

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة سعيدة د مولاي الطاهر

Université de Saida Dr MOULAY TAHAR



كلية علوم الطبيعة و الحياة

Faculté de sciences de la nature et de la vie

قسم البيولوجيا

Département de biologie

N° d'Ordre

Mémoire présentée pour l'obtention de diplôme Master

En microbiologie appliquée

Thème

La mise en évidence de l'activité probiotique des souches lactiques pressente dans les fromages traditionnels d'origine caprine

Présenté par :

- M^{lle} : Rachedi Halima
- M^{lle} : Taibi Fatiha

Soutenu le : 30 juin 2024

Devant le comité de jury composé de :

Président Mr. Kebir Nasr-Eddine
Examineur Me. Chahrour Wassila
Encadrant Mr. Bellil Yahia

MCA Université de Saida
MCA Université de Saida
MCA Université de Saida

Année universitaire 2023/2024

Dédicace

Je dédie ce modeste travail aux êtres qui me sont les plus chers :

A ma très chère Mama :

La lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon cœur, ma vie et mon bonheur qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi. J'implore le tout puissant pour qu'il t'accorde une bonne santé et une vie longue et heureuse

A toi mon cher père :

L'homme de ma vie, Ce travail est le fruit de tous les sacrifices que tu as déployés pour mon éducation et ma formation. Je t'aime papa et j'implore le tout puissant pour qu'il t'accorde une bonne santé et une vie longue et heureuse.

A ma copine et binôme

Pour sa entente et sa sympathie tout au long de ce projet.

Remerciements

*Nous dédions ce modeste travail qui est le fruit de
tout un long chemin d'étude.*

*Au plus beau cadeau que le bon dieu nous a offert,
ceux qui nous ont aidées à achever notre travail,
ceux qui ont toujours été là pour nous, à nos chers
parents.*

*Nos remerciements à notre professeur pour son
soutien, ses conseils qui ont été déterminants pour
la réalisation de ce travail. Merci pour votre
dévouement et votre engagement.*

Table des matières

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Résumé

Introduction

| | |
|--|----|
| Généralités sur le lait | 4 |
| 1. Définition générale du lait : | 4 |
| 2. Le lait de chèvre | 4 |
| 3. Composition du lait de chèvre..... | 4 |
| 4. Caractéristiques physico-chimiques du lait de chèvre..... | 5 |
| 5. Microflore du lait..... | 6 |
| 1. Flore originelle..... | 6 |
| 6. Transformation du lait au fromage..... | 8 |
| 2. Définition du fromage | 8 |
| 3. Composition chimique du fromage | 8 |
| 4. Principales étapes de la fabrication fromagère | 9 |
| 5. Coagulation du lait..... | 9 |
| 1.6.1.1. Coagulation par acidification | 9 |
| 1.6.1.2. Coagulation par les enzymes | 10 |
| Les bactéries lactiques | 13 |
| 6.1. Définition des bactéries lactiques..... | 13 |
| 7. Habitat..... | 14 |
| 8. Classification des bactéries lactiques | 14 |
| 9. Rôle et intérêt des bactéries lactiques | 14 |
| 2. Domaine alimentaire | 14 |
| 3. Domaine de santé..... | 15 |
| 1. Les probiotiques | 17 |
| 9.1. Définition..... | 17 |
| 10. Classification des probiotiques | 17 |

| | | |
|---------|--|----|
| 11. | Propriétés et Critères de sélection des souches probiotiques | 20 |
| 1.3.1 | La résistance à l'acidité gastrique | 21 |
| 1.3.2 | résistance aux sels biliaires..... | 21 |
| 1.3.3 | L'adhésion aux cellules épithéliales..... | 21 |
| 1.3.4 | La production de substances antimicrobiennes | 21 |
| 1.3.5 | Résistance aux antibiotiques | 22 |
| 12. | Les probiotiques et leurs effets bénéfiques sur la santé | 23 |
| 13. | Rôle des probiotiques..... | 25 |
| 14. | Applications des probiotiques | 25 |
| 15. | Mécanismes d'actions des Probiotiques..... | 25 |
| 1.7.1 | Inhibition de l'adhésion des pathogènes : phénomène de compétition/exclusion | 26 |
| 1.7.2 | Production de substances antimicrobiennes..... | 26 |
| 1.7.2.1 | Les bactériocines | 26 |
| 1.7.2.2 | Les acides organiques | 27 |
| 1.7.2.3 | Le peroxyde d'hydrogène | 27 |
| 1.7.3 | Stimulation de l'activité du système immunitaire intestinale | 27 |
| 1.7.4 | Allégations santé associées à la consommation des probiotiques | 27 |
| .6 | Matériels et méthodes : | 30 |
| 1. | Echantillonnage :..... | 30 |
| .2 | Prélèvement : | 30 |
| 3. | Isolement et purification des souches | 30 |
| 4. | Purification : | 31 |
| 5. | Pré-identification :..... | 32 |
| 1.4.1. | Etude macroscopique :..... | 32 |
| 1.4.2. | Étude microscopique:..... | 32 |
| 1.4.3 | Tests physiologiques..... | 32 |
| 1.4.3.1 | Recherche de catalase : | 32 |
| 6. | La conservation des souches | 33 |
| 1.5.1. | Conservation à court terme..... | 33 |
| 1.5.2. | Conservation à longue durée..... | 33 |
| 7. | Croissance des lactobacilles à différentes températures | 34 |

| | | |
|------|--|----|
| 8. | Recherche du type fermentaire..... | 34 |
| 9. | Croissance en milieu hyper salée :..... | 34 |
| 10. | L'activité hémolytique | 34 |
| 11. | Croissance des lactobacilles en milieu hostile | 35 |
| 12. | Croissance des bactéries lactiques en milieu acide | 35 |
| 13. | Résistance aux sels biliaires..... | 35 |
| 14. | Résistance aux antibiotiques | 35 |
| 15. | Etude de l'activité inhibitrice des lactobacilles vis-à-vis des pathogènes | 36 |
| 16. | Test d'hydrophobicité: | 36 |
| II. | Résultats..... | 39 |
| 1. | Isolement et purification des souches lactiques..... | 39 |
| 2. | L'étude macroscopique | 39 |
| 3. | L'étude microscopique | 39 |
| 4. | Test de catalase | 40 |
| 5. | Croissance à différentes températures :..... | 40 |
| 6. | Type de fermentation :..... | 41 |
| 7. | Test antibiogramme | 42 |
| 8. | Test d'hémolyse | 44 |
| 9. | Activite antimicrobienne : | 45 |
| 10. | Tolérance à l'acidité :..... | 46 |
| 11. | Tolérance aux sels billiaires | 47 |
| 12. | Hydrophobicité des souches..... | 48 |
| III. | Discussion..... | 48 |
| 1. | Crottin de Chèvre | 48 |
| 2. | Bûche de Chèvre..... | 49 |
| 3. | Gouda de Chèvre | 49 |
| 4. | Brie de Chèvre | 49 |
| 5. | Implications et Perspectives Futures | 50 |
| IV. | Conclusion | 52 |
| 1. | Perspectives pour l'Innovation | 52 |
| 1.1 | Développement de Produits Fonctionnels | 52 |

| | |
|---|----|
| 1.2 Méthodes de Fermentation et Sélection des Souches | 52 |
| 1.3 Applications Médicales et Thérapeutiques..... | 52 |
| 1.4 Durabilité et Biodiversité..... | 53 |
| 1.5 Recherche et Innovation Continue | 53 |

Liste des abréviations

MRS: Man-Rogosa et Sharp

MH: Mueller-Hinton

NaCL : chlorure de sodium

NaOH : Hydroxyde de sodium

pH : potentiel Hydrogène

ml : millilitre

g : gramme

h: Heure

UFC : une unité formatrice de colonie

Liste des tableaux

| | |
|---|----|
| Tableau 01: Composition moyenne du lait de différentes espèces animales | 5 |
| Tableau 02: Principales caractéristiques physicochimiques du lait de chèvre | 6 |
| Tableau 03: Flore indigène du lait | 7 |
| Tableau04 : Composition moyenne et valeur énergétique pour 100g de fromage frais | 9 |
| Tableau 05: Liste des microorganismes considérés comme des probiotiques | 19 |
| Tableau 06: Les critères de sélection des bactéries à potentiel probiotique | 20 |
| Tableau07 : Les principaux effets bénéfiques attribués aux probiotiques | 23 |
| Tableau 08: Caractéristiques des échantillons collectés | 30 |
| Tableau09 : Liste des antibiotiques utilisés | 36 |
| Tableau 10 : Résultats du test d'antibiogramme des isolats lactiques | 43 |
| Tableau 11 : Les valeurs des zones d'inhibition de l'activité antimicrobienne en mm | 46 |
| Tableau 12 : Résultats de dénombrement direct après incubation des isolats bactériens à différents pH | 47 |
| Tableau 13 : Résultats de dénombrement direct après incubation des isolats bactériens en présence de sels biliaires | 47 |
| Tableau 14 : Résultats de test d'hydrophobicité des isolats lactiques | 48 |

Liste des figures

| | |
|--|----|
| Figure 1. Les facteurs de variation de la composition du lait | 5 |
| Figure 2. Aspect microscopique des bactéries lactiques observe au microscope électronique a transmission (M.E.T) x10000 : (A) <i>Lactobacillus Rosell-11</i> ; (B) <i>leuconostoc lactis</i> | 13 |
| Figure 3. Les principaux bienfaits des probiotiques | 24 |
| Figure 4. Photo prise lors d'isolement des bactéries à partir des échantillons de fromage | 31 |
| Figure 5. Purification des souches lactique | 32 |
| Figure 6. Conservation de courte durée des isolats | 33 |
| Figure 7. Conservation longue durée des isolats | 34 |
| Figure 8. Aspect des colonies bactériennes purifiées sur MRS solide | 39 |
| Figure 9. Photo prise après observation microscopique X100 montrant le Gram des isolats | 40 |
| Figure 10. Croissance des isolats à différentes température | 40 |
| Figure 11. Croissance des isolats en milieu hyper salé | 41 |
| Figure 12. Type fermentaire des isolats lactiques | 42 |
| Figure 13. Test d'antibiogramme de quelques souches vis-à-vis 13 antibiotiques | 44 |
| Figure 14. Résultats du test d'hémolyse des isolats lactiques sur gélose Columbia | 44 |
| Figure 15. Résultats de l'activité antimicrobienne des isolats lactiques vis-à-vis les bactéries indicatrices | 45 |
| Figure 16. Les boites de dénombrement à ph=2 et ph =3 pendant (0h, 2h, 4h) | 46 |
| Figure 17. Résultats de dénombrement direct de sels biliaires | 47 |

ملخص:

تعتبر البروبيوتيك كائنات دقيقة حية وعند تناولها بكميات مناسبة ، تقدم فوائد صحية للمضيف. من بين المصادر المتنوعة ، اكتسبت منتجات حليب الماعز خاصة الجبن اهتمامًا كبيرًا نظرًا لإمكاناتها البروبيوتكية بفضل ميكروباتها الفريدة وخصائصها المفيدة. يعتبر حليب الماعز غنيًا بشكل طبيعي بالعناصر الغذائية الأساسية ، وتدعمه تركيبته لنمو واستدامة البكتيريا النافعة مثل أنواع *Lactobacillus* و *Bifidobacterium* و *Lactococcus* و *Streptococcus*. تُعرف هذه البكتيريا بخصائصها المفيدة للصحة بما في ذلك تحسين صحة الأمعاء وتعزيز جهاز المناعة والنشاط المضاد للميكروبات ضد الكائنات الممرضة مثل *Escherichia coli* و *Salmonella*. يحتوي الجبن المصنوع من حليب الماعز خاصة الذي يُنتج بطرق تقليدية ، على تنوع واسع من البكتيريا اللبنية. تلعب هذه الكائنات الدقيقة دورًا حيويًا في تخمير الجبن مما يساهم في تطوير نكهات وقوام وملامح غذائية فريدة. يعزز عملية التخمير من توافر المغذيات بيولوجيًا ، مما يجعلها أسهل في الهضم والامتصاص. بالإضافة إلى ذلك أظهرت البروبيوتيك في جبن حليب الماعز خصائص مضادة للالتهابات مما يمكن أن يقلل من خطر الأمراض المزمنة مثل اضطرابات القلب والأوعية الدموية والمتلازمات الأيضية. أظهرت الأبحاث أن البروبيوتيك المستمدة من جبن حليب الماعز يمكن أن تحسن توازن ميكروبات الأمعاء وتعزز الصحة الهضمية وتقوي الاستجابة المناعية. الخصائص الطبيعية لحليب الماعز مثل احتمالية تحسسية أقل مقارنة بحليب البقر والمستويات الأعلى لبعض الفيتامينات والمعادن تعزز من الفوائد الصحية لجبن حليب الماعز. تسلط هذه الدراسة الضوء على تنوع السلالات البروبيوتكية الموجودة في جبن حليب الماعز وفوائدها الصحية وتطبيقاتها المحتملة في الأطعمة الوظيفية والمكملات الغذائية التي تهدف إلى تحسين صحة الإنسان.

الكلمات المفتاحية: بروبيوتيك ، حليب الماعز جبن، *Lactobacillus*، *Bifidobacterium*، صحة الأمعاء المناعة تخمير أطعمة وظيفية

Résumé:

Les probiotiques sont des micro-organismes vivants qui, lorsqu'ils sont administrés en quantités adéquates, confèrent un bénéfice pour la santé de l'hôte. Parmi les diverses sources, les produits à base de lait de chèvre, en particulier le fromage, ont attiré une attention significative pour leur potentiel probiotiques en raison de leur microbiote unique et de leurs propriétés bénéfiques. Le lait de chèvre est naturellement riche en nutriments essentiels, et sa composition soutient la croissance et la viabilité des bactéries bénéfiques telles que les espèces *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Lactococcus*, et *Streptococcus*. Ces bactéries sont reconnues pour leurs propriétés bénéfiques pour la santé, y compris l'amélioration de la santé intestinale, le renforcement du système immunitaire et l'activité antimicrobienne contre des organismes pathogènes comme *Escherichia coli* et *Salmonella*. Le fromage fabriqué à partir de lait de chèvre, en particulier ceux produits selon des méthodes traditionnelles, abrite une diversité de bactéries lactiques. Ces micro-organismes jouent un rôle crucial dans la fermentation du fromage, contribuant au développement de saveurs, de textures et de profils nutritionnels uniques. Le processus de fermentation améliore la biodisponibilité des nutriments, les rendant plus faciles à digérer et à absorber. De plus, les probiotiques du fromage de lait de chèvre ont démontré des propriétés anti-inflammatoires, pouvant potentiellement réduire le risque de maladies chroniques telles que les troubles cardiovasculaires et les syndromes métaboliques. Les recherches ont montré que les probiotiques des fromages au lait de chèvre peuvent améliorer l'équilibre du microbiote intestinal, favoriser la santé digestive et renforcer la réponse immunitaire. Les propriétés inhérentes au lait de chèvre, telles que son potentiel allergénique inférieur par rapport au lait de vache et des niveaux plus élevés de certaines vitamines et minéraux, augmentent encore les bienfaits pour la santé des fromages au lait de chèvre. Cette étude met en lumière la diversité des souches probiotiques présentes dans les fromages au lait de chèvre, leurs bienfaits pour la santé et leurs applications potentielles dans les aliments fonctionnels et les compléments alimentaires visant à améliorer la santé humaine.

Mots-clés : Probiotiques, lait de chèvre, fromage, *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, santé intestinale, immunité, fermentation, aliments fonctionnels.

Abstract:

Probiotics are live microorganisms that, when administered in adequate amounts, confer a health benefit on the host. Among various sources, goat milk products, especially cheese, have gained significant attention for their probiotic potential due to their unique microbiota and beneficial properties. Goat milk is naturally rich in essential nutrients, and its composition supports the growth and viability of beneficial bacteria such as *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Lactococcus*, and *Streptococcus* species. These bacteria are known for their health-promoting properties, including enhancing gut health, boosting the immune system, and exhibiting antimicrobial activity against pathogenic organisms like *Escherichia coli* and *Salmonella*. Cheese made from goat milk, particularly those produced through traditional methods, harbors a diverse array of lactic acid bacteria. These microorganisms play a crucial role in cheese fermentation, contributing to the development of unique flavors, textures, and nutritional profiles. The fermentation process enhances the bioavailability of nutrients, making them easier to digest and absorb. Additionally, goat milk cheese probiotics have demonstrated anti-inflammatory properties, potentially reducing the risk of chronic diseases such as cardiovascular disorders and metabolic syndromes. Research has shown that probiotics from goat milk cheeses can improve intestinal microbiota balance, promote digestive health, and strengthen the immune response. The inherent properties of goat milk, such as its lower allergenic potential compared to cow milk and higher levels of certain vitamins and minerals, further enhance the health benefits of goat milk cheeses. This study highlights the diverse probiotic strains found in goat milk cheeses, their health benefits, and their potential applications in functional foods and dietary supplements aimed at improving human health.

