

## TP 1 — Isolement et caractérisation des bactéries lactiques d'un aliment fermenté.

### Objectifs pédagogiques

- Maîtriser les techniques d'isolement sélectif des bactéries lactiques.
- Réaliser une identification morphologique et biochimique préliminaire.
- Corréler les résultats à la composition probiotique théorique de l'aliment.

### Matériel biologique

- Yaourt nature (Activia® ou équivalent) ou lben (lait fermenté algérien traditionnel)
- Milieux sélectifs : MRS (De Man, Rogosa, Sharpe) et M17
- Milieu MRS acidifié (pH 5,4) pour sélection des lactobacilles

### Protocole expérimental :

1. Dilutions décimales ( $10^{-1}$  à  $10^{-8}$ ) dans eau peptonée stérile — noter la densité initiale.
2. Ensemencement en double couche sur MRS et M17 ; incubation 37°C / 48h (anaérobiose pour MRS).
3. Dénombrement des colonies ; calcul de la teneur en UFC/g ou UFC/mL.
4. Sélection de 5 colonies morphologiquement distinctes par milieu.
5. Coloration de Gram + observation microscopique → noter morphologie, arrangement.
6. Tests d'orientation : catalase ( $H_2O_2$  3 %), oxydase, test au bleu de méthylène (aérobiose/anaérobiose).
7. Galerie API 50 CHL ou équivalent pour identification biochimique de genre.
8. Rédaction d'un tableau comparatif des isolats avec proposition d'identification.

### Résultats attendus

- *Lactobacillaceae* (cocci et bacilles Gram+, catalase négative) sur MRS.
- *Streptococcus thermophilus* (chaînettes, 42°C) sur M17.
- Densité totale bactéries lactiques dans le yaourt :  $10^7$  –  $10^9$  UFC/g.

## TP 2 — Évaluation de la tolérance aux conditions gastro-intestinales simulées.