *Lb. Casei* (Hétérofermentaires facultatives). Les pentoses sont fermentés en acide lactique et acétique via la voie des pentoses phosphate (Carr et al., 2002). Les lactobacilles hétérofermentaires strictes fermentent les hexoses ainsi que les pentoses en utilisant la voie des pentoses phosphate (**Hassan et Frank, 2001**).

I-2-2-2. Taxonomie du genre de *Lactobacillus*

Ce genre fait partie de la famille des *Lactobacillaceae*, ordre des *Lactobacillales*, classe des *Baccilli*, phylum des *Firmicutes*. Cette famille regroupe trois genres différents *Lactobacillus*, *Paralactobacillus* et *Pediococcus*. (**Axelsson, 2004 ; Felis et Dellaglio, 2007**).

I-2-2-3. Evolution de la taxonomie des lactobacilles

A partir de 1980, la systématique du genre *Lactobacillus* (*Lb*) a connue beaucoup de modifications (**Felten et al, 1999**)

Chapitre I : Les bactéries lactiques

En 2009 le genre *Lb* a été divisé en sept groupes phélogénétiques : *Lb. casei*, *Lb. casei*, *Lb. debrueckii*, *Lb. buchleri*, *Lb. plantarum*, *Lb. reuteri*, *Lb. sakei* et *Lb. salivarius* (**Hammes et Hertel, 2009**).

Les lactobacilles présentent le groupe des bactéries lactiques le plus ubiquitaire qui colonisent tous les habitats (ex : les produits laitiers) (**Federighi et al., 2005**).

L'Homme, les animaux et les plantes sont quotidiennement en contact avec les lactobacilles (**de Roissartet Luquet 1994**).

1-2. Les Intérêts probiotiques

Bien que les probiotiques représentent une faible proportion de la masse microbienne du système gastro-intestinal de l'hôte, ils semblent y jouer des rôles biologiques déterminants

1. Prévention de la colonisation et croissance des microorganismes pathogènes par les mécanismes illustrés dans la **figure2**

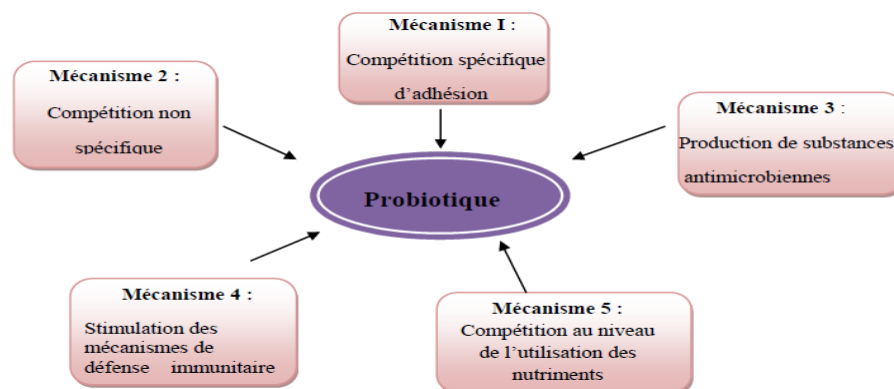


Figure 02 : Mécanismes d'action des probiotiques contre les microorganismes pathogènes (**Kaur et al., 2002**).

1. Ils établissent des interactions avec la barrière intestinale physique (interactions avec le mucus, et fonctionnelle (immunomodulation) locale et systémique (**FAO/WHO ,2002**))
2. Les probiotiques sont considérés comme des agents protecteurs vis-à-vis des risques d'apparitions de pathologies digestives (**Gour nier-Château et al., 1994**) ;
3. Amélioration des troubles intestinaux associés à l'intolérance au lactose (**Pettoello et al., 1989**)
4. Protection contre les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (**Gossum,2007**) et leurs efficacité des traitements des colites (**Matsumoto et al. , 2001**) et des

Réduction de l'absorption du cholestérol en utilisant le cholestérol comme nutriment par le macrobiote intestinal ainsi par la déconjugaison des sels biliaires qui seront plus facilement

Chapitre I : Les bactéries lactiques

5. excrétablement dans les selles, ce qui induit l'épuisement des stocks de cholestérol de l'organisme (**Gournier-Chateau et al., 1994**).
6. Diminution de l'incidence du cancer du côlon (**Gournier-Chateau et al.,1994**).

La bioconservation des aliments: production des substances antibactériennes (bactériocine). On peut citer dans le domaine des produits laitiers, dans une étude menée par **Bogovic et al. (2007)**, il a été démontré que *Lb. gassri* K7 productrice de bactériocines inhibe la croissance de *Clostridium tyrobutyricum* et la formation de l'acide butyrique dans le fromage (**Bogovic et al ., 2007**).

1-3. Intérêts technologiques du *Lactobacillus*

Les lactobacilles sont utilisés dans plusieurs domaines dont la manufacture des produits laitiers (**Tableau 1**), comme culture starters, ils participent aussi dans la fabrication du pain, les ensilages, et sont aussi proposés comme bioconservateurs dans les produits non fermentés car ils possèdent un pouvoir inhibiteur vis-à-vis des micro-organisme d'altération (**Dortu et Thonart ,2009**) en plus de cela les *Lactobacilles* augmentent la valeur nutritive l'aliment auquel elles sont ajoutées (**Slover et Danziger,2008**).

