

République Algérienne Démocratique et Populaire

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



جامعة عبد الحميد ابن باديس
مستغانم
كلية علوم الطبيعة والحياة

DEPARTEMENT DES SCIENCES ALIMENTAIRES

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par :

BOUGHARI Fatima Zohra Nesrine

Pour l'obtention du diplôme de

MASTER EN SCIENCES ALIMENTAIRES

Spécialité : Production et transformation laitières

THÈME

**Isolement et identification des bactéries
lactiques autochtones isolées de lait de
vache de la région de Zemmoura**

Soutenu publiquement le .././2022

Devant les membres du jury

| | | | |
|-----------|-------------------|-------|---------------|
| Président | Dr. ZABOURI. Y | M.C.A | U. Mostaganem |
| Examineur | Dr. MEGHOUFEL.L.N | M.C.B | U. Mostaganem |
| Encadreur | Dr TAHLAITI. H | M.C.A | U. Mostaganem |

Travail réalisé au Laboratoire des Sciences et Techniques de Productions Animales

Année universitaire 2021-2022

Remerciement

Je remercie Dieu le tout puissant, de m'avoir donné le courage, la force, la santé et la persistance
Pour mener à terme ce travail.

Je tiens à témoigner ma profonde gratitude à ma directrice de mémoire, Docteur TAHLAITI
Hafida, pour la confiance qu'elle m'a accordée pour la réalisation de ce travail.

A Monsieur ZABOURI Y, Maître de conférences A à la faculté de SNV, Département des
Sciences Alimentaires de l'université Ibn Badis, Mostaganem, je tiens à exprimer toute ma
Gratitude d'avoir accepté de présider le jury de ce mémoire. Veuillez trouver ici l'expression de
Ma respectueuse considération.

Mes remerciements s'adressent aussi à Docteur MEGHOUFEL.L. N, Maître de conférences B à
La faculté de SNV, Département des Sciences Alimentaires de l'université Ibn Badis,
Mostaganem, d'avoir accepté d'examiner le contenu de ce présent travail, veuillez trouver ici
L'expression de mon profond respect.

Les travaux présentés dans cette mémoire ont été effectués au laboratoire des Sciences et
Techniques de Production Animale université de Mostaganem à Hassi-Mamèche, Mostaganem
Dirigé par monsieur HOMRANI Abdelkader, Professeur à l'Université de Mostaganem.

Je tiens à remercier monsieur BEKIHAL Amin, Doctorant à l'université de Mostaganem pour
leur aide dans la collecte des échantillons de lait. Tous mes remerciements D'adressent aux
membres du Laboratoire LSTPA, merci à vous.

Je tiens à remercier monsieur BELHARAT Noureddine, Ingénieur du laboratoire LSTPA

Enfin, je remercie tous ceux ou celles qui ont contribué de près ou de loin à L'accomplissement
de ce mémoire de Master et que je n'ai pu citer.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail

A mes très chers parents, source de vie et d'amour.

A mon cher mari BELAYACHI Boumediene, merci pour ton aide et ta patience.

A mon enfant jeude.

A mon frère Amine.

A toute ma famille et mes Amis.

Merci pour votre soutien.

Liste des tableaux

| | | |
|--------------------|--|-----------|
| Tableau 01 | Evolution des importations de génisses pleines à vocation laitière. | 07 |
| Tableau 02 | Evolution de la consommation de lait et produits laitiers entre 2000 et 2007. | 09 |
| Tableau 03 | Critères microbiologiques applicables aux denrées alimentaires (2 juillet 2017). | 09 |
| Tableau 04 | Teneur comparée du plasma sanguin et du lait normal en quelques constituants. | 13 |
| Tableau 05 | La composition moyenne du lait de vache. | 14 |
| Tableau 06 | Composition lipidique moyenne du lait de vache. | 15 |
| Tableau 07 | Teneurs totales en phospholipides du lait de vache et de produits laitiers (g/litre). | 16 |
| Tableau 08 | Composition du lait en acides gras. | 17 |
| Tableau 09 | Composition moyenne et distribution des protéines du lait de vache. | 20 |
| Tableau 10 | Teneurs en oligo-éléments du lait de vache ($\mu\text{g/litre}$). | 21 |
| Tableau 11 | Concentrations en vitamines du lait de vache (mg/litre). | 23 |
| Tableau 12 | Différents caractères physiques du lait de vache. | 26 |
| Tableau 13 | Les principales molécules volatiles qui donnent l'arôme du lait et les attributs odeurs. | 26 |
| Tableau 14 | Principales propriétés physicochimiques du lait. | 27 |
| Tableau 15 | Evolution du PH et Acidité au cours du cycle de la lactation. | 29 |
| Tableau 16 | Caractéristiques des génomes des bactéries lactiques. | 39 |
| Tableau 17 | Milieux d'isolement des bactéries lactique. | |
| Tableau 18 | L'analyse physico-chimique de lait de vache. | 67 |
| Tableau 19 | Dénombrement des colonies. | 68 |
| Tableau 20 | Critères morphologique des bactéries lactiques isolées à partir de lait de vaches | 69 |
| Tableau 21 | Résultats du test de type fermentaire. | 71 |
| Tableau 22 | Résultats de test de croissance à différentes températures. | 72 |
| Tableau 23 | Résultats de test de thermorésistante. | 72 |
| Tableau 24 | Résultat du test de croissance à différents pH. | 73 |
| Tableau 25: | Résultats du test de culture sur milieu hypersalé. | 73 |
| Tableau 26: | Résultats de l'hydrolyse de l'esculine. | 74 |

Liste des figures

| | | |
|------------------|--|-----------|
| Figure 01 | répartition des effectives de vaches laitières dans le monde. | 06 |
| Figure 02 | Évolution de l'élevage bovin en Algérie de 2017 à 2018, par têtes en milliers. | 06 |
| Figure 03 | structure de la glande mammaire de la vache. | 12 |
| Figure 04 | structure générale des triglycérides. | 16 |
| Figure 05 | Evolution du taux protéique en fonction des saisons. | 18 |
| Figure 06 | Composition minérale du lait de vache en g/L. | 19 |
| Figure 07 | Evolution du lait écrémé vers 20°C. | 21 |
| Figure 08 | Arbre phylogénétique consensus, basé sur l'analyse comparative des séquences du gène 16S rRNA. | 24 |
| Figure 09 | Rôles schématiques des nutriments intervenants dans la synthèse des matières grasses du lait. | 36 |
| Figure 10 | Aspect d'un Leuconostoc en microscopie optique (X 1000). | 46 |
| Figure 11 | Aspect d'un Streptococcus en microscopie optique (X 1000). | 47 |
| Figure 12 | Aspect d'un Pediococcus en microscopie optique (X 1000). | 48 |
| Figure 13 | Aspect d'un Bifidobacterium en microscopie optique (X 1000). | 49 |
| Figure 14 | Situation géographique de laboratoire de recherche LSTPA de l'université Abdelhamid IBN BADIS de Mostaganem (Google maps). | 50 |
| Figure 15 | Protocole expérimental général. | 53 |
| Figure 16 | Mesure de l'acidité Dornic. | 53 |
| Figure 17 | préparation des dilutions de 10^{-1} à 10^{-7} . | 58 |
| Figure 18 | Un milieu anaérobie au niveau laboratoire LSTPA. | 60 |
| Figure 19 | Schéma de conservation longue durée des bactéries lactiques purifiées. | 61 |
| Figure 20 | Aspect macroscopique de quelque colonie de souches lactiques isolées sur gélose MRS. | 69 |
| Figure 21 | Coloration de gram. | 70 |
| Figure 22 | teste de catalase. | 70 |
| Figure 23 | Fixation de la souche. | 70 |
| Figure 24 | Aspect microscopique après coloration $\times 100$. | 70 |
| Figure 25 | Aspect macroscopique après purification. | 70 |
| Figure 26 | Aspect microscopique après purification $\times 100$. | 70 |
| Figure 27 | Résultat des tests phénotypiques | 75 |
| Figure 28 | Résultat de la souche 02. | 77 |

Liste des abréviations

ATCC: American Type Culture Collection

°C : degré Celsius

° D : Dornic

En : Enterococcus

EPS: Exopolysaccharides

ESD : Extrait Sec Dégraisser

EST : Extrait Sec Total

FAO: Food and Agriculture Organization

g : gramme

h : heure

Lb : Lactobacillus

Ln : Leuconostoc

MG : Matière Grasse

ml : millilitre

MM : Matière Minérale

MRS : Man, Rogosa et Sharpe (Milieu de culture)

ND : Non déterminé

N : normalité

NaCl : chlorure de Sodium

P : probabilité

pH : Potentiel d'hydrogène

ssp : Sous espèces

T : température

UFC : unité formant colonies

µl : microlitre

v : Volume

Résumé

Les bactéries lactiques jouent un rôle primordial dans la fabrication de produits alimentaires fermentés. Elles contribuent à l'amélioration du goût, de l'aspect et de l'innocuité microbiologique de l'aliment.

Le but de cette étude était d'évaluer la diversité des bactéries lactiques autochtones qui appartiennent à la flore utile ou technologique, d'un échantillon de lait de vache cru provenant de la Région de Zemmoura Wilaya de RELIZANE.

L'isolement de 9 souches lactiques, sur la base d'un certain nombre de caractères phénotypiques, physiologiques et biochimiques (type fermentaire, la croissance en présence de NaCl 4% et 6,5%; croissance aux pH = 4.5 et pH 9.6; test de croissance à différentes températures 10°C,37°C, 45°C; étude de la thermorésistance; test de l'hydrolyse de l'esculine), ses différents tests nous ont permis d'identifier 4 genres dont Enterococcus 33,34 % Lactobacillus 33,33 %, Leuconostoc 22,22 %, et 11,11 N.D .

Mots clés : bactéries lactiques, lait cru, vaches, analyse physico-chimique, caractérisation phénotypique.

Summary

Lactic acid bacteria play an essential role in the manufacture of fermented food products. They contribute to improving the taste, appearance and microbiological harmlessness of the food.

The aim of this study was to evaluate the diversity of autochthonous lactic acid bacteria which belong to the useful or technological flora, of a sample of raw cow's milk from the Region of Zemoura Wilaya of RELIZANE.

Isolation of 9 lactic strains, based on a number of phenotypic, physiological and biochemical characters (fermentation type, growth in the presence of 4% and 6.5% NaCl; growth at pH = 4.5 and pH 9.6; growth test at different temperatures 10°C, 37°C, 45°C; study of heat resistance; test of esculin hydrolysis), its various tests have enabled us to identify 4 genera including Enterococcus 33.34 % Lactobacillus 33,33 %, Leuconostoc 22.22 %, and 11.11 % N.D.

Keywords: lactic acid bacteria, raw milk, cows, physico-chemical analysis, phenotypic characterization.

ملخص

تلعب بكتيريا حمض اللاكتيك دورًا أساسيًا في تصنيع المنتجات الغذائية المخمرة. أنها تساهم في تحسين الذوق والمظهر والضرر الميكروبيولوجي للطعام.

كان الهدف من هذه الدراسة هو تقييم تنوع بكتيريا حمض اللاكتيك الأصلية التي تنتمي إلى النباتات المفيدة أو التكنولوجيا لعينة من حليب البقر الخام من منطقة زمورة بولاية غليزان.

