

République Algérienne Démocratique et Populaire

Université Abdelhamid Ibn
Badis-Mostaganem
Faculté des Sciences de la
Nature et de la Vie



جامعة عبد الحميد بن باديس
مستغانم
كلية علوم الطبيعة و الحياة

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par
ADDA CHERIFA

Pour l'obtention du diplôme de

MASTER EN SCIENCES BIOLOGIQUES

Spécialité: microbiologie fondamentale

THÈME

**Etude de la microflore du lait ferment traditionnel
(Jben) recherche de souche de bactéries lactique
productrices de bactériocines**

Soutenue publiquement le 11/07/2020

DEVANT LE JURY

Président	Mme CHOUGRANI Fadela	Prof	U. Mostaganem
Encadreur	M. CHERIGUENE Abderrahim	Prof	U. Mostaganem
Examineur	M. ZABOURI Younes	MCB	U. Mostaganem

Thème réalisé au

Dédicaces

Je remercie le bon dieu de m'avoir donné le courage pour réaliser ce travail et
la patience pour aller jusqu'au bout du parcours de mes études
Je dédie ce mémoire.

A

Celui qui m'a toujours encouragé et soutenu durant toutes mes années
d'études.

Merci pour ton amour et ta confiance totale...A toi très cher papa.

A

Celle qui m'a tant bercé, tant donné et tant enseigné, toi qui m'a guidé Dans
le droit chemin, toi qui m'a appris que rien est impossible...A toi
Ma chère maman.

A

Mon cher frère Khaled et Mohamed

A

Mon oncle Nouredine

A

Mes chers amis

Enfin à tous ceux qui aiment la science et la recherche.

Cherifa

Remerciements

Au terme de ce travail, il est agréable de présenter mes remerciements les plus sincères à Monsieur CHERIGUENE Abderrahim pour m'avoir proposé ce sujet si intéressant et m'avoir accepté d'encadrer et d'orienter tout au long de mon travail.

Les remerciements aux membres de jury qui ont accepté d'évaluer ce travail :
Professeur CHOUGRANI Fadela enseignante à l'université de Mostaganem
et Dr ZABOURI Younes enseignant à l'université de Mostaganem.

Mes remerciements vont également à mes enseignants qui m'ont accompagné pendant mon cursus universitaire.

Mes plus vifs remerciements à mes parents, surtout ma chère maman, ma famille, et mes amies.

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

Il ne faut oublier les membres de jury

Merci

ملخص

من الحليب الخام للبقرة والأغنام والماعز والإبل ، هناك عدة أنواع من الزبدة التقليدية والألبان التي تشكل جزءًا من النظام الغذائي في مناطق مختلفة من الجزائر.

من بين منتجات الألبان الجزائرية التقليدية "جبين

أظهرت النتائج الميكروبيولوجية التي تم الحصول عليها أن الحليب المخمر التقليدي الذي تم تحليله غني جدًا بالنباتات الهوائية المتوسطة وبكتيريا حمض اللاكتيك وأظهرت النتائج أيضًا أن هذه الألبان ملوثة بدرجة عالية من القولونيات.

البحث عن بكتيريا حمض اللاكتيك المنتجة للبكتريوسينات باستخدام طريقة بقعة طبقة الخلية

باستخدام السلالات المرجعية *E.coli* ATCC 25922 ، *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 أعطت نتائج إيجابية لجميع السلالات المدروسة.

تعتبر منتجات الألبان التقليدية مصدرًا لسلالات جديدة من مضادات الميكروبات.

الكلمات المفتاحية: جبين ، بكتيريا حمض اللاكتيك ، بكتيريا ممرضة

Résumé

A partir du lait cru de vache, de brebis, de chèvre et de chamelle, plusieurs types de beurres et fromages traditionnels font partie de l'alimentation dans différentes régions d'Algérie

Parmi les préparations lactières traditionnelles algériennes le "Jben"

Les résultats microbiologie obtenus montrent que les laits fermentés traditionnels analysés sont très riches en flore mésophile aérobie totale et bactéries lactiques et les résultats ont montré que ces laits sont fortement contaminés par les coliformes.

La recherche des bactéries lactiques productrices de bactériocines par la méthode des spots dite sur tapis cellulaire en utilisant souches de référence *E.coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 a donné des résultats positives pour toutes les souches étudiées.

Les produits laitiers traditionnels constituent une source de nouvelles souches antimicrobiennes.

Mots clés : Jben, Bactéries lactiques, Bactéries pathogènes, bactériocines.

Abstract

From the raw milk of cow, sheep, goat and camel, several types of traditional butters and cheeses are part of the diet in different regions of Algeria

Among the traditional Algerian dairy preparations the "Jben"

The microbiology results obtained show that the traditional fermented milks analyzed are very rich in total aerobic mesophilic flora and lactic acid bacteria and the results have shown that these milks are highly contaminated by coliforms.

The search for bacteriocin-producing lactic acid bacteria by the so-called cell-layer spot method using reference strains *E.coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 gave positive results for all the strains studied.

Traditional dairy products are a source of new antimicrobial strains.

Keywords: Jben, Lactic acid bacteria, Pathogenic bacteria,

Liste des abréviations

ATP : adénosine triphosphate.

BL: bactérie lactique

UFC : Unité Formant Colonie

U/mg : unité par milligramme.

Δ pH : gradient de pH.

$\Delta\Psi$: potentiel de membrane.

ADN : acide désoxyribonucléique.

NAD⁺ : nicotinamide adénine dinucléotide

NADH : nicotinamide adénine dinucléotide

DLC : Date limite de consommation

Liste des Figures :

Figure 1 : Genre <i>Lactobacillus</i> (http://fr.wikipedia.org/wiki/Lactobacillus).....	15
Figure 2 : Genre <i>Streptococcus</i> (http://fr.wikipedia.org/wiki/Streptococcus).....	15
Figure 3 : Genre <i>Lactococcus</i> (http://fr.wikipedia.org/wiki/Lactococcus).....	16
Figure 4 : Genre <i>Leuconostoc</i> (http://fr.wikipedia.org/wiki/Leuconostoc).....	17
Figure 5 : le genre <i>Bifidobacterium</i> (http://fr.wikipedia.org/wiki/Bifidobacterium).....	17
Figure 6 : Représentation schématique des principales voies de fermentation des hexoses chez les bactéries lactiques.....	19

Liste des Tableaux

Tableau 01 : Composition globale du lait de vache (Vignola, 2002).....	5
Tableau 02 : caractéristiques physico-chimiques du lait de vache (Majoub et al ,1993).....	6
Tableau 03 : Flore microbienne du lait (Leyral et Vierling, 2001).....	8
Tableau 04 : Les différents genres de bactéries lactiques et leurs principales caractéristiques (Laurent et al, 1998).....	18
Tableau 05 : Classification des bactériocines de bactéries lactiques (Luquet et Corrieu, 2005).....	23
Tableau 06 : Bactériocines de classe III produites par des bactéries lactiques (Luquet et Corrieu, 2005).....	26
Tableau 07 : Milieux utilisés et conditions d'incubation pour l'isolement des bactéries lactiques (Badis et al,2004).....	33
Tableau 08 : Origine des différentes souches étudiées.....	35
Tableau 09 : Nombre moyen de colonies dénombrées (UFC/ml de lait).....	35
Tableau 10 :L'activité inhibitrice de souches productrices.....	39

Table des Matières

Introduction :	1
-----------------------------	---

Partie bibliographique

Chapitre I : le lait

1. Généralité sur le lait.....	3
1.1. Définitions du lait.....	3
1.2. Composition biologique de lait.....	3
1.2.1. La matière grasse.....	3
1.2.2. Les protéines.....	3
1.2.3. Les glucides.....	4
1.2.4. vitamines.....	5
1.3. Propriété physico-chimique du lait.....	5
1.3.1. Point de congélation.....	6
1.3.2. Masse volumique.....	6
1.3.3. Densité.....	6
1.3.4. Acidité de titration ou acidité Dornic.....	7
1.3.5. Point d'ébullition.....	7
1.3.6. pH du lait.....	7
1.4. La microflore du lait.....	7
1.4.1. Flore originale.....	8
1.4.2. Flore pathogène.....	8
1.4.3. Flore psychrotropes.....	8
1.5. Les différents types de lait.....	8
2. Les produits laitiers traditionnels	9
2.1. Fromages frais traditionnel (Jben)	9
2.1.1. Définition.....	9
2.1.2. Préparation de fromage frais	10
2.1.3. Caractéristiques physico-chimique du (Jben).....	11

2.1.4. Microflore de Jben.....	11
2.1.5.rôles de bactéries lactiques dans la fabrication fromage.....	12

Chapitre II: Les bactéries lactiques.

1. Définition des bactéries lactiques.....	13
2. caractéristique générales des bactéries lactiques.....	13
3. Classification.....	14
3.1. Le genre <i>Lactobacillus</i>	14
3.2. Le genre <i>Streptococcus</i>	15
3.3. Le genre <i>Lactococcus</i>	16
3.4. Le genre <i>Leuconostoc</i>	16
3.5. Le genre <i>Bifidobacterium</i>	17
4. Les voies fermentaires de bactéries lactiques.....	18
4.1. Définition.....	18
4.2. Voies fermentaires générales du métabolisme carbone.....	18
4.2.1. La voie homofermentaire.....	18
4.2.2. La voie heterofermentaire.....	20
5. rôles et intérêts des bactéries lactiques.....	21
5.1. Domaine alimentaire.....	21
5.1.1. Rôle sur la structurée la texture.....	21
5.1.2. Rôle dans la conservation.....	21
5.1.3. Rôle sur les caractéristiques organoleptiques.....	21
5.2. Domaine de sante.....	21
6. propriété probiotique.....	21
6.1.définition d'un probiotique.....	21
6.2. Les bactéries probiotiques.....	22
6.3. Rôle de probiotiques.....	22
7. Les bactériocines.....	22
7.1. Classification.....	23
7.1.1. Classe I : les lantibiotiques.....	23
7.1.1.1. Les lantibiotiques de type A.....	24
7.1.1.2. Les lantibiotiques de type B.....	25
7.1.1.3. Les lantibiotiques type C.....	25
7.1.2. Bactériocine de classe II.....	25

7.1.2.1 Sous classe II a.....	25
7.1.2.2. Sous classe II b	25
7.1.2.3. Sous classe II c	26
7.1.3. Bactériocines de classe III	26
7.2. Mécanisme d'action.....	26
7.2.1. Bactériocines de classe I.....	26
7.2.2. La classe II.....	27
7.2.3. Les bactériocines de Class III.....	28
7.3. Synthèse et sécrétion.....	28
7.4. Immunité de la bactérie productrice.....	28
7.5. Les propriétés des bactériocines pour une application alimentaire.....	29
7.6. L'application des bactériocines dans le secteur alimentaire.....	29
7.7. Limites d'utilisation des bactériocines.....	30
7.8. Résistance aux bactériocines.....	30

ETUDE EXPERIMENTALE

1. Matériels et méthodes.....	32
1.1.	
Matériels.....	32
1-1-1-Matériel biologique	32
1.1.1.1. Préparation du lait fermenté traditionnel.....	32
2. Analyses microbiologiques.....	32
2.1. Dénombrement de la flore totale et la flore lactique.....	32
2.2. Dénombrement des Coliformes totaux.....	33
2.3. Dénombrement des coliformes fécaux.....	33
2.4 ; Dénombrement de la flore mésophile aérobie totale.....	33
2.5. Dénombrement des salmonelles.....	34
3. Recherche des bactériocines.....	34
3.1. Méthode diffusion en puits	34
3.2. Méthode des spots dite sur tapis cellulaire.....	34
3.3. Les souches pathogènes.....	34

4. Résultats et discussion.....	35
4.1 Résultats des analyses microbiologiques.....	35
4.1.1. Flore totale mésophile aérobie.....	36
4.1.2. Numération des bactéries lactiques.....	37
4.1.3. Numération des coliformes totaux et fécaux.....	37
4.1.4 .Numération des Salmonelles.....	38
4.2. Production des bactériocines	39
4.2.1. Résultat de méthode des spots dite sur tapis cellulaire	39
4.2.1.1. Activité antagoniste de souches vis-à-vis d' <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922.....	39
4.2.1.2. Activité antagoniste de souches vis-à-vis de <i>Staphylococcus aureus</i> STA 49444.....	39
4.2.2. Résultat de méthode diffusion en puits.....	40
Conclusion.....	41
Références bibliographiques	

Introduction

Le lait représente un milieu biologique fortement altérable par voie microbienne en raison de sa forte teneur en eau, de son pH voisin, de sa neutralité et de sa richesse en composants biodégradables (lactose, protéines et lipides) (Huyghebaert, 2006). Lorsqu'il est prélevé dans de bonnes conditions, le lait cru contient peu de germes (10^3 germes par mL). Il s'agit de germes saprophytes et parmi eux, on trouve les Streptocoques lactiques (*Lactococcus*) et les Lactobacilles. Durant la traite et le stockage, le lait peut se contaminer par une flore variée constituée essentiellement de bactéries lactiques appartenant aux genres suivants : *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Enterococcus*, *Leuconostoc* et *Lactobacillus* (Bekhouche, 2006).

La fermentation microbienne est le procédé le plus ancien de conservation des produits alimentaires plus particulièrement le lait. L'utilisation de ce procédé de conservation remonte à 10000 ans avant Jésus-Christ, date approximative d'apparition des premiers laits fermentés traditionnels et le début de la domestication de certains animaux comme la vache, la brebis et la chèvre (Tamime, 2006)

Les laits fermentés traditionnels sont préparés dans beaucoup de pays du monde et avec des techniques toujours empiriques et primitives.