Dans les yaourts, *Lb .bulgaricus* forment des peptides utilisés en suite par les *Streptococcus therophilus*. L'arome du yaourt est dû à l'acétaldéhyde formé à partir de la thréonine par l'aldolase de *Lb.bulgaricus* .Divers lactobacilles comme *Lb.casei*, *Lb.plantarum*, *Lb.brevis*, *Lb.buchner*, interviennent pendant l'affinage des fromages . *Lb.helveticus*, *Lb.lactis* et *Lb.bulgaricus* agissent avec *Streptococcus thermophilus* dans les fromages à pate cuite. (**Leyral et Vierling, 2007**). A propos du Kéfir, les *Lactobacillus kéfir*, *Lb.kefiranofaciens* et les autres *Lactobacillus* mésophiles ont démontrés leur contribution à la fabrication du produit. Le rôle des lactobacilles est également important dans la fermentation des fruits et légumes (raisins , choucroutes , cornichons) (**Edwards et al.,2000 ; Rodas et al .,2005 ; Figueiredo et al .,2008**)

Chapitre I : Les bactéries lactiques

Tableau 1: Principales espèces et sous espèces de lactobacilles utilisées en industrie laitière (**Kandler et Weiss, 1986**)

| Espèce | Fermentation | Croissance | | |
|------------------------|-------------------|------------|--------|-------------|
| | | A 15°C | A 45°C | |
| <i>Lb. helveticus</i> | Hmofermentaire | - | + | Thermophile |
| <i>Lb. acidophilus</i> | | - | + | |
| <i>Lb. casei</i> | | + | - | Mésophile |
| <i>Lb. brevis</i> | Hétérofermentaire | + | - | Thermophile |
| <i>Lb. fermentum</i> | | - | + | |

III Rôle des lactobacilles dans l'industrie fromagère

1-Pouvoir texturant

La capacité des bactéries lactiques à synthétiser des exopolysaccharides (EPS) joue un rôle important pour la consistance et la rhéologie des produits transformés (**WELMAN et MADDOX, 2003 ; RUAS- MADIEDO et al., 2002**).

2-Pouvoir aromatisant

La plupart des composés d'arôme sont issus du métabolisme du citrate : l'acétoïne et le diacétyl sont les plus importants (**TAMIME, 1990**). La production de diacétyl est généralement associée à la fermentation du citrate (**VIGNOLA, 2002**). Les lactobacilles (*Lb. helveticus*, *Lb. bulgaricus*) synthétisent de l'acétaldéhyde. La teneur en acétaldéhyde est à la fois fonction de son degré de synthèse et du rythme de sa dégradation (**VIGNOLA, 2002**).

3-Pouvoir acidifiant

Le yaourt est fabriqué grâce à l'association de *Streptococcus thermophilus* et de *Lactobacillus bulgaricus*. La présence de lactobacilles stimule la croissance de *S. thermophilus* en libérant des acides aminés et des peptides de la caséine (**Rajagopal et Sadine, 1990**).

4-Pouvoir protéolytique

Les lactobacilles présentent généralement une activité protéolytique plus prononcée que les lactocoques (**Donkor et al., 2007 ; Monnet et al., 2008 ; Roudj et al., 2009**).

Le système protéolytique des bactéries lactiques est composé de protéases associées à la paroi cellulaire, qui catalysent l'hydrolyse de protéines en peptides contenant de 7 à 16 résidus

Chapitre I : Les bactéries lactiques

aminés, ces peptides sont ensuite dégradés par des endopeptidases ou exopeptidases en unités transportables d'acides aminés et de petits peptides (**LYNCH *et al.*, 1997; LANE et FOX, 1996; FARKYE *et al.*, 1995**).

5-Pouvoir lipolytique

Ordofiez Et Ortiz De Apodaca (1977), ont observé que les lipases extracellulaires de plusieurs microcoques isolées du fromage étaient plus actives contre les acides gras à courte et longue chaîne estérifié aux triacylglycérols, et l'activité lipolytique intracellulaire était moins que celle extracellulaire.

6-Pouvoir antibactérien

Les bactéries lactiques produisent de nombreux métabolites aux propriétés antimicrobiennes, comme des bactériocines etc (**DORTU et THONART, 2009**).

I-5. Stress et bactéries dans l'aliment :

I-5.1. Comment étudier un stress ?

La notion de stress intervient à partir de que les conditions optimales de croissance d'un microorganisme ne sont pas réunies. Par conséquent, quelle que soit sa nature, toute modification environnementale conduisant à des conditions de croissance non favorables va perturber la physiologie cellulaire et sera donc perçue comme un stress (**Alexander *et al.*, 2008**).

I-5.2. Les différents types de stress

1. Stress thermique

Définition

Le stress thermique corespond à une élévation de la température en développant un état de thermo tolérance chez les bactéries lactiques .Cette thermotolérance est d'autant plus prononcée ou plus rapidement acquise quand les cellules ont préalablement été soumises à une température sub-optimale (ou à un stress hétérologue) (**Dridier et Prévost, 2009**).

2. Stress osmotique

Définition d'osmose

Le stress osmotique correspond à une diminution ou une augmentation de l'osmolarité de l'environnement de la bactérie causés par exemple par la dessiccation (Csonka, 1989).

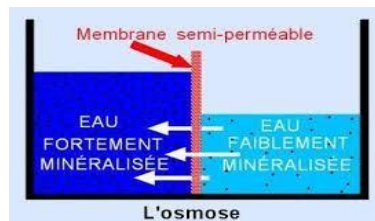


Figure 3 : phénomène d'osmose (Cavanaghet *al.*, 1996).

3. Stress oxydatif

Définition oxydatif

Le stress oxydatif se définit comme un déséquilibre de la balance des molécules oxydantes et antioxydants en faveur des premières nommées (Dridier et Prévost, 2009).

Ex : L'action inhibitrice du peroxyde d'hydrogène est principalement due à son fort effet oxydant sur les lipides membranaires et les protéines cellulaires (voir revue Caplice et Fitzgerald, 1999).