Keywords: Probiotics, goat milk, cheese, *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, gut health, immunity, fermentation, functional foods.

Introduction

Introduction

Les probiotiques sont définis comme des micro-organismes vivants qui, lorsqu'ils sont administrés en quantités adéquates, procurent des avantages pour la santé de l'hôte. Parmi les nombreuses sources alimentaires de probiotiques, les produits laitiers, et en particulier les fromages, jouent un rôle significatif. Le fromage de chèvre, en particulier, est une source riche et diversifiée de souches probiotiques bénéfiques, notamment des bactéries lactiques telles que *Lactobacillus* et *Bifidobacterium* (Savo Sardaro et al., 2019).

Les fromages de chèvre traditionnels, souvent fabriqués à partir de lait cru, contiennent un microbiote naturel diversifiée qui participe activement à la fermentation et à la maturation du fromage. Cette biodiversité microbienne contribue non seulement aux caractéristiques organoleptiques du fromage, telles que son goût, son arôme et sa texture, mais aussi à ses propriétés nutritionnelles et fonctionnelles. Les souches de bactéries lactiques isolées du fromage de chèvre sont reconnues pour leurs effets bénéfiques sur la santé intestinale, notamment par l'amélioration de la digestion et la modulation du microbiote intestinal humain (Montel et al., 2014 ; Gobetti et al., 2018).

L'objectif de cette étude est d'isoler les bactéries lactiques naturellement présentes dans les fromages caprins dotés d'un potentiel probiotique.

Des études ont démontré que les probiotiques issus des fromages de chèvre peuvent jouer un rôle crucial dans le renforcement du système immunitaire et la protection contre les infections gastro-intestinales. Par exemple, certaines souches de *Lactobacillus* isolées du fromage de chèvre ont montré des propriétés antimicrobiennes contre des pathogènes comme *Escherichia coli* et *Salmonella*, ce qui suggère leur potentiel en tant qu'agents de biocontrôle dans le cadre de la sécurité alimentaire (Martino et al., 2016).

En outre, les recherches indiquent que les probiotiques du fromage de chèvre peuvent avoir des effets anti-inflammatoires et contribuer à la prévention de maladies chroniques telles que les maladies cardiovasculaires et les troubles métaboliques. Le processus de fermentation, qui implique ces micro-organismes, augmente également la biodisponibilité de certains nutriments et enrichit le fromage en composés bioactifs bénéfiques pour la santé (Parvez et al., 2006 ; Quigley et al., 2011).

Synthèse bibliographique

Chapitre I

Généralités sur le lait

Généralités sur le lait

1. Définition générale du lait :

Le lait est un liquide physiologique complexe sécrété par les mammifères et destiné à l'alimentation du jeune animal naissant.

L'origine de ses constituants est à la fois la synthèse réalisée au sein des cellules mammaires, à partir d'éléments sanguins tels que les acides gras et triglycérides, les protéines provenant d'acides aminés et le lactose provenant du glucose et de la filtration sélective de certains composants sanguins (sels minéraux).

L'une des caractéristiques nutritionnelles majeures du lait est qu'il représente la source unique de nutriments qui doit satisfaire des besoins importants de croissance de l'organisme.

L'intérêt provient de la qualité de ses protéines de ses lipides et de ses vitamines, en particulier, sa richesse en calcium.

La composition du lait varie beaucoup d'une espèce à l'autre et reflète les besoins nutritionnels spécifiques de chaque espèce. Il existe, cependant ; des similitudes dans la composition des laits d'une même espèce (**Mahé, 1996**).

2. Le lait de chèvre

Le lait de chèvre est un liquide blanc ou mât, due à l'absence de β -carotène contrairement au lait de vache. Il a une odeur assez neutre. Parfois en fin de lactation, une odeur caprine apparait et après stockage au froid il acquiert une saveur caractéristique (**Bosset et al, 2000**).

Il donne une impression bien homogène c'est-à-dire ni trop fluide ni trop épais. Du point de vue de ses qualités nutritives et digestives, le lait de chèvre possède une bonne valeur nutritionnelle.

Ces qualités diététiques sont la conséquence d'un certain nombre de caractéristique physico-chimiques et microbiologiques (**Montel, 2003**).

3. Composition du lait de chèvre

La composition du lait est caractérisée par une grande complexité dans la nature et la forme de ses composants constitués d'une solution vraie, d'une suspension colloïdale et d'une émulsion (**Vignola, 2002**).

Elle varie d'une espèce animale à une autre (tableau 1).

Le lait de chèvre est un liquide blanc composé de lipide, de protéine, des glucides et de minéraux en solution qui sont voisines au lait de vache. (**Vignola, 2002**). Mais contrairement. Ce dernier possède une couleur blanche très caractéristique en raison de l'absence de pigments caroténoïdes (**Pradal, 2012**), La qualité et la composition du lait de chèvre varient en fonction de nombreux facteurs liés à l'animal, à son environnement et aux conditions d'élevage, tel que le type de la traite, l'alimentation,

le stade de lactation, la saison, la longueur de la lactation, l'état physiologique et la santé de l'animale (Carnicella et al., 2008 ; Goetsch et al., 2011 ; Pradal, 2012).

Tableau 1: Composition moyenne du lait de différentes espèces animales (Vignola, 2002).

| | Eau (%) | Matière grasse (%) | Protéine (%) | Glucides (%) | Minéraux (%) |
|----------|---------|--------------------|--------------|--------------|--------------|
| Vache | 87.5 | 3.7 | 3.2 | 4.6 | 0.8 |
| Chèvre | 87.0 | 3.8 | 2.9 | 4.4 | 0.9 |
| Brebis | 81.5 | 7.4 | 5.3 | 4.8 | 1.0 |
| Chamelle | 87.6 | 5.4 | 3.0 | 3.3 | 0.7 |
| Jument | 88.9 | 1.9 | 2.5 | 6.2 | 0.5 |

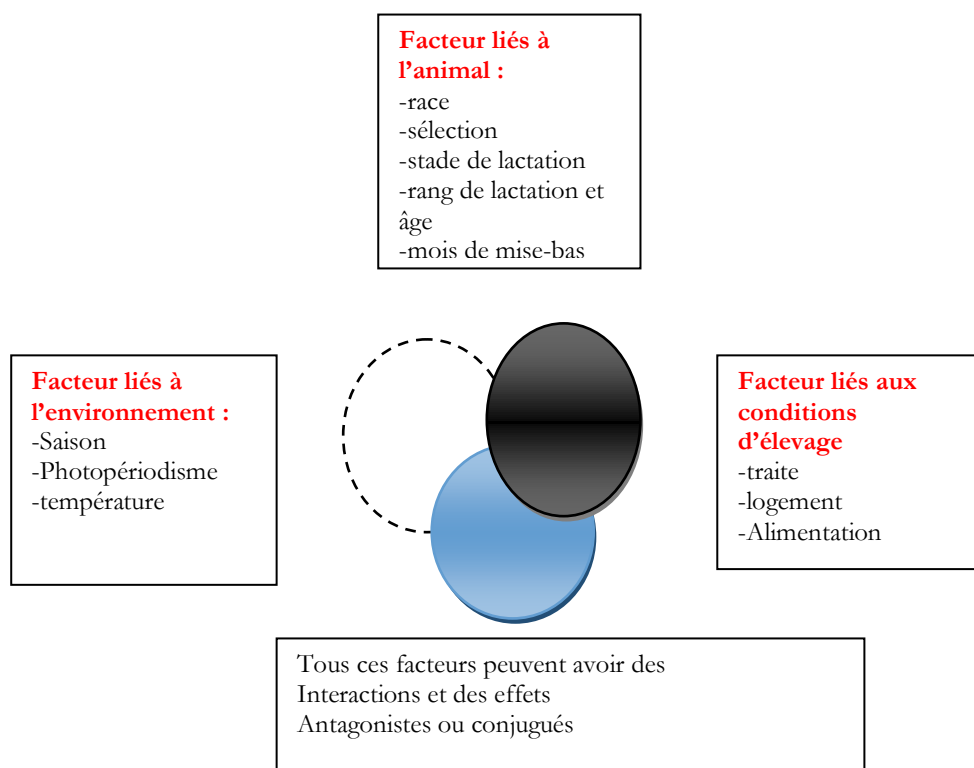


Figure1 : Les facteurs de variation de la composition du lait (Vignola, 2002).

4. Caractéristiques physico-chimiques du lait de chèvre

Les principales propriétés physico-chimiques du lait sont représentées par sa densité, son point de congélation, son point d'ébullition et son acidité. Le tableau sous dessous représente les caractéristiques physico-chimiques du lait de chèvre

Tableau 2: Principales caractéristiques physicochimiques du lait de chèvre (FAO, 1990).

| | |
|--|----------------|
| Energie (kcal/litre) | 600-750 |
| Densité du lait entier à 20C° | 1.027-1.035 |
| Point de congélation (°C) | -0,550- -0,583 |
| pH à 20C° | 6,45-6,60 |
| Acidité titrable (° dornic) | 14-18 |
| Tension superficielle su lait entier à 15°C (dynes cm) | 52 |
| Conductivité électrique à25°C (siemens) | 43-56.10-4 |
| Viscosité du lait entier à20°C (centpoises) | 1,8-1,9 |
| Indice de réfraction | 1,35-1,46 |

5. Microflore du lait

Le lait est un aliment dont la durée de vie est très limitée. En effet, son pH voisin de la neutralité, le rend très facilement altérable par les microorganismes et les enzymes, sa richesse et sa fragilité font du lait un milieu idéal aux nombreux microorganismes comme les moisissures, les levures et les bactéries qui se reproduisent rapidement (Gosta, 1995).

Le lait dans les cellules du pis est stérile (Tolle, 1980), mais la glande mammaire, la peau du pis, le matériel de traite, la litière, la qualité de l'air et les pratiques des éleveurs sont des sources de contamination (Ménard et al., 2004).

1. Flore originelle

La qualité de l'air et les pratiques des éleveurs sont des sources de contamination (Ménard et al, 2004).

Le lait est pratiquement stérile à sa sortie du pis, il est protégé par des substances inhibitrices appelées lacténines à activité limitée dans le temps (une heure environ après la traite) lorsqu'il est prélevé dans de bonnes conditions à partir d'un animal sain moins de 103 /ml (Guiraud, 2012). Le lait contient relativement peu de microorganisme quand il est sécrété. Il s'agit de microcoques, mais aussi *streptocoques lactiques* et *lactobacilles* (tableau 3).

Ces microorganismes, plus ou moins abondants, sont en relation étroite avec l'alimentation et n'ont aucun effet significatif sur la qualité du lait et sur sa production (Guiraud, 2003). La microflore

naturelle du lait cru est un facteur qui exprime ses caractéristiques sensorielles, la charge microbienne dans la glande mammaire d'un animal en bonne santé est faible (Fotou et al., 2011).

D'autres micro-organismes pathogènes et dangereux peuvent se trouver dans le lait lorsqu'il est issu d'un animal malade Il peut s'agir d'agents de mammites, c'est-à-dire d'infection de pis ; comme il peut s'agir aussi de germes d'infection générale qui peuvent passer dans le lait (Guiraud, 2003).

Tableau 3: Flore indigène du lait (Carole et al., 2002).

| Microorganismes | Pourcentage (%) |
|-------------------------------------|-----------------|
| <i>Micrococcus</i> | 30-90 |
| <i>Lactobacillus</i> | 10-30 |
| <i>Streptococcus ou Lactococcus</i> | <10 |
| Bactéries à gram négatif | <10 |

6. Transformation du lait au fromage

Le lait se consomme à l'état nature, il peut également subir différentes biotransformations qui contribuent à élargir considérablement ses qualités sensorielles et nutritionnelles. L'un des dérivés de ces transformations est le fromage **(Carole, 2002)**.

La fermentation du lait conduit un abaissement du pH qui augmente la stabilité et la durée de conservation du produit laitier qui conduira à inhiber la prolifération microbienne.

En outre, les bactéries lactiques produisent plusieurs composés antimicrobiens tels que les acides organiques (lactique, acétique, formique, caproïque), le dioxyde de carbone, le peroxyde d'hydrogène et les bactériocines **(Mosbah, 2019)**.

Il existe plusieurs variétés de fromages connues dans le monde entier, c'est plus de 1000 variétés de fromages sont produites dans le monde **(Irlinger et Mounier, 2009)**.

2. Définition du fromage

Le fromage correspond à un véritable moyen de conservation et de stockage ancestral des principaux composants du lait **(Irlinger et Mounier, 2009)**.

Selon la norme codex, le fromage est défini comme un produit fermenté ou non, affiné ou non de consistance molle ou semi dure, dure ou extra dure qui peut être enrobé et dans lequel le rapport entre le taux de protéines lactosériques et caséiques ne dépasse pas celui du lait **(Carole, 2002)**.

Il est obtenu par coagulation complète ou partielle des protéines du lait, et par égouttage du lactosérum résultant de cette coagulation **(Leksir et Chemmam, 2018)**.

Les fromages sont obtenus à partir des matières d'origines exclusivement laitières, lorsqu'ils sont fermentés, ont subi une fermentation à prédominance lactique combinant souvent l'action des ferments lactiques à celle de la présure, et doivent renfermer une flore vivante. Ils sont traditionnellement des fromages à égouttage lent, avec une DLC (date limite de consommation) de 24 jours **(Mahaut et al., 2000 ; Luquet et Corrieu, 2005)**.

3. Composition chimique du fromage

Les fromages représentent un groupe alimentaire très hétérogène dont la constitution est très variable selon la qualité de la matière première utilisée ou selon la technique de fabrication (Tableau 4). Le fromage est très riche de part de sa composition, en protéines, eau, peptides bioactifs, acides aminés, lipides, acides gras, vitamines et minéraux **(Walther et al, 2008)**.

Tableau 4: Composition moyenne et valeur énergétique pour 100g de fromage frais (Eck, 1987).

| Composition | Valeur pour 100g de fromage frais |
|-------------|-----------------------------------|
| Eau | 79g |
| Energie | 118Kcl |
| Lipides | 4g |
| Protéines | 7.5g |
| Calcium | 8.5g |
| Phosphore | 100mg |
| Magnésium | 140mg |
| Potassium | 130mg |
| Sodium | 40mg |
| Zinc | 0.5mg |
| Vitamine | 170UI |
| Thiamine | 0.03mg |
| Riboflavine | 0.15mg |

4. Principales étapes de la fabrication fromagère

Les principes de base de la fabrication des fromages sont les mêmes pour presque toutes les catégories de fromages. Elle consiste à enlever l'eau du lait avec pour conséquence la concentration de six à dix fois d'une partie des protéines principalement caséine, lipides, minéraux et vitamines par phénomène d'agglomération avec l'expulsion de lactosérum. Les processus impliqués sont : la coagulation, l'égouttage, le salage et l'affinage (Abbas, 2012 ; Aissaoui, 2014).

5. Coagulation du lait

La coagulation correspond à une modification physico-chimique des micelles de caséine sous l'action d'enzymes protéolytiques et/ou d'acide lactique. Celle-ci entraîne la formation d'un réseau protéique tridimensionnel appelé coagulum ou gel. Les mécanismes proposés dans la formation du coagulum diffèrent totalement selon que ces modifications sont induites par acidification ou par actions d'enzymes coagulantes ou encore par l'action combinée des deux (Brulé et al., 1997).

1.6.1.1. Coagulation par acidification

Le mécanisme de la coagulation acide est de nature électrochimique. Elle est provoquée par la flore lactique qui transforme le lactose en acide lactique ou par addition d'un acide minérale ou organique comme l'acide citrique (Gelais et Tirard, 2002).

Le pH du lait de fromagerie diminue avec la production d'acide. Ce qui provoque une solubilisation du phosphate et du calcium colloïdal, un élément important dans la stabilité des micelles de caséine. Ces dernières vont se lier entre-elles et former un gel cassant très friable et peu élastique (Ramet, 1997).

Si l'acidification est rapide par addition d'un acide minéral ou organique, il y a floculation des caséines à pH 4,6 sous la forme d'un précipité plus ou moins granulé dispersé dans le lactosérum.

Par contre, une acidification progressive, obtenue soit par fermentation lactique, soit par hydrolyse de la gluconolactone, conduit à la formation d'un gel lisse homogène qui occupe entièrement le volume initial du lait (**Eck et Gillis, 2006**).

1.6.1.2. Coagulation par les enzymes

Il y a un grand nombre d'enzymes protéolytiques, d'origine animale, végétales ou microbienne, qui ont la propriété de coaguler le complexe caséique. Traditionnellement, le coagulant de choix est la présure, dérivé de la caillette des jeunes ruminants nourris au lait, dont le principal ingrédient actif est la chymosine mélangée avec la pepsine aussi des sources fongiques telles que *Rhizomucor meihei* (**Bennett et Johnston, 2004 ; Eck et Gillis, 2006**).

