



## Intitulé du thème

L'isolement et caractérisation des bactéries  
lactiques à partir du Blé dur et Blé tendre en Algérie

MÉMOIRE POUR L'OBTENTION DU DIPLOME DE MASTER

**Faculté: Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre**

**Département: Biologie**

**Spécialité: Analyses Biologiques et Biochimiques**

**Soutenu le : 24/05/2017**

Par

**Nom :-ELKOLEI**

**Prénom :-Bochra**

**-AYADI**

**- Abir**

Devant le

### Jury

**Président : Mr. HAMMOUDA R-F**

**MAA, UDB-Khemis Miliana**

**Promotrice: Mme. GUETARNI H.**

**MCB, UDB-Khemis Miliana**

**Examineurs :**

**1- Mr.AIT OUAZZOU A**

**MCA, UDB-Khemis Miliana**

**2- Mr. AROUS A**

**MAA, UDB-Khemis Miliana**

## **REMERCIEMENTS**

C'est avec beaucoup d'honneur que nous exprimons ici notre premier remerciement à Allah de nos avoir permis d'accomplir ce travail.

Nous tenons tout d'abord à remercier M<sup>me</sup> GUETARNI Hacina notre promotrice, Maitre de Conférences à l'université Djilali Bounaama-Khemis Miliana, pour ses aides précieuses, pour ses conseils, son encouragement et sa disponibilité dans ce travail

Nos remerciements s'adressent aux membres de jury :

M<sup>r</sup> HAMMOUDA R-F, Maitre Assistant à l'Université Djilali Bounaama- Khemis Miliana, d'avoir fait l'honneur de présider le jury

M<sup>r</sup> AROUS A., Maitre Assistant à l'Université Djilali Bounaama- Khemis Miliana, qui nous a fait l'honneur d'examiner ce travail

Mr AIT OUZZOU A., Maitre de Conférences à l'université Djilali Bounaama-Khemis Miliana, avoir accepté d'examiner ce travail

Un remerciement bien particulier s'adresse également aux personnels du Groupe de la Semoulerie Industrielle de la Mitidja pour leur accueil, aides, conseils, gentillesse, sympathie et leur soutien moral toute au long de notre travail. J'adresse ici un vif remerciement à M<sup>r</sup> Abdel Kader BOUJAMAA , M<sup>r</sup> RIBAY Rafik et M<sup>r</sup> KHABCHER Sofiane, et tous les techniciens de laboratoire de Biochimie et Microbiologie de la Semoulerie.

Nos remerciements s'adressent aux techniciens de laboratoire Microbiologie de Khemiss-Miliana pour leurs aides durant la période du stage.

Tous remerciements vont également à l'ensemble des enseignants et du personnel de notre faculté.

# Dédicaces

*Merci d'Allah de m'avoir donné la capacité d'écrire et de réfléchir, la force d'y croire et la patience d'aller jusqu'au bout du rêve.*

*Je dédie ce modeste travail :*

*A l'homme de ma vie, mon premier amour, mon soutien moral et source de joie et de bonheur, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir,*

*Le plus chère papa « AYADI Mouhamed »*

*A celle qui m'a donné l'amour, la compréhension, la tendresse, la politesse, le courage et la femme dont l'affection, la grandeur d'âme et l'esprit m'ont permis d'arriver à surmonter tous les objectifs pour pouvoir donner le meilleur*

*Ma très chère mère « RAHHALI Hadda »*

*Que dieu les protèges et les gardes pour moi*

*A ma source de joie, mes chères sœurs Amina, Zineb, Marwa, Hasna, Merième, ma nièce Toukka et mes neveux Lotfi et Abdelbakki*

*A mon trésor, ma fierté, ma force à les hommes de ma vie, mes frères Amine et Abd elhak*

*A la personne qui reste auprès de moi dans tous les moments, qui me donne la patience et l'espoir pour réaliser ce travail, à mon homme :*

*OUCHICHERA Oussama*

*A ma copine, ma sœur et à la fille qui avec lui je partage ce travail et aussi des moments agréables ELKOLEI Bouchra*

*A tous les membres de ma famille : mes tantes, oncles, mes cousins, mes cousines paternelle et maternelle.*

*A ma nouvelle famille OUCHICHERA de mon père Ahmed et ma mère Farida à ma puce Razane*

*A ceux que j'aime beaucoup et était toujours à mes cotés mes très chères amies Asma, Leila , Sanaà, Dalia, Imene,.*

*A toute ma promotion 2016/2017 de Master 2 Spécialité Analyses Biologiques et Biochimiques en particulier RBiha, Meriem, Sarah, Zineb et Yacine*

*Et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour que ce travail soit possible. ie vous dis Merci*

Abir

## DEDICACES

*A ma famille qui m'a encouragé et soutenu durant mes études et particulièrement à :*

*Mes parents qui m'ont toujours soutenu et étaient ma force pour travailler avec plus de courage et persévérance et à qui j'éprouve un profond respect, mon cher **père El hadi**, ma très chère mère **KELKOULI Saida** autant de phrases aussi expressives soient-elles ne sauraient montrer le degré d'amour et d'affection que j'éprouve pour toi. Tu m'as comblé avec ta tendresse et affection tout au long de mon parcours. Tu n'as cessé de me soutenir et de m'encourager durant toutes les années de mes études. Qu'ALLAH te protéger et te donner la santé, le bonheur et longue vie.*

*Ma très chère sœur Hadjer, mon très chère frère Farouk.*

*Ma très chère copine, sœur, amie : **Abora**.*

*Mes cousins et cousines en particulier : **Khadija , Meriem, Sarah, Amina, Meriem, Nesrin, Asma, Samah, Amina, Zineb, Marouen, Sarah, Abir, Amel**.*

*Mes meilleurs amis : **Aicha, Ahlam, Asmaa, Dalia, leila, imen, Rbiha, Meriem**, avec qui j'ai partagé des moments très agréables.*

*Et toute la promotion de Master 2 Analyses Biologiques et Biochimiques 2017.*



## TABLE DES MATIERES

Résumé		
Abstract		
المخلص		
Liste des abréviations.....		i
Liste des tableaux.....		iv
Liste des figures.....		v
	<b>Introduction Générale</b>	
	<b>Synthèse Bibliographique</b>	
<b>Chapitre I</b>	<b>Le blé</b>	
1.	Définition du blé	3
2.	Historique	3
3.	Structure du grain de blé	4
3.1.	Enveloppes de la graine	4
3.1.1.	Le péricarpe ou tégument du fruit	4
3.1.2.	Le Testa	4
3.1.3.	Les cellules nucellaires ou épiderme du nucelle	5
3.2.	Albumen	5
3.3.	Germe	5
4.	Composition biochimique du grain de blé	5
4.1.	Protéines	5
4.2.	Glucides	6
4.2.1.	Amidon	6
4.2.2.	L'amylose	7
4.2.3.	L'amylopectine	7
4.2.4.	Glucides non assimilables (fibres)	7
4.2.5.	Les pentosanes	7
4.2.6.	La Cellulose	7
4.2.7.	La lignine	7
4.3.	Lipides	7
4.4.	Vitamines et Minéraux	7
4.5.	Enzymes du blé	8
4.5.1.	Enzymes Amylolytiques	9
4.5.2.	Enzymes lipolytiques	9
4.5.3.	Enzymes protéolytiques	9
4.5.4.	Phosphatases	9
4.5.5.	Polyphénoloxydases	9
4.6.	L'eau	9
5.	Stockage du blé	10
5.1.	Système de stockage traditionnelle « MATMOURAS »	10
5.2.	Stockage moderne	11
5.2.1.	Les silos en béton armé	11
5.2.2.	Les silos métalliques	11
5.2.3.	Les cases en métal	11
5.2.4.	Stockage en sacs	11
5.2.5.	Stockage en plein air	11
6.	Microorganismes du Blé	12
6.1.	Moisissures	12
6.1.1.	Flore des champs	12

6.1.2.	Flore intermédiaire	13
6.1.3.	Flore de stockage	13
6.2.	Levures	13
6.2.1.	Flore des champs	13
6.2.2.	Flore de stockage	13
6.3.	Bactéries	14
7.	Transformation du blé	14
8.	Les variétés du blé	14
8.1.	Variété du blé dur en Algérie	14
8.2.	Variété mondiale du blé	15
9.	Statistiques de production du blé	15
<b>Chapitre II:</b>	<b>Les Bactéries Lactiques</b>	
1.	Généralités	16
2.	Habitat	17
3.	Taxonomie Des Bactéries Lactiques	17
3.1.	Genre <i>Lactobacillus</i>	18
3.2.	Genre <i>Leuconostoc</i>	19
3.3.	Genre <i>Weissella</i>	19
3.4.	Genre <i>Oenococcus</i>	20
3.5.	Genre <i>Lactococcus</i>	20
3.6.	Genre <i>Enterococcus</i>	20
3.7.	Genre <i>Streptococcus</i>	21
3.8.	Genre <i>Aerococcus</i>	21
3.9.	Genre <i>Carnobacterium</i>	21
3.10.	Genre <i>Vagococcus</i>	21
4.	Physiologie et voies métaboliques centrales des bactéries lactiques	22
4.1.	Transport des sucres	22
4.1.1.	Le système perméase	22
4.1.2.	Le système PTS	23
4.2.	Catabolisme des sucres	24
4.2.1.	Les voies du métabolisme des sucres chez les BL	24
	<i>Voie homofermentaire ou EMP</i>	24
	<i>Voie hétérofermentaire ou voie des pentoses phosphate</i>	25
4.2.2.	Métabolisme du lactose	26
4.2.3.	Métabolisme du citrate	27
4.2.4.	Activité protéolytique	29
4.2.5.	Métabolisme azoté	30
5.	Besoins nutritionnels	31
6.	Applications industrielles des bactéries lactiques	32
6.1.	Domaine alimentaire	32
6.1.2.	Rôle sur la structure, la texture et les caractéristiques organoleptiques	32
6.1.3.	Rôle dans la conservation	32
6.2.	Domaine de santé	33
7.	Les bactéries lactiques comme probiotiques	33
7.1.	Définitions	33
7.2.	Sélection des bactéries lactiques comme probiotiques	34
7.3.	Applications des probiotiques	35
7.3.1.	<i>L'effet des probiotiques sur la santé humaine</i>	36

	<i>L'amélioration de la digestion du lactose</i>	36
	<i>Réduction du taux de cholestérol sanguin</i>	36
	<i>Diminution des allergies alimentaires</i>	36
	<i>Réduction du risque de diarrhée</i>	36
	<i>Traitement des maladies inflammatoires chroniques intestinales (MICI)</i>	37
	<i>Prévention du cancer du côlon et autres cancers</i>	37
	<i>Effets sur le système immunitaire</i>	37
	<i>Effets sur l'infection par Helicobacter pylori</i>	37
<b>Chapitre III:</b>	<b>Matériel et Méthodes</b>	
	Semoulerie Industrielle de la Mitidja	38
	Historique	38
1.	Matériel	40
1.1.	Matériel biologique	40
1.1.1.	Blé	40
1.1.2.	La farine	40
1.2.	Milieus de culture	40
2.	Méthodes	41
2.1.	Préparation de l'échantillon à analyser	42
A-	Fermentation de blé	42
B-	La préparation de la solution mère du blé	42
C-	La solution mère de la Farine à analyser	43
2.2.	Isolement et purification des bactéries lactiques	43
2.3.	Identification des bactéries lactiques isolées	46
2.3.1.	Examen macroscopique et microscopique	46
2.3.2.	Tests biochimiques et physiologiques	46
	<i>Test de la catalase</i>	48
	<i>Test de l'oxydase</i>	48
	<i>Recherche de la nitrate-réductase</i>	48
	<i>Test Mannitol-Mobilité</i>	49
	<i>Type respiratoire</i>	49
	<i>Croissance en milieu hostiles</i>	49
	Résistance au tellurite	50
	Culture sur lait de Sherman	50
	<i>Type fermentaire</i>	50
	<i>Test à l'urée</i>	50
	<i>Recherche de l'arginine dihydrolase (ADH), lysine</i>	50
	<i>décarboxylase (LDC) et ornitine décarboxylase (ODC)</i>	
	<i>Utilisation du citrate</i>	51
	<i>La production d'acétoïne</i>	51
	<i>Culture sur lait tournesol</i>	51
	<i>Test de dégradation de la gélatine</i>	52
	<i>Test d'hémolyse</i>	52
	<i>Recherche de la <math>\beta</math>-galactosidase</i>	52
	<i>Test d'utilisation des sucres sur milieu Triple Sugar Iron (TSI)</i>	52
	<i>Etude de profil fermentaire</i>	53
2.4.	Etude de quelques aptitudes technologiques des bactéries lactiques isolées	53
	<i>Pouvoir acidifiant</i>	53
	<i>Pouvoir protéolytique</i>	54

	<i>L'étude de l'activité lipolytiques</i>	54
	<i>Recherche des lipases</i>	54
	<i>Recherche de lécithinase</i>	54
<b>Chapitre III:</b>	<b>Résultats et interprétation</b>	
1.	Isolement et caractérisation des bactéries lactiques	55
1.1.	Identification des bactéries lactiques isolées	55
1.1.1.	Aspect microscopique	55
1.1.2.	Identification physiologiques et biochimiques	56
	<i>Test de la catalase</i>	56
	<i>Test d'oxydase</i>	56
	<i>Test de manitol mobilité</i>	56
	<i>Test de type respiratoire</i>	57
	<i>Test de l'uréase</i>	57
	<i>Test nitrate réductase</i>	58
	<i>La croissance des souches dans des conditions hostiles</i>	58
	<i>Résistance au tellurite</i>	59
	<i>Culture sur lait de Sherman</i>	60
	<i>Recherche de la réductase</i>	60
	<i>Recherche de l'Arginine Dihydrolase (ADH), Lysine</i>	60
	<i>Décarboxylase (LDC) et Ornithine Décarboxylase (ODC)</i>	
	<i>Production d'acétoine</i>	61
	<i>Test d'hémolyse</i>	61
	<i>Recherche de la <math>\beta</math> galactosidase</i>	62
	<i>Hydrolyse de la gélatine</i>	62
	<i>Recherche de type fermentaire</i>	63
	<i>Test du milieu TSI</i>	63
2.1.3.	Aptitudes technologiques des isolats des bactéries lactiques	71
	<i>Pouvoir acidifiant</i>	71
	<i>Pouvoir protéolytique</i>	75
	<i>Activité lipolytique</i>	75
	Recherche de lipase	75
	Recherche de lécithinase	76
	<b>Discussion</b>	77
	<b>Conclusion et Perspectives</b>	81
	<b>Annexes</b>	
	<b>Références bibliographiques</b>	

---

---

## RESUME

Un lot de 3 échantillons de blé (Dur importé et locale, Tendre importé) et un échantillon de farine provenant de la Semoulerie Industrielle de la Mitidja a fait l'objet d'une analyse microbiologique dans le but de déterminer la diversité en bactéries lactiques. Sur 53 bactéries lactiques isolées, 20 espèces ont été obtenues après identification. Une caractérisation phénotypique basée sur des critères morphologiques et biochimiques a été effectuée. Les résultats obtenus ont montré que les bactéries lactiques isolées de blé et de la farine appartiennent aux genres *Pediococcus*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus* et *Weissella*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Aerococcus*. Le genre *Enterococcus* représente 39.62% des souches isolées, suivie par *Lactococcus* et *Streptococcus* (15.09%), *Lactobacillus* et *Pediococcus* (9.43%), *Leuconostoc* et *Weissella* (3.77%) et enfin le genre *Aerococcus* avec une fréquence de 1.88%.

**Mots clés:** Blé dur, blé tendre, farine, bactéries lactiques, caractérisation phénotypique.

## ABSTRACT

A batch of 3 wheat samples (imported and local durum, imported soft) and a flour sample from Mitidja Industrial Semoulerie were subjected to a microbiological analysis to determine the diversity of lactic acid bacteria. From the 53 isolated lactic acid bacteria, 20 species were obtained after identification. A phenotypic characterisation based on morphological, biochemical, physiological and technological criteria were carried out. Phenotypic characterization based on morphological and biochemical criteria was performed. The results obtained showed that lactic acid bacteria isolated from wheat and flour belong to the genera *Pediococcus*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Weissella*, *Streptococcus*, *Leuconostoc* and *Aerococcus*. The genus *Enterococcus* represents 39.62% of the strains isolated, followed by *Lactococcus* and *Streptococcus* (15.09%), *Lactobacillus* and *Pediococcus* (9.43%), *Leuconostoc* and *Weissella* (3.77%) and finally the genus *Aerococcus* with a frequency of 1.88%.

**Key words:** Durum wheat, soft wheat, flour, lactic acid bacteria, characterization.

## المخلص

دفعة من ثلاث عينات من القمح (الصلب المستورد والمحلي و كذا القمح اللين المستورد) بالإضافة الى عينة من الدقيق من المطحنة الصناعية لمتيجة من اجل التحاليل الميكروبيولوجية لهدف معرفة تنوع البكتيريا اللبنية من 53 بكتيريا لبنية 20 سلالة تم اختيارها بعد تحديدها. بناء على المعايير الشكلية و البيوكيميائية تم تحديد النمط *Pediococcus*, الظاهري. اظهرت النتائج ان بكتيريا حمض اللاكتيك المعزولة من القمح و الطحين تنتمي الى الاجناس: الجنس *Enterococcus*, *Weissella*, *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Aerococcus*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, الجنس *Enterococcus* 39,62% من العدد الاجمالي للسلاطات يليها الجنس *Streptococcus* و *Lactococcus* مع نسبة مئوية 15,09% و *Pediococcus* و *Lactobacillus* بنسبة مئوية 9,43% كذلك *Weissella* و *Leuconostoc* 3,77% و اخيرا الجنس *Aerococcus* مع نسبة مئوية 1,88%.

**الكلمات الرئيسية:** القمح الصلب (المستورد و المحلي), القمح اللين المستورد, الطحين, البكتيريا اللبنية, المعايير الشكلية.

---

## Liste des Abréviations

**%** : Pourcentage.

**µl** : Microlitre.

**ADH** : Arginine Dihydrolase.

**ADN** : Acide désoxyrébonucléique.

**ADP** : Adénosine Di-phosphate.

**AFNOR** : Association Française de Normalisation.

**ARN**: Acide Ribonucléique.

**ATP** : Adénosine Triphosphate.

**B** : *Bifidobacterium*.

**B**: Blé dur Algérien.

**B'**: Blé Dur Canadien.

**B''**: Blé Tendre Français.

**BCP** : Pourpre de bromocrésol.

**BL** : Bactérie Lactique.

**°C** : Degré Celsius.

**Cb** : *Carnobacterium*.

**CCLS** : Coopérative des Céréales et des Légumes Secs.

**CO<sub>2</sub>** : Dioxyde de Carbone.

**CoA** : Coenzyme A.

**E** : *Enterococcus*.

**EMP**: Embden Meyerhoff Parnas.

**EPS** :Exopolysaccharides

**F** : Farine.

**FAO** : Food and Agriculture Organization.

---

**GAP** : Glycéraldéhyde-3-phosphate.

**GLK** : Glucokinase.

**Gr** : Gramme.

**GRAS** : Generally Regarded As Safe.

**H** : Heure.

**ISO**: Organisation internationale de normalisation.

**Kg** : Kilogramme.

**L** : Litre.

**Lb ou L** : *Lactobacillus*.

**Lc** : *Lactococcus*

**LDC** : Lysine Décarboxylase.

**Leuc** : *Leuconostoc*.

**LPS** : Lipopolysaccharide.

**ml** : millilitre.

**mm**: Millimètre.

**MRS**: Man Rogosa Sharpe.

**ODC** : Ornithine décarboxylase.

**OMS** : Organisation mondiale de la santé.

**ONPG** : Ortho-Nitro-Phényl- $\beta$ -D-Galactopyranoside.

**P** : *Pediococcus*.

**PEP** : Phosphoénolpyruvate.

**pH** : potentiel d'hydrogène.

**Pi** : Phosphate inorganique.

**PK** : Pyruvate Kinase.

**PTS** : Système phosphotransférase phosphoénolpyruvate dépendant.

**PTS<sub>lact</sub>** : Phosphotransférase lactose.

**PTS<sub>man</sub>** : Phosphotransférase mannose.

---

*S* : *Streptococcus*.

**TPI** : Triose-phosphate isomérase.

**TSE** : Tryptone Sel Eau.

**TSI** : Triple Sugar Iron.

**TSI** : Triple Sugar Iron.

**Vf** : Viande de foie.

**Vp** : Voges proskauer.

**VRGs** : Les gènes de la virulence.

*W* : *Weissella*.

---

## LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau. I</b>	Composition en acides aminés essentiels du grain de blé dur	<b>6</b>
<b>Tableau. II</b>	Distribution des glucides dans les fractions de blé (g/100 grs)	<b>6</b>
<b>Tableau. III</b>	Distribution de la vitamine du groupe B (g/100 grs) dans les différentes parties de Grain de blé	<b>8</b>
<b>Tableau. IV</b>	Eléments minéraux du grain de blé	<b>8</b>
<b>Tableau. V</b>	Composition chimique d'un grain de blé	<b>10</b>
<b>Tableau. VI</b>	Les milieux de cultures utilisés et leurs buts	<b>41</b>
<b>Tableau. VII</b>	Tableau représentatif les tests biochimiques et leurs objectifs	<b>46</b>
<b>Tableau. VIII</b>	Profil fermentaire des sucres	<b>64</b>
<b>Tableau. IX</b>	Profil physiologique et biochimique des souches isolées	<b>65</b>
<b>Tbaleau. X</b>	tableau représentatif de différents pourcentage des genres isolées à partir des échantillons analysés	<b>70</b>

---

## LISTE DES FIGURES

<b>Figure 01 :</b>	Coupe longitudinale d'un grain de blé	<b>4</b>
<b>Figure 02 :</b>	Les silos en béton armé	<b>12</b>
<b>Figure 03 :</b>	Les silos en métal	<b>12</b>
<b>Figure 04 :</b>	Les cases en métal	<b>12</b>
<b>Figure 05 :</b>	Stockage en sacs	<b>12</b>
<b>Figure 06 :</b>	Stockage en plein air	<b>12</b>
<b>Figure 07 :</b>	Dendrogramme illustrant les relations phylogénétiques de l'ordre « Lactobacillales » en se basant sur la comparaison des séquences d'arnr 16S	<b>18</b>
<b>Figure 08 :</b>	Système perméase	<b>23</b>
<b>Figure 09 :</b>	Système PTS	<b>24</b>
<b>Figure 10 :</b>	Représentation schématique des principales voies de fermentation des Hexoses chez les bactéries lactiques	<b>26</b>
<b>Figure 11 :</b>	Voie du tagatose ( à gauche) et voie de Lenoir (à droite)	<b>27</b>
<b>Figure 12 :</b>	Transport et métabolisme du lactose et du galactose chez Les bactéries lactiques	<b>27</b>
<b>Figure 13 :</b>	Principales étapes du métabolisme du citrate chez les bactéries lactique	<b>29</b>
<b>Figure 14 :</b>	Système de protéolyse chez les bactéries	<b>30</b>
<b>Figure 15 :</b>	Schéma du système protéolytique de <i>Lactococcus lactis</i>	<b>31</b>
<b>Figure 16 :</b>	Etapes de l'évaluation des probiotiques en vue d'une utilisation alimentaire	<b>35</b>
<b>Figure 17 :</b>	L'étape d'agrégation	<b>42</b>
<b>Figure 18 :</b>	Les trois types du blé après fermentation	<b>43</b>
<b>Figure 19 :</b>	Isolement des bactéries lactiques à partir de la farine(SIM) sur gélose MRS et repiquage sur bouillon MRS	<b>44</b>
<b>Figure 20 :</b>	Isolement des bactéries lactiques à partir du blé (avec et sans vinaigre) (SIM) sur gélose MRS et repiquage sur bouillon MRS	<b>45</b>
<b>Figure 21 :</b>	Aspect des colonies ensemencées en surface sur milieu MRS après 48h d'incubation à 37°C	<b>55</b>

<b>Figure 22 :</b>	Observation des coques lactiques à gauche, des bacilles lactiques à droite sous microscope optique après coloration de Gram (10X100)	<b>56</b>
<b>Figure 23 :</b>	Test de manitol	<b>57</b>
<b>Figure 24 :</b>	Le type respiratoire des souches isolées	<b>57</b>
<b>Figure 25 :</b>	Uréase négatif	<b>58</b>
<b>Figure 26 :</b>	Test nitrate-réductase	<b>58</b>
<b>Figure 27 :</b>	La résistance des bactéries isolées au tellurite	<b>59</b>
<b>Figure 28 :</b>	Résultats positive et négative de culture sur lait de Sherman	<b>60</b>
<b>Figure 29 :</b>	Les différents résultats de la réductase	<b>60</b>
<b>Figure 30 :</b>	Test négatif et positif de l'arginine Dihydrolase	<b>61</b>
<b>Figure 31 :</b>	La croissance de bactéries sur milieu Clark et Lubs et sa Production de l'acétoïne	<b>61</b>
<b>Figure 32 :</b>	Test d'hémolyse	<b>62</b>
<b>Figure 33 :</b>	Les résultats positives et négatives d'onpg	<b>62</b>
<b>Figure 34 :</b>	L'absence de l'hydrolyse de gélatine	<b>63</b>
<b>Figure 35 :</b>	Le type fermentaire des bactéries isolées	<b>63</b>
<b>Figure 36 :</b>	Les différents résultats de test TSI	<b>63</b>
<b>Figure 37 :</b>	Les différents résultats de la fermentation des sucres	<b>65</b>
<b>Figure 38 :</b>	Répartition des bactéries lactique (%) de blé et de farine	<b>68</b>
<b>Figure 39 :</b>	Répartition des bactéries lactique (%) de Blé Dur Algérien	<b>69</b>
<b>Figure 40 :</b>	Répartition des bactéries lactique (%) de Farine	<b>69</b>
<b>Figure 41 :</b>	Répartition des bactéries lactique(%) de Blé Dur Canadien	<b>69</b>
<b>Figure 42 :</b>	Répartition des bactéries lactique(%) de Blé Tendre Français	<b>69</b>
<b>Figure 43 :</b>	Détermination de l'activité acidifiante en fonction du temps des souches de ( <b>F</b> <sub>2</sub> , <b>F</b> <sub>3</sub> , <b>B'</b> <sub>2</sub> : <i>Enterococcus saccharolyticus</i> et <b>B</b> <sub>2</sub> , <b>B</b> <sub>10</sub> , <b>B''</b> <sub>5</sub> : <i>Enterococcus acidominimus</i> )	<b>72</b>
<b>Figure 44 :</b>	Détermination de l'activité acidifiante en fonction du temps des souches ( <b>F</b> <sub>7</sub> : <i>Lactococcus lactis ssp cremoris</i> , <b>B''</b> <sub>10</sub> : <i>Lactococcus lactis ssp Lactis</i> , <b>B</b> <sub>7</sub> : <i>Lactococcus plantarum</i> , <b>B'</b> <sub>5</sub> : <i>Lactococcus Lactis ssp hordnaie</i> , <b>B</b> <sub>1</sub> : <i>Lactococcus diacetilactis</i> )	<b>72</b>

---

<b>Figure 45 :</b>	Détermination de l'activité acidifiante en fonction du temps des souches ( <b>B'8</b> : <i>Leuconostoc mesenteroides subsp dextranicum</i> , <b>B'9</b> : <i>Leuconostoc mesenteroides subsp mesenteroides</i> )	<b>73</b>
<b>Figure 46 :</b>	Détermination de l'activité acidifiante en fonction du temps des souches ( <b>B'4</b> : <i>Lactobacillus casei</i> , <b>B'7</b> : <i>Lactobacillus fermentum</i> , <b>F5</b> : <i>Lactobacillus plantarum</i> , <b>B''1</b> : <i>Lactobacillus brevis</i> , <b>B''7</b> : <i>Lactobacillus rhamnosus</i> )	<b>73</b>
<b>Figure 47 :</b>	Détermination de l'activité acidifiante en fonction du temps des souches ( <b>B6</b> : <i>Pedeococcus dextrinicus</i> , <b>B'1</b> : <i>Pedeococcus acidilactici</i> , <b>B'11</b> : <i>Pedeococcus parvilus</i> )	<b>74</b>
<b>Figure 48 :</b>	Détermination de l'activité acidifiante en fonction du temps des souches ( <b>F1</b> : <i>Streptococcus thermophilus</i> , <b>B'14</b> : <i>Aerococcus ssp</i> , <b>F11</b> : <i>Weissella confusa</i> )	<b>74</b>
<b>Figure 49 :</b>	Activité protéolytiques sur milieu gélose au lait	<b>75</b>
<b>Figure 50 :</b>	L'activité lipasique des bactéries isolées	<b>75</b>
<b>Figure 51 :</b>	Résultats de test lécithines	<b>76</b>

### Introduction

Les céréales constituent de loin la ressource alimentaire la plus importante au monde à la fois pour l'alimentation humaine et animale (**Choueiri, 2003**). *Triticum spp* par son important pouvoir nutritionnel, demeure la principale ressource alimentaire de l'Homme. C'est une céréale qui compte parmi les denrées alimentaires jouant un rôle vital et stratégique pour la sécurité alimentaire du monde (**Molinité, 2003**). Au Grand Maghreb, les céréales et leurs dérivés constituent l'épine dorsale du système alimentaire. La consommation moyenne annuelle par habitant est très importante et se chiffre autour de 320 kg (**Bartali, 2001**).

Cependant, les céréales, dont le blé, sont naturellement contaminées par des organismes eucaryotes (moisissures et levures) et procaryotes (bactéries). Cette flore microbienne forme un équilibre très fragile et peut altérer la qualité lors des différentes phases de préparation de la farine et les produits à base de farine, comme les aliments fermentés et les levains. Par ailleurs, l'équilibre de la population microbienne totale présente dans les grains de blé peut être affecté par de nombreux facteurs. Parmi les facteurs de ce déséquilibre, on cite les conditions climatiques, essentiellement la température et l'humidité et les conditions biotiques liées aux attaques par des insectes et des moisissures et l'application des pesticides. Parmi les microorganismes associés aux céréales, les bactéries lactiques jouent un rôle très important dans la préservation de l'équilibre de la flore microbienne et la stabilisation des produits finaux de la fermentation (**Caplice, 1999**).

Cependant, peu de travaux sont réalisés en Algérie et font l'objet d'une investigation sur la biodiversité de la flore lactique des céréales. A l'échelle internationale plusieurs travaux sont publiés dans ce domaine, sur le blé italien (**Corsetti A et al. 2001, Corsetti A et al. 2007 ; Robert H et al. 2009**), sur le blé français (**Bervas , Infantes ; 1991**) et sur la farine marocaine (**Ennadir et al , 2014**).

En effet, outre les fermentations dont elles sont responsables, les bactéries lactiques empêchent la multiplication d'autres espèces bactériennes pathogènes ou susceptibles de dégrader les produits alimentaires. Par exemple, bien que constitué de viande, le saucisson ne s'altère pas grâce à la présence de bactéries lactiques. Ces dernières s'opposent au développement de *Pseudomonas* par le biais de la production d'acide lactique, d'une petite quantité d'eau oxygénée et ce, en exerçant une action protéolytique et lipolytique. De plus, les bactéries lactiques contribuent à la texture, à la saveur des aliments et à la production de

composés aromatiques. Pour toutes ces propriétés, elles sont exploitées dans la technologie des fromages (**Gorenflot et al. 1989**).

A l'heure actuelle, les bactéries lactiques sont recherchées pour leurs qualités nutritionnelle et thérapeutique dans des préparations appelées probiotiques (**Patrignani et al. 2006 ; Steijns et al. 2008; Cleveland et al. 2001 ; PaulRoss et al. 2002 ; Touré et al. 2003**). Les bactéries lactiques demeurent encore utilisées sous forme de levains artisanaux, mais le développement de l'industrie de transformation a conduit à la production de ferments industriels capables d'assurer à la fois la qualité et la consistance du produit (**Pfeiler et al. 2007**). Ces ferments sont des cultures pures ou un mélange appartenant aux genres : *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* et *Bifidobacterium*, vue l'importance attribuée aux bactéries lactiques dans les domaines de l'industrie pharmaceutique et agroalimentaire (**Holzappel, 2002**).

Leur valorisation pourrait avoir de fortes retombées socio-économiques, scientifiques et environnementales.

## 1. Définition du blé :

Les céréales sont un groupe des plantes annuelles cultivées, appartenant à la famille des Poaceae (**Guignard et Dupont, 2004**). Cette famille, parmi toutes celles du règne végétal, occupe une place à part, non seulement par le nombre de ses espèces, mais encore son ubiquité, sa répartition et son intérêt humain, historique comme économique (**Mosiniak et al. 2001 ; Alais et al. 2003 ; Guignard et Dupont, 2004**).

La plante de blé comme toutes les céréales est un système vivant qui peut être divisé en deux parties : une partie souterraine assurant la communication sol/plante, c'est le système racinaire et une partie aérienne permettant les échanges plante-atmosphère, et notamment le processus de photosynthèse et de transpiration (**Hadria, 2006**).

Le grain de blé se présente sous la forme d'un corps ovoïde dont les deux extrémités sont inégales, et qui offre sur l'une de ses faces un sillon. Sur la face dorsale de l'une des extrémités se trouve une légère dépression. Les membranes qui recouvrent le grain en ce point sont plus fines, plus blanches et plissées. Cette dépression, qui est plus ou moins étendue suivant les variétés de blé, correspond à l'embryon. A l'autre extrémité du grain se trouvent des poils plus ou moins nombreux et plus ou moins longs. Ces poils constituent la brosse (**Kermiche, 2013**).

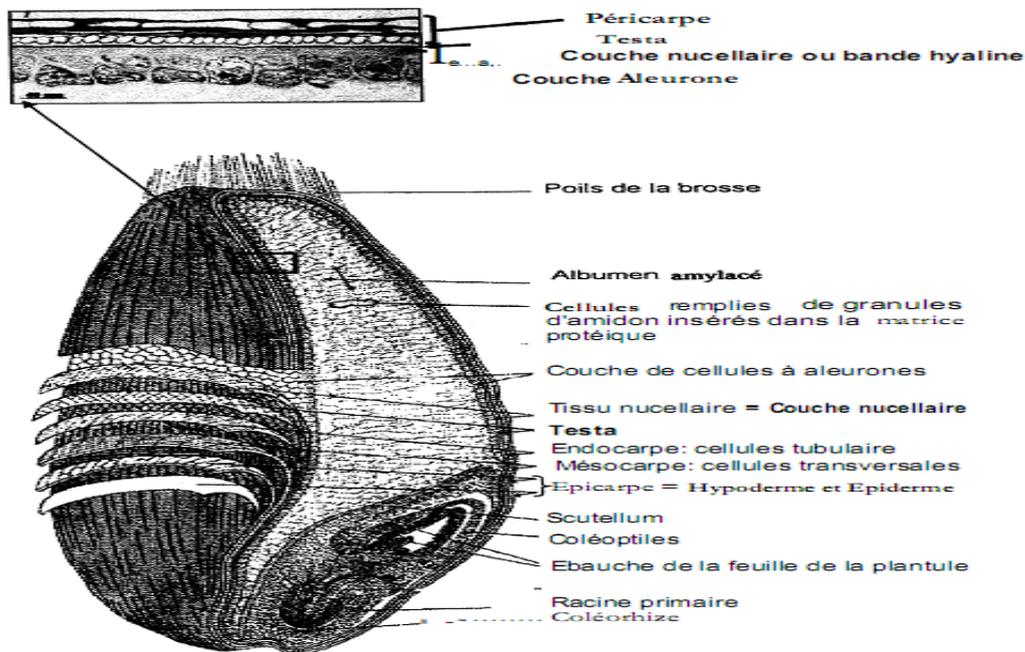
## 2. Historique :

La culture des céréales a permis l'essor des grandes civilisations, car elle a constitué l'une des premières activités agricoles. En effet, Il ya plus de trois millions d'années, l'homme préhistorique était nomade, pratiquait la chasse et la cueillette des fruits pour assurer sa nourriture. Le nomadisme a progressivement laissé la place à la sédentarité qui permit la culture des céréales. Le blé est l'une de ces céréales connue depuis l'antiquité (**Harlan, 1975 ; Ruel, 2006**). Sa culture remontée au mésolithique vers 7000 avant Jésus-Christ (**Anonyme1, 1981 ; Ruel, 2006**). Le blé dur provient des territoires de la Turquie, de la Syrie, de l'Iraq et de l'Iran (**Yves et de Buyer, 2000 ; Nedjah, 2015**).