عزل 9 سلالات لبنية بناءً على عدد من الصفات المظهرية والفسولوجية والكيميائية الحيوية (نوع التخمر، النمو بوجود 4% و 6.5% كلوريد الصوديوم؛ النمو عند الأس الهيدروجيني = 4.5 ودرجة الحموضة 9.6؛ اختبار النمو عند درجات حرارة مختلفة 10 درجات مئوية، 37 درجة مئوية، 45 درجة مئوية؛ دراسة مقاومة الحرارة؛ اختبار التحلل المائي للإسكولين)، مكنتنا اختباره المختلفة من تحديد 4 أجناس بما في ذلك

33.34% Enterococcus، 33،33%، Lactobacillus، 22.22%، Leuconostoc و 11.11% ND

الكلمات المفتاحية: بكتيريا حمض اللاكتيك، اللبن الخام، الأبقار، التحليل الفيزيائي والكيميائي، الخصائص المظهرية

Sommaire

| | |
|---|----|
| Remerciement | |
| Dédicace | |
| Liste des tableaux | |
| Liste des figure | |
| Abréviation | |
| Sommaire | |
| INTRODUCTION | 2 |
| Chapitre I : rappel bibliographique | |
| 1.1 Cheptels bovins dans le monde et en Algérie | 4 |
| 1.1.1 Cheptels laitiers dans le monde | 4 |
| 1.1.2 Le cheptel bovin laitier en Algérie | 5 |
| 1.1.2.1 Evolution du cheptel bovin laitier | 5 |
| 1.1.2. Politique d'importation de génisses pleines à haut rendement laitier | 6 |
| 1.2.1. Systèmes de productions | 7 |
| 1.2.1.1. Système extensif | 8 |
| 1.2.1.2. Système semi-intensif | 8 |
| 1.2.1.3. Système intensif | 8 |
| 2. Consommation et réglementation algérienne à propos du lait cru et ses produits dérivés | 8 |
| 2.1.Évolution de la consommation du lait et des produits laitiers | 8 |
| 2.2.Journal officiel de réglementation de la république algérienne N° 39 | 9 |
| 2.3.La notion de qualité en production laitière : | 11 |
| 2.3.1. Critère de qualité | 11 |
| 2.3.2.Les méthodes de conservation | 11 |
| 3.La synthèse et la Composition du lait | 12 |
| 3.1. La synthèse du lait par les cellules mammaires | 12 |
| 3.1.1. L'élaboration du lait par les cellules lactogènes | 12 |
| 3.1.2. Processus de l'éjection du lait | 13 |
| 3.2. Composition du lait cru | 14 |

| | |
|--|----|
| 3.2.1. Eau | 14 |
| 3.2.2.Matière grasse | 15 |
| 3.2.2.1.Triacylglycérols | 15 |
| 3.2.2.2Phospholipides | 16 |
| 3.2.3. Origine des gras du lait | 17 |
| 3.2.4. Les glucides | 18 |
| 3.2.5. Les protéines | 19 |
| 3.2.6. Les minéraux | 20 |
| 3.2.7. Les vitamines | 22 |
| 3.2.8. Les enzymes | 23 |
| 3.2.9.Les Hormones | 24 |
| 3.3. Les différentes phases de l'évolution naturelle du lait | 24 |
| 3.4. Les propriétés du lait | 26 |
| 3.4.1. Propriétés organoleptiques du lait de vache | 26 |
| 3.4.1.1. Couleur | 26 |
| 3.4.1.2. Odeur | 26 |
| 3.4.1.3. Saveur | 27 |
| 3.4.1.4. La viscosité | 27 |
| 3.4.2. Propriétés physico-chimiques du lait | 27 |
| 3.4.2.1. La conductibilité électrique | 28 |
| 3.4.2.2. Masse volumique | 28 |
| 3.4.2.3. Viscosité | 28 |
| 3.4.2.4. Point d'ébullition | 28 |
| 3.4.2.5. Point de congélation | 28 |
| 3.4.2.6. Ph | 29 |
| 3.4.2.7. Acidité du lait | 29 |
| 3.4.3. Propriétés microbiologiques du lait | 29 |
| 3.4.3.1. Flore originelle | 29 |
| 3.4.3.1.1. Flore de contamination | 30 |
| 3.4.3.1.2. Sources de contamination | 30 |
| 3.4.3.2. La flore pathogène | 30 |
| 3.4.3.2.1. Bactéries infectieuses | 30 |
| 3.4.4. Composants chimiques indésirables du lait | 31 |
| 3.4.4.1. Antibiotiques | 31 |
| 3.4.4.2. Pesticides | 32 |

| | |
|--|----|
| 3.4.4.3. Métaux | 32 |
| 3.4.5. La flore lactique | 32 |
| 3.4.5.1. Définition. | 32 |
| 3.4.5.2. Principales caractéristiques | 32 |
| 3.4.5.3. Taxonomie | 37 |
| 3.4.6. Flore lactique et activités métaboliques d'intérêt technologique. | 38 |
| 3.4.6.2. Habitat des bactéries lactiques | 41 |
| 3.4.6.3. Intérêts et rôle des bactéries lactiques dans l'industrie agro-alimentaire. | 43 |
| 3.4.6.3.1. Les lactocoques. | 44 |
| 3.4.6.3.2 Les entérocoques. | 45 |
| 3.4.6.3.3. Les lactobacilles. | 45 |
| 3.4.6.3.4. Genres Leuconostoc et Oenococcus | 46 |
| 3.4.6.3.5. Genre Streptococcus | 46 |
| 3.4.6.3.6. Genre Pediococcus | 47 |
| 3.4.6.3.7. Genre Bifidobacterium | 48 |
| Chapitre II : Matériel et méthodes | |
| 1. Objectifs de l'étude | 50 |
| 2. Lieu et durée du travail | 50 |
| 3. Produits et matériels utilisés | 50 |
| 3. 1 Produits | 50 |
| 3.1.1 Matières premières | 50 |
| 3.1.1. 1. Lait | 50 |
| 3.1.2. Autres produits | 51 |
| 3.1.2.1. Milieux de culture | 51 |
| 3.1.2.2. Réactifs chimiques | 51 |
| 3.2. Matériels | 51 |
| 3.2.1. Verreries | 51 |
| 3.2.2. Appareillages | 51 |
| 3.2.3. Autres matériels | 52 |
| 4. Méthodes | 53 |
| 4.1. Protocole expérimental | 53 |
| 4.2. Analyses physico-chimiques du lait | 53 |
| 4.2.1. Ph | 54 |

| | |
|---|----|
| 4.2.2. Acidité Titrable | 55 |
| 4.2.3 Densité | 55 |
| 4.2.4. Viscosité | 56 |
| 4.2.5. Matière Grasse | 56 |
| 4.3. Les analyses bactériologiques | 57 |
| 4.3.1 Règles générales de la bonne pratique du laboratoire | 57 |
| 4.3.2. Préparation des dilutions | 58 |
| 4.3.3. Dénombrement de la flore mésophile aérobie totale | 59 |
| 4.3.4. Dénombrement et isolement de la flore lactique | 60 |
| 4.4.5. Purification des souches: | 60 |
| 4.4.6. Identification des souches lactiques isolées: | 61 |
| 4.4.6.2 Critères physiologiques | 62 |
| Chapitre III : Résultats et discussion | |
| 1. Paramètres physico-chimiques et biochimiques | 67 |
| 1.1. Ph | 67 |
| 1.2. L'acidité | 67 |
| 1.3. Taux matière grasse | 67 |
| 1.4. Le point de congélation | 67 |
| 1.5. Taux protéique | 67 |
| 2. Les analyses microbiologiques : | 67 |
| 2.1 Dénombrement, Isolement et purification des bactéries lactiques : | 67 |
| 2.1.1 Dénombrement des colonies : | 67 |
| 2.2 Isolement et purification des bactéries lactiques : | 68 |
| 2.2.1. Pré-identification des isolats | 68 |
| 2.2.2. Identification phénotypique | 70 |
| II. Discussion | 70 |

| | |
|--|----|
| 1. Paramètres physico-chimiques et biochimiques | 70 |
| a. Type fermentaire | 71 |
| b. Croissance à différentes températures | 71 |
| c. Test de thermorésistante | 72 |
| d. Test de croissance à différents pH | 73 |
| e. Culture sur milieu hypersalé | 73 |
| f. Hydrolyse de l'esculine | 74 |
| Le profile fermentaire | 76 |
| 2. Isolement et identification des bactéries lactiques | 78 |
| Conclusion | 78 |
| Les références Bibliographiques | |
| Les annexes | |

Introduction

INTRODUCTION

Le lait est une denrée essentielle dans l'alimentation humaine, c'est un fluide biologique collecté à partir des mammifères, principalement les vaches laitières. C'est un aliment complet et constitué des principaux nutriments indispensables au développement. Ainsi chaque pays doit en assurer une production suffisante, et doit prendre toutes les mesures Convenables pour nourrir et entretenir le cheptel bovin. (**Aggad et al., 2009**).

L'Algérie est un pays de tradition laitière. Le lait et les produits laitiers, dérivés fromages yaourt, beure...etc. Occupent une place prépondérante dans la ration alimentaire des algériens ils apportent la plus grosse part des protéines d'origine animale c'est pour ça le maintien du secteur laitier, ne doit pas se focaliser uniquement sur l'agent producteur, qui est la vache, mais aussi sur la qualité du lait collecté. (**Bouarissa et al.,2019**)

Le lait est un aliment riche en protéine et en minéraux. Il est irremplaçable pour tous les organismes, notamment pour ceux qui se trouvent en pleine croissance. Aucun autre aliment ne peut apporter un aussi vaste ensemble d'élément favorables au développement de l'organisme (**Adrian ,1973**).

Le lait est un aliment dont la durée de vie est très limitée. En effet, son pH, voisin de la Neutralité, le rend très facilement altérable par les microorganismes et les enzymes. Sa Richesse et sa fragilité en font un milieu idéal de reproduction pour nombreux micro-organismes tels que les moisissures, les levures et les bactéries. On peut y trouver différentes bactéries pathogènes et bactéries lactiques (**Ainouche et al., 2015**).

Les bactéries lactiques présentent un grand intérêt dans l'industrie. Elles sont largement utilisées dans l'élaboration des produits alimentaires par des procédés de fermentations lactiques. Les bactéries lactiques assurent non seulement des caractéristiques particulières d'arômes et de texture mais aussi une bonne sécurité sanitaire alimentaire. (**Berradia Amouria2016**)

Cette sécurité est favorisée grâce à la production d'acides organiques (acides lactiques et acétiques) qui font baisser le pH dans le milieu. Les techniques de biologie moléculaires ont permis de mettre en évidence une forte diversité génomique qui a conduit à la classification récente de treize genres : Carnobacterium, Enterococcus, Lactobacillus, Lactococcus, Leuconostoc, Oenococcus, Pediococcus, Streptococcus, Tetragenococcus, Vagococcus, Weissella, Aerococcus, Bifidobacterium (**Carine et al, 2009**).

L'intérêt de ce travail est d'isolement et d'identifier les bactéries lactiques isolées de lait cru de vache, provenant de la région de MOSTAGANEM (LSTPA).

Chapitre I
Rappel
bibliographique

Chapitre I : rappel bibliographique

Dans le dictionnaire français Larousse le lait est considéré comme étant un Liquide blanc, opaque, de saveur légèrement sucrée, constituant un aliment complet et équilibré, sécrété par les glandes mammaires de la femme et par celles des mammifères femelles pour la nutrition des jeunes.

En 1908, au cours du Congrès International de la Répression des Fraudes à Genève le lait a été défini 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). Également il est défini dans le Codex Alimentarius en 1999, comme étant la sécrétion mammaire normale d'animaux de traite obtenue à partir d'une ou plusieurs traites, sans rien y ajouter ou en soustraire, destiné à la consommation comme lait liquide ou à un traitement ultérieur.