II.3.2. Égouttage

Dans un coagulum laissé au repos, l'égouttage se traduit par une élimination progressive du lactosérum emprisonné dans les mailles du gel formé par voie acide et/ou enzymatique qui s'accompagne d'une rétraction (synérèse) et d'un durcissement corrélatif du gel donc formation du caillé ou caillebotte (**Tormo, 2010**).

Il s'agit donc d'une phase essentielle qui conditionne directement la composition du fromage. Le lactosérum est constitué, par la plus grande partie, des éléments solubles du lait (lactose, sels minéraux et protéines sériques) et quelques fractions insolubles mineures (composés azotés, matières grasses) qui sont en effet expulsées du gel conjointement à l'eau.

A l'opposé, la quasi-totalité de la caséine et des matières grasses se retrouvent dans le fromage sous forme plus ou moins concentrée en fonction de la teneur en lactosérum résiduel (**Ramet, 1997**).

II.3.3. Salage

Le salage s'effectue de différentes façons, en saupoudrant le caillé de sel, en l'immergeant dans la saumure ou encore en le frottant avec un chiffon salé (**Mahaut, 2000**).

Le salage a plusieurs rôles, il présente un rôle technologique en complétant l'égouttage et contribution du caillé à la formation de la croûte, ainsi que, il règle l'activité de l'eau (A_w) du fromage, il la favorise, comme il freine ou oriente le développement des micro-organismes et les activités enzymatiques au cours de l'affinage.

Un rôle sensoriel en donnant une saveur marquée au produit, rehausse l'arôme du fromage et masque ou exalte le goût de certaines substances formées au cours de l'affinage (**Abbas, 2012 ; Leskir, 2018**).

II.3.4. Affinage

L'affinage est une étape clé pour le développement des qualités spécifiques de chaque fromage **(Abbas, 2012)**.

Elle correspond à une digestion enzymatique par des enzymes protéolytiques et lipolytiques. Ces enzymes sont soit d'origine microbienne ou ils correspondent à l'enzyme coagulant ou à l'enzyme du lait et des constituants du caillé égoutté.

Le fromage subit alors un affinage (ou maturation) qui va modifier sa composition, sa valeur nutritive, sa digestibilité et qui lui conférera à la fin des caractères organoleptiques (texture, odeur et saveur) caractéristiques selon le type de fromage recherché **(Vignola, 2010)**.

Cette étape est réalisée dans des conditions de température et d'hygrométries bien déterminées qui sont en partie à l'origine d'un croutage différent des fromages **(Tormo, 2010)**.

Chapitre II

Bactéries lactiques

Les bactéries lactiques

Les bactéries lactiques sont des microorganismes utiles à l'homme lui permettant de fabriquer et de conserver un nombre important de ses aliments, elles appartiennent à un groupe de bactéries bénéfiques de très anciens micro-organismes utilisées pour la fermentation des aliments depuis plus de 4000 ans (**Dridier et Prevost, 2009**).

6.1. Définition des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques sont des microorganismes ubiquitaires susceptibles d'être retrouvés dans différentes niches écologiques elles constituent un groupe hétérogène dont le caractère commun est la production d'acide lactique suite à la fermentation des glucides (**Labioui, 2005**).

Les bactéries lactiques sont des cellules procaryotes, hétérotrophes et chimioorganotrophes, à Gram positifs, immobiles, en forme de bâtonnet ou coque, asporulés, Elles sont dépourvues de nombreuses activités enzymatiques comme la catalase, la nitrate réductase et le cytochrome oxydase.

Ce sont des bactéries anaérobies mais aérotoles, ne liquéfient pas la gélatine, et ne produisent ni de l'indole ni de l'hydrogène sulfureux (**Desmazeaud, 1983 ; Guiraud, 2003 ; Achemchem, 2014**).

Les bactéries lactiques se caractérisent par de faibles activités protéolytiques et lipolytiques et sont très exigeantes en acides aminés, vitamines, acides gras, peptides, glucides fermentescibles et en sels (**Guiraud, 1998**).

Elles ont également une activité aromatique très importante d'où leur utilisation en agroalimentaire sur la base des caractéristiques de fermentation, les bactéries lactiques ont une tolérance des pH acides. Cette dernière propriété est utilisée en agroalimentaire pour acidifier le milieu et empêcher le développement des bactéries pathogènes et d'altérations (**Tahlaiti, 2019**).

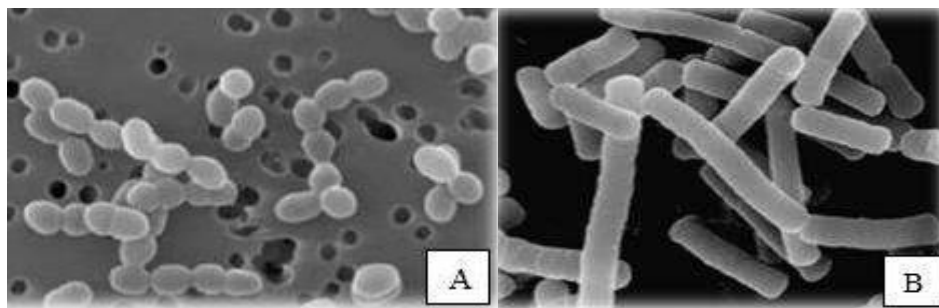


Figure 2: Aspect microscopique des bactéries lactiques observe au microscope électronique a transmission (M.E.T) x10000 : (A) *Lactobacillus Rosell-11* ; (B) *leuconostoc lactis*

7. Habitat

Les bactéries lactiques sont présentes à l'état libre dans l'environnement ou vivent en association avec un hôte, tel que l'Homme ou l'animal, dans un écosystème bactérien comme cavités buccales et vaginales, fèces et dans le lait (**Makhloufi, 2011**).

Mais certaines espèces semblent s'adapter à un environnement spécifique et ne sont guère trouvées ailleurs que dans leurs habitats naturels (**Bekhouché, 2006**).

8. Classification des bactéries lactiques

Il est possible de classer les bactéries lactiques suivant la nature des produits du Métabolisme bactérien obtenus à partir des glucides. En effet les bactéries homolactiques strictes produisent uniquement de l'acide lactique, alors que les bactéries hétérolactiques peuvent produire de l'acide acétique, de l'éthanol et du CO₂ en plus de l'acide lactique.

Les BL homolactiques sont représentées par les genres *Lactococcus*, *Pediococcus*, *Enterococcus* et certaines espèces de *Lactobacillus*, alors que le genre *Leuconostoc* et certaines espèces de *Lactobacillus* appartiennent aux bactéries hétérolactiques (**Achemchem, 2014**).

9. Rôle et intérêt des bactéries lactiques

2. Domaine alimentaire

1.4.1.1. Rôle sur la structure et la texture

L'acidification provoque la formation d'un caillé +ou- ferme selon les bactéries lactiques présentes. Selon les produits, la texture recherchée est ferme (yaourt ferme) ou onctueuse (yaourt brassé ; kéfir). Pour obtenir une consistance déterminée, l'utilisation des souches plus ou moins acidifiantes peut être couplée à celle des souches productrices de polysaccharides (**Satura et Federighi, 1998**).

1.4.1.2. Rôle dans la conservation

*Production d'acide lactique : Les bactéries lactiques ont un rôle important dans l'inhibition des flores non lactiques.

*Production de bactériocine : Ces peptides antimicrobiens sont synthétisés par un très grand nombre de souches de bactéries lactiques, ils sont généralement thermorésistants.

1.4.1.3. Rôle sur les caractéristiques organoleptiques :

Par production en dehors de l'acide lactique, d'autres produits tels que le diacétyl et l'acétaldéhyde, qui sont responsables des saveurs caractéristiques (**Boudjemaa, 2008**).

3. Domaine de santé

L'intérêt des bactéries lactiques en matière de santé humaine a été initialement proposé au début du siècle, en 1907 par le Russe Metchnikoff, selon lui les *Lactobacillus sp* pouvaient réduire la putréfaction intestinale en modifiant la flore intestinale. Le rôle des bactéries lactiques sur la santé était dans le cadre des probiotiques.

Les bienfaits des bactéries Lactiques sont de plus en plus étudiés, certains sont bien établis d'autres restent encore contre Versés :

*Améliore la digestion de lactose.

*Le traitement de certaines infections ou diarrhées.

*Diminution du cholestérol sérique et dé-conjugaison des sels biliaires.

*Utilisation dans l'élaboration des vaccins **(Calvez et al. 2009)**.

Chapitre III
Les probiotiques

I. Les probiotiques

9.1. Définition

Est un microorganisme vivant qui, lorsqu'il est ingéré en quantité suffisante, exerce un effet positif sur la santé. Les probiotiques sont principalement des bactéries et des levures présentes ou réintroduites dans la flore intestinale résidente (**Gaggia et al.2010**).

Il Existe quatre grands groupes de Probiotiques :

A) Les ferments lactiques

Ils sont capables de produire de l'acide par la fermentation de certains sucres comme le lactose.

B) les Bifidobactéries

D'origine humaine ou animale, elles appartiennent à la flore intestinale normale. Ils sont regroupés en deux catégories selon leur morphologie : Les lactobacilles et les coques.

C) les différentes levures de type saccharomyces

Elles sont principalement utilisées dans l'industrie agroalimentaire.

D) Les autres sporules dont *Bacillus subtilis* et *cereus*

Le concept de probiotique fait appel à quatre notions importantes

-Un probiotique est un microorganisme vivant.

-Un probiotique est ingéré par voie oral.

-Un probiotique exerce un effet bénéfique.

-Un probiotique exerce son action en l'équilibre de la flore intestinale les probiotiques peuvent être considérés comme un moyen de véhiculer des principes actifs qu'ils contiennent (enzymes, composants de paroi, peptides immuno-modulateurs, substances antibactériennes) jusqu'à leur cibles d'action dans le tractus digestif (**Marteau et al. 1993 et 1998**).

10. Classification des probiotiques

Les probiotiques peuvent être classés en quatre catégories (Tableau 05).

La première catégorie renferme les espèces du genre *Lactobacillus* , Les lactobacilles sont des bactéries Gram-positif, classées dans le phylum des Firmicutes et appartenant à la famille de *Lactobacillaceae* (**Hammes and Vogel, 1995**), Elles se présentent sous forme de bacilles ou de coques et sont anaérobies facultatives, immobiles, non flagellés et non sporogènes, Les lactobacilles forment une grande partie des bactéries lactiques qui sont capables de produire de l'acide lactique par la fermentation de certains sucres comme le lactose, Ces espèces colonisent l'être humain et sont généralement présentes dans le tractus gastro-intestinal, les muqueuses vaginales et la cavité buccale (**LandRouster-Stevens et al., 2005**),Les lactobacilles sont parmi les probiotiques les plus utilisés chez l'humain avec plus d'applications connues notamment la fabrication des produits laitiers

fermentés tel que le yogourt (**Klaenhammer, 1998**), Parmi les souches commerciales les plus utilisées, on retrouve les souches de *L. acidophilus*, *L. casei*, *L. paracasei* et de *L. johnsonii* (**Holzappel and Schillinger, 2002**).

La deuxième catégorie est composée des espèces de Bifidobacterium, Ce sont des bacilles à Gram-positif, anaérobies strictes, immobiles et forment le groupe bactérien prédominant de la flore intestinale humaine (**Mitsuoka, 1990**), Les bifidobactéries sont majoritairement utilisées comme probiotiques surtout par l'industrie agroalimentaire en raison de leurs nombreux bienfaits sur la santé, C'est le cas de la souche commerciale *B. animalis*ssp. *LactisBb12* (**Mohan et al., 2006; Kabeerdoss et al., 2011**).

Le troisième groupe de probiotiques comprend d'autres bactéries lactiques en forme de coques telles que les *Enterococcus* et les *Streptococcus*. Quant au quatrième groupe, il est constitué de micro-organismes non-lactiques notamment les bactéries sporulées (*Bacillus cereus*), Les bactéries appartenant à l'espèce *Propionibacterium freudenreichii* ainsi que certaines levures de type *Saccharomyces* principalement utilisées par l'industrie agroalimentaire.

Tableau 5: Liste des microorganismes considérés comme des probiotiques (Holzapfel, Haberer et al., 2001).

| <i>Lactobacillus</i> | <i>Bifidobacterium</i> | Autres bactéries lactiques | Bactéries non-lactiques |
|-----------------------|------------------------|------------------------------------|---|
| <i>L. acidophilus</i> | <i>B. adolescentis</i> | <i>Enterococcus faecalis</i> | <i>Bacillus spp,</i> |
| <i>L. amylovirus</i> | <i>B. animalis</i> | <i>Enterococcus faecium</i> | <i>Escherichia coli</i> Nissle |
| <i>L. brevis</i> | <i>B. bifidum</i> | <i>Lactococcus lactis</i> | <i>Propionibacterium freudenreichii</i> |
| <i>L. casei</i> | <i>B. breve</i> | <i>Leuconostoc mesenteroides</i> | <i>Saccharomyces cerevisiae</i> |
| <i>L. cellobius</i> | <i>B. infantis</i> | <i>Pediococcus acidilactici</i> | <i>Saccharomyces boulardii</i> |
| <i>L. crispatus</i> | <i>B. lactis</i> | <i>Sporolactobacillus inulinus</i> | |
| <i>L. curvatus</i> | <i>B. longum</i> | <i>Streptococcus thermophilus</i> | |
| <i>L. delbrueckii</i> | <i>B. thermophilum</i> | <i>Streptococcus diacetylactis</i> | |
| <i>L. farciminis</i> | | <i>Streptococcus intermedius</i> | |
| <i>L. fermentum</i> | | | |
| <i>L. gallinarum</i> | | | |
| <i>L. gasseri</i> | | | |
| <i>L. johnsonii</i> | | | |
| <i>L. paracasei</i> | | | |
| <i>L. plantarum</i> | | | |
| <i>L. reuteri</i> | | | |
| <i>L. rhamnosus</i> | | | |

11. Propriétés et Critères de sélection des souches probiotiques

Afin qu'un microorganisme puisse être reconnu en tant que potentiel probiotique, il lui faut répondre à certains critères. Tout d'abord, il doit être non pathogène et être reconnu comme sécuritaire. Il doit avoir la capacité de survivre et de croître dans les conditions physiologiques du tube digestif, ainsi qu'avoir une bonne tolérance au PH acide rencontré au niveau de l'estomac et sels biliaires rencontrés au niveau du duodénum (Dunne *et al.*, 2001).

L'adhérence aux cellules épithéliales de l'intestin est souvent citée comme un critère de sélection (Guarner et Schaafsma, 1998).

L'importance de cette caractéristique est mise en évidence par le fait que beaucoup de probiotique ne colonisent pas l'intestin et ont donc besoin de se fixer pour avoir leur effet bénéfique. Par exemple, les bactéries du genre *Lactobacillus* sont plus à même d'adhérer aux lignées cellulaires intestinales HT-29 et Caco-2 que les *Bifidobacterium* (Thornton, 1996).

Le tableau 6 rapporte les critères les plus utilisés pour la sélection des probiotiques.

Tableau 6 : Les critères de sélection des bactéries à potentiel probiotique

| Critères | But recherché |
|--|--|
| Résistance à l'acidité gastrique | Survie pendant le passage par l'estomac et duodénum |
| Résistance aux sels biliaires | Survie pendant le passage par l'intestin grêle |
| Production d'acide (à partir de glucose et lactose) | Production (de barrière acide) efficace dans l'intestin |
| Adhésion au mucus et/ou aux cellules épithéliales humaines | Colonisation efficace, réduction des sites d'adhésion des pathogènes à la surface |
| Production de substance antimicrobienne | Inhibition du développement des germes pathogènes |
| Résistance à la chaleur | Survie pendant le processus de transformation |
| Bonnes propriétés technologiques | Stabilité, croissance sur une large échelle, survie dans le produit, résistance aux bactériophages |

1.3.1 La résistance à l'acidité gastrique

La survie des bactéries dans le suc gastrique dépend de leur capacité à tolérer les bas PH. Le temps de passage peut être d'une heure à quatre heures selon l'individu et son régime.

Par conséquent quelques auteurs proposent que les souches probiotiques doivent résister à un pH de 2,5 dans un milieu de culture pendant quatre heures (**Ammor et Mayo, 2007**).

1.3.2 résistance aux sels biliaires

Dans l'intestin grêle, la tolérance aux sels biliaires est un facteur important qui contribue à la survie des probiotique. Les bactéries qui surviennent aux conditions acides de l'estomac doivent alors faire face à l'action détergente des sels biliaires libérés dans le duodénum après ingestion des repas gras. Les bactéries peuvent réduire l'effet émulsifiant des sels en les hydrolyses avec des hydrolases, de ce fait diminuant leur solubilité (**Ammor et Mayo, 2007 ; Guet al., 2008**)

1.3.3 L'adhésion aux cellules épithéliales

La capacité d'adhésion à la couche intestinale est un critère de sélection recommandé pour le choix des probiotiques, parce que c'est une condition pour la colonisation des entailles. L'adhésion constitue le premier mécanisme de défense contre l'invasion des bactéries pathogènes. Elle est basée sur la réalisation d'un ensemble de tests *in vitro* puis *in vivo* en utilisant des cellules d'origine animale et/ou humaine (**Palomares et al., 2007 ; Reyes-Gavilan et al., 2011**).