Le terme blé vient probablement du gaulois blato (à l'origine du vieux français *blaie*, *blee*, *blaier*, *blaver*, d'où le verbe emblaver, qui signifie ensemercer en blé) et désigne les grains qui broyés, fournissant de la farine, pour des bouillies (*polenta*), des crêpes ou du pain. On trouve sous le nom de blé des espèces variées: le genre *Triticum* (du latin *Tritus*, *us*= broiement, frottement): le blé moderne (*froment*), l'orge (*Hordeum*) et le seigle (*Secale cereale*), le blé noir (*sarrasin*) (**Yves et de Buyer, 2000 ; Nedjah, 2015**).

### 3. Structure du grain de blé :

Le grain de blé (**Figure 01**) est formé de trois parties distinctes : les enveloppes, l'albumen, et le germe (**Smith et Hui, 2004**).



**Fig.01** : Coupe longitudinale d'un grain de blé (**Pomeranz, 1987**).

#### 3.1 Enveloppes de la graine :

Les enveloppes représentent 13 à 17 % du poids du grain de blé, contiennent des quantités relativement élevées de cellulose, de protéines et de minéraux. Elles sont d'épaisseur variable et sont formées de tissus différents: Le péricarpe, le tégument séminal (testa) et les cellules nucléaires ou épiderme du nucelle (**Amendola et Rees, 2003**).

##### 3.1.1 Le péricarpe ou tégument du fruit :

Les tissus du péricarpe forment une mince couche de protection sur le grain de blé entier, l'examen microscopique du péricarpe montre qu'il est composé de plusieurs couches, nommées suivant leur position de l'extérieur vers l'intérieur du grain comme suit : l'épiderme, l'hypoderme, les restes de cellules à parois minces, les cellules intermédiaires, les cellules transversales et les cellules tubulaires (**Matz, 1991**).

##### 3.1.2 Le Testa :

Appelé aussi tégument séminal est composé d'une ou double couche de cellules. La couche interne du tégument de blé est souvent très pigmentée qui donne au grain sa couleur caractéristique (**Salman et al. 2007**).

### 3.1.3 Les cellules nucellaires ou épiderme du nucelle :

Encore appelés bande hyaline ou épiderme du nucelle, cette couche est composée d'une assise cellulaire dont l'écrasement progressif lié au remplissage de l'albumen amylicé, ne laisse place qu'aux parois cellulaires à maturité (**Fulcher et Wong, 1980**).

### 3.2. Albumen :

Il représente 80 % du grain de blé (**Roudaut et Lefrancq, 2005**). L'albumen constitue la réserve de stockage de la plante nécessaire pour la germination jusqu'à ce qu'elle émerge du sol et en mesure de commencer la photosynthèse (**Salman et al. 2007**).

Il se compose d'un mélange intime de protéines et d'amidon. Les protéines sont présentes sous forme de particules discrètes et comme un matériel interstitiel. Différentes protéines sont présentes dans l'albumen mais les quatre principaux groupes des protéines sont les gliadines, les gluténines, les albumines et les globulines (**Cauvain, 2003**).

L'albumen est constitué de deux tissus bien distincts: la couche à aleurone et l'albumen amylicé plus interne. La couche à aleurone, riche en protéines et en lipides, renferme en outre d'importantes quantités de micronutriments (minéraux). L'albumen amylicé est constitué d'amidon enchâssé au sein d'une matrice protéique plus ou moins dense (**Surget et Barron, 2005**).

### 3.3 Germe :

Le germe est partiellement incorporé dans l'albumen. Il est situé à la base du grain (**Kermiche, 2013**). Cette partie est composée d'un embryon (lui-même formé de la coléoptile de la gemmule, de la radicule, du coléorhize et de la coiffe) et du scutellum. Le germe est très riche en matières grasses, en matières azotées et en vitamines E et B (**Kermiche, 2013**).

Il comprend 2 parties, la plantule (future plante) et le cotylédon (réserve de nourriture très facilement assimilable, destinée à la plantule) qui contient l'essentiel des matières grasses du grain. Il représente 2% du poids du grain de blé (**Alves et Xavier, 2002**).

## 4. Composition biochimique du grain de blé :

Le grain de blé est principalement constitué d'amidon (environ 70 %), de protéines (10 à 15 %) et de pentosanes (8 à 10 %) ; les autres constituants, sont les lipides, la cellulose, les sucres libres, les minéraux et les vitamines (**Feillet, 2000**).

### 4.1 Protéines :

Les gliadines et les gluténines représentent 80 à 95 % des protéines du blé et forment ensemble le gluten ; le reste est constitué par des protéines solubles telles l'albumine et des globulines (**Roudaut et Lefrancq, 2005**).

**Composition en acides aminés essentiels** : Selon **Brink et Belay (2006)**, le grain de blé dur est déficitaire en certains acides aminés comme le tryptophane et la méthionine et dans certaine mesure en Lysine et en Thréonine (**Tableau I**).

**Tableau. I** : Composition en acides aminés essentiels du grain de blé dur  
(**Brink et Belay, 2006**).

Acides aminés	Composition en mg/100g
Tryptophane	176
Lysine	303
Méthionine	221
Phénylalanine	681
Théonine	366
Valine	594
Leucine	934
Isoleucine	533

#### 4.2 Glucides :

Selon **Manay et Shadaksharaswamy (2001)** ; **Dunford (2012)**, les glucides présentent 60 à 80 % de la matière sèche du grain de blé. L'amidon est le glucide principal trouvé dans l'albumen, les sucres (oses, dioses et trioses) sont présents dans le germe, les glucides des enveloppes sont principalement la cellulose et l'hémicellulose (**Tableau. II**).

**Tableau. II.** Distribution des glucides dans les fractions de blé (g/100 grs) (**Manay et Shadaksharaswamy, 2001**)

Glucides	Albumen	Germe	Enveloppes
<b>Amidon</b>	95.8	31.5	14.1
<b>Sucres</b>	1.5	36.4	7.6
<b>Cellulose</b>	0.3	16.8	35.2
<b>hémicellulose</b>	2.4	15.3	43.1

**4.2.1 Amidon** : C'est un polymère de D-glucose, constituant une source excellente d'énergie, il est surtout localisé dans l'albumen (**Bushuk et Rasper, 1994** ; **Roudaut et Lefrancq, 2005**). Ce polysaccharide est composé de granules subdivisés en deux populations distinctes : des gros granules et des petits granules. Les granules d'amidon de blé sont en effet des entités

semi-cristallines formées principalement de deux types de molécules, l'amylose (26 à 28 %) et l'amylopectine (72 à 74 %).

Les teneurs respectives en amylose et en amylopectine influencent les propriétés d'un amidon tel que sa susceptibilité à l'hydrolyse enzymatique (**Massaux *et al.* 2006**). Les granules d'amidon de blé contiennent des lipides (**BeMiller et Whistler, 2009**).

**4.2.2 L'amylose** : est un homopolymère linéaire de 500 à 6000 unités de D-glucosyl (sous la forme de D-glucopyranose) liées par des liaisons  $\alpha$ -(1, 4) et quelques très rares liaisons  $\alpha$ -(1,6). Sa masse moléculaire est comprise entre 100 et 1000 kDa (**Feillet, 2000**).

**4.2.3 L'amylopectine** : est le polysaccharide constituant l'amidon. Il diffère de l'amylose par la présence de branchements situés sur le carbone 6 de certains résidus de glucose de la chaîne de poly  $\alpha$  (1, 4)-glucoside qui sert de motif fondamental. C'est donc un pont oxygéné  $\alpha$ -(1, 6) qui permet la fixation des chaînes latérales (**Kermiche M, 2013**).

**4.2.4 Glucides non assimilables (fibres)** : Les grains de céréales contiennent une série de structures des parois cellulaires qui sont une source de polysaccharides non amylacés, et sont les principaux composants des fibres alimentaires (**Garrow *et al.* 2000**).

**4.2.5 Les pentosanes** : sont des polysaccharides non amylacés constitutifs des parois végétales (**Feillet, 2000**). Ils représentent un des composants mineurs de l'albumen de blé (**Kermiche, 2013**). Les hémicelluloses sont des hétéropolysaccharides qui sont situés dans de nombreuses parois des cellules végétales (**Kermiche, 2013**).

**4.2.6 La Cellulose** : est un homopolysaccharide linéaire. Les unités de D-glucose sont unies par des Liaisons O-glycosidiques ( $\beta$ 1  $\rightarrow$  4) (**Moussard, 2006**).

**4.2.7 La lignine** : est un polymère tridimensionnel composé d'unités de phénol avec de fortes liaisons intramoléculaires (**Gropper *et al.* 2009**). Les lignines dans les parois des cellules végétales sont physiquement et chimiquement associées aux polysaccharides et aux protéines (**Tingshuang *et al.* 2002**).

### 4.3 Lipides :

Les lipides du blé sont un mélange complexe de composants. Ils sont inégalement répartis dans les différentes parties du grain de blé. Le tiers de la fraction lipidique total est situé dans le germe. Plus de 20 classes de lipides existent dans le grain de blé et peuvent être divisées en deux groupes, les lipides polaires et non polaires (**Feillet, 2000**).

### 4.4 Vitamines et Minéraux :

Selon **Vierling (2008)**, la seule vitamine liposoluble présente dans le grain de blé est la vitamine E, la vitamine C est quasi absente. Le blé est une source intéressante en vitamines du groupe B qui sont inégalement réparties dans les différentes parties du grain (**Tableau III**).

Les minéraux formant une petite partie du grain de blé, et en proportion encore plus faible dans l'albumen moins de 1% (Matz, 1991).

Le blé contient du fer, du magnésium, du manganèse, du cuivre et du zinc etc. (Tableau IV). Ces constituants sont distribués principalement dans les couches extérieures et dans le germe (Manay et Shadaksharaswamy, 2001).

**Tableau III :** Distribution de la vitamine du groupe B (g/100 grs) dans les différentes parties de Grain de blé (Manay et Shadaksharaswamy, 2001)

	<b>Thiamine B1)</b>	<b>Niacine (B3)</b>	<b>Riboflavine (B2)</b>	<b>Acide Pantothénique (B5)</b>
<b>Péricarpe ,Testa, bande hyaline</b>	1	4	5	8
<b>Couche à aleurone</b>	31	84	37	39
<b>Albumen</b>	3	11.5	32	41
<b>Scutellum</b>	62.5	1	14	4
<b>Embryon</b>	2	1	12	3.5

**Tableau IV :** Eléments minéraux du grain de blé (Kermiche, 2013)

	<b>Grain entier</b>	<b>Germe</b>	<b>Albumen</b>	<b>Couche à aleurone</b>
<b>Total(%)</b>	0.42	1.66	0.11	1.39
<b>Zn (ppm)</b>	40.4	222	14.1	119
<b>Fe (ppm)</b>	54.6	235	21.5	186
<b>Mn (ppm)</b>	56.4	402	8.80	130
<b>Cu (ppm)</b>	4.25	18	2.8	12
<b>Ca (ppm)</b>	335	1760	173	730
<b>Mg (ppm)</b>	0.15	0.54	0.02	0.58
<b>K (ppm)</b>	0.37	0.91	0.12	1.10

#### 4.5 Enzymes du blé :

Les enzymes des grains de blé sont des protéines qui exercent une activité catalytique spécifique d'un très grand nombre de réactions chimiques. Les principaux facteurs du milieu

qui contrôlent leur fonctionnement sont la température, le pH et l'activité de l'eau (Feillet, 2000).

**4.5.1 Enzymes Amylolytiques :** Les enzymes amylolytiques sont capables d'hydrolyser l'amidon (amylose et amylopectine) et ses produits de dégradation (dextrines, oligosaccharides)(Feillet, 2000).

#### **4.5.2 Enzymes lipolytiques :**

**Lipases :** Ce sont des enzymes qui hydrolysent des longues chaînes de triglycérides avec la formation des diglycérides, des monoglycérides, des glycérols et des acides gras libres. Les lipases sont présentes en quantités significatives dans le germe de blé (Cauvain, 2003). Durant le stockage du blé, l'augmentation de la teneur en acides gras libres est due à l'action des lipases présentes dans le grain (Salleh *et al.* 2006 ; Carver, 2009).

**Lipoxygénases :** Les Lipoxygénases du blé sont des enzymes qui oxydent spécifiquement des acides gras libres ou des monoglycérides possédant des doubles liaisons non conjuguées, s'effectuent en présence d'oxygène (Feillet, 2000). Ces enzymes sont présentes dans les enveloppes et dans le germe (Edwards, 2007).

#### **4.5.3 Enzymes protéolytiques :**

Le grain de blé contient certaines enzymes protéolytiques. Les aminopeptidases, les carboxypeptidases, les endopeptidases et d'autres peptidases dont l'augmentation de l'activité s'observe durant la germination du grain (Cichoke, 1999 ; Roberts *et al.* 2000).

#### **4.5.4 Phosphatases :**

Les phosphatases sont des estérases appartenant à la famille des hydrolases qui hydrolysent les esters de phosphate, dans le blé (Cauvain, 2003).

#### **4.5.5 Polyphénoloxydases :**

Les polyphénoloxydases catalysent l'oxydation des phénols en quinones. Elles sont concentrées dans les parties périphériques du grain et présentes en très faible quantité, (Feillet, 2000).

#### **4.6 L'eau :**

Les grains sont naturellement peu hydratés, leur teneur en eau varie avec le taux d'humidité de l'air. L'équilibre se situe entre 13 et 15%. Du point de vue chimique et physique, son action solvant favorise les réactions enzymatiques et les attaques microbiennes lorsque sa teneur dans le grain dépasse le seuil d'équilibre (Feillet, 2000).

**Tableau. V** : Composition chimique d'un grain de blé (Feillet, 2000)

	<b>Eau(%)</b>	<b>Glucides totaux(%)</b>	<b>Matière protéique(%)</b>	<b>Matière grasse(%)</b>	<b>Matière minérale(%)</b>
<b>Blé entier</b>	13	68-72	10	1,5-2	1,7-2,1
<b>Enveloppe</b>	13	65-68	17-19	4-5	6-7
<b>Amande farineuse</b>	13	74-76	9-12	0,7-1	0,4-0,5
<b>Germe</b>	13	37-43	22-32	15-18	4-5

### 5. Stockage du blé :

A travers l'histoire, le stockage des grains des blés a fourni à des humains un amortisseur contre l'échec et la famine de récolté (Druvefors, 2004).

#### 5-1 Système de stockage traditionnelle « MATMOURAS » :

L'homme fait des efforts pour améliorer les conditions de stockage depuis MATMORAS jusqu'aux silos modernes (Mokhtari, 2007). Les entrepôts souterrains destinés au stockage des grains est une pratique traditionnelle, très ancienne et largement utilisée dans certaines régions du Maroc sous le nom vernaculaire de MATMOUR.

Ce mode de stockage est aussi utilisé dans plusieurs pays de l'Afrique, au Proche Orient, en Asie et en Algérie, le paysan algérien, sur les Hautes plateaux, conservait le produit de ses champs de blé (Kermiche M, 2013). Enceintes creusées dans un sol argileux sous forme sphérique tronconique », généralement à un endroit surélevé ou proche de la ferme.

La capacité de ces lieux de stockage est variable (Mokhtari, 2007). Pour la construction et la protection du grain stocké contre les fluctuations de température extérieure (Mokhtari, 2007).

Cependant ce type de stockage est parfois responsable de la fermentation des grains subit avec le temps une fermentation spécifique en raison de la composition biochimique du grain d'une part et d'autre part des conditions climatiques et la nature de matériaux utilisés pour la confection du MATMOUR. La fermentation peut durer 4-9 ans. L'humidité constitue un facteur important pour le développement de certaines bactéries responsables de la fermentation des grains. La température, lorsqu'elle est assez élevée, peut favoriser la prolifération des microorganismes présents dans la masse des céréales. L'augmentation de la température peut

être d'origine biologique ou climatique. L'échange de la chaleur entre le stock et le milieu extérieur se fait à travers les parois et les ouvertures (**Kermiche, 2013**).

Le MATMOUR est fermée, ceci crée une atmosphère confinée autour des grains favorisant le développement des microorganismes anaérobies (**Kermiche, 2013**).

Ces lieux de stockage est variable (**Mokhtari, 2007**). L'inconvénient majeur de cette méthode de stockage, est la trop forte humidité et les eaux d'infiltration qui favorisent le développement des microorganismes et les phénomènes de fermentation bactérienne (**Doumandji et al. 2003**).

## **5.2 Stockage moderne :**

Les modalités techniques ont varié avec les époques et lieux. Les enjeux sont toujours restés les mêmes et l'évolution technique a surtout permis une augmentation des capacités de stockage et une accélération des échanges. De nos jours les silos modernes permettent de stocker plusieurs types de céréales en même temps (**Doumandji et al. 2003**).

### **5.2.1 Les silos en béton armé :**

Ils sont généralement de très grandes capacités, caractérisés par de fortes hauteurs de l'ordre de 50 à 70 m et peuvent mêmes atteindre des hauteurs de 100 m sans difficultés de réalisation (**Reimbert, 1982**). Ils se prêtent bien à l'utilisation comme silos portuaires du fait de leur bonne résistance à la corrosion (**Figure 02**).

### **5.2.2 Les silos métalliques :**

Selon la forme géométrique des cellules et la nature des parois métalliques, on distingue plusieurs types de silos métallique (**Ait Bella et Arabie, 1993**) (**Figure 03**)

### **5.2.3 Les cases en métal :**

Les casiers sont en forme des cellules ou des alvéoles. C'est une structure aérée et permet une certaine ventilation naturelle du produit qu'on y entrepose (**Boulal et al. 2007**) (**Figure 04**)

### **5.2.4 Stockage en sacs :**

C'est la plus économique, se fait dans des sacs empilés sur des palettes (**Appert, 1985**) (**Figure 05**).

### **5.2.5 Stockage en plein air :**

Le blé recouvrir pour la protégé des intempéries (**Figure 06**) (**Boulal et al. 2007**) .



**Fig. 02 :** Les silos en béton armé (Kermiche,2013).



**Fig.03 :** Les silos en métal (Kermiche, 2013). **Fig.04 :** les cases en métal(Kermiche, 2013).



**Fig. 05 :** Stockage en sacs (Kermiche, 2013). **Fig. 06 :** Stockage en plein air (Kermiche, 2013).

## 6. Microorganismes du Blé :

Depuis le moment de leur initiation au sein de l'épi jusqu'au passage au moulin ou à l'usine, les grains de blé sont soumis à des proliférations de bactéries, de levures, de moisissures ou de parasites. Pendant la conservation, la microflore du grain à l'origine et celle des produits de mouture subissent des modifications au cours du temps. (Kermiche, 2013).

### 6.1 Moisissures :

#### 6.1.1 Flore des champs :

Les grains de blé sont contaminés par les microorganismes dans le champ, et cette microflore est dominée par des moisissures (Deàk, 2008). Les spores des champignons de champ envahissent les grains et croissent dans le champ ou attendent le battage (Dendy et Dobraszczyk, 2000).

Les genres rencontrés sont: *Alternaria*, *Fusarium*, *Cladosporium*, *Epicoccum* et *Helminthosporium*, *Chaetomium*, *Curvularia*, *Rhizopus* et *Stemphylium* (**Kermiche, 2013**). Cette flore est bien adaptée à des changements rapides des conditions dans le champ. Elle exige des activités en eau relativement élevées pour une croissance optimale (**Adams et Moss, 2008**).

En fonction des conditions précises, ces champignons peuvent mourir lentement au cours du stockage ou peuvent survivre pendant de longues périodes. La survie est plus longue à basse température et à faibles niveaux d'humidité (**Roberts, 2005**).

### 6.1.2 Flore intermédiaire :

Elle est une catégorie à comportement plus diversifié et regroupe des germes capables d'un développement limité, en début de stockage, en condition particulière et notamment sur grains insuffisamment secs. Les genres les plus rencontrés sont : *Cladosporium*, *Rhizopus*, *Absidia* et *Mucor* (**Kermiche, 2013**).

### 6.1.3 Flore de stockage :

Les moisissures des grains de blé stockés sont présentes sous forme de mycélium dormant sous le péricarpe ou spores en dormance sur la surface du grain. Cependant, un certain nombre de moisissures sont superficiellement associées aux grains stockés. Les principaux genres rencontrés sont : *Aspergillus* et *Penicillium* en raison de leurs capacités de se développer sur tous substrats possibles et dans une large gamme de température et d'humidité (**Mathew et al. 2011**).

## 6.2 .Levures :

### 6.2.1 Flore des champs :

Les populations de levures (champignons microscopiques le plus souvent unicellulaires et non pigmentés) dépendent fortement des conditions climatiques au moment de la récolte. Les genres rencontrés sont : *Saccharomyces*, *Candida*, *Hansenula*, *Pichia* ne donnent généralement lieu qu'à de faibles niveaux de contamination, ne dépassant que rarement quelques centaines de germes par gramme de grain. Au contraire, des quantités élevées des levures sont souvent le signe d'une humidité élevée à la récolte et /ou d'un pré-stockage humide avant séchage (**Kermiche, 2013**).

### 6.2.2 Flore de stockage :

Selon **Petersson et Schnürer (1995)** ; **Druvefors et Schnürer (2004)**, la levure *Pichia anomala* est fréquemment trouvée pendant le stockage étanche à l'air du blé. Cette levure est un moyen de lutte contre certains champignons d'altération du blé stocké tels que *Penicillium*

*roqueforti* et *Aspergillus candidus*. En outre, le degré d'inhibition des champignons d'altération est lié à la concentration des cellules de cette levure (**Kermiche, 2013**).

### 6.3 Bactéries :

Elles proviennent essentiellement du sol, peuvent être identifiées suivant les critères actuels de la classification (**Kermiche, 2013**). Elles se rangent principalement dans les familles suivantes : *Pseudomonadaceae* (*Pseudomonas*), *Xanthomonadaceae* (*Xanthomonas*), *Enterobacteriaceae*, *Lactobacillaceae*, *Bacillaceae*, etc.

À la récolte, les produits céréaliers sont toujours faiblement contaminés par les *Streptomycetaceae*, microorganismes que l'on connaît surtout pour leur aptitude à produire des antibiotiques, et dont les principaux représentants sur grains semblent être : *Streptomyces albus* et *Streptomyces griseus* (**Kermiche, 2013**).

## 7. Transformation du blé :

On distingue deux espèces de blé: le blé tendre et le blé dur. Ces deux espèces, se différencient par la friabilité de l'amande. L'amande du blé tendre est blanche et friable, tandis que celle du blé dur est jaune et plus dure (**Feillet, 2000 ; Jeantet et al. 2007**).

Au moulin, les graines de blé tendre sont broyées en farine, celles-ci servent à la fabrication de pains, de biscuits, de pâtisseries, de pizzas, de viennoiseries. A la semoulerie, les grains de blé dur sont broyés en semoules, ceux-ci servent à la fabrication de pâtes et de couscous c'est la transformation des graines (**Nedjah, 2015**).

## . 8. Les variétés du blé

### 8.1 Variété du blé dur en Algérie

Les blés constituent le genre *Triticum*, qui comporte un certain nombre d'espèces cultivées. Du point de vue génétique on peut les classer en diploïdes (*Triticum monococcum*), tétraploïdes (*Triticum turgidum*), et hexaploïdes (*Triticum aestivum*). Ainsi l'origine du blé dur est un hybride, résultant du croisement aléatoire et naturel de l'espèce *Triticum monococcum* et une herbe spontanée apparentée au blé nommée *Aegilops speltoides*.

Les blés cultivés en Algérie appartiennent pour la presque totalité aux espèces *T. aestivum* L. (blé tendre) et *T. durum* Desf. (blé dur). A l'intérieur de chaque espèce on trouve de nombreuses variétés botaniques. En effet, la diversité des blés Algériens a été à l'origine, étudiée à partir des caractères morphologiques. D'autres paramètres tels que la taille, la forme de l'épi, la position des barbes (**Selmi, 2000 ; Ait-Slimane et Ait-Kaki, 2008**).

**8.2 La variété mondiale du blé :**

Les résultats d'expériences d'hybridation a montré que les génomes des graminées peuvent souvent être regroupés en deux types distincts. Chaque type a reçu un nom A, B ou D (Ferret, 1996 ; Selmi, 2000 ; Ait-Slimane et Ait-Kaki, 2008).

**9. Statistiques de production blé :**

Le blé dur et le blé tendre sont souvent agrégés dans les statistiques, et il est donc difficile d'obtenir des chiffres fiables sur le blé dur seul. Selon les estimations de la FAO, en 1999-2003, la production mondiale moyenne de blé (blé tendre et blé dur confondus) s'est élevée à 576 millions de t/an sur 209 millions d'ha. Dans le monde, le blé dur représente moins de 10 % des superficies cultivées en blé. Les principaux pays producteurs de blé dur sont l'Afrique du Nord, où il couvre presque 50 % du total des superficies emblavées, les Etats-Unis, le Canada et la Russie (Kermiche, 2013).

En Algérie, la superficie réservée à la céréaliculture est, en 2015, de 3,3 millions d'hectares qui représentent 90% des terres cultivées. 40% de cette surface sont destinés à la production du blé dur. Ces rendements, restent très bas puisqu'ils ne tournent qu'autour de 10 à 15Qx/ha, malgré les efforts fournis pour répondre aux besoins alimentaires de la population qui est toujours croissante. Cette faible production est souvent expliquée par l'influence des mauvaises conditions pédoclimatiques associées, notamment à : la désertification, l'érosion, la pollution, les mauvaises pratiques agricoles, stress hydrique et la salinisation des sols (Nedjah, 2015).

## 1. Généralités

Les bactéries lactiques sont de très anciens micro-organismes depuis trois milliards d'années. Elles seraient donc apparues avant les cyanobactéries photosynthétiques qui ont transformé l'atmosphère terrestre ancienne sans oxygène en atmosphère aérobie (**Dridier et Prevost, 2009**).

Les bactéries lactiques sont décrites pour la première fois par Orla Jenson au début de vingtième siècle. Elles sont des microorganismes utiles à l'homme lui participant à l'élaboration de nombreux produits alimentaires fermentés. Elles jouent plusieurs rôles relatifs aux caractéristiques organoleptiques, nutritionnelles et sanitaires de l'aliment (**Pilet et al. 1998**). Elles sont considérées comme non pathogènes et se voient attribuer le qualificatif anglo-saxon d'organismes GRAS ( GENERALLY REGARDED AS SAFE)( **Guetarni, 2013**).

Elles sont des cellules procaryotes, hétérotrophes et organotrophes, formant un groupe hétérogène constitué de cocci et de bacilles (**Badis et al. 2005; Djidel, 2007**). Ce sont des bactéries à Gram positif, asporulantes, aéro-anaérobies facultatives ou micro-aérophiles, généralement immobiles, acido-tolérantes et capable de croître à des températures comprises entre 10 et 45°C, dont la teneur en guanine et cytosine (G+C) est inférieure à 50% (**Ababsa, 2012 ; Zhang et Cai, 2014**).

Elles ont des exigences nutritionnelles complexes pour les acides aminés, les peptides, les vitamines, les sels, les acides gras et les glucides fermentescibles ; c'est la raison qui explique leur abondance dans le lait (**Bourgeois et Larpent, 1996 ; Laurent et al. 1998 ; Hogg et Federighi, 2005**).

Possèdent un métabolisme exclusivement fermentaire, de quantités importantes d'acide lactique à partir des sucres. La fermentation est dite :

- Homolactique si l'acide lactique produit constitue plus de 90% des produits de fermentation.
- Hétérolactique facultative si elles produisent de l'acide lactique et de l'acide acétique.
- Hétérolactique stricte si elle produisent de l'acide lactique, de l'acide acétique ou de l'éthanol et du CO<sub>2</sub> (**Leveau et Bouix, 1993 ; Vandamme et al. 1996 ; Pilet et al. 2005**).

En plus de l'acide lactique et des autres acides organiques qui empêchent le développement des microorganismes indésirables par diminution du pH du milieu, le

peroxyde d'hydrogène, le diacétyl, la reutéline, le dioxyde de carbone et les bactériocines (**Dortu et Thonart, 2009**).

En générale ces bactéries ne possèdent ni nitrate réductase, ni cytochrome oxydase (à l'exception de quelques souches sous certaines conditions), elles sont protéolytiques, ne liquéfient pas la gélatine, et ne forment plus d'indole ni d'hydrogène sulfureux, ces bactéries sont également incapables de fermenter le glycérol (**Dellaglio et al. 1994 ; Salminen et al. 2004 ; Zhang et Cai, 2014**).

## 2. Habitat :

Les bactéries lactiques ont été retrouvées dans des sédiments datant de 2.75 milliards d'années bien avant l'apparition d'oxygène dans l'atmosphère, ce qui pourrait expliquer leur caractère anaérobie. De plus, des études sur la phylogénie bactérienne mentionnent leur apparition avant celle des cyanobactéries (**Quiberoni et al. 2001 ; Guetarni, 2013**).

Les bactéries lactiques sont présentes à l'état libre dans l'environnement ou vivent en association avec un hôte(en symbiose), tel que l'homme ou l'animale, dans un écosystème bactérien comme le tractus gastro-intestinal ou génitale on peut les trouver aussi dans la cavité buccal, des mammifères (**Klein et al. 1998 ; Hasssan et Frank, 2001**).

Les bactéries lactiques sont ubiquistes, elles ont pour habitat de nombreux milieux naturels. Elles se trouvent généralement associées à des aliments riches en sucres simples. Elles peuvent être isolées du lait, du fromage, de la viande et des végétaux (plantes et fruits) (**König et Fröhlich, 2009**).

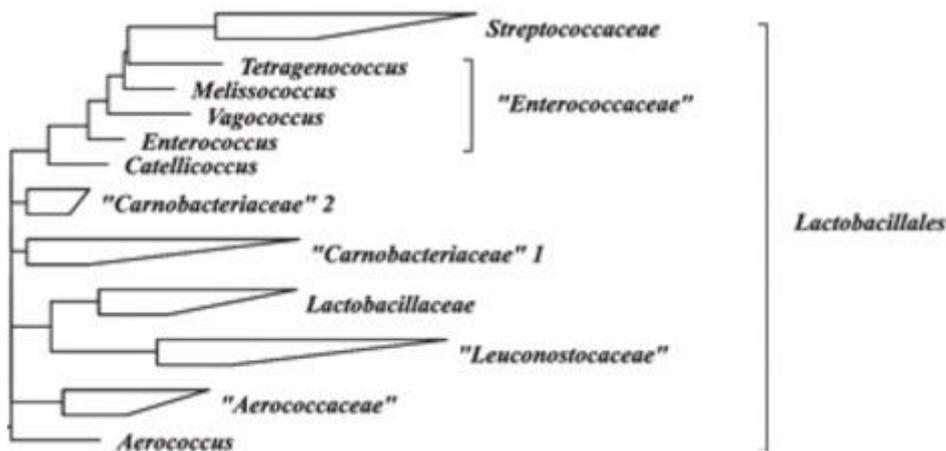
## 3. Taxonomie des bactéries lactiques :

Décrites pour la première fois par Orla-Jensen au début XXe siècle (1919), les bactéries lactiques constituent un groupe hétérogène, qui n'est pas clairement défini du point de vue taxonomique (**Lahtinen et al. 2012**).

La monographie d'Orla-Jensen(1919) a constitué la base de la classification des bactéries lactiques, les critères utilisés ( morphologie cellulaire, types fermentaire, les températures de croissance et l'utilisation des sucres), bien que l'avènement d'outils taxonomiques plus modernes, les méthodes biologiques en particulier moléculaires, ont considérablement augmenté le nombre de genres de bactéries lactiques à partir des quatre genres :*Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* et *Streptococcus* (**Lahtinen et al. 2012**).

Une importante étape a été franchie en 1977 par Woese et Fox qui ont introduit la phylogénie moléculaire basée sur la séquence des ARN ribosomiques. Cette méthode a

révolutionné la taxonomie des bactéries et la classification des bactéries lactiques a été profondément modifiée. D'autres méthodes génotypiques (basés sur les acides nucléiques) sont aussi utilisées en classification ; comme le pourcentage en GC de l'ADN ou l'hybridation ADN : ADN (Salminen et al. 2004).



**Fig. 07** : Dendrogramme illustrant les relations phylogénétiques de l'ordre « Lactobacillales » en se basant sur la comparaison des séquences d'ARNr 16S (Bergey's manual of systematic bacteriology, 2009).

### 3.1 Genre *Lactobacillus* :

En 1896, le genre *Lactobacillus* a été décrit pour la première fois par Beijerinck, et l'espèce type était *Lactobacillus delbrueckii*.

Le genre *Lactobacillus* est le genre principal et de loin le plus grand et le plus diversifié de la famille de lactobacillaceae, il comprend actuellement 158 espèces, sept de ces espèces sont constituées de 18 sous-espèces (Zhang et Cai, 2014).

Il est également très hétérogène, englobant les espèces avec une grande variété phénotypique, biochimiques et physiologiques. L'hétérogénéité se traduit par le pourcentage GC de l'ADN des espèces incluses dans ce genre. Cette gamme est de 32 à 55% (Zhang et Cai, 2014). Certaines espèces de lactobacilles produisant du gaz (par exemple, *Lactobacillus fermentum* et *Lactobacillus brevis*) (De Vos et al. 2009).

Nombreuses d'entre elles sont des agents de fermentation lactique intervenant dans de nombreuses industries ou qui sont rencontrées comme contaminations (Dworkin et al. 2006).

Le pH de croissance est compris entre 3 et 8 avec un optimum habituellement allant de 5,5 à 6,2 (Zhang et Cai, 2014).

A l'origine, les espèces du genre *Lactobacillus* ont été regroupés en fonction de leur température de croissance à un optimum entre 30 et 40°C (De Vos et al. 2009) et leurs capacité à fermenter les hexoses, et par la suite en fonction de leur potentiel homo ou

hétérofermentaire. Orla-Jensen (1919) a subdivisé ce groupe d'une manière similaire à celle des coques lactiques.

### 3.2 Genre *Leuconostoc* :

Le terme *Leuconostoc* vient du mot « Nostoc » qui est une algue bleue mucilagineuse et « Leuco » veut dire blanc (Säde, 2011). La première description du genre *Leuconostoc* a été rapportée par Van Tieghem en 1878 (Zhang et Cai, 2014). Ces bactéries lactiques sont apparues à l'origine, sous forme de chaînes, d'aspect mucilagineux, non pigmenté. Les premières souches ont été isolées à partir d'accidents apparus dans les sucreries. Les leuconostocs responsables de ces accidents produisent du dextrane en milieu saccharosé (entourées d'une gaine comme celle des Nostocs) (Zarour, 2010).

Au cours des dernières années, plusieurs espèces ont été reclassées à l'intérieur du genre *Leuconostoc* et de nouvelles espèces y ont été ajoutées. (Zhang et cai, 2014).

En 1993, le groupe *Leuc. paramesenteroides* et certains lactobacilles hétérofermentaires atypique ont été reclassées en un nouveau genre appelé *Weissella* (Säde, 2011 ; Zhang et cai, 2014).

Les leuconostocs sont des bactéries à Gram positif, immobiles, asporulées, anaérobies facultatives avec une forme ovoïde, associées en paire ou en chaînes courtes, elles sont exigeantes du point de vue nutritionnel et leur croissance est toujours lente, dont leur optimum de croissance est de 20 à 30°C (Bjorkroth et al. 2009). Elles sont chimioorganotrophes nécessitant pour se développer des milieux riches comportant des facteurs de croissance complexes et des acides aminés. La croissance ne se fait qu'en présence d'un sucre fermentescible (Lahtinen et al. 2012).

Ces bactéries ne sont pas pathogènes et non hémolytiques. Elles ne possèdent ni catalase ni cytochromes oxydases. Elles ne produisent ni du NH<sub>3</sub> à partir de l'arginine ni d'indole et elles ne transforment pas les nitrates en nitrites (Kihal, 1996 ; Bjorkroth et al. 2009).

Les leuconostocs principalement *Leuc. mesenteroide* subsp. *cremoris* et *Leuc. lactis* sont utilisés en association avec les lactocoques dans l'industrie laitière pour produire en plus de l'acide lactique et du CO<sub>2</sub>, des substances aromatiques telles que la diacétyle et l'acétoïne à partir des citrates du lait (Hadeif, 2012).

### 3.3 Genre *Weissella* :

Les cellules de ce genre sont ovoïdes ou de courts bâtonnets à extrémités rondes qui s'associent en paires ou en courtes chaînes. Elles sont hétérofermentaires et sont généralement immobiles. Cependant, une nouvelle espèce mobile avec flagelles péritriches, *Weissella*

*beninensis*, a récemment été décrite par **Padonou et al. (2010)**. Les espèces du genre *Weissella* sont connues pour produire divers EPS (Exopolysaccharides) , la température optimale de croissance est de 15°C, mais quelques espèces peuvent croître entre 42°C et 45°C, peuvent pousser à 10% de NaCl (**Bjorkroth et Holzapfel, 2006 ; Lahtinen et al. 2012 ; Zhang et Cai, 2014**).