Une grande variété de produits laitiers fermentés sont préparés traditionnellement en Algérie. Ces produits font partie d'héritage Algérien et ont une grande importance culturelle, médicinale et économique. Ils ont été développés sur une longue période avec les compétences des femmes rurales. Parmi les produits laitiers fermentés, couramment consommés, le fromage traditionnel algérien appelé "Jben", très populaire à la campagne et dans des villes aussi, comme Ain Sefra, Mechria, Sebdou etc... Il est fabriqué à partir du lait cru de vache, de brebis ou de chèvre. Sa fabrication demande l'utilisation des enzymes coagulantes d'origine animale comme « Hakka » ou végétales comme les fleurs d'artichauts et de cardon. Les fromages traditionnels hébergent une diversité microbienne, composée de populations microbiennes endogènes, qui joue un rôle majeur dans le développement des qualités nutritionnelles et organoleptiques très sollicitées.

Les bactéries lactiques sont à la base du processus de la fermentation du lait en lait fermenté, elles permettent de transformer le lactose en acide lactique et de ce fait abaisser le pH du produit. Elles sont également capables de synthétiser beaucoup de substances

Comme le peroxyde d'hydrogène, le dioxyde de carbone, le diacétyle, l'acétaldéhyde et les bactériocines. Elles jouent, ainsi, un rôle très important dans la biopréservation des produits alimentaires (**Guinane et al, 2005**), et en augmentant leur durée de conservation. Cette préservation est conférée par la production de plusieurs métabolites ayant une activité antimicrobienne tels que les acides organiques, le peroxyde d'hydrogène, le dioxyde de carbone, la reutéline, le diacétyl et les bactériocines.

L'intérêt des bactériocines des bactéries lactiques réside d'une part dans leur effet antimicrobien à spectre large ou étroit et d'autre part dans leur sûreté pour la santé humaine, vue leur sensibilité aux protéases digestives, et leur non toxicité pour les cellules eucaryotes. Ces substances antimicrobiennes ont la capacité de cibler sélectivement les bactéries pathogènes ou altérantes, sans pour autant inhiber les bactéries indispensables. Ces substances bioactives présentent également une grande tolérance aux variations de pH et aux traitements thermiques. Tous ces critères suggèrent que les bactériocines peuvent être un substituant idéal des conservateurs chimiques (**Dortu et Thonart, 2009**).

L'objectif de ce travail est une synthèse de travaux scientifiques qui vise dans une première étape la détermination la qualité microbiologique du lait fermenté traditionnel "Jben" et dans une seconde étape l'isolement à partir de ces laits des bactéries lactiques productrices de bactériocines.

Partie bibliographique

Chapitre I : le lait

1. Généralités sur le lait

1.1. Définition du lait

Le lait a été défini en 1908, au cours du Congrès International de la Répression des Fraudes à Genève comme étant :

« Le produit intégral de la traite totale et ininterrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée. Le lait doit être recueilli proprement et ne doit pas contenir de colostrum (Alais, 1975).

Le codex Alimentarius en 1999, le définit comme étant la sécrétion mammaire normale d'animaux de traite obtenue à partir d'une ou plusieurs traites, sans rien ajouter ou en soustraire, destiné à la consommation comme lait liquide ou à un traitement ultérieur (Snappe *et al.*, 2010).

Le lait cru est un lait qui n'a subi aucun traitement de conservation sauf la réfrigération à la ferme, la date limite de vente correspond au lendemain du jour de la traite, le lait cru doit être porté à l'ébullition avant consommation (car il contient des germes pathogènes), il doit être conservé au réfrigérateur et consommé dans les 24h (Fredot, 2006).

Il constitue un milieu propice pour la croissance de nombreux micro-organismes, en particulier les bactéries pathogènes (Chye *et al* 2004). Le lait sans indication de l'espèce animale de provenance correspond au lait de vache (Larpen *et al* 1997).

1.2. Composition biologique de lait

Le lait est un aliment liquide complet, très nourrissant, réunissant à lui seul tous les composants nécessaires à l'alimentation humaine. 100 g de lait contient 87 g d'eau et 13 g de matières sèches.

Les principaux constituants de la matière sèche du lait sont :

1.2.1. La matière grasse

C'est le constituant le plus variable du lait, constituée d'un mélange d'acides gras saturés et non saturés qui se trouvent en suspension dans le lait sous forme de minuscules gouttelettes (globules gras) et forme une émulsion. La concentration en lipides varie de 10 à 500 g/l suivant les espèces. Elles sont constituées essentiellement (99%) de triglycérides dans un lait au repos, cette matière grasse s'agglutine à la surface, formant la crème.

1.2.2. Protides

D'après Armor, 2004, les protides représentent 95 % environ des matières azotées et

sont constituées soit d'acides aminés (β -lactoglobuline, α -lactalbumine), et d'acides phosphoriques (caséinate), une vingtaine d'acides aminés intervient dans la composition de ces protéines, leurs séquences confèrent à chaque protéine de propriétés propres, c'est sur la base de la précipitation au pH (4,6) qu'on sépare la fraction protéique en caséine et protéine soluble, ces protéines sont alors présentées dans deux phases différentes :

- Phase micellaire instable constituée de particules solides, les micelles en suspension qui diffusent la lumière et donnent au lait son aspect blanc opaque : ce sont les caséines.
- Phase soluble stable constituée de différents polymères protéiques hydrophiles appelés protéines solubles ou protéines du lactosérum.

En plus, il existe dans le lait une fraction de protéose-peptone qui représente les caractéristiques intermédiaires, ce sérum renferme aussi, mais en beaucoup plus faible quantité, d'autres constituants azotés, ceux-ci de nature très diverse, ne sont pas, à la différence des protéines, des longs enchainements d'acides aminés, raison pour laquelle on parle de matières azotées non protéiques.

1.2.3. Les glucides

Le sucre principal du lait est le lactose ; c'est aussi le composé prépondérant de la matière sèche totale. Sa teneur s'élève en moyenne à 50g par litre. C'est un disaccharide constitué par de l' α ou β glucose uni à du β galactose, ce qui est à l'origine de la présence de 2 lactoses (**Luquet, 1985**). Le lactose est fermentescible par de nombreux micro-organismes et il est à l'origine de plusieurs types de fermentations pouvant intervenir dans la fabrication de produits laitiers (**Morrissey, 1995**).

- Fermentation lactique : due aux bactéries lactiques naturelles ou ajoutées (ferments lactiques) qui utilisent le lactose en le transformant en acide lactique. Cette fermentation lactique est souvent accompagnée d'une production plus au moins grande de substances secondaires (ex. diacétyle) responsables de l'arôme des produits laitiers (**Gordon et Loisel, 1991**).
- Fermentation propionique : due aux bactéries propioniques qui transforment le lactose en acide propionique et en acide acétique responsables de la saveur des fromages à pâte cuite et en gaz carbonique induisant l'ouverture de ces fromages (**Luquet, 1985**).
- Fermentation butyrique : par des bactéries du genre Clostridium qui utilisent l'acide lactique déjà produit en le transformant en acide butyrique, responsable d'odeurs putrides et de goût

piquant, et en gaz carbonique et hydrogène. Ces substances induisent le gonflement tardif des fromages, en particulier à pâte cuite.

- Fermentation alcoolique : due à des levures qui hydrolysent le lactose en glucose et galactose et qui transforment ensuite le glucose en alcool éthylique. Cette fermentation est utilisée en particulier dans la fabrication du kéfir, boisson issue de la fermentation du lait, contenant peu d'alcool et légèrement gazeuse. A température élevée, le lactose participe avec les protéines à des réactions de brunissement non enzymatique pouvant altérer la couleur des laits stérilisés (Alais, 1975).

1.2.4. Vitamines

Ce sont des molécules complexes de taille plus faible que les protéines, de structures très variées ayant un rapport étroit avec les enzymes, car elles jouent un rôle de coenzyme associée à une apoenzyme protéique

On classe les vitamines en deux grandes catégories : - les vitamines hydrosolubles (vitamines du groupe B et vitamine C) de la phase aqueuse du lait et - les vitamines liposolubles (vitamines A, D, E, et K) associées à la matière grasse, certaines sont au centre du globule gras et d'autres à sa périphérie (Debry, 2001)

Tableau 1 : Composition globale du lait de vache (Vignola, 2002)

Constituants Majeurs	Variation limites (o/o)	Valeurs moyennes (o/o)
Eau	85.5 – 89.5	87.6
Matières grasses	2.4 – 5.5	3.7
Protides	2.9 – 5.0	3.2
Glucides	3.6 – 5.5	4.6
Minéraux	0.7 – 0.9	0.8
Constituants mineurs	Vitamines, enzymes, Pigments	Cellules diverses, gaz

1. 3. Propriétés physico-chimiques du lait :

Les principales propriétés physico –chimiques utilisées dans l'industrie laitière sont la masse volumique et la densité, le point de congélation, le point d'ébullition et l'acidité (Amiot *et al*, 2002).

Tableau 2 : caractéristiques physico-chimiques du lait de vache (Majoub *et al* ,1993)

Caractéristiques	Valeurs
Densité à 15°C	1030 – 1034
Chaleur spécifique	0,93
Point de congélation	- 0,55°C
pH	6,6 à 6,8
Acidité exprimée en degré Dornic	16 à 18
Indice de réfraction à 20°C	1,35
Point d'ébullition	100,16°C

1.3.1. Point de congélation :

Le point de congélation du lait est l'une de ses caractéristiques physiques les plus constantes. Sa valeur moyenne, si l'on considère des productions individuelles de vache, se situe entre -0,54°C et -0,55°C (Mathieu, 1998).

La mesure de ce paramètre permet l'appréciation de la quantité d'eau éventuellement ajoutée au lait. Un mouillage de 1 % entraîne une augmentation du point de congélation d'environ 0,0055°C (Goursaud, 1985).

1.3.2. Masse volumique

Selon (Poin Turier, 2003), la masse volumique du lait est définie par le quotient de la masse d'une certaine quantité de lait divisée par son volume.

La masse volumique, le plus souvent exprimé en grammes par millilitre ou en kilogrammes par litre, est une propriété physique qui varie selon la température, puisque le volume d'une solution varie selon la température (Vignola, 2002).

1.3.3. Densité

Elle oscille entre 1,028 et 1,034. Elle doit être supérieure ou égale à 1,028 à 20°C la

densité des laits de grand mélange des laiteries est de 1,032 à 20°C .la densité des laits écrémés est supérieure à 1,035. Un lait à la fois écrémé est supérieur à 1,035. Un lait à la fois écrémé et mouillé peut avoir une densité normale (**Vierling, 2008**).

1.3.4. Acidité de titration ou acidité Dornic

L'acidité de titration indique le taux d'acide lactique formé à partir du lactose. Un lait frais a une acidité de titration de 16 à 18°Dornic (°D). Il est conservé à la température ambiante, il s'acidifie spontanément et progressivement (**Mathieu, 1998**). C'est la raison pour laquelle on distingue l'acidité Développée issue de la transformation du lactose en acide lactique par divers microorganismes (CIPC lait, 2011).

1.3.5. Point d'ébullition

Le lait boue au dessus de 100°C ; entre 117 et 115°C (**Larpen, 1990**). Mais, au cours du chauffage il se produit des changements dans l'équilibre qui influent sur le résultat : Ions molécules et micelles.

1.3.6. pH du lait

Le pH renseigne précisément sur l'état de fraîcheur du lait. Un lait de vache frais a un pH de l'ordre de 6,7. S'il y a une action des bactéries lactiques, une partie du lactose du lait sera dégradée en acide lactique, ce qui entraîne une augmentation de la concentration du lait en ions hydronium (H₃O⁺) et donc une diminution du pH, car : $pH = \log 1/(H_3O^+)$. A la différence avec l'acidité titrable qui mesure tous les ions H⁺ disponibles dans le milieu, dissociés ou non (acidité naturelle + acidité développée), reflétant ainsi les composés acides du lait (**Cipc Lait, 2011**).

1.4. La microflore du lait :

Le lait contient peu de microorganismes lorsqu'il est prélevé dans des bonnes conditions, à partir d'un animal sain (moins de 5000 germes / ml) (**Larpen, 1997**).

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

Le lait cru peut être contaminé par différents microorganismes avant, pendant et après la traite ; selon (**Betsi et al, 1997 in chaouch et Tebichek 2001**) ils peuvent être classés dans les flores suivantes :

1.4.1. Flore originale

Lorsqu'il est prélevé dans de bonnes conditions, le lait contient essentiellement des germes saprophytes du pis et des canaux galactophores : microcoques, streptocoques lactiques et lactobacilles (**Guiraud, 1998**).

1.4.2. Flore pathogène

Elle présente un danger pour le consommateur c'est le cas de : *Mycobacterium bovis*, *M tuberculosis*, *Bacillus cereus*, et de représentants des genres *Brucella* et *Salmonella* (**Fukushima et al, 1984 in Bourgeois et al, 1996**).

1.4.3. Flore psychrotropes

Il s'agit essentiellement de : *Acinetobacter*, *Clostridium*, *Pseudomonas* et *Flavobacterium* qui se développent à une température de 3 à 7°C (**Hicks et al, Jooste et al., 1985 in Leveau et Bouix, 1993**). *Listeria monocytogenes* capable de se multiplier à une température comprise entre 0°C et 10°C est qualifiée de ce fait de psychrotrophe (**Rosset, 2001**).

Tableau 03 : Flore microbienne du lait (Leyral et Vierling, 2001).