Du point de vue physicochimique, le lait est un produit très complexe. Une connaissance exacte de sa composition, de sa structure et de ses propriétés physiques et chimiques est primordiale à la compréhension des transformations du lait et des produits obtenus lors des différents traitements industriels (Amiot *et al.*, 2002). Selon Deforges *et al.*, en 1999, le lait cru est un lait non chauffé au-delà de 40°C ni soumis à un traitement non thermique d'effet équivalent notamment du point de vue de la réduction de la concentration en micro-organismes. Le lait qui est présent en grande quantité dans nos sociétés et le plus consommé provient en grande partie des vaches. La production mondiale du lait est assurée de loin la plus grande part les vaches (90%) même en pays tropicaux (70%) (FAO, 1990).

1.Cheptels bovins dans le monde et en Algérie

1.1. Cheptels laitiers dans le monde

La répartition géographique du cheptel laitier mondial ne montre que partiellement le potentiel laitier, tant les niveaux de productivité sont excréments hétérogènes d'un continent à l'autre. Selon (BAA, 2008) l'Afrique compte 116 millions de vaches et de bufflonnes, soit 50% du cheptel mondial, mais elle ne fournit que 4% de la production laitière mondiale. Alors, les USA y contribuent pour 15% avec seulement 3% du cheptel laitier dans le monde. Visiblement le cheptel de vaches laitières a évolué différemment selon les continents. Il est fortement en recul en Europe : de 21% dans l'Union européenne et de moitié (50%) dans l'Europe de l'Est entre 1992 et 2008. Il est relativement stable sur le continent américain. Il a fortement progressé en Asie et en Océanie, respectivement de 25% et 40% sur quinze ans, où la croissance de la production est très dynamique et (+60%) en Afrique. Numériquement il plus progressé en Afrique alors que la production demeure pourtant peu dynamique (figure 1) (FAOSTAT, 2009)

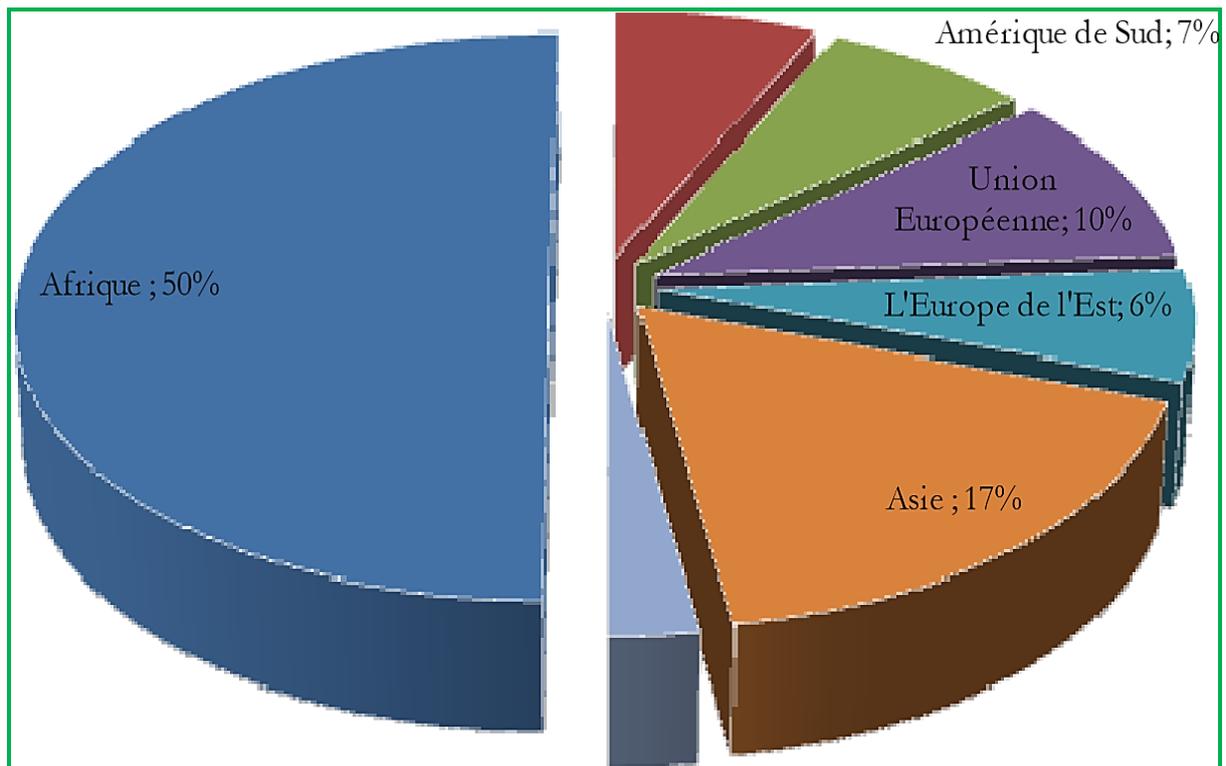


Figure 01 : répartition des effectives de vaches laitières dans le monde (FAOSTAT, 2009)

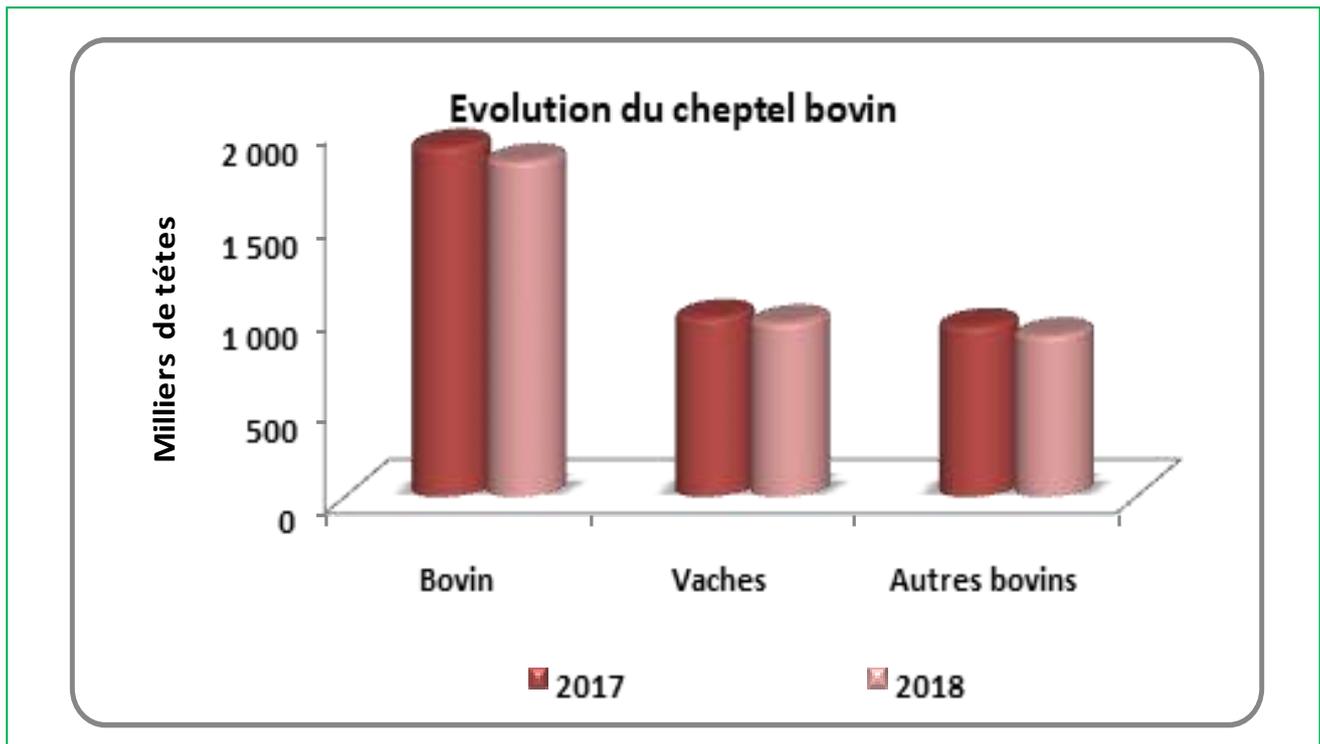
1.1. Le cheptel bovin laitier en Algérie

1.1.1 Evolution du cheptel bovin laitier

L'effectif bovin total a dégringolé de 525 000 à 132 7000 têtes entre 1963 et 1979 ; Il a plus que doublé durant cette longue période avec un croît annuel de 11,0% entre 1963 et 1969 et 5,5% entre 1970 et 1979 et il a ralenti entre l'année 80 et 90, puisqu'il est passé de 1 405 000 têtes en 1989 à 1 580 000 têtes en 1999. Durant cette période de vingt ans, le croît annuel enregistré était plus faible (0,4% et 1,5% respectivement pour les périodes 1980-89 et 1990-99). Enfin pour les années 2000, l'évolution de ce cheptel a diminué entre 2000 et 2004 en passant de 1 595 000 têtes à 1 546 000 têtes pour progresser à nouveau à partir de 2005 et enregistrer un total de 1 657 000 têtes en 2007 (**Diarra.,2022**).

Les données ressentent par rapport aux précédentes puisqu'elles datent seulement entre 2017 et 2018, représentant l'évolution de l'élevage bovin en Algérie (figure02)

Figure 02 : Évolution de l'élevage bovin en Algérie de 2017 à 2018, par têtes en milliers(Agricole, 2018)



1.1.2. Politique d'importation de génisses pleines à haut rendement laitier

La politique d'importation de cheptels bovins génisses s'inscrit dans le programme d'amélioration génétique du cheptel national afin d'optimiser le potentiel laitier des vaches par intégration des vaches étrangères à haut rendement laitier. C'est dans ce cadre, que le pouvoir public a choisi une politique d'intégration de races étrangères à haut rendement lactaire. Les races laitières importées sont majoritairement :

- L'Holstein Pie noire une race Allemande qui est connue pour sa très bonne qualité laitière, elle est très répandue dans les régions littorales. « L'effectif des races importées est constitué de 66% de la race Holstein Pie noire ».
- La Montbéliarde Française Pie rouge, le potentiel laitier est plus faible par rapport celui de la race Holstein mais qui met bas des veaux à meilleure qualité bouchère. C'est donc une race mixte dont l'effectif est en recul.
- La Fleckvieh Suisse, Pie rouge qui est aussi une race mixte appréciée pour sa production laitière et pour la qualité bouchère de ses veaux.
- L'Holstein Pie rouge, c'est une meilleure race productrice du lait. Elle est la meilleure laitière des quatre, cependant, son nombre reste le plus réduit pour des raisons liées à ses conditions d'importation.

La stratégie de l'amélioration génétique par intégration de races hautement laitière n'a apporté ses fruits que très peu, puisque jusqu'en 2000, les croisements tentés pour

Chapitre I : rappel bibliographique

l'amélioration de la qualité laitière des vaches locales n'avaient donné aucun résultat satisfaisant. Malgré cela, les importations, provenant principalement d'Europe, se sont poursuivies avec un rythme plus ou moins régulier de 25 000 génisses pleines/an. Dans le tableau ci-dessous sont inscrit le nombre de génisses à vocation laitière importées. (Diarra.,2022).