En plus du pouvoir d'adhésion aux cellules épithéliales de l'intestin, les probiotiques peuvent se fixer au mucus qui recouvre les anthérocytes ou aux divers microorganismes que l'on retrouve dans le tractus gastro-intestinale (**Lamoureux, 2000**).

1.3.4 La production de substances antimicrobiennes

Les bactéries lactiques synthétisent des molécules à action bactéricide\bactériostatique comme les acides organiques, le peroxyde d'hydrogène, le dioxyde de carbone, le diacétyle et les bactériocines. Ces mécanismes antimicrobiens ont été exploités pour améliorer la préservation des aliments (**Titiek et al., 1996 ; Labioui et al., 2005**).

1.3.5 Résistance aux antibiotiques

Les bactéries lactiques sont naturellement résistantes à beaucoup d'antibiotiques grâce à leur structure et physiologie. Les travaux de **Temmerman *et al.* (2003)** ont montré que 68,4 des probiotiques isolés ont une résistance à un antibiotique ou plus. Des souches de *Lactobacillus* ont été trouvées résistantes à la Kanamycine 81, à la tétracycline 29,5, à l'érythromycine 12 et au chloramphénicol 8,5.38 des isolats d'*Enterococcus faecium* ont été trouvés résistants à la vancomycine. Dans la plus part des cas la résistance n'est pas transmissible, cependant, il est possible que le plasmide codant pour la résistance aux antibiotiques soit transféré à d'autre espèces et genre. C'est une raison significative pour choisir des souches manquantes du potentiel de transfert de résistance (**Denohue, 2004**).

12. Les probiotiques et leurs effets bénéfiques sur la santé

Plusieurs études ont démontré les multiples effets bénéfiques des probiotiques, en effet, les probiotiques interviennent dans la prévention et le traitement de plusieurs diarrhées, notamment la diarrhée du voyageur et la diarrhée associée à la prise d'antibiotiques (Beausoleil *et al*, 2007; McFarland, 2007).

Ils sont aussi impliqués dans la réduction et le traitement de certaines infections gastro-intestinales (Salminen *et al.*, 2005).

Ils contribuent également à la modulation du système immunitaire et au renforcement de la muqueuse intestinale (Tableau 7, Figure 3) (Matsuzaki and Chin 2000;Madsen, Cornish *et al.*, 2001).

Tableau 7 : Les principaux effets bénéfiques attribués aux probiotiques (Salminen *et al.*, 2004 ; Patterson, 2008).

| Effets intestinaux | Effets sur le système Immunitaire | Autres effets |
|--|--|---|
| <p>Contrôle des troubles suivants :</p> <ul style="list-style-type: none"> -Mauvaise digestion du lactose. -Diarrhée due aux rotavirus et Diarrhée-associée aux antibiotiques. -Syndrome du côlon irritable -Constipation. -Infection par Helicobacter pylore. -Prolifération bactérienne dans l'intestin grêle. -Maladies inflammatoires chroniques de l'intestin Prévention de l'entérocólite Nécessante du nouveau-né. | <ul style="list-style-type: none"> -Modulation immunitaire -Répression des réactions allergiques par réduction de l'inflammation. -Réduction des risques d'infection par des agents pathogènes courants (<i>Salmonella, Shigella</i>) | <p>-Réduction du risque de :</p> <ul style="list-style-type: none"> -Certains cancers (colorectal, vessie, col utérin, sein) -Coronaropathie. -Maladie des voies urinaires -Infection des voies respiratoires supérieures et infections connexes Réduction du cholestérol sérique et de la pression artérielle. |

Les probiotiques améliorent aussi la digestion des aliments et jouent un rôle dans la réduction des symptômes de l'intolérance au lactose (Nagpal *et al.*, 2007). Les probiotiques possèdent aussi une action antimicrobienne grâce à la production des bactériocines (Klaenhammer, 1988). Certains probiotiques ont démontré leur capacité à prévenir certaines maladies chroniques telles que la maladie de Crohn, l'obésité et le diabète (Schultz *et al.*, 2004; Yadav *et al.*, 2007). D'autres travaux laissent présager qu'ils pourraient également jouer un rôle important dans la prévention du cancer du côlon (Wollowski *et al.*, 2001).

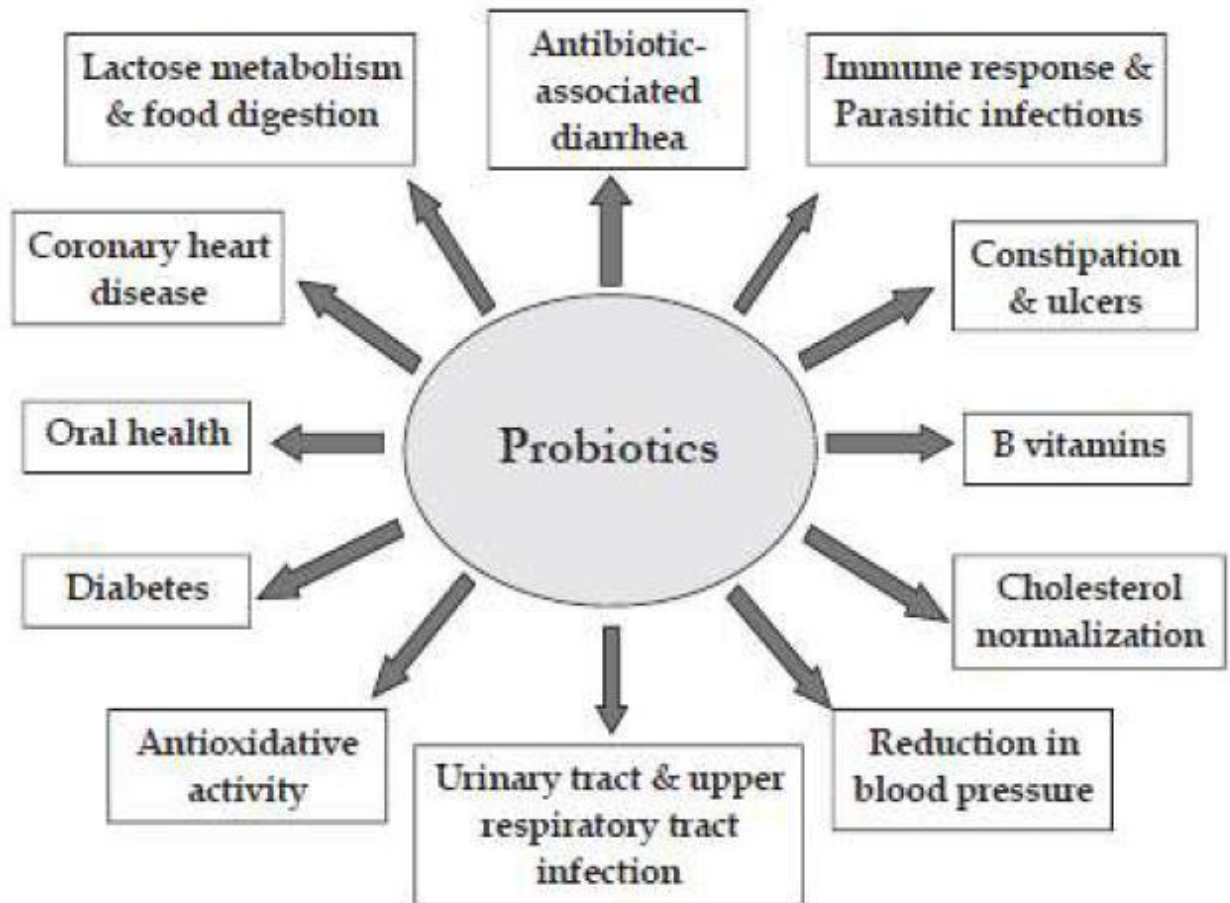


Figure 3 : Les principaux bienfaits des probiotiques (Nagpal *et al.*, 2012).

13. Rôle des probiotiques

*Ils participent à l'activation de l'immunité et à la réduction d'allergies chez les sujets à risque.

*La résistance à l'acide gastrique et à la bile, permet aux probiotiques de survivre dans le tube digestif où réside une partie de l'immunité

*Les probiotiques participent au développement du système immunitaire chez le nourrisson et l'améliorent chez la personne âgée en augmentant le nombre de phagocytes et de lymphocytes Natural killer, premières défense contre un agent exogène.

*Ils agissent également sur l'immunité en colonisant le tractus intestinal, réalisant ainsi « un effet barrière » empêche d'une part la colonisation de l'épithélium par des pathogènes et renforce d'autre part l'immunité au niveau des muqueuses intestinales en augmentant la production d'IgA et de mucus, défenses locales au niveau des muqueuses **(Makhloufi, 2012)**.

14. Applications des probiotiques

Les différents produits commercialisés en tant que probiotiques humains ou animaux sont constitués soit d'un seul microorganisme (produits dits mono-souches) ou d'une association de plusieurs espèces (produits dits pluri-souches). De nos jours, les produits probiotiques sont commercialisés sous trois formes **(Patterson, 2008)** :

-Un concentré de culture ajouté à des aliments et boissons à base de produits laitiers, de fruits et de céréales.

-Un ingrédient ajouté à un aliment à base de lait ou de soja et auquel on permet d'atteindre une concentration élevée par fermentation.

-Des cellules séchées, concentrées, en poudre, en capsule ou en comprimés.

Les probiotiques sont généralement associés aux produits laitiers de culture. la gamme de produits probiotiques comprend maintenant des fromages, des crèmes glacées et des yogourts glacés de même que des aliments et boissons non laitiers **(Patterson, 2008)**.

15. Mécanismes d'actions des Probiotiques

Les probiotiques font actuellement l'objet d'un certain consensus dans la communauté scientifique grâce à leurs effets bénéfiques sur la santé de l'hôte. Plusieurs mécanismes par lesquels certains probiotiques exercent des effets protecteurs ou thérapeutiques ont été proposés. Toutefois, ces modes d'action ne sont pas encore complètement élucidés. Parmi ces principaux mécanismes

d'action, on retrouve le renforcement de la barrière intestinale, l'inhibition de l'adhésion des pathogènes à la muqueuse intestinale, la production de substances antimicrobienne et la modulation du système immunitaire.

1.7.1 Inhibition de l'adhésion des pathogènes : phénomène de compétition/exclusion

Les probiotiques exercent une action antimicrobienne directe en s'opposant à l'invasion des microorganismes pathogènes dans le tube digestif tout en empêchant leur adhésion aux parois intestinales (**Vanderpool *et al.*, 2008**). En effet, il existe une compétition directe entre les souches probiotiques et les germes infectieux pour occuper les sites d'adhésion aux parois de l'intestin. Certains probiotiques ont une capacité d'adhérence au tube digestif et peuvent le coloniser de manière prolongée. Cette propriété pourrait constituer un avantage écologique favorisant leur implantation au niveau des parois intestinales et par conséquent, l'inhibition de la fixation des germes pathogènes. Ainsi, les probiotiques jouent un rôle de barrière physique contre les microorganismes pathogènes. Ce phénomène a été observé chez certains lactobacilles qui adhèrent aux villosités intestinales et inhibent la fixation d'*Escherichia coli* entéro-pathogènes (**Roselli, Finamore *et al.*, 2006; Collado, Meriluoto *et al.*, 2007**).

1.7.2 Production de substances antimicrobiennes

Les probiotiques pourraient également limiter la croissance des pathogènes en exercent une action antimicrobienne indirecte. Cette dernière se réalise grâce à la production de différents composés antimicrobiens.

1.7.2.1 Les bactériocines

Ce sont des composés protéiques qui ralentissent respectivement les invasions des souches bactériennes (**Klaenhammer, 1993**). Ces substances nocives produites par les probiotiques sont dirigées contre des bactéries phylogénétiquement proches de la souche productrice. Elles agissent principalement sur la membrane externe des bactéries cibles en formant des pores qui mènent à la libération du contenu intracellulaire et à la mort de la bactérie affectée. Les lactobacilles et les lactocoques, contrairement aux souches de bifidobactéries, sont le plus souvent associés à la production de bactériocines (**Fooks and Gibson, 2002**). La nisine, qui est produite par la bactérie *Lactococcus lactis*, est la bactériocine la plus documentée.

1.7.2.2 Les acides organiques

Les bactéries probiotiques ont la capacité de produire des acides organiques qui contribuent à l'inhibition de la croissance des microorganismes entérovirulants (**Servin, 2004**). Il s'agit de l'acide lactique et l'acide acétique, qui sont produits respectivement par les lactobacilles et les bifidobactéries via la fermentation des hexoses. Ces acides organiques, produits à partir de glucides ingérés lors de la prise alimentaire, contribuent à faire baisser le pH intestinal. Leur diffusion passive à travers la membrane bactérienne sous leur forme non dissociée permet, après leur dissociation, d'acidifier le cytoplasme et donc d'inhiber la propagation, la croissance et la survie des agents pathogènes acido-sensibles.

1.7.2.3 Le peroxyde d'hydrogène

Certaines bactéries lactiques produisent, en milieu humide, du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) qui inhibe de nombreuses souches bactériennes pathogènes (**Ouwehand and Vesterlund, 2004**).

La production du peroxyde d'hydrogène accompagnée par celle d'acide lactique permet l'inhibition du développement de certaines espèces pathogènes comme certains virus tel que le virus de la fièvre aphteuse, certains champignons comme *Candida albicans*, ou encore certaines bactéries comme *Escherichia coli*, etc.

1.7.3 Stimulation de l'activité du système immunitaire intestinale

L'interaction des probiotiques avec le système immunitaire permet d'accroître la réponse immune de l'hôte contre les agents entéropathogènes. En effet, les probiotiques interviennent dans la stimulation de l'immunité adaptative, tel que la production des anticorps de type IgA (**Shu and Gill, 2002**), ainsi que l'immunité innée tel que la production des macrophages, des monocytes, etc. (**Oelschlaeger, 2010**). Par conséquent, les 33 probiotiques agissent comme des adjuvants en modulant une réponse rapide de la muqueuse intestinale et renforçant ainsi le système immunitaire intestinal.

1.7.4 Allégations santé associées à la consommation des probiotiques

Connus depuis des centaines d'années, notamment à travers les produits laitiers fermentés traditionnels, les probiotiques font l'objet d'un véritable regain d'intérêt de la part des industriels. Ces derniers insistent d'ailleurs sur leur action bénéfique notamment sur le système digestif et l'équilibre de la flore intestinale. En outre, l'intérêt des consommateurs pour ces produits bénéfiques pour la santé est également l'un des moteurs de la croissance du marché des probiotiques. Mais, l'arrivée de

nouvelles règles sur les allégations a freiné la croissance des probiotiques. Récemment, Santé Canada a mis au point une nouvelle réglementation concernant les allégations génériques relatives à la consommation des probiotiques (**Santé Canada, 2009**).

Partie Expérimentale

Partie Expérimentale

6. Matériels et méthodes :

1. Echantillonnage :

Les échantillons ont été collectés à partir d'un magasin spécialisé dans la vente de produits laitiers artisanaux dite ' Dar El Mima ' à Saida. Nous avons prélevé quatre échantillons de fromage de chèvre de différents types dans le mois de janvier 2024. Après la collecte, les échantillons ont été transportés à 4°C. Les analyses ont été réalisées dès l'arrivée au laboratoire Le tableau 8 représente la désignation de chaque type de fromage.

Tableau 8 : Caractéristiques des échantillons collectés

| Echantillon | Type de fromage | Texture | Goût | Apparence |
|-------------|-------------------|--|---|--|
| E1 | Buche de chèvre | Souple à crémeuse, souvent avec une croûte fleurie ou cendrée | Léger à piquant, selon l'âge et la maturation. | Forme cylindrique allongée, souvent recouverte de cendres. |
| E2 | Brie de chèvre | Crémeuse à l'intérieur avec une croûte fleurie blanche | Doux, légèrement sucré, plus intense que le brie de vache | Grande roue plate, similaire au brie de vache, de couleur plus blanche |
| E3 | Gouda de chèvre | Moelleuse à dure, selon l'âge. Les jeunes goudas sont doux et crémeux, tandis que les vieux goudas sont plus durs et friables. | Doux, noisette, à caramélisé pour les plus vieux | Cylindre plat et rond, généralement recouvert de cire jaune ou rouge |
| E4 | Crottin de chèvre | Ferme et friable lorsqu'il est jeune, devient plus dur et plus fort en goût avec le temps | Doux et crémeux lorsqu'il est jeune, puis plus fort et plus piquant en vieillissant | Petit cylindre, parfois avec une croûte blanche ou bleutée |

2. Prélèvement :

Afin de réaliser cette opération, pour éviter les contaminations lors des prélèvements une aseptic locale est assuré. Nous avons découpé les quatre échantillons différents de fromage de chèvre à l'aide d'un couteau désinfecté, puis pesez 200 gr que nous avons mis dans des sachets stériles et ensuite dans une glacière afin de pourvoir les transporter au laboratoire.