Flore originale		Flore de contamination	
Bactéries des canaux galactophores	Bactéries contaminant le lait pendant et après la traite	d'origine fécale	Bactéries présentes sur l'animal malade
Lactobacilles streptocoques lactiques	<i>Pseudomonas</i> , <i>Flavobacterium</i> <i>Enterobacteries</i> , Microcoques <i>Corynébactéries</i> , <i>Bacillus</i> <i>Streptocoques faecalis</i> et <i>Clostridium</i>	<i>Clostridium</i> Coliformes fécaux <i>Salmonella</i> <i>Yersinia</i> et <i>Campylobacter</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Brucella</i> et <i>Listeria</i>

1.5. Les différents types de lait :

Les progrès accomplis dans les domaines microbiologiques et technologiques ont permis l'amélioration de la qualité et de la durée de conservation du lait dont il existe plusieurs types de lait les principaux sont :

- Lait cru
- Lait pasteurisé

- Lait stérilisé
- Lait concentré sucré (LCS)
- Lait concentré non sucré (LCNS)
- Lait en poudre (obtenus par procédés «Hatmaker» et «Spray»)
- Lait médicaux ou maternisés
- Lait aromatisé
- Lait aigris ou fermentés
- Lait reconstitué (**Mohamadou Dieng, 2001**).

2. Les produits laitiers traditionnels :

C'est l'augmentation de la production du lait durant certaines saisons et la difficulté de sa préservation sous la forme fraîche qui a conduit au développement des technologies de production traditionnelles (**Dharam et Narender 2007 in Lahsaoui, 2009**).

La consommation des produits laitiers est également associée à des effets bénéfiques sur la santé en plus de leurs valeurs nutritionnelles (**Takahiro et al., 2007 ; Shan-na et al., 2011**).

La transformation du lait de chèvre en produits laitiers traditionnels algériens, tels que Raïb Lben et Jben est réalisée via une fermentation spontanée sans l'ajout d'une entrée sélectionnée (**Badis et al., 2004**).

Ces produits sont partie intégrante d'héritage algérien et ont une grande importance culturelle médicinale, et économique. Ils vont être développés sur une longue période avec les compétences culinaire de fermes en plus de la conservation des solides du lait pour plus longuement à température ambiante (**Lahsaoui, 2009**).

2.1. Fromages frais traditionnel (Jben) :

2.1.1. Définition :

Le « Jben » est le fromage frais le plus connu et consommé depuis fort longtemps aussi bien en milieu rural qu'en milieu urbain. Dernièrement, la consommation de ce produit s'est accrue suite à l'installation dans les villes d'un grand nombre de laiteries traditionnelles qui préparent le «Jben» à partir du lait cru selon des procédures souvent artisanales. A côté de ce secteur traditionnel, certaines unités laitières semi-industrielles se sont aussi intéressées à la fabrication du «Jben», utilisant du lait soit cru, soit pasteurisé, et des procédures de préparation plus ou moins améliorées. De ce fait, il existe aujourd'hui de nombreuses méthodes de préparation du «Jben», et par conséquent, plusieurs variétés de fromage frais sont commercialisées sous la dénomination populaire commune de "Jben"

(Benkerroum et Tamime 2004).

2.1.2 Préparation de fromage frais :

A propos, un fromage Jben variété molle est produit selon un protocole traditionnel qui comprend la coagulation présure de lait cru entier de vache, à laquelle a été ajouté un sel dans une proportion de 10-20 NaCl par litre de lait (Mennane *et al.*, 2007).

D'une manière générale, le fromage frais commercialisé est fabriqué soit à partir du lait de vache ou du lait de chèvre. Le processus de fabrication nécessite trois grandes étapes essentielles : la maturation, la coagulation et l'égouttage (Randazo *et al.*, 2009)

➤ **La maturation** : c'est l'incubation du lait cru à température ambiante pendant un temps variable de façon à favoriser la multiplication d'une flore lactique qui va jouer un rôle important dans l'acidification du lait. Cette maturation peut être spontanée ou provoquée par adjonction de levains. Le recours à des levains artificiels du commerce n'est cependant pas toujours une nécessité absolue, car le fermier producteur de lait a lui-même la possibilité de cultiver un levain naturel à partir de la flore contenue dans son propre lait.

➤ **La coagulation** : c'est une opération qui vise à coaguler le lait au moyen de la présure (emprésurage) ou de toute autre enzyme coagulante. L'activité coagulante est déterminée par la force de présure, la température du lait et son acidité. Après l'emprésurage, le lait est abandonné au repos à température ambiante pendant 6 à 10 heures. Il va prendre en masse (caillage) avec une consistance plus ou moins ferme selon le degré d'acidité développé.

En réalité, le coagulum est obtenu par deux modes de coagulation : la coagulation dite lactique et celle engendrée par l'action de la présure. Ces deux modes ont une action simultanée sur le lait avec cependant une prédominance plus ou moins marquée de l'un ou l'autre selon que le fromager souhaite obtenir une pâte à caractère plus présure ou à caractère plus lactique.

➤ **L'égouttage** : un des buts essentiels de cette opération est de régler la teneur en eau du fromage. Il permet l'élimination de la plus grande partie du sérum qui imprègne le coagulum. L'égouttage est amorcé dans des moules qui confèrent au fromage sa forme. La nature du gel influe sur la conduite de l'égouttage. Un gel lactique subit un égouttage spontané et le caillé a par conséquent une forte humidité. Cependant, un gel présure est un gel compact, solide ou l'égouttage ne peut avoir lieu qu'après certaines interventions telles des actions mécaniques de pression.

Suivant le goût du fromager, le salage peut être fait. C'est une opération importante dans la

fabrication des fromages. Elle a des effets multiples : elle améliore l'égouttage en le complétant, elle oriente et sélectionne le développement microbien et relève la saveur de la pâte (**Benkerroum et Tamime 2004**).

Ce type de fromage est très apprécié par les consommateurs et pourraient être promus à l'échelle nationale et internationale, si elle sera fabriquée sur une grande échelle en respectant leurs caractéristiques organoleptiques, car il a un goût salé, légèrement acide et agréables propriétés organoleptique (**Mennane et al., 2007**)

2. 1. 3 Caractéristiques physico-chimiques du Jben :

Le fromage frais « Jben » ne présente pas de caractéristiques définies à cause des méthodes artisanales utilisées pour sa préparation reposant, essentiellement, sur les connaissances acquises à partir d'une longue expérience (**Salmeron et al, 2002**). Les arômes, les propriétés organoleptiques et les caractéristiques physico-chimiques du fromage dépendent de celles du lait cru qui à son tour dépend de la race des animaux et leur type d'alimentation (**Poznanski et al., 2004**).

Généralement, Le pH (< 4,2) et l'acidité titrable (> 0,9%) sont les paramètres les moins variables du « Jben ». Cependant, les matières solides totales du « Jben » sont le facteur le plus variable car ce dernier dépend de la durée d'égouttage. Étant donné que les lipides, le lactose et les protéines constituent les principaux composants de l'ensemble des matières solides en « Jben », ils sont directement influencés par les variations des dites matières solides (**Benkerroum et Tamime 2004**).

De nos jours, Jben est également préparé à partir de lait pasteurisé. Les caractéristiques finales d'un Jben typique sont variables et affectées par la préparation du fromage (**Ouadghiri et al., 2005**).

2 .1. 4 Microflores du Jben :

La microflore du « Jben » marocain est dominée par les bactéries lactiques (10^8 - 10^9 ufc.g⁻¹) qui sont principalement représentées par *L.lactis subsp. casei* (Hamama , 1997). En plus des bactéries lactiques dans le « Jben », d'autres micro-organismes peuvent être présents en assez grand nombre. Les dénombrements des levures et les moisissures peuvent dépasser 10^6 ufc.g⁻¹. Bien que les levures dans le « Jben » ne soulèvent pas d'inquiétude pour la sécurité du produit, leur nombre élevé dans le produit est associé aux principaux défauts du produit, tel que l'aspect visqueux, la décoloration et la forte odeur d'alcool. Néanmoins, à des niveaux modérés, les levures peuvent contribuer à la saveur du produit. Les coliformes et les entérocoques ont été également signalés à des nombres

dépassant 10^5 ufc. g⁻¹ (**Bouadjaib 2014**).

2.1.5. Rôles des BL dans la fabrication fromagère :

Les BL sont introduits dans le lait sous forme de " levains" lactiques, encore appelés "ferments". Leur action dans la fabrication fromagère est liée principalement à deux aspects de leur métabolisme :

- la production d'acide lactique. Cet acide est un sous-produit de la fermentation, voie de dégradation des sucres en conditions anaérobies (absence d'O₂).
- L'activité protéolytique (fractionnement des protéines). Les BL ne peuvent absorber et utiliser que des acides aminés libres. Peu abondants dans le lait, ou des peptides courts (composés seulement de quelques acides aminés). Leur nutrition azotée exige donc l'hydrolyse des grandes protéines du lait, et notamment les caséines, par des enzymes (les protéases) situées dans la paroi extérieure de la cellule (**Michel Desmareaud, 1998**).

Chapitre II: Les bactéries lactiques.

1. Définition des bactéries lactiques

Comme toutes les bactéries, les bactéries lactiques sont des micro-organismes vivants et unicellulaires (procaryotes) très répandus dans la nature car se reproduisant rapidement. On les trouve notamment dans le sol mais également dans les litières, les fourrages, sur les mamelles et elles se retrouvent dans le lait pendant la traite ou elles se multiplient rapidement, On peut ainsi en dénombrer jusqu'à un million dans un ml de lait , plus généralement les bactéries lactiques se retrouvent partout où il y a de fortes concentrations de glucides , de produits de dégradation des protéines, de vitamines et peu d'oxygènes, chez l'homme ,elles sont surtout présentes dans le tube digestif ,elles peuvent résister en milieu relativement acide (pH) ,sont gram- positives, anaérobies mais aérotoleérants et ne possédant pas de catalase. Toutes les bactéries lactiques possèdent un métabolisme fermentaire leur permettant, en utilisant des sucres fermentescibles, de produire principalement de l'acide lactique mais aussi d'autres acides organiques (acide acétique, acideformique.) (Raynaud., 2006).

2. Les caractères généraux des bactéries lactiques :

Les bactéries lactiques sont des bactéries à Gram +, immobiles, asporulées, catalase et oxydase négative, nitrate et réductase négative, anaérobies ou aérotoleérantes.

- Les bactéries lactiques sont des cocci ou des bâtonnets.
- Elles ont des besoins complexes en facteurs de croissance : vitamine B, acides aminés, peptides, bases puriques et pyrimidiques.
- Certaines BL ont été isolées de nombreux milieux naturels, végétaux et animaux tels que le lait cru, l'environnement, les cavités buccales et vaginales.
- Elles produisent des quantités abondantes d'acides lactiques par fermentation de substances hydrocarbonées.
- Elles se caractérisent par un métabolisme exclusivement fermentaire qui les conduits à produire à partir du glucose des quantités importantes d'acide lactique, accompagné dans certains cas d'autres métabolites (éthanol, CO₂, autre acides organiques).
- Elles ont une capacité de biosynthèse faible (Boudjema, 2008).

3. Classification

Traditionnellement, les bactéries lactiques ont été classées sur la base des propriétés phénotypiques : la morphologie, le mode de fermentation du glucose, la croissance à différentes températures, l'isomère de l'acide lactique produit et la fermentation des différents hydrates de carbone (De Roissart et Luquet, 1994; Holzapfel *et al.*, 2001).

Les genres les plus étudiés sont *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Enterococcus* et *Pediococcus* (Drouault et Corthier, 2001). Actuellement le groupe des bactéries lactiques associées aux aliments renferme les 12 genres suivantes : *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus* et *Weissella* et *Bifidobacterium*.

3.1 .Le genre *Lactobacillus* :

Les bactéries du genre *Lactobacillus* ont des aspects variés allant du bacille long et fin au coccobacille en passant par la forme bâtonnet court ou légèrement flexueux. Ils sont Gram positif, non sporulés, fréquemment associés en chaînettes et habituellement immobiles. Les lactobacilles se montrent généralement plus résistants au stress acide que les lactocoques (Siegumfeldt *et al.*, 2000).

Les lactobacilles se répartissent en trois groupes selon leur profil fermentaire, d'après la classification de Kandler et Weiss (1986) :

Groupe I : il comprend les espèces homofermentaires obligatoires, c'est-à-dire produisant exclusivement de l'acide lactique à partir du glucose. Ce groupe est constitué d'environ 25 espèces, la plupart thermophiles (croissance à 45°C) dont *Lb. delbrueckii*, *Lb. acidophilus* et *Lb. helveticus*. La plupart des espèces sont présentes dans le lait et les produits laitiers.

Groupe II : ce sont les espèces hétérofermentaires facultatives, c'est-à-dire capables d'utiliser la voie hétérofermentaire dans certaines conditions comme une concentration en glucose limitante. Il est constitué d'une vingtaine d'espèces dont *Lb. casei*, *Lb. curvatus*, *Lb. sake* et *Lb. plantarum*, majoritairement mésophiles (Laurent *et al.*, 1998).

Groupe III : il est constitué des espèces hétérofermentaires obligatoires, c'est-à-dire utilisant la voie des pentoses phosphates pour la fermentation des hexoses et des pentoses. C'est un groupe qui rassemble des espèces relativement hétérogènes, surtout mésophiles, comme *Lb. brevis*, *Lb. kefir* et *Lb. sanfransisco*, Outre leur présence dans les produits laitiers et carnés, certaines espèces se développent dans le tube digestif de l'homme, et

participent à l'équilibre de la flore intestinale (Laurent *et al.*, 1998).