4. Stress acide

Définition acide

Le stress acide est un stress important pour les bactéries lactiques puisqu'elles acidifient leur milieu au cours de la croissance et correspond à toute modification dans le génome, le protéome ou dans l'environnement (Booth, 2002).

I-6. Effet du stress osmotique et acide sur les bactéries

I-6-1. Effet de stress osmotique sur les bactéries

La membrane cytoplasmique des bactéries est perméable à l'eau mais constitue une barrière efficace contre le passage de la plupart des solutés du milieu et des métabolites présents dans le cytoplasme. Une augmentation brusque de l'osmolarité du milieu externe entraîne un rapide flux d'eau vers l'extérieur de la cellule, qui a pour conséquence une diminution de la pression de turgescence, le moteur de l'élongation des cellules, une variation de la concentration cytoplasmique en solutés et un changement du volume cellulaire (plasmolyse dans les cas extrêmes) (Csonka, 1989).

les bactéries lactiques peuvent être soumises à de forts stress osmotiques, causés par exemple par la

dessiccation (Csonka,1989).

I-6-1.1. Le mécanisme de stress osmotique

Les bactéries sont capables de vivre dans des milieux extrêmement variés car elles possèdent des systèmes de protection efficaces contre les différents stress qu'elles peuvent rencontrer. Les bactéries lactiques vivent dans des habitats où l'osmolarité est souvent élevée et varie énormément (Gutierrez,2001). Lorsqu'une bactérie subit un stress osmotique, dû à une forte augmentation de la concentration en sel dans l'environnement, sa croissance est arrêtée, et des mécanismes de détresse se mettent en place pour éviter la mort cellulaire (Gutierrez,2001).

I-6-1.2. La réponse au stress osmotique par des lactobacilles dans les aliments

Certaines souches de *Lactobacillus* hétérofermentaires ont un effet sur la qualité des viandes conservées sous vide, où la production de CO₂ par ces bactéries provoquent des défauts d'aspect (gonflement des conditionnements) (Federighi et al., 2005). Elles provoquent aussi le verdissement des viandes par action de H₂O₂ qui transforme l'hémoglobine en choléglobine.

Dans le domaine des produits laitiers, *Lb rhamnosus* LC705, associé à *Propioni bacterium freudenreichii subsp. shermanii* JS, inhibe la prolifération de *Rhodotorubra* RHO dans le yaourt et augmente de 5 semaines la durée de conservation de ce dernier (Suomalainen et Mayra-Makinen, 1999).

I-6-2. Stress acide

I-6-2.1. Effet du stress acide sur les bactéries

Les bactéries lactiques produisent au cours de la croissance de l'acide lactique qui inhibe pour une partie le développement de la flore indésirable dans les produits fermentés (Shelef, 1994). L'acide lactique est un acide faible dont le pKa est de 3,86. Il existe sous deux formes : la forme non dissociée (acide lactique) et la forme dissociée (lactate) (Corrieu et Luquet ,2008). Chez les microorganismes, l'effet d'un stress acide peut affecter différents niveaux de la morphologie, la croissance et la survie des cellules.

❖ Effet sur la morphologie

Chez plusieurs espèces de bactéries lactiques, l'acquisition de la tolérance au stress acide nécessite aussi des modifications au niveau de la membrane cytoplasmique (Drici-Cachon et al., 1996a).

❖ Effet sur la croissance

La diminution du pH qui peut atteindre 3,5 à 4,5 est souvent responsable de l'arrêt de la croissance et par conséquent d'augmenter la fraction d'acide lactique sous forme non dissociée qui

Chapitre I : Les bactéries lactiques

peut alors diffuser librement à travers la membrane et s'accumule dans la cellule (**Corrieu et Luquet, 2008**).

❖ Sur la survie

Les bactéries lactiques ne survivent pas à une acidification brutale du milieu cette survie peut être augmentée par une phase d'adaptation à des pH intermédiaires (Rallu, 1999). La capacité de survie à l'acidité gastrique varie beaucoup selon genres et souches. Chou et Weimer ont montré des différences dans la composition en acides gras de la Paroi cellulaire d'une souche de *Lb. Acidophilus* et de son variant résistant à l'acidité. Cette différence portait essentiellement sur l'acide gras C14:1 (Chou et Weimer, 1999).

I-6-2.2..Le mécanisme de stress acide

Les premières études sur la réponse d'un organisme vivant à une variation d'un paramètre environnemental ont concerné la bactérie exposée à une élévation de température (**Dridier et Prévost, 2009**). Depuis, ces études se sont étendues à plusieurs organismes vivants dont les bactéries et à de nombreux stress tels que les variations de pH, de pression osmotique (**Dridier et Prévost, 2009**). En effet, ces dernières décennies les recherches en microbiologie s'orienter vers l'étude des réponses des bactéries aux fluctuations des paramètres physico- chimiques de leurs environnements. Ainsi, un stress modéré entraîne un ralentissement de la croissance, tandis qu'un stress léthal induit un infléchissement brutal de la survie (**Dridier et Prévost, 2009**).

I-6-2.3. La réponse au stress acide par des lactobacilles dans les aliments

La diminution du pH extracellulaire agit sur la flore microbienne des aliments en perturbant l'équilibre ionique du milieu extérieur (certains ions métalliques, qui sont des cofacteurs enzymatiques précieux, forment alors des complexes insolubles non utilisables par la bactérie), la perméabilité membranaire (les perméases cationiques, saturées en ions H⁺, n'assurent alors plus le transport d'autres cations indispensables à la bactérie). Certaines activités enzymatiques essentielles à la croissance microbienne (**Brul et Coote, 1999**). La chute de pH du milieu de culture entraîne celle du pH interne. Ainsi, un abaissement du pH du milieu de 6,75 à 5,00 avec de l'acide lactique provoque une chute du Ph interne de *Lc. lactis* de 7,00 à 5,25 (**Sanders et Huis in't Veld, 1999**).