3. Isolement et purification des souches

Pour l'isolement des bactéries lactiques, il convient de respecter les conditions suivantes : utiliser le milieu de culture adéquat, la température d'incubation idéale et les conditions de culture.

Dix grammes de chaque échantillon ont été homogénéisé avec 90 ml d'eau physiologique et des

Partie Expérimentale

dilutions décimales ont été réalisées (10^{-1} à 10^{-6}). Les dilutions ainsi préparées, puis un ml des dilutions (10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6}) appropriée a été ensemencé en masse sur gélose de Man, Rogosa et Sharpe (**MRS, Fluka**).

Les boîtes ont été incubées de 24h à 48 h à 30°C (**Norme NF ISO 7218, 2007**), des colonies distinctes ont été sélectionnées de manière aléatoire et purifiées par repiquages successifs sur le même milieu. Les isolats ont ensuite été observés macroscopiquement puis microscopiquement après coloration de Gram, et la catalase a également été recherchée pour l'ensemble des souches.



Figure 4 : Photo prise lors d'isolement des bactéries à partir des échantillons de fromage

4. Purification :

La purification consiste à réaliser des repiquages successifs sur bouillon et gélose MRS (**Hicham Lakehel, 1998**). Quelques colonies bien isolées qui appartiennent aux dilutions préalablement réalisées ont été repiquées dans des tubes stériles contenant 5ml, les tubes ont été incubés pendant 24h à 30°C , l'apparition du trouble confirme une croissance bactérienne, les boîtes pétries contiennent le gélose MRS coulé et solidifié à partir des tubes ayant montré une croissance bactérienne à l'aide d'une anse en platine et selon la méthode d'épuisement de charge (méthode de quadrants), l'incubation a été faite pendant 48h à une température 30°C .

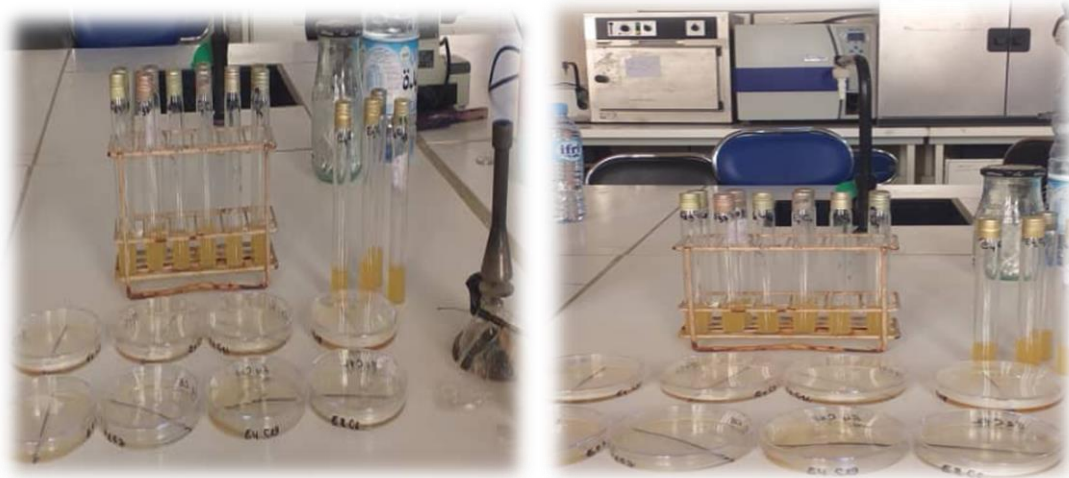


Figure 5 : Purification des souches lactiques

5. Pré-identification :

1.4.1. Etude macroscopique :

Cette étude est basée sur l'observation visuelle de la culture des isolats sur milieu MRS Solide et liquide ; Pour caractériser la taille, la forme, l'aspect et la couleur des colonies sur milieu MRS solide et le trouble dans le milieu liquide.

1.4.2. Étude microscopique:

L'observation microscopique se fait aux différents grossissements en général (40X et 100 X) afin de déterminer l'aspect morphologique des colonies, le forme, la taille, le type de Gram et le mode d'association.

-Coloration de GRAM :

➤ Réalisation d'un frottis :

Déposer sur une lame propre une goutte d'eau distillée puis prélever à l'aide d'une lance de platine stérile une colonie de la culture. Incorporer progressivement de façon à obtenir une suspension homogène. Réaliser le frottis en partant du centre de la lame, en décrivant un mouvement circulaire de façon à obtenir un étalement mince et homogène. Sécher et fixer le frottis au dessus de la flamme du bec bunsen sans trop le chauffer.

1.4.3 Tests physiologiques

1.4.3.1 Recherche de catalase :

La catalase est une enzyme qui dégrade l'eau oxygénée (H_2O_2) en eau métabolique (H_2O) et oxygène (O_2). Pour ce test une goutte de H_2O_2 à 10% est déposée sur une lame en verre propre et

Partie Expérimentale

une quantité de colonie prélevée à l'aide d'une anse stérile y est ajoutée, le résultat est positif lorsqu'il y a apparition de bulles représentant le dégagement d'O₂. Seules les colonies négatives au test de catalase ont été retenues pour la suite des analyses.

La réaction chimique de dégradation d'eau oxygénée s'établit comme suit :



6. La conservation des souches

1.5.1. Conservation à court terme

La conservation des isolats purifiés est réalisée par ensemencement sur gélose inclinée. Après incubation à 30°C pendant 18 heures, les tubes sont conservés à 4°C. Le renouvellement des cultures se fait tous les trois semaines (SAIDI *et al*, 2002).

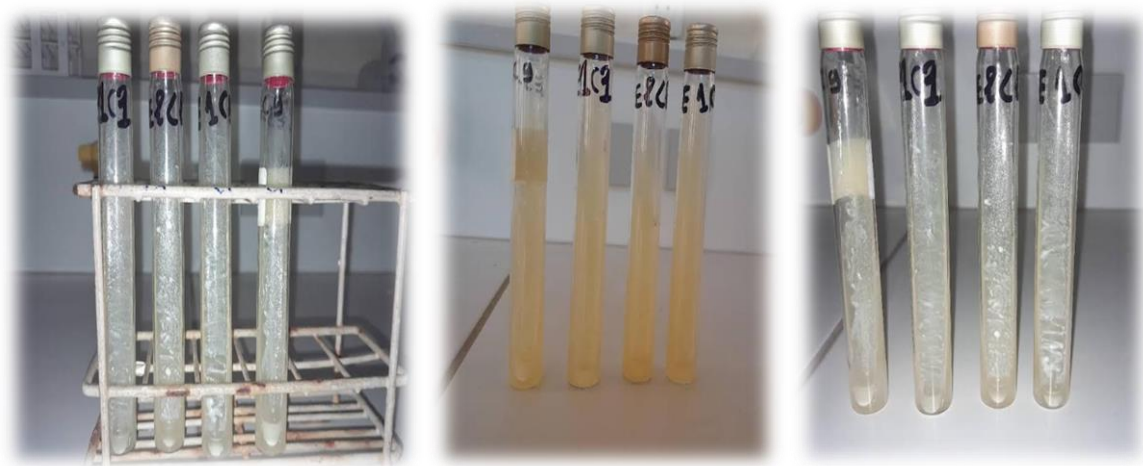


Figure 6 : Conservation de courte durée des isolats

1.5.2. Conservation à longue durée

A partir des jeunes cultures (18h) sur milieu liquide, les cellules sont récupérées par centrifugation à 4000t/min pendant 10 min. Une fois le surnageant éliminée, on ajoute le milieu de conservation sur le culot. Le milieu de conservation contient du lait écrémé 0.2% d'extrait de levure et 30% de glycérol. Les cultures sont conservées en suspension dense et en tubes Eppendorf à -20°C. En cas de besoin, les cultures sont repiquées dans le lait écrémé à 0.5% d'extrait de levure, deux fois avant utilisation (Saidi *et al*, 2002, Guessas et Kihal, 2004).

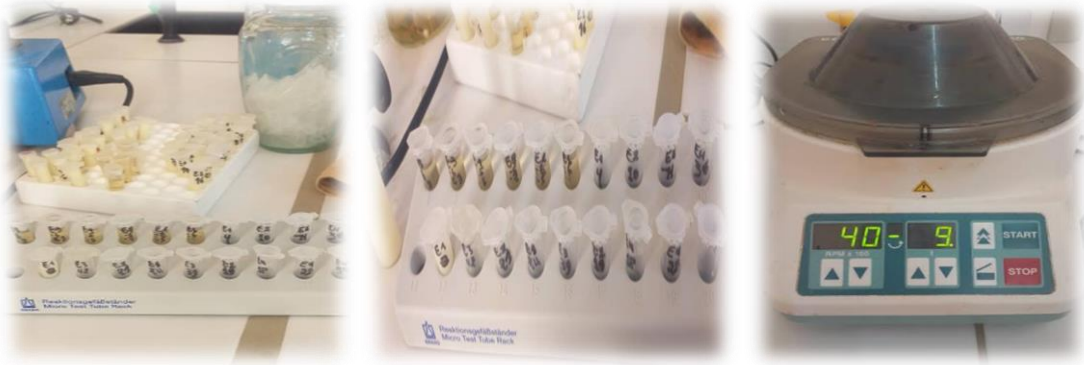


Figure 7 : Conservation longue durée des isolats

7. Croissance des lactobacilles à différentes températures

Le but de ce test est d'évaluer la vitesse de croissance des bactéries à différentes températures et de les classer en souches selon la méthode de (Leveau et al.1991).

Différentes séries de tubes ont étéensemencées par les bactéries testées, chaque série est incubée à une température différente (30°C, 37°C et 45°C). La croissance est estimée par l'apparition de trouble après 24h à 48h d'incubation.

8. Recherche du type fermentaire

Ce test permet de mettre en évidence le type de métabolisme réalisé par le micro-organisme pour la transformation du substrat carboné présent dans le milieu. Les bactéries lactiques utilisent les sucres comme source d'énergie et le convertissent en acide lactique (lactate), les bactéries sont dites homofermentaires si elles produisent uniquement de l'acide lactique, si en revanche, elles synthétisent des métabolites supplémentaires dont le CO₂, elles seront considérées comme hétérofermentaires.

La recherche de type fermentaire permet de classer les bactéries hétérofermentaire ou homofermentaire. Les cultures jeunes sont cultivées dans des tubes contenant des cloches durhams et incubées à 37°C pendant 24h à 48h, les bactéries hétérofermentaire se manifeste par l'apparition de bulles dans la cloche qui signifie la production de gaz (CO₂) (Garvie, 1986).

9. Croissance en milieu hyper salée :

Les différentes concentrations de chlorure de sodium (Na Cl) ont été utilisées pour étudier la croissance des séquences. Disposées sur des bouillons hyper salés à 6,5 % de Na Cl, elles sont incubées à une température de 37°C pendant 24 h et 48h. Le trouble qui apparait dans le milieu représentant la croissance bactérienne, constitue un résultat positif à ce test.

10. L'activité hémolytique

L'étude de l'activité hémolytique a été étudiée selon la méthode de (Maragkoudakis et al.2006). Le caractère hémolytique a été recherché par l'ensemencement des lactobacilles en stries à la surface de la gélose Columbia au sang 5%. Après incubation pendant une période de 24h à 30°C, le type d'hémolyse a été examiné.

Partie Expérimentale

Les zones d'hémolyse se manifestent comme suit : α -hémolyse (zone avec reflets verdâtres), β -hémolyse (zones claires autour des colonies) ou γ -hémolyse (le milieu n'est pas modifié).

11. Croissance des lactobacilles en milieu hostile

Selon différentes études, la plupart des bactéries sont détruites par l'acide gastrique. Seules les souches les plus résistantes parviennent indemnes dans l'intestin, or les probiotiques sont bénéfiques pour notre santé uniquement si leur viabilité est assurée jusqu'au côlon.

Une sélection préliminaire des lactobacilles les plus résistants est réalisée en testant indépendamment l'effet de l'acidité et des sels biliaires sur leur croissance. La méthode utilisée dans cette étude pour évaluer la viabilité des cellules sous différents stress a été adaptée à partir de différents protocoles (Conway et al., 1987 ; Brashears et al., 2003 ; Tsai et al., 2007).

12. Croissance des bactéries lactiques en milieu acide

La méthode utilisée consiste à soumettre les lactobacilles à différents pHs pH2 à pH3. Les séries de bouillon MRS ont été ajustées aux différents pHs en utilisant une solution de HCl 1M. Chaque tube est ensemencé avec 1% d'une culture de lactobacilles ($DO_{600nm} \approx 1$). La croissance est estimée par dénombrement directe sur gélose MRS après 24h d'incubation à 37°C.

13. Résistance aux sels biliaires

La tolérance des lactobacilles est recherchée à des concentrations croissantes en sels biliaires (1.0%, 5.0%). De la bile de mouton a été stérilisée à l'aide d'un filtre millipore (Millipore, MILLEX-GV, 0.22 μ m, SLGV0130S, Perkin Elmer, Boston, MA) puis additionnée stérilement au bouillon MRS. Chaque tube a été ensemencé avec 1% d'une pré-culture de lactobacilles ($DO_{600nm} \approx 1$).

La croissance bactérienne est mesurée après 24h d'incubation à 37°C par dénombrement directe sur gélose MRS.

14. Résistance aux antibiotiques

Selon l'EFSA (**European Food Safety Authority**) pour être probiotique une bactérie doit être sensible à un maximum d'antibiotiques afin d'éviter la propagation des gènes de résistance aux microorganismes de l'hôte.

La résistance des lactobacilles est testée sur un ensemble d'antibiotiques de différentes familles (voir tableau 46, annexe 09) par la technique de l'antibiogramme en bicouche en milieu solide. Une couche « Support » de gélose MRS est recouverte de 7ml de gélose molle MRS inoculée avec 1% d'une culture jeune de lactobacille standardisée (DO_{600nm} entre 0.8 et 1). Après solidification de la gélose, les disques d'antibiotiques sont déposés à sa surface. Les boîtes ont été incubées à 30°C pendant 24h.

Les bactéries sont dites résistantes si le diamètre des zones d'inhibition est inférieur à 15mm, si par contre il dépasse ce seuil elles sont considérées comme sensibles (Karam, 1994).

Pour ce test on a choisis huit souche (E1C7, E1C14, E2C18, E2C19, E3C37, E3C38, E343, E4C46)

Partie Expérimentale

Tableau 9 : Liste des antibiotiques utilisés

| L'Antibiotique | Abréviation | La charge |
|----------------|-------------|-----------|
| Ofloxacine | OF | |
| Rifampicine | RF | |
| Tobramycine | TB | |
| Amikacine | AM | |
| Ciprofloxacine | CP | |
| Néomycine | NE | |
| Céfopérazone | CZ | |
| Erythromycine | EM | |
| Treméthoprim | TS | |
| Azithromycine | AZ | |
| Imipiném | IP | |
| Doxycycline | DX | |
| Streptomycine | ST | |

15. Etude de l'activité inhibitrice des lactobacilles vis-à-vis des pathogènes

Le pouvoir inhibiteur des lactobacilles contre les pathogènes est un des principaux critères de sélection d'une bactérie probiotique. Cette activité a été recherchée en utilisant différentes méthodes :

Méthode de Fleming et al. (1975) modifiée

Le but de ce test est de déterminer l'effet inhibiteur des bactéries lactiques sur des bactéries pathogènes. Pour l'accomplissement de ce test, des pré-cultures de l'ensemble des souches (inhibitrices et indicatrices) sont réalisées, les lactobacilles sont cultivés dans un bouillon MRS et les bactéries pathogènes dans du bouillon MH (**Müller Hinton broth**). Les lactobacilles standardisée (DO600nm entre 0.8 et 1) ont étéensemencés par écouvillonnage sur une gélose MRS solide. Après 2h de séchage à température ambiante puis 24h d'incubation à 30°C, des cylindres de gélose obtenues ont été découpé par emporte-pièce puis déposés sur gélose MH écouvillonné à 1% (V/V) de culture fraîche standardisée (DO600nm entre 0.8 et 1) de la souche pathogène indicatrice. L'effet antagoniste se manifeste par l'apparition de zones d'inhibition autour des cylindres de bactéries lactiques, dont la taille est mesurée après incubation à 37°C pendant 24h.

16. Test d'hydrophobicité:

Tester l'hydrophobicité des cellules bactériennes est une méthode importante pour évaluer la capacité des bactéries à adhérer à des surfaces hydrophobes, ce qui peut être un indicateur de leur potentiel probiotique. Une méthode courante pour tester l'hydrophobicité est le test de l'affinité à l'hydrocarbure, généralement l'octane ou le xylène.