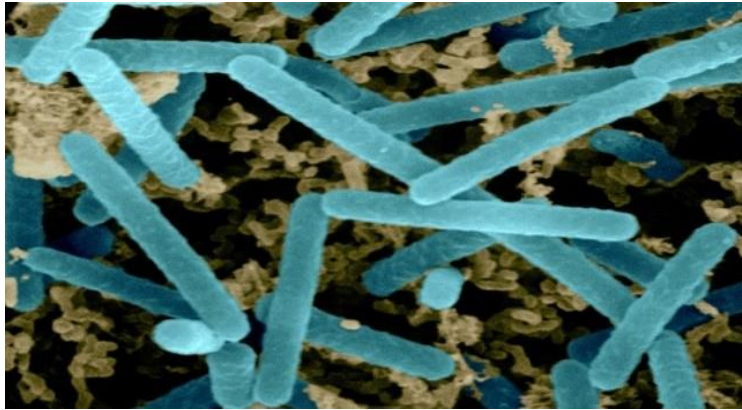


Figure 3 : Genre *lactobacillus* (<http://fr.wikipedia.org/wiki/Lacobacillus>)

3.2. Le genre *Streptococcus*

Comprend essentiellement des espèces d'origine humaine ou animale dont certaines sont pathogènes comme *S. pyogenes* et *S. agalactiae* d'autres sont impliquées dans la formation de la plaque dentaire (*S. mutans*). L'espèce thermophile *Streptococcus thermophilus* se différencie par son habitat (lait et produits laitiers), et son caractère non pathogène. Du fait de ses propriétés.

Technologiques, c'est la seule espèce considérée comme un streptocoque lactique (Laurent *et al.*, 1998).

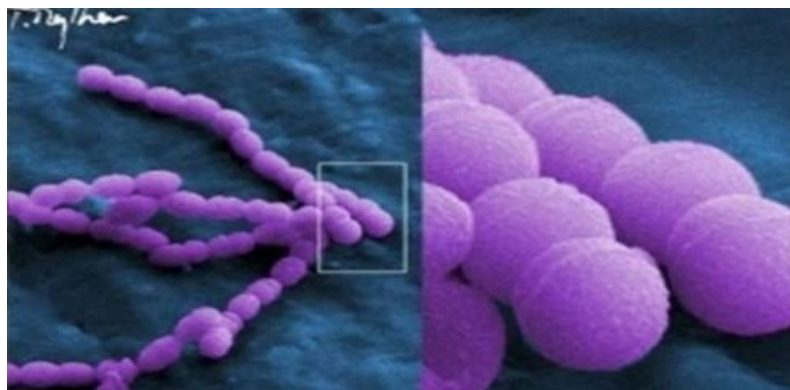


Figure 2 : Genre *Streptococcus* (<http://fr.wikipedia.org/wiki/Streptococcus>)

3.3. Le genre *Lactococcus* :

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 diacétyl. Leur température de croissance est proche de 30°C. Quelques espèces produisent des exopolysaccharides et des bactériocines (Tamime, 2002).



Figure 3 : Genre *Lactococcus* (<http://fr.wikipedia.org/wiki/Lactococcus>)

3.4. Le genre *Leuconostoc* :

La famille des *Leuconostocaceae*, contient des coques ovoïdes, pouvant être allongés ou elliptiques. Ce sont des cellules sphériques disposent en paire ou en chaîne, elles sont caractérisées par un métabolisme hétérofermentaire en convertissant le glucose en D-lactate et éthanol ou en acide acétique par la voie de transcétolase, elles sont incapables de dégrader l'arginine ce qui leurs distinguent des lactobacilles hétérofermentaires (Gonzalez *et al.*, 2007).

On range habituellement les leuconostocs dans les anaérobies facultatifs, mais certains les considèrent comme des anaérobies aérotolérants. Ils sont exigeants et présentent souvent une auxotrophie pour les acides aminés, les peptides, les vitamines, les sels minéraux et les glucides (Dellaglio *et al.*, 1994).

Ce genre comprend les espèces suivantes : *Ln. mesenteroides* avec ces sous espèce *mesenteroides cremoris* et *dextranicum* et *Ln. lactis* et *Ln. pseudomesenteroides* et *Ln. paramesenteroides* (Collins *et al.*, 1993 ; Laease, 2005).

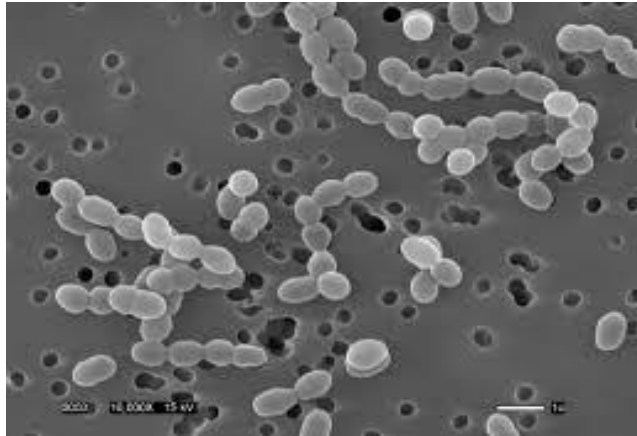


Figure 4 : Genre *Leuconostoc* (<http://fr.wikipedia.org/wiki/Leuconostoc>)

3.5. Le genre *Bifidobacterium*

Les cellules de *Bifidobacterium* se caractérisent par leur forme très irrégulière, souvent en V et Y, mais pouvant être coccoïde. Elles se différencient des autres bactéries lactiques par leur caractère anaérobie, leur G + C % élevé, et la présence d'une enzyme, la fructose-6-phosphate phosphocétolase. Celle-ci leur permet de fermenter les hexoses en produisant de l'acide acétique et de l'acide lactique (rapport 3:2), ainsi qu'en moindre proportion de l'éthanol et d'autres acides organiques. Cette fermentation « lactique » a conduit à les rapprocher du groupe des bactéries lactiques. Leur température optimale de croissance est comprise entre 37°C et 41°C. Elles se développent à pH supérieur à 5. Elles sont isolées de l'homme et des animaux (**Laurent, 1998**).

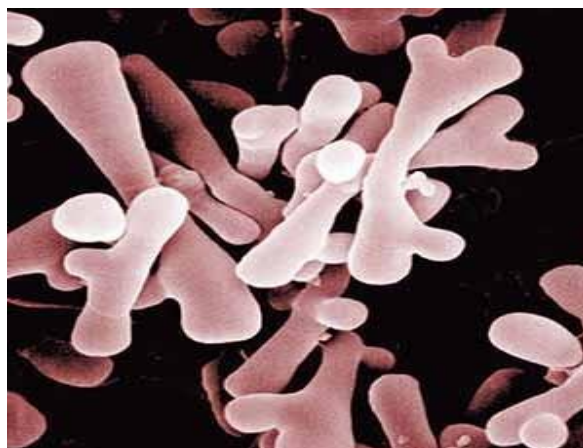


Figure 5 : le genre *Bifidobacterium* (<http://fr.wikipedia.org/wiki/Bifidobacterium>)

Tableau 4 : Les différents genres de bactéries lactiques et leurs principales caractéristiques
(Laurent *et al.*, 1998).

Genre	Morphologie	Fermentation	Température optimale	Nombre d'espèces
<i>Lactobacilles</i>	Bacilles	Homo ou heterofermentaires	thermophiles ou mésophiles	G1 :23 G2 :16 G3 :22
<i>Lactococcus</i>	Coques	homofermentaires	Mésophiles	5
<i>Streptococcus</i>	Coques	homofermentaires	Mésophiles ou thermophiles	19
<i>Leuconostoc</i>	Coques	heterofermentaires	Mésophiles	11
<i>Bifidobacterium</i>	forme irrégulière	Acide acétique et lactique	Mésophiles	25

4. Les voies fermentaires des bactéries lactiques

4.1. Définition :

La fermentation est un processus produisant de l'énergie par oxydation de composés organiques, principalement des glucides, où un donneur d'électron, NADH cède ses électrons à un accepteur endogène, le pyruvate. Dans la respiration les électrons sont donnés à un accepteur exogène, l'oxygène pour la respiration aérobie et le nitrate ou le sulfate pour la respiration anaérobie. (Prescott *et al.*, 2003)

4.2. Voies fermentaires générales du métabolisme carboné

Les bactéries lactiques utilisent principalement l'une des deux voies majeures du métabolisme des sucres (Fig 6). Il s'agit des voies homofermentaires (Embden-Meyerhoff-Parnas, EMP) et hétérofermentaire (voie des pentoses-phosphate). Ainsi, les bactéries lactiques sont divisées en deux groupes principaux d'espèces homo ou hétérofermentaires selon la nature et la concentration des produits terminaux issus de la fermentation du glucose.

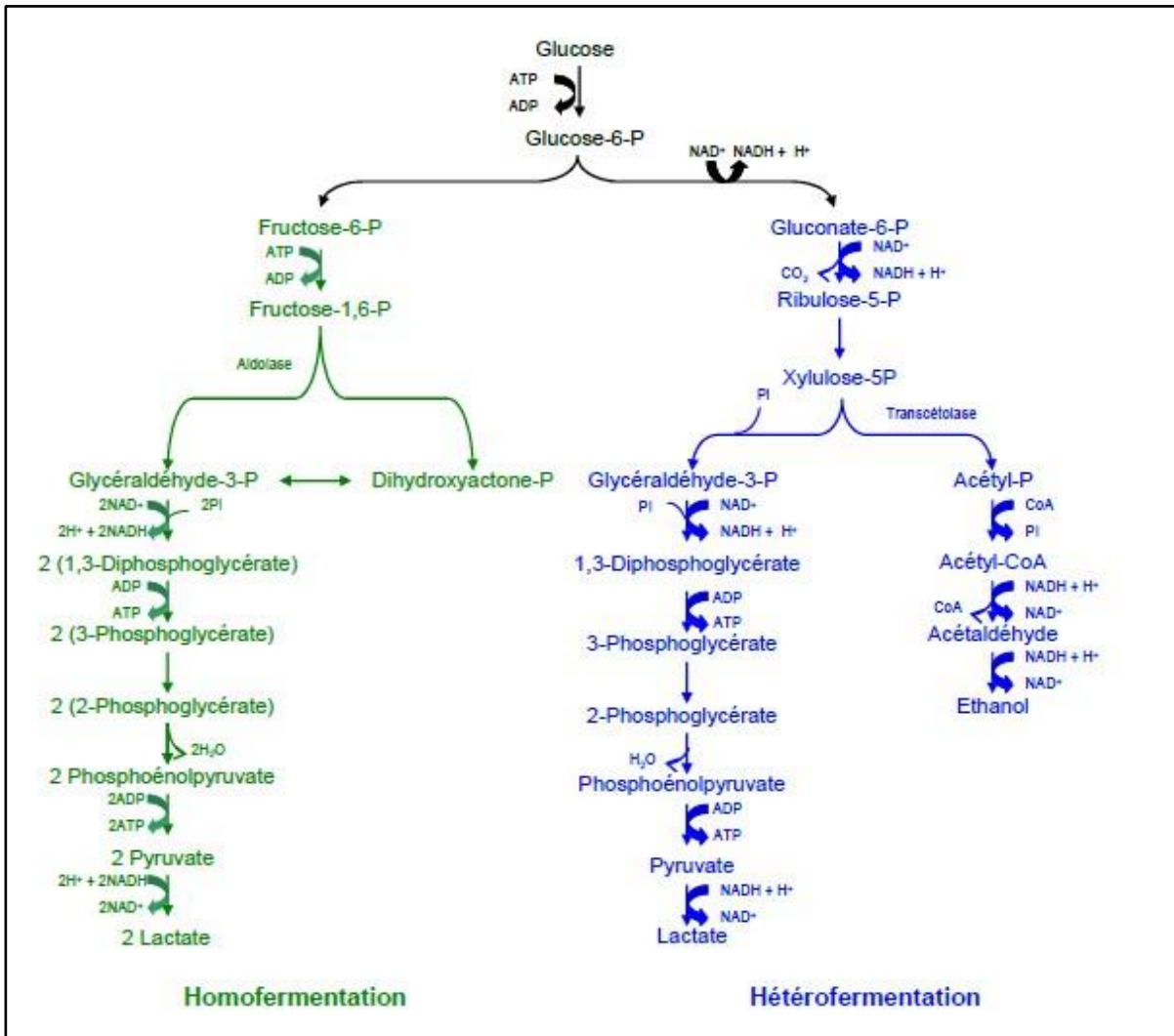


Figure 6 : Représentation schématique des principales voies de fermentation des hexoses chez les bactéries lactiques.

ATP : adénosine triphosphate. ADP : adénosine diphosphate.

NAD⁺/ NADH, H⁺ : Couple oxydant/réducteur du nicotinamide adénine dinucléotide. Pi : phosphate inorganique. (Makhloufi., 2012).

4.2 .1.Voie homofermentaire

Les bactéries lactiques homofermentaires comprennent les espèces de *lactocoques*, *pédiocoques*, ainsi que certains lactobacilles. 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). Des sucres autres que le glucose peuvent également être fermentés via cette voie : monosaccharides, disaccharides, hexitols. Ces micro-organismes présentent un métabolisme de type homolactique lorsque le lactate représente plus de 90 % des

produits de fermentation. Dans certaines conditions de croissance (certains sucres, limitation carbone.), le métabolisme de ces bactéries se diversifie vers un métabolisme mixte avec production en plus du lactate, de formiate, de CO₂, d'acétate et d'éthanol (Cocaign-Bousquet *et al.*, 1996).

La fructose-1,6-bisphosphate aldolase (FBA), est une enzyme clé présente chez toutes les espèces homofermentaires et indispensable au fonctionnement de la voie EMP. Cette enzyme catalyse la réaction menant à partir du fructose-1,6-bisphosphate (FBP) à deux molécules à 3 carbones, le dihydroxyacétone-phosphate (DHAP) et le glycéraldéhyde-3-phosphate (GAP).