I-6-3. Réponse des lactobacilles au stress oxydant

L'accumulation du peroxyde d'hydrogène sous l'action des oxydases est la cause majeure de la présence de l'activité antimicrobienne, notamment chez les lactobacilles (**Daeschel, 1989**). L'action inhibitrice du peroxyde d'hydrogène est principalement due à son fort effet oxydant sur les lipides membranaires et les protéines cellulaires (**Caplice et Fitzgerald, 1999**).

Matériel et méthodes

Matériel et méthode

Méthodologie envisagée pour la réalisation de l'objectif tracé dans ce mémoire.

Vu la crise sanitaire qui a touchée notre pays par l'apparition du COVID-19 l'ensemble des travaux au niveau de laboratoire ont été suspendus. Nous résumons l'ensemble des méthodes prévues sous forme d'une partie théorique.

Méthodologie

Les analyses envisagées d'être réalisées dans ce mémoire portent sur une collection des souches de Lactobacillus du Dr Marroki et al. isolées à partir du lait de chèvre de la région de l'ouest d'Algérie.

La méthodologie prévue pour la réalisation du mémoire porte sur l'Isolement pour purification et caractérisation des souches de la collection par des méthodes phénotypiques et biochimiques et études certaines caractéristiques technologiques (l'effet de stress sur l'ensemble des souches) ; et qui se résument comme suit :

- 1. Revivification des souches de la collection sur milieux liquides puis l'isolement sur milieux solide.*
- 2. Pour la caractérisation des phénotypiques, les méthodes envisagées s'articule autours de l'étude de l'aspect macroscopique et microscopique des souches*
- 3. Les méthodes physiologiques tracées portent sur l'étude de production de l'enzyme catalase et production de CO₂ à partir du glucose des souches. Nous avons aussi envisagé de réaliser une identification des souches de la collection par l'utilisation des caractères biochimiques soit classique soit par l'utilisation de galerie API système.*
- 4. Enfin, l'étude de l'effet de stress sur l'ensemble des souches de la collection de lactobacillus.*

II. Matériel et méthode

Souches de *Lactobacillus* et conditions de culture

Souches envisagées pour l'étude

Une collection des souches de *Lactobacillus* isolées à partir du lait de chèvre de la région de la wilaya de Sidi Bel abbès.

3-Revivification des souches

La revivification es souches de *Lactobacillus* peuvent être effectuées dans un milieu MRS et incubées à 30 incubées pendant 24 à 48 h. Deux tests peuvent être réalisés pour vérifier l'appartenance des souches au genre de *Lactobacillus*

a. Principe

Pour la revivification des souches de lactobacilles, des repiquages successifs doivent être réalisées sur des milieux bouillon MRS. Une volume de 5 à 10 µl de chaque souche de notre collection est transféré dans des tubes de 5 ml de bouillon MRS, puis incubé à 30°C pendant 24 h à 48h .

4-Isolement des souches de *Lactobacillus*

L'isolement peut être réalisé sur milieu MRS, à l'aide d'une anse platine stérile étalé un goutte ou volume de 1 µl etensemencée en strie sur gélose MRS selon la méthode de strie, incubé la boîte à une température appropriée pour notre collection à température de l'incubation et de 30°C pendant 24 à 48h. Après cette période d'incubation en observe l'apparition des colonies caractéristiques de *Lactobacillus* sur milieu MRS.

5-Purification des souches

a. Principe

Une colonie est ensuite repiquée individuellement et ré-ensemencée sur milieu MRS par la méthode des stries sur une nouvelle boîte de Pétri contenant le milieu MRS.

Mode opératoire

Pour la purification des souches, une succession d'ensemencements en stries sur gélose MRS par la méthode des stries et l'incubation à été réalisée à 30°C pendant 48h.

6- Conservation des souches

La conservation des souches peut être réalisée dans des tubes de gélose MRS inclinée à 4°C.

Méthodes phénotypiques d'identification des lactobacilles

Les méthodes phénotypiques tracées s'articulent autour de l'étude de l'aspect macroscopique et microscopique des souches.

7-Test morphologiques

7-1.1 Test macroscopique

La caractérisation macroscopique, permet de décrire l'aspect des colonies obtenues sur milieu solide MRS après 24h d'incubation à 37°C (**Anabeien Flozer et al ,2006**). Pour les souches de lactobacilles, on a observé sur milieu solide des petites colonies d'environ 1 mm de diamètre, de forme lenticulaire de couleur blanchâtres ou laiteuses.

7-1.2 Examen microscopique

On utilise le microscope optique pour déterminer la forme et la disposition des cellules bactériennes.

7-1.3. Technique de préparation des frottis (Canler, 2005)

Avant toute coloration, il faut réaliser un frottis, c'est-à-dire un étalement et fixation des bactéries sur une lame.

La technique du frottis peut être résumée comme suit:

Déposer sur une lame propre une goutte d'eau stérile si la culture prélevée est solide, puis prélever à l'aide de l'anse de platine une parcelle de la culture.

Mélanger afin d'obtenir une suspension homogène.

Réaliser le frottis en partant du centre de la lame, en décrivant avec l'anse des mouvements circulaires de façon à obtenir un étalement mince et homogène sur au moins 2/3 de la lame.

Sécher et fixer le frottis au-dessus de la flamme du bec Bunsen sans trop le chauffer.

Matériel et méthode

Une fois sec, passer dans la flamme le frottis 3 ou 4 fois une demi-seconde, pour le fixer.

Le frottis étant fixé, la lame ne présente plus de danger de contamination. On peut alors effectuer la coloration désirée.