### 3.4. Genre *Oenococcus* :

Ce sont des bactéries immobiles, asporulées de forme ellipsoïdale à sphérique, avec un arrangement en paires ou en chaînes, non hémolytiques et généralement non protéolytique. Elles exigent un milieu riche en acides aminés et en facteurs de croissance. Leur température optimale est de 20°C à 30°C, acidophiles poussant à un pH initial de 4.8 (**Bjorkroth et Holzapfel, 2006 ; Zhang et Cai, 2014**).

### 3.5. Genre *Lactococcus* :

Le genre *Lactococcus* associés à de nombreuses fermentations alimentaires et ne possèdent aucun caractère pathogène. Les produits végétaux constituent leur réservoir principal, mais ils sont largement présents dans le lait et les produits laitiers (**Pilet et al. 2005**).

Les lactocoques se présentent sous forme de coques en paire ou en chaînes de longueur variable, ce sont des bactéries anaérobies facultatives, homofermentaires, ne produisant que de l'acide lactique, seul *Lactococcus lactis* subsp, *lactis* biovar, *diacetylactis* produit le diacétyle. Leur température optimale de croissance est proche de 30°C, capable de se développer à 10°C mais pas à 45°C ; certaines espèces peuvent pousser à des températures aussi basses que 7°C lors d'une incubation prolongée de 10 à 14 jours. Les cultures se développent typiquement dans 4% de NaCl. Toutefois, *Lc.lactis* subsp. *cremoris* ne tolère que 2,0% de NaCl, qui se trouve être la seule exception connue. Les lactocoques poussent mieux à des valeurs de pH quasi-neutre et cessent de croître à un pH d'environ 4,5, Elles ne sont pas hémolytiques et poussent pas à pH 9,6 ou en présence de 6,5% de NaCl sauf pour l'espèce *Lactococcus garvieae* (**Schleifer et al. 1987 ; Salminen et al. 2004 ; Teuber et Geis, 2006 ; Alomar, 2007 ; Lahtinen et al. 2012 ; Zhang et Cai, 2014**).

### 3.6 Genre *Enterococcus* :

Le genre *Enterocoque* a été d'abord utilisé par **Thiercelin et Jouhaud en 1899**(**Zhang et Cai, 2014**).

Ce genre représentent une hémolyse de type  $\lambda$  et  $\beta$  et. Ce sont des cellules homofermentaires, ovoïdes isolées en paires ou en courtes chaînes. Quelques espèces sont

mobiles par des petits flagelles et d'autres possèdent une pseudo-catalase. Ce genre se caractérise par sa tolérance à 6.5% NaCl, au pH : 9.6 et par la croissance à 35°C -37°C (Tamime, 2002 ; Devriese, 2006 ; Ho et al. 2007).

### 3.7. Genre *Streptococcus* :

Ce genre est généralement divisé en trois groupes : pyogène (la plus part des espèces pathogènes et hémolytiques), oral (tel que *S.salivarius*, *S.bovis*) et les autres streptocoques (Scheilfer, 1987).

Toutes les espèces du groupe streptocoques sont commensales, elles sont trouvées dans les cavités buccales, gastro-intestinales et dans les tractus génitaux des mammifères (Facklam, 2002).

La seule espèce de streptocoque qui soit utilisée en technologie alimentaire est *Streptococcus thermophilus* (Stiles et Holzappel, 1997), elle est se différencie par son habitat (lait et produits laitiers) et son caractère non pathogène, la résistance à la température, la capacité de croitre à 52°C (Haddie, 1986 ; Pilet et al. 2005).

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

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

### 3.8. Genre *Aerococcus* :

ce genre a une forme ovoïde, immobiles, anaérobies facultatifs, dépourvues d'une catalase et oxydase,  $\alpha$ -hémolytique, homofermentaires et ADH négatif. Ces bactéries peuvent croitre à une concentration de 6,5% de NaCl (Collins et Falsen, 2009).

### 3.9. Genre *Carnobacterium* :

Ce genre est constitué de bâtonnets courts parfois incurvés isolés ou en paires, psychrotolérants, pouvant se développer à pH 9 mais pas à 4,5. Ces cellules sont incapables de croitre à 8% de NaCl. Quelques espèces sont catalase positive en présence d'hème (Hammes et Hertel, 2006).

### 3.10. Genre *Vagococcus* :

Les cellules sont ovoïdes, isolées, en paires ou en chaînes. La plupart des espèces sont mobiles par des flagelles péritriches. Elles sont homofermentaires, capables de croître à 10°C mais pas à 45°C (Collins, 2009).

#### **4. Physiologie et voies métaboliques centrales des bactéries lactiques :**

##### **4.1. Transport des sucres :**

La membrane cytoplasmique des cellules est imperméable à de nombreux composés et peut donc entraver la pénétration des substrats utiles. Cette particularité est indispensable aux bactéries car une membrane exagérément perméable laisserait s'échapper des composants cellulaires précieux comme ATP, les nucléotides ou encore des intermédiaires métaboliques, de plus le maintien d'un potentiel membranaire deviendrait alors impossible.

La membrane, structure hydrophobe, laisse donc pénétrer dans la cellule les composés apolaires par diffusion mais se révèle imperméable aux composés polaires hydratés comme les sucres.

Ainsi, l'entrée de ces derniers solutés nécessite la présence de système de transport localisé au niveau de la membrane. Chez la plupart des bactéries lactiques, deux sont particulièrement importants :

- Le système phosphotransférase phosphoénolpyruvate dépendant (PTS), qui couple le transport et la phosphorylation du glucide.
- Le système perméase énergie-dépendant, qui fait pénétrer les sucres sous forme libre (Reynaud, 2006).

##### **4.1.1. Le système perméase :**

Ce système est basé sur la théorie chimiosmotique de Mitchell, (1973). D'après ce concept une enzyme membranaire ( $ATP_{ase}$ ) couple l'hydrolyse de l'ATP à la sortie de protons générant ainsi un potentiel électrochimique de protons, appelé force protomotrice, à travers la membrane. Dans ce cas, le transport du sucre est couplé au mouvement de protons le long du gradient électrochimique, il s'agit donc d'un transport actif puisqu'il peut s'effectuer contre le gradient de concentration du sucre (**Figure 8**).

Une fois à l'intérieur de la cellule, le substrat carboné est phosphorylé grâce à une kinas ATP-dépendante puis va être dégradé (Reynaud, 2006).

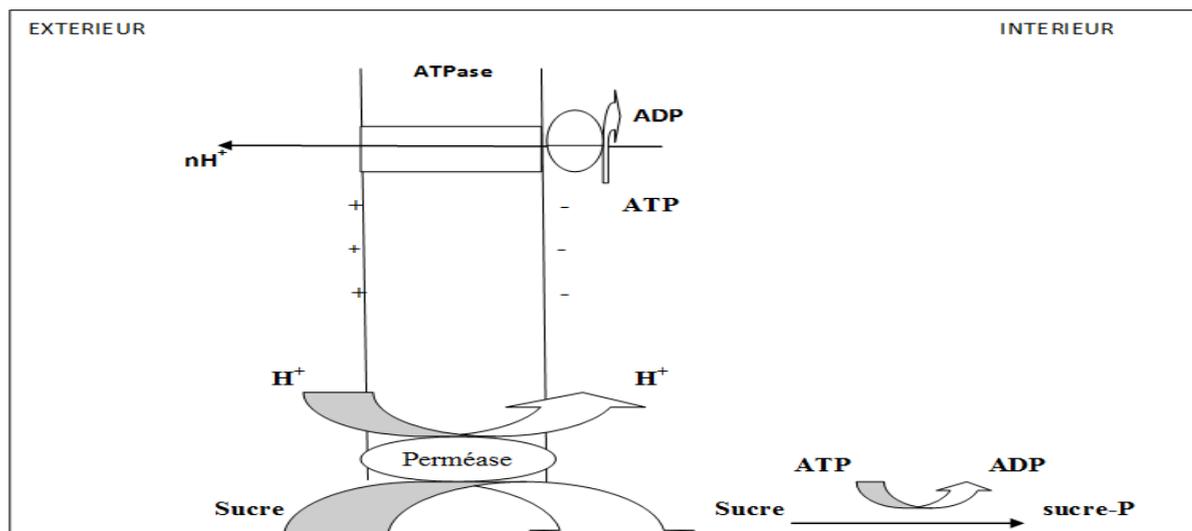


Fig. 8 : Système perméase (Raynaud, 2006).

#### 4.1.2. Le système PTS :

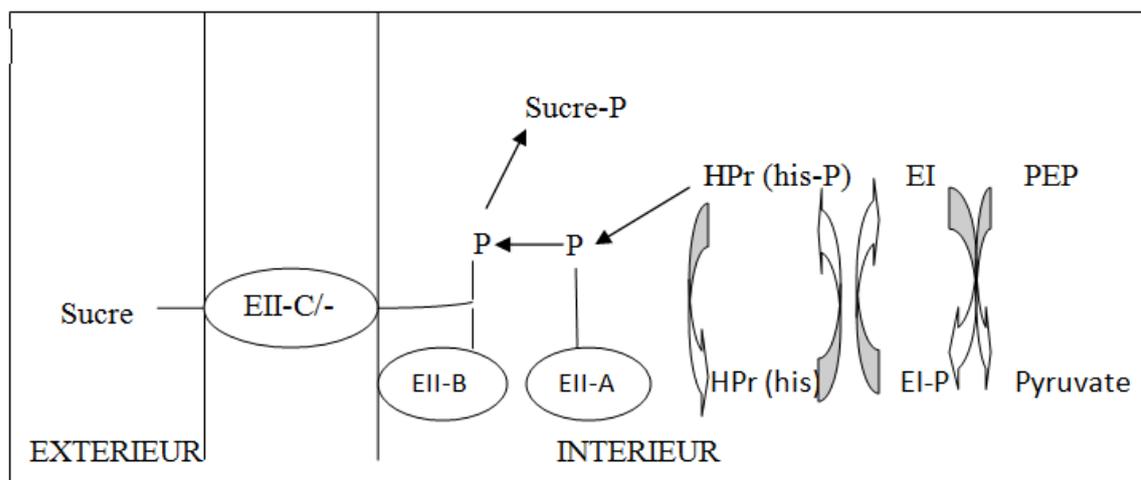
Le système PTS (Phosphotransférase PEP-dépendant) (**Figure 8**) est impliqué dans le transport de divers hydrates de carbone chez les bactéries. Il s'agit d'un groupe de translocation qui catalyse de façon concomitante l'entrée du sucre dans la cellule ainsi que sa phosphorylation.

Différentes protéines sont impliquées dans ce système,

- les deux protéines de couplage énergétique, l'enzyme I (EI) et HPr, sont communes à tous les systèmes.
- « **Enzyme II** » (**EII**) : sont spécifiques du sucre et impliqués dans son transport. Chaque perméase EII est constituée de trois (II, B, C) ou quatre (IIA, B, C, D) domaines ou protéines selon le système.

Une suite de transferts du groupement phosphoryl du PEP vers le sucre s'effectue au sein du groupe de translocation. Le processus commence avec le transfert du groupement phosphoryl du PEP vers EI puis vers la protéine his-P qui a son tour catalyse la phosphorylation d'EII. Les domaines EIIA et B transfèrent le groupement phosphoryl jusqu'au sucre spécifique.

Le système PTS semble énergétiquement plus favorable que le système perméase, en effet, il couple entre et phosphorylation du sucre avec la dépense d'une molécule de PEP, tandis que l'accumulation du sucre par un système non-PTS nécessite la dépense de plus d'un équivalent ATP car transport et phosphorylation ATP-dépendante sont physiquement séparés (Raynaud, 2006 ; Deutscher et al. 2006).



**Fig. 9:** Système PTS (Reynaud, 2006).

#### 4.2 . Catabolisme des sucres :

Toute croissance nécessite la production d'énergie et les bactéries lactiques ne font pas exception à la règle (Atlan *et al.* 2008).

Par ce qu'elles ne possèdent pas un système respiratoire fonctionnel, elles doivent obtenir leur énergie par phosphorylation au niveau du substrat (Lahtinen *et al.* 2012).

Elles sont hétérotrophes, tirent leur énergie de la fermentation de substrats carbonés. Les carbohydrates fermentés en acide lactique par les bactéries lactiques peuvent être des monosaccharides tels que des hexoses (glucose, galactose), des pentoses (xylose, ribose, arabinose), hexitols et pentitols (mannitol, sorbitol, xylitol) ou des disaccharides (lactose, saccharose, cellobiose, tréhalose).

La fermentation des sucres s'effectue essentiellement en trois étapes (Atlan *et al.* 2008) :

- Le transport du sucre à travers la membrane cellulaire.
- Le catabolisme intracellulaire du sucre.
- La formation et expulsion extracellulaire des métabolites terminaux.

Selon les genres ou espèce, les bactéries lactiques utilisent principalement l'une des deux voies majeures du métabolisme des sucres. Il s'agit des voies homofermentaires (Embden Meyrhopf-Parnas, EMP) et hétérofermentaires (voie des pentoses-phosphate) (Atlan *et al.* 2008).

##### 4.2.1. Voie du métabolisme des sucres chez les bactéries lactiques:

###### *Voie homofermentaire ou EMP :*

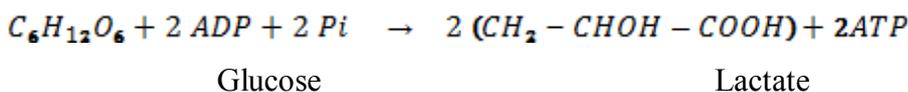
Toutes les bactéries lactiques à l'exception des genres : *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Weissella* et certaines espèces du genre *Lactobacillus*, entravent la voie de la glycolyse pour dégrader les hexoses (ex : glucose).

Le fructose 1.6 bisphosphate aldolase (FBA), est une enzyme clé présente chez toutes les espèces homofermentaires et indispensables au fonctionnement de la voie EMP.

Après son transfert vers la cellule, le glucose subit une phosphorylation pour se transformer en fructose qui est à son tour phosphorylé en fructose 1-6 biphosphate (FBP) puis clivé en dihydroxyacétone phosphate (DHAP) et glycéraldéhyde phosphate (GAP). Ces deux derniers sont convertis en pyruvate.

Le pyruvate est dans une dernière étape réduit en acide lactique qui est le produit unique : c'est la fermentation homolactique (**Figure 9**) (**Mozzi et al. 2010**).

Cette voie conduit dans des conditions optimales de croissance à la production de deux molécules de lactate et deux molécules d'ATP par molécule de glucose consommée (**Thompson et Gentry-Weeks, 1994**).



Dans les conditions défavorables telles les limitations du glucose, ces bactéries produisent également l'acide formique, l'acide acétique, l'éthanol et/ou le CO<sub>2</sub> par la voie de fermentation des acides mixtes (**Mozzi et al. 2010**).

#### ***Voie hétérofermentaire ou voie des pentoses phosphate***

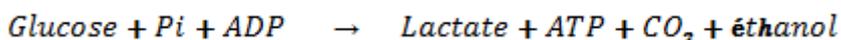
Les principaux genres de bactéries lactiques présentant ce type de métabolisme sont les leuconostocs et certains lactobacilles.

Ces microorganismes sont dépourvus d'une FBA (fructose 1-6 phosphate aldolase), d'une triose-phosphate isomérase (TIP) ainsi que d'un système TPS fonctionnel. Dans ces conditions, le glucose est accumulé par l'intermédiaire d'un transport actif puis subit une phosphorylation intracellulaire par le biais d'une glucokinase (GLK) ATP-dépendante.

Le glucose 6 phosphates emprunte ensuite la partie oxydative de la voie des pentoses-phosphate qui conduit à la formation de xylulose 5 phosphates. Le xylulose 5 phosphates est scindé en acétyl-phosphate et glycéraldéhyde 3 phosphates par la D-xylulose 5 phosphate phosphocétolase, enzyme spécifique à la voie hétérofermentaire.

Enfin, l'acétyl-phosphate est converti en éthanol ou en acétate, et le GAP (glycéraldéhyde-3-phosphate) qui rejoint la glycolyse est métabolisé en acide lactique.

Le métabolisme hétérofermentaire est deux fois moins énergétique que le métabolisme homofermentaire puisqu'une mole de glucose conduite à la production d'une mole de lactate, d'éthanol, de CO<sub>2</sub> et d'un seul ATP (**Raynaud, 2006**).



Les hexoses autres que le glucose, tels que le mannose, le galactose et le fructose, sont fermentés par beaucoup de bactéries lactiques.

Les sucres entrent dans les voies majeures au niveau de la glucose-6-phosphate ou fructose-6-phosphate après isomérisation et/ou phosphorylation.

Une exception importante est le métabolisme du galactose par les bactéries lactiques, qui utilisent un système PTS ou une perméase pour l'absorption de ce sucre (Salminen et al. 2004)

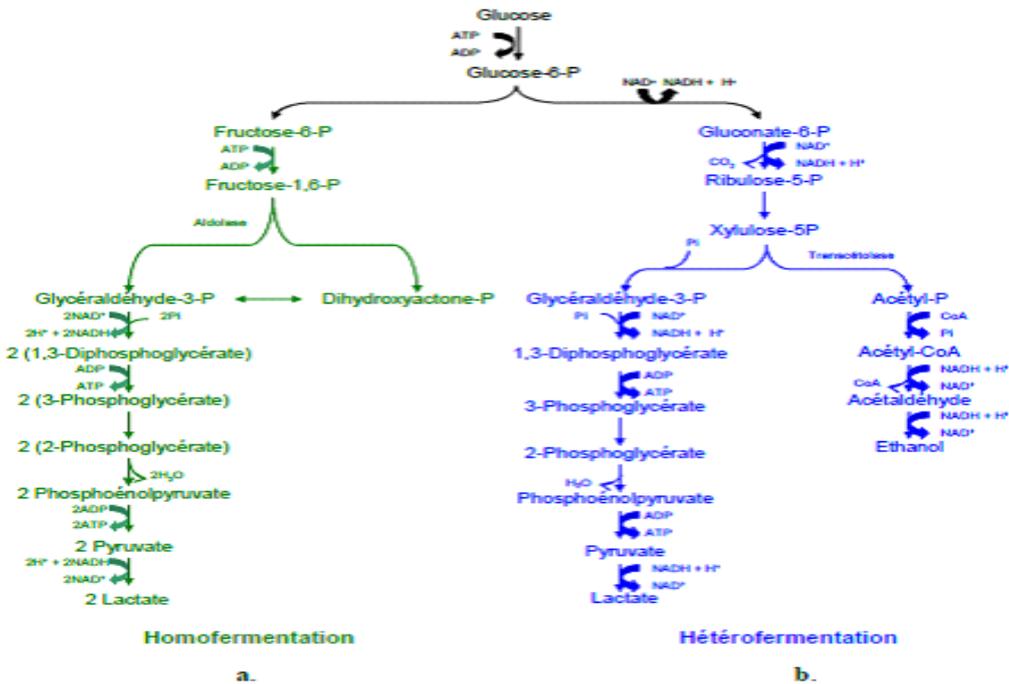
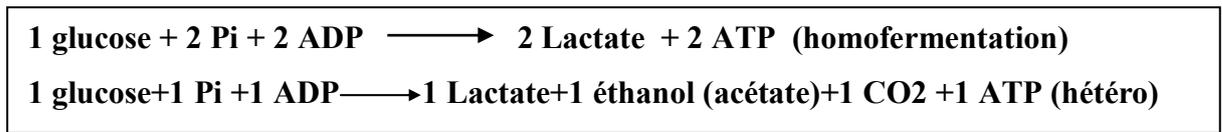


Fig. 10 : Représentation schématique des principales voies de fermentation des Hexoses chez les bactéries lactiques (Makhloufi, 2012).



Tel que :

ATP : adénosine triphosphate. /ADP : adénosine di phosphate.

NAD<sup>+</sup> / NADH, H<sup>+</sup> : Couple oxydant/ réducteur du nicotinamide adénine dinucléotide.

Pi : phosphate inorganique.

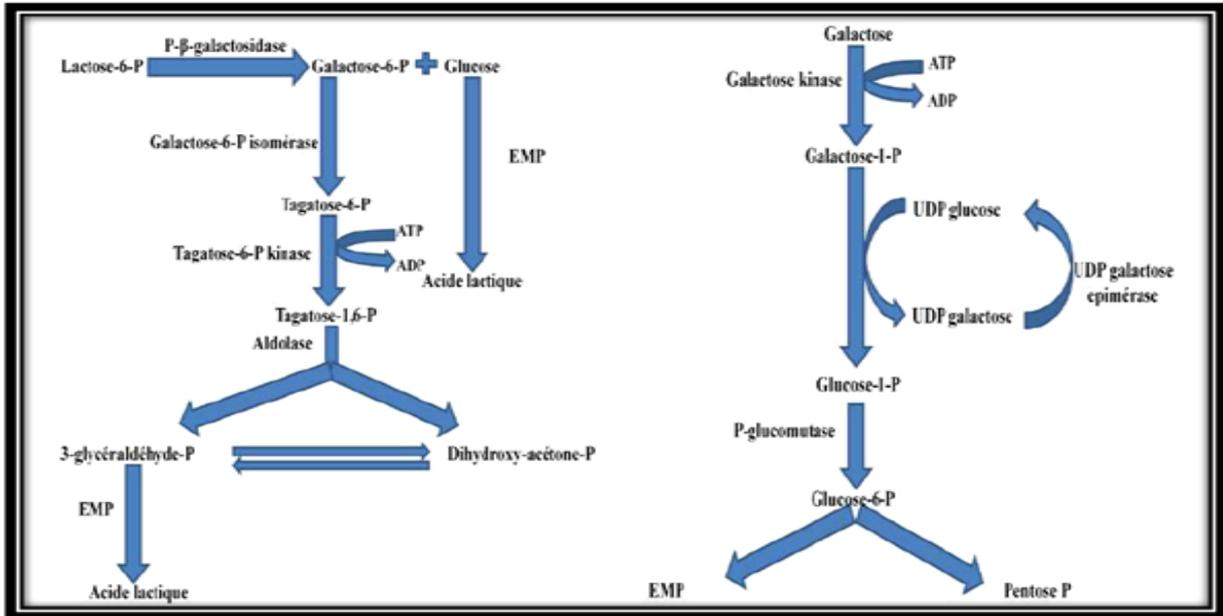
#### 4.2.2. Métabolisme du lactose :

Le lactose-6-phosphate intracellulaire issu du transport du lactose par le système PTS<sub>lact</sub>(Figure11) est clivé en galactose-6-phosphate et glucose par la phospho-β-galactosides(P-β-GAL). Le glucose, après phosphorylation par le PTS<sub>man</sub> ou la GLK ;

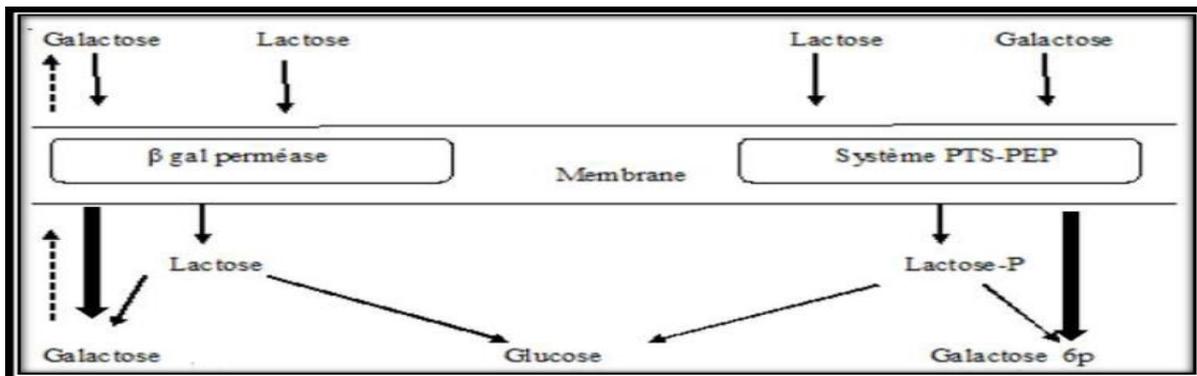
emprunte la glycolyse tandis que le galactose-6-phosphate suit la voie du tagatose qui elle-même rejoint la glycolyse au niveau des trioses-phosphate (**Figure 11**).

Il a été montré que les souches, qui métabolisent très lentement ce sucre le transport via un système perméase(**Figure 12**).

Le lactose est ensuite clivé en glucose et en galactose par la  $\beta$ -galactosidase, le glucose emprunte la glycolyse, tandis que le galactose est dirigé vers la voie de Lenoir qui rejoint la glycolyse (**Figure 11**) (**Guetarni, 2013**).



**Fig. 11** : Voie du tagatose ( à gauche) et voie de Lenoir (à droite)(**Hutkins, 2001**).



**Fig. 12** : Transport et métabolisme du lactose et du galactose chez les bactéries lactiques (**Thompson et Gentry-Weeks, 1994**).

#### 4.2.3. Métabolisme du citrate :

L'acide citrique est utilisé par de nombreuses espèces .Cependant il ne peut être dégradé qu'en présence d'un substrat fermentescible et d'une source d'azote (**Bekhouché, 2006**).

Le pyruvate peut résulter du catabolisme des citrates en présence d'une source d'énergie comme le lactose. Les concentrations élevées en pyruvates sont en étroite relation avec la capacité de la bactérie à transporter le citrate dans la cellule puis le transformer en pyruvates (**Collins et al. 1993 ; Cogan et al. 1981**).

La première enzyme impliquée dans le métabolisme du citrate est la citrate perméase qui permet le transport de celui-ci vers l'intérieur de la cellule. Cette enzyme est fonctionnelle au pH inférieur à 6 et son optimum est à pH 5. A l'intérieur de la cellule, le citrate est transformé en acétate et en oxaloacétate (**Figure 13**) par la citrate-lyase (citratase). L'oxaloacétate produit au cours de ses réactions de catabolisme est ensuite converti en pyruvate et CO<sub>2</sub> par une oxaloacétate-décarboxylase (**Bourel et al. 2001 ; Salminen et al. 2004 ; Alexandre, 2008**).

Les étapes conduisant à l'acétoïne s'effectuent en présence des ions Mg<sup>++</sup> et Mn<sup>++</sup> et de la thiamine pyrophosphate. Le reste des enzymes (acétolactate-synthase, diacétyl-réductase, acétoïne-réductase) sont constitutives chez *Lactococcus lactis* subsp. *diacetylactis* ou partiellement inductible (acétolactate-synthase) chez *Leuconostoc* et chez certaines bactéries hétérofermentaires. **Kempler et Mc Kay(1979)** ont démontré que le métabolisme du citrate chez les bactéries lactiques est lié à la présence d'un plasmide (**Cogan et al. 1981 ; Bassit, 1994**).

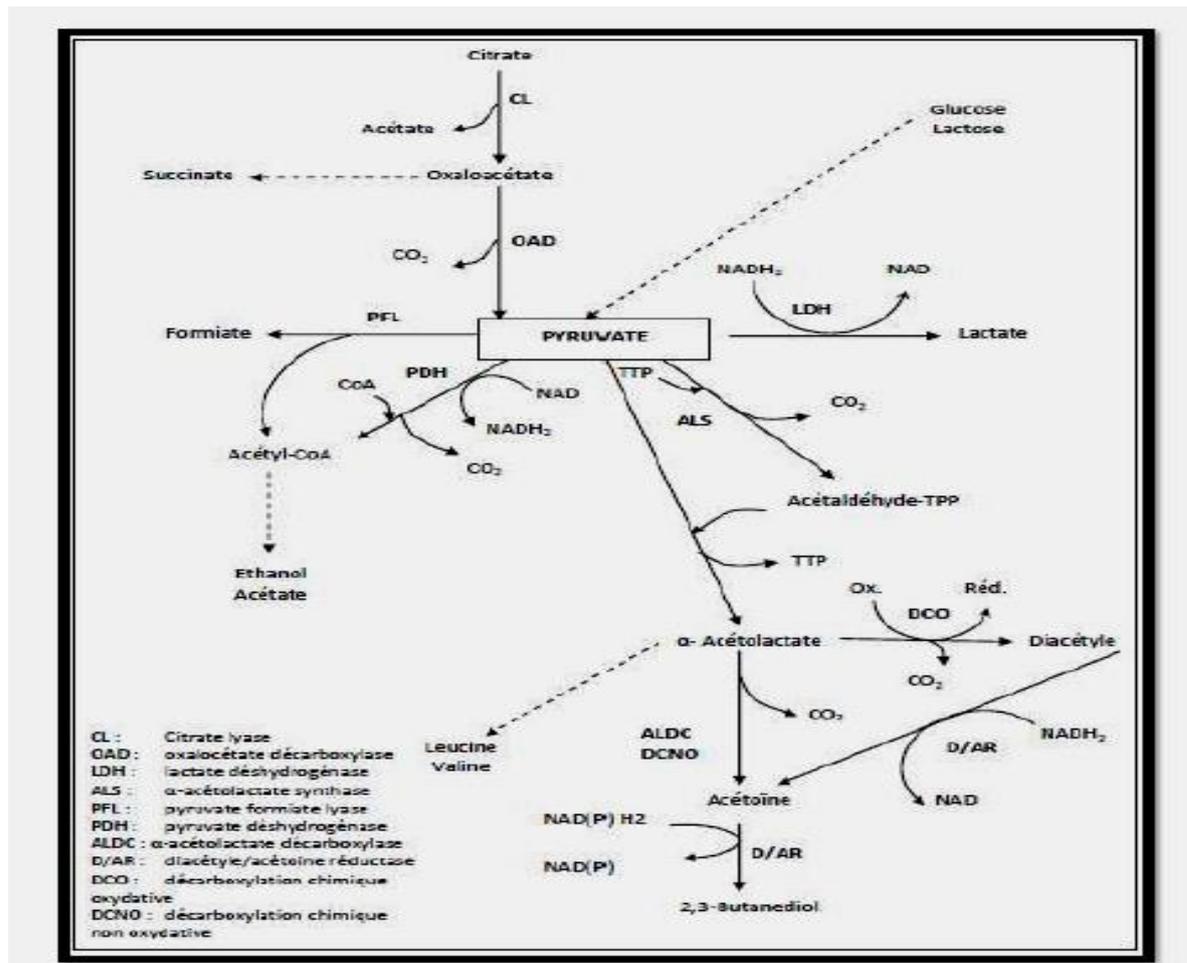


Fig. 13 : Principales étapes du métabolisme du citrate chez les bactéries lactiques (Atlan et al. 2008).

#### 4.2.4. Activité protéolytique :

Les bactéries lactiques ont des besoins nutritionnels complexes, et les quantités d'acides aminés ou de courts peptides trouvés dans le lait sont insuffisantes pour une croissance optimale.

Des études plus précises ont permis de mettre en évidence des enzymes protéolytiques différentes quant à leur nature et leur localisation. Ces bactéries possèdent des protéases localisées à l'extérieur de la membrane plasmique, liées à la paroi et capables d'hydrolyser la caséine. Cette activité protéolytique est favorisée par les ions calcium et les pH acides.

Il a été démontré que les lactobacilles ont une activité protéolytique marquée (Figure 14) et produisent à partir des protéines complexes, des composés azotés de bas poids moléculaire.

Ce qui explique la situation de *S.thermophilus* cultivée en association avec *Lb.bulgaricus* ou avec *Lb.helveticus* et confirmant l'absence de ces protéases intracellulaires

chez la plupart des souches de *S.thermophilus*. De nombreuses protéases intracellulaires ont été caractérisées telles que les métallo-protéases chez *Lc.lactis* et *S.thermophilus*.

De nombreuses protéases sont synthétisées par les bactéries lactiques. Elles peuvent être des aminopeptidases, dipeptidases ou tripeptidases, situées au niveau de la membrane plasmique ou dans le cytoplasme (Salminen et al. 2004 ; Hols et al. 2005 ; Atlan et al. 2008).

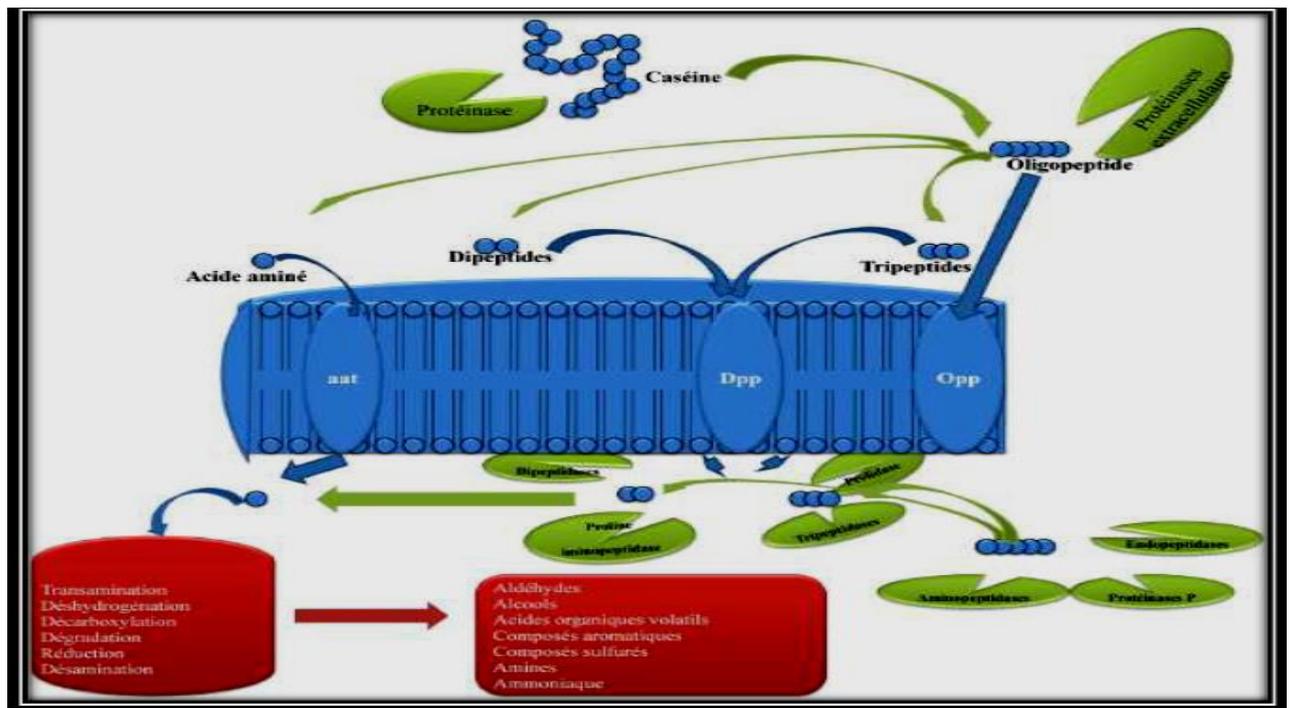


Fig 14 : Système de protéolyse chez les bactéries (Grattepanche, 2005).

#### 4.2.5. Métabolisme azoté :

De fait de leurs nombreuses auxotrophies pour les acides aminés, la croissance des bactéries lactiques repose sur leur système protéolytique. Ces systèmes comportent des protéases intracellulaires, des systèmes de transport spécifiques pour les peptides et une multitude de peptidases intracellulaires. Les systèmes protéiques des lactocoques et des lactobacilles sont remarquablement similaires, en ce qui concerne leurs composants et leurs modes d'action (Law et Hannndrikman, 1997 ; Savijoki et al. 2006).

Les études du système protéolytique ont été menées essentiellement pour le genre *Lactococcus* et ont permis l'établissement un modèle de la protéolyse en trois étapes (Figure 15).

La première étape fait intervenir une protéase ancrée à la surface bactérienne, appelée protéase de paroi (ou PrtP). Les peptides sont pris en charge par deux systèmes de transport

des oligopeptides pour traversé l'enveloppe bactérienne. Des di et tripeptides peuvent aussi être transportés par deux autres systèmes. Les acides aminés sont transportés par des systèmes de transport spécifiques. Enfin, dans le cytoplasme bactérien un éventail de peptidases concourent à achever l'hydrolyse des péptides en acides aminés (Savijoki *et al.* 2006 ; Atlan *et al.* 2008 ; Picon *et al.* 2010).

Le catabolisme des acides aminés est une voie majeure de formation de molécules aromatiques (alcool, aldéhydes, acides organiques,...), comme il peut être une source d'énergie pour certaines bactéries lactiques en cas de limitation en nutriments (Williams *et al.* 2001).