Tableau01 : Evolution des importations de génisses pleines à vocation laitière.

| | 2004 | 2005 | 2006 | 2011 | 2012 | 2013 | 2015 |
|--------------------------------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| Nombre de génisses pleines importées | 31 000 | 20 000 | 50 000 | 26 000 | 28 000 | 90 000 | 37 000 |
| Total | 8715 | 26800 | 29530 | 185 | 227 | 300 | 310 |
| Cumulé | | | | 290 | 000 | 000 | 000 |

Source : Bulletin Info Elevage, n°6, MADR, 2012

Le nombre moyen de génisses pleines intégrées au cheptel national est de, plus ou moins, 30 000 têtes/an, depuis 2004. Grâce à ces importations, le cheptel bovin laitier algérien est composé, après plusieurs années de stagnation, de 911 401 vaches laitières, dont les vaches d'importation représentent plus de 30% (inclus les vaches de race pure nées de mères importées sur le territoire national).

La principale raison de cet échec est que les vaches importées doivent apprendre à s'adapter à une nouvelle condition de vie sur le plan climatique ainsi que les conditions d'élevage. Donc raison pour laquelle leur production journalière se voit chuter puisque l'effort que l'animal doit fournir pour produire du lait sera utiliser pour augmenter sa capacité d'adaptation (Diarra.,2022).

1.2.1. Systèmes de productions

L'étude de système de production le plus documenté est essentiellement limité au bovin, à l'ovin et à l'aviculture industrielle et à degré insuffisant, le caprin et l'apiculture. Elle n'englobait pas l'ensemble des espèces et types génétiques, ni à toutes les zones concernées par l'élevage. Les données disponibles permettent de regrouper les nombreux modèles existants en trois grands types qui se différencient principalement par leur niveau de besoin des intrants et par le matériel génétique utilisé.

1.2.1.1. Système extensif

Basé sur l'exploitation de l'offre fourragère gratuite, ce système concerne les espèces locales et correspond à la majorité du cheptel national. Il domine les autres systèmes par son étendue spatiale et les effectifs qu'il compte, et est présent dans toutes les zones agro écologiques excepté les plaines irriguées du Nord, les hautes plaines céréalières et les oasis du Sud où il est moins présent. Le système de production extensif n'utilise presque pas les intrants et est pratiqué surtout sur l'ovin et le caprin dans steppe et sur les parcours sahariens, le bovin et le caprin en régions montagneuses et de piedmonts du Nord, le dromadaire et le caprin dans le Sud, la volaille et l'apiculture dans toutes les régions et enfin le lapin dans le Nord du pays (Kanoun A, 2002)

1.2.1.2. Système semi-intensif

Ce type d'élevage est intermédiaire entre système extensif et système intensif caractérisé par une utilisation modérée d'intrants, essentiellement représentés par les aliments et les produits vétérinaires. Sa localisation spatiale rejoint celle des grandes régions de culture vu son imbrication dans les systèmes cultureux dont il valorise les sous-produits et auxquels il fournit le fumier. (Kanoun A, 2002)

1.2.1.3. Système intensif

C'est dans ce système qu'on utilise maximum possible d'intrants, il utilise le matériel génétique introduit, excepté pour l'espèce ovine, est basé sur l'achat d'aliments, l'utilisation courante des produits vétérinaires et fait appelle à la main d'œuvre salariée. (Kanoun A, 2002).

2. Consommation et réglementation algérienne à propos du lait cru et ses produits dérivés

2.1. Évolution de la consommation du lait et des produits laitiers

Parmi les sources de protéine d'origine animale, le lait est le plus généralement utilisé dans la ration alimentaire de la majorité des algériens, surtout les populations à faibles revenus qui recourent généralement à la consommation de lait parce que, d'une part, en tant que produit très riche en nutriments il peut suppléer à d'autres produits coûteux tels que la viande et, d'autre part, il est subventionné par l'Etat. Ainsi, en 1990, le lait a compté pour 65,5 % dans la consommation de protéines d'origine animale devant largement la viande (22,4 %) et les œufs (12,1 %) (Amellal, 1995).

Selon le ministère du commerce (2008), la consommation globale du lait et de ses dérivés en Algérie a atteint 3,4 milliards de litres, soit près de 115 litres/habitant/an en 2007, cela est

Chapitre I : rappel bibliographique

due principalement de la croissance démographique et accessibilité du lait à faible prix durant tout au long de cette période.

Dans le Maghreb l'Algérie est le plus gros consommateur du lait et ses produits dérivés. A titre de comparaison, cette moyenne est respectivement de 87 litres/habitant/an pour la Tunisie et de 50 litres/habitant/an pour le Maroc. Et pourtant, le consommateur algérien est loin derrière le consommateur européen, qui consomme plus de 300 litres/an en 2007 et bien loin du consommateur français, qui atteint les 406 kg équivalents lait par an (FAO 2007).

Les chiffres du **Tableau 02** montrent que la consommation varie entre 100 et 115 litres par habitants et par an. L'année 2007 est celle où la consommation enregistrée par le ministère du commerce est la plus élevée

Tableau02 : Evolution de la consommation de lait et produits laitiers entre 2000 et 2007

| Années | 2000 | 2001 | 2002 | 2003 | 2004 | 2005 | 2006 | 2007 |
|--------------------------------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| Population (Million habitant) | 30 416 | 30 879 | 31 357 | 31 848 | 32 364 | 32 600 | 33 200 | 33 800 |
| Consommation (Litres/habitant/an) | 100 | 113 | 105 | 102 | 114 | 110 | 112 | 115 |

Source : (MC 2008)

2.2. Journal officiel de règlementation de la république algérienne N° 39

Ce décret officialisé par l'Etat algérien inclus plusieurs denrées alimentaires selon **Art. 3**. Mais nous allons nous intéresser uniquement les normes dictées concernant le lait et ses produits dérivés dans cette présente étude.

Arrêté interministériel du 2 Muharram 1438 correspondant au 4 octobre 2016 fixant les critères microbiologiques des denrées alimentaires.

Tableau03 : Critères microbiologiques applicables aux denrées alimentaires (2 juillet 2017)

| Catégories des denrées alimentaires | Micro-organismes/n métabolites | Plan d'échantillonnage | Limites microbiologiques (ufc (1)/g ou ufc/ml) |
|-------------------------------------|-----------------------------------|---------------------------|---|
|-------------------------------------|-----------------------------------|---------------------------|---|

Chapitre I : rappel bibliographique

| | | N | c | m | M |
|---|-------------------------------------|---|---|--------------------|-------------------|
| Lait cru | Germes aérobies à 30 °C | 5 | 2 | 3.10 ⁵ | 3.10 ⁶ |
| | <i>Staphylocoques</i> à coagulase + | 5 | 2 | 10 ² | 10 ³ |
| | Coliformes thermotolérants | 5 | 2 | 5.10 ² | 5.10 ³ |
| | <i>Salmonella</i> | 5 | 0 | | |
| | Antibiotiques | 1 | - | Absence dans 1 ml | |
| | <i>Listeria monocytogenes</i> | 5 | 0 | 100 | |
| | Germes aérobies à 30 °C | 5 | 2 | 10 ⁴ | 10 ⁵ |
| Lait pasteurisé et autres produits laitiers | <i>Enterobacteriaceae</i> | 5 | 0 | 10 | |
| | <i>Salmonella</i> | | | | |
| Liquides pasteurisés | | 5 | 0 | Absence dans 25 ml | |
| Lait UHT et lait stérilisé | Germes aérobies à 30 °C | 5 | 0 | 10/0.1ml | |
| | <i>Enterobacteriaceae</i> | 5 | 2 | 10 | 10 ² |
| Lait en poudre et lactosérum en poudre | <i>Staphylocoques</i> à coagulase + | 5 | 2 | 10 | 10 ² |
| | <i>Salmonella</i> | 5 | 0 | Absence dans 25 g | |
| Fromages au lait cru | <i>Escherichia coli</i> | 5 | 2 | 10 ⁴ | 10 ⁵ |
| | <i>Staphylocoques</i> à coagulase + | 5 | 2 | 10 ³ | 10 ⁴ |
| | <i>Salmonella</i> | 5 | 0 | Absence dans 25 g | |
| | <i>Listeria monocytogenes</i> | 5 | 0 | 100 | |
| | <i>Escherichia coli</i> | 5 | 2 | 10 ² | 10 ³ |
| | <i>Staphylocoques</i> à coagulase + | 5 | 2 | 10 ³ | 10 ⁴ |
| | <i>Salmonella</i> | 5 | 0 | Absence dans 25 g | |
| Crème au lait cru | <i>Listeria monocytogenes</i> | 5 | 0 | 100 | |

Ufc : unité formant colonie.

Ce critère s'applique au stade du portionnement dans le commerce de détail, c'est-à-dire lors

du fractionnement ou de la manipulation en vue de la vente directe au consommateur final.

2.3. La notion de qualité en production laitière :

Avant de collecter le lait dans le bassin refroidisseur, le camionneur en vérifie la température, l'apparence et l'odeur. Il prélève un échantillon servant aux analyses de contrôle de la qualité. Un autre échantillon de lait est prélevé pour analyser sa composition en protéines, en lactose, en minéraux et en matière grasse (**Anonyme, 2019**).

2.3.1. Critère de qualité

La notion de qualité attachée à un produit comprend plusieurs facettes aussi essentielles les unes que les autres :

- **Valeur d'usage** : c'est à dire l'aptitude de ce produit à satisfaire un besoin ou un désir chez un utilisateur.
- **Viabilité** : signifie l'aptitude de ce produit à se conserver au cours du temps, ses aptitudes à satisfaire l'utilisateur sans dégradation notable de la prestation.

Conformité : c'est à dire l'identité des différentes caractéristiques quantitatives et qualitatives de ce produit à celles du modèle initial prévu (**Scrjbarenes, 1988**).

2.3.2. Les méthodes de conservation

Avant la commercialisation, les laits subissent plusieurs traitements physiques : la standardisation pour harmoniser la composition de laits, l'homogénéisation pour stabiliser la matière grasse et le traitement thermique pour assurer sa conservation. Le lait stérilisé ultra haute température (UHT), est chauffé de 140 à 150 °C pendant 1 à 2 s, le lait pasteurisé de 63 °C à 95 °C pendant 30 minutes à 1 S. Le lait peut également être concentré, en poudre, fermenté ou caillé. Les techniques industrielles appliquées au lait et aux produits laitiers sont relativement douces et n'ont pas ou peu d'impact sur l'allergénicité (**Vilain, 2010**).

3. La synthèse et la Composition du lait

3.1. La synthèse du lait par les cellules mammaires

Le lait est un mélange liquide de plusieurs substances, la plus importante est l'eau. Il est synthétisé à partir de la glande mammaire des femelles mammifères. Dans l'espèce bovine les mamelles ou pis, d'une masse de 12 à 30 kg peut contenir jusqu'à 20 litres de lait. Une glande mammaire est une glande qui est composée de cellules lactogènes formant la couche interne de minuscules sac sphérique creux : les acini, d'un diamètre de 0,1 à 0,3 mm Ceux-ci sont abondamment irrigués par un réseau dense de capillaires qui les entoure (**figure03**).