Remarque : avant de colorer, attendre que la lame refroidisse sous peine de cristallisation du premier colorant ou de casse de la lame

7-1.4 Méthode de coloration de Bleu de Méthylène

Faire couler la solution de bleu de méthylène jusqu'à ce que toute la lame soit recouverte.

-Laisser agir 1 minute.

Rincer abondamment la lame avec le jet d'une pissette d'eau distillée, ou à l'eau du robinet jusqu'à élimination des colorants en excès.

Sécher à l'air ou devant le bec bunsen, ou encore sécher délicatement entre deux feuilles de papier filtre fin (ou buvard), sans frotter.

OExaminer au microscope, objectif 100 avec une goutte d'huile d'immersion.

Observation après coloration

Les bactéries de *Lactoacillus* peuvent prendre la coloration bleu sombre. Cette coloration est intéressante pour l'observation rapide des frottis mais elle permet seulement l'étude de la orphologie des bactéries (**Baldent , 1997**).

7-1.5 Méthode de coloration de Gram

Coloration par le violet : Recouvrir totalement la lame avec le violet de Gentiane

Laisser agir 20 secondes à 1 minute selon la force du colorant utilisé.

Mordantage : Prendre la lame avec une pince et l'incliner légèrement. Éliminer le violet de gentiane en faisant couler sur la lame la solution de Lugol.

Reposer la lame et la recouvrir de solution de Lugol. Laisser agir 15 à 20 secondes.

Matériel et méthode

Rejeter et remplacer par la même solution (2 fois en laissant agir chaque fois 20 secondes). Le temps de mordantage doit être égal ou légèrement supérieur au " temps de violet ".

Décoloration par l'alcool, en laissant couler rapidement l'alcool sur le frottis, tenu verticalement ou en position très inclinée, jusqu'à ce que l'alcool s'écoule non teinté (5 à 10 secondes). Rincer aussitôt à l'eau.

Recoloration par la fuchsine : Recouvrir la lame d'eau et verser quelques gouttes de fuchsine à chaque extrémité du frottis. Ne jamais verser la fuchsine directement sur le frottis (risques de dépôts, de coloration trop intense). Laisser la fuchsine 10 à 20 secondes.

Rinçage et séchage : Rincer à l'eau et sécher entre deux feuilles de papier filtre ou à la chaleur du bec bunsen.

Au terme du processus de coloration, les bactéries dites « Gram Négatives » apparaissent roses tandis que les bactéries dites « Gram Positives » sont colorés en bleu foncé/violet (**Baldent , 1997**).

7-2 Test physiologique

7-2.1 Le test de Catalase

Principe

Ce test est utilisé pour différencier les bactéries catalase positive et catalase négative

Mode opératoire

Le test peut être réalisé de la manière suivante ; déposer sur une lame quelque goutte d'eau oxygénée puis, on a rajouté à l'aide d'une anse la suspension bactérienne a testée ou une partie de la colonie à partir d'une boîte Pétri contenant le milieu MRS et les mets en contacte avec la goutte d' H_2O_2 .

Observation des résultats,

L'apparition ou non de bulle de bulles sur la lame témoigne la présence de l'enzyme de la catalase dans le métabolisme bactérien (**Stiles et holzapfel, 1997**).

7-2.2 Test du type fermentaire production de CO₂ à partir du glucose

a.Principe du test

Ce test permet de différencier les bactéries lactiques homo-fermentaires de celles hétéro-fermentaires.

Mode opératoire

La mise en évidence de la production du CO₂ à partir du glucose sur milieu MRS contenant la cloche de Durham. Après inoculation avec 1% de la souche a étudiée, le développement d'une souche hétéro fermentaire se traduit par l'apparition du gaz dans la cloche du Durham, qui est absent chez les homofermentaires (Gibson et abd el Malek., 1945).

7-3 Test biochimiques

7-3.1 Les tests classiques pour l'identification de lactobacilles

7-3.1.1 La méthode du système API 50CHL

a. Principe

L'étude du profil fermentaire des sucres des souches de Lactobacillus généralement est réalisée par l'utilisation de la galerie API 50 CHL. La galerie API 50 CHL est un système standardisé associant 50 tests biochimiques permettant l'identification des lactobacilles.

b. Mode opératoire

La galerie est constituée de 50 microtubes permettant la fermentation des hydrates de carbones et dérivés. La mise en œuvre du test de la galerie API 50CHL, peut être résumé de la manière suivante :

Préparation de la culture bactérienne

A partir d'une culture de 18h à testée ensemencées la galerie API 50 CHL de la manière suivante : Chaque microtube est inoculé avec un volume de la suspension bactérienne a testée, puis couvert par une fine couche de l'huile de paraffine stérile, incubé à 30 °C pendant 24 à 48 heures. La fermentation des sucres par la souche se traduit par un changement de couleur.

Matériel et méthode

Pour une identification de la souches on utilise soit des tableaux théoriques de références soit par l'utilisation des logiciel et une base de données de référence.

7.4 Etude de l'effet de stress sur les *Lactobacillus*

7-4. 1La Croissance à pH 3 ; 4 et 6,5

Préparation du milieu à différent concentration de pH 3 ; 4 et 6,5

Soit on utilise une plaque de 96 puits ou des tubes contenant le milieu MRS ajusté avec différentes concentration de pH : 3, 4 et 6,5.

Un volume de 10 ml de milieu MRS à pH 3, 4 et 6,5 est inoculé avec 1 % de la souche de *Lactobacillus* a testée en phase exponentielle. Le tube est incubé à 30°C à 24h, après cette période d'incubation on note l'apparition des souches dans le milieu. Ce test peut être complété par l'ensemencement de la souche sur milieu MRS et incube à 30°C pendant 24h et on observe l'apparition des colonies.