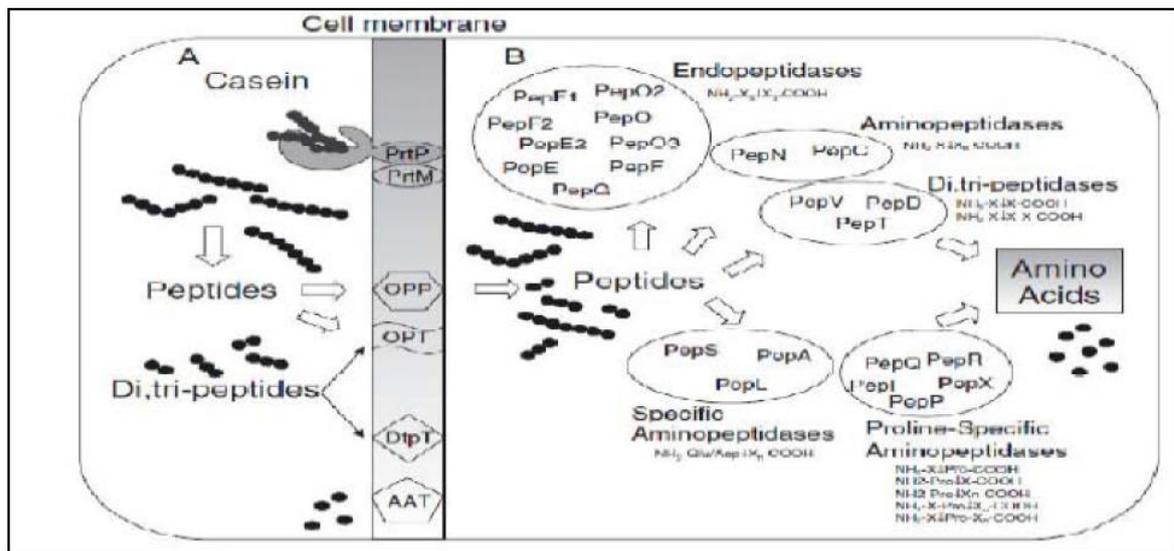


Fig. 15 : Schéma du système protéolytique de *Lactococcus lactis* (Guetarni, 2013)

## 5. Besoins nutritionnels :

Les bactéries lactiques ont une faible aptitude biosynthétique et sont en principe incapables d'assimiler directement les principaux précurseurs de leur environnement. Elles requièrent non seulement des substrats complexes carbonés, azotés mais aussi des facteurs de croissance comme les vitamines et les oligoéléments dont le rôle des coenzymes est plus important (Lenoir *et al.* 1992 ; Guetarni, 2013).

- **Vitamines** : jouent un rôle primordial dans le métabolisme cellulaire. Les bactéries lactiques sont incapables de synthétiser des vitamines d'où l'importance d'un apport exogène en vitamines au milieu de culture (Desmazaude et De Roissart, 1994 ; Guetarni, 2013).

- **Ions** : ont une fonction de cofacteur pour de nombreuses enzymes, en effet le fer est un élément important puisqu'il a des affinités pour un grand nombre de molécules chélatrices.

Il augmente la croissance et la production d'acide lactique pour les lactocoques ainsi le calcium et magnésium exercent un effet crucial dans le métabolisme énergétique, le sodium exerce un effet sélectif sur différentes espèces des bactéries lactiques (**Boyaval, 1989 ; Guetarni, 2013**).

Le magnésium ( $Mg^{++}$ ) est un activateur des différentes réactions métaboliques : division cellulaire, stabilisation des acides nucléiques ou hydrolyse peptidique, comme il est essentiel pour les phosphokinases impliquées dans la glycolyse.

Le manganèse ( $Mn^{++}$ ) joue un rôle important pour les bactéries lactiques en les protégeant contre la toxicité de l'oxygène.

Il se substituerait au super oxyde dismutase pour éliminer les radicaux du super oxyde ( $O_2$ ). Le sodium ( $Na^+$ ) quant à lui, exerce un effet sélectif sur les différentes espèces de bactéries lactiques (**Desmazeaud, 1992**).

## **6. Applications industrielles des bactéries lactiques :**

Les bactéries lactiques présentent des activités métaboliques assez diversifiées et une capacité d'adaptation à différents environnements. Cette diversité est responsable de leur large gamme d'application à l'échelle industrielle (**Streit et al. 2008**).

### **6.1. Domaine alimentaire :**

#### **6.1.1. Rôle sur la structure, la texture et les caractéristiques organoleptiques :**

Dans l'industrie alimentaire, les bactéries lactiques permettent la conversion d'une grande variété de matières premières, conduisant ainsi à de nombreux produits : saucissons, les laits fermentés et les fromages représentent des produits fabriqués à partir de matières premières d'origine animale, tandis que la choucroute, les olives et certains vins (fermentation malolactique) sont des exemples de transformation de matières premières d'origine végétale.

Les bactéries lactiques ayant des activités sur l'odeur, la texture et le saveur des produits fermentés (**Daly et al. 1998 ; Hugenholtz et al. 2002 ; Axelsson, 2004 ; Streit et al. 2008**).

#### **6.1.2. Rôle dans la conservation :**

En industrie agro-alimentaire, les bactéries lactiques sont employées pour aider à la fois à la fabrication et la conservation des produits (la production d'acide lactique et de bactériocines) par l'inhibition des flores pathogènes (**Lee et al. 2006 ; Boudjemaa, 2008 ; Katcham et al. 2012**).

## 6.2. Domaine de santé :

L'intérêt des bactéries lactiques en matière de santé humaine a été initialement proposé au début du XX<sup>ème</sup> siècle, en 1907 par le Russe **Metchnikoff**, selon lui les *Lactobacillus.sp* pouvaient réduire la putréfaction intestinale en modifiant sa flore.

Le rôle des bactéries lactiques sur la santé était dans le cadre des probiotiques (**Langella et al. 2001 ; Calvez et al. 2009**).

L'extraordinaire diversité de structures des EPS en fait une classe de molécules dont les applications directes ou indirectes dans le domaine médical sont en plein essor. Le dextrane et ses dérivés sont utilisés en laboratoire pour la purification de composés d'intérêt médical comme certaines enzymes, mais aussi comme outil thérapeutique en tant que «plasma artificiel».

Ils peuvent servir pour l'encapsulation de médicaments dans le but d'un relargage contrôlé ou en exploitation des propriétés biologiques de ces polymères.

La préparation de vaccins à partir d'EPS évite l'utilisation des extraits cellulaires et donc les effets secondaires provoqués par les métabolites tels que les lipopolysaccharides et les protéines (**Benasla, 2012**).

## 7. Bactéries lactiques comme probiotiques :

### 7.1. Définitions :

Le terme probiotique a bénéficié de plusieurs définitions qui ont évolué dans le temps en fonction des connaissances scientifiques et des avancées technologiques. La notion de probiotiques a été développée principalement grâce aux travaux de Metchnikoff ayant suggéré que l'ingestion de bactéries lactiques vivantes accroît la longévité en réduisant dans le tube digestif la population de bactéries putréfiantes ou produisant des toxines. Une des premières définitions des probiotiques comme «facteurs promoteurs de croissance produits par des microorganismes» a été proposée par **Lilly et Stillwell en 1965**. Ensuite, **Parker (1974)** élargit cette définition à des «organismes et substances qui contribuent à l'équilibre de la flore». Cette définition inclut potentiellement des produits métaboliques microbiens y compris les antibiotiques. Plus tard, **Fuller en 1989**, propose une définition très proche du sens actuel : «supplément alimentaire microbien vivant qui affecte de façon bénéfique l'hôte en améliorant l'équilibre de sa flore intestinale».

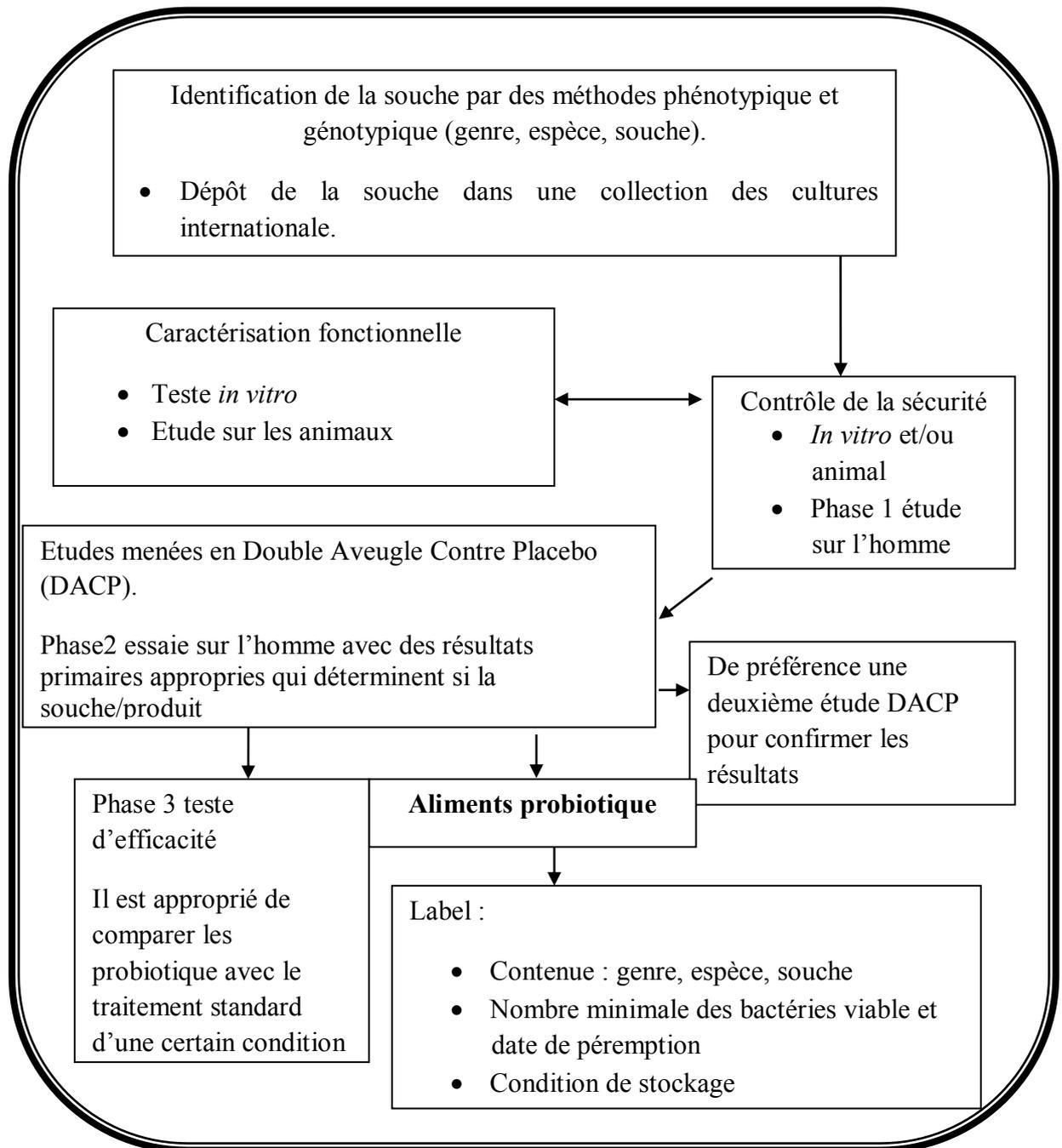
La définition suivante introduit la notion de souche définie bien caractérisée d'un point de vue taxonomique ainsi que la notion de quantité apporté à l'homme. La FAO (Food and Agriculture Organisation) et l'OMS (Organisation Mondiale de la Santé ; WHO) ont établi en

2001 des lignes directrices pour l'utilisation du terme «probiotique» dans les aliments (FAO/OMS, 2001) et formulent la définition suivante : « micro-organismes vivants qui lorsqu'ils sont administrés en quantités adéquates, exercent une action bénéfique sur la santé de l'hôte qui les ingère » (**Malago et al. 2011; Mack, 2013**).

Ils contiennent uniquement les microorganismes non pathogènes. De nombreux microorganismes sont considérés comme probiotiques, parmi eux des bactéries lactiques telles que *Bifidobacterium animalis*, *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium longum*, *Lb.acidophilus*, *Lb.bulgaricus*, *Lb.casei*, et *Streptococcus thermophilus* (**Makhloufi, 2012**).

## **7.2 Sélection des bactéries lactiques comme probiotiques :**

Le critère de viabilité ou de survie demeure essentiel dans la sélection des probiotiques qui doivent parvenir vivantes au site de leur action, à savoir l'intestin, et donc résister aux différents mécanismes de défense de l'hôte. Les bactéries étant administrées par voie orale, il faut qu'elles résistent à l'acidité gastrique, les sels biliaires et antibiotiques, adhésion aux cellules épithéliales et produisent de substances antimicrobiennes (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 ; Guetarni, 2013**).



**Fig. 16** : Etapes de l'évaluation des probiotiques en vue d'une utilisation alimentaire  
(Izquierdo Alegre, 2009)

### 7.3 Applications des probiotiques :

Grâce à leurs propriétés nutritionnelles et thérapeutiques utilisées par les industries agroalimentaires et pharmaceutiques, les probiotiques sont parfois utilisés comme compléments dans des produits ou bien dans des préparations pharmaceutiques sous forme de gélules.

### 7.3.1. Effet des probiotiques sur la santé humaine :

#### *Amélioration de la digestion du lactose :*

L'un des effets des bactéries lactiques qui a été le plus mis en avant et démentré chez l'homme est celui qui concerne l'amélioration de l'intolérance au lactose. Ce disaccharides, présent exclusivement dans le lait et ses dérivés, est formé de glucose et de galactose reliés entre eux par une liaison  $\beta$ . Sa digestion nécessite une lactase, ou  $\beta$ -galactosidase, qui hydrolyse cette liaison et permet alors l'absorption des sucres simples libérés. Chez les personnes souffrant d'intolérance au lactose primaire un déclin de la production de cette enzyme est observé au-delà de la petite enfance et l'intolérance secondaire est représentée par les maladies dont la conséquence est une réduction de la surface de digestion-absorption intestinale ou une accélération du transit jéjunal (**Izquierdo Alegre, 2009**).

#### *Réduction du taux de cholestérol sanguin :*

Plusieurs études ont montré que la consommation des produits contenant des probiotiques entraîne une diminution du taux de cholestérol dans le sang. Et par conséquent la réduction de taux d'hypercholestérolémie responsable des maladies coronariens (**Dilmi Bouras, 2006**) ont montré que les bactéries lactiques produisant de l'hydroxyméthylglutarate, qui inhibe l'enzyme l'hydroxyméthylglutaryl-réductase intervenant dans la synthèse du cholestérol. L'administration de laits fermentés contenant une grande quantité de *Bifidobacterium* ( $10^9$  UFC/g) à des patients ayant un taux de cholestérol élevé permet de diminuer la quantité de cholestérol de 3 à 1,5g/l (**Gournier-Château et al. 1994**).

#### *Diminution des allergies alimentaires :*

L'allergie alimentaire se traduit souvent par de l'eczéma atopique. Les traitements curatif et préventif de cette pathologie par des bactéries lactiques ont été évalués lors d'une étude clinique sur 27 enfants nourris au sein et souffrant d'eczéma atopique par **Isolauri et al (2000)**.

Il a été notamment observé qu'après deux mois de traitement avec une formule supplémentée en *Lb.rhamnosus* et *B.lactis*, il y a eu une amélioration plus rapide de l'état atopique en comparaison avec le groupe placebo. Un effet préventif de *Lb.rhamnosus* a aussi été observé chez des enfants à risques nés de parents atopiques (**Izquierdo Alegre, 2009**).

#### *Réduction du risque de diarrhée*

Plusieurs types de diarrhées sont dus à des infections microbiennes. Des effets protecteurs de souches probiotiques contre certaines infections intestinales ont été observés sur des animaux. Les mécanismes potentiellement impliqués incluent la production d'acides lactique, de peroxyde d'hydrogène, d'autres substances antimicrobiennes telles que les

bactériocines, la compétition pour des nutriments ou des récepteurs d'adhésion, des actions anti toxiques et la stimulation du système immunitaire. Plusieurs études randomisées contrôlées sur l'homme ont montré l'efficacité des souches probiotiques pour prévenir ou atténuer les perturbations digestives liées à la prise d'antibiotiques et les diarrhées nosocomiales infantiles dues surtout à des rotavirus. Cependant, ces effets ne sont pas universels et les probiotiques ne semblent pas efficaces en toutes circonstances (**Izquierdo Alegre, 2009**).

#### ***Traitement des maladies inflammatoires chroniques intestinales (MICI) :***

L'utilisation de probiotiques a émergé comme un outil thérapeutique intéressant pour le traitement des patients, représentant une alternative intéressante à l'utilisation de drogues immunosuppressives/anti-inflammatoires qui présentent de nombreux effets secondaires (**Grangette, 2011**).

#### ***Prévention du cancer du côlon et autres cancers***

La flore intestinale et le système immunitaire jouent un rôle dans la cancérogenèse colique, ces deux paramètres pouvant être eux-mêmes modulés par des probiotiques. Plusieurs études ont montré que certains probiotiques pouvaient diminuer l'activité d'enzymes, la concentration de mutagènes ou d'acides biliaires secondaires dans les selles

. Les probiotiques pourraient aussi empêcher la croissance d'autres souches qui transforment les procancérogènes en cancérogènes, réduisant ainsi la quantité de cancérogènes dans l'intestin (**Maroni, 2007 ; Izquierdo Alegre, 2009**).

#### ***Effets sur le système immunitaire :***

Des études ont montré que l'ajout des probiotiques compact certaines effets de l'affaiblissement du système immunitaire et en particulier renforce l'activité des cellules naturelles (**Gill et al. 2001**).

Le système fonctionne en provoquant une augmentation de la production des IgA, IgG, IgM, cytokines anti-inflammatoires, interleukines et interférons (**Attouri et Lemonier, 1997**).

#### ***Effets sur l'infection par *Helicobacter pylori****

*Helicobacter pylori* est une bactérie impliquée dans la survenue et les récives des gastrites et ulcères gastro-duodénaux. Des travaux réalisés in vivo et in vitro indiquent que les bactéries lactiques peuvent inhiber la croissance de *Helicobacter pylori* et diminuer l'activité uréasique nécessaire pour que l'agent pathogène reste dans le milieu acide de l'estomac (**FAO/OMS, 2001**).

## **Partie expérimentale**

### **Chapitre 1 : Matériel et Méthodes**

L'ensemble de ce travail a été réalisé au niveau de :

- la Semoulerie Industrielle de Mitidja pour faire un échantillonnage en matière de blé et farine durant les mois de Novembre au Décembre 2016 ;
- laboratoire de Microbiologie de l'Université de Khemis-Miliana pour isoler et caractériser des bactéries lactiques du mois de Février au Mai 2017.

### **Semoulerie Industrielle de la Mitidja**

#### **Historique :**

L'Entreprise a été fondée en 1990 par Monsieur TAIEB EZZRAIMI Abdelkader en tant que petite société familiale dans le domaine de la Minoterie-Semoulerie où elle a fait office de pionnière en sa qualité de première société privée dans cette filière d'activité en Algérie.

D'une dimension familiale modeste à sa création, la société SIM a connu dès ses premières années d'activité une croissance active et soutenue pour s'ériger actuellement en un groupe industriel, commercial et financier d'une envergure nationale largement consacrée.

Outre l'extension et le développement de sa première filiale dans L'Agro-alimentaire; le Groupe SIM-SPA a élargi ses activités vers d'autres créneaux par la création de plusieurs filiales.

#### **Secteur Industriel :**

- Une filiale meunerie.
- Une filiale eaux minérales, jus, conserves et boissons.

#### **Secteur de la santé :**

- Une clinique Médico-chirurgicale.(Clinique Amina).

#### **Secteur de la construction :**

- Une filiale dédiée à la promotion immobilière et à la gestion d'infrastructures sportives et de détente.

**Secteur de l'enseignement de la formation:**

- Un complexe scolaire de différents paliers.
- Deux instituts de management.

**Participation et partenariat du groupe :**

- Société mixte (Sonatrach-Sonelgaz-Sim) dédiée au développement des énergies renouvelables.
- Société mixte Algéro-Italienne dédiée à la fabrication d'équipement et d'accessoires de meunerie.
- Société mixte Algéro-Française dédiée à l'aliment de Bétail.

**Effectif globale du groupe : 2.200 agents.**

La Semoulerie Industrielle de la Mitidja (Filiale agroalimentaire) est située à la zone industrielle de AÏN ROMANA commune de MOUZAÏA. Elle est érigée sur un terrain de 120.000 m<sup>2</sup> dont 70.000 m<sup>2</sup> couverts et emploie 900 personnes dont 90 cadres et 555 ouvriers d'exécution.

**La capacité de trituration est de 25 000 Q/Jour, répartis comme suit :**

- Semoulerie (blé dur) : 15.000 Q/Jour.
- Semoulerie (blé tendre) : 10.000 Q/Jour.
- Pâtes et couscous : 6.500 Q/Jour.
- Les sites d'Aïn Romana et Aïn Defla concourent respectivement à la production à hauteur de 22.500 Q/Jour et 2.500 Q/Jour.

**La capacité de production de l'usine se présente comme suit :**

- Semoule et farine : 2.500 tonnes/Jour.
- Pâtes alimentaires : 400 tonnes/Jour.
- Couscous : 155 tonnes/Jour.
- Aliments du bétail : 600 tonnes/Jour.

Cette production est assurée par :

- 3 semouleries.
- 3 minoteries.
- 4 lignes de production de pâtes longues.
- 6 lignes de production de couscous.
- 1 unité d'aliments du bétail.

1 ensemble de silos de stockage de 85.000 tonnes.

Les produits SIM conformes aux normes ISO 9001-2000 (semoule, farine, pâtes alimentaires, couscous) sont aujourd'hui vendus en France, Canada, Soudan, Niger, Mali, Tchad, Egypte, Sénégal, Libye.

### **AGRO SIM :**

Filiale chargée de l'approvisionnement en céréales pour les besoins propres du groupe et ceux du marché algérien.

Situé sur l'axe routier principal à AÏN DEFLA et proche des ports de Mostaganem et TENES, ce site de 20.000 m<sup>2</sup> abrite des silos de 80.000 tonnes, des silos de 10.000 tonnes à TENES, des silos de 65.000 tonnes à MOUZAÏA et un laboratoire moderne de contrôle et d'agrèage des arrivages de blés et d'analyses bactériologiques.

### **1. Matériel :**

Pour la réalisation de différentes parties expérimentales, on s'est servi le matériel suivant :

#### **1.1. Matériel biologique :**

##### **1.1.1. Blé :**

Trois types du blé ont été utilisés : blé dur Algérien (**B**), blé dur Canadien (**B'**) et blé tendre Français (**B''**).

- L'échantillonnage de blé est fait à partir des grands silos en métal fermés. Les échantillons sont conservés dans des sacs en papier.

##### **1.1.2. La farine :**

Le type de la farine utilisé c'est la farine panifiable (**F**). L'échantillonnage de la farine est aussi effectué au niveau de la semoulerie et directement à partir de l'appareil cylindre, dans des sacs.

#### **1.2. Milieux de culture :**

Les milieux de cultures utilisés au cours de cette étude expérimentale sont les suivants (**Tableau VI**).

**Tableau VI.** Les milieux de cultures utilisés.

Les milieux de cultures	Leurs rôles
Gélose MRS	L'isolement des bactéries lactiques
Gélose VF	La recherche de type respiratoire des bactéries isolées
Gélose au tellurite	La recherche de la résistance au tellurite
Gélose au lait	L'activité protéolytique
Gélose au jaune d'œuf	La recherche de lecithines
Gélose au sang	Test d'hémolyse
Gélose KMK	La recherche de la citratase
Gélose au Tween 80	L'activité lipolytique

## 2. Méthodes:

### 1. Analyse de l'échantillon:

Des échantillons du blé dur, blé tendre et farine prélevés de la Semoulerie Industrielles de la Mitidja ( au nombre de trois échantillons pour le blé), ayant subi des tests pour prendre une idée sur la qualité du blé et de la farine prélevées avant d'entamer l'isolement des bactéries lactiques.

#### 1.1 Aspect visuel:

C'est le contrôle du blé arrivé de CCLS à l'usine, pour connaître le type de blé ( dur ou tendre) et aider aussi pour la destination de nos produits.

#### 1.2. Etapes de nettoyage :

Après la première étape, une quantité du blé arrivée est prélevée pour l'agrégage.

**Agrégage :** c'est une méthode à travers laquelle on peut obtenir des grains de blé sains c'est-à-dire tous ce qui n'est pas du blé (grain métadiné, orge, impurité, piqué, coloré, grain de nigelle...) et aussi des grains maigres ou bien écrasés. On les sépare au début par l'utilisation des tamis à diamètre de 1.9mm pour le blé dur et 2mm pour le blé tendre, et ensuite on termine par une séparation manuelle (**Figure 20**).



**Fig. 17** : L'étape d'agrégage.

### **1.3. Analyses biochimiques :**

Pour déterminer les différents compositions biochimiques du blé, à l'aide d'un appareil qui s'appelle **Infratec** qui nous donne le pourcentage de : protéine, amidon, humidité, zéline et gluten. Ces derniers ont un rôle pour connaître l'origine de blé arrivée et sa qualité.

### **2.1 : Préparation de l'échantillon à analyser:**

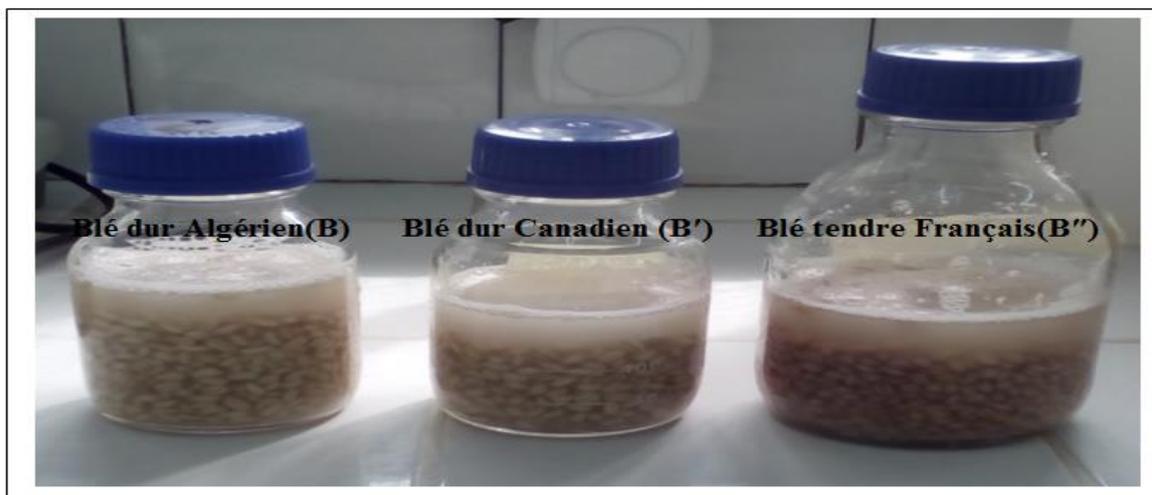
#### **A- Fermentation de blé :**

Une fermentation de 600g de blé a été réalisée dans une zone stérile au niveau de laboratoire microbiologique de SIM, dont on prend à l'aide d'une pipette graduée 15ml de l'eau physiologique et 15ml de vinaigre de 95° mélangé dans des flacons stériles à couleur sombre. On met ces flacons dans un endroit humide et à l'obscurité pour une période de 2 à 4 mois (**Kermiche, 2013**).

#### **B- La préparation de la solution mère:**

- 1- On verse dans un flacon stérile 200 ml d'eau distillée stérile et une quantité de 60g de blé. On met ces flacons dans un endroit humide et à l'obscurité de 48h à 72h.
- 2- Dans un flacon contient 60g de blé stérile on verse une quantité de 100mL de vinaigre et 100mL de l'eau distillée stérile, les flacons misent dans un endroit humide à l'obscurité de 48h à 72h.

Pour obtenir la solution mère on écrase dans un mortier les grains de trois types de blé qui sont déjà très humides.



**Fig. 18** : les trois types du blé après fermentation.

### C- La solution mère de la Farine à analyser:

Sous conditions d'asepsie, on mesure 1g de la farine (**SIM**) dans une capsule en verre stérile et à l'aide d'une micropipette on verse 3ml de l'eau physiologique.

#### 2.2. Isolement et purification des bactéries lactiques :

Les genres étudiés sont mis en évidence sur le milieu MRS , milieu complexe et riche, a été utilisé pour la plupart des précultures et cultures (**Terzaghi and Sandine, 1975**).

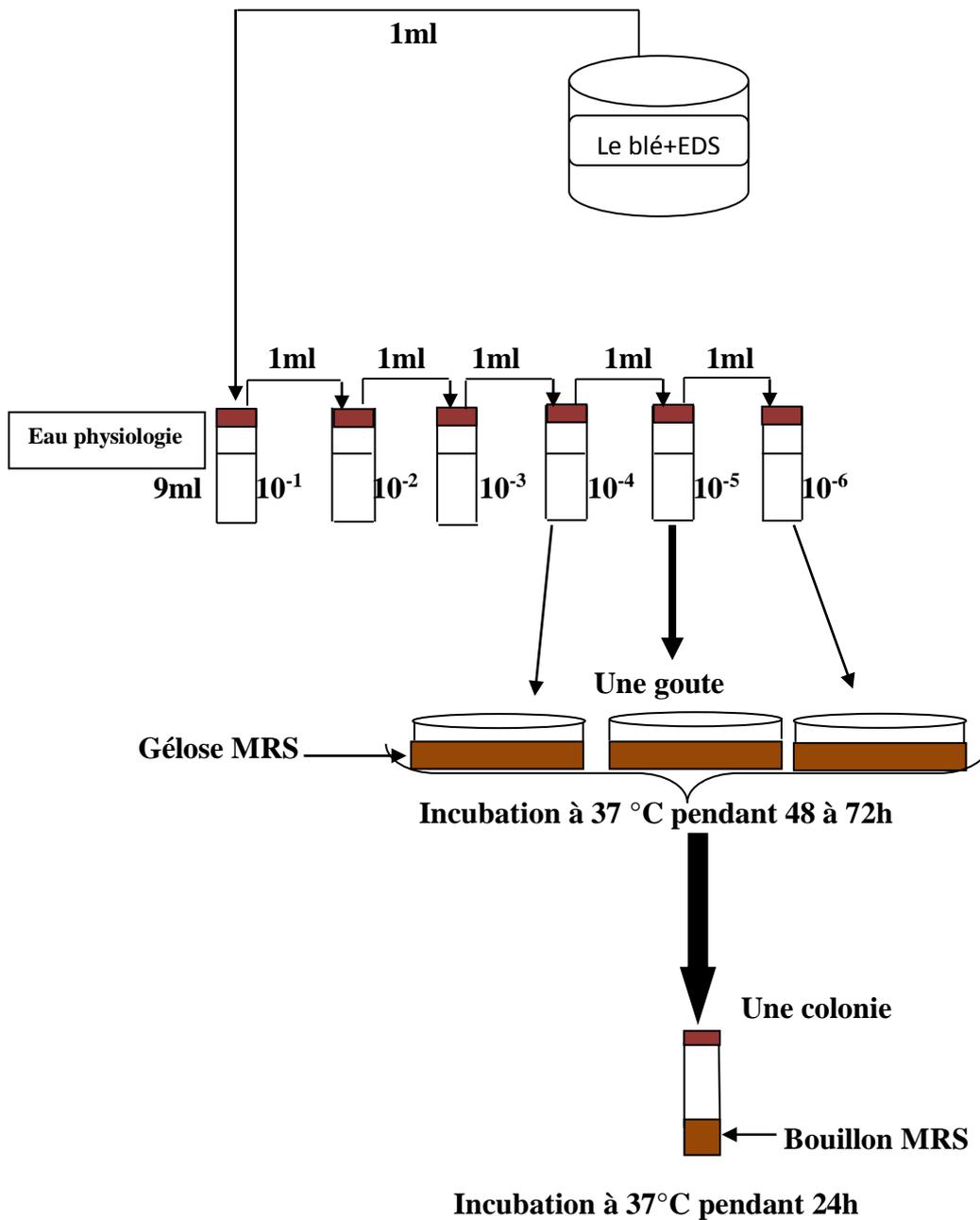
A partir de chaque solution mère (des produits à analyser), des dilutions décimales jusqu'à  $10^{-6}$  sont réalisées :

- Repartir stérilement 9ml de diluant(l'eau physiologique) dans une série de tubes ;
- Agiter la solution mère pour assurer une répartition homogène des micro-organismes ;
- Prélever 1ml de la solution à analyser et transférer dans le tube n°1 ;on obtient ainsi la dilution  $10^{-1}$  ;
- Après agitation, prélever 1ml de la dilution  $10^{-1}$  et transférer dans le tube n°2 pour obtenir la dilution  $10^{-2}$  et ainsi de suite jusqu'à l'obtention de différentes dilutions (  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$ ).

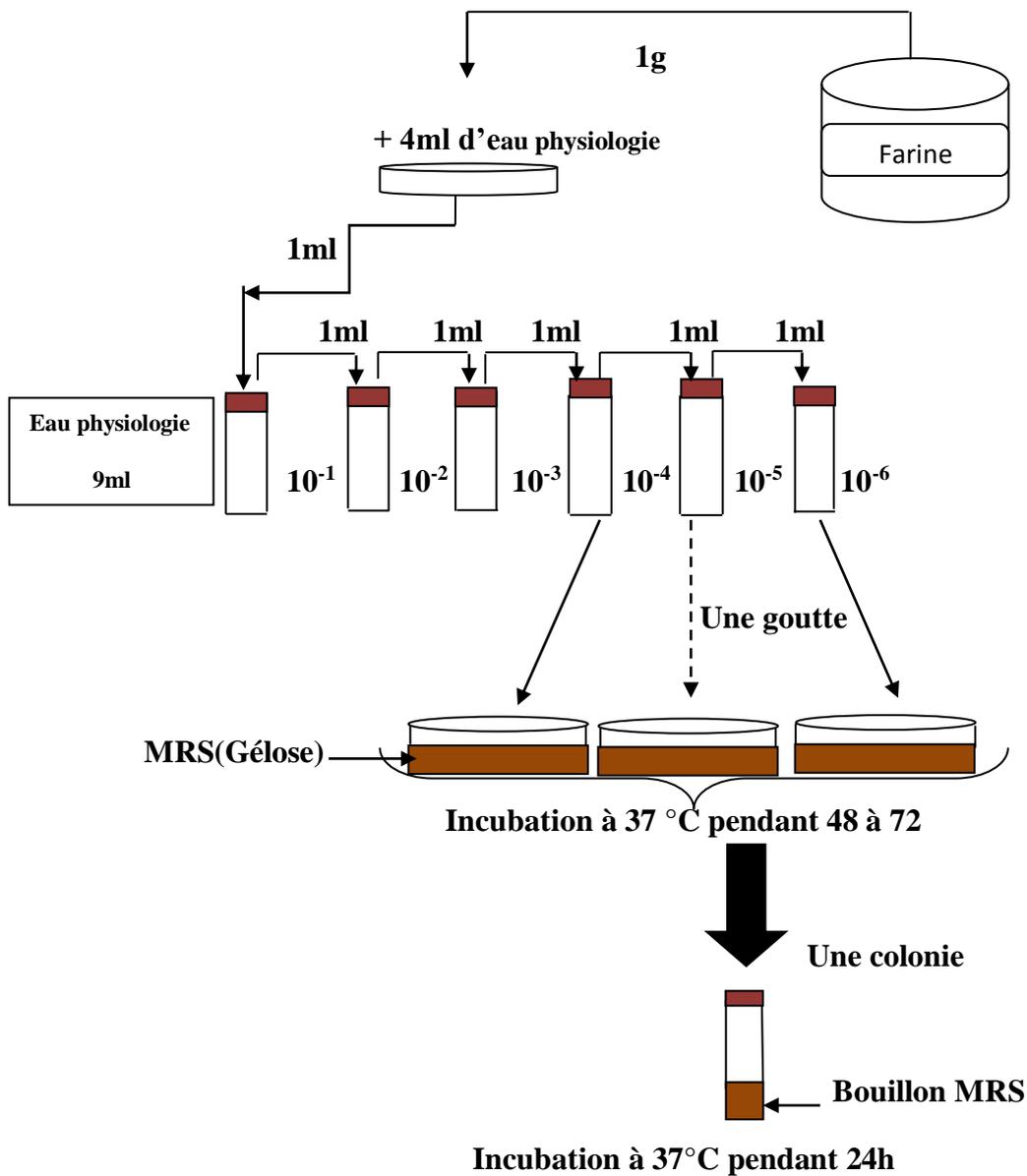
A partir de la dernière dilution, des boîtes de Pétri contenant de la gélose MRS(6 à 9ml du gélose été coulé) sont ensemencées en surface par les dilutions  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$ et  $10^{-6}$ .

L'incubation des boîtes de Pétri se fait à  $37^{\circ}\text{C}$  pendant 24 à 48h. Une colonie bien distincte a été prélevée aseptiquement et mise dans le bouillon MRS et incubée à  $37^{\circ}\text{C}$  pendant 24h.