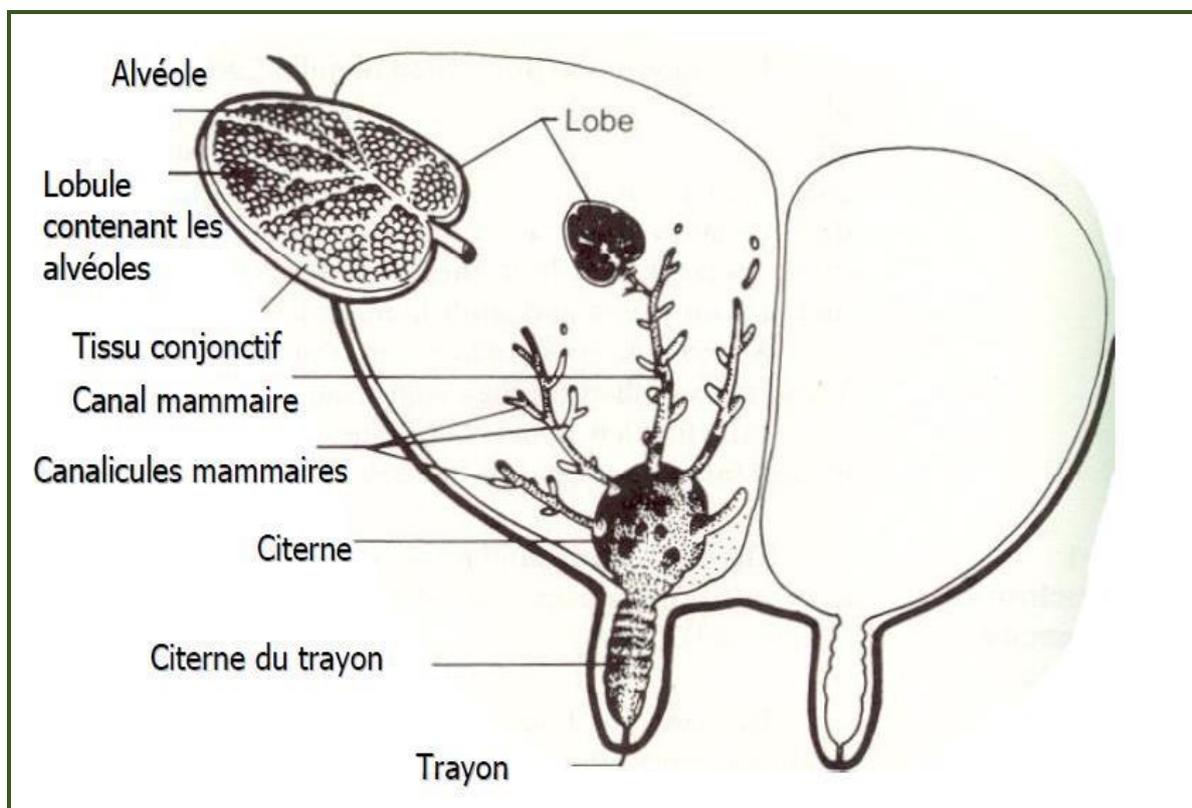


Figure03 : structure de la glande mammaire de la vache (Frédéric, 2015)

3.1.1. L'élaboration du lait par les cellules lactogènes

A partir de la mise bas, le lait est synthétisé par les cellules lactogènes (les acini) à partir des matériaux spécifiques puisés dans le sang et s'écoule dans la cavité centrale de l'acinus ou alvéole, puis dans les canaux ensuite vers les diverses citernes qui le prolonge. Certaines substances du lait ne proviennent pas directement du sang en passant simplement par les cellules des acini. C'est le cas de caséines et lactoses puisque ces deux composés ne sont pas présents dans le sang contrairement à l'urée et plusieurs constituants salins qui sont présents dans les deux liquides. Bien qu'ayant en commun la faculté de se coaguler, sang et lait,

Chapitre I : rappel bibliographique

diffèrent profondément par leur composition selon le tableau04

Tableau04 : teneur comparée du plasma sanguin et du lait normal en quelques constituants (les teneurs sont exprimées en g/l) (Frédéric, 2015)

| | | Plasma sanguin | Lait |
|----------------------------|--------------------|----------------|------|
| Eau | | 930 | 902 |
| Lactose | | 0 | 49 |
| Protéines | . Séralbumine | 74 | 0,9 |
| | . Sérumboglobuline | | |
| | . Fibrinogène | 3 | 0 |
| | . Caséines | 0 | 26 |
| Glycérides | | 0,6 | 37 |
| Constituants salins | . Calcium | 0,1 | 1,23 |
| | . Sodium | 3,36 | 0,5 |
| | . Potassium | 0,25 | 1,51 |
| | . Chlore | 3,5 | 1,11 |
| | . Citrate | Traces | 1,70 |

3.1.2. Processus de l'éjection du lait

La cellule sécrétrice se remplit, au fur et à mesure qu'elle synthétise les nouvelles substances à partir des matériaux filtrés au niveau du sang. Le lait fabriqué s'accumule dans sa partie dirigée vers le centre de l'acinus. Eau, ions Na^+ , Ca^{2+} , Cl^- , petits agrégats de β -lactoglobuline, micelles de caséines, globules gras, etc. sont rejetés et tombent dans l'alvéole qui se remplit. Entre l'intervalle de deux traites, le lait s'accumule dans les divers canaux et la cavité de la mamelle et entraîne l'augmentation de la pression dans les acini. Alors les cellules lactogènes ne peuvent plus expulser les globules gras ou au moins le processus est freiné ; seules les particules de petites dimensions sont à mesure de les quitter. Dès que la pression dans les alvéoles égale celle du sang, l'éjection du lait s'arrête (Tiphaine, 2014).

Les cellules glandulaires sont à nouveau en mesure d'évacuer des globules gras lors d'une traite puisque les citernes et les canaux vont se vider graduellement. L'expérience montre que la teneur en matière grasse du lait augmente du début à la fin de la traite, c'est pourquoi une traite incomplète donne un lait partiellement écrémé (Tiphaine, 2014).

Chapitre I : rappel bibliographique

3.2. Composition du lait cru

Le lait est un ensemble des mêmes groupes de substances que toute matière vivante. Ce n'est pas étonnant puisqu'il s'agit du produit de sécrétion d'un organisme vivant. La composition du lait est similaire à celle du sang mise à part quelques éléments. Elle pourrait être directement utilisée pour le suivi nutritionnel et l'adaptation concomitante de l'alimentation. (Mottram *et al* 2002) énumèrent les matières grasses, les protéines, l'urée et l'acétone comme les constituants du lait les plus utiles en ce qui concerne l'état métabolique et nutritionnel de la vache, qui sont facilement surveillés en même temps. Dans le tableau ci-dessous, fait apparaître les teneurs moyennes du lait de vache en ses principaux groupes de constituants (Ketrouci.,2021).

Tableau05. La composition moyenne du lait de vache (Mottram *et al.* 2002).

| | Les teneurs du lait en ses différents constituants sont exprimés en grammes par litre |
|--|--|
| CONSTITUANTS MINEREAUX | |
| . Eau | 902 |
| . Constituants salins minéraux | 6,9 |
| . Gaz dissous | 0,1 |
| CONSTITUANTS ORGANIQUES | |
| . Constituants salins organiques | 1,7 |
| . Lactose | 49 |
| . Matière grasse | 38 |
| . Protéine ou constituants azotés protéiques | 32 |
| - Caséines | 26 |
| - Protéines dites solubles | 6 |
| . Constituants azotés non protéiques | 1,5 |
| . Autres constituants | |

3.2.1. Eau

En réalité le lait fait penser directement à l'eau sauf que leur constituant et leur couleur sont différents, en moyenne le lait contient 87 % d'eau au moment de la traite. Elle est le composé le plus abondant du lait, jusqu'à 902 g par litre. C'est en elle, sont dispersés tous les autres constituants du lait, tous ceux de sa matière sèche. Selon (Fredot., 2005) le lait est riche en eau : ½ litre de lait (2 grands verres) apporte 450 ml d'eau Il participe donc à la couverture des

Chapitre I : rappel bibliographique

besoins hydriques de l'organisme.

3.2.2. Matière grasse

Taux butyreux ou encore appelé matière grasse du lait est un équivalent de l'huile chez les végétaux ; sa teneur varie d'une vache à l'autre environ 3,3 et 4,7%. Également d'autres facteurs entrent en jeu dans cette variation comme le dit ; les taux varient en fonction : de la race et de la variabilité intra-race (**Bonaïti 1985**), du stade de lactation et de l'âge, de la saison et de l'alimentation (**Coulon et al., 1991**). La quantité de matières grasses diminue jusqu'au pic de lactation puis augmente par la suite à raison de 0,05% par mois. Par ailleurs Le taux butyreux est un critère relativement variable d'un jour à l'autre, car il est fortement lié à la traite (son niveau variant de 1 à 10 entre le début et la fin de traite). Cependant, il est, parmi les solides du lait, l'élément qui est le plus fortement et le plus rapidement modifiable par l'alimentation (**Hoden & Maîtrise, 1991**).

En raison de la multiplicité de ses constituants, la matière grasse du lait attribue des particularités nutritionnelles (apport énergétique, acides gras essentiel, vitamines, liposolubles) intéressantes aux produits qui en contiennent. De plus elle contribue aux caractéristiques gustatives et aux propriétés rhéologiques des produits laitiers. La composition lipidique moyenne du lait de vache est donnée dans le **tableau07**

Tableau06 : composition lipidique moyenne du lait de vache (**après Christie, 1995**)

| Classes de lipides | Pourcentage des lipides totaux |
|------------------------|--------------------------------|
| Triacylglycérols | 97,5 |
| Diacylglycérols | 0,36 |
| Monoacylglycérols | 0,027 |
| Acides gras libres | 0,027 |
| Cholestérol | 0,31 |
| Hydrocarbures | Traces |
| Caroténoïdes | 0,008 |
| Phospholipides | 0,6 |
| Vitamines liposolubles | 0,01 |

3.2.2.1. Triacylglycérols

Selon (**Matsson, 1962**) les matières grasses du lait sont à 98% constituées de triglycérides (esters d'acides gras et de glycérol) (**figure04**) et le poids moléculaire d'un triglycéride égal à 4 g près à la somme des poids moléculaires des 3 esters méthyliques correspondants. Par

Chapitre I : rappel bibliographique

ailleurs, ils sont en grande partie responsables des propriétés physiques et rhéologiques de la matière grasse laitière. Ils ont moins d'affinité pour l'eau et se situent au cœur des globules gras. Cependant La composition en acides gras des triglycérides du lait est déterminée en 2 étapes, par chromatographie en phase gazeuse des esters méthyliques et butyliques, préparés par transestérification de l'huile de beurre (Clement *et bezard*, 1961).

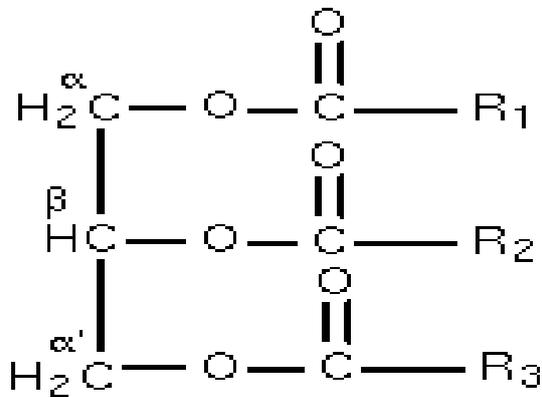


Figure04 : structure générale des triglycérides (Clement *et Bezard*, 1961)

3.2.2.2 Phospholipides

Les phospholipides incarnent environ 0,6% (p/p) des lipides totaux ; la phosphatidylcholine (36% p/p), Les phospholipides représentent moins de 1% de la matière grasse, sont plutôt riches en acides gras insaturés. Le lait de vache est pauvre en acides gras essentiels (acide linoléique C18 :2 et acide linoléique C18 :3) par rapport au lait de ferme (1.6% contre 8.5% en moyenne) (Jeant *et coll* 2008)

Tableau07 : Teneurs totales en phospholipides du lait de vache et de produits laitiers (g/litre)

| Produits laitiers | Phospholipides |
|-------------------|----------------|
| Lait entier | 0,30-0,50 |
| Lait écrémé | 0,14-0,23 |
| Petit lait | 1,03-1,91 |
| Crème | 1,00-5,00 |
| Beurre | 1,00-2,50 |
| Fromage | 1,00-2,00 |

Source Renner. 1983.