7-4.2 La Croissance à différentes concentration du NaCl : 2 % ; 4% et 6,5%

Préparation du milieu à différent concentration du NaCl : 2 % ; 4% et 6,5%

Milieu MRS liquides ou solide contenant différentes concentration de NaCl : 2 % ; 4% et 6,5% .

Mode opératoire

Ensemencer le milieu MRS à 2 %, 4%, 6.5% de NaCl avec la souche a testée, incuber a 30°C pendant 24 heures (**Guiraud et Galzy, 1980**).

Observer la croissance : un trouble pour le milieu liquide et des colonies sur des milieux solide.

7-4.3 La Croissance à 0,5 % et 1 % de la bile

Le test de la tolérance des souches de *Lactobacillus* à la bile peut être réalisé dans un bouillon MRS en présence de 0,5 à 1 % (m/v) de bile selon la méthode décrite par Marroki et al.,

2011. Le milieu de culture est ensuite inoculé avec la souche a testée de 18 -20 h à 30 °C. 1 % de cette culture bactérienne doit être ensuite ajoutée dans un tube contenant 9 ml de milieu contenant une concentration de 0,5 % et 1 % de la bile, les tubes sont ensuite incubés à 30 °C. un volume est ensuite prise au temps 0, 3 et 24 h pour mesurer la viabilité des souches après exposition à cette concentration de la bile a une absorbance 600 nm (A_{600}).

Conclusion

Conclusion

Conclusion

Chez les microorganismes, l'effet de stress peut affecter différents niveaux de la physiologie cellulaire et ce mesure *in vitro* par plusieurs méthodes phénotypiques. Notre étude a pour objectif d'évaluer et de caractériser la tolérance aux contraintes technologiques d'une collection souches de *Lactobacillus* à savoir la tolérance au stress d'acide, osmotique et de la bile. L'utilisation de l'espèce appartenant au *Lactobacillus* en tant que levain ou auxiliaire technologiques, parmi lesquels les bactéries lactiques, pour élaborer des aliments fermentés est plus répandue. Les enjeux des travaux de recherche développés étaient de définir les niveaux de tolérance de ces bactéries à différentes paramètres technologiques comme l'acidité, la concentration des sels, et et de comprendre les mécanismes de réponse développés chez les lactobacilles. Ces connaissances sont essentielles pour le développement des produits de transformations comme les fromages et produits fermentés.

Vu la crise sanitaire qui a touchée notre pays par l'apparition du COVID-19, notre mémoire a été rédigé de manière théorique et scindé en deux parties. La première résume et synthétise l'ensemble des données sur les bactéries lactiques et la taxonomie du genre de *Lactobacillus*. L'intérêt de ce groupe dans l'industrie fromagère comme auxiliaire technologique. Les méthodes envisagées pour la réalisation de notre expérimentation a été résumé sous forme des données théorique dans la deuxième partie. En conclusion, nous pouvons considéré que ce manuscrit est constitue une base de travail théorique pour étudier le mécanisme et l'effet de stress chez les *Lactobacillus* et également un axe de recherche très intéressant a développé dans l'avenir.

Références bibliographiques

Référence bibliographiques

A

Alexander H, Grandvalet C, Guilloux-Bénatier M, Romiz-Barnavon F, Tourdot- Maréchale L. (2008). Les bactéries lactiques en œnologie. Editions TEC & DOC Lavoisier. pp 62.

Axelsson L.T. (2004). Lactic Acid Bacteria : Classification and Physiologie. In *Lactic Acid Bacteria – Microbiologie and functional aspects*, Edited by S. Salminen, S. Von Wright, And Ouwehand A. (Eds), Marcel Dekker, Inc.633. pp 1-66.

B

Baldent., 1997. Coloration usuelles en Bactériologie. *Revue de Développement et santé. Février (1997).* www.ledamed.org.

Bogovici MB, Koman RM et Perko B. (2007). inhibition of *Clostridium tyrobutyricum* in cheese by *Lactobacillus gasseri*. *Int. Dairy J.*17, 157-166.

Booth IR. (2002). Stress and the signal cell: intra population diversity is a mechanism to ensure survival upon exposure to stress. *Int J Food Microbiol*78 (1-2):19:30.

Brul, S., and P. Coote. 1999. preervative agents in foods .Mode of action and microbiol.50(1-2) :1-17.

C

Canler J-P., 2005. Dysfonctionnements biologiques des stations d'épuration : Origines et solutions. *Groupe Gis-Biostep. Doc & Tech. FNDAE n°33 : pp 100-104.*

Caplice, E., and G. F. Fitzgerald. (1999). RRG IHUPHQWDWLRQV: UROH RI PLFURRUJDQLVPV LQ IRRG SURGXFWLRQ DQG SUHVHUYDWLRQ. ,QW -)RRG OLFURELRO. 50(1-2):131-49.

Chou LS, Weimer B. (1999). Isolation and characterization of acid- and bile-tolerant isolates from strains of *Lactobacillus acidophilus*. *J. Dairy Sci.* 82: 23-31.

Collins MD, Phillips BA et Zanoni P. (1989). Deoxyribonucleic acid homology studies of *Lactobacillus praeacaei* sp. Nov. subsp. *praeacaei* and subsp. *paracaei* and subsp. *Tolerans* and *Lactobacillus rhamnosus* sp. nov. *Int. J. Sys. Bacteriol.*, 39: 105- 108.

Corrieu G, Luquet MF. (2008). Bactéries lactiques De la génétique aux ferments. Editions TEC & DOC. Lavoisier. pp : 429-431.