Plusieurs repicages ont été faits pour obtenir une souche pure. Les souches pures ont été conservées dans le bouillon MRS. On obtient l'inoculum avec lequel nous avons réalisé tous les tests (Figure 18 et 19)(Guertarni, 2013).



**Fig .19 :** Isolement des bactéries lactiques à partir du blé (avec et sans vinaigre) (SIM) sur gélose MRS et repiquage sur bouillon MRS.



**Fig. 20** : isolement des bactéries lactiques à partir de la farine(SIM) sur gélose MRS et repiquage sur bouillon MRS.

Après la purification on réalise différents tests pour caractériser et identifier les souches obtenus lors de l'isolement.

### **2.3. Identification des bactéries lactiques isolées :**

#### **2.3.1. Examen macroscopique et microscopique :**

La coloration de Gram a été utilisée pour classer les bactéries selon leur Gram, leur morphologie et leur mode d'association (**Belarbi, 2015**), les colonies obtenues sont observées au microscope optique après fixation d'un frottis et la coloration de Gram, qui ce fait en 3 étapes :

- Dans un premier temps, les cellules sont colorées avec du violet de gentiane pendant deux minutes. Ce colorant présente des affinités avec les composants du cytoplasme ; par conséquent les cellules se colorent en bleu-violet quelle que soit le type de paroi. Après rinçage à l'eau déminéralisée, une solution d'iodo-iodurée (lugol) est étalée sur les cellules pour fixer la couleur. Après 30 secondes, les cellules sont à nouveau rincées à l'eau déminéralisée. Dans un deuxième temps, une décoloration est réalisée par rinçage avec de l'éthanol à 95% (15s). Pour terminer, une recoloration à la fuchsine est réalisée (10s). (**Guetarni, 2013**). Seuls les isolats catalase négatives et Gram positifs sont retenus pour une identification (**Labioui et al, 2005**).

#### **2.3.2. Tests biochimiques et physiologiques :**

Touts les tests sont réalisés sur des cultures jeunes préparées à partir des souches conservées. Une culture sur bouillon MRS est préparée, dont on prélève, à l'aide d'une anse de platine stérile, quelques colonies qui sont ensuite incorporées dans le tube contenant le bouillon MRS préalablement stérilisé et incubées à 37°C pendant 24 à 48h (**Tableau VII**).

**Tableau VII :** Tableau représentatif les tests biochimiques et leurs objectifs

Test	Objectif
Recherche de la catalase	La capacité de la décomposition du peroxyde d'hydrogène par les souches isolées
Recherche de l'oxydase	La cytochrome oxydase ou oxydase est une enzyme de la chaîne respiratoire bactérienne qui catalyse des réactions d'oxydation .
Recherche du nitrate réductase	Pour connaître si la bactérie capable de réduire le nitrate en nitrite
Mannitol-Mobilité	Permet de voir si la bactérie capable de fermenter le Mannitol et en parallèle l'étude de la mobilité de celle-ci.
Recherche de type respiratoire	permet de classer les bactéries selon leur type respiratoire
La croissance en milieux hostiles	<ul style="list-style-type: none"> <li>-La tolérance à pH 4.5 et 6.5% et celle de NaCl (2, 4, 6%).</li> <li>- Thermorésistance à 65°C.</li> <li>- Résistance au tellurite.</li> <li>- Culture sur lait de Sherman (au bleu de méthylène)</li> </ul>
La recherche de type fermentaire	Permet de classer les bactéries isolées hétéro ou homofermentaires.
Test à l'urée	la recherche de la présence de l'enzyme uréase et triptophanase.
La recherche de l'ADH, LDC et ODC	Si la bactérie possède l'arginine dihydrolase, lysine et ornithine décarboxylase.
L'utilisation du citrate	La capacité d'utilisé de citrate par les bactéries isolées
La production d'acétoïne	Permet de voir si la bactéries est capable de produire de l'acétoïne

Test	Objectif
Culture sur lait tournesolé	Observer si la bactérie capable de coaguler, acidifier et réduire la teinture de tournesol.
La recherche de gélatinase	basé sur la recherche de gélatinase chez les bactéries isolées.
Test d'hémolyse	Pour voir si les isolats sont capables d'hydrolyser les globules rouges ou non
Recherche de la $\beta$ -galactosidase	La présence de l'enzyme de $\beta$ -galactosidase
Test TSI	La fermentation des trois sucres (Saccharose, lactose et glucose)
Etude de profil fermentaire	Basé sur la fermentation des différents sucres par les bactéries isolées

#### ***Test de la catalase :***

Le test de la catalase sert à démontrer si la bactérie possède l'enzyme catalase servant à décomposer le peroxyde d'hydrogène.

L'activité catalytique consiste à prélever une colonie sur gélose MRS et dissociée dans une goutte d'eau oxygénée ( $H_2O_2$ ) à 10 volumes ; l'apparition de bulles révélant le dégagement d'oxygène (Ahmed et Irene, 2007).

#### ***Test de l'oxydase :***

Ce test détecte un type particulier de chaîne respiratoire qui comporte en fin de chaîne un cytochrome C et l'oxydase associée.

Une petite surface de papier filtre est humectée avec quelques gouttes de réactif de l'oxydase de Kovacs et on y étale une petite quantité de cellules bactériennes. Les espèces oxydase-positives donnent une coloration violette immédiatement ou dans les 10 secondes (Savadogo, 2004).

#### ***Recherche de la nitrate-réductase :***

Cette enzyme est capable de catalyser la réaction de réduction des nitrates ( $NO_3^-$ ). A une culture en milieu nitratéensemencé et incubé à  $37^\circ C$ , on rajoute le réactif nitrate I (acide sulfanilique), puis le réactif nitrate II ( $\alpha$ -naphtylamine). La coloration en rouge indique que le nitrate est dégradé par la bactérie.

C'est il y a une absence de coloration on ajoute la poudre de zinc, après environ 5 minutes, l'absence de coloration la bactérie a Nitrate positif, la bactérie réduisent les

nitrites jusqu'au stade azote gazeux et la coloration en rouge ou rose indique que la bactérie ne possède pas le nitrate réductase (**Larpent, 1997**).

#### ***Test Mannitol-Mobilité :***

Le test permettant de rechercher simultanément la fermentation du mannitol et l'étude de la mobilité de la souche. L'ensemencement du milieu s'est fait par piqûre centrale dans le culot jusqu'au fond du tube. Après 24h à 37°C d'incubation, la fermentation du mannitol se révèle par une acidification du milieu qui fait virer l'indicateur de pH au jaune.

La mobilité se traduit par la diffusion des bactéries à partir de la ligne d'ensemencement vers la périphérie, en créant une turbidité. Les bactéries immobiles poussent uniquement le long de la piqure centrale (**Amara et Khaladi, 2015**).

#### ***Type respiratoire:***

D'après **Benslimani, (2006)**, ce test nous permet de classer les bactéries selon leur type respiratoire en 4 catégories principales selon les résultats : aérobies, anaérobies, aéro-anaérobies et micro aérophiles.

Nous utilisons pour ce test la gélose profonde de type viande-foie(VF) répartie en tubes en culot. On ensemence le milieu à l'aide d'une pipette Pasteur que l'on prolonge au fond du tube puis que l'on remonte en décrivant une spirale de façon à ensemenecer uniformément le milieu sur toute la hauteur. Le milieu est mis à incuber à 37°C pendant 48 heures.

Après l'incubation la lecture est :

- Les bactéries aérobies strictes se développent seulement en surface.
- Les bactéries anaérobies strictes se développent au fond du tube.
- Les bactéries aéro-anaérobies facultatives se développent sur toute la hauteur.
- Les bactéries micro-aérophiles se développent dans une zone intermédiaire.

#### ***Croissance en milieu hostiles :***

##### **• La culture à pH 4.5 et 6.5% et en présence de NaCl à 2, 4, 6% :**

Un milieu hypersalé à différentes concentrations de NaCl(2, 4, 6%) et le milieu MRS à 4.5 et 6.5% sont ensemencées et incubées à 37°C pendant 24h. On apprécie la croissance par l'apparition d'un trouble (**Belarbi, 2011**).

##### **• Thermorésistance :**

La termorésistance est réalisée avec un chauffage du milieu MRS liquide ensemencé par la culture bactérienne à une température de 60°C pendant 30 min (**Stiles et Holzapfel, 1997 ; Teuber et Geis, 2006**). Mettre à l'étuve 24h à 37°C, La présence de trouble indique la croissance ( **Belarbi, 2011**).

• **Résistance au tellurite :**

La tolérance au tellurite a été recherchée par ensemencement en stries, la gélose à 0.4% de tellurite de potassium, par les cultures à tester. Après une période de 24h d'incubation à 37°C, les bactéries résistantes donnent des colonies noires (**Larpen, 1997**).

• **Culture sur lait de Sherman :**

Ce test indique l'aptitude des bactéries à pousser en présence de bleu de méthylène qui est en milieu très oxydant. Le bleu de méthylène est décoloré par les germes possédant une activité réductasique et peuvent coaguler le lait. Un tube du lait à 1% de bleu de méthylène est ensemencé et incubé à 37°C pendant 48 h à 72 h (**Ghozlan, 2012**).

**Type fermentaire :**

Ce test permet de préciser le type de métabolisme fermentaire réalisé par le micro-organisme pour transformer le substrat carboné, il consiste à mettre en évidence la formation de gaz (CO<sub>2</sub>). De jeunes souches préalablement préparées sont ensemencées dans des tubes contenant du bouillon MRS, avec une cloche de Durham. Après incubation à 37°C pendant 24 à 48 heures, la présence ou l'absence du gaz dans la cloche indique le type fermentaire (**Hariri et al, 2009; Leksir, 2012**).

**Test à l'urée :**

Les tubes contenant de l'urée indole sont ensemencés par les bactéries lactiques et incubées à 37°C pendant 18h à 24h, la résultat positive est interprétée par le changement de couleur de l'orange au rose (**Guertani, 2013 ; Khaladi, 2015**).

**Recherche de l'arginine dihydrolase (ADH), lysine décarboxylase (LDC) et ornitine décarboxylase (ODC) :**

Elle est mise en évidence sur un milieu de Moeller (**Moeller, 1955 ; Harrigan et McCance, 1976**), pour chaque souche isolée ensemencé. Ce milieu ne renferme qu'un seul acide aminé, celui dont on veut étudier recouvrir le milieu avec l'huile de paraffine stérile afin de créer une anaérobiose relative.

Après 2 à 6 jours d'incubation à 37°C virage du milieu au jaune due à l'acidification du milieu par la fermentation du glucose (**Larpent- Gourgaude et al. 1997 ; Carr et al. 2002**). La dégradation de « l'arginine, lysine, ornithine » aboutissant à la formation d'ammoniaque est révélée par realcalination du milieu qui revient à sa couleur initiale (violette) (**Belarbi, 2012**).

#### ***Utilisation du citrate :***

L'utilisation du citrate est étudiée sur milieu Kempler et Mc Kay(1980). Ce milieu contient une solution de ferricyanure de potassium et une solution de citrate ferrique. La présence du citrate dans le milieu inhibe la réaction entre l'ion ferrique et le potassium ferricyranide. Les colonies bleues au ayant un centre bleu (après 48h à 72h d'incubation) les colonies incapables de fermenter le citrate restent blanches (**Belarbi, 2012; Brahimi, 2015**).

#### ***La production d'acétoïne :***

La production d'acétoïne est testée sur milieu Clark et Lubs (**Samelis et al, 1994 ; Guiraud, 1998**) qui est inoculé par la culture pure incubé à 37 °C. Après 24h et dans un tube à hémolyse on dépose sur cette culture de 2ml, 0.5ml de réactif  $\alpha$ -naphtol à 6% dans l'alcool absolu (VP1) et 0.5ml d'une solution de soude(NaOH) à 16% dans l'eau distillée(VP2) pour assurer la réaction de Voges-Proskauer dite réaction de VP.

On agite soigneusement les tubes et on les laisse contacte avec l'aire libre pendant 5 à 10 min à température ambiante. La production d'acétoïne se traduit par l'apparition d'un anneau rouge à la surface du milieu (**Brahimi, 2015**).

#### ***Culture sur lait tournesol :***

Le milieu est préparé à partir du lait écrémé stérile et additionné de teinture de tournesol jusqu'à l'obtention d'une couleur violette, le pH est ajusté à 7,3.

L'ensemencement est effectué à partir d'une culture dense de la souche étudiée, suivie d'une incubation à 37°C pendant 3 à 5 jours. Ce milieu permet d'observer plusieurs types de réaction :

- Attaque du lactose avec acidification (coagulation de la caséine et virage au rouge).
- Attaque de la caséine avec alcalinisation (virage au bleu).
- Peptonisation de la caséine après ou en dehors de toute coagulation (éclaircissement du milieu ou dégradation du coagulant).
- Réduction du colorant (décoloration) (**Ghozlane, 2012**).

***Test de dégradation de la gélatine :***

Prendre les tubes de gélatine solidifiée (en culot), lesensemencer par piqure centrale dans le culot avec les souches bactériennes. Ces tubes sont incubés à 37°C pendant 48h puis les placer pendant une heure environ à 4°C.

La gélatine étant une protéine liquide à la température d'incubation, il est nécessaire de mettre les tubes au froid avant de les observer (**Delarras, 2007**) :

-milieu liquide : gélatine hydrolysée : Gélatine +

-milieu solide : gélatine non hydrolysée : Gélatine -

***Test d'hémolyse :***

L'hémolyse a été testé sur milieu gélose au sang additionné à 5 ml de sang frais par flacon. Après avoir laissé refroidir le milieu, le prélèvement est frais sur place et les 5 ml sont ajoutés au milieu et mélanger soigneusement puis couler sur boîte. Après ensemencement de nos isolats par stries, on incube à 37°C pendant 24 hs à 48 hs.

Après incubation, le type d'hémolyse a été examiné. Il peut être  $\alpha$  hémolytique « hémolyse partielle » (couleur verte autour des colonies),  $\beta$ -hémolytique « hémolyse totale » (éclaircissement autour des colonies) ou  $\gamma$ -hémolytique « non hémolytique » (le milieu n'est pas modifié) (**Idoui et al, 2009**).

***Recherche de la  $\beta$ -galactosidase :***

Selon **Delarras, 2007** , le test est pratiqué en réalisant une suspension dense de la bactérie testée dans l'eau physiologique puis à l'aide d'une pince flambée et refroidie nous avons ajouté un disque imprégné d'ONPG et nous avons mis les tubes dans l'étuve à 37°C pendant 24 h.

La présence d'une bêta-galactosidase se traduit par la libération de l'orthophényle soluble de couleur jaune qui apparaît après la durée d'incubation.

***Test d'utilisation des sucres sur milieu Triple Sugar Iron (TSI) :***

La pente du milieu TSI est ensemencée par stries et le culot par piqure centrale. Après, une incubation à 37°C pendant 24 h :

- Le virage du culot au jaune traduit la fermentation du glucose.

- La présence de bulles de gaz signifie la fermentation avec production du gaz.

- Le virage de la pente au jaune traduit l'utilisation du lactose ou saccharose ou les deux à la fois.
- Une coloration noire, signifie la production d'hydrogène sulfuré(H<sub>2</sub>S) (**Khaladi et al 2015**).

#### *Etude de profil fermentaire :*

L'étude de la fermentation des sept sucres a été effectuée dans des tubes à essai. On ajoute 9 ml de bouillon BCP auxquels on ajoute 100µl de chaque souche. Les conditions d'anaérobiose sont assurées par l'ajout d'une couche d'huile de paraffine à la surface et l'incubation se fait à 37°C pendant 24 à 48h. Le virage au jaune de l'indicateur de pH du milieu traduit la fermentation du sucre testé (**González et al, 2007**).

### **2.4. Etude de quelques aptitudes technologiques des bactéries lactiques isolées :**

#### *Pouvoir acidifiant*

La mesure de l'activité acidifiante consiste à suivre d'une part l'évolution du pH des différentes cultures en fonction du temps et d'autre part à doser simultanément l'acidité totale par la soude. On commence par la préparation de lait écrémé à 10% dans des tubes. Chaque tube estensemencé par une culture lactique (1ml de de l'inoculum bactérienne dans 10ml de lait écrémé).

Après incubation à 37°C, à un intervalle du temps 2h, 4h, 6h et 8h, on fait le titrage par la soude Dornic (N/9) en présence de 5 gouttes de phénolphtaléine de chaque tube, jusqu'au virage de la couleur au rose pâle persistant au moins 10 secondes.

L'acidité est déterminée par la formule :

$$\text{Acidité (°D)} = V_{\text{NaOH}} \times 10$$

Où :

$V_{\text{NaOH}}$  : Volume de NaOH utilisé pour tirer l'acide lactique contenu dans les 10ml de lait.

La mesure de pH est faite directement par le pH-mètre, en plongeant l'électrode dans le volume du lait. Le pH a été déterminé à chaque fois qu'on procède au dosage de l'acide lactique (**Guertarni, 2013**).

***Pouvoir protéolytique :***

L'activité protéolytique des bactéries lactiques est mise en évidence et comparée sur une gélose au lait 1%. Les bactéries à tester, issues d'une culture jeune, ont étéensemencées à la surface de ces milieux de cultures par touche. Après incubation à 37°C, l'activité protéolytique de ces bactéries se manifeste par l'apparition d'un halo clair autour des colonies (**Brahimi, 2015**).

***L'étude de l'activité lipolytiques :***

- ***Recherche des lipases***

La recherche d'enzymes lipolytiques est effectuée en utilisant un milieu synthétique contenant le Tween 80 (Annexe 02). La présence d'enzymes lipolytiques se distingue par la formation d'un précipitât autour des colonies en raison de la dégradation du sel de l'acide gras qui constitue le Tween 80 (**Tehreema et al, 2011**). Après un intervalle régulier de 24h d'incubation, les boîtes de Pétri sont examinées afin d'évaluer cette activité.

- ***Recherche de lécithinase***

La lécithinase est une enzyme qui hydrolyse la lécithine. Cette dernière a été décrite par une technique qui consiste à enrichir une gélose ordinaire par l'incorporation d'un jaune d'œuf, le milieu est présenté en boîte Pétri,ensemencé par touches ou faire une strie centrale à la surface du milieu, incuber à 37°C pendant 24h ou plus, la lécithine est révélée par des opacifications de la colonie (**Guiraud, 2003**).

## Résultats et interprétation

### 1. Isolement et caractérisation des bactéries lactiques :

Les étapes d'analyse de nos échantillons prélevés ont montré que ces derniers sont de bonne qualité, ce qui nous a permis de procéder à un isolement des bactéries lactiques. Après une préparation d'une gamme de dilution décimales, 1 mL des dernières dilutions ( $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$ ) a été ensemencé sur gélose MRS (couler 6 à 9 ml de gélose MRS) afin d'isoler des souches de bactéries lactiques. L'incubation se fait à  $37^{\circ}\text{C}$  pendant 48h à 72h.

#### Remarque :

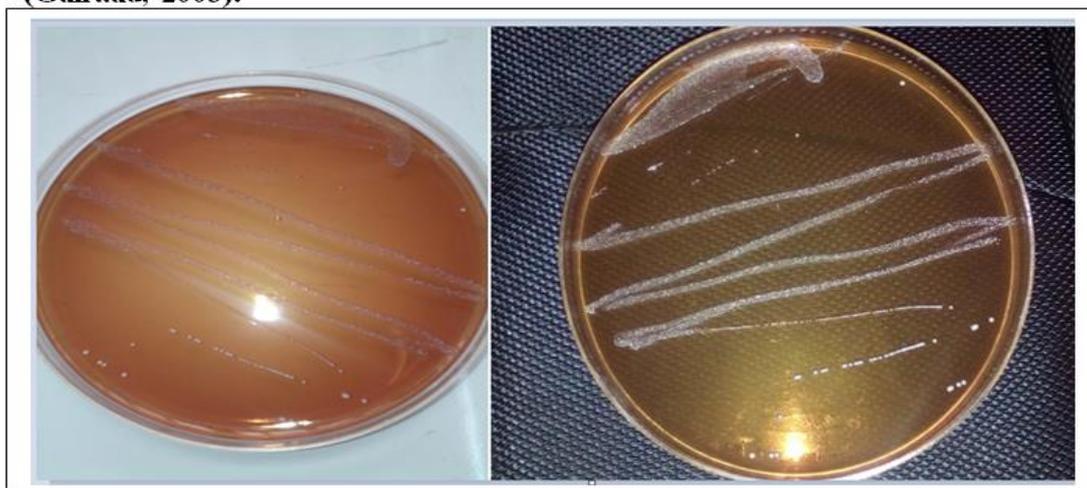
1- Nous n'avons obtenu aucune résultats qui concernant 2ème expérience (blé avec vinaigre et l'eau distillé stérile), nous avons remarqué un changement de couleur par rapport au blé avec l'eau ditillé seulementet avec la présence d'une mauvaise odeur.

2- La farine : **F**/ blé dur Algérien : **B**/ blé dur Canadien : **B'**/ blé tendre Français : **B''**

#### 1.1. Identification des bactéries lactiques isolées :

Après la durée d'incubation, des colonies rondes, blanchâtres et bien visible (**Figure 21**), apparaissent sur gélose MRS.

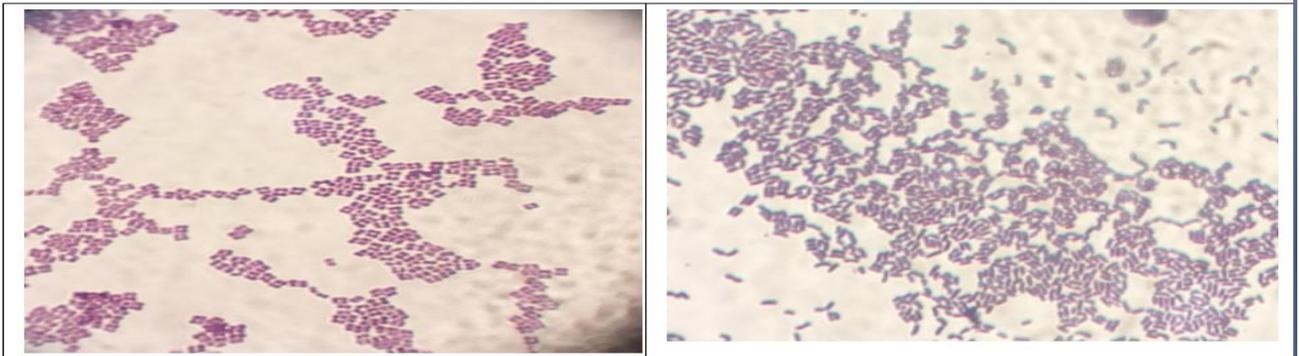
Sur bouillon, les souches présentent un trouble homogène qui caractérise le groupe des bactéries lactiques.



**Fig. 21:** Aspect des colonies ensemencées en surface sur milieu MRS après 48h d'incubation à  $37^{\circ}\text{C}$ .

#### 1.1.1. Aspect microscopique :

L'étude de l'aspect microscopique des frottis préparés à partir des colonies des bactéries lactiques isolées et repiquées plusieurs fois jusqu'à leurs purification après coloration de Gram permet d'éliminer d'éventuels contaminants surtout les levures qui sont présent dans notre cas d'étude et se différencier entre les coques et le bacilles. L'ensemble des bactéries isolées qui sont à Gram positif apparaissent sous microscope optique à 1000 en forme des bacilles associés en chaînettes, des coques en tétrade, diplocoques et en groupe généralement de même taille (**Figure 22**).



**Fig. 22 :** Observation des coques lactiques à gauche, des bacilles lactiques à droite sous microscope optique après coloration de Gram (10X100).

### 1.1.2. Identification physiologiques et biochimiques

#### *Test de la catalase :*

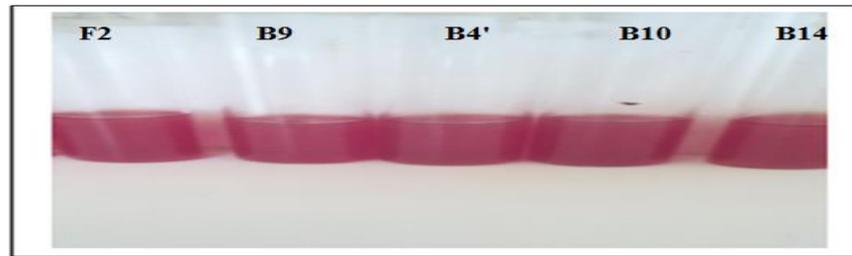
Conformément aux bactéries lactiques, toutes les espèces étudiées ne possèdent pas une catalase c'est-à-dire qu'il y a absence des bulles gazeuses en contact avec l'eau oxygénée sauf pour le cas des souches **F<sub>11</sub>**, **F<sub>12</sub>** et **B<sub>5</sub>** ayant un pseudo-catalase, signifie par un dégagement lent des bulles gazeux .

#### *Test d'oxydase :*

Ce test était négatif pour toutes les colonies testées, les disques d'oxydase sont restés incolores (pas de coloration violette).

#### *Test de manitol mobilité :*

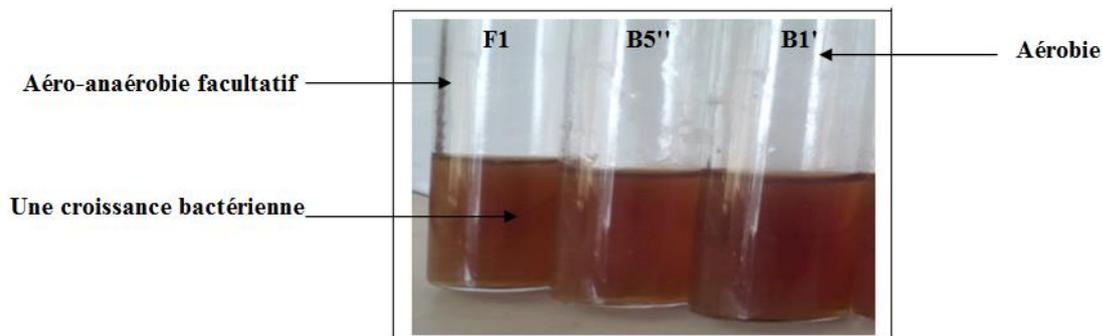
Toutes les bactéries isolées ont été développées sur tout au long de la piqûre sans envahissement du milieu, généralement elles sont immobiles.



**Fig. 23:** Test de manitol mobilité.

### *Test de type respiratoire :*

Sur un milieu VF, c'est un milieu utilisé pour connaître le type respiratoire des bactéries, nous avons obtenu des bactéries aéro-anaérobies facultatives qui sont **F<sub>1</sub>, F<sub>2</sub>, F<sub>3</sub>, F<sub>4</sub>, F<sub>5</sub>, F<sub>6</sub>, F<sub>7</sub>, F<sub>8</sub>, F<sub>10</sub>, B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>5</sub>, B<sub>6</sub>, B<sub>7</sub>, B<sub>9</sub>, B<sub>10</sub>, B<sub>12</sub>, B<sub>13</sub>, B<sub>14</sub>, B'<sub>2</sub>, B'<sub>3</sub>, B'<sub>8</sub>, B'<sub>10</sub>, B'<sub>11</sub>, B'<sub>12</sub>, B'<sub>13</sub>, B''<sub>7</sub>**, est signifié par la présence d'une croissance toute au long de la piquer et sur la surface du milieu, et obtenu des bactérie aérobies **F<sub>9</sub>, F<sub>11</sub>, F<sub>12</sub>, F<sub>13</sub>, F<sub>14</sub>, F<sub>15</sub>, F<sub>8</sub>, B<sub>3</sub>, B<sub>4</sub>, B<sub>8</sub>, B<sub>11</sub>, B'<sub>1</sub>, B'<sub>4</sub>, B'<sub>5</sub>, B'<sub>6</sub>, B'<sub>7</sub>, B'<sub>9</sub>, B'<sub>14</sub>, B''<sub>1</sub>, B''<sub>2</sub>, B''<sub>3</sub>, B''<sub>4</sub>, B''<sub>5</sub>, B''<sub>6</sub>, B''<sub>8</sub>, B''<sub>9</sub>, B''<sub>10</sub>, B''<sub>11</sub>**, dont la croissance est sur la surface seulement.

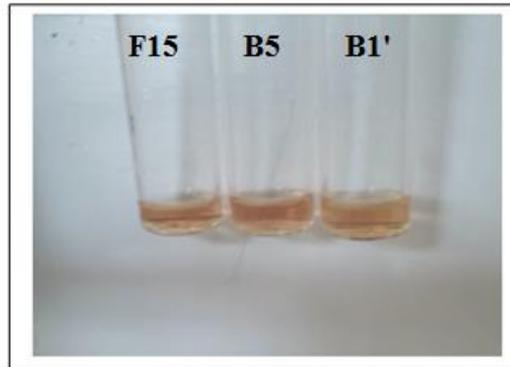


**Fig. 24 :** Le type respiratoire des souches isolées.

### *Test de l'uréase :*

Le test d'uréase est classé parmi les tests sélectifs de la pathogénicité des bactéries, donc les bactéries qui n'ont pas l'enzyme uréase est classées comme des souches non pathogènes. Il est étudié sur un milieu urée indol.

D'après ce test toutes les bactéries étudiées ne possèdent pas l'enzyme uréase alors elles ne sont pas capables de dégrader l'urée .

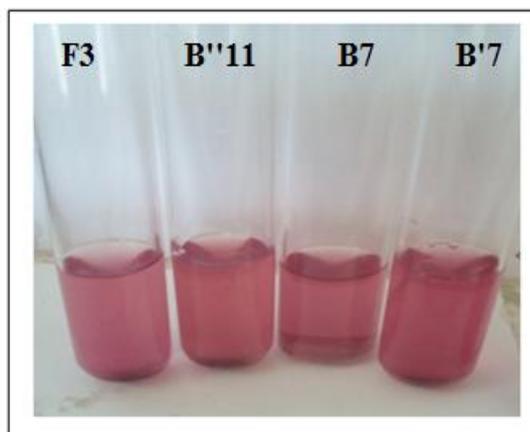


**Fig. 25 :** Test d'uréase.

***Test nitrate réductase :***

On a basé sur ce test pour garder seulement les bactéries qui n'ont pas l'enzyme nitrate réductase par ce que les bactéries lactiques elles ne sont pas classées parmi les bactéries qui dégrade le nitrate en nitrite, le test a été réaliser sur milieu nitraté.

Après l'incubation, les bactéries isolées n'utilisent pas les nitrates comme accepteur final de la respiration à la place de l'oxygène qui conduise à la formation de nitrites, donc elles ne sont pas capables de dégrader le nitrate.



**Fig. 26 :** Test nitrate-réductase.

***La croissance des souches dans des conditions hostiles :***

• **Culture sur milieu hypersalé :**

Sur un milieu hypersalé à différents pourcentage de NaCl (2, 4, 6.5%), nous avons obtenu les résultats suivants :

-A la concentration du 2%, les souches dites **F<sub>1</sub>, F<sub>2</sub>, F<sub>5</sub>, F<sub>6</sub>, F<sub>7</sub>, F<sub>8</sub>, F<sub>9</sub>, F<sub>10</sub>, F<sub>11</sub>, F<sub>12</sub>, F<sub>13</sub>, F<sub>14</sub>, B<sub>1</sub>, B<sub>3</sub>, B<sub>4</sub>, B<sub>7</sub>, B<sub>8</sub>, B<sub>10</sub>, B<sub>11</sub>, B<sub>12</sub>, B<sub>13</sub>, B<sub>14</sub>, B'<sub>1</sub>, B'<sub>3</sub>, B'<sub>4</sub>, B'<sub>5</sub>, B'<sub>6</sub>, B'<sub>7</sub>, B'<sub>8</sub>, B'<sub>9</sub>, B'<sub>10</sub>, B'<sub>11</sub>, B'<sub>12</sub>, B'<sub>13</sub>, B'<sub>14</sub>, B''<sub>1</sub>, B''<sub>2</sub>, B''<sub>3</sub>, B''<sub>4</sub>, B''<sub>5</sub>, B''<sub>6</sub>, B''<sub>7</sub>, B''<sub>8</sub>, B''<sub>9</sub>, B''<sub>10</sub>, B''<sub>11</sub>** peuvent se développer dans ce milieu.

-A une concentration de 4%, les bactéries **F<sub>2</sub>, F<sub>11</sub>, F<sub>13</sub>, B<sub>1</sub>, B<sub>4</sub>, B<sub>8</sub>, B<sub>9</sub>, B<sub>10</sub>, B<sub>12</sub>, B<sub>13</sub>, B'<sub>3</sub>, B'<sub>6</sub>, B'<sub>8</sub>, B'<sub>10</sub>, B'<sub>11</sub>, B'<sub>12</sub>, B''<sub>1</sub>, B''<sub>4</sub>, B''<sub>7</sub>, B''<sub>8</sub>**, peuvent se croître

-A 6.5% de NaCl, les souches **F<sub>2</sub>, F<sub>3</sub>, F<sub>4</sub>, F<sub>5</sub>, F<sub>9</sub>, F<sub>10</sub>, F<sub>11</sub>, F<sub>15</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>6</sub>, B<sub>8</sub>, B<sub>9</sub>, B<sub>10</sub>, B<sub>11</sub>, B<sub>12</sub>, B<sub>14</sub>, B'<sub>1</sub>, B'<sub>2</sub>, B'<sub>3</sub>, B'<sub>4</sub>, B'<sub>6</sub>, B'<sub>7</sub>, B'<sub>8</sub>, B'<sub>9</sub>, B'<sub>10</sub>, B'<sub>11</sub>, B'<sub>13</sub>, B'<sub>14</sub>, B''<sub>1</sub>, B''<sub>2</sub>, B''<sub>3</sub>, B''<sub>4</sub>, B''<sub>6</sub>, B''<sub>7</sub>, B''<sub>8</sub>** et **B''<sub>9</sub>** peuvent se résister et se développer.

- **Croissance à différents pH :**

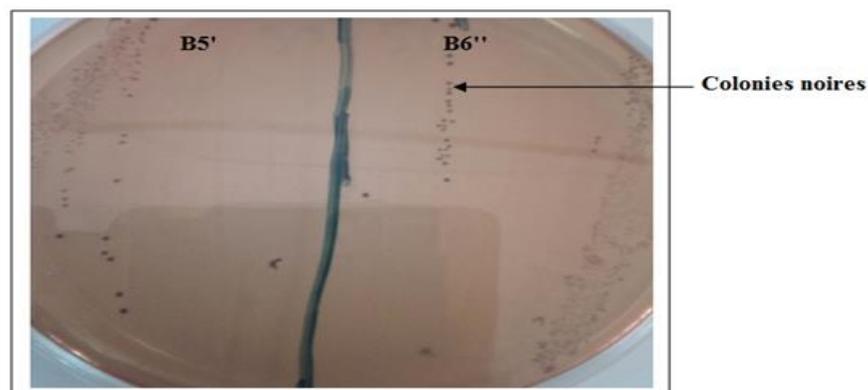
Les souches étudiées sur un bouillon MRS modifié à différents pH (4 et 6.5), peuvent se croître à pH 6.5 mais pas à pH 4.5, seulement les souches **F<sub>2</sub>, B<sub>8</sub>, B<sub>10</sub>, B'<sub>8</sub>, B''<sub>11</sub>** peuvent se résister.

- **Thermorésistance :**

A 65°C et dans le bouillon MRS les isolats suivants résistent bien pendant 30mn : **F<sub>1</sub>, F<sub>2</sub>, F<sub>3</sub>, F<sub>4</sub>, F<sub>6</sub>, F<sub>5</sub>, F<sub>14</sub>, F<sub>15</sub>, B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>3</sub>, B<sub>4</sub>, B<sub>5</sub>, B<sub>6</sub>, B<sub>8</sub>, B<sub>10</sub>, B<sub>12</sub>, B<sub>13</sub>, B'<sub>1</sub>, B'<sub>2</sub>, B'<sub>3</sub>, B'<sub>6</sub>, B'<sub>7</sub>, B'<sub>8</sub>, B'<sub>9</sub>, B'<sub>10</sub>, B'<sub>11</sub>, B'<sub>12</sub>, B'<sub>13</sub>, B''<sub>4</sub>, B''<sub>5</sub>, B''<sub>6</sub>, B''<sub>8</sub>, B''<sub>9</sub>**

- **Résistance au tellurite :**

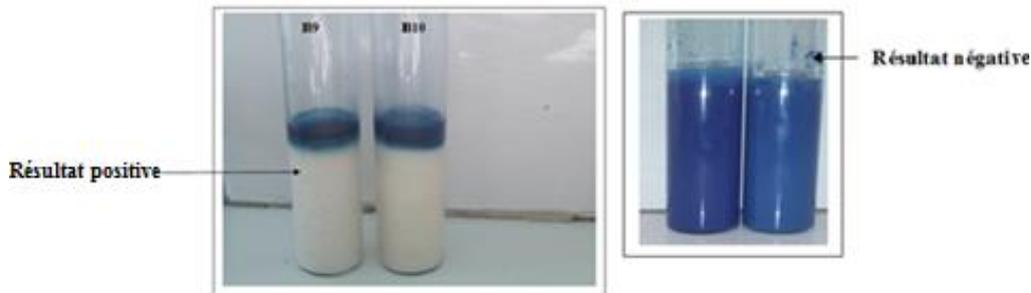
Ce test permet de déterminer la résistance au tellurite, dans ce cas une sensibilisation à ce dernier a été constatée chez toutes les bactéries isolées, exprimé par l'apparition des colonies noires sur gélose MRS additionnée au tellurite.