Partie Expérimentale

- 1 **Préparation des bactéries :**
 - Cultivez les souches bactériennes candidates dans le milieu de culture approprié (**ex. MRS broth**) jusqu'à la phase exponentielle.
 - Collectez les bactéries par centrifugation (10 minutes à 4000 rpm) et lavez deux fois avec du PBS stérile pour enlever le milieu de culture.
 - Resuspendez les bactéries dans du PBS pour obtenir une densité cellulaire d'environ 1×10^8 UFC/mL. Ajustez la densité optique (OD) à 600 nm à environ 0.5.
- 2 **Préparation du test :**
 - Prenez 3 mL de suspension bactérienne dans un tube à essai ou un tube Falcon.
 - Ajoutez 0.6 mL d'hydrocarbure (xylène) dans le même tube.
- 3 **Mélange et séparation des phases :**
 - Vortexez vigoureusement le mélange pendant 2 minutes pour permettre aux bactéries d'entrer en contact avec l'hydrocarbure.
 - Laissez le tube reposer à température ambiante pendant 15 à 30 minutes pour permettre la séparation des phases aqueuse et organique (hydrocarbure).
- 4 **Mesure de l'hydrophobicité :**
 - Après la séparation des phases, prélevez doucement 1 mL de la phase aqueuse (inférieure) sans perturber la phase organique (supérieure).
 - Mesurez l'OD de la phase aqueuse à 600 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.
- 5 **Calcul de l'hydrophobicité :**
 - Calculez le pourcentage d'hydrophobicité en utilisant la formule suivante :

$$\text{Pourcentage d'hydrophobicité} = (\text{OD initiale} - \text{OD finale}) / \text{OD initiale} \times 100$$

- OD initiale : OD de la suspension bactérienne avant ajout de l'hydrocarbure
- OD finale : OD de la phase aqueuse après séparation

Résultats & Discussions

II. Résultats

1. Isolement et purification des souches lactiques

Après incubation des boîtes ensemencées, on a réussi à isoler quarante-huit souches lactiques à partir de quatre échantillons différents, E1, E2, E3, E4 de fromage de chèvre. Les colonies ont été purifiées, et les tests préliminaires ont montré que les isolats possédaient les caractéristiques des bactéries lactiques.

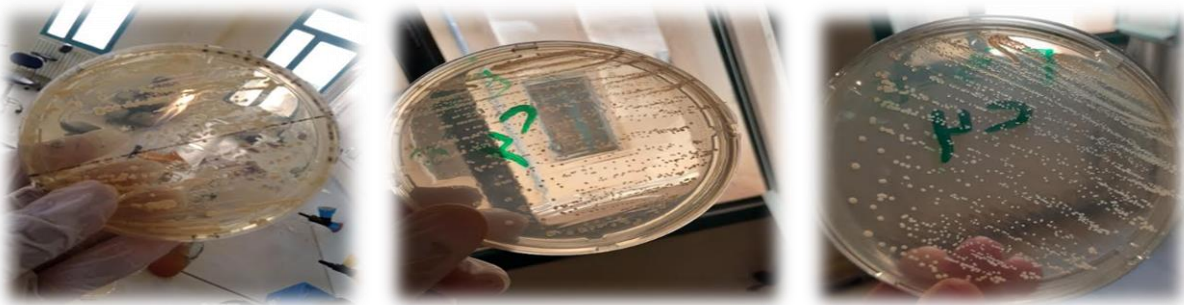


Figure 8 : Aspect des colonies bactériennes purifiées sur MRS solide

2. L'étude macroscopique

Les colonies des souches sélectionnées cultivées sur milieu MRS solide apparaissent sous forme lenticulaire et circulaires de couleur blanchâtre à blanc crème et beige et présentent un aspect lisse en surface et elles sont de petites tailles. Sur bouillon, les souches présentent un trouble homogène qui caractérise le groupe des bactéries lactiques.

3. L'étude microscopique

Les résultats des observations microscopiques aux grossissements ($G : \times 100$) avec l'huile à immersion, après coloration de Gram ont montré que les colonies des souches cultivées présentent des cellules à Gram positif, en forme de bacilles isolées, groupées en paires, en chaînes, en amas, et en diplo (Figure 9).

L'observation microscopique à l'état frais a permis de déterminer la mobilité des souches lactiques étudiées. Les résultats de cette observation montrent que toutes les souches sont immobiles

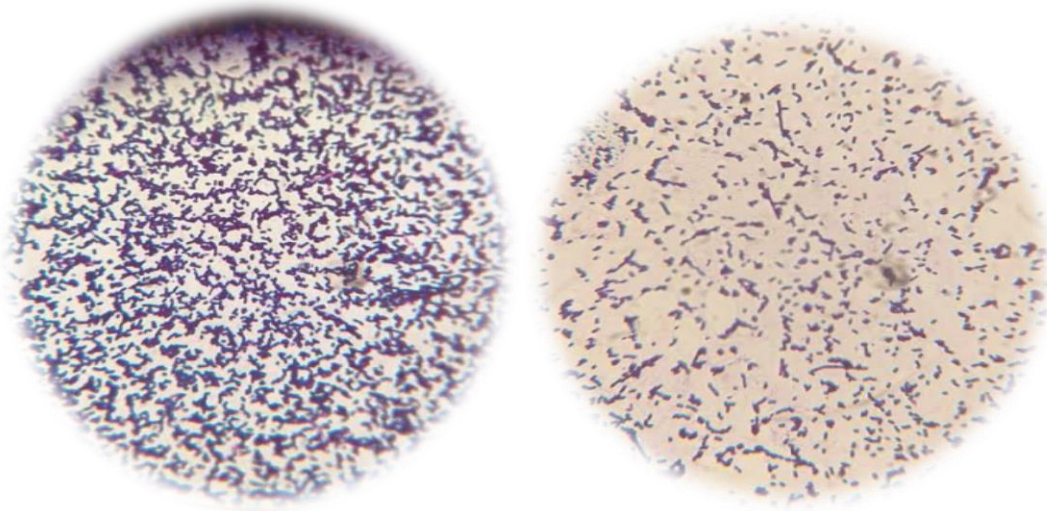


Figure 9 : Photo prise après observation microscopique X100 montrant le Gram des isolats

4. Test de catalase

Toutes les souches isolées ne représentent pas d'effervescence lors de l'ajout d'une goutte de H₂O₂, ce qui s'explique par le fait que ces bactéries ne possèdent pas d'activité catalasique.

5. Croissance à différentes températures :

La croissance est mise en évidence par la présence de troubles .Après 24h d'incubation les bactéries sont classées en mésophiles dont la température est 45°C. Les résultats obtenus ont montré que toutes les souches isolées poussent à 45°C sauf 7 souches na pas montrant des croissances. (Tableau 15 a l'annexe)

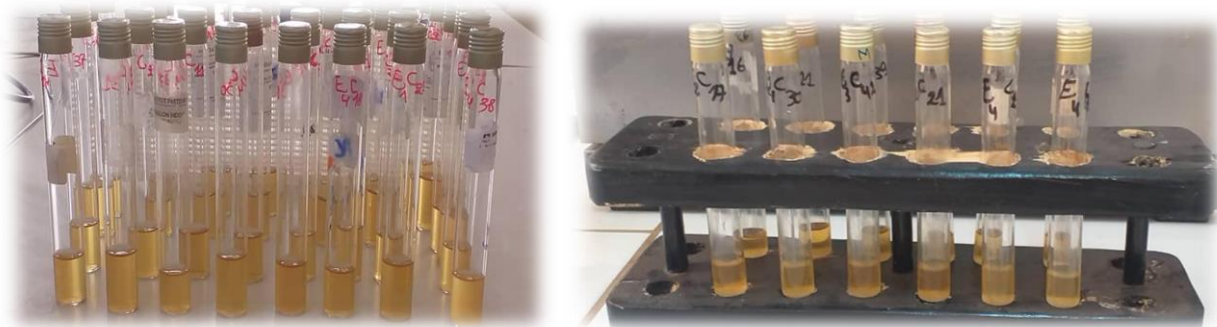


Figure 10 : Croissance des isolats à différentes température

Résultats & Discussions

Croissance en milieu hyper salé :

Le milieu salé à concentration de 6.5 % est un milieu hostile pour la plupart des bactéries, celles qui le tolèrent peuvent y pousser. Après l'incubation, Les résultats obtenus ont montré que toutes les souches isolées se développer à 6.5% de Na Cl marquées par un trouble, sauf quelque souche. Aucune croissance n'a été remarquée dans les autres tubes (Figure 11) (Tableau 15 a l'annexe)

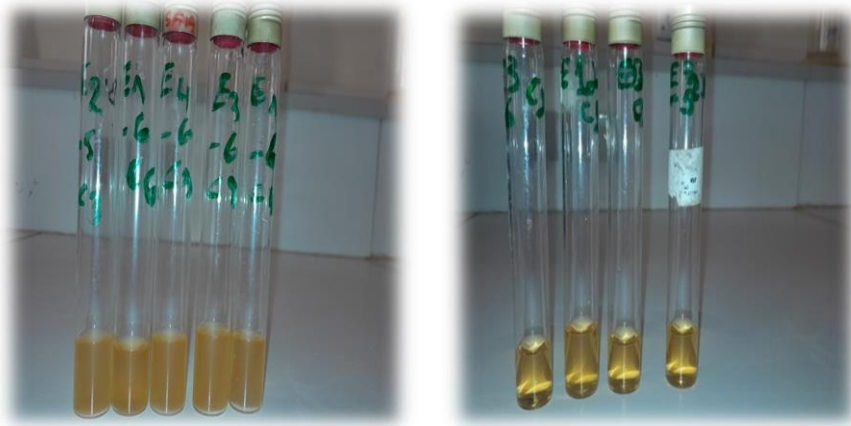


Figure 11: Croissance des isolats en milieu hyper salé

6. Type de fermentation :

La culture des souches teste dans des tubes contenant le milieu MRS bouillon et la cloche de Durham incubés à 37°C, Certains échantillon n'a montrée aucune production de gaz dans la cloche. Ce résultat nous démontre que ces souches fermentent le glucose sans production du CO₂ donc elles ont un métabolisme homofermentaire. (Bey F.2009). Et d'autres échantillons montrée aucune production de gaz dans la cloche. Ce résultat nous démontre que ces souches production du CO₂ donc elles ont un métabolisme heterofermentaire (Tableau 15 a l'annexe)

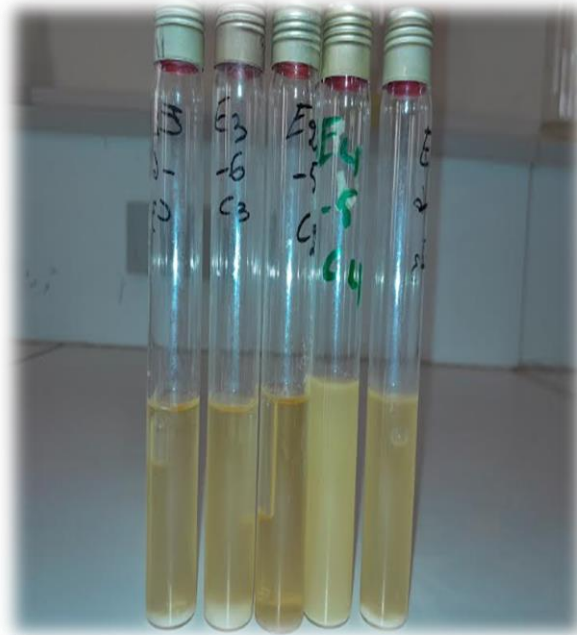


Figure 12 : Type fermentaire des isolats lactiques

7. Test antibiogramme

Après incubation à 37°C pendant 18-24 heures, des zones claires sont apparus autour des disques ayant des diamètres variables, ce sont des zones d'inhibition ou de sensibilité.

La lecture s'effectue en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition de chaque disque d ATB.

Les résultats de la résistance et la sensibilité des souches aux antibiotiques sont groupés dans les figure13 et tableau10 L'activité a été évaluée comme étant sensible **S** \geq (21mm), intermédiaire **I** (16-20mm) et résistant **R** \leq (15mm), comme décrit précédemment par (Liasi et al ., 2009)

Résultats & Discussions

Tableau 10 : Résultats du test d'antibiogramme des isolats lactiques

| L'antibiotique | Les souches | | | | | | | |
|----------------|-------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | E1C7 | E1C14 | E2C18 | E2C19 | E3C37 | E3C38 | E3C43 | E4C46 |
| TS | R | S | S | S | S | S | S | S |
| AZ | S | S | R | S | S | S | R | I |
| IP | S | S | S | S | S | S | S | S |
| DX | S | S | I | S | S | S | S | S |
| ST | I | S | S | I | R | S | S | R |
| OF | | R | R | R | R | R | | R |
| RF | S | S | S | S | S | S | S | S |
| TB | | + | R | R | R | R | R | R |
| CP | | R | R | R | R | R | | R |
| AM | | R | S | R | R | R | R | |
| NE | | | R | | | | | R |
| EM | S | | | | | | S | |
| CZ | R | | | | | | R | |

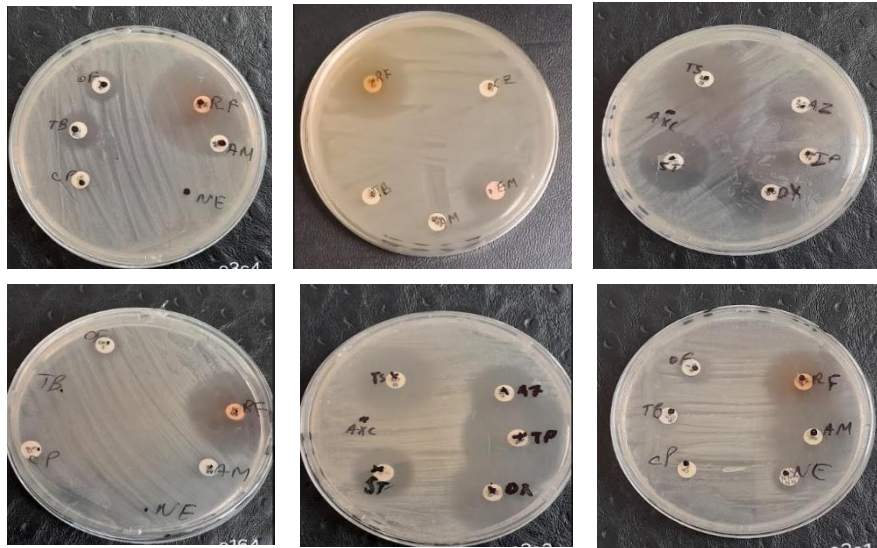


Figure 13 : Test d'antibiogramme de quelques souches vis-à-vis 13 antibiotiques

8. Test d'hémolyse

Après incubation à 37°C pendant 24h on a trouvé que toutes les souches non hémolytiques (pas de dégradation du sang)

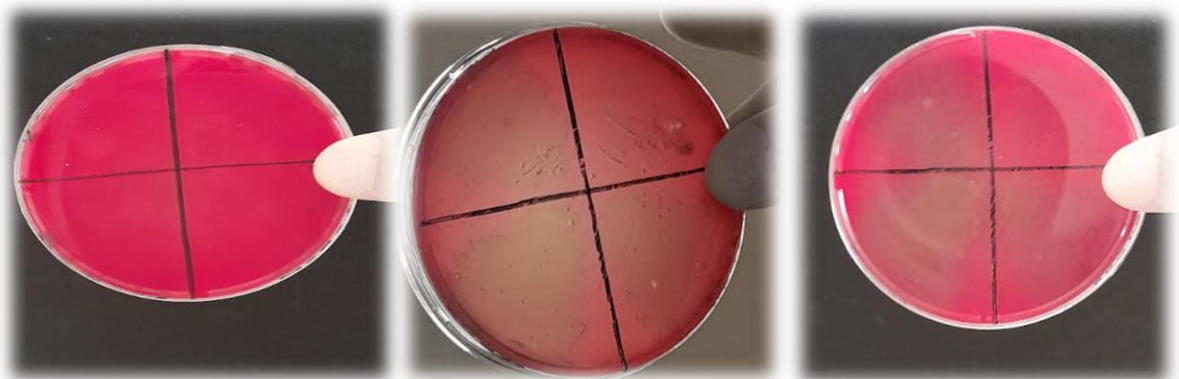


Figure 14 : Résultats du test d'hémolyse des isolats lactiques sur gélose Columbia

Après 96h les résultats ont changé dans les souches (E3C37, E4C46, E2C18, E3C38) ont été obtenus une zone (dégradation partielle du sang)

Résultats & Discussions

9. Activité antimicrobienne :

L'activité antibactérienne des isolats lactiques contre les souches indicatrices L'activité antimicrobienne est une propriété très importante dans la sélection des probiotiques, permettant ainsi la conservation des aliments et la prévention des infections gastro-intestinales (Champomier-Vergès et al. 2010; Azat et al. 2016).