Référence bibliographiques

Csonka LN.(1989).Physiologie and geniticréponse of bacteria to osmotic stress.Microbiol.Rev.53 :

D

Dellaglio, F., De Roissart, H., Torriani, S., Curk, M. et Janssens, C. (1994). In : Bactéries lactiques aspects fondamentaux et technologiques, 1. pp 25-114

De Roissart H et Luquet F.M. (Janvier 1994). Bacteries lactiques Lorica Uriage.1 ; 6-1

Desmazeaud M. (1996). Les bactéries lactiques dans l'alimentation humaine : utilisation et innocuité. Vol 5 N°5. pp 331-343.

DONKOR O.N., HENRIKSSON A., VASILJEVIC T. and SHAHA N.P., 2007. Proteolytic activity of dairy lactic acid bacteria and probiotics as determinant of growth and in vitro angiotensin converting enzyme inhibitory activity in fermented milk. *INRA, EDP Sciences*. 86: 21-38.

Dortu C et Thonart P. (2009). Les bactériocines des bactéries lactiques : Caractéristiques et intérêts pour la bioconservation des produits alimentaires (2009). *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement* .13, 143-154.

Dridier Dj,Prévoste H.(2009).Bactéries Lactiques physiologie,Métabolisme, Génomique et applications industrielles. Ed. Economica.pp.127-129.

Daeschel, M. A., and T. Klaenhammer. 1985. \$VVRFLDWLRQ RI D 13,6 PHJGDOWRQ SODVPLG LQ *Pediococcus pentosaceus* ZLWK EDFWHULRFLQDFWLYLW\\$.SSO.(QYLURQ.OLFURELRO.50:1528-1541.

121-147.

G

Gibson et abd el Malek. 1945. The formation of carbone dioxide by lactic acid bacteria and *Bacillus licheniformis* and a cultural method of detecting the processus. J. Dairy Res. 14: 35.

Gutierrez C.(2001).*INRA, EDP Sciences*.

GUIRAUD J. et GALZY P., 1980. L'analyse microbiologique dans les industries alimentaires.

Edition l'usine. 119p **Gossum AV.(2007).** Probiotiques et maladies inflamatoires chroniques de l'intestin (MICI).Nutrition Clinique et métabolisme.21, 81- 84 .

Référence bibliographiques

Gournier-Chateau N, Larpent JP, Castellanos MI, et Larpent JL. (1994) . Les probiotiques en alimentation animale et humaine. Lavoisier Tec&Doc. Paris. 192p.

H

Hammers W.P et Hertel C. (2009). Genus *L. lactobacillus*: Dans: Bergey's manuel of Systematic Bactériology second edition, vol. 3 (The firmicutes). Springer Sciences.Busines Media, New York, p. 465-511.

Hassan, A. N. et Frank, J. F., (2001). Starter cultures and their use. Appl. Dairy Microbiol. 2nd ed. Dekker, 2001. p 151-207.

K

Kandler O. et Weiss N. (1986). genus *lactobacillus*. In : Recherche des bactéries lactiques productrices de bactériocines à large spectre d'action vis-à-vis des germes impliqués dans les toxi-infections alimentaires en Algérie. Thèse de doctorat en Microbiologie Appliquée. Université d'Oran.1- 156p. Edité par. Mami A.

Kaur IP, Chopra K, Saini A (2002). Probiotics, potential pharmaceutical applications.*Eur. J. Pharm. Sci.* 15:19.

L

LANE C.N. and FOX P.F., 1996. Contribution of starter and adjunct lactobacilli to proteolysis in Cheddar cheese during ripening. *International Dairy Journal*.6, 7, 715-728.

Leveau J.Y. et Bouix M. (1993). Les levures. Dans : Microbiologie industrielle, les micro-organismes d'intérêt industriel. Eds.Tech. et Doc. Lavoisier. Paris. pp 2-39.

Leyral G et Vierling E. (2007).Microbiologie et toxicologie des aliments :Hygiène et sécurité alimentaire. Walters klumer France. P.287.

Licitra G., 2010. World-wide traditional cheeses: Banned for business. *DairySci. Technol* 90, 357–374.

Référence bibliographiques

LYNCH C.M., MC SWEENEY P.L.H., FOX P.F., COGAN T.M. and DRINAN F.D., 1997. Contribution of starter lactococci and non-starter lactobacilli to proteolysis in Cheddar cheese with a controlled microflora. *Lait* 77, 441-459. *M*

Matsumoto S, Watanabe N, Imaoka A, Okabe Y. (2001). Preventive effects of Bifidobacterium- and Lactobacillus-fermented milk on the development of inflammatory bowel disease in senescence-accelerated mouse P1/Yit strain mice. *Digestion*.64,92-9. 1.

MONNET V., LATRILLE E., BEAL C. et CORRIEU G., 2008. Croissance et propriétés fonctionnelles des bactéries lactiques. *In* : Bactéries lactiques de la génétique aux ferments (Corrieu G. et Luquet F.M.). *Tec & Doc, Lavoisier*. Paris. 512-592.

O

ORDOTIEZ J.A. and ORTIZ DE APODACA M.J., 1977. Lipolytic activity of micrococci isolated from cheese. *Milchwissenschaft*, 32, 531-3.

Orla-Jensen, S., (1919). The lactic acid bacteria. A.F. Høst and son, Koenighichen Hof- Boghamdel, Copenhagen.

Özer B, Kirmaci HA, Şenel E, Atmar M, & Hayaloğlu A. (2009). Improving the viability of Bifidobacterium bifidum BB-12 and Lactobacillus acidophilus LA-5 in white brined cheese by microencapsulation. *International Dairy Journal*.19:22-29.

P

Pettoello M., Guandalini S, Ecuba P, Corvino C. (1989). di Martinol. Lactose malabsorption in children with symptomatic giardia lamblia infection feasibility of yoghurt supplementation. *J. Pediatr Gastroenterol*; 9,295-300.