**Fig. 27:** La résistance des bactéries isolées au tellurite.

### • Culture sur lait de Sherman

A 0.1% de bleu de méthylène dans le lait écrémé, seules les bactéries **F<sub>3</sub>**, **F<sub>11</sub>**, **F<sub>12</sub>**, **B''<sub>5</sub>**, **B'6**, **B<sub>9</sub>**, **B<sub>10</sub>**, **B'7**, **B'9**, **B<sub>12</sub>**, **B'12**, **B'13**, **B<sub>13</sub>**, **B<sub>14</sub>** se développent avec coagulation de lait et réduction du colorant (**Figure**).

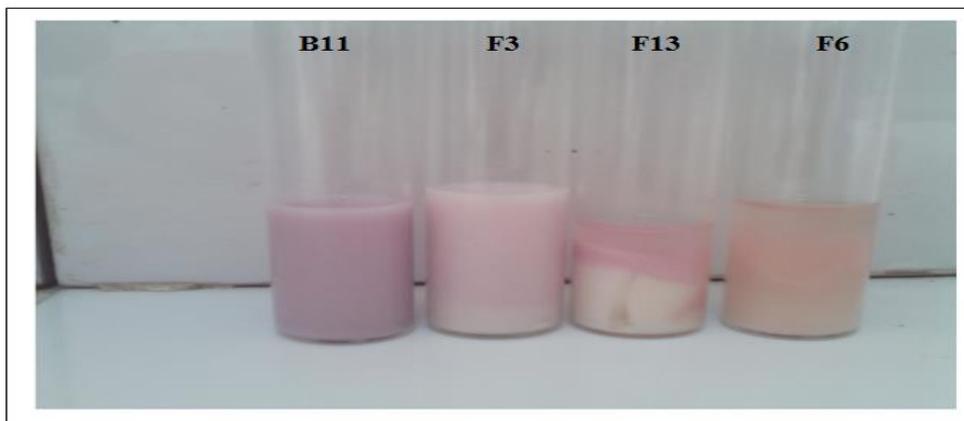


**Fig. 28** : Résultats positifs et négatifs de culture sur lait de Sherman.

### *Recherche de la réductase :*

La recherche de cette enzyme nous a permis de déterminer :

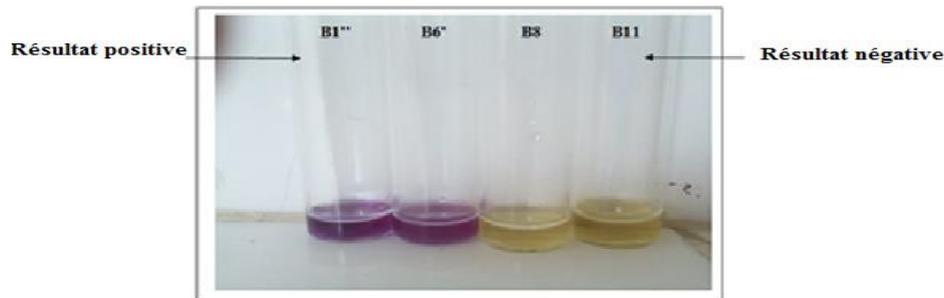
- une coagulation observée chez toutes les bactéries isolées ;
- une décoloration du bleu de méthylène suite à la présence de la réductase chez les bactéries **B'5** et **B'11**.



**Fig. 29:** Les différents résultats de la réductase.

### *Recherche de l'Arginine Dihydrolase (ADH), Lysine Décarboxylase (LDC) et Ornithine Décarboxylase (ODC) :*

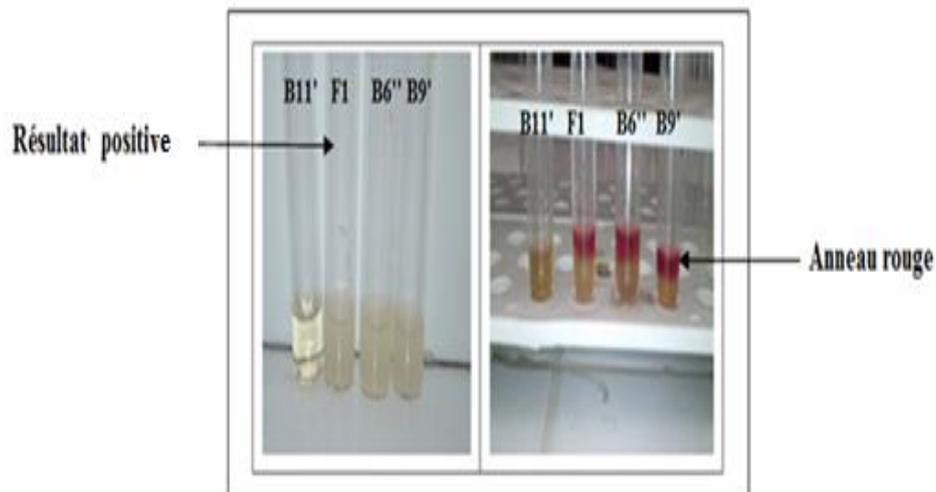
Ce test est réalisé sur milieu Moeller, les résultats positifs se traduisent par une couleur violette qui signifie la présence de dihydrolase et décarboxylase. Le **tableau 1** résume tous les résultats de ce test.



**Fig. 30:** Test négatif et positif de l'arginine dihydrolase

### *Production d'acétoine :*

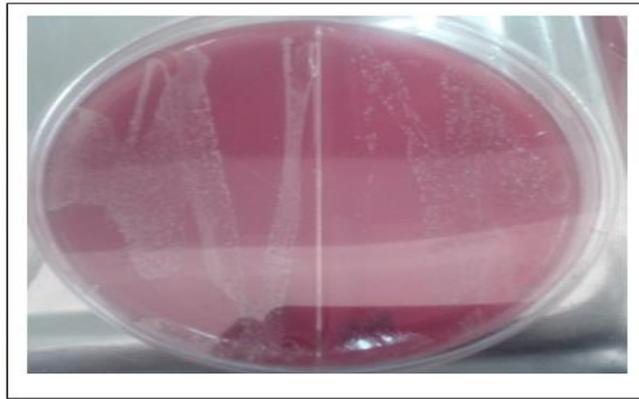
La production d'acétoine est testée sur milieu Clark et Lubs, toutes les bactéries produisent de l'acétoine. Elles sont caractérisées au début par la présence des troubles dans le milieu et ensuite par la formation d'un anneau rouge sur la surface du milieu après l'ajoute des deux réactifs VPI et VPII. **B'14** ne produise pas de l'acétoine( l'absence de l'anneau).



**Fig. 31 :** La croissance de bactéries sur milieu Clark et Lubs et sa production de l'acétoine.

### *Test d'hémolyse :*

Test hémolyse est étudié sur milieu gélose au sang, les bactéries isolées se caractérisent par le type d'hémolyse  $\lambda$ , donc elles sont non hémolytiques.

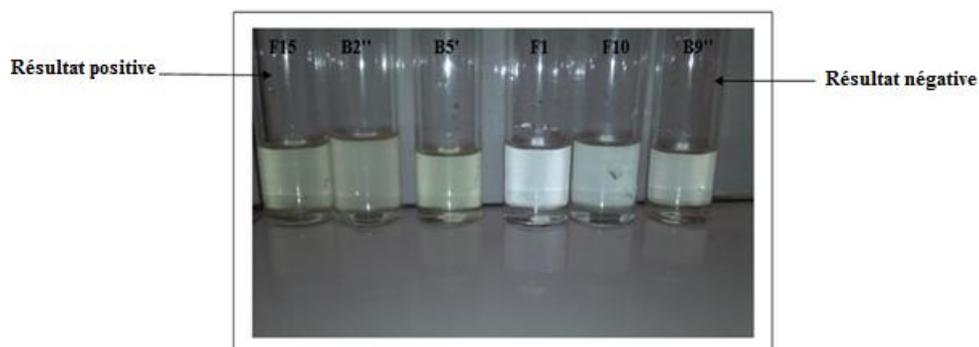


**Fig. 32** : Test d'hémolyse.

### ***Recherche de la $\beta$ galactosidase :***

Le test ONPG est utilisé pour étudier l'existence d'une beta-galactosidase (et donc la possibilité d'acidifier le lactose), indépendamment de la présence ou de l'absence d'une Beta-galactosidase.

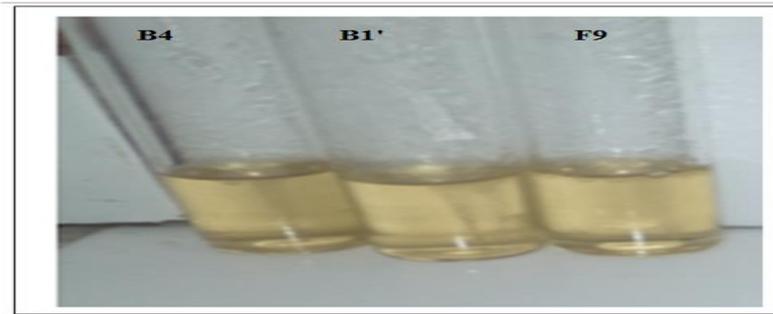
La lecture est après 24 à 48 heures d'incubation. La beta-galactosidase libérée de la cellule bactérienne va agir sur un galactose substitué ; l'orthonitrophénol, qui présente une coloration jaune très stable. Les résultats montrent que seules les souches **F<sub>15</sub>**, **B''<sub>2</sub>**, **B'<sub>5</sub>** possèdent une beta-galactosidase.



**Fig. 33** : Les résultats positifs et négatifs d'ONPG.

### ***Hydrolyse de la gélatine :***

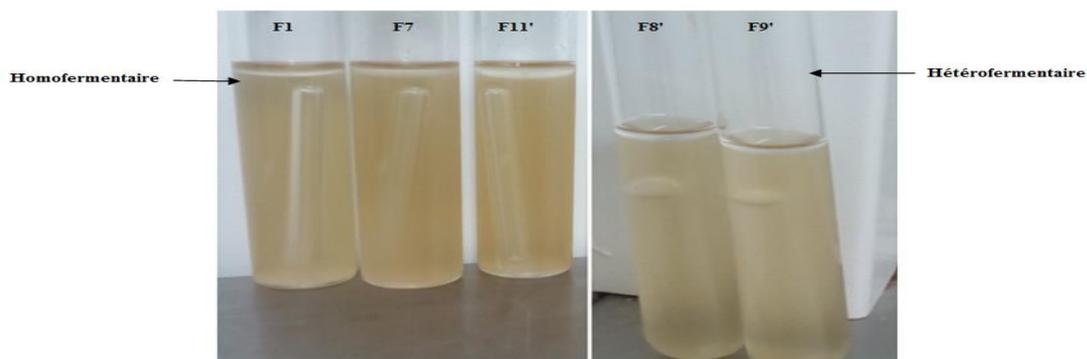
L'hydrolyse de la gélatine se traduit par une liquéfaction de ce produit associée à un développement de trouble comparé à un témoin; ainsi nous avons pu constater que toutes les bactéries isolées dans ce travail n'hydrolysent pas la gélatine.



**Fig. 34** : L'absence de l'hydrolyse de gélatine.

**Recherche de type fermentaire :**

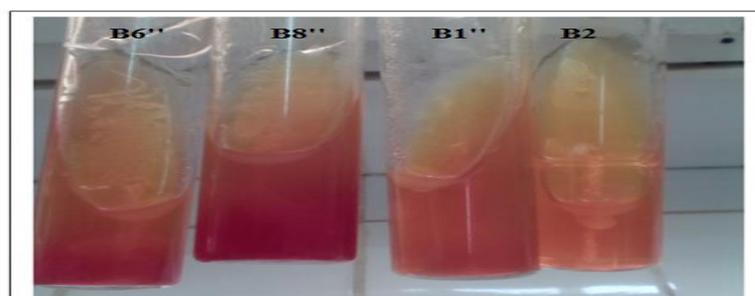
Ce type de test permet de classer les bactéries lactiques selon leurs type fermentaire (Homo ou hétérofermentaire qui est en relation avec la production de l'acide lactique plus des autres substances et dégagement de CO<sub>2</sub>). Les résultats sont représentés dans le **Tableau IX**.



**Fig. 35** : Le type fermentaire des bactéries isolées.

**Test du milieu TSI :**

Ce test montre la fermentation de trois sucres et la production de H<sub>2</sub>S. Le virage de la couleur au jaune au niveau de culot signifie la fermentation de glucose. Au niveau de la pente signifie la fermentation de lactose et saccharose avec absence de H<sub>2</sub>S (pas de noircissement).



**Fig. 36** : Les différents résultats de test TSI

Tableau. VIII: Profil fermentaire des sucres

Souches	Gluc	Lac	Saccharose	Xyl	Fru	Mant	Mal	Dex	Sorb
F <sub>1</sub>	+	+	+	+	+	+	+	+	+/-
F <sub>2</sub>	+	+	+	+	+	+	+	+	-
F <sub>3</sub>	+	+	+	+	+	+	+	+	+/-
F <sub>4</sub>	+	+	+	+	+	+	+	+	+/-
F <sub>5</sub>	+	+	+	+	+	+	+	+	+
F <sub>6</sub>	+	+	+	+	+	+	+	+	+/-
F <sub>7</sub>	+	+	+	+	+	+	+	+	+/-
F <sub>8</sub>	+	+	+	+/-	+	+	+	+	+/-
F <sub>9</sub>	+	+	+	+/-	+	+	+	+	+/-
F <sub>10</sub>	+	+	+	+/-	+	+	+	+	+/-
F <sub>11</sub>	+	+	+	+	+	+	+	+	+/-
F <sub>12</sub>	+	+	+	+	+	+	+	+	+/-
F <sub>13</sub>	+	+	+	+	+	+	+	+	+/-
F <sub>14</sub>	+	+	+	-	+	+	+	+	+/-
F <sub>15</sub>	+	+	+	+	+	+	+	+	+
B <sub>1</sub>	+	+	+	+	+	+	+	+	-
B <sub>2</sub>	+	+	+	+	+	+	+	+	+/-
B <sub>3</sub>	+	+	+	+	+	+	+	+	+/-
B <sub>4</sub>	+	+	+	+	+	+	+	+	+/-
B <sub>5</sub>	+	+	+	+/-	+	+	+	+	-
B <sub>6</sub>	+	+	+	+	+	+	+	+	+
B <sub>7</sub>	+	+	+	+	+	+	+	+	+
B <sub>8</sub>	+	+	+	+	+	+	+	+	+
B <sub>9</sub>	+	+	+	+	+	+	+	+	+/-
B <sub>10</sub>	+	+	+	+	+	+	+	+	+/-
B <sub>11</sub>	+	+	+	+	+	+	+	+	+/-
B <sub>12</sub>	+	-	-	+	+	+	+	+	+/-
B <sub>13</sub>	+	+	+	+	+	+	+	+	+/-
B <sub>14</sub>	+	+	+	+	+	+	+	+	+/-
B' <sub>1</sub>	+	+	+	+	+	+	+	+	+/-
B' <sub>2</sub>	+	+	+	+	+	+	+	+	-
B' <sub>3</sub>	+	+	+	+	+/-	+	+	+	-
B' <sub>4</sub>	+	+	+	-	+	+	+	+	+/-
B' <sub>5</sub>	+	+	+	+	+	+	+	+	+
B' <sub>6</sub>	+	+	+	+	+	+	+	+	+/-
B' <sub>7</sub>	+	+	+	+	+	+	+	+	+/-
B' <sub>8</sub>	-	+	+	+	+	+	+	+/-	+/-
B' <sub>9</sub>	-	+	+	+	+	+	+	+	+/-
B' <sub>10</sub>	+	+	+	+	+	+	+	+	+/-
B' <sub>11</sub>	+	+	+	+	+	+	+	+	-
B' <sub>12</sub>	+	+	+	+	+	+	+	+	-
B' <sub>13</sub>	+	+	+	+	+	+	+/-	+	+/-
B' <sub>14</sub>	+	+	+	+	+	+	+	+	+/-
B'' <sub>1</sub>	+	+	+	+/-	+	+	+	+	-
B'' <sub>2</sub>	+	+	+	+	+	+	+	+	+/-
B'' <sub>3</sub>	+	+	+	+/-	+	+	+	+	+/-
B'' <sub>4</sub>	+	+	+	+	+	+	+	+	+/-
B'' <sub>5</sub>	+	+	+	+	+	+	+	+	+
B'' <sub>6</sub>	+	+	+	+	+	+	+	+	+
B'' <sub>7</sub>	+	+	+	+	+	+	+	+	+/-
B'' <sub>8</sub>	+	+	+	+	+	+	+	+	+/-
B'' <sub>9</sub>	+	+	+	+	+	+	+	+	-
B'' <sub>10</sub>	+	+	+	+	+	+	+	+	+/-
B'' <sub>11</sub>	+	+	+	+	+	+	+	+	+

**Gluc** = Glucose, **Lac**= Lactose, **Xyl**= Xylose, **Fru**= Fructose, **Mant**= Manitol

**Mal**= Maltose, **Dex** = Dextrine, **Sorb**= Sorbitol. + : test positif . - : test négatif . +/- : test intermédiaire

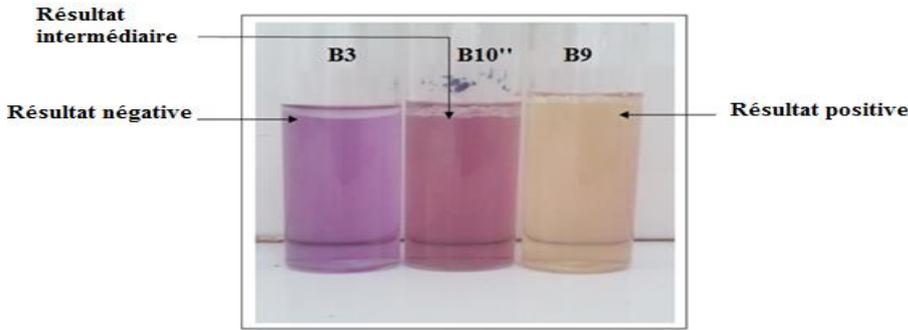


Fig. 37 : Les différents résultats de la fermentation des sucres.

Tableau IX : Profil physiologique et biochimique des souches isolées

Caractères	ONPG	Gélatinase	Lait de Sharmen		Activité lipasique		Lait Tournesolé			Mannitol mobilité	ADH	LDC	ODC	TSI		Type Fermentaire	
			R	C	L	U	C	R	A					L	G	Ho	Ht
F <sub>1</sub>	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	+	-
F <sub>2</sub>	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	+	-
F <sub>3</sub>	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	-	+	-	+	-
F <sub>4</sub>	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	+	-
F <sub>5</sub>	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	+	-
F <sub>6</sub>	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-
F <sub>7</sub>	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-
F <sub>8</sub>	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-	+	-
F <sub>9</sub>	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	+	-	+	-
F <sub>10</sub>	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	-	+	-	+	-
F <sub>11</sub>	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+	+	-
F <sub>12</sub>	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-
F <sub>13</sub>	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	-
F <sub>14</sub>	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+	-	+	-
F <sub>15</sub>	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-
B <sub>1</sub>	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	-	+	-	+	-
B <sub>2</sub>	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-
B <sub>3</sub>	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	-	+	-
B <sub>4</sub>	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-
B <sub>5</sub>	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	-
B <sub>6</sub>	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-
B <sub>7</sub>	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-
B <sub>8</sub>	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	+	-
B <sub>9</sub>	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	+	-

<b>B<sub>10</sub></b>	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-
<b>B<sub>11</sub></b>	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-
<b>B<sub>12</sub></b>	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-	+	-
<b>B<sub>13</sub></b>	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	+	+	-	+	-
<b>B<sub>14</sub></b>	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-
<b>B'<sub>1</sub></b>	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	-	+	-	+	-
<b>B'<sub>2</sub></b>	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	-	+	-	+	-
<b>B'<sub>3</sub></b>	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	+	-
<b>B'<sub>4</sub></b>	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	+	-
<b>B'<sub>5</sub></b>	+	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	-	+	-
<b>B'<sub>6</sub></b>	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-
<b>B'<sub>7</sub></b>	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-
<b>B'<sub>8</sub></b>	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	+
<b>B'<sub>9</sub></b>	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	-	+
<b>B'<sub>10</sub></b>	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	+	-
<b>B'<sub>11</sub></b>	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	-	+	--
<b>B'<sub>12</sub></b>	--	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	+	-
<b>B'<sub>13</sub></b>	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	+	-
<b>B'<sub>14</sub></b>	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-
<b>B''<sub>1</sub></b>	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-
<b>B''<sub>2</sub></b>	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-
<b>B''<sub>3</sub></b>	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+	-	+	-
<b>B''<sub>4</sub></b>	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	-	+	-	+	-
<b>B''<sub>5</sub></b>	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	+	+	-	+	-	+	-
<b>B''<sub>6</sub></b>	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	+	-
<b>B''<sub>7</sub></b>	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	+	-
<b>B''<sub>8</sub></b>	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	+	-
<b>B''<sub>9</sub></b>	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+	-	+	-
<b>B''<sub>10</sub></b>	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	+	+	-	+	-
<b>B''<sub>11</sub></b>	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	+	-

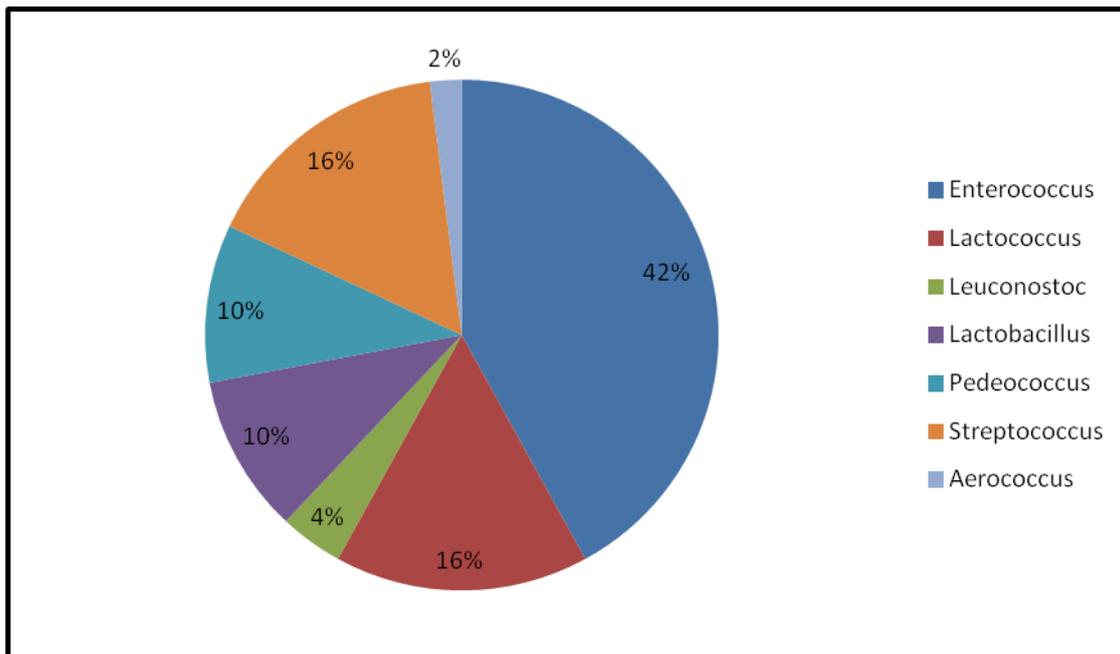
Ho :Homofermentaire / Ht : Hétérofermentaire, C : coagulation / R : Réduction / A :  
 Acidification, G : Glucose / S : Saccharose / L : Lactose, Lip : Lipase / Lctn :  
 Lécithinase, + : test positif / - : test négatif .

D'après les tests faits, nous avons pu isoler 53 bactéries lactiques appartenant aux huit genres et 20 espèces qui sont: *Enterococcus* (39.62%), *Lactococcus*(15.09%), *Streptococcus* (15.09%), *Lactobacillus*(9.43%), *Pediococcus*(9.43%), *Weissella*(3.77%), *Leuconostoc*(3.77%), *Aerococcus*(1.88%).

Ces bactéries isolées sont :

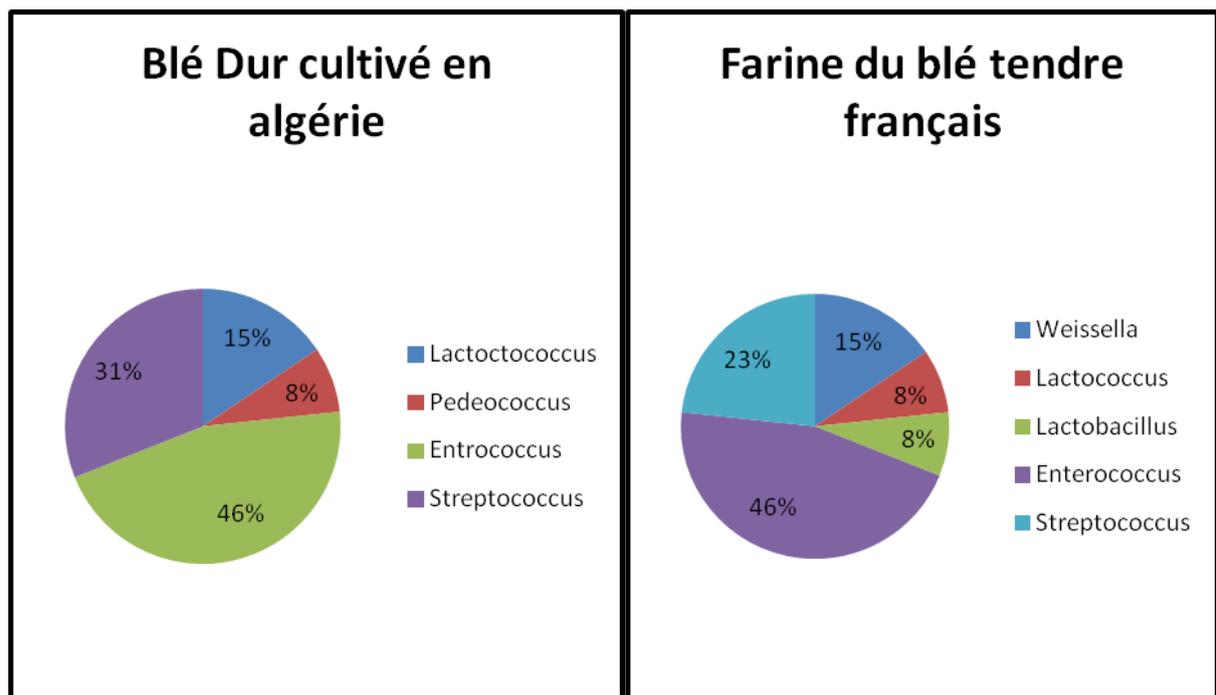
- *Enterococcus saccharolyticus* présenté par **F<sub>2</sub>, F<sub>3</sub>,F<sub>4</sub>, F<sub>9</sub>, F<sub>10</sub>, F<sub>15</sub>, B'<sub>2</sub>, B'<sub>3</sub>, B'<sub>6</sub>, B'<sub>10</sub>, B'<sub>13</sub>,B''<sub>9</sub>**.
- *Enterococcus acidominimus* présenté par **B<sub>2</sub>, B<sub>8</sub>, B<sub>9</sub>, B<sub>10</sub>, B<sub>11</sub>, B<sub>14</sub>, B''<sub>5</sub>, B''<sub>8</sub>**.
- *Lactococcus lactis ssp cremoris* présenté par **F<sub>7</sub>, F<sub>8</sub>**.
- *Lactococcus lactis ssp lactis* présenté par **B''<sub>10</sub>, B''<sub>11</sub>**.
- *Lactococcus plantarum* présenté par **B<sub>7</sub>**.
- *Lactococcus Lactis ssp hordnaie* présenté par **B'<sub>5</sub>**.
- *Lactococcus diacetylactis* présenté par **B<sub>1</sub>**.
- *Leuconostoc mesenteroides subsp dectranicum* présenté par **B'<sub>8</sub>**.
- *Leuconostoc mesenteroides subsp mesenteroides* présenté par **B'<sub>9</sub>**.
- *Lactobacillus casei* présenté par **B'<sub>4</sub>**.
- *Lactobacillus fermentum* présenté par **B'<sub>7</sub>**.
- *Lactobacillus plantarum* présenté par **F<sub>5</sub>**.
- *Lactobacillus brevis* présenté par **B''<sub>1</sub>**.
- *Lactobacillus rhamnosus* présenté par **B''<sub>7</sub>**.
- Streptococcus thermophilus* présenté par **F<sub>1</sub>, F<sub>6</sub>, F<sub>14</sub>, B<sub>3</sub>, B<sub>4</sub>,B<sub>5</sub>, B<sub>13</sub>, B'<sub>12</sub>**.
- *Pedeococcus dextrinicus* présenté par **B<sub>6</sub>**.
- *Pedeococcus acidilactici* présenté par **B'<sub>1</sub>, B'<sub>6</sub>, B''<sub>2</sub>**.
- *Pedeococcus parvulus* présenté par **B'<sub>11</sub>**.
- *Aerococcus ssp* présenté par **B'<sub>14</sub>**.
- *Weissella confusa* présenté par **F<sub>11</sub>, F<sub>12</sub>**.

Cependant, l'identification selon les critères morphologiques, physiologiques et biochimiques nous a permis de mettre en place des genres représentés par des bactéries lactiques dont leur distribution selon le pourcentage d'apparition est illustrée par la **Figure 38**.



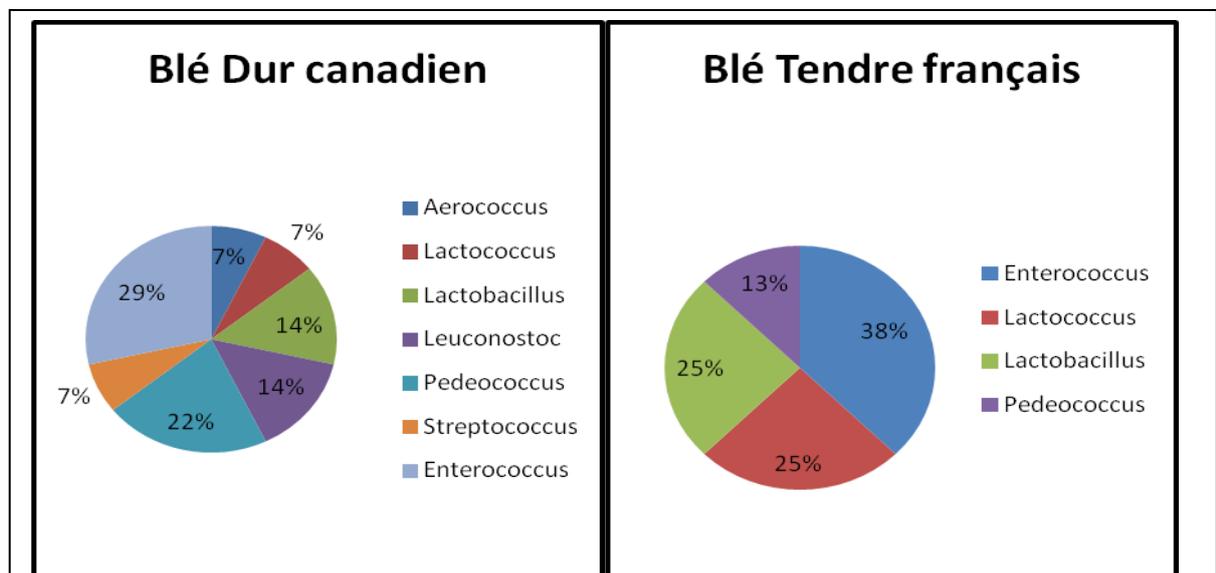
**Fig. 38** : Répartition des bactéries lactiques (%) de blé et de farine.

A partir des résultats de ce travail, nous pouvons noter que les souches *Lactococcus lactis* ssp *cremoris*, *Lactococcus lactis* ssp *lactis*, *Lactococcus plantarum*, *Lactococcus lactis* ssp *hordnaie* et *Lactococcus diacetylactis* occupent 14% des souches isolées, suivie par 10% de *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus rhamnosus* avec un pourcentage de *Pedeococcus dextrinicus*, *Pedeococcus acidilactici*, *Pedeococcus parvilus* à 6% , *Enterococcus saccharolyticus*, *Enterococcus acidominimus* à 4% et *Leuconostoc mesenteroides* subsp *mesenteroides* *Streptococcus thermophilus* *Aerococcus* ssp, *Weissella confusa* à faible pourcentage de 2%.



**Fig. 39 :** Répartition des bactéries lactiques (%) de Blé Dur cultivé en Algérie.

**Fig. 40 :** Répartition des bactéries lactiques (%) de Farine du blé tendre français.



**Fig. 41 :** Répartition des bactéries lactiques(%) de Blé Dur Canadien.

**Fig. 42:** Répartition des bactéries lactiques(%) de Blé Tendre Français.

**Tbaleau. X :** Tableau représentatif de différents pourcentages des genres isolés à partir des échantillons à analyser.

L'échantillon	Le blé dur cultivé en Algérie	Blé dur canadien	Blé tendre français	Farine du blé tendre français
Les genres obtenus (%)				
<i>Enterococcus</i>	46		38	46
<i>Lactococcus</i>	15	7	25	8
<i>Streptococcus</i>	31	7		23
<i>Lactobacillus</i>		14	25	8
<i>Pediococcus</i>	8	22	13	
<i>Weissella</i>				15
<i>Leuconostoc</i>		14		
<i>Aerococcus</i>		7		

A partir de ce tableau qui représente les différents pourcentages des genres lactiques isolés, on observe qu'il y a une grande diversité des bactéries entre les échantillons utilisés dans cette étude, le blé canadien est l'échantillon le plus riche de bactéries lactiques car il contient six genres avec un pourcentage de 22% de *Pediococcus* et la présence de *Leuconostoc* et *Aerococcus* par rapport aux autres échantillons.

Le genre *Weissella* a été isolé dans seulement l'échantillon de la farine. Le genre *Lactococcus* est le genre le plus abondant dans tous les échantillons avec un pourcentage de 25% dans le blé tendre français.

On peut interpréter la présence ou l'absence des genres lactiques dans les différents échantillons par les conditions de culture et de la production de chaque échantillon.

### 1.1.3. Aptitudes technologiques des isolats des bactéries lactiques :

#### *Pouvoir acidifiant :*

L'activité acidifiante est l'une des principales fonctions des bactéries lactiques. La mesure de cette activité consiste à suivre d'une part l'évolution du pH des différentes cultures en fonction du temps et d'autre part à doser simultanément l'acidité totale par la soude. Après incubation à 37°C, à un intervalle du temps qui varie de 2h jusqu'à 24h, 10mL du lait titrer par la soude Dornic (N/9) en présence de 5 gouttes de phénolphtaléine, jusqu'au virage de la couleur au rose pâle persistant au moins 10 secondes. La mesure de pH est faite directement par le pH-mètre, en plongeant l'électrode dans le volume du lait.

L'évolution de l'acidité et les variations de pH au cours de la croissance des souches testées sur le lait écrémé démontrent une différence entre les genres, les espèces et même entre les souches d'une même espèce. Pour toutes les bactéries testées, la production d'acide lactique démarre lentement après 2 h d'incubation peut être correspond à la phase latente, nécessaire à l'adaptation aux conditions de culture.