Chapitre I : rappel bibliographique

3.2.3. Origine des gras du lait

Un millilitre de lait contient cinq à dix milliards de globules gras. Chacun d'eux est entouré d'une membrane composée pour l'essentiel de phospholipides, de cholestérol et de protéines. L'intérieur de chaque globule se compose de matière grasse, dont 98% sous forme de triglycérides, et pour le reste de phospholipides, de diacylglycérol et d'acides gras libres, et notamment de traces de substances aromatiques et de vitamines liposolubles.

Selon (FAO, 1998) l'acide gras du lait a deux origines :

- Les acides gras dont la chaîne carbonée est comprise entre 4 à 12 atomes de carbone sont synthétisés par la mamelle à partir de précurseurs sanguins : l'acétate et le butyrate d'origine ruminale. Ces acides gras sont quantitativement plus importants dans le lait des ruminants que chez les monogastriques.
- Les acides gras dont la chaîne carbonée contient 18 et plus atomes de carbone sont directement prélevés dans le plasma sanguin. Ils proviennent de l'alimentation, des réserves adipeuses ou d'une synthèse dans d'autres tissus que la mamelle.

Tableau 08 : Composition du lait en acides gras (Gerard, 2001).

| Acide gras..... | Fraction (%) |
|--|--------------|
| Acide myristique C14..... | 11 |
| Acide palmitique C16..... | 26 |
| Acide stéarique C18..... | 10 |
| Acide oléique C18 :1..... | 20 |
| Acide gras à courtes chaînes | |
| (Butyrique C4, caproïque C6, caprylique C8, caprique C10)..... | 11 |
| Autres | 22 |

Le taux butyreux est fortement lié à la traite (son niveau variant de 1 à 10 entre le début et la fin de traite). Cependant, il est, parmi les solides du lait, l'élément qui est le plus fortement et le plus rapidement modifiable par l'alimentation (Hoden & Maîtrise, 1991). En effet, il est connu depuis longtemps (années 40), que des rations riches en aliments concentrés ou en lipides insaturés apportés par les aliments concentrés ou le fourrage (herbe verte), ou des rations contenant des aliments dont les particules sont de petite taille peuvent causer des chutes importantes du taux butyreux (- 10 g/kg voire - 30 g/kg). Ces baisses appelées «low-fat milk syndrome»(Production, 2007)

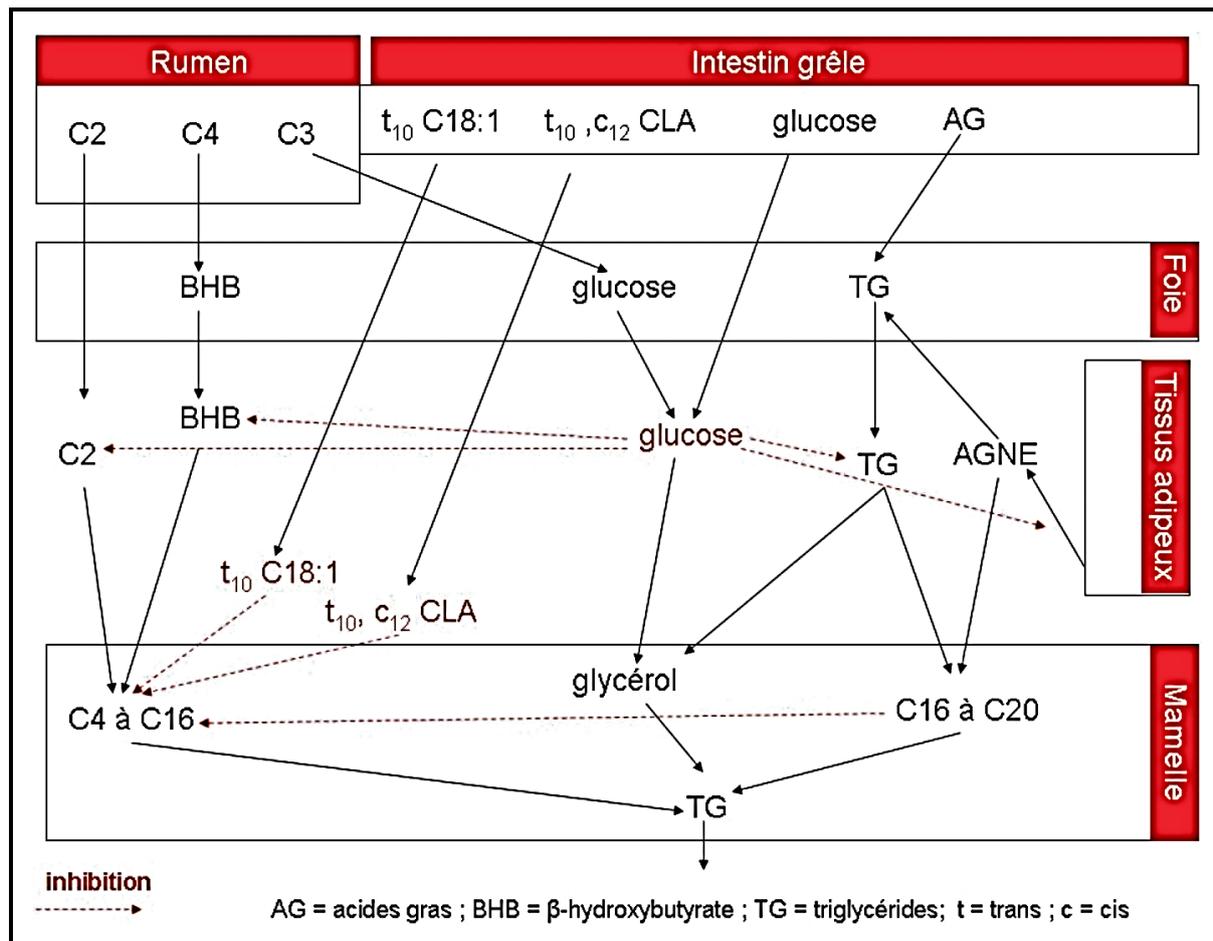


Figure05: Rôles schématiques des nutriments intervenants dans la synthèse des matières grasses du lait (Ketrouci , 2021)

3.2.4. Les glucides

Le lait en contient 4,8 g/100 ml, essentiellement sous forme de lactose (hydrolysé dans l'intestin en glucose et galactose (Public, n.d.)). L'hydrate de carbone principal du lait est le lactose qu'est synthétisé dans le pis à partir du glucose et du galactose. Malgré que le lactose soit un sucre, il n'a pas une saveur douce (Brule ,1987).

Son pouvoir sucrant est faible, environ six fois moindre que celui du saccharose. Par ailleurs l'ingestion du lactose favorise le développement de bactéries lactiques acidifiantes dans l'intestin. Ces bactéries exercent un effet inhibiteur sur autres germes pathogènes (Naudts *et Mottar*, 1984 in Kerrada *et al.*, 2002). En effet, chez les personnes intolérantes au lactose, la production d'enzyme lactase disparaît et le lactose reste dans le tube digestif entraînant des troubles lors de la consommation du lait (Vilain, 2010). En plus de son rôle nutritionnel, le lactose joue un rôle technologique dans les produits laitiers en tant que substrat de fermentation pour les bactéries lactiques qui l'hydrolysent en glucose et galactose, puis transforment ces hexoses en acide lactique (Vilain, 2010).

Chapitre I : rappel bibliographique

3.2.5. Les protéines

Les protéines constituent une part importante du lait et des produits laitiers (3 à 4%) (**Ketrouci, 2020**). En plus il y a de fortes homologues de structure entre les protéines de lait des différentes espèces : 85 % entre lait de vache et lait de brebis ou le lait de chèvre, 97 % entre le lait de brebis et le lait de chèvre. Les caséines représentent 82 % des protéines du lait de vache ; les 18 % restants sont constitués par la β -lactoglobuline, l' α -lactalbumine, la sérulalbumine et par un grand nombre de protéines diverses (enzymes, immunoglobulines, lactoferrine bovine...)(**Vilain, 2010**). Quant aux caséines, il existe 4 types de caséines qui peuvent se regrouper sous forme de micelles

- **Les caséines $\alpha 1$** (protéines les plus abondantes dans le lait 40% des protéines) ;
- **Les caséines $\alpha 2$** ;
- **Les caséines β** ;
- **Les caséines γ** .

De nombreuses études ont confirmé la variation du taux protéique du lait, ses variations naturelles ont plusieurs causes. Parmi les facteurs de variation non alimentaires, l'aspect génétique est très important et la saison aussi. Le TP varie entre animaux de différentes races mais aussi entre ceux d'une même race

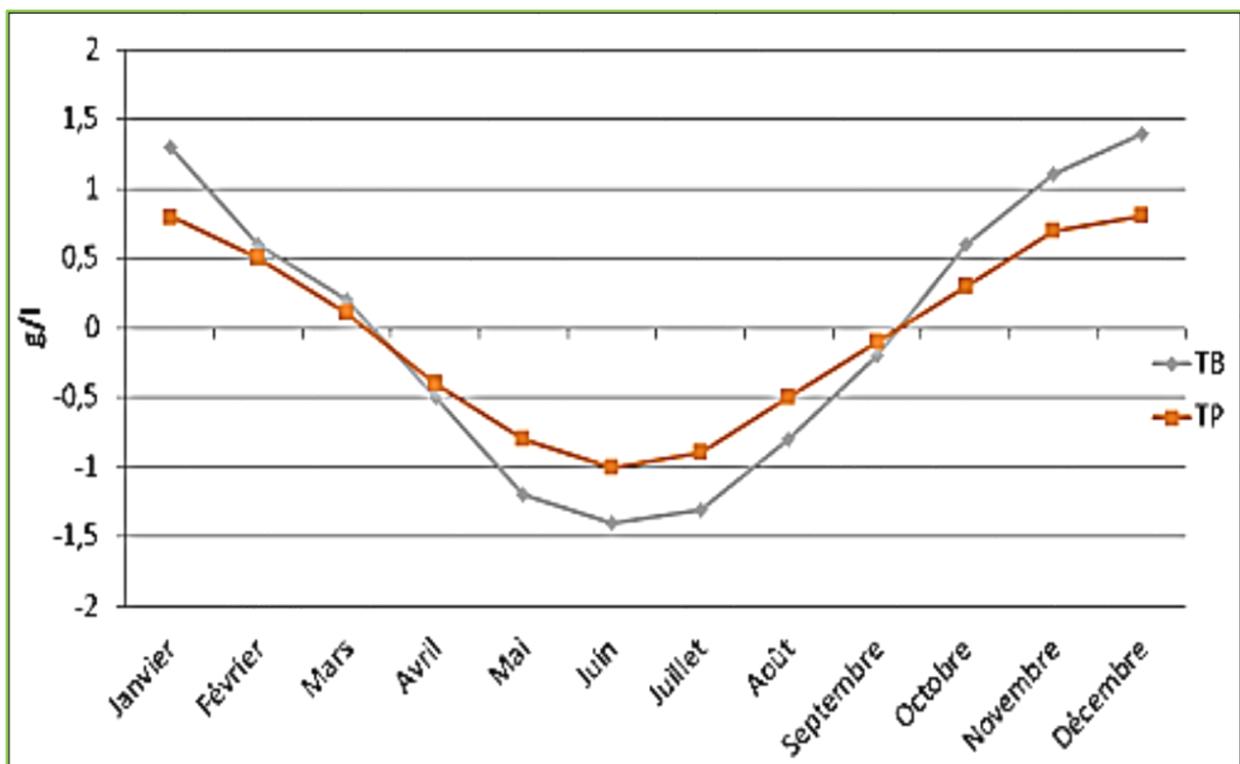


Figure 06: Evolution du taux protéique en fonction des saisons (**Feedia, 2007.**)

Les protéines représentent 95 pour cent environ des matières azotées et sont constituées soit

Chapitre I : rappel bibliographique

d'acides aminés seulement (β -lactoglobuline, alfa lactalbumine), soit d'acides aminés et d'acide phosphorique (caséines α et β -) avec parfois encore une partie glucidique (caséine K).