4.2.2. Voie hétérofermentaire

Les bactéries lactiques qui fermentent le glucose en produisant, en plus de l'acide lactique (moins de 1,8 moles par mole de glucose), de l'acétate, de l'éthanol et du CO₂ sont dites hétérofermentaires (Thompson et Gentry-Weeks., 1994). Les groupes principaux de bactéries présentant ce type de métabolisme sont les leuconostocs et certains lactobacilles. Ces microorganismes sont dépourvus d'une FBA, d'une triose-phosphate isomérase (TPI) ainsi que d'un système PTS 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-phosphate emprunte ensuite la partie oxydative de la voie des pentoses-phosphate qui conduit à la formation de xylulose-5-phosphate. Le xylulose-5-phosphate est scindé en acétyl-phosphate et glycéraldéhyde-3-phosphate 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 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 conduit à la production d'une mole de lactate, d'éthanol, de CO₂ et d'un seul ATP.

5. rôle et intérêt des bactéries lactiques

5.1. Domaine alimentaire

5.1.1. Rôle sur la structure et la texture :

Ce sont les laits fermentés, l'acidification provoque la formation d'un caillé +ou- ferme selon les bactéries lactiques présentes. Selon les produits, la texture recherchées est ferme

(yaourt ferme) ou onctueuse (yaourt brassé ; kéfir). Pour obtenir une consistance déterminée.

L'utilisation des souches plus ou moins acidifiantes peut être couplée à celle des souches productrices de polysaccharides. (Satura et Federighi., 1998).

5.1.2. Rôle dans la conservation :

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

* **production de bactériocine** : ces peptides antimicrobiens sont synthétisés par un très grand nombre de souches de bactéries lactiques, elles sont généralement thermorésistantes.

5.1.3. Rôle sur les caractéristiques organoleptiques :

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

5.2. Domaine de santé :

L'intérêt des bactéries lactiques en matière de santé humaine a été initialement proposé au début du siècle, en 1907 par le Russe Metchnikoff, selon lui les *Lactobacillus sp* pouvaient réduire la putréfaction intestinale en modifiant la flore intestinale. Le rôle des bactéries lactiques sur la santé était dans le cadre des probiotiques. Les bienfaits des bactéries lactiques sont de plus en plus étudiés, certains sont bien établis d'autres restent encore controversés :

*Améliore la digestion de lactose.

*Le traitement de certaines infections ou diarrhées.

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

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

6. Propriété probiotique :

6.1. Définition d'un probiotique :

Plusieurs définitions ont été proposées pour décrire les probiotiques, mais la plus appropriée est donnée par Havenaar *et al*. (1992): Un probiotique est une culture pure ou mixte de microorganismes vivants qui quand ils sont appliqués à l'homme ou l'animal. Affectent de façon bénéfique l'hôte en améliorant les propriétés de la microflore endogène (Havenaar *et al*, 1992).

6.2. Les bactéries probiotiques :

Les bactéries probiotiques sont des bactéries lactiques entériques. Elles sont présentes naturellement dans le tractus intestinal de l'animal à un moment ou un autre de sa vie. Les bifidobactéries et les lactobacilles sont les deux principales souches de bactéries probiotiques utilisées dans les produits alimentaires (Heyman *et al.*, 2006).

Les souches de probiotiques (lactobacilles et bifidobactéries) introduites dans l'alimentation sous forme de produits lactés fermentés ou de suppléments alimentaires (dans les produits non-fermentés), et qui s'implanter vraiment dans le tube digestif, peuvent interagir avec la flore intestinale, les cellules épithéliales intestinales et dans une moindre mesure les cellules immunitaires (Heyman *et al.*, 2006).

6.3. Rôle du probiotique

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

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

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

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

7. Les bactériocines :

Klaenhammer (1988) a défini les bactériocines comme des protéines, ou complexes de protéines, avec une activité bactéricide contre des espèces proches de la souche productrice.

Toutes les bactériocines produites par des bactéries lactiques décrites jusqu'à présent ont une activité dirigée contre les bactéries Gram positif. Aucune bactériocine produite par des bactéries lactiques avec une activité contre des bactéries Gram négatives n'a été décrite, la membrane externe des bactéries Gram négatives ne permettant pas aux bactériocines d'atteindre la membrane interne, siège de leur activité (Dortu et Thonart, 2009).

À la suite de leurs travaux sur les colicines (bactériocines de bactéries Gram négatif) (Tagg *et al*, 1976) citent les critères requis pour qu'une substance chimique soit dénommée bactériocine :

- la présence d'une partie biologiquement active de nature protéique;
- un spectre d'activité inhibitrice étroit et centré sur les espèces homologues;
- un mode d'action bactéricide; l'adsorption à des récepteurs spécifiques.

7.1. Classification :

Plusieurs classifications ont été proposées. La première en 1993 par **klaenhammer** divise les bactériocines en quatre classes, puis cette classification est modifiée par (Nes *et al* en 1996. En 2005 Cotter *et al*) ont proposé une autre classification de cinq classes de bactériocine, mais l'avance de la recherche a permis d'affiner cette classification la menant actuellement à trois classes de bactériocines (Calvez *et al* ., 2009

Tableau 05 : Classification des bactériocines de bactéries lactiques
(Luquet et Corrieu, 2005).

Classe	Sous-catégorie
Classe I : l'antibiotique	type A : molécules linéaires Type B : molécules globulaires
Classe II : bactériocines non-modifiées thermostables	Classe : anti-listeria Classe : bactériocines à deux composants Classe : autres bactériocines
Classe III : bactériocines de grande taille, sensibles à la chaleur.	

7.1.1. Classe I : les lantibiotiques

Les lantibiotiques sont des peptides d'une taille qui varie de 19 à 38 résidus d'acide aminé. Ils sont caractérisés par la présence dans leur structure primaire d'acides aminés modifiés tels que : la lanthionine (Lan), β -méthyl lanthionine (Met Lan), la dehydroalanine (Dha) et la dehydrobutyrine (Dhb). Ces derniers sont issus de modifications post-traductionnelles. Ils sont stables à la chaleur, hydrophobes et leur masse moléculaire est inférieure à 5 KDa (Morisset *etal*, 2005 ; Heng *et al*, 2007).

Les lantibiotiques du monde bactérien, ont été initialement divisés en deux sous classes en fonction de leur homologie structurale (sous classe A et B), par la suite, des chercheurs

ont observés que certaines bactériocines des deux sous classes possédaient les deux modes d'action simultanément (formation de pores et blocage de la synthèse de la paroi) et d'autres étaient formés de deux peptides. Une nouvelle classification de cette classe a été proposée, actuellement cette classe est divisée en 11 sous classes (**Weidemann et al, 2001 ; Cotteret et al, 2005**).

Cependant, les bactéries lactiques et plus particulièrement les *Lactococcus* produisent uniquement des bactériocines de deux sous classes A et B. De plus, les bactériocines des classes I et II sont les mieux étudiées car elles sont les plus abondantes et paraissent se prêter le mieux à des applications dans l'industrie alimentaire (**Dacosta, 2000**).

Récemment, une nouvelle classification des lantibiotiques produits par les bactéries lactiques a été proposée par **Asaduzzaman et Sonomoto (2009)**. En effet, ces auteurs classent les lantibiotiques en trois sous classes principales : lantibiotiques type A avec deux sous classes AI (les résidus lanthionine et 3-méthyllanthionine sont formés par deux enzymes : LanB et Lan C) et AII (les résidus modifiés sont formés par une seule enzyme : Lan M), le type B ou lantibiotique globulaire et le type C qui regroupe les lantibiotiques à plusieurs peptides.

Ces auteurs ont également proposé de classer les lantibiotiques en se basant sur l'homologie des séquences des loci codant pour ces peptides. En effet, ils ont fait ressortir deux classes : classe I caractérisée par la présence d'un motif très conservé à la position -20 et -15 et par la présence d'une proline à la position -2 tandis que la classe II est plutôt caractérisée par la présence de doublet GG et GA au niveau du site de clivage du peptide leader et initialement appelé «motif double glycine». Ils sont également caractérisés par la présence de plusieurs résidus Asp et Glu.

7.1.1.1. Les lantibiotiques de type A

Les lantibiotiques de type A sont des peptides linéaires, cationiques (chargés positivement), leur structure secondaire est en hélice α , amphiphiles et leur masse moléculaire est inférieure à 4 KDa (**Arthur et Satu, 2004 ; Lorraine et al, 2008**). On distingue deux sous types : AI comme la nisine, peptide linéaire et AII comme la lacticine 481 organisée en queue et en anneau (**Asaduzzaman et Sonomoto, 2009**).

Le lantibiotique de type A le mieux caractérisé est la nisine synthétisée par *Lactococcus lactis*. Cette dernière existe sous deux formes (nisine A et nisine Z) qui se distinguent seulement par le fait que le résidu occupant la position 27 est de l'histidine pour la nisine A

et de l'acide aspartique pour la nisine Z (Dacosta, 2000 ; Cheigh et Pyun, 2005).

7.1.1.2. Les lantibiotiques de type B

Cette sous classe comprend des peptides globulaires d'une structure plus compacte, chargés négativement. Ils peuvent contenir jusqu'à 19 résidus d'acides aminés. Leur masse moléculaire se situe entre 1,8 et 2,1 KDa (Twomey *et al.*, 2002).

7.1.1.3. Les lantibiotiques type C

Les lantibiotiques de cette sous classe sont constitués de deux ou plusieurs peptides qui sont nécessaire à leur activité. On en trouve aussi dans cette sous classe les lantibiotiques qui possèdent les deux modes de fonction (formation de pores et inhibition de la synthèse de la paroi). La lacticine 3147 A1 et A2 produites toutes les deux par la *Lactococcus lactis* font partie de cette sous classe (Dortu et Thonart, 2009).

7.1.2. Bactériocine de classe II :

Les bactériocines de la classe μ sont de faible masse moléculaire ($< 10\text{KDa}$) ; thermostables et ne subissent pas de modification post traductionnelle. Cette classe un grand nombre de bactériocines et a été divisée en trois sous classe (Dridier *et al.*, 2009)

Sous classe II a :

Sont des peptides composés de 36 à 48 acides aminés (Dridier *et al.*, 2009). Ont une partie N-terminal hydrophobe contenant la séquence consensus YGNGV ainsi qu'un pont disulfure et une partie C-terminale moins conservée, hydrophobe ou amphiphile qui détermine la spécificité d'action (Fimland *et al.*, 2000 ; Richard *et al.*, 2006).

Les bactériocines de classe **IIa** sont actives contre les bactéries des genres *Listeria*, *Enterococcus*, *Lactococcus* (Calvez *et al.*, 2009).

Sous classe II b :

La sous classe μ b représente les bactériocines à deux composants peptidiques qui y a un nombre d'acides aminés compris entre 30 et 40. Ces peptides, sont cationiques et portent des régions amphiphiles et ou hydrophobes (Calvez *et al.*, 2009). Les deux types de bactériocines, type E (Enhancing) ou la fonction de l'un des deux peptides est d'augmenter l'activité de l'autre et le type S (Sunergy) ou les peptides sont complémentaires (Carine *et al.*, 2009).

Sous classe II c :

Contient les bactériocines activées par réduction du groupement thiols telle que la lactococine B. La classification actuelle définit les bactériocines de la sous classe II c

comme étant les bactériocines n'ayant pas toutes les caractéristiques de sous-classes II a et II b (Calvez *et al*, 2009).

7.1.3. Bactériocines de classe III :

Ont une masse moléculaire supérieure à 10KDa et sont thermosensibles. (Calvez, 2009) la structure et le mode d'action de ces bactériocines diffèrent complètement des autres bactériocines produites par les bactéries lactiques. Cette classe ne contient que quatre bactériocines (Nigutova *et al*, 2007).

Tableau 06: Bactériocines de classe III produites par des bactéries lactiques (Luquet et Corrieu, 2005).

Bactériocines	Producteurs
Hélvéticine J	<i>Lactobacillus helveticus</i> 481
Milléricine B	<i>Streptococcus milleri</i> NMSCC 061
Zoocine A	<i>Streptococcus zooepidermicus</i> 4881

7.2. Mécanisme d'action :

L'activité antimicrobienne des bactériocines des bactéries lactiques s'exerce essentiellement par deux principaux mécanismes : formation de pores à travers la membrane cytoplasmique et inhibition de la synthèse du peptidoglycane constituant principal de la paroi des bactéries Gram positif (Abee, 1995 ; Chen et Hoover, 2003).

Le mode d'action des bactériocines est caractérisé par deux étapes fondamentales : adsorption de la bactériocine sur des récepteurs spécifiques au niveau de la paroi et formation de pores au niveau de la membrane plasmique qui vont aboutir à une perturbation profonde de sa perméabilité par dissipation d'une ou des deux composantes de la force proton motrice ($\Delta\psi$ et ΔpH), cette phase est complètement irréversible (Drider *et al*, 2006 ; Heng, 2007).

7.2.1 Bactériocines de classe I

Les antibiotiques du type A agissent par dissipation des deux composantes de la force proton motrice en créant des pores au niveau de la membrane plasmique. Ils peuvent également agir par l'inhibition de la synthèse du peptidoglycane. La nisine possède ces deux modes d'action (Brotz *et al.*, 1998 ; Breukink *et al.*, 2003). D'autres études montrées aussi un autre mode d'action de la nisine, il s'agit de l'inhibition du septum de division au cours de la division cellulaire. Les figures 14, 15 et 16 montrent le mode d'action de la

nisine et les perturbations provoquées au cours de la formation du septum de division (Hyde *et al*, 2006).

Les lantibiotiques de type B comme la lacticine 481 agissent par inhibition de la synthèse du peptidoglycane mais peuvent également entraîner la formation de pores à travers la membrane cytoplasmique (Patton *et al*, 2005 ; Willey et Van Derdonk, 2007).