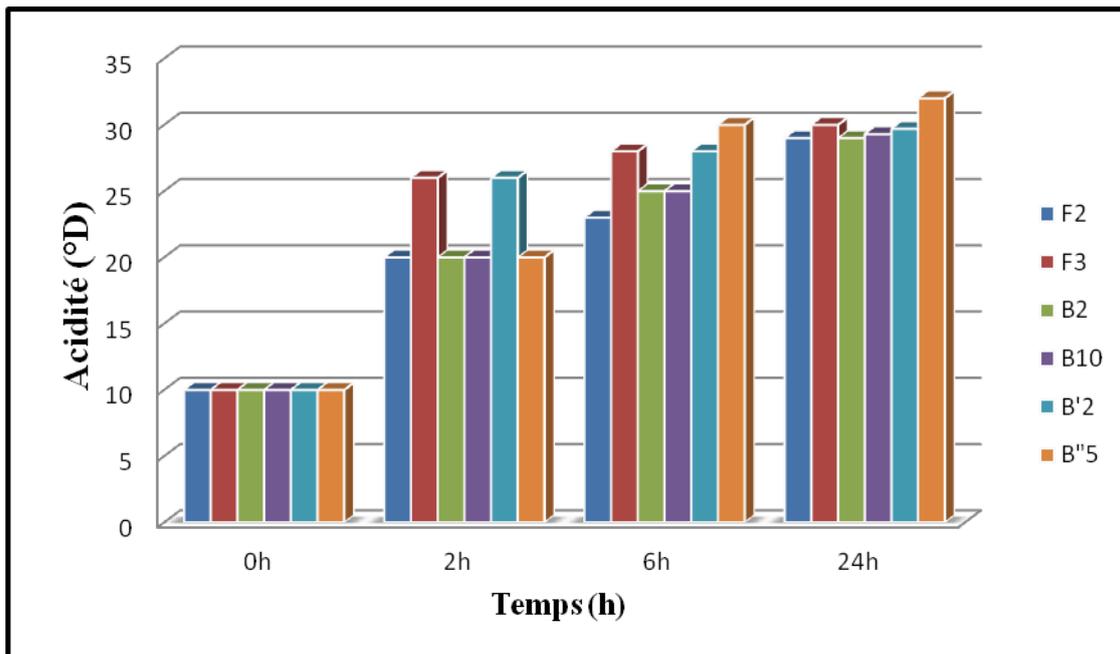
Le pH été déterminé à chaque fois qu'on procède à un dosage de l'acide lactique, dont au temps  $t = 0h$ , toutes les bactéries lactiques secrètent une quantité d'acide estimée à 10 °D. Le meilleur pouvoir acidifiant a été enregistré au bout de 24h chez les souches :

-**B'9** : *Leuconostoc mesenteroides* subsp *mesenteroides*, **B'7** : *Lactobacillus fermentum*, **B7** : *Lactococcus plantarum* avec une quantité d'acide lactique estimée à 41°D, 40°D et 38°D, respectivement, dont le pH est varie entre 5.63 6.69 .

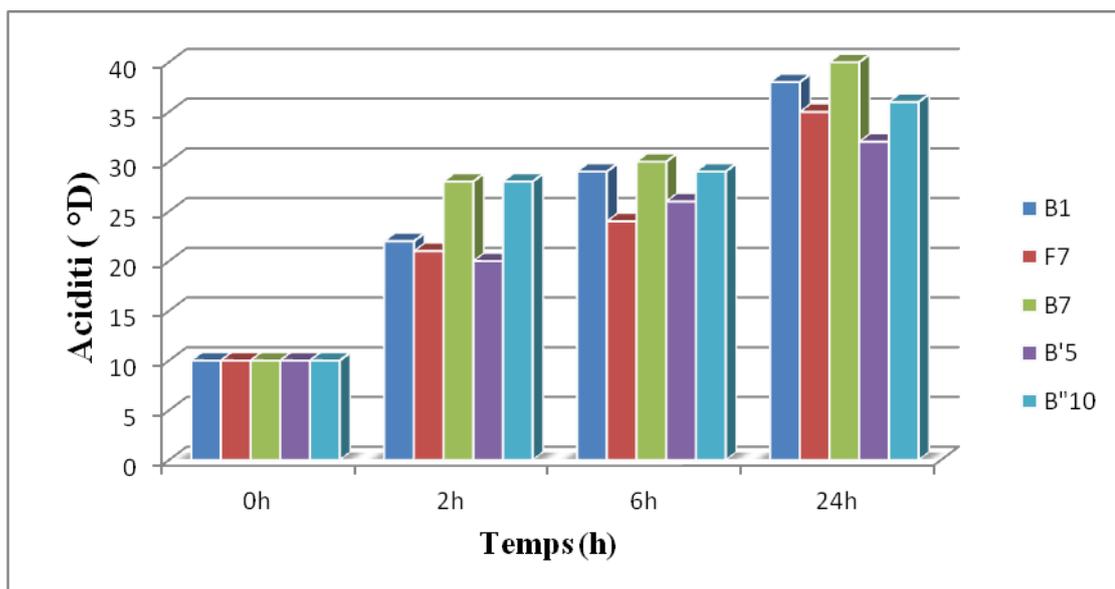
- **B1**: *Lactococcus diacetylactis*, **F5** : *Lactobacillus plantarum*, **B''10**: *Lactococcus lactis* ssp *lactis*, **B''7** : *Lactobacillus rhamnosus*, **F1**: *Streptococcus thermophilus* avec une quantité d'acide lactique estimée à 36°D, 35°D, 33°D et 32°D, respectivement,

-**B'4** : *Lactobacillus casei* et **B'8** : *Leuconostoc mesenteroides* subsp *destranicum* avec une quantité d'acide lactique estimée à 31°D et 30°D, respectivement

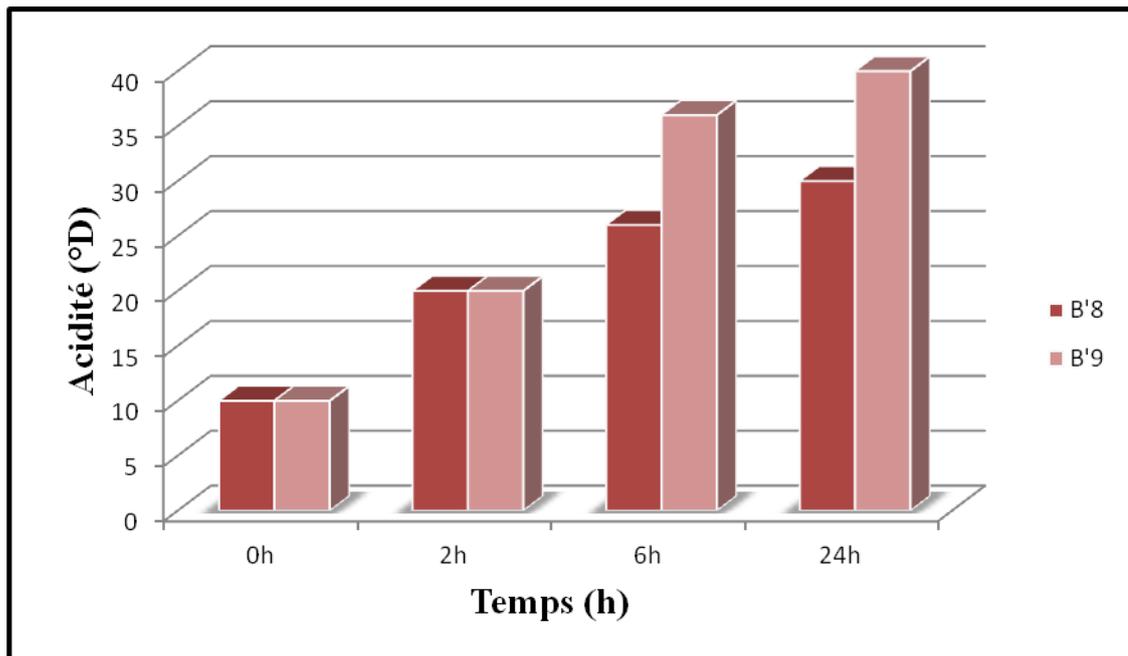
Une faible quantité d'acide lactique de 22 °D a été enregistrée avec les autres souches de bactéries lactiques isolées dans ce travail ( **Figures 34, 35,36,37, 38 et 39**).



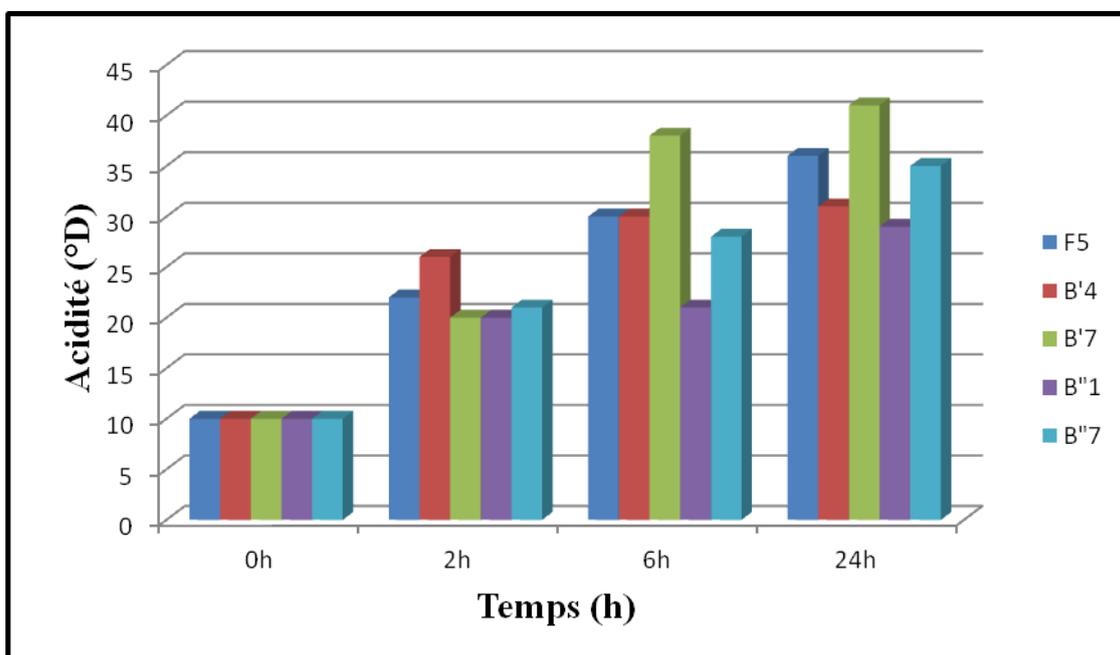
**Fig. 43 :** Détermination de l'activité acidifiante en fonction du temps des souches de (**F<sub>2</sub>**, **F<sub>3</sub>**, **B'<sub>2</sub>** : *Enterococcus saccharolyticus* et **B<sub>2</sub>**, **B<sub>10</sub>**, **B''<sub>5</sub>** : *Enterococcus acidominimus*).



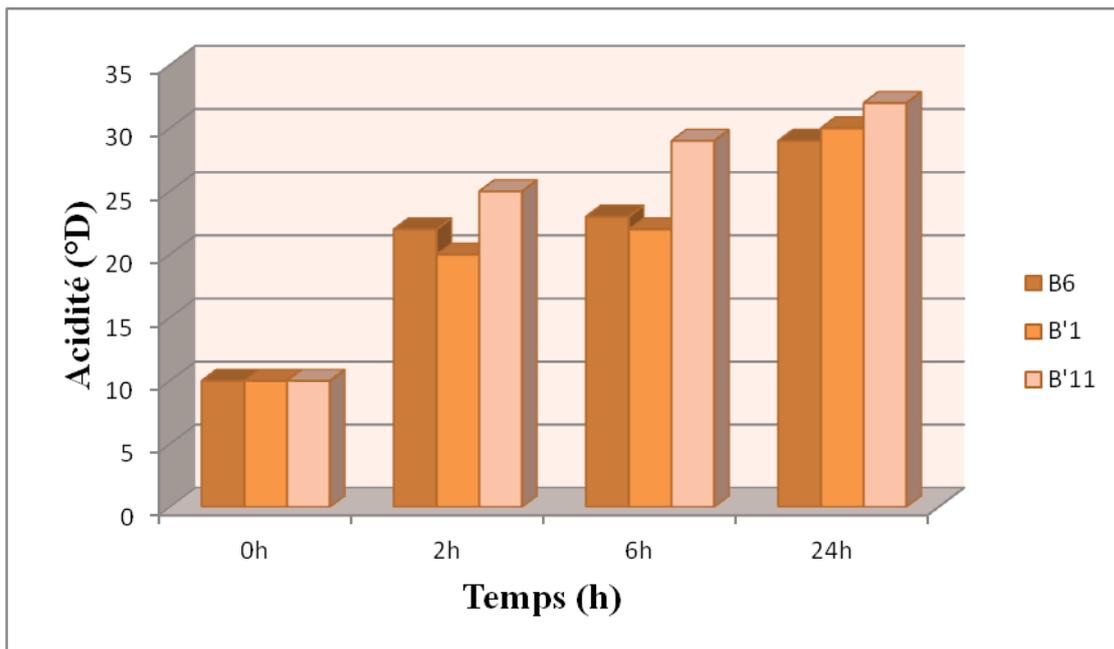
**Fig. 44 :** Détermination de l'activité acidifiante en fonction du temps des souches (**F<sub>7</sub>** : *Lactococcus lactis ssp cremoris*, **B''<sub>10</sub>** : *Lactococcus lactis ssp Lactis*, **B<sub>7</sub>** : *Lactococcus plantarum*, **B'<sub>5</sub>** : *Lactococcus Lactis ssp hordnaie*, **B<sub>1</sub>** : *Lactococcus diacetylactis*).



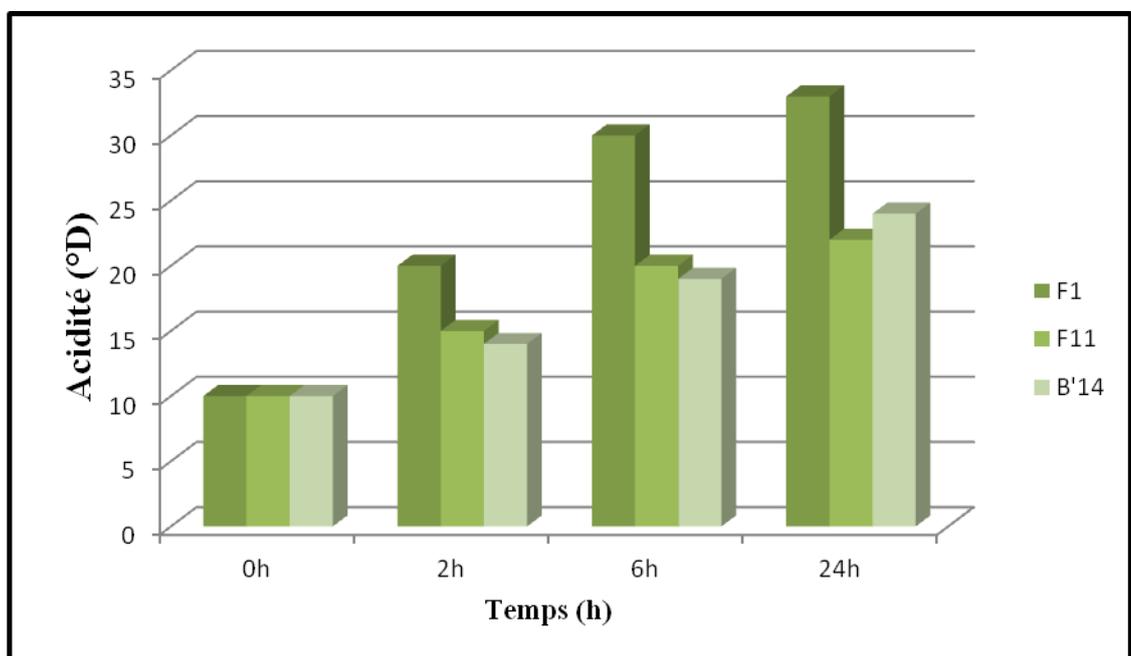
**Fig. 45** : Détermination de l'activité acidifiante en fonction du temps des souches (**B'8** : *Leuconostoc mesenteroides subsp dectranicum*, **B'9** : *Leuconostoc mesenteroides subsp mesenteroides*).



**Fig. 46** : Détermination de l'activité acidifiante en fonction du temps des souches (**B'4** : *Lactobacillus casei*, **B'7** : *Lactobacillus fermentum*, **F5** : *Lactobacillus plantarum*, **B''1** : *Lactobacillus brevis*, **B''7** : *Lactobacillus rhamnosus*).



**Fig 47:** Détermination de l'activité acidifiante en fonction du temps des souches (**B<sub>6</sub>**: *Pedeococcus dextrinicus*, **B'<sub>1</sub>**: *Pedeococcus acidilactici*, **B'<sub>11</sub>**: *Pedeococcus parvilus*).



**Fig. 48 :** Détermination de l'activité acidifiante en fonction du temps des souches (**F<sub>1</sub>**: *Streptococcus thermophilus*, **B'<sub>14</sub>**: *Aerococcus ssp*, **F<sub>11</sub>**: *Weissella confusa*).

***Pouvoir protéolytique :***

Toutes les souches étudiées présentent une croissance avec une activité protéolytique traduite par l'apparition d'un halo clair autour de la colonie (**Figure 49**).

D'après les résultats obtenus, les bactéries isolées possèdent des protéinases et des peptidases nécessaires à la dégradation des protéines du lait en acides aminés.

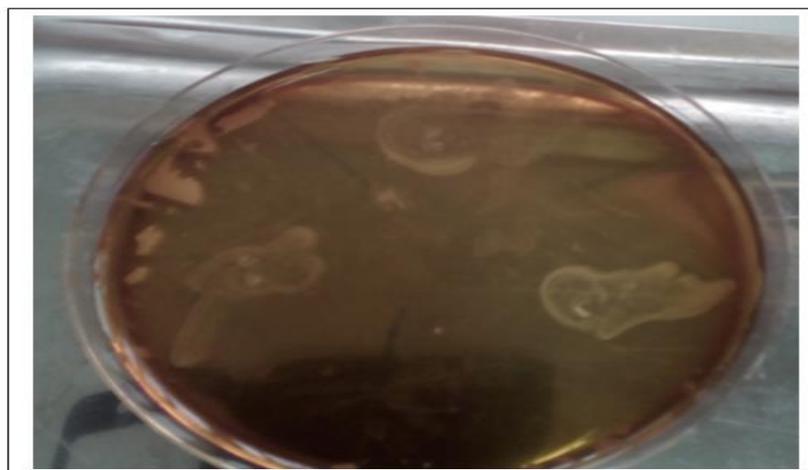


**Fig. 49 :** Activité protéolytique sur milieu gélose au lait.

***Activité lipolytique :***

- **Recherche de lipase :**

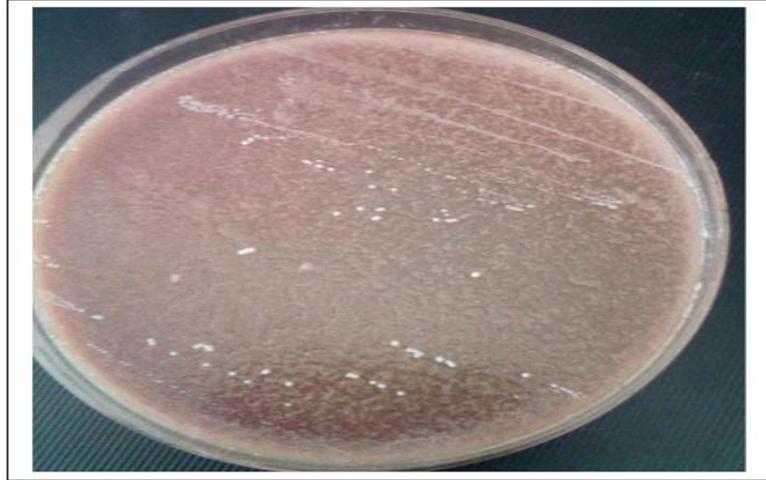
Toutes les souches étudiées présentent une croissance avec une activité lipolytique traduite par l'apparition d'un halo clair autour de la colonie.



**Fig. 50 :** L'activité lipasique des bactéries isolées.

***Recherche de lécithinase***

La lécithinase est révélée par des opacifications de la colonie sur un milieu gélosé de MRS additionné à un jaune d'œuf. Toutes les bactéries lactiques isolées ne possèdent pas l'enzyme lécithinase sauf les souches présentées par **F7, F8, B8, B13, B14, B'9, B''10, B''11**.



**Fig. 51:** Résultats de test lécithines.

### Discussion :

Cette étude s'est proposée d'isoler et caractériser les bactéries lactiques à partir des céréales (blé) et leur dérivés (Farine) et avec d'autre façon c'est pour le but de confirmer la richesse et les bienfaits de blé.

Les céréales sont des espèces généralement cultivées pour leur grain, dont l'albumen amylicé, réduit en farine, est consommable par l'homme ou par les animaux domestiques (**Nedjah, 2015**).

La filière céréalière constitue une des principales filières de la production agricole en Algérie. Les produits céréaliers occupent une place stratégique dans le système alimentaire et dans l'économie nationale. Cette caractéristique est perçue d'une manière claire à travers toutes les phases de la filière (**Nedjah, 2015**).

La plante de blé herbacée annuelle qui produit le grain dont on tire la farine pour faire notamment le pain et les pâtes alimentaires constitue la base de la ressources alimentaires de l'humanité. En effet, la production mondiale de blé en 2008 a été de 686.8 millions de tonnes (CIC, 2008), de 700 millions de tonnes en 2011, et de 690 millions de tonnes en 2012 (**FAO, 2001**).

En Algérie, la superficie réservée à la céréaliculture est, aujourd'hui, de 3,3 millions d'hectares qui représentent 90% des terres cultivées. Si on se réfère aux chiffres de 1929, on constate que cette superficie n'a pas évolué. 40% de cette surface sont destinés à la production du blé dur (**Nedjah, 2015**).

Le blé est l'une des premières espèces cueillies et cultivées par l'homme il'est l'aliment de base des populations à cause de ses bienfaits (**Harian, 1975, Ruel, 2006**).

Parmi toutes les espèces céréalières, les blés représentés respectivement par le blé dur et le blé tendre sont considérées comme les produits alimentaires les plus importants pour une large part de la population algérienne (**Benbelkacem, 2000**).

On distingue deux espèces de blé: le blé tendre et le blé dur. Ces deux espèces, se différencient par la friabilité de l'amande. L'amande du blé tendre est blanche et friable, tandis que celle du blé dur est jaune et plus dure (**Feillet, 2000 ; Jeantet et al. 2007**).

Au moulin, les graines de blé tendre sont broyées en farine, celles-ci servent à la fabrication de pains, de biscuits, de pâtisseries, de pizzas, de viennoiseries. A la semoulerie, les grains de blé dur sont broyés en semoules, ceux-ci servent à la fabrication de pâtes et de couscous c'est la transformation des graines (**Nedjah, 2015**).

Les céréales sont à la base de l'alimentation humaine (**Multon, 1982 ; Molinitè et Pfohl-Leszhowicz, 2003**), car il y a une face cachée, qui peuvent nous apporter des phytonutriments importants (**Doumandji et al. 2003 ; Nedjah, 2015**).

La consommation de cet aliment noble qu'est l'un des trésors du pays en Algérie sous une forme fraîche saine, on revient quelques parts à nos ancêtres quand ils sont basés dans leurs menus sur un régime riche en matières biologiques, parmi les plats le plus abondant c'est **Cherchem**, ce plat est à la base des graines de blé bien nettoyées et imbibées dans l'eau pendant 2 jours après sont cuites à un petit feu avec ou sans légumes, on obtient à la fin une sauce ou bien un bouillon, qui est traité avant d'être un nutriment.

Notre objectif de cette étude est de faire une recherche sur l'un des constituants bénéfiques de cet aliment qui sont les bactéries lactiques.

Les bactéries lactiques jouent un rôle très important dans la préservation de l'équilibre de la flore microbienne et la stabilisation des produits finaux de la fermentation (**Ennadir et al. 2014**).

Pour réaliser ce travail, une étape très importante doit être tenue compte qui est la diminution de pH et en parallèle la réduction de la flore pathogène dans le blé, dans un flacon à une couleur noire et stérile on met 600g de blé et on ajoute 15ml de vinaigre à 95° et 15ml de l'eau physiologique, laisser environ 2 mois (**Kermiche M, 2013**).

Après cette période on met dans un autre flacon stérile 60g de blé et on ajoute 200ml de l'eau distillée stérile pour le but d'obtenir le bouillon rassemblant du bouillon de plat de **Cherchem** laisse ces flacons dans un endroit humide et à l'obscurité pendant 48h à 72h.

Pour obtenir la solution mère de trois types de blé et qui ; dans un mortier on écrase bien les grains de blé jusqu'à l'extraction de tous les contenus de blé (la solution devienne de couleur blanchâtre à jaunâtre très intense).

L'évaluation de la flore dans les échantillons de blé fermentés montre la dominance de la flore lactique par rapport à la flore fongique, cela peut être justifié par les conditions de la fermentation dans les fûts qui ne favorisent pas le développement fongique (atmosphère confinée), Lorsque le blé fermenté est utilisé pour l'isolement des bactéries lactiques (**Kermiche M, 2013**).

Les souches de bactéries lactiques pouvant présenter des potentialités fermentaires intéressant les industries alimentaires et pharmaceutiques (**Kacem et al. 2002**). Dans ce contexte notre étude s'intéresse à isoler et caractériser des bactéries lactiques.

**Ennadir et al. (2013) ; Mokhtari, (2014)** ont pu isolées différents souches à partir de farine marocaine et de blé dur algérien fermenté de type Hamoum.

Afin d'isoler des bactéries lactiques, on a réalisé des dilutions décimales à partir des échantillons du blé et de farine. Les 3 dernières dilutions ont étéensemencées en surface de la gélose MRS. Les souches sont incubées à 37°C pendant 48 h à 72h, des colonies blanchâtres, rondes à contour régulier apparaissent à la surface de la gélose (**Guetarni, 2013**)

On a isolé 53 souches, réparties en 8 genres qui sont *Pediococcus*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus* et *Weissella*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Aerococcus* presque le même type de résultat est apporté par **Ennadir et al. (2014)**.

Ces souches sont purifiées et identifiées dont leur coloration de Gram montre que les cellules bactériennes sont des coques (90,57%) à Gram positif.

Les bactéries lactiques isolées caractérisent par le mode respiratoire aérobie et aéro-anaérobie facultatifs. Toutes les souches isolées présentent une croissance avec une activité protéolytique, et lipolytique aussi développées sur le milieu hypersaccharosé, sont homofermentaires sauf **B'8**: *Leuconostoc mesenteroides subsp dectranicum*, **B'9**: *Leuconostoc mesenteroides subsp mesenteroides* qui sont hétérofermentaires.

Toutes les souches ne possèdent ni oxydase, ni uréase, ni nitrate réductase, ni la beta-galactosidase, immobiles, non hémolytiques (hémolyse  $\lambda$ ), et n'hydrolysent pas la gélatine. Elles ont une catalase négative sauf pour les souches **F<sub>11</sub>**, **F<sub>12</sub>**: *Weissella confusa* et **B''<sub>5</sub>**, : *Enterococcus acidominimus* qui ont un pseudocatalase.

La plupart de ces bactéries lactiques produisent l'acétoïne et résistent au tellurite.

D'autre part, ces souches sont également, toutes capables de croître à 65°C, à pH 6,5 % de NaCl. Il y a certains sucres ( Xylose, Sorbitol) ne sont pas fermentés par nos bactéries.

A partir des résultats et par l'identification biochimique et physiologique, nous pouvons noter que les souches *Lactococcus lactis ssp cremoris*, *Lactococcus lactis ssp lactis*, *Lactococcus plantarum*, *Lactococcus Lactis ssp hordnaie*, *Lactococcus diacetylactis* occupent une portion de 14%, suivie par les souches *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus rhamnosus* à un pourcentage de 10%, *Pedeococcus dextrinicus*, *Pedeococcus acidilactici*, *Pedeococcus parvilus* à 6% , *Enterococcus saccharolyticus*, *Enterococcus acidominimus* à 4% et *Leuconostoc mesenteroides subsp dectranicum*: *Leuconostoc mesenteroides subsp mesenteroides* *Streptococcus thermophilu*: *Aerococcus ssp*, *Weissella confusa* à faible pourcentage 2%.

L'activité acidifiante est l'une des principales fonctions des bactéries lactiques. La mesure de l'activité acidifiant consiste à suivre d'une part l'évolution du pH des différentes cultures en fonction du temps et d'autre part à doser simultanément l'acidité totale par la soude.

Toutes les bactéries lactiques secrètent une quantité d'acide estimée à 10 °D. Le meilleur pouvoir acidifiant a été enregistré au bout de 24h chez les **B'9**: *Leuconostoc mesenteroides subsp mesenteroides*, **B'7**: *Lactobacillus fermentum*, **B7**: *Lactococcus plantarum* avec une quantité d'acide estimée à 41°D et 40°D, et 38°D, le pH est varié entre 5.63 et 6.69 . 36°D, 35°D, 33°D et 32°D sont observés respectivement chez les souche **B1**: *Lactococcus diacetylactis*, **F5**: *Lactobacillus plantarum*, **B''10**: *Lactococcus lactis ssp lactis*, **B''7**: *Lactobacillus rhamnosus*, **F1**: *Streptococcus thermophilus*, deux autres souches (**B'4**: *Lactobacillus casei* et **B'8**: *Leuconostoc mesenteroides subsp dectranicum*) secrètent une quantité d'acide lactique estimée à 31°D et 30°D. Alors que chez les autres souches on observe une faible sécrétion de l'acide lactique jusqu'à 22°D.

### Conclusion et Perspectives

L'objectif de la présente étude consiste à un isolement et une caractérisation des bactéries lactiques à partir des céréales.

L'isolement a été effectué à partir de différents échantillons présentant des caractéristiques diverses permettant ainsi d'obtenir un nombre relativement élevé de souches lactiques.

Pour cela, nous avons utilisé des techniques classiques et les milieux de sélection adéquats.

A travers cette étude nous avons isolé et identifier des bactéries lactiques à partir des céréales (blé) et de farine. Leur culture sur milieu spécifique permet à l'étude bactériologique proprement dite de s'orienter vers ces bactéries, leurs caractères physiologique et biochimique grâce aux différents tests permettent de les différencier. Nous avons pu isoler 53 bactéries lactiques appartenant aux huit genres qui sont:

*Enterococcus*(39.62%),*Lactococcus*(15.09%),*Streptococcus*(15.09%) ,  
*Lactobacillus*(9.43%), *Pediococcus* (9.43%), *Leuconostoc*(3.77%), *Weissella* (3.77%) et *Aerococcus*(1.88%).

Toutes les souches isolées sont immobiles, ayant une activité acidifiante, protéolytique et lipolytique. Les souches *Weissella confusa*, *Enterococcus acidominimus* ont un pseudo catalase. Les isolats sont homo et hétérofermentaire, aéro-anaérobies facultatifs, ne possèdent ni l'oxydase, ni lécithinase, ni gélatinase. Ces bactéries qui n'ont pas un pouvoir hémolytique, peuvent fermenter le glucose, lactose et saccharose.

D'après les résultats obtenus lors de cette étude, nous pouvons conclure que les céréales et la farine disposent d'une biodiversité riche en bactéries lactiques.

Notre étude mérite en perspective d'être complétée par la réalisation des études suivantes:

- Caractériser les bactéries lactiques isolées à l'échelle moléculaire par PCR ;
- Séquencer ces bactéries ;
- L'amélioration des méthodes pour identifier des souches isolées par l'application du génie génétique ;
- L'effet probiotique des bactéries lactiques isolées doit être complètement validée *in vivo* ;

- Recherche des nouvelles souches à partir de blé et des autres céréales ;
- Réaliser des recherches sur les aliments à la base du blé (plats traditionnelles) et ses effets sur la santé humaine ;
- Etudier la possibilité de produire des ferments lactiques locaux utilisables dans l'industrie agro-alimentaire et pharmaceutique, et déterminer les caractéristiques sensorielles et rhéologiques des produits élaborés.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- **Ababsa A., 2012:** Recherche de bactériocines produites par les bactéries lactiques du lait. Mémoire de magister en Génie microbiologie. Université Ferhat Abbas Sétif. 111p.
- **Adams Martin R. & Moss Maurice O., 2008:** Food microbiology. RSC Publishing. The Royale Society of Chemistry. Third Edition; 463P.
- **Ahmed Faris Mohd Adnan & Irene K.P. Tan, 2007:** Isolation of lactic acid bacteria from Malaysian foods and assessment of the isolates for industrial potential. *Bioresource Technology.*, **98**: 1380-1385.
- **Ait Bella et El Arabie., 1993:** Suivi et évaluation des performances de cinq systèmes de stockage de céréales et légumineuses dans le sais. Mémoire de 3ème cycle IA Institut agronomique et vétérinaire Hassan II Dept Equipement Hydraulique, 200p.
- **Ait-Slimane I. & Ait-Kaki S., 2008 :** Contribution à l'étude de l'interaction génotype x milieu, pour la qualité technologiques chez le blé dur en Algérie.
- **Alais C., Linden G. & Miclo L., 2003:** Biochimie Alimentaire. 5ème Ed. Dunod, 131p.
- **Alexandre H., Grandvalet C., Guilloux-Benatier M., Remize-Barnavon F. & Tourdot-Maréchal R., 2008:** Les bactéries lactiques en œnologie. Ed :Lavoisier, Paris, 173 p.
- **Alves L. & Xavier M., 2002 :** Les céréales cours de Bromatologie. Lyon Ecole nationale vétérinaire. En ligne <[http : WWW.vet.lyon.fr/ens/nut/Web Bromato/cours/cm\\_grain/ preseces.html](http://WWW.vet.lyon.fr/ens/nut/WebBromato/cours/cm_grain/preseces.html).
- **Aly S., 2004:** Caractérisation biochimique et moléculaire des bactéries lactiques productrices d'exopolysaccharides isolées à partir d'échantillons de lait fermenté du Burkina Faso. Thèse de Doctorat, Université de Ouagadougou Bourkina Faso, 143p.
- **Amara I. & Khaldi Z., 2015:** Isolement, identification et étude de l'antibiorésistance des souches bactériennes isolées à partir de services de réanimation et d'hémodialyse de CHU Ouargla. Mémoire de master en Biologie, spécialité microbiologie appliquée, Université de Ouargla, 98p.
- **Amendola J. & Rees N., 2003:** Understanding baking: The Art and Science of Baking. John Wiley & Sons. INC, 288 p.

- **Anonyme1., 1981:** Larousse agricole. *Edition Larousse*. Pp :171-253.
- **Appert J., 1985:** Le stockage des produits vivriers et semenciers : Le technicien de l'agriculture tropicale. Ed : Maisonneuve et Larose, 98p.
- **Atlan D., Béal C., Champonier-Vergès M.C., Chapot-Chartier M.P., Chouayekh H., Coccagn-Bousquet M., Deghorain M., Gadu P., Gilbert C., Goffin P., Guédon E., Guillouard I., Guzzo J., Juillard V., Ladero V., Lindley N., Lortal S., Loubière P., Maguin E., Monnet C., Monnet V., Rul F., Tourdot-Maréchal R. & Yvon M., 2008 :**Métabolisme et ingénierie métabolique. *In* :Bactéries lactiques de la génétique aux ferments (Corrieu G. et Luquet F.M.). *Tec & Doc, Lavoisier*.Paris, pp: 271-447.
- **Atouri N., & Lemonier D., 1997:** Production of itterferon induced by *Streptococcus thermophilus* : role of CD4 lymphocytes. *Journal of Biochemistry*. **8**: 25-31.
- **Axelsson L., 2004:** Classification and physiology, *In*:Latic acid bacteria: Microbiological and functional aspects ( Salminen S., Wright A. V . et Ouwehand A.). *3Ed., Marcel Dekker, Inc. New York*.pp: 1-66.
- **Badis A., Laouabdia-Sellami N., Guetarni D., Kihal M. & Ouzrout R., 2005:** Caractérisation phénotypique des bactéries lactiques isolées à partir de lait cru de chèvre de deux populations caprines locales «Arabia et Kabyle». *Sci. Technol.* **23**: 30-37.
- **Bartali E., FAO, 1995 :**  
[http://www.cd3wd.com/cd3wd\\_40/INPHO/VLIBRARY/MOVE\\_REP/X0289E/FR/X0289F00.HTM](http://www.cd3wd.com/cd3wd_40/INPHO/VLIBRARY/MOVE_REP/X0289E/FR/X0289F00.HTM)
- **Bassit N., Latrille E., Boquien C. Y., Picque D. & Corrieu G., 1994:** Effet combiné de l'oxygène et de la température sur l'acidification et les productions de diacétyle et d'acétoïne par *Lactococcus lactis subsp lactis biovar diacetylactis*. *Lait*. **74** : 115-126.
- **Bekhouché F., 2006:** Bactéries lactiques du lait cru de vache et Microorganismes pectinolytiques des olives noires et vertes (1. Isolement et Identification biochimique. 2. Evaluation et Optimisation de la production d'enzyme polygalacturonase). Thèse de doctorat. Université De Mentouri Constantine, 149p.
- **Belarbi F., 2011:** Isolement et sélection des souches de bactéries lactiques productrices des métabolites antibactériennes. Mémoire de magister en Biologie, option microbiologie alimentaire et industrielle, Université Es-Sénia, Oran, 129p.