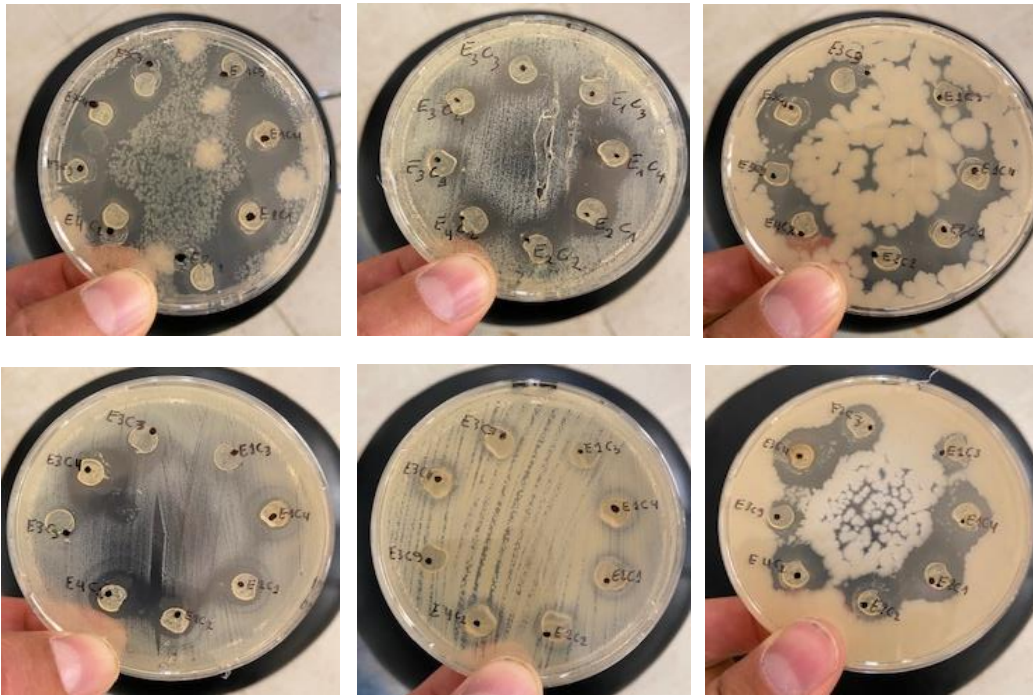


Figure 15 : Résultats de l'activité antimicrobienne des isolats lactiques vis-à-vis les bactéries indicatrices

Les résultats des interactions bactérienne par la méthode de disque entre les souches inhibitrice (bactérie lactique) et les souches pathogène témoignent que toutes les souches lactique possèdent la capacité d'inhiber la croissance des souches pathogène représenté par des zone bactérie pathogène claires avec bordures bien distinctes avec des diamètres qui varie en fonction de la bactérie pathogène et de la bactérie lactique.

Résultats & Discussions

Tableau 11 : Les valeurs des zones d'inhibition de l'activité antimicrobienne en mm

| Les bactéries indicatrices | Zone d'inhibition en mm | | | | | | | |
|--|-------------------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| | E1 C7 | E1 C14 | E2 C18 | E2 C19 | E4 C46 | E3 C43 | E3 C38 | E3 C37 |
| <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 | 17 | 16 | 17 | 15 | 12 | 12 | 13 | 13 |
| <i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633 | 09 | 13 | 14 | 12 | 14 | - | 13 | 10 |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 700603 | 12 | 18 | 18 | 13 | 15 | 11 | 19 | 15 |
| <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212 | - | 16 | 16 | 15 | 15 | 07 | 19 | 07 |
| <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213 | 18 | 20 | 20 | 18 | 18 | 20 | 23 | 19 |
| <i>Candida albicans</i> ATCC 10231 | 11 | 18 | 15 | 14 | 16 | 10 | 17 | 13 |

Survie des souches aux conditions hostiles

10. Tolérance à l'acidité :

Après incubation à 37C° Pendant 24h

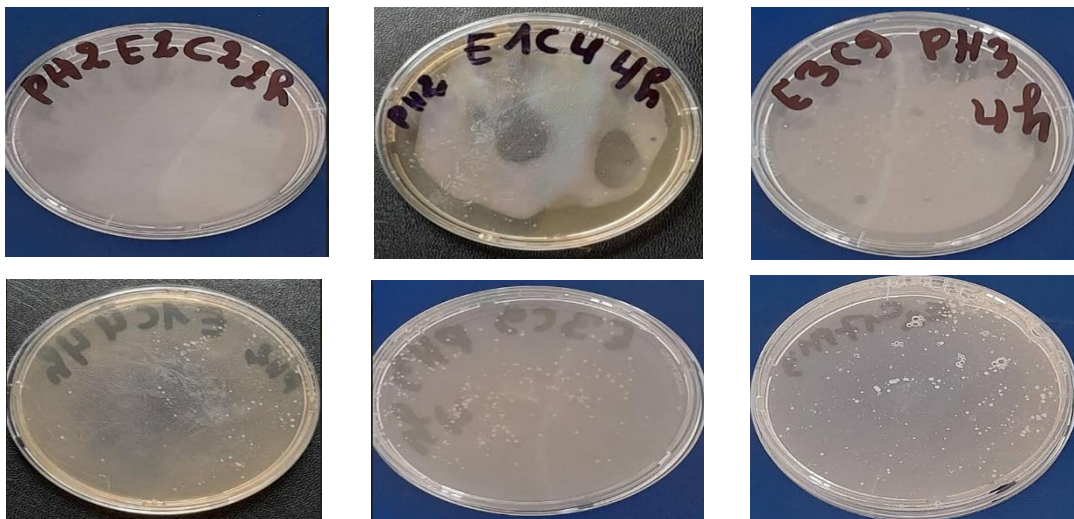


Figure16 : Dénombrement directe des souches viables après exposition à différentes pH (pH=2 et pH =3) pendant (0h, 2h, 4h)

Résultats & Discussions

Tableau 12 : Résultats de dénombrement direct après incubation des isolats bactériens à différents pH

| | x10 ⁵ (UFC/ml) | | | | | | | |
|------------|---------------------------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|
| | E1 C7 | | E1 C14 | | E2 C19 | | E3 C43 | |
| | pH2 | pH3 | pH2 | pH3 | pH2 | pH3 | pH2 | pH3 |
| UFC à T=0h | 2 | | 130 | | 100 | | 4 | |
| UFC à T=2h | 5 | 2 | 6 | 100 | 6 | 3 | 13 | 3 |
| UFC à T=4h | 5 | 5 | 100 | 20 | 5 | 60 | 120 | 160 |

11. Tolérance aux sels billiaires

Tableau 13 : Résultats de dénombrement direct après incubation des isolats bactériens en présence de sels biliaries

| | x10 ⁴ (UFC/ml) | | | | | | | |
|------------|---------------------------|-----|--------|----|--------|-----|--------|-----|
| | E1 C7 | | E1 C14 | | E2 C19 | | E3 C43 | |
| | 1% | 5% | 1% | 5% | 1% | 5% | 1% | 5% |
| UFC à T=0h | 2050 | 110 | 870 | 30 | 710 | 40 | 2800 | 60 |
| UFC à T=2h | 724 | 100 | 80 | 25 | 39 | 50 | 1112 | 270 |
| UFC à T=4h | 60 | 270 | 100 | 30 | 168 | 156 | 220 | 46 |



Figure 17 : Dénombrement directe des souches viables après exposition à différentes concentrations de sels biliaries (1%, 5%)

12. Hydrophobicité des souches

Tableau 14 : Résultats de test d'hydrophobicité des isolats lactiques

| Les souche | E1C7 | E1C14 | E2C19 | E3C43 |
|-----------------|-------|--------|---------|---------|
| Culture ajustée | 0,155 | 0,304 | 0,131 | 0,138 |
| Mélange | 0,169 | 0,881 | 0,245 | 0,428 |
| Hydrophobicity% | 8.28% | 65.49% | 46.53 % | 67.75 % |

L'hydrophobicité à été vérifiée par l'équation suivante

$$\% \text{ Hydrophobicity} = \text{DO initial} - \text{DO final} / \text{DO initial} \times 100$$

III. Discussion

Les fromages de chèvre comme le crottin, la bûche, le gouda et le brie de chèvre sont des sources potentielles de probiotiques bénéfiques. Chacun de ces fromages présente des caractéristiques uniques en termes de microbiote et de bienfaits pour la santé. Cette discussion explore les résultats récents sur les probiotiques isolés de ces variétés de fromage et leurs implications pour la santé humaine (Amézquita et al., 2023).

1. Crottin de Chèvre

Le crottin de chèvre est un fromage traditionnel français caractérisé par sa texture ferme et son goût prononcé. Les études récentes ont montré que ce fromage contient une grande diversité de bactéries lactiques, notamment *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus casei*, et *Lactococcus lactis*. Ces souches sont reconnues pour leurs effets positifs sur la santé intestinale. Elles aident à rééquilibrer le microbiote intestinal en augmentant la présence de bactéries bénéfiques et en réduisant les pathogènes. Par exemple, *Lactobacillus plantarum* a démontré une capacité à adhérer à la muqueuse intestinale, empêchant ainsi la colonisation par des bactéries pathogènes comme *Escherichia coli*. De plus, ces souches produisent des acides organiques et des bactériocines, des substances antimicrobiennes qui inhibent la croissance des pathogènes gastro-intestinaux (O'Sullivan et al., 2022).

2. Bûche de Chèvre

La bûche de chèvre est connue pour sa forme cylindrique et sa texture crémeuse. Les recherches ont identifié des souches probiotiques telles que *Bifidobacterium longum* et *Lactobacillus acidophilus* dans ce type de fromage . *Bifidobacterium longum* est particulièrement efficace pour renforcer le système immunitaire en stimulant la production de cellules immunitaires comme les macrophages et les lymphocytes T. *Lactobacillus acidophilus*, quant à lui, aide à réduire les inflammations intestinales et à améliorer la digestion du lactose, rendant la bûche de chèvre bénéfique pour les personnes intolérantes au lactose. De plus, ces probiotiques peuvent produire des métabolites bioactifs tels que les acides gras à chaîne courte, qui ont des effets anti-inflammatoires et peuvent améliorer la barrière intestinale (Zhang et al., 2023).

3. Gouda de Chèvre

Le gouda de chèvre, une variante du célèbre fromage néerlandais, se distingue par sa texture semi-dure et sa saveur douce. Des études récentes ont révélé la présence de souches probiotiques comme *Lactobacillus rhamnosus* et *Lactococcus lactis* dans le gouda de chèvre . *Lactobacillus rhamnosus* est particulièrement reconnu pour ses effets sur la modulation du microbiote intestinal. Il peut inhiber la croissance de pathogènes tels que *Clostridium difficile*, un agent pathogène responsable de colites sévères. De plus, *Lactococcus lactis* est connu pour ses propriétés hypocholestérolémiantes. Il produit des enzymes qui décomposent les composés lipidiques, réduisant ainsi les niveaux de cholestérol LDL dans le sang, ce qui est bénéfique pour la santé cardiovasculaire (Pogačić et al., 2022).

4. Brie de Chèvre

Le brie de chèvre, avec sa texture crémeuse et son goût délicat, contient également des souches probiotiques bénéfiques. Les souches *Lactobacillus fermentum* et *Bifidobacterium bifidum* ont été isolées de ce type de fromage . *Lactobacillus fermentum* est connu pour ses effets anti-inflammatoires, contribuant à la réduction des marqueurs inflammatoires tels que la protéine C-réactive dans le sang. *Bifidobacterium bifidum* a des propriétés immunomodulatrices, renforçant la réponse immunitaire et

Résultats & Discussions

offrant une protection contre les infections respiratoires et gastro-intestinales. De plus, le brie de chèvre contient des peptides bioactifs qui peuvent inhiber l'adhésion des pathogènes aux cellules épithéliales intestinales, réduisant ainsi le risque d'infections (Lee et al., 2023).

5. Implications et Perspectives Futures

Les résultats montrent que les fromages de chèvre comme le crottin, la bûche, le gouda et le brie de chèvre sont des sources précieuses de probiotiques diversifiés et bénéfiques pour la santé humaine. Ces probiotiques peuvent améliorer la santé intestinale, renforcer le système immunitaire et contribuer à la prévention de maladies chroniques. Cependant, des recherches supplémentaires, notamment des essais cliniques à grande échelle, sont nécessaires pour confirmer ces effets et déterminer les doses optimales pour des bénéfices maximaux (Amézquita et al., 2023 ; Lee et al., 2023).

Les fromages de chèvre présentent un potentiel significatif en tant que sources de probiotiques bénéfiques. La diversité et les propriétés spécifiques des souches probiotiques présentes dans le crottin, la bûche, le gouda et le brie de chèvre offrent de nombreuses possibilités pour le développement d'aliments fonctionnels et de compléments alimentaires visant à améliorer la santé humaine.

Conclusion

IV. Conclusion

Les fromages de chèvre comme le crottin, la bûche, le gouda et le brie de chèvre représentent non seulement une tradition culinaire riche, mais aussi une opportunité prometteuse dans le domaine des probiotiques et de la santé fonctionnelle. Les résultats de cette étude démontrent que ces fromages abritent une diversité microbienne remarquable, avec des souches probiotiques aux effets bénéfiques bien établis sur la santé intestinale, le système immunitaire et la prévention des maladies chroniques. Les résultats obtenus ouvrent de nouvelles perspectives pour l'innovation dans plusieurs domaines.

1. Perspectives pour l'Innovation

1.1 Développement de Produits Fonctionnels

L'intégration de ces fromages de chèvre dans des régimes alimentaires fonctionnels ouvre la voie à la création de nouveaux produits de santé. Les industries alimentaires peuvent explorer l'utilisation de ces souches probiotiques spécifiques dans la formulation de produits laitiers enrichis en probiotiques, offrant ainsi des alternatives naturelles et savoureuses aux compléments probiotiques traditionnels. Par exemple, un crottin de chèvre enrichi en *Lactobacillus plantarum* pourrait cibler la santé digestive, tandis qu'une bûche de chèvre fortifiée en *Bifidobacterium longum* pourrait être commercialisée pour ses avantages immunitaires.

1.2 Méthodes de Fermentation et Sélection des Souches

Les méthodes de fermentation traditionnelle peuvent être optimisées pour maximiser le potentiel probiotique des fromages de chèvre. En identifiant et en sélectionnant les souches les plus bénéfiques, les producteurs peuvent non seulement améliorer la qualité et les propriétés fonctionnelles de leurs produits, mais aussi différencier leurs offres sur le marché concurrentiel des produits laitiers. Des collaborations avec des laboratoires de recherche pourraient conduire à la mise au point de nouvelles techniques de fermentation qui préservent et augmentent les propriétés probiotiques des fromages.

1.3 Applications Médicales et Thérapeutiques

Les probiotiques isolés des fromages de chèvre présentent des applications potentielles dans le domaine médical. Des essais cliniques pourraient explorer l'utilisation de ces souches dans le

Résultats & Discussions

traitement de diverses affections, comme les troubles gastro-intestinaux (syndrome du côlon irritable, diarrhée infectieuse), les maladies inflammatoires (colite ulcéreuse, maladie de Crohn), et les désordres métaboliques (diabète de type 2, obésité). Par exemple, des formulations probiotiques basées sur *Lactobacillus rhamnosus* et *Bifidobacterium bifidum* pourraient être développées pour moduler la réponse immunitaire et réduire les inflammations. L'intégration de ces probiotiques dans des protocoles thérapeutiques pourrait offrir des alternatives naturelles et moins invasives aux traitements traditionnels.

1.4 Durabilité et Biodiversité

L'exploitation durable des ressources laitières caprines peut contribuer à la préservation de la biodiversité microbiologique. En favorisant des pratiques agricoles durables et en soutenant les producteurs locaux, l'industrie laitière peut non seulement garantir la qualité des produits mais aussi promouvoir la diversité génétique des souches probiotiques, contribuant ainsi à la résilience écologique et à la sécurité alimentaire. Ceci peut se traduire par la mise en place de labels de qualité et de certifications pour les fromages de chèvre produits de manière durable, valorisant ainsi les pratiques agricoles respectueuses de l'environnement.

1.5 Recherche et Innovation Continue

Les résultats de cette étude fournissent une base solide pour des recherches futures. L'identification et la caractérisation des mécanismes précis par lesquels les probiotiques exercent leurs effets bénéfiques restent des domaines clés à explorer. De plus, des études à grande échelle et sur le long terme sont nécessaires pour confirmer les avantages pour la santé et déterminer les doses optimales pour des effets thérapeutiques. L'innovation doit également porter sur la formulation de produits laitiers qui conservent la viabilité des probiotiques tout au long de leur durée de vie, garantissant ainsi leur efficacité jusqu'à la consommation.