Les lantibiotiques à deux peptides comme la lacticine 3147 agissent par formation de pores à travers la membrane plasmique. Cette dernière est fixée aussi sur le lipide II, le peptide AI s'attache au lipide II tandis que le peptide AII est chargé de la reconnaissance du complexe lipide II-peptide AI et de former le pore (Weidmann *et al*, 2006).

7.2.2 la classe II

Sous classe II a :

Les bactériocines de classe IIa entraînent une perméabilisation des membranes cibles provoquant un déséquilibre de la balance ionique et une fuite de P_i (phosphate inorganique). Ceci a pour conséquence une dissipation de la force motrice des protons (PMF) une dissipation du gradient de pH et dissipation partielle du potentiel transmembranaire ainsi qu'un efflux de K^+ et d'acides aminés. Tous ces événements fragilisent la cellule cible et entraînent la mort cellulaire (Dridger *et al*., 2009), ou bien une interaction de la bactériocine avec la membrane ou un récepteur spécifique le mannose perméase, pour ensuite former un pore dans la membrane de la cellule, ce qui induit la perméabilisation de la membrane, la dissipation des deux composantes de la force proton motrice et la mort de la cellule. (Carine *et al*., 2009).

Sous classe II b :

Elles forment des pores et rendent la membrane perméable à différentes petites molécules des cations monovalents ou des anions, ce qui dissipe une ou les deux composantes de la force proton motrice (Oppegard *et al*, 2007).

Sous classe II c :

Les études portant sur le mode d'action de ces bactériocines montrent qu'il existe plusieurs modes d'action en fonction de la bactériocine. Par exemple la lactococine A provoque une dissipation du potentiel de membrane et la sortie d'acides aminés dans le milieu extracellulaire (Calvez *et al*, 2009).

7.2.3. Les bactériocines de Class III :

Le mode d'action de ces bactériocines diffère complètement des bactériocines des autres classes. En effet, l'entérolysine A, la zoocine A et la milléricine B agissent par l'hydrolyse des liens peptidiques des peptidoglycanes des cellules sensibles.

La zoocine A a un spectre d'action étroit alors que l'entérolysine A et la milléricine B ont un spectre d'action large.

L'helvéticine J a un mode d'action bactéricide (**Luquet et Corrieu, 2005 ; Nilsen et al, 2003**).

7.3. Synthèse et sécrétion :

Les lantibiotiques : les bactériocines sont généralement produites à la fin de phase exponentielle et au début de la phase stationnaire de croissance (**Carine et al., 2009**). on remarque que les gènes responsables de la production des bactériocines sont fréquemment associés avec des éléments mobilisables, sur le chromosome en association avec les transposons ou sur les plasmides. c'est le cas de la plupart des bactériocines lantibiotiques qui sont synthétisées initialement avec un peptide leader N-terminal (**Deegan et al., 2006**). ce précurseur subit des modifications post traductionnelles, les Ser (serine) et Thr (thréonine) sont déshydratées et réagissent avec une Cys (cystéine) aboutissant à la formation d'un pont thioéther et donnent respectivement les acides aminés spécifiques, lanthionine (Lan) et méthyllanthionine (Melan) (**Calvez et al., 2009**).

Pour le groupe 1 : les modifications sont assurées par Lan B qui permet la déshydratation des résidus Thr et Ser, alors que l'enzyme Lan C est requis pour la formation de Lan (**Calvez et al., 2009 ; Mc Auliffe et al. 2001**) la sécrétion de la bactériocine mature ou du prépeptide est assurée par le transporteur ABC caractérisé par deux domaines membranaires associés et une ATPase ayant un domaine de fixation de l'ATP très conservé. L'hydrolyse de l'ATP en C terminal de ces deux domaines membranaires fournit l'énergie nécessaire à l'exportation du lantibiotique. par contre lacticine 481 lantibiotique de groupe 2 ou un seul enzyme, Lan M qui assure les actions. Dans un cas spécial des lantibiotiques à deux composants (ex lacticin 3147) deux enzymes Lan M peut être requis, l'un pour chaque peptide (**Mc Auliffe., 2001**).

7.4. Immunité de la bactérie productrice

Les bactéries productrices pouvant être sensibles à leur propre bactériocine, elles se préimmunisent à l'aide d'une protéine qualifiée «d'immunité» (**Abee, 1995**). Le seul modèle élaboré pour les bactéries lactiques a été très récemment proposé par (**Venema**

et al 1995).

La protéine d'immunité, une protéine possédant un large domaine transmembranaire pourrait interagir avec le récepteur potentiel de la bactériocine et empêcherait ainsi l'insertion de cette dernière dans la membrane. Alternativement ou de façon complémentaire, la protéine d'immunité pourrait également interagir directement avec la bactériocine. La protéine d'immunité a été trouvée de façon largement majoritaire dans le cytoplasme (**Ouadri et al., 1995**).

7.5. Les propriétés des bactériocines pour une application alimentaire :

Les bactériocines sont habituellement reconnues comme sûres, sont sensibles aux protéases digestives et ne sont pas toxiques pour les cellules eucaryotes (**Wijaya et al., 2006**). Elles ont une grande tolérance aux variations de pH et aux traitements thermiques. Leur spectre antimicrobien peut être large ou étroit, elles peuvent donc cibler sélectivement des bactéries pathogènes ou altérantes sans inhiber les bactéries indispensables et ont un mode d'action bactéricide. Les bactériocines doivent cependant être considérées comme un moyen de préservation complémentaire à ceux déjà existant (**Deegan et al., 2006**).

7.6. L'application des bactériocines dans le secteur alimentaire :

Les bactériocines purifiées sont considérées comme un additif alimentaire. Jusqu'à présent, seule la nisine, un lantibiotique, est acceptée comme additif alimentaire (E234) (**Guinane et al., 2005**).

Les bactériocines peuvent également être appliquées sous la forme d'un concentré obtenu après fermentation par la souche productrice.

Cette préparation sera considérée comme un ingrédient fermenté. Elle contiendra la bactériocine mais également d'autres métabolites microbiens tels que l'acide lactique. La pédiocine, une bactériocine de la classe IIa, est commercialisée sous cette forme sous le nom ALTA 2341. Des essais ont été récemment fait avec la lacticine 3147, un lantibiotique (**Deegan et al., 2006 ; Galvez et al., 2007**).

Un autre mode d'application des bactériocines consiste en leur immobilisation sur les cellules productrices, dans des gels ou des films telle que la gélatine, la cellulose, les protéines de soja, des films de polysaccharides, etc. La bactériocine sera alors libérée dans le produit au cours de la conservation (**Luchansky et al., 2004 ; Deegan et al., 2006 ; Ghalfi, 2006 ; Galvez et al., 2007**).

7. 7. Limites d'utilisation des bactériocines

L'application des bactériocines constitue certes une méthode « naturelle » de conservation des aliments, mais sa mise en œuvre n'est pas aisée. En effet, les nombreuses propriétés des bactériocines favorisant leur utilisation dans le domaine agroalimentaire et/ ou médical n'empêchent pas l'existence de contraintes relatives à leur utilisation. Le coût élevé de préparations de bactériocines pures prêtes à l'emploi entraîne de loin la limite la plus importante. D'où l'utilisation plus commune des souches productrices plutôt que des bactériocines isolées.

La composition de l'aliment représente le premiers facteur pouvant réduire ou totalement dissiper l'activité inhibitrice de la bactériocine en raison de son adsorption sur des composants du produit, la limitation de sa solubilité et de sa diffusion, sa dégradation par des protéases, l'interaction avec des additifs alimentaires ou des ingrédients et/ ou un pH inapproprié.

Les traitements appliqués aux produits constituent un deuxième facteur pouvant limiter l'effet antimicrobien de la bactériocine dans un produit alimentaire. En effet, des traitements thermiques trop élevés peuvent dégrader les bactériocines bien que la majorité d'entre elles soient résistantes à la chaleur (**Carine et al ., 2009 ; Gálvez et al., 2007**).

Le dernier facteur limitant l'activité des bactériocines est la présence de bactéries résistantes et de microorganismes qui dégradent les bactériocines par l'effet de protéases qu'elles produisent à l'état physiologique. De plus, dans les produits solides, les bactéries forment des biofilms dont la résistance aux bactériocines peut être plus élevée (**Schöbitz et al., 2003**).

D'autre part, il sera également important de considérer l'impact de la bactériocine sur la flore résidente. La sensibilité de la flore à la bactériocine entraîne un déséquilibre qui peut conduire à la croissance et la prolifération de microorganismes pathogènes résistants aux bactériocine (**Carine et al., 2009**).

7.8. Résistance aux bactériocines :

Il existe pour les bactériocines trois types de résistants :

1/ les résistants naturels, c'est-à-dire les souches qui sont insensibles à une bactériocine donnée sans adaptation particulière, par exemple *Leuconostoc citreum* CIP103405 est insensible à la mesentérocine 52 A.

2/ les résistants induits, qui sont produits lorsqu'une souche naturellement sensible à une bactériocine présente un phénotype de résistance lié à une adaptation, comme c'est probablement le cas *Ln. Mesenteroides subsp mesenteroides LMA 7AR* vis à vis de la mesenteroides 52 A ou à des mutations comme chez *Lactococcus lactis*.

3/ souches dites immunisées c'est-à-dire celles qui produisent une protéine d'immunité simultanément à une bactériocine, cas de toutes les bactéries productrices de peptides antibactériens (**Jasniewski., 2008**).

ETUDE EXPERIMENTALE

1. MATÉRIELS ET MÉTHODES

Le présent travail est une synthèse d'un travail pratique mené par des travaux des collègues qui ont effectué le travail pratique au niveau des universités Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou et de l'université Mentouri, Constantine et nous avons ici récapitulé l'essentiel ce qui a été réalisé dans ce travail

1.1. Matériels :

1.1.1. Matériel biologique : le matériel biologique utilisé est du lait fermenté traditionnel

1.1.1.1. Préparation du lait fermenté traditionnel :

Le lait fermenté traditionnel est préparé selon une méthodologie assez primitive. Le lait utilisé pour l'obtention de ce produit fermenté est le lait de vache, ce dernier est laissé abandonné à lui-même dans un récipient en plastique ou en métal à la température ambiante durant 18 à 24h jusqu'à coagulation.

On précise qu'aucun inoculum de souches lactiques n'est ajouté au lait cru de vache avant la fermentation. Ensuite le coagulum est transféré dans une citrouille pour la procédure du barattage, cette opération s'effectue manuellement et ceci en secouant énergiquement la citrouille avec les deux mains. À la fin du barattage, un certain volume d'eau est ajouté pour permettre le rassemblement des grains de beurre, ce dernier est soigneusement récupéré à la main. A la fin de toutes ces opérations le produit fini est prêt à la consommation.

2. Analyses microbiologiques

2.1. Dénombrement de la flore totale et la flore lactique :

Le dénombrement des bactéries lactiques a été réalisé sur milieu MRS (Man-Rogosa-Sharpe) et milieu gélose nutritif pour la flore totale par la méthode des dilutions décimales. Ces dilutions sont réalisées dans une solution de Ringer au 1/4 stérile. L'incubation se fait à 37C°/48h pour la flore totale et 30C°/24 à 72h pour la flore lactique.

Tableau 07: Milieux utilisés et conditions d'incubation pour l'isolement des bactéries lactiques (Badis *et al.*, 2004).

Microorganismes	Milieux d'isolement	T°C	Durée (h)	Incubation
Streptocoques lactiques	M17	42-48	72	Aérobiose
Lactocoques	Elliker	30	72	Aérobiose
Leuconostoc	Hypersaccharose	25	72-144	Aérobiose
Pédiocoques	M17	30	72	Aérobiose
Lactobacilles mésophiles	MRS	30	24-36	Anaérobiose
Lactobacilles thermophiles	MRS	45	24-36	Anaérobiose

2.2. Dénombrement des Coliformes totaux :

Les coliformes appartiennent à la famille des *Enterobacteriaceae*. Ils sont Gram-, oxydase -, aéro-anaérobies facultatifs et incapable de sporuler. Leur présence dans un aliment traduit une contamination fécale et d'en apprécier le degré.

2.3. Dénombrement des coliformes fécaux :

La numération des coliformes fécaux est effectuée avec le même milieu VRBG après 48 heures d'incubation à 44°C.

Les tubes ont été également du milieu liquide (BLBVB), chacun par 1ml de chaque dilution. Incubation des tubes à 44° pendant 48 heures (test présomptif).

2.4. Dénombrement de la flore mésophile aérobie totale :

Les microorganismes aérobies et aérobies anaérobies facultatifs se développent dans un milieu nutritif gélosé défini non sélectif incubé à 37°C pendant 48 heures. Ils apparaissent sous forme de colonies de tailles et de formes différentes. Des levures et des moisissures peuvent également se développer, ces dernières peuvent être différenciées.

2.5. Dénombrement des salmonelles :

Du fait de leur rareté et de l'endommagement des cellules, il s'applique un processus de revivification et de multiplication, correspondant à un pré-enrichissement sur eau peptonée tamponnée puis un enrichissement des cellules sur bouillon de sélénite de sodium cystine. Un isolement est effectué par la suite sur divers milieux gélosés sélectifs (mode opératoire en annexe n°14). La dernière phase est celle de l'identification des *Salmonella* isolées sur galeries classiques.

Les galeries biochimiques classiques d'identification, (ONPG, LDC, ODC, ADH, urée-indol-TDA, citrate de Simmons, VP, Mannitol-Mobilité, Kligler-Hajna, nitrate réductase). Ont été utilisées (Le Minor et Richard (1993)).

3. Recherche des bactériocines :

3.1. Méthode diffusion en puits :

Pour la recherche de l'activité inhibitrice en milieu liquide, surnageant, la méthode de diffusion en puits a été utilisée par Tagg et Mac Given, (1971) (Mami, 2010). Elle permet de mettre en contact le surnageant de la souche lactique productrice de substances antimicrobiennes avec la souche test.