Tableau 09 : Composition moyenne et distribution des protéines du lait de vache (**Feedia, 2007.**)

| Protéines | Moyennes absolues (g/litre) | Moyennes relatives (%) |
|---|-----------------------------|------------------------|
| Protides totaux ou matières azotées totales | 34 | 100 |
| Protéines | 32 | 94 |
| Protéines non solubles ou caséine entière | 26 | 82 |
| Caséine α | 12,0 | 46 |
| Caséine β | 9.0 | 35 |
| Caséine k | 3 5 | 13 |
| Caséine γ | 15 | 6 |
| Protéines solubles | 6 | 18 |
| α -lactoglobuline | 2,7 | 45 |
| β -lactalbumine | 1 5 | 25 |
| Sérum-albumine | 0,3 | 5 |
| Globulines immunes | 0,7 | 12 |
| Protéases peptones | 0,8 | 13 |
| Substances azotées non protéiques | 2 | 6 |

Source : Renner. 1983.

En plus des facteurs cités ci-dessus le stade de lactation aussi a été démontré, de nombreuses études rapportent une diminution du taux protéique au cours des premiers jours de lactation avec une concentration minimale au moment du pic de production puis une augmentation constante jusqu'au moment du tarissement (**Lanet ,2005**).

3.2.6. Les minéraux

Le lait contient des quantités importantes de différents minéraux. Les principaux sont : calcium,

Chapitre I : rappel bibliographique

magnésium, sodium et potassium pour les cations et phosphate (Gaucheron, 2004).

On peut les classer en deux catégories :

- Macro-éléments : le potassium et du sodium dans la phase liquide, alors que le calcium et le magnésium sont essentiellement en combinaison avec les protéines (Mouillet *et al.*, 1975).

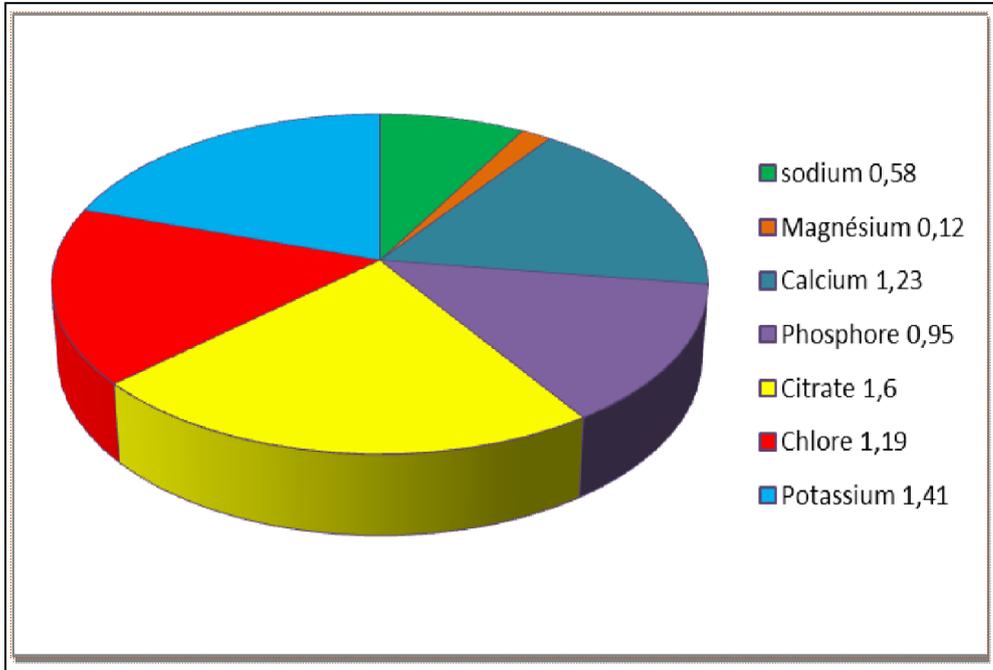


Figure07 : Composition minérale du lait de vache en g/L (Romain *et al.*, 2008).

Les oligo-éléments présentent, à doses trop élevées (pollution, par exemple), un caractère toxique pour la santé et/ou nuisible en technologie laitière. D'une manière générale, le lait constitue pour l'homme une mauvaise source d'oligoéléments (Hassaine, 2013). Les oligo-éléments tels que le fer, le cuivre et le zinc sont adsorbés à la surface des globules gras (Mouillet *et al.*, 1975).

Tableau 10 : Teneurs en oligo-éléments du lait de vache ($\mu\text{g/litre}$) (Romain *et al.*, 2008).

| Oligo-éléments | Teneurs |
|----------------|-----------|
| Aluminium | 600-1 000 |
| Arsenic | <50 |
| Bore | 150-300 |
| Brome | 150 |
| Cadmium | <1 |

Chapitre I : rappel bibliographique

| | |
|-----------|-------------|
| Chrome | 1 5-30 |
| Cobalt | 0,5 |
| Cuivre | 20-40 |
| Etain | 100-1 000 |
| Fer | 200-500 |
| Fluor | 70-200 |
| Iode | 10-300 |
| Manganèse | 10-30 |
| Mercure | <1 |
| Molybdène | 70 |
| Plomb | 2- 10 |
| Sélénium | 1 0-30 |
| Silicium | 1 000-6 000 |
| Strontium | 350 |
| Zinc | 3 000-6 000 |

Source : Renner, 1983 et 1989.

3.2.7. Les vitamines

Toutes les vitamines connues sont présentes dans le lait de vache (tableau12). Les diverses techniques de traitement du lait peuvent en modifier sensiblement les taux, surtout pour la vitamine C (**Gregory, 1975**).

Vitamines hydrosolubles. Ces vitamines se trouvent dans le colostrum à des taux transitoirement (environ 14 jours) deux fois plus élevés que dans le lait mature avant d'atteindre des taux stables (**Amiot *et al.*, 2002**).

Vitamines liposolubles. Les taux de vitamines A, D, E et K du lait dépendent de nombreux facteurs. Comme ces vitamines sont dissoutes dans la matière grasse, elles passent lors de l'écémage dans la crème et le beurre (**Amiot *et al.*, 2002**).

Chapitre I : rappel bibliographique

Tableau11 : Concentrations en vitamines du lait de vache (mg/litre) (Amiot et al., 2002).

| Vitamines | Moyennes |
|--------------------------------|----------|
| Vitamines hydrosolubles | |
| B. (thiamine) | 0,42 |
| B2 (riboflavine) | 1,72 |
| B6 (pyridoxine) | 0,48 |
| B12 (cobalamine) | 0,0045 |
| Acide nicotinique | 0,92 |
| Acide folique | 0,053 |
| Acide pantothénique | 3,6 |
| Inositol | 1 60 |
| Biotine | 0,036 |
| Choline | 1 70 |
| C (acide ascorbique) | 8 |
| Vitamines liposolubles | |
| A | 0,37 |
| β-carotène | 0,21 |
| D (cholécalférol) | 0,0008 |
| E (tocophérol) | 1, 1 |
| K | 0,03 |

Source : Renner, 1983 et 1989

3.2.8. Les enzymes

On en dénombre plus de 60 qui ont pu être isolées ou dont l'activité a été déterminée. La moitié d'entre elles sont des hydrolases. Les enzymes du lait proviennent d'organes, du sang et surtout des cellules sécrétrices de la glande mammaire où elles sont, en partie, liées à des membranes (Vignola, 2002).

Ces auteurs décrivent l'isolement, la caractérisation et le rôle des 10 enzymes les plus

Chapitre I : rappel bibliographique

importantes, soit la catalase, la protéinase, le lysozyme, la xanthine-oxydase, la sulfhydryloxydase, la peroxyde-dismutase, la lactoperoxydase, les phosphomonoestérases (phosphatases) alcaline et acide ainsi que les lipases et les estérases. L'importance technologique des enzymes du lait peut être envisagée sous différents angles (**Fox et Morrissey, 1981**) : soit du point de vue :

- Des changements positifs ou négatifs de la qualité du lait des traitements thermiques du lait ;
- Des mammites
- De l'activité microbienne ;
- Comme source commerciale d'enzymes, la ribonucléase étant au premier plan.

3.2.9. Hormones

Outre les hormones stéroïdes et les prostaglandines, le lait contient des protéohormones et des hormones peptidiques, détectables dans le domaine du ng/ml au moyen de micro-méthodes. La prolactine, qui est active pendant la lactogénèse et la lactation, est l'hormone du lait qui suscite le plus d'intérêt. (**Adrian et al., 2004; Ghaoues, 2011**).

3.3. Les différentes phases de l'évolution naturelle du lait

Le lait est un mélange hétérogène ; si on le laisse un certain temps à température ambiante (**figure 08**), le lait évolue : Ceci permet de mettre en évidence différentes phases de son évolution (**Pougheon, 1974**).

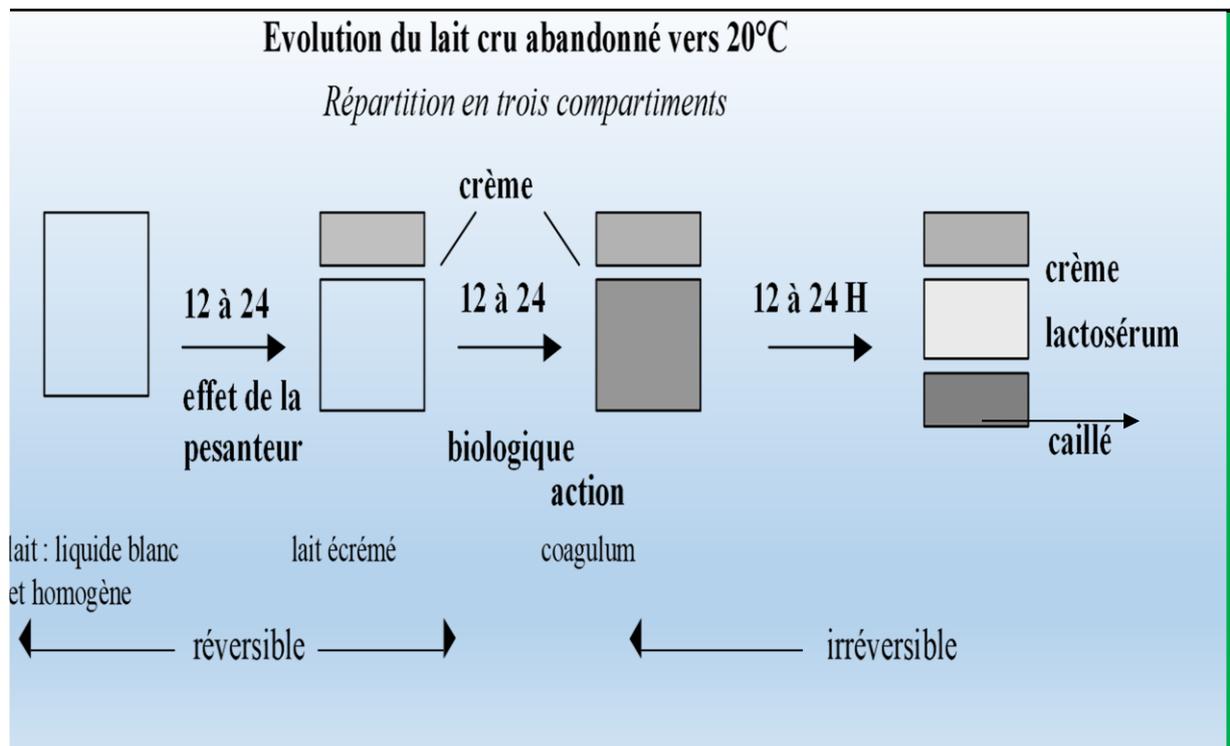


Figure08 : Evolution du lait écrémé vers 20°C selon (**Alais, 2003**).