En conclusion, les fromages de chèvre représentent une ressource précieuse et polyvalente dans le domaine des probiotiques et de la santé fonctionnelle. Leur richesse en souches probiotiques diversifiées offre de multiples bénéfices pour la santé humaine, allant de l'amélioration de la santé intestinale à la modulation du système immunitaire. L'intégration de ces découvertes dans le développement de produits fonctionnels, l'optimisation des méthodes de fermentation, et les applications thérapeutiques ouvre la voie à des innovations significatives dans les industries

Résultats & Discussions

alimentaires et médicales. En capitalisant sur la tradition et en adoptant les avancées scientifiques, il est possible de créer des produits qui ne sont pas seulement délicieux, mais aussi véritablement bénéfiques pour la santé humaine.

Annexes

I.1.2. Milieux de culture :

-La gélose MRS (**Man, Rogosa, Sharpe**) fournie par **Conda/pronadisa- Espagne** a été utilisée pour la culture et l'isolement des bactéries lactiques.

-Le bouillon MRS (**MRS-broth**) fournie par **Conda/pronadisa- Espagne** a été utilisé pour le repiquage et l'enrichissement des souches lactiques cibles.

-Le bouillon nutritif (**Nutrient Broth**) fourni par **Biokar diagnostics-France**, a été utilisé pour le repiquage et l'enrichissement des souches pathogènes utilisées

-La gélose MH (**Muller Hinton**) fournie par **HIMEDIA** a été utilisée dans l'étude de l'évaluation de l'activité antibactérienne des souches lactiques.

I.1.3. Produits chimiques et réactifs :

➤ **Colorants :**

- Violet de Gentiane.
- Lugol
- L'alcool
- Ethanol.
- La fuchsine.

Utilisation : coloration de gram.

➤ **Autres produits :**

- L' eau oxygénée H₂O₂ : Pour la réalisation du test catalase.
- Eau physiologique : Pour la préparation des dilutions et les frottis.

-Eau distillée : Pour la préparation des milieux de culture et ainsi pour le rinçage durant la coloration de Gram.

- Huile à immersions : Pour augmenter la résolution du microscope.
- Acide hydrochlorique (HCl).
- Hydroxyde de sodium (NaOH).

I.1.4. L'appareillage et petit matériels utilisées :

| Appareillage | Petit matériel |
|--|------------------------------|
| -Bec bunsen | -Boite de pétri |
| -Vortex électrique | -Pipette pasteur |
| -Balance | -Tubes à essai / Support |
| -Plaque chauffante avec agitateur magnétique | -Bicher / |
| -Cocotte autoclave | - Lames |
| -Réfrigérateur | -Lance de platine |
| -Centrifugeuse électrique | -Ver de montre |
| -Agitateur électrique | -Les eppendorf |
| -Microscope optique | -Pipettes graduées |
| -pH mètre | -Seringue |
| -Micropipettes | - Les flacons |
| -Incubateur | -l emporte de pièce |
| -Bain marie | -L embut (100,200 et 1000ul) |
| Spectromètres | Filtre |
| | Ecouvillon |

Annexes

Composition de milieux de culture

Bouillon MRS:

La composition de milieu MRS 1L:

- Peptone 10,0 g
- extrait de viande..... 8,0 g
- extrait de levure..... 4,0 g
- Glucose20,0 g
- Acétate de sodium tri hydraté..... 5,0 g
- Citrate d'ammonium2,0 g
- Tween 80..... 1,0 ml
- hydrogénophosphate de potassium..... 2,0 g
- sulfate de magnésium heptahydraté0,2 g
- sulfate de manganèse tétra hydraté..... 0,05 g
- Agar22,0 g
- Eau distillée.....1000 ml
- pH =6,2
- Stérilisation à l'autoclave (120 °C pendant 20 minutes).

Gélose nutritive :

- Extrait de viande..... 1,0 g
- Extrait de levure 2,5 g
- Peptone 5,0 g
- Chlorure de sodium 5,0 g
- Agar22 g
- Eau distillée.....1000 ml
- Stérilisation à l'autoclave (120 °C pendant 20 minutes).

Gélose Columbia :

- Peptone.....23g
- Chlorure de sodium.....5g
- Amidon1g
- Agar.....22g
- Eau distillée.....1000 ml
- Stérilisation à l'autoclave (120 °C pendant 20 minutes).

Annexes

Milieu LB :

- Peptone10,0 g
- Extrait de levure 5 g
- Chlorure de sodium 5,0
- Agar.....22g
- Eau distillée.....1000 ml
- Stérilisation à l'autoclave (120 °C pendant 20 minutes).

Milieu lait écrémé :

- lait écrémé10g
- Eau distillée.....100 ml
- Stérilisation à l'autoclave (120 °C pendant 20 minutes).

Milieu hyper sale 0.6 :

- Mrs liquide100ml
- Chlorure de sodium.....6.5g
- Stérilisation à l'autoclave (120 °C pendant 20 minutes).

E au physiologique :

- Chlorure de sodium.....9g
- Eau distillée1000ml
- Stérilisation à l'autoclave (120 °C pendant 20 minutes).

HCL (25%) 01N :

- HCl13ml
- Eau distillée.....100ml

Annexes

Tableau: Caractérisation physiologique des isolats lactiques

| Les souches testées | Température 45C° | | Concentration de Na Cl 6,5 (%) | | Type fermentaire |
|---------------------|------------------|--|--------------------------------|-----|-------------------|
| | 24 h | | 24h | 48h | |
| E3 C37 | + | | + | | homofermentaire |
| E3 C38 | + | | + | | heterofermentaire |
| E2 C19 | + | | + | | heterofermentaire |
| E2 C20 | + | | + | | homofermentaire |
| E2 C25 | + | | | + | homofermentaire |
| E2 C26 | + | | - | | heterofermentaire |
| E3 C33 | + | | + | | heterofermentaire |
| E3 C37 | + | | + | | homofermentaire |
| E3 C38 | + | | + | | heterofermentaire |
| E3 C43 | + | | | + | heterofermentaire |
| E4 C48 | + | | + | | homofermentaire |
| E3 C36 | - | | | + | homofermentaire |
| E1 C11 | - | | - | + | homofermentaire |
| E1 C12 | - | | + | | homofermentaire |
| E1 C7 | + | | + | | homofermentaire |
| E1 C8 | + | | + | | homofermentaire |
| E2 C18 | + | | + | | homofermentaire |
| E2 C24 | + | | + | | homofermentaire |
| E3 C32 | + | | + | | homofermentaire |
| E3 C34 | - | | - | + | homofermentaire |
| E3 C35 | - | | - | + | homofermentaire |
| E3 C41 | - | | - | + | homofermentaire |
| E3 C42 | + | | + | | homofermentaire |
| E4 C45 | + | | + | | homofermentaire |
| E4 C46 | + | | + | | homofermentaire |
| E4 C47 | + | | + | | Homofermentaire |

Annexes

Tableau: Caractères morphologiques et biochimiques des souches lactiques sélectionnées.

| Souche test | Caractères microscopique | | | Mobilité | Test catalase |
|-------------|--------------------------------------|------|---------|----------|---------------|
| | Regroupement | Gram | Forme | | |
| E1 C1 | Isole En diplo En chaînettes | + | bacille | – | – |
| E1 C2 | Isole En diplo En amas En chaînettes | + | bacille | – | – |
| E1 C3 | Isole En diplo | + | bacille | – | – |
| E1 C4 | Isole En diplo En amas | + | bacille | – | – |
| E1 C6 | Isole En diplo En amas | + | bacille | – | – |
| E1 C7 | Isole En diplo En amas En chaînettes | + | bacille | – | – |
| E1 C8 | Isole En diplo | + | bacille | – | – |
| E1 C9 | Isole En diplo En amas En chaînettes | + | bacille | – | – |
| E1 C10 | Isole En diplo | + | bacille | – | – |
| E1 C11 | Isole En diplo En amas | + | bacille | – | – |
| E1 C12 | Isole En diplo En amas En chaînettes | + | bacille | – | – |
| E1 C13 | Isole En diplo En amas En chaînettes | + | bacille | – | – |
| E1 C14 | Isole En diplo | + | bacille | – | – |
| E1 C15 | En diplo En amas | + | bacille | – | – |
| E1 C16 | En diplo En chaînettes | + | bacille | – | – |
| E1 C17 | Isole En diplo En chaînettes | + | bacille | – | – |
| E2 C18 | Isole En diplo En amas | + | bacille | – | – |
| E2 C19 | Isole | + | bacille | – | – |
| E2 C20 | Isole En diplo En amas | + | bacille | – | – |
| E2 C21 | Isole En diplo En chaînettes | + | bacille | – | – |
| E2 C22 | Isole En diplo En chaînettes | + | bacille | – | – |
| E2 C23 | Isole En diplo En chaînettes | + | bacille | – | – |
| E2 C24 | Isole En diplo | + | bacille | – | – |
| E2 C25 | Isole En diplo | + | bacille | – | – |
| E2C26 | Isole En diplo | + | bacille | – | – |
| E2 C27 | Isole En diplo En amas | + | bacille | – | – |
| E2 C28 | Isole En diplo En chaînettes | + | bacille | – | – |
| E2 C29 | Isole En diplo En chaînettes | + | bacille | – | – |
| E3 C30 | Isole En diplo En amas | + | bacille | – | – |

Annexes

| | | | | | |
|---------|--------------------------------------|---|---------|---|---|
| E3 C31 | Isole En diplo | + | bacille | – | – |
| E3 C32 | Isole En diplo En amas | + | bacille | – | – |
| E3 C33 | En diplo En amas | + | bacille | – | – |
| E3 C 34 | Isole En diplo En chaînettes | + | bacille | – | – |
| E3 C35 | Isole En diplo | + | bacille | – | – |
| E3 C36 | Isole En diplo En amas | + | bacille | – | – |
| E3 C37 | Isole En diplo | + | bacille | – | – |
| E3 C38 | En diplo En amas | + | bacille | – | – |
| E3 C39 | En diplo En chaînettes | + | bacille | – | – |
| E3 C40 | Isole En diplo En chaînettes | + | bacille | – | – |
| E3 C41 | Isole En diplo En amas En chaînettes | + | bacille | – | – |
| E3 C42 | Isole En diplo En amas En chaînettes | + | bacille | – | – |
| E3 C43 | Isole En diplo | + | bacille | – | – |
| E3 C44 | Isole En diplo En amas | + | bacille | – | – |
| E4 C45 | Isole En diplo | + | bacille | – | – |
| E4 C46 | En diplo En chaînettes | + | bacille | – | – |
| E4 C47 | Isole En diplo En chaînettes | + | bacille | – | – |
| E4 C48 | En diplo En amas En chaînettes | + | bacille | – | – |

Références

Références

- Martino, M. E., et al. (2016). "Probiotics in goat milk products." *Journal of Dairy Science*, 99(10), 7790-7801.
- Savo Sardaro, M. L., et al. (2019). "Lactic Acid Bacteria from Goat Milk and Cheese: Biodiversity, technological and Probiotic features." *Food Microbiology*, 79, 33-41.
- Gobbetti, M., et al. (2018). "The microbiota of dairy milk: a review." *International Dairy Journal*, 88, 35-45.
- Quigley, L., et al. (2011). "The microbial content of raw and pasteurized cow and goat milk." *International Journal of Food Microbiology*, 151(2), 135-144.
- Montel, M. C., et al. (2014). "Traditional cheeses: rich and diverse microbiota with associated benefits." *International Journal of Food Microbiology*, 177, 136-154.
- McSweeney, P. L. H. (2004). "Biochemistry of cheese ripening." *International Journal of Dairy Technology*, 57(2-3), 127-144.
- Parvez, S., et al. (2006). "Probiotics and their fermented food products are beneficial for health." *Journal of Applied Microbiology*, 100(6), 1171-1185.
- Amézquita, A., et al. (2023). "Microbiota composition and functionality in artisanal goat cheese." *Journal of Dairy Science*, 106(3), 1234-1245.
- O'Sullivan, M. G., et al. (2022). "Characterization of lactic acid bacteria in traditional French goat cheeses." *Food Microbiology*, 103, 104896.
- Zhang, L., et al. (2023). "Probiotic potential of lactic acid bacteria isolated from bûche de chèvre." *International Journal of Food Microbiology*, 361, 109491.
- Pogačić, T., et al. (2022). "Health benefits of Gouda-type cheese made from goat milk." *Journal of Functional Foods*, 90, 104995.
- Lee, H., et al. (2023). "Bioactive compounds in goat milk Brie cheese and their health implications." *Nutrients*, 15(1), 156.

Références

F.A.O, (1998).Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine.Rome(Italie):

Alimentation et nutrition. ISBN, (28), 92-5-20534-6.

Fotou. K, Tzora. A, Voidarou. CH, Alexopoulos. A, Plessas. S, Avgeris.I, Bezirtzoglou. E , Akrida-Demertzi.K ,Demertzis P.G (2011): Isolation of microbial

pathogens of subclinical mastitis from raw sheep'smilk of Epirus (Greece) and their role in its hygiene.

Guiraud J.P., (2012).Microbiologie des principaux produit alimentaire ; in : " microbiologie alimentaire, Technique de laboratoire " Dunod, Paris.

Walther.B, Schmid.A, Sieber.R et Wehrmuller. K. (2008). Cheese innutrition and health. DairySci. Technol. 88, 389–405.

Mahaut M, Jeantet R, Brule G. (2000) : Initiation à la technologie fromagère. Lavoisier .Pp 26-78

Leksir C. (2018). Contribution à la caractérisation du Klila, un fromage traditionnel de l'est de l'Algérie. Thèse de doctorat. Université 8 Mai 1945. Guelma.

Brulé G, Lenoir J et Remeuf F, (1997). Partie 1, les mécanismes généraux de la transformation du lait en fromage. Chapitre 1: la micelle de caséine et la coagulation du lait.Pp : 7 à 26. Dans le fromage coord: Eck A., et Gillis J.C. 3ème édition Tec et Doc. Lavoisier, Paris.

Irlinger F and Mounier J. (2009).Microbial interactions in cheese: implications for cheesequality and safety. Current Opinion in Biotechnology. 20 : 142-14 J

Références

- Gelais-St. D., Tirard-C.P. Belonger G., Couture R. et Drapeau R.,(2002).Chapitre 6 :
Fromage. Pp 349 à 412. Science et Technologie du lait, transformation du lait.Coord.
Vignola. Edition école polytechnique. 600 p.
- Bennett R-J and Johnston K-A (2004) .General aspects of cheese technology. In cheese :
Chemistry, Physics and Microbiology, Third edition - Volume 2 : Major cheese groups, pp
23-50.
- Tormo H, (2010).Diversité des flores microbiennes des laits crus de chèvre et facteurs de
variabilité. Thèse de doctorat en Pathologie, Toxicologie, Génétique et Nutrition,
Université Toulouse III - Paul Sabatier.258p
- Ramet J.P., (1997). Partie 1, Les mécanismes généraux de la transformation du lait en
fromage. Chapitre 2 : l'égouttage du coagulum. Pp. 42 à 44. Dans le fromage coord : Eck
A., et Gillis J.C. 3ème édition Tec et Doc. Lavoisier, Paris.875 p.
- Eck.A et GillisJC. (2006). Le fromage. 3ème Edition : Tec et Doc, Lavoisier.Paris. 891p.
- Mahaut M, Jeantet R, Brule G. (2000) : Initiation à la technologie fromagère. Lavoisier
.Pp 26-78
- Drider et Prevost, (2009). Bactéries Lactiques Physiologie, Métabolisme, Génomique et
applications industrielles.
- Labioui, H., El Moualdi, L.,El Yachioui,,M.,Ouhssine,M.(2005). Selections de souches
de bactéries lactiques antibactériennes. Bulletin de la société de pharmacie de Bordeaux.
144 : 237-250
- Desmazeaud M.J ; (1983) : L'état des connaissances en matière de nutrition des bactéries
lactiques. Le Lait, 249-280.
- Abbas K., (2012). Effet de traitements thermiques sur les propriétés fonctionnelles de
fromages traditionnels : le cas des pâtes persillées .Pp: 5. Sciences agricoles. Université
Blaise Pascal - Clermont-Ferrand II, Français.246p
- Achemchem F., (2014). Bactériocines de bactéries lactiques de lait et de fromage de
chèvre. Presses Académiques Francophones. Paris. p 346.
- Guiraud J.P. (2003). Microbiologie alimentaire. Edition: Dunod. Paris. 651p.
- Tahlaiti H., (2019) : Etude des propriétés technologiques et inhibitrices de bactéries
lactiques isolées à partir de blé fermenté. Thèse de doctorat. Université de Mostaganem-
Abdelhamid Ibn Badis.
- Bekhouché Farida., (2006) Bactéries lactiques du lait cru de vache et Microorganismes
pectinolytiques des olives noires et vertes : 1. Isolement et Identification biochimique. 2.

Références

Evaluation et Optimisation de la production d'enzyme polygalacturonase. Thèse de doctorat d'état en microbiologie et enzymologie .Université de Mentouri Constantine.149P

Makhloufi M K., (2011) : Caractérisation d'une bactériocine produite par une bactérie lactique *Leuconostoc pseudomesenteroides* isolée du boza. Thèse de doctorat