3.2. Méthode des spots dite sur tapis cellulaire :

La sélection des souches de bactéries lactiques ayant une activité antibactérienne à partir des laits testés a été réalisée par le procédé d'antagonisme différé en utilisant la méthode des spots dite sur tapis cellulaire.

3.3. Les souches pathogènes :

Il s'agit de *Staphylococcus aureus* STA 49444, *Escherichia coli* ATCC 25922, provenant du laboratoire espagnol Laboratoire de Sécurité Alimentaire par les Bactéries Lactiques et les Probiotiques (SEGABALP), Université de Madrid, Espagne.

Tableau 08: Origine des différentes souches étudiées.

Souches	Origine
<i>E.coli</i> ATCC 25922	Laboratoire de Sécurité Alimentaire par les Bactéries Lactiques et les Probiotiques (SEGABALP), Université de Madrid, Espagne
<i>Staphylococcus aureus</i> Sta-49444	Laboratoire de Sécurité Alimentaire par les Bactéries Lactiques et les Probiotiques (SEGABALP), Université de Madrid, Espagne

4. RESULTATS :

4.1 Résultats des analyses microbiologiques :

Les résultats présentés sont ceux des travaux des collègues qui ont effectué le travail pratique au niveau des universités Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou et de l'université Mentouri, Constantine

Les résultats du dénombrement des germes dans les laits sont exprimés en UFC/ml sont présentés, dans le tableau n°9. Ils représentent la charge en différentes microflore recherchées dans les laits crus analysés

Tableau 09 : Nombre moyen de colonies dénombrées (UFC/ml de lait)

Flores (UFC/ml)	Origine	dénombrement	référence	dénombrement	Référence
FTMA	vache	$25,40 \times 10^7$	Bariz, K 2011	$28,8 \times 10^6$	Benhedane Née Bachtarzi,N , 2012
B.L	vache	$118,3 \times 10^7$	Bariz K 2011	$1,68 \times 10^8$	Benhedane Née Bachtarzi,N , 2012
Col.t	vache	12×10^2	Bariz, K 2011	$50,3 \times 10^5$	Benhedane Née Bachtarzi,N , 2012
Col.f	vache	0×10^2	Bariz, K 2011	$36,7 \times 10^4$	Benhedane Née Bachtarzi,N , 2012
Salmonelles	vache	Absence	Bariz, K 2011	Absence	Benhedane Née Bachtarzi,N , 2012

FTMA : flore totale aérobie mésophile ; col.t.: coliformes totaux ; ; col.f. : Coliformes fécaux

B.L : bactéries lactiques

Les germes dénombrés sont considérés comme des indicateurs de la qualité globale du lait et des pratiques d'hygiène. Les résultats obtenus ont permis d'évaluer les contaminations cumulées de la production jusqu'au stockage en cuve du lait cru.

4.1.1. Flore totale mésophile aérobie :

La flore mésophile aérobie totale englobe tous les germes saprophytes qui peuvent inclure les germes pathogènes. Ils se multiplient très rapidement à l'air libre et à des températures comprises entre 20 et 40°C.

La flore mésophile aérobie nous renseigne toujours sur la qualité hygiénique du lait cru, elle est considérée comme le facteur déterminant la durée de conservation du lait frais (**Guinot-Thomas *et al*, 1995**). C'est la flore la plus recherchée dans les analyses microbiologiques. L'énumération de cette flore pour les 2 échantillons de lait cru a une contamination importante du lait cru réceptionné par la laiterie.

La charge microbienne très élevée des 2 échantillons de laits fermentés traditionnels collectés pourrait s'expliquer par la méthode artisanale de fabrication de ces derniers. Ces laits ne subissent aucun traitement thermique en amont ou en aval de la production.

D'après Robinson et Tamime (2006), les laits fermentés traditionnels peuvent contenir toutes sortes de germes saprophytes qui peuvent provenir de l'animal lui-même, de l'équipement utilisé, de l'environnement et du personnel au cours du processus de fabrication.

De plus, Narvhus et **Gadaga(2003)**, soulignent que les mauvaises conditions d'hygiène au cours de la fabrication des laits fermentés traditionnels provoquent de très fortes contaminations, la teneur en flore mésophile aérobie totale peut atteindre 10^9 UFC/ml du produit.

Les teneurs élevées pourront être expliquées également par la composition qualitative et quantitative du lait cru. En effet, d'après **Guiraud (2003)** le lait constitue un milieu idéal pour la croissance et la multiplication des espèces microbiennes ne présentant pas d'exigences nutritionnelles particulières.

4.1.2. Numération des bactéries lactiques :

Les résultats montrent que les laits fermentés traditionnels analysés sont très riches en bactéries lactiques. On constate également que pour certains laits fermentés traditionnels, la teneur en bactéries lactiques est supérieure à celle de la flore mésophile aérobie totale.

Ce résultat pourrait s'expliquer par la présence initiale d'une certaine teneur en bactéries lactiques dans les laits crus et par leur capacité d'adaptation métabolique avant le début du processus de fermentation. En effet, d'après Guiraud (2003), le lait cru présente un certain

nombre de bactéries lactiques (flore naturelle) à la traite même si toutes les conditions d'hygiène sont parfaitement respectées.

Les plus fortes teneurs en bactéries lactiques des laits fermentés traditionnels analysés s'expliqueraient par l'adaptation métabolique de ces dernières en fonction des sources d'azotes disponibles dans le lait.

4.1.3. Numération des coliformes totaux et fécaux :

Les coliformes représentent un groupe de contaminants très important du lait et des produits laitiers comme les laits fermentés. Ce sont d'excellents indicateurs d'une contamination fécale ancienne ou récente

L'examen de ces résultats nous montre que la majorité des laits fermentés traditionnels analysés sont contaminés par les coliformes totaux.

La présence de coliformes dans les laits fermentés traditionnels analysés pourrait s'expliquer par plusieurs facteurs. D'après Robinson et Tamime (2006), l'utilisation d'ustensiles non stérilisés, mauvaises conditions de fabrication, absence de traitement thermique des laits avant ou après la fermentation sont directement responsables de la contamination par les coliformes.

En effet, aucun des laits fermentés traditionnels analysés n'avait subi un traitement thermique en amont ou en aval de la fermentation.

D'après Hamama (1989), le nombre important des micro-organismes de contaminations fécales.

Peut être la conséquence d'une multiplication rapide et massive de la flore fécale initialement présente dans le lait utilisé dans la préparation du produit fermenté.

La présence de coliformes dans les laits fermentés traditionnels analysés pourrait également être expliquée par le pH moins acide de ces derniers. En effet, le pH minimum de croissance d'*Escherichia coli* se situe entre 4.3 et 4.4 or la valeur du pH la plus élevée est 4.90, ce qui pourrait éventuellement expliquer la croissance des coliformes dans certains laits fermentés traditionnels.

4.1.4. Numération des Salmonelles :

Les germes pathogènes tels que les Salmonelles sont parmi les germes le plus

redoutables dans les produits alimentaires. Leur présence provoque une nette détérioration de la qualité sanitaire du produit et induit des risques majeurs pour le consommateur.

Les Salmonelles sont absentes dans tous les échantillons analysés, ceci pourrait s'expliquer par les faibles valeurs du pH de ces derniers.

En effet, d'après **Dacosta(2000) et Khelef *et al* (2006)** le pH minimum de croissance et de multiplication des Salmonelles se situe autour de 4,5.

Cette absence pourrait être également expliquée par l'inhibition de leur croissance au cours du processus de fermentation par certaines substances à activité antimicrobienne des bactéries lactiques telles que les bactériocines ou le peroxyde d'hydrogène. D'autres facteurs peuvent également provoquer l'inhibition de ces bactéries Gram négatif, le système lactoperoxydase qui génère l'ion OSCN⁻ à partir du H₂O₂ et du thiocyanate. L'ion OSCN⁻ est un oxydant très sélectif et puissant, il endommage avec efficacité la paroi des bactéries Gram négatif en limitant par conséquent leur croissance et leur multiplication dans le lait.

Les résultats présentés dans cette étude sur la flore de contamination (coliforme totaux et fécaux ainsi que les germes pathogènes) montrent que les laits fermentés traditionnels analysés sont de mauvaise qualité microbiologique. Pour cela une utilisation d'un lait cru de très bonne qualité microbiologique (bonne hygiène de traite, traitement thermique et une réfrigération rapide et adéquate du lait après sa production jusqu'à sa transformation) dans la fabrication de ces laits fermentés traditionnels reste d'une grande importance.

4.2. Production des bactériocines :

Tableau 10 :L'activité inhibitrice de souches productrices

Souches	Origine	l'activité inhibitrice	Référence	Origine	l'activité inhibitrice	référence
<i>E.coli</i> ATCC 25922	Lait de vache	-	Boumed , K 2013	Lait de chemelle	+	Mehidi Né Benguella, N 2015
<i>Staphylococcus aureus</i>	Lait de		Boumed , K	Lait de	+	Mehidi Né

Sta-49444	vache	-	2013	chemelle		Benguella, N 2015
-----------	-------	---	------	----------	--	----------------------

4.2.1. Résultat de méthode des spots dite sur tapis cellulaire :

Cette méthode a été utilisée dans une université Abou Bekr Belkaid en Tlemcen

4.2.1.1. Activité antagoniste de souches vis-à-vis d'*Escherichia coli*

ATCC 25922 :

Les souches sélectionnées isolées à 30 ° C présentent un spectre d'activité très proche vis-à-vis du germe cible testé *Escherichia coli* ATCC 25922. Les zones d'inhibition sont claires avec des bordures bien distinctes, le diamètre d'inhibition est variable et varie de 6 mm à 13 mm. L'inhibition est notée positive lorsqu'elle est supérieure à 8 mm (*Schillinger et Lucke, 2001*),

4.2.1.2. Activité antagoniste de souches vis-à-vis de *Staphylococcus aureus* STA 49444:

Les Souches sélectionnées isolées à 30 ° C présentent un spectre d'activité très proche vis-à-vis du germe cible testé *Staphylococcus aureus* STA 49444. Les zones d'inhibition sont claires avec des bordures bien distinctes, le diamètre d'inhibition est variable et varie de 10 mm à 12 mm L'inhibition est notée positive lorsqu'elle est supérieure à 8 mm (*Schillinger et Lucke, 2001*),

4.2.2. Résultat de méthode diffusion en puits:

Cette méthode a été utilisée dans une université Abou Bekr Belkaid en Tlemcen

La recherche des bactériocines par la méthode de diffusion en puits a révélé que les souches étudiées n'ont pas une activité inhibitrice contre les souches pathogènes utilisées, même les souches qui présentent une forte acidité ne sont pas arrivées à inhiber ces souches pathogènes.

L'identification des souches isolées dans cette étude a nécessité l'utilisation de plusieurs techniques phénotypique. Ces derniers ne donnent pas une identification fiable et sûre, par conséquent, il est toujours nécessaire de faire une identification moléculaire.

Conclusion :

Cette étude nous a permis de connaître la microflore de laits fermentés traditionnels (jben) et évalué le degré de contamination de la matière première. Ce produit montre une très grande diversité d'espèces qui dépend des régions et des modes de fabrication.

Les souches lactiques acteurs de fermentation ont montré des capacités parmi lesquelles, nous citons ; la fermentation, la maturation et le développement de texture et de la saveur des produits fermentés, ainsi que leur pouvoir antimicrobien. Grâce à ce dernier, la prévention contre les organismes pathogènes et ceux responsables de la détérioration des aliments est garantie. Au vu de tous ces caractères, une multitude d'espèces identifiées est utilisée comme cultures probiotiques dans les fromages et quelques-unes d'entre elles sont utilisées à grande échelle dans l'industrie laitière.

Leur contamination peut être engendrée par les microorganismes nuisibles à différents stades de fabrication. Mais, malgré les mauvaises conditions d'hygiène du fromage artisanal (jben) traduit par un niveau élevé de contamination par les flores contaminantes et les germes de détérioration, ce produit reste exempt de germes à potentiel pathogène redoutable. En effet, grâce à son pH bas, la présence abondante des flores protectrices et la valeur basse de l'activité de l'eau.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

A/

Alais C. (1975). Sciences du lait. Principes des techniques laitières. Edition Sepaic, Paris. Définition et glucide 3-5p

Abee T. (1995). Pore-forming bacteriocins of Gram positive bacteria and self-protection mechanisms of producer organisms. *FEMS Microbiol. Lett.*,

Arthur C.O. and SATU V. (2004). Antimicrobial components from lactic and Bacteria ; in : «lactic acid bacteria, microbiological and functional aspects». Marcel Dekker, 3^{ème} Ed., New-York

Asaduzzaman M. S. et Sonomoto K. (2009). Lantibiotics: Diverse activities and unique modes of action. *J. biosci. Bioeng.*, 24 p

B/

Brotz H., BIERBAUM G., Reynolds P.E. a Sahl H.G.(1998). The Lantibiotic meisacidin inhibits peptidoglycan biosynthesis at the level of transglycosylation. *Eur. J. Biochem.*, 27 p

Boudjemaa Khaled. (2008). Essai d'optimisation de la production d'acide lactique sur lactisérum par streptococcus thermophilus. Mémoire de magister. option biochimie et microbiologie appliquées. Université M'Hmed Bougara -Boumerdés 13 p

Badis, A., Guetarni, D., Kihal, M. et Ouzrout, R. (2005). Caractérisation phénotypique des Bactéries lactiques isolées à partir de lait de chèvre de deux populations locales "Arabia et Kabyle». *Scien &Tech*, 9- 33 p

Benkerroum, N. and Tamime, A.Y. (2004). Technology transfer of some Moroccan traditional dairy products (lben, jben, smen) to small industrial scale. *Food Microbiol.* 10-11 p

Breukink E., Van Hensden H. E., Vollmerhaus P. J., Swiezewska E., Brunner L., Walker S., Heck A. J. R. and De Kruijff B. (2003). Lipid II is an intrinsic component of the pore induced by nisin in bacterial membrane. *J. Biol. chem.*, 12 p

Bouadjaib, S. (2014). Etude physico-chimique du produit laitier traditionnel du Sud

algérien «Jben» Recherche du pouvoir antimicrobien des bactéries lactiques (Doctoral dissertation).