Pot B.(2008). The taxonomy of lactic acid bacteria. *In* . Bactéries lactiques de la génétique aux ferments (Corrieu G. et Luquet F.M.). *Tec & Doc.Lavoisier*. Paris. 1-106.

R

Rajagopal, S. N. et Sandine, W. E., 1990: Associative growth and proteolysis of *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus bulgaricus* in skim milk. *J. Dairy. Sci.* 73-894.

Référence bibliographiques

ROUDJ S., BELKHEIR K., ZADI-KARAM H. et KARAM N.E., 2009. Protéolyse et autolyse chez deux lactobacilles isolés de lait camelin du Sud Ouest Algérien. *European. J. Sci. Res.* 34 (2): 218-227.

Rodas AM., Ferrer S, Pardo L.(2005). Polyphasic study of wine lactobacillus strains, taxonomie implication. *Int J systEvol Microbiol.*, vol.55:197-207.

RUAS-MADIEDO P., HUGENHOLTZ J. and ZOON P., 2002. An overview of the functionality of exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria. *International Dairy Journal.* Vol. 12, 163-171.

S

Sanders, M. E., and J. Huis in't Veld. 1999. Bringing a probiotic-containing functional food to the market :microbiological,product,regulatory and labeling issues.*Antonie Van leeuwenhoek.*76(1-4) :293-315.

Slover CM. et Danziger,L. (2008). lactobacllus : a review .*Clin.Micro.New Slett.U.*, 23-27.

Stiles M. E. et Halzapfel E.H. (1997). Lactic acid bacteria of foods and their currnt taxonomy. *Food Microbiol.* 36 (1). pp 1-29.

Suomalainen T.H. et Mayra-Makinen en A.M.(1999). Propionic acid bacteria as protective cultures in fermented milks and breads. *Lait*, 79: 165-174.

T

TAMIME A.Y., 1990. Microbiology of starter cultures. In: Robinson, R. K. (Ed), *Dairy Microbiology*, vol. 2. *Elservier, London.* pp. 131- 201.

Thompson J., Gentry-Weeks C.R. (1994). Métabolisme des sucres par les bactéries lactiques. Dans : *Bactéries lactiques*, Vol. I. pp 239-290 (Editeurs : De Roissart H., Luquet).

V

VIGNOLA C.L., 2002. Science et technologie du lait, transformation du lait. *Presses internationales polytechnique*, Québec; 608p.

Référence bibliographiques

W

WELMAN A.D. and MADDOX I.S., 2003. Exopolysaccharides from lactic acid bacteria, perspectives and challenges. *Trends in Biotechnology*. Vol. 21, 269-274.

Annexes

Annexes

Annexes 01 : Composition des milieux de culture

- **Bouillon MRS (BIOKAR, France)**

Composition du milieu

| | |
|---------------------------------------|-----------|
| ○ Polypeptone..... | 10,00 g/l |
| ○ Extrait de viande | 10,00 g/l |
| ○ Extrait autolytique de levure | 5,00 g/l |
| ○ Glucose..... | 20,00 g/l |
| ○ Tween 80..... | 1,08 g/l |
| ○ Phosphate dipotassique | 2,00 g/l |
| ○ Acétate de sodium..... | 5,00 g/l |
| ○ Citrate d'ammonium..... | 2,00 g/l |
| ○ Sulfate de magnésium..... | 0,20 g/l |
| ○ Sulfate de manganèse..... | 0,05 g/l |

pH du milieu : $5,7 \pm 0,1$

Stériliser à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes.

- **Gélose M17 (Institut pasteur Algérie)**

| | |
|-----------------------------------|---------|
| ○ Peptone de soja..... | 5,00g/l |
| ○ Peptone de viande..... | 2,50g/l |
| ○ Tryptone..... | 2,50g/l |
| ○ extrait de viande | 5,00g/l |
| ○ extrait de levure | 5,00g/l |
| ○ Lactose..... | 5,00g/l |
| ○ Acide ascorbique..... | 0,50g/l |
| ○ Glycérophosphate de sodium..... | 19g/l |
| ○ Sulfate de magnésium..... | 0,25g/l |
| ○ Agar..... | 20g/l |

pH du milieu : $6,4 \pm 0,1$

Stériliser à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes.

- **Bouillon MRS sans sucre (BIOKAR, France)**

Composition du milieu

| | |
|---------------------------------------|-----------|
| ○ Polypeptone..... | 10,00 g/l |
| ○ Extrait de viande | 10,00 g/l |
| ○ Extrait autolytique de levure | 5,00 g/l |
| ○ Tween 80..... | 1,08 g/l |
| ○ Phosphate dipotassique | 2,00 g/l |
| ○ Acétate de sodium..... | 5,00 g/l |
| ○ Citrate d'ammonium..... | 2,00 g/l |
| ○ Sulfate de magnésium..... | 0,20 g/l |
| ○ Sulfate de manganèse..... | 0,05 g/l |

pH du milieu : $5,7 \pm 0,1$

Stériliser à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes.

- **Milieu API 50 CHL**

| | |
|---------------------------------------|-------|
| Polypeptone..... | 10g |
| Extrait de levure..... | 50g |
| Tween 80..... | 1ml |
| K ₂ HPO ₄ | 29g |
| Acétate de sodium..... | 5g |
| Citrate diammoniaque..... | 2g |
| Sulfate de magnésium..... | 0.20g |
| Sulfate de manganèse..... | 0.05g |
| Bromocrésol Pourpre..... | 0.17g |

Annexe 2: Composition des diluants (g/l)

Eau physiologie 9 /ml:

-NaCl.....9g

-Eau distillée.....1000ml

Annexe 3 : Composition des solutions de titrage

• **Solution de NaOH 0,1N :**

Eau distillé 1l

NaOH40g

• **solution de HCL 1n**

Eau distilé100ml

HCL.....4ml