- **BeMiller J. & Whistler R., 2009:** Starch: Chemistry and technology. Third Edition. *Food Science and Technology*, 894 P.
- **Benasla A., 2012:** Production d'exopolysaccharides par des souches de lactobacilles. Thèse de Magister en Biotechnologie, option écosystèmes microbiens complexes, université Es-Sénia, Oran, 106p.
- **Benslimani A., 2006:** Physiologie bactérienne nutrition-métabolisme-croissance. Cours de résidanat de microbiologie. Pp :73-75.
- **Bergey's Manual., 2009 :** Systematic of bacteriology. Second Edition. Volume three the firmicutes. Edition springer.
- **Bervas E., 1991 :** Mise au point de levains bactériens pour la panification. Thèse de Doctorat, Université' Blaise Pascal, Clermont Ferrand, France,
- **Bjorkroth J.A. & Holzapfel W.H., 2006:** Genera *Leuconostoc*, *Oenococcus* and *Weissella*, In : *The Prokaryotes*. 4: 267-319.
- **Bjorkroth J.A., Holzapfel W.H. & Dicks L.M., 2009:** Genus *Leuconostoc*. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. The firmicutes. Second Edition. Volume Three.
- **Boudjemaa K., 2008:** Essai d'optimisation de la production d'acide lactique sur lactosérum par *Streptococcus thermophilus*. Mémoire de magister. Option biochimique et microbiologie appliquées. Université M'Hamed Bougara-Boumerdès, pp :5-19.
- **Boulal H., Zaghouane O., El Mourid M. & Rezgui S., 2007:** Guide pratique de la céréale d'automne (blés et orge) dans le Maghreb. Pp : 171-176.
- **Bourel G., Henni S., Krantar K., Oraby M., Divies C. & Garrmyn D., 2001:** Métabolisme sucre-citrate chez *Leuconostoc mesenteroides*. *Le lait*, 81 : 75-82.
- **Bourgeois C.M. & Larpent J.P., 1996 :** Microbiologie alimentaire .Tome II. Aliments fermentés et fermentations alimentaires .Ed : *Technique et Documentation*. 523p.
- **Brahimi S., 2015:** Isolement et caractérisation biotechnologiques des bactéries lactiques isolées à partir des margines d'olives « AMOREDJ » fermentés. Mémoire de magister, spécialité biodiversité des microorganismes, université d'Oran 1 Ahmed Ben Bella, 203p.
- **Brink M. & Belay G., 2006:** Céréales et légumes secs. Ressources végétales de l'Afrique tropicale1. Fondation PROTA/ Backhuys Publishers/CTA. 327 P.

- **Bushuk W. & Rasper V.F., 1994:** Wheat: Production, properties and quality. Blackie Academic & Professional, 239P.
- **Calvez S., Belguesmia Y., Prévost H., Drider D. & Kergourley G., 2009:** Les bactériocines : de la synthèse aux applications. Bactéries lactiques : physiologie , métabolisme, génomique et applications industrielles. Ed: Economica, Paris, 110p.
- **Caplice E. & Fitzgerald G.F., 1999:** Food fermentations: role of microorganisms in food production and preservation. *Int. J. Food Microbiol.* **50** : 131–49.
- **Carr Frank J., Chill D. & Maida N., 2002:** The Lactic Acid Bacteria: A Literature Survey. *Critical Reviews in Microbiology*, **28**(4): 281-370.
- **Carver Brett F., 2009:** Wheat: Science and Trade. Ed: Wiley-Blackwell, 616P.
- **Cauvain Stanley P., 2003:** Bread making: improving quality. Woodhead Publishing in Food Science and technology; 589 P.
- **Chaves A.C., fernandez M., Lerayer A.L., Mierau L., Kleerebezem M. & Hugenholtz J., 2002:** Metabolic engineering of acetaldehyde production by *Streptococcus thermophilus*. *Applied Environmental Microbiology*. **68**: 5656-5662.
- **Choueiri E., 2003:** La Cerealiculture. Stratégie et politique agricole, Analyse de filières, Projet "Assistance au Recensement Agricole", FAO, 69p.
- **Cichoke A. J., 1999:** The complete book of enzyme therapy. 492P.
- **Cleveland J., Montville T.J., Nes I.F. & Chikindas M.L., 2001:** Bacteriocins: safe, natural antimicrobials for food preservation. *Int. J. Food. Microbiol.* **71**: 1-20.
- **Cogan, T. M., O'Dowd M. & Mellerick D., 1981:** Effects of pH and sugar on acetoin production from citrate by *Leuconostoc lactis*. *Appl. Environ. Microbiol.* **41**:1–8.
- **Collins M.D. & Falsen E., 2009:** Genus *Aerococcus*. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* : The firmicutes. Second Edition. Volume Three.
- **Collins M.D., Samelis J., Metaxopoulos J. & Wallbanks S., 1993:** Taxonomic studies of some *Leuconostoc* like organisms from fermented sausages, description of a new genus *Weissella* for the *Leuconostoc paramesenteroides* group of species. *J. Appl. Bacteriol.* **75** : 595-603.
- **Corsetti A., Lavermicocca P., Morea M., Baruzzi F., Tosti N. & Gobbetti M., 2001:** Phenotypic and molecular identification and clustering of lactic acid bacteria and yeasts from wheat (species *Triticum durum* and *Triticum aestivum*) sourdoughs of Southern Italy. *Int. J. Food. Microbiol.* **64**(1-2):95-104.
- **Corsetti A., Settanni A-L., Chaves Lo´ peza C., Giovanna E.F., Mastrangelo M. & Giovanna S., 2007:** *Sys. Appl. Microbiol.* **30** : 561.

- **Daly C., Fitzgerald G. F., O’connor L. & Davis R., 1998:** Technological and health benefits of dairy starter cultures. *International Dairy Journal*, **8**: 195-205.
- **Deàk T., 2008:** Handbook of food spoilage yeasts. CRC Press. Second Edition. 325P.
- **Delarras C., 2007:** Microbiologie pratique pour le laboratoire d’analyses ou de contrôle sanitaire, Ed : TEC et DOC, Lavoisier, Paris, 467p.
- **Dellaglio F., De Roissart H., Torriani S., Curk MC. & Janssens D. 1994 :** Caractéristiques générales des bactéries lactiques. In: De Roissart H, Luquet FM (eds.). Bactéries lactiques: aspects fondamentaux et technologiques. Loriga, Uriage, Paris, France, **1** : 25-116.
- **Delorme C., 2008:** Safety assessment of dairy of dairy microorganisms : *Streptococcus Thermophilus*. *International Journal of Food Microbiology*, **126**: 274-277.
- **Dendy D.A.V. & Dobraszczyk B.J., 2001:** Cereals and Cereal Products: Technology and Chemistry. Food products series, Ed:Springer, **4**: 370.
- **Desmazaud M.J., & De Roissart H., 1994:** Métabolisme général des bactéries lactiques, aspects fondamentaux et technologiques. Ed : *Uriage, France* : *Loria*.pp :169-207.
- **Desmazeaud M. J., 1992:** Les bactéries lactiques, In : Hermier J., Lenoir J., Weber F., Les groupes microbiens d’intérêt laitier. *Ed. Cepil*. Pp :6-14.
- **Deutscher J., Francke C. & Postma W., 2006:** How phosphotranférase system-Related Protein Phostphorylation Regulates Carbohydrates Metabolism in bacteria. *Microbiology and Molecular biology Reviews*. **70**(4): 939-1031.
- **Vos P., Garrity G. M., Jones D., Krieg N. R., Ludwig W., Rainey F. A., Schleifer K. H. & Whiteman W. B., 2009:** Bergey’s Manual of Systematic Bacteriology: The firmicutes. Second Edition. Volume Three. The Firmicutes, Springer.
- **Devriese L., Baele M. & Butaye P., 2006:** The genus Enterococcus: Taxonomy. The Prokaryotes : a Handbook on the Biology of Bacteria. 3rd edn. New York: Springer. **4**: 163.174.
- **Dilmi B., 2006:** Assimilation in vitro of cholesterol by yogurt bacteria. *Annals of Agricultural and Environnemental Medicine*. **13**: 49-53.
- **Djidjel A., 2007:** Production d’acide lactique par *Lactococcus casei subsprhamnosus* sur jus de datte: cinétique discontinues semi-continues et continues. Thèse de doctorat. Institut National Polytechnologique de Lorraine. France.

- **Dortu C. & Thonart P., 2009:** Les bactériocines des bactéries lactiques : caractéristiques et intérêts pour la bioconservation des produits alimentaires. *Biotechnol. Agron. Soc. Env.* **13(1)** : 143-154.
- **Doumandji A., Doumandji- Mitiche B. & Salaheddine D., 2003:** Cours de technologie des céréales technologie de transformation des blés et problèmes dus aux insectes au stockage. Office des Publications Universitaires, pp : 1-22.
- **Dridier J. & Prevost H., 2009:** Bactéries lactiques. Physiologie, Métabolisme, Génomique et Applications industrielles. Ed : Economica, Paris, Pp : 99 - 120.
- **Druvefors Ulrika A. & Schnürer J., 2004:** Mold-inhibitory activity of different yeast species during airtight storage of wheat grain. *FEMS yeast Research.* **5**: 373-378.
- **Dunford Nurhan T., 2012:** Food and industrial bioproducts and bioprocessing. Wiley-Blackwell; 392 P.
- **Dworkin I. & Gibson G., 2006:** Epidermal growth factor receptor and transforming growth factor-beta signaling contributes to variation for wing shape in *Drosophila melanogaster*. *Genetics*, **173**: 1417-1431.
- **Edwards W.P., 2007:** The science of bakery Products. Ed:Royal Society of Chemistry, 259P.
- **Ennadir J., Hassikou R., Al Askari G., Arahou M., Bouazza F., Amallah1 L., Amine S.A. & Khedid K., 2014:** Caractérisation phénotypique et génotypique des bactéries lactiques isolées des farines de blé d'origine marocaine (Phenotypic and genotypic characterization of lactic acid bacteria isolated from wheat flour from Morocco). *J. Mater. Environ. Sci.* **5** (4) : 1125-1132.
- **Facklam R., 2002:** What Happened to the Streptococci : Overview of taxonomic and nomenclature changes. *Clinical Microbiology Reviews.* **15**: 613-630.
- **FAO., 2007:** Perspective alimentaires. Analyse des marchés mondiales. <http://www.fao.org/01/0/ah864f/ah864f00.htm>. (31.5.2008/13:28).
- **FAO/OMS., 2001:** Rapport : consultation mixte d'experts FAO/OMS, sur l'évaluation des propriétés sanitaires et nutritionnelles des probiotiques dans les aliments y compris le lait en poudre contenant des bactéries lactiques. 34p.
- **Feillet P., 2000:** Le grain de blé : Composition et utilisation. Ed : Quae. INRA Paris, pp : 55-75.
- **Ferret M., 1996:** Blé dur, objectif qualité. Ed : ITCF. 43p.

- **Fulcher R.G. & Wong SI., 1980:** Inside Cereals; A fluorescence microchemical view. In cereals for food and beverages, Inglett GE, Munck L (eds) New York, Academic Press; 126 P.
- **Garrow J.S., Ralph Ann., James William Philip Trehearne., 2000:** Human nutrition and dietetics. Elsevier Health Science, 900 P.
- **Gevers D., 2002:** Tetracycline resistance in lactic acid bacteria isolated from fermented dry sausages. Thèse Doctorat. Univ. Gent. Fac. Sci. Gent. Belgium, 206p.
- **Ghozlane D., 2012 :** Isolement et caractérisation des bactéries lactiques productrices d'arômes (diacétyle). Mémoire de magister en Agronomie, Option sciences alimentaires, Ecole Nationale Supérieure El Harrach-Alger, 138.
- **Gill H.S., Rutherford K.J., Cross M.L., & Gopal P.K., 2001:** Enhancement of immunity in the elderly by dietary supplementation with the probiotic *Bifidobacterium lactis* HN019. *American Journal of Clinical Nutrition.* **74:** 833-839.
- **Gonzàler., Sandoval H., Sacristàn., Castro JM., Fresno JM. & Tornadijo ME., 2007:** Identification of lactic acid bacteria isolated from Genestoso cheese throughout ripening and study of their antimicrobial activity. *Food Cont,* **18:**716-722.
- **Granette C., 2011:** Nutrithérapie Probiotiques et régulation de la réponse immunitaire : impact sur les maladies allergiques et les maladies inflammatoires intestinales. *Phytothérapie,* **9 :** 93-99.
- **Grattepanche F., 2005:** Etude d'un système de pré fermentation en continu du lait par une culture mixte immobilisée fonctionnelle. Thèse de Doctorat. Université Laval. Québec. 156p.
- **Gropper Sareen S., Smith Jack L. & Groff James L., 2009:** Advanced nutrition and human metabolism. Cengage Learning. Fifth Edition, 600p.
- **Guetarni H., 2013:** Effets antibactériens des bactéries lactiques isolées à partir des laits crus Algériens sur la croissance de *Helicobacter pylori*. Thèse de doctorat. Université d'Oran Es-Senia, 276p.
- **Guetarni H. & Bensoltane A., 2014:** Characterization of bacteriocin anti *Helicobacter pylori* extracted from homofermentative lactic acid bacteria. **29 (1) :19-30.**
- **Guignard J-L. & Dupont F., 2004:** Botanique Systématique Moléculaire. 13 Ed révisée, Ed : Masson, Paris, pp : 116-117.

- **Guiraud J-P., 1998:** Microbiologie Alimentaire. Ed : Dunod, Paris, pp : 136-144.
- **Haddie J.M., 1986:** Other Streptococci. Bergey's manual of systematic bacteriology (Sneath P.H.A., Mair N.S., Sharpe M.E., Holt J.G.W. et Baltimore W.). **1:**1070.
- **Hadef S., 2012:** Evaluation des aptitudes technologiques et Probiotiques des bactéries lactiques locales. Mémoire de Magister. Université Kasdi Merbah Ouargla.135p.
- **Hadria R., 2006:** Adaptation et spatialisation des modèles stricts pour la gestion d'un périmètre céréalier irriguée en milieu semi aride. Thèse de doctorat. Univ Cadi Ayad Samlalia-Marrakech.216p.
- **Hammes W.P. & Hertel C., 2006:** The Genera *Lactobacillus* and *Carnobacterium*. *The prokaryotes*. **4:** 320-403.
- **Harian JR., 1975:** Crops and man. Eds John Wiley and Sons. NY. 350P. In: Etude de la contribution des paramètres phéno morphologiques dans l'adaptation du blé dur (*Triticum durum Desf*) dans l'étage bioclimatique semi aride.
- **Mazouz L., 2006 :** Etude de la contribution des paramètres phéno morphologiques dans l'adaptation du blé dur (*Triticum durum Desf.*) dans l'étage bioclimatique semi aride. Mémoire de Magister en sciences agronomiques, option agrotechnie. Univ El-Hadj Lakhdar, Batna, 97p.
- **Hariri A., Ouis N., Sahnouni F. & Djilali B., 2009:** Mise en œuvre de la fermentation de certains ferments lactiques dans des milieux a base des extraits de caroube, *Rev. Microbiol. Ind. San et Environn.*, Congrès international BIOMED 1 Marrakech du 2-5 Novembre, pp : 37-55.
- **Harrigan W.F. & McCance M.E., 1976:** Laboratory Methods in Food and Dairy Microbiology. Second edition, Academic Press, London, 464p.
- **Hassan A.N., and Frank J.F., 2001:** Starter Cultures and their use. *Appleid Dairy Microbiology* (Marth E.H. et Steele J.L.) 2e Ed., *Marcel Dekker, Inc.* New York, pp: 151-205.
- **Ho T.N.T., Tuan N., Deschamps A. & Caubet R., 2007:** Isolation and identification of lactic acid bacteria (LAB) of the Nem Chua fermented meat product of Vietnam. *Int. Workshop on FoodSafety and Processing Thechnology*. Pp: 134-142.
- **Hogg T., 2005:** Essential microbiology. John Wiley & Sons, Ltd. 464p.
- **Hols P., Hancy F., Fontaine L., Grossiord B., Prozzi D., Leblond-Bourget N., Decaris B., Blotin A., Delorme C., Dusko Ehrlich S., Guedon E., Monnet V., Renault P. & Kleerebezem M., 2005:** new insights in the molecular biology and

- physiology of *Streptococcus thermophilus* revealed by comparative genomics. *FEMS Microbiology Reviews*. **29**: 435-463.
- **Holzappel W.H., 2002:** Appropriate starter culture technologies for small-scale fermentation in developing countries. *Int. J. Food. Microbiol.* **75**:197-212.
  - **Hugenholtz J., Sybesma W., Groot M. N., Wisselink W., Ladero V., Burgess K., Van Sinderen D., Piard J.C., Eggink G., Smid E. J., Savoy G., Sesma F., Jansen T., Hols P. & Kleerebezeml M., 2002:** Metabolic engineering of lactic acid bacteria for the production of nutraceuticals . *Antonie van Leeuwenhoek*, **82**:217-235.
  - **Hutkins R.W., 2001:** Metabolism of starter cultures. Pp: 207-241. In EH Marth and JL Steel (Eds). *Appl. Dairy Microbiol.* Marcel Dekker, Inc, New York.
  - **Idoui T., Boudjerda J., Leghouchi E. & Karam N.E., 2009:** Lactic acid bacteria from “Sheep’s Dhan”, a traditional butter from sheep’s milk: Isolation, identification and major technological traits. *Gr. Y. Aceites*. **60**(2): 177-183.
  - **Izquierdo Alegre E., 2009 :** Les protéines bactériennes en tant que biomarqueurs de l’activité probiotique. Thèse de Doctorat. Université de Strasbourg.215p.
  - **Jeanet R., Croguennec T., PSchuck P. & Gerard B., 2007:** Science des aliments : Biochimie Microbiologie. Procédés produits, pp : 138-159.
  - **Kaktcham P-M, Zambou F-N, Tchouanguép M-F, El-Soda M. & Choudhary IM., 2012:** Antimicrobial and Safety Properties of Lactobacilli isolated from Cameroonian Traditional Fermented Foods. *J of Dairy Foods Science*, **80** (1): 189-203.
  - **Kermiche M., 2013:** Caractérisation de certaines souches microbiennes évoluant dans le blé fermenté et mise en évidence de leurs activités enzymatiques. Mémoire de magister en sciences alimentaires, option biotechnologie alimentaire, Université Constantine 1, 123p.
  - **Kihal M., 1996:** Etude de la production du dioxyde de carbone par *Leuconostoc mesenteroides*, éléments d’application en technologie fromagère type fromage bleu. Thèse de Doctorat. Université d’Oran.
  - **Klein G., Pack A., Bonaparte C., & Reuter G., 1998:** Taxonomy and physiology of probiotic lactic acid bacteria. *International Journal of Food Microbiology*. **41**: 103-125.
  - **König H. & Fröhlich J., 2009:** Lactic Acid Bacteria, Biology of Microorganisms on Grapes, in Must and in wine. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 15p.

- **Labioui H., Elmoualdi L., El Yachioui M., & Ouhssine M., 2005:** Sélection de souches de bactéries lactiques antibactériennes. *Bulletin de la Société de Pharmacie de Bordeaux*. **144** : 237-250.
- **Lahtinen S., Ouwehand A.C., Salminen S. & Wright A. V., 2012:** Lactic Acid Bacteria Microbiological and functional aspects. Fourth edition Taylor & Francis Group. CRC press, Boca Raton London New York. 798p.
- **Langella P., Nouaille S., Commissaire J., Bolotine A., Gruss A. & Le Loir Y., 2001:** Characterization of host factors affecting heterologous protein secretion in *Lactococcus lactis*. *Lait*, **81** : 19-28.
- **Larpent J.P., 1997:** Technique de laboratoire : microbiologie alimentaire. Ed : *Lavoisier. Paris (France)*. 1073p.
- **Law J., & Haandrikman A., 1997:** Proteolytic enzymes of lactic acid bacteria. *International Dairy Journal*. **7**:1-11.
- **Lee JY., Kim CJ. & Kunz B., 2006:** Identification of lactic acid bacteria isolated from kimchi and studies on their suitability for application as starter culture in the production of fermented sausages. *Meat Sci*, **72**: 473-445.
- **Lenoir J., Hermier J. & Weber F., 1992:** Les groupes microbiens d'intérêt laitiers. Ed : *CIDIL*, pp : 30-50.
- **Leveau J.Y., et Bouix M., 1993:** Microbiologie industrielle : les microorganismes d'intérêt industriel. *Tec & Doc, Lavoisier*. Paris, pp : 85-87.
- **Mack D.R., 2013 :** Probiotic Therapy. *Pediatric Inflammatory Bowel Disease*.chapter 13.
- **Makhloufi K. M., 2012:** Caractérisation d'une bactériocine produite par une bactérie lactique *Leuconostoc pseudomesenteroides* isolée du boza. Thèse de Doctorat en Microbiologie et Biochimie. Université Pierre et Marie Curie, France. 229p.
- **Malago J.J., Koninkx J.F.J.G. & Marinsek-Logar J., 2011:** Probiotic Bacteria and Enteric Infections. Cytoprotection by Probiotic Bacteria. Springer Dordrecht Heidelberg London New York. P : 476.
- **Manay Shakuntala N. & Shadaksharaswamy M., 2001:** Foods: Facts and principles. Second Edition. New Age International Publishers. 564p.
- **Maroni O., 2007:** Contribution à l'étude du rôle des probiotiques dans le contrôle et la prévention des infections entériques à *listeria monocytogenes* : analyse in vitro et

- étude in vivo des mécanismes d'actions antimicrobien. Thèse de doctorat. Université Laval. P : 146.
- **Massaux C., Bodson B., Lenartz J., Sindic M., Sinnaeve G., Dardenne P., Falisse A. & Deroanne C., 2006:** L'amidon natif du grain de blé : un composé naturel à valoriser par la connaissance de ses propriétés techno-fonctionnelles. Amidon, Livre blanc « céréales ». F.U.S.A et CRAW. Gembloux, 7p.
  - **Mathew Shiju., Thomas George. & Tufail Ahmad., 2011:** An Evaluation of the fungi isolated from sub-epidermal region of post-harvested stored wheat grains. *Nepal Journal of Biotechnology*, **1**: 9-13.
  - **Matz Samuel A., 1991:** The chemistry and technology of cereals as food and feed. Second Edition. Springer, 751 P.
  - **Moëller V., 1955:** Simplified tests of some amino acid decarboxylases and for the arginine dihydrolase system. *Acta. Pathol. Microbiol. Scand.*, **36**: 158-172.
  - **Mokhtari S.,** Effet protecteur de certaines bactéries lactiques isolées à partir de blé fermenté type Hamoum. Mémoire de magister en physiologie de la nutrition et de sécurité alimentaire, Université d'Oran, 165p.
  - **Molinité A. & Pfohl-Leszkowicz A., 2003:** Laboratoire de Toxicologie et sécurité alimentaire- Auzeville- Tolosane, Note de l'ASEDISSO No. spécial Mycotoxines, 9p.
  - **Mosiniak M., Prat R. & Roland J.C., 2001:** Du blé Au pain. Ed : Biologie et Multimédia », <http://www.snv.jussieu.fr/bmedia/blepain/blepres/blepres.htm>.
  - **Moussard C., 2006:** Biochimie structurale et métabolique. De Boeck & Larcier. 3ème Edition, 368 P.
  - **Mozzi F., Raya R.R. & Vignolo G.M., 2010:** Biotechnology of lactic acid bacteria : Novel applications. *Blackwell. Publishing*. 13p.
  - **Muhammad S. & Rukhsana J. 2011:** Ecological screening of lipolytic cultures and process optimization for extracellular lipase production from fungal hyperproducer. *Pak. J. Bot.* **43**(2): 1343-1349.
  - **Multon J.L., 1982:** Conservation et stockage des grains et graines et produits dérivés : Céréales, oléagineux, protéagineux, aliments pour animaux. Ed : Villeurbanne : Technique et documentation, 576p.
  - **Nedjah I., 2015:** Changements physiologiques chez des plantes (Blé dur *Triticum durum* Desf.) exposées à une pollution par un métal lourd (plomb). Thèse de doctorat du troisième cycle, Université Badji Mokhtar – Annaba, 144p.

- **Patrignani F., Lanciotti R., Mathara J. M., Guerzoni M. E. & Holzapfel W. H., 2006:** Potential of functional strains, isolated from traditional Maasai milk, as starters for the production of fermented milks. *Int. J. Food Microbiol.* **107**:1 –11.
- **Paul Ross R., Morgan S. & Hill C., 2002:** Preservation and fermentation: past, present and future. *Int. J. Food Microbiol.* **79** : 3 – 16.
- **Petersson S. & Schnürer J., 1995:** Biocontrol of mold growth in high-moisture wheat stored under airtight conditions by *Pichia anomala*, *Pichia guilliermondii*, and *Saccharomyces cerevisiae*. *Appl. Environ. Microbiol.* **61**(3):1027-1032.
- **Pfeiler E.A. & Klaenhammer T.R., 2007:** The genomics of lactic acid bacteria. *Trends Microbiol.* **12**: 546-53.
- **Picon A., Garcia-Casado M.A. & Nunez M., 2010:** Proteolytic activities, peptide utilization and oligopeptide transport systems of wild *Lactococcus lactis* strains. *International Dairy Journal.* **20**: 156-162.
- **Pilet M.F., Magras C. & Federighi M., 1998:** Bactéries lactiques. In : Manuel de bactériologie alimentaire (Sutra L., Federighi M., Jouve J.L.). 2e Ed : *Polytechnica. Paris* .pp:235-260.
- **Pilet M.F., Magras C. & Federighi M., 2005:** Bactéries lactiques. In : bactériologie alimentaire (Federighi M.). 2e Ed : *Economica. Paris* .pp: 219-240.
- **Pomeranz Y., 1987:** Cereal Crops general. In Modern cereal science and technology Pomeranz Y (eds), VCH Publishers, Inc, New York. Pp: 14-23.
- **Quiberoni A., Rezaiki L., El Karoui M., Biswas I., Tailliez P. & Gruss A., 2001:** Distinctive features of homologous recombination in an « old » microorganism, *Lactococcus lactis*, *Research Microbiology.* **152**: 131-139.
- **Raynaud S., 2006:** Régulation métabolique et transcriptionnelle de l'auto acidification chez *Lactococcus lactis*. Thèse de Doctorat. L'institut national des sciences appliquées de Toulouse. 310p.
- **Reimbert MA., 1982:** Silos, théorie et pratique. Calcul fonctionnement et réalisation. Eyrolles Paris.
- **Robert H., Gabriel V. & Fontagné-Faucher C., 2009 :** Biodiversity of lactic acid bacteria in French wheat sourdough as determined by molecular characterization using species-specific PCR. *Int. J. Food. Microbiol.* **135** : 53–9.
- **Roberts M., Reiss M. & Monger G., 2000:** Advanced Biology. Nelson.800P.

- **Roberts T.A., 2005:** Microorganisms in foods. Microbial Ecology of food Commodities. Second Edition. Springer; 776P.
- **Roudaut H. & Lefrancq E., 2005:** Alimentation théorique: Sciences des aliments. Ed : Doin, France, 303 P.
- **Ruel T., 2006:** Document sur la culture du blé, *Ed: Educagri*. 18p.
- **Säde E., 2011:** *Leuconostoc* Spoilage of refrigerated , Packaged foods. Doctoral thesis. University of Helsinki Finland. 57p.
- **Salman A.D., Ghadiri M. & Hounslow M.J., 2007:** Particle breakage. Handbook of powder technology. Elsevier; 1240 P.
- **Salminen S., Gorbach S., Lee Y.K. & Benno Y., 2004:** Human studies on probiotics: what is scientifically proven today. *In* : Lactic acid bacteria: microbiological and functional aspects (Salminen S., Wright A.V. et Ouwehand A.). 3e Ed., *Marcel Dekker, Inc.* New York. Pp: 515-530.
- **Salminen S., Wright A.V. & Ouwehand A.C., 2004:** Lactic Acid Bacteria Microbiological and functional aspects Third edition Taylor & Francis Group. Boca Raton London New York. 656p.
- **Savijokie K., Ingmer H. & Varmanen P., 2006:** Proteolytic systems of lactic acid bacteria. *Applied Microbiology and Biotechnology*. **71**: 394-406.
- **Schleifer K.H., 1987:** Recent changes in the taxonomy of lactic acid bacteria. *FEMS Microbiol. Letters*. **46**: 201-203.
- **Selmi R., 2000:** Fin du mythe de l'autosuffisance alimentaire et place aux avantages comparatifs. *Revue Afrique Agriculture*. N° 280 :30-23.
- **Semelis J., Maurogenakis F. & Metaxopoulos J., 1994:** Characterization of lactic acid bacteria isolated from naturally fermented greek dry salami. *Int. J. Food. Microbiol.* **23** :179-196.
- **Smith Scott J. & Hui Y.H., 2004** :Food processing: Principles and Application. *Blackwell Publishing*; 524 P.
- Steijns J. N., 2008: Dairy products and health: Focus on their constituents or on the matrix? *Int. Dairy J.* 18:425–435.
- **Stiles M-E. & Holzapel W-H., 1997:** Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy. *Inter. J. Food Microbiol*, **36**: 1-29.
- **Streit F., Corrieu G. & Béal C., 2008:** Acidification improves cryo tolerance of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *Bulgarius* CFI1. *J. Biotechnol.* **128**: 659-667.

- **Striles M.E. & Holzapfel W.H., 1997:** Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy. *Int.J. Food Microbiol.* **36:** 1-29.
- **Surget A. & Barron C., 2005:** Histologie du grain de blé. *Industrie des céréales*, **145** : 4-7.
- **Tamime A.Y., 2002:** Microbiology of starter cultures. In: Dairy microbiology handbook (Robinson R.K.). 3e Ed., *John Wiley and sons, Inc., New York*. Pp: 261-366.
- **Terzaghi B. E. & Sandine WE., 1975:** Improved medium for lactic streptococci and their bacteriophages. *Applied Microbiology.* **29:** 807-13.
- **Teuber M. & Geis A., 2006:** The genus *Lactococcus*. p 205–228 In Dworkin M, Falkow S, Rosenberg E, Schleifer K-H, Stackebrandt E, editors. (ed), *The prokaryotes*. Springer, New York, NY.
- **Thompson J. & Gentry-Weeks C.R., 1994 :** Métabolisme des sucres par les bactéries lactiques. In : Bactéries lactiques (De Roissart H. et Luquet F.M.). *Lorica, Uriage.* **1** : 239-290.
- **Tingshuang G., Sánchez Manuel D. & Yu Guo P., 2002:** Animal production based on crop residues: Chinese experiences. Food & Agriculture, FAO, 210 P.
- **Titiek F.D., Endang S.R., Djoko W. & Slamet S., 1996:** Antimicrobial substance produced by *lactobacillus* sp. TGR-2 isolated from Growol. Indonesia Food Nutrition Programme. **3(2):** 29-34.
- **Touré R., Kheadr E., Lacroix C., Moroni O. & Fliss I., 2003:** Production of antibacterial substances by bifidobacterial isolates from infant stool active against *Listeria monocytogenes*. *Appl. Microbiol.* **95 (5):**1058 – 69.
- **Vandamme P., Pot B., Gillis M., DeVos P., Keresters K. & Swings J., 1996:** Polyphasic taxonomy, a consensus approach to bacterial systematic. *Microbiol. Rev.* **60 (2):** 407-38.
- **Vierling E., 2008:** Aliments et Boissons: Filière et Produits. Ed : Doin, 3ème édition; 277P.
- **Williams A.G., Noble J. & Banks J.M., 2001:** Catabolism of amino acids by lactic acid bacteria isolated from Cheddar cheese. *International of Dairy Journal.* **11:** 203-215.
- **Yves H. & Buyer J., 2000:** L'origine des blés. *Pour les sciences hors série* n° 26. pp : 60 - 62.

- **Zarour K., 2010:** Contribution à l'étude microbiologique et technologique des espèces de *Leuconostoc mesenteroides* isolées de différents écosystèmes. Mémoire de Magister. Université D'Oran Es-Senia. 127p.
- **Zhang H. & Cai Y., 2014:** Lactic Acid Bacteria Fundamentals and Practice. Springer Dordrecht Heidelberg New York London, P: 535.

---

## Annexes

Composition des milieux de culture :

❖ **Milieu MRS**

Peptone.....	10g
Extrait de viande.....	10g
Extrait de levure.....	5g
Glucose.....	20g
Tween 80.....	1ml
Phosphate bi potassique.....	2g
Acétate de sodium.....	5g
Citrate d'ammonium.....	2g
Sulfate de magnésium.....	0,2g
Sulfate de manganèse .....	0,5g
Agar.....	15g
Eau distillée.....	1000ml

Autoclavage 15 minutes à 120°C.

❖ **ADH** (milieu pour mise en évidence de l'arginine déshydrogénase)

L'arginine.....	5g
Extrait de levure.....	3g
Glucose.....	1g
Chlorure de sodium.....	5g
Pourpre de bromocrésol.....	16g

PH=6,3 ; autoclavage 10 minutes à 120°C, avec l'ajout d'une solution stérile de sucre à 10%.

❖ **BCP** (bouillon pour fermentation des sucres)

Peptone.....	1g
Extrait de viande.....	1g
Chlorure de sodium.....	5g

Pourpre de bromocrésol.....15mg

PH=6,8 ; autoclavage 10 minutes à 120°C.

❖ **Bouillon de Clark et Lubs**

Peptone.....10g

Phosphate bi potassique.....2g

Glucose.....5g

❖ **Bouillon nutritif**

Extrait de viande.....1g

Extrait de levure.....2g

Peptone.....5g

Chlorure de sodium.....5g

PH=7,4 ; autoclavage 20 minutes à 120°C.

❖ **Lait tournosolé**

Teinture de tournesole 4%.....10ml

Lait écrémé à 12%.....1000ml

Autoclavage 5 minutes à 110°C.

❖ **Mannitol-mobilité**

Peptone.....20g

Nitrate de potassium.....1g

Mannitol..... 2g

Rouge de phénol.....40g

Gélose.....4g

PH=8,1 ; autoclavage 15 minutes à 120°C.

**❖ Tellurite**

Extrait de viande.....	10g
Extrait de levure.....	3g
Peptone.....	10g
Glucose.....	5g
Chlorure de sodium.....	5g
Gélose.....	20g

PH=7,1 ; autoclavage 15 minutes à 120°C.

**❖ TSI (gélose triple sugar-iron agar)**

Peptone.....	20g
Extrait de viande.....	3g
Extrait de levure.....	3g
Chlorure de sodium.....	5g
Glucose.....	1g
Lactose.....	10g
Saccharose.....	10g
Citrate de fer.....	0,5g
Hyposulfite de sodium.....	0,5g
Rouge de phénol.....	25g
Gélose.....	12g

PH=7,4 ; autoclavage 15 minutes à 115°C en position semi-inclinée.

**❖ Milieu à base de gélatine**

Peptone.....	10g
Extrait de viande.....	4g
Gélatine.....	120g
NaCl.....	2,5g

### ❖ VF (milieu viande-foie gélosé)

Extrait de viande-foie.....	30g
Glucose.....	2g
Gélose.....	6g

PH=7,4 ; Répartir en tubes à essais.

### ❖ Bouillon hypersaccharosée

Tryptone.....	10g
Extrait de viande.....	5g
Glucose.....	5g
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> .....	5g
Saccharose.....	50g

### ❖ Lait gélose

Lait écrémé.....	1L
Gélose.....	15g

### 1-3/ Produits chimiques et réactifs :

**Les colorants** : Violet de Gentiane, Fuchsine, teinture de tournesol, bleu de méthylène, phénolphtaléine à 1%.

**Les réactifs** : réactifs de Vogues Proskauer (VPI et VPII), Acide sulfanilique et Alpha naphthylamine (NR1 et NR2), Tryptophane désaminase (TDA), réactif de Kovacs.

**Les acides et les bases** : L'acide chlorhydrique HCl, La soude Dornic N/9, le chlorure de sodium(NaCl).

**Alcool et autres** : Ethanol, lugol, eau oxygénée, sucres (glucose, lactose, saccharose, maltose, mannitol, xylose, dextrine, sorbitol), l'eau distillée stérile, l'eau distillé, l'eau physiologique, disque de cytochrome oxydase,disques d'ONPG, poudre de zinc.

### Appareillages :

L'appareillage utilisé au cours de cette étude expérimentale est le suivant:

- Etuve.
- Réfrigérateur
- Autoclave
- Bain Marie.
- Balance .
- pH mètre .
- Microscope optique .
- Bec bunsen .
- Micropipettes .