Bariz Karim,(2011) . Etude de la microflore du lait fermenté traditionnel (*Ighi*), recherche de souches de bactéries lactiques productrices de bactériocines. Université Mouloud Mammeri de Tizi ouzou 35 p

Benhedane Née Bachtarzi Nadia, (2012). Qualité microbiologique du lait cru destiné à la fabrication d'un type de camembert dans une unité de l'est algérien Université MENTOURI Constantine 35 p

Boumediene Karima épouse Lakehal(2013) Recherche des bactéries lactiques productrices des bactériocines et l'étude de leur effet sur des bactéries néfastes Université Abou Bekr Belkaïd-Tlemcen 39 p

C/

Calvez. S; Belguesmia. Y ; Kergourley. G.(2009). in bactériocines : de la synthèse aux applications in bacteries lactiques : physiologique, métabolisme, génomique et applications industrielles édition : Economica .2009 , 21-25-26 P

Cocaign-Bousquet M., Garrigues C., Loubière P., Lindley N.D. (1996) Physiology of pyruvate metabolism in *Lactococcus lactis*. *Antonie van Leeuw*.20 p

CIPC Lait Commission Interprofessionnelle des Pratiques Contractuelles (2011).

Avis relatif à la définition et aux méthodes d'analyse de l'acidité du lait n°2011-02. 7p

D/

Dellaglio, F., De Roissart, H., Torriani, S., Curk, M. et Janssens, C. (1994) In : Bactéries lactiques aspects fondamentaux et technologiques, 14 p

De Roissart, H. et Luquet, F.M. (1994). Les bactéries lactiques. *Uriage, Lorica, France*, 14 p

Dacosta Y. (2000). La bioprotection des aliments: l'antagonisme microbien au service de la sécurité et de la qualité microbiologique des aliments. Ed. YVES DACOSTA. Paris 24 -25 – 38 p

Drouault, S. et Corthier, G. (2001). Effets des bactéries lactiques ingérées avec des laits fermentés 14 p

Debry G. (2001). Lait, nutrition et santé. Edition Tec et Doc Lavoisier, Paris 5 p

Deegan L.H., Casser D.P., Hill C. and ROSS P.(2006). Bacteriocins: biological tools for bio-preservation and shelf-life extension. *Rev. Int. Dairy J.*,28 – 29 p

DORTU C et THONART P.(2009). Les bactériocines des bactéries lactiques : caractéristiques et intérêt pour la biopreservation des produits alimentaires. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ* 2-22-25 p

F/

Fredot E., 2006. Connaissance des aliments-Bases alimentaires et nutritionnelles de la diététique, Tec et Doc,Lavoisier 3p

Fimland G. L., Johnsen L., Axelsson L., Bourberg M. B., NES I. F.,Eijsink V. A. H. and Mayer J. N. (2000). A C-terminal disulfide bridge in pediocin like bacterocins renders bacterocin activity less temperature dependant and is a major determinant of the antimicrobial spectrum. *J. bacteriol*

G/

Goursaud J., (1985). Composition et propriétés physico-chimiques. Dans Laits et produits laitiers vache, brebis, chèvre. Tome 1 : Les laits de la mamelle à la laitière. Luquet F.M.. Edition Tec et Doc Lavoisier, Paris.

Guinot Thomas P. Ammouy M. et Laurent F. (1995). Effects of storage conditions on the composition of raw milk. *International Dairy Journal* N° 5.

Gordon B. et Loisel W. (1991). Dosage des protéines. Dans : Multon J.L., Techniques d'analyses et de contrôle dans les industries agronomiques. Vol 4, 2ème édition, Tec& Doc, Lavoisier, Paris 4p

Gonzalez, et al., (2007). In Boudjani, W. (2009). Action de la flore lactique sur les bactéries contamination. Mémoire d'ingénieur, Institut de biologie, Université de Tlemcen 16 p

Guiraud J.P. (2003). Microbiologie Alimentaire. Edition DUNOD. Paris 36 – 37 p

H/

Hamama A.(1989). Qualité bactériologiques des fromages frais marocains. CIHEAM, Options Méditerranéennes, série séminaire n°6., 37 p

Hamama, A. (1997). Improvements of the manufacture of traditional fermented products in Morocco: case of Jben (Moroccan traditional fresh cheese) In: Emerging Technology Serie.sFood Processing Technologies for Africa (Dirar, H.a., Ed.),11 p

Holzapfel, W.H., Haberer, P., Geisen, R., Björkroth, J. and Schillinger, U. (2001).

Taxonomy and important features of probiotic microorganisms in food and nutrition. *Am. J. Clin. Nutr.*

Heng N.C.K., Wescombe P.A., Burton J. P., Jack R.W. and Tagg TAGG J.R. (2007). The diversity of bacteriocins in Gram positive bacteria; in : “Bacteriocins: ecology and evolution”. Ed Springer, Verlag, Berlin, Heidelberg.

Hyde A.J., Parisot J., Mcnichol A. and Bonev B.(2006). “Nisin-induced changes in *Bacillus* morphology suggest a paradigm of antibiotic action. *Proc. Natt Acad. Sue*, 27 p
K/

Kandler, O., Weiss, N., (1986) . Genus *Lactobacillus*. In : Bergey’s Manual of Systematic Bacteriology., vol 2. P.H.A, Sneath., N.S, Mair., Sharpe, M.E., Holt, J.G (Ed). Williams and Wilkins, Baltimore, M.D , 14 p

Klaenhammer., 1988 in les bacteriocines des bacteries lactiques ,caracteristiques et interets pour la conservation des produits alimentaires . BASE.VOLUME 13 , 22-23 p
L/

Luquet F. M. (1985). Laits et produits laitiers - Vache, brebis, chèvre. Tome 1 : Les laits De la mamelle à la laiterie. Tech. & Doc., Coll. STAA, Lavoisier, Paris 4p

Laurent, S. (1998). Manuel de bactériologie alimentaire. *Poly technica Paris*. 14-15-17 p

Larpent, J.P, (1997). Mémento technique de microbiologie .3^{ème} Ed. Technique et Documentation Lavoisier. Paris 3-7 p

Le Minor L. et Richard C. (1993). Méthodes de laboratoire pour l’identification des entérobactéries. Institut Pasteur.34 p

Le point de cong acidite de titra Vierling E.(2008). Aliments et boissons filières et produits. 3^{ème} édition Biosciences et techniques.Paris.

Lhsaoui, S. (2009). Etude de procédé de fabrication d’un fromage traditionnel (klila). Mémoire de fin d’étude en vue de l’obtention de diplôme d’Ingénieur Université El Hadj Lakhdar Batna, Département d’Agronomie.

Leyral, G., Vierling, E. (2001). Microbiologie et toxicologie des aliments .3^{ème} édition Doin. France ,8p

M/

Mathieu J. (1998). Initiation à la physicochimie du lait. Guides Technologiques des IAA. Edition Lavoisier Tec et Doc, Paris.

Morrissay PA. (1995). Lactose : chemical and physicochemical properties. dans : Developments in dairy chemistry 3. (FOX PF). Elsevier, London 4 –23 p

Menard, J.L., Roussel, P., Masselin-Silvin, S., Puthod, R., Hetreau, T., Foret, A., Houssin, B., Aracil, C. and Le Guenic, M., (2004). Contamination bactérienne d'une litière de stabulation libre paillée: effet de la fréquence de paillage et proposition d'une méthode pour son évaluation. In: Rencontres sur les Recherches autour des Ruminants. *Institut de l'Elevage – INRA*, Paris, 7p

Mennane, Z., Khedid, K., Zinedine, A., Lagzouli, M., Ouhssine, M. and Elyachioui, M. (2007) .Microbial Characteristics of Klila and Jben Traditionnal Moroccan Cheese from Raw Cow's Milk. *World Journal of Dairy & Food Sciences* 10 p

Michel Desmazeaud laboratoire de recherche laitière INRA-Jouy-en-Josas, 1998 12 p

Mami. A ;Hamedi. A ;Henni.J .Kerfouf. A ;Kihal. M. (2010). Activité antibactérienne de *Lactobacillus plantarum* isolée du lait cru de chèvre d'Algérie vis-à-vis de *Staphylococcus aureus*. LES TECHNIQUES DE LABORATOIRE -2010, volume 5, N°21 34 p

Makhloufi .K. M. (2012) Caractérisation d'une bactériocine produite par une bactérie lactique *Leuconostoc pseudomesenteroides* isolée du boza. Thèse de doctorat de l'université pierre et marie curie. Spécialité : microbiologie, biochimie (école doctorale iviv), 19 p

Morisset D., Berjeaud J.M., Frere J. et Hechard Y.(2005). Bactériocines des bactéries lactiques et probiotiques. Technique et Documentation, Lavoisier, Paris.

Mehidi Né Benguella Nassima (2015). Recherche de bactériocines produites par les bactéries lactiques isolées du lait de chamelle, 39 p

O/

Oppegard C., Fllmand G., Thorbak I. and Nissen Meyer J.(2007). Analysis of the two peptids bacterocins Lactococcin G and Enterocin 1071 by site directed mutagenesis. *Appl. Environ. Microb.*, 27 p

Ouadghiri, M., Mohamed, A., Vancanneyt, M., Swings, J. (2005). Biodiversity of lactic acid bacteria in Moroccan soft white cheese (Jben). *FEMS Microbiology Letters* 11 P

P/

Patton G.C. and Van Douk W.A. (2005). New developpement in Lantibiotic

biosynthesis and mode of action. *Curr. Opin. Microbiol.*, 27 P

Poznanski, E., Cavazza, A., Cappa, F. and Cocconcelli, P. S. (2004). Indigenous raw milk microbiota influences the bacterial development in traditional cheese from an alpine natural park. *Int. J. Food Microbiol* 11 p

Pointurier H. 2003. La gestion matière dans l'industrie laitière. Tec et Doc, Lavoisier, France Larpent, J.P, (1997). Mémento technique de microbiologie .3^{ème} Ed. Technique et Documentation Lavoisier. Paris

R/

Richard C., Canon R., Naghmouchi K., Bertrand D., Prevast H. and Drider D.(2006). Evidence on correlation between number of disulfids bridge and foxicity of class II bacteriocins. *Food Microbiol*

Robinson R.K. and Tamime 2006). Types of Fermented ; in: “ Fermented Milks”. First edition. Blackwell science, Ltd, 9600 Garsington Road, Oxford OXO 2D9,UK, 36- 37 p

S/

Satura et Federighi (1998). In Essai d'optimisation de la production d'acide lactique sur lactosérum par *Streptococcus thermophilus*. Mémoire de magister. Option biochimie et microbiologie appliquées. Université M'Hmed Bougara -Boumerdés,21p

Siegumfeldt, H., Rechinger, KB., Jakobsen, M., (2000). Dynamic changes of intracellular Ph in individual lactic acid bacterium cells in response to a rapid drop in extracellular pH. *Appl Environ Microbiol* 14 P

Schillinger, U., Becker, B., Vignolo, G., Holzapfel, W.H., (2001) - Efficacy of nisin in combination with protective cultures against *Listeria monocytogenes* Scott A in tofu. *Int. J. Food Microbiol.* 39 p

Salmeron, J., de Vega, C., Pérez-Elortondo, F.J., Albisu, M. and Barron, L.J.R. (2002). effect of pasteurisation and seasonal variations in the microflora of ewe's milk for cheese making. *Food Microbiol* 11 P

T/

Tamime A.Y., 2002. Microbiology of starter cultures. In: Dairy microbiology handbook (Robinson R.K.). 3e Ed., John Wiley and Sons, Inc., New York ,1-16 p

Thompson J., Gentry-Weeks C.R. (1994) Métabolisme des sucres par les bactéries

lactiques. Dans : Bactéries lactiques, Vol. I, p 239-290 (Editeurs : De Roissart H., Luquet **Towmey D et al., (2002)** . .in bacteries lactiques :physiologique, metabolisme,genomique et Applications Industrielles Edition : Economica .2009.19 - 20 p

Twomey D., Ryan M., Meaney B. and Hill C. (2002). Lantibiotics produced by Lactic acid bacteria : structure, function, and applications. *A. Van leeuw*,25p

V/

Venema K., Venema G . and KOK J. (1995). Lactococcal bacteriocins: mode of action and immunity. *Trends Microbiol.*,

W/

Wijaya A., Neudeker C., Holzapfel W. and Franz C. (2006). Influence of bacteriocin-producing *Enterococcus faecalis* BFE1071 on *Lactobacillus ssp* in the rat gastrointestinal tract. *Proc. Food Microbiol.*, 29 p

Willey J.M and Van Derdonk W.A. (2007). Lantibiotics: peptides of diverse structure and function. *Annu. Rev. Microbiol.*,

Wiedemann I., Botrigger T., Bonelli R.R., Siven A.W., Hagge O.,Gutsmann T., Seydel U., Deegan L., Hill C., Ross P. and Sahl H.G. (2006). The mode of action of the lantibiotic lactacin 3147- a complex mechanism involving specific interaction of two peptides and the cell wall precursor lipid II. *Mol. Microbiol.*, 24-27 p