Chapitre I : rappel bibliographique

Le lait est donc un milieu hétérogène dans lequel trois phases distinctes coexistent :

- la phase aqueuse qui contient l'eau (87% du lait) et les produits solubles pouvant donner naissance au lactosérum (lactose, sels, protéines solubles, composés azotés non protéiques, biocatalyseurs tels que vitamines hydrosolubles ou enzymes) ;
- la suspension colloïdale micellaire (2,6%) qui peut donner naissance au caillé obtenu par la coagulation des caséines suite à l'action de micro-organismes ou d'enzymes ;
- l'émulsion (4,2%) qui peut donner naissance à la crème, une couche de globules gras rassemblés à la surface du lait par effet de gravité.

Il apparaît donc que l'eau est l'élément le plus important ; elle joue le rôle de dispersant des différents constituants du lait qui forment en son sein des secteurs différents par leur composition et leur dimension. On doit aussi y ajouter la suspension microbienne et cellulaire, puisque dans les conditions techniques réglementairement reconnues de production du lait à la ferme, la présence de ces micro-organismes typiques et de cellules somatiques est probable(**Pougheon,1974**).

Chapitre I : rappel bibliographique

3.4. Les propriétés du lait

3.4.1. Propriétés organoleptiques du lait de vache

Le lait est caractérisé par différents caractères parmi eux la couleur, l'odeur, la saveur et la viscosité (**tableau12**).

Tableau12 : Différents caractères physiques du lait de vache (**Benhamed, 2014**).

| | Caractère normal | Caractère anormal |
|--------------------|--|---|
| Couleur | Blanc mat Blanc jaunâtre Lait riche en crème | Gris jaunâtre : lait de mammite, bleu, jaune Lait coloré par substances chimiques ou des pigments bactériens |
| Odeur | Odeur faible | Odeur de putréfaction de moisi de rance |
| Saveur | Saveur agréable | Saveur salée : lait de mammite goût amer et lait très polluée par des bactéries |
| Consistance | Homogène | Grumeleuse : mammite visqueuse ou coagulée pollution bactérienne |

3.4.1.1. Couleur

Le lait est de couleur blanc mat, qui est due en grande partie à la matière grasse, aux pigments de carotène (la vache transforme le B-carotène en vitamine A qui passe directement dans le lait (**Fredot, 2005**)). Les globules de matière grasse et les protéines sous forme de micelles de caséines forment les agrégats qui dispersent les rayons lumineux sans les absorber et le rayonnement qu'ils renvoient, est la couleur blanche du lait (**Reumont 2009**).

3.4.1.2. Odeur

L'odeur est caractéristique du lait du fait de la matière grasse qui fixe des odeurs animales, Elles sont liées à l'ambiance de la traite, à l'alimentation et à la conservation (l'acidification du lait à l'aide de l'acide lactique lui donne une odeur aigrelette) (**Vierling, 2003**).

Tableau 13 : Les principales molécules volatiles qui donnent l'arôme du lait et les attributs odeurs (**Chouinard et Gervais, 2007**)

| COMPOSÉ | Formules | ATTRIBUT – ODEUR |
|-----------------------|---|------------------|
| δ -Decalactone |  | Fruit |
| 2-Butanone |  | Vernis |
| Acétone |  | Aliments, vache |
| Sulfure de diméthyle |  | Mauvaises herbes |

Chapitre I : rappel bibliographique

| | | |
|----------------------|---|--------------------------|
| Sulfone de diméthyle |  | Lait chaud ; brûlé |
| Acide butyrique | | Vomissure ; fromage féta |
| Acide caproïque | | Graisse ; cire |

3.4.1.3. Saveur

La saveur caractéristique du lait provient du mélange de plusieurs molécules volatiles, certaines proviennent des ingrédients de la ration, alors que d'autres sont synthétisées par les microorganismes du rumen ou dans les tissus de l'animal. Ainsi Le lait des vaches au pâturage contient des teneurs plus élevées en pentanal, un composé présentant un arôme herbacé, ce pentanal provient de la dégradation des lipides alimentaires (**Martin, 2000**).

3.4.1.4. La viscosité

La viscosité du lait est une propriété complexe qui est particulièrement affectée par les particules colloïdes émulsifiées et dissoutes. La teneur en graisse et en caséine possède l'influence la plus importante sur la viscosité du lait. La viscosité dépend également de paramètres technologiques (**Rheotest, 2010**). Elle est fonction de l'espèce, on distingue : Un lait visqueux chez les monogastriques (jument, ânesse, carnivores et femme). Un lait moins visqueux chez les herbivores (lait de brebis plus visqueux que celui de la vache). Le lait est dit caséineux (**Alais, 1984, Seydi, 2004**).

3.4.2. Propriétés physico-chimiques du lait

Les propriétés physicochimiques du lait et de ses dérivés, les principales propriétés physicochimiques du lait sont indiquées dans le tableau ci-dessous.

Tableau14 : Principales propriétés physicochimiques du lait (adapté d'après (**Walstra et Jenness, 1984 ; Fox et McSweeney, 1998**)).

| | |
|--|---|
| Masse volumique (à 20°C) | ~1030 kg.m ⁻³ |
| Pression osmotique | ~700.10 ³ Pa |
| Point d'ébullition | ~ 100,15°C |
| Point de congélation | ~ -0,53°C |
| PH (à 20°C) | 6,6-6,8 |
| Acidité titrable | 15-17°D |
| Force ionique | ~0,08 M |
| Activité de l'eau | ~0,993 |
| Potentiel oxydoréduction (20°C, pH 6,6 et en équilibre avec l'air) | + 0,25 à + 0,35 V |
| Viscosité (lait non homogénéisé) | ~2,2.10 ⁻³ Pa.s |
| Conductivité spécifique | ~0,0050 ohm ⁻¹ . Cm. ⁻¹ |
| Chaleur spécifique | ~3900 J.kg ⁻¹ . K ⁻¹ |

Chapitre I : rappel bibliographique

3.4.2.1. La conductibilité électrique

La conductibilité électrique du lait est influencée par la phase ionique du lait, en particulier par la concentration en chlorure de sodium (**Niemczycki et Galecki 2003**) ; de la même façon que, cependant avec un effet différent, les autres phases du lait (suspensoides, colloïdes et solutions moléculaires) jouent aussi leur rôle dans le déterminisme de la conductibilité électrique (**Iques, n.d.**).

3.4.2.2. Masse volumique

Selon (**Pointurier, 2003**). La masse volumique d'un liquide est définie par le quotient de la masse d'une certaine quantité de ce liquide divisée par son volume. Elle est habituellement notée ρ et s'exprime en Kg.m^{-3} dans le système métrique. La masse volumique du lait à 20 °C est d'environ 1030 Kg.m^{-3} . Sa variation est liée à la composition du lait notamment sa teneur à matière grasse. Par ailleurs la masse volumique du lait varie en fonction de la température et du cycle thermique appliqué (**Thomas Croguennec et al 2008**). La masse volumique du lait (ρ_L , kg.m^{-3}) s'exprime par le rapport de sa masse (m_L , kg) sur son volume (V_L, m^3) (**Ueb-Agroal-, n.d.**) :

$$\rho_L = \frac{m_L}{V_L}$$

3.4.2.3. Viscosité

La viscosité du lait est une propriété complexe qui est particulièrement affectée par les particules colloïdes émulsifiées et dissoutes. La teneur en graisse et en caséine possède l'influence la plus importante sur la viscosité du lait (**Rheotest, 2010**). Le lait étant un système colloïdal, les micelles entrent en jeu pour produire, à côté de la viscosité de la solution vraie, une viscosité de structure. Donc dans le lait, des modifications de l'équilibre physique entraînent des variations de la viscosité totale (**Alais, 1984, Seydi, 2004**).

3.4.2.4. Point d'ébullition

D'après (**Amiote., 2002**), on définit le point d'ébullition comme la température atteinte lorsque la pression de vapeur de la substance ou de la solution est égale à la pression appliquée. Ainsi comme pour le point de congélation, le point d'ébullition subit l'influence de la présence des solides solubilisés. Il est légèrement supérieur au point d'ébullition de l'eau, soit 100.5°C.

3.4.2.5. Point de congélation

Le point de congélation du lait de vache est environ égal à -0,53 °C. il résulte principalement de l'effet dépresseur du lactose et des ions monovalents (Cl^- , Na^+ , K^+) qui contribuent pour environ 75 à 80% à l'abaissement cryoscopique total. Il est utilisé pour déterminer une modification du lait (mouillage, hydrolyse du lactose, etc.) (**Mathieu,1999**).

Chapitre I : rappel bibliographique

Les variations saisonnières du point de congélation, les valeurs les plus faibles sont obtenues en période de forte production (- 0,525' C en moyenne en avril), et les plus élevés en période de faible production (- 0,5 18' C en moyenne en août)(**Parguel et al., 1994**).

3.4.2.6. pH

Un lait frais est légèrement acide, son pH est compris entre 6,6 et 6,8. Cependant, le lactose subit naturellement une dégradation biochimique progressive sous l'effet des bactéries, et il se transforme en acide lactique. En conséquence, plus le pH du lait est faible et moins il est frais (**Amiot et al, 2002**)

Tableau 15 : évolution du PH et Acidité au cours du cycle de la lactation (**Jacques Mathieu, 1997**).

| | Début de la lactation | fine de la lactation |
|---------|-----------------------|----------------------|
| Acidité | 19 °D – 20 °D | 15 °D |
| pH | 6,5 – 6,6 | 6,5 |

3.4.2.7. Acidité du lait

Un lait est caractérisé par son degré Dornic : 1 °D, correspond à 0,10 g d'acide lactique par litre de lait (même si l'acide lactique n'est pas le seul acide présent). Pour être considéré consommable sans risque par la santé, un lait doit avoir un degré Dornic inférieur ou égal à 18°D

Dans le lait, il y'a la notion d'acidité naturelle et d'acidité développée :

- Acidité naturelle : qui est caractérisée par la présence des substances acides, la plus abondante est le lactose donnant à lait une acidité avoisinant 16 °D.

-Acidité dite développée : est due à l'apparition des divers acides organique dont le plus abondant est l'acide lactique qui provient de la dégradation du lactose par des microorganismes (**Mathieu, 1997**).

3.4.3. Propriétés microbiologiques du lait

Le lait est un aliment dont la durée de vie est très limitée. En effet, son pH voisin de la neutralité, le rend très facilement altérable par les microorganismes et les enzymes, sa richesse et sa fragilité font du lait un véhicule potentiel des pathogènes et un milieu favorable pour leur multiplication et la genèse des toxines (**Arebe et al., 2001**).

3.4.3.1. Flore originelle

Le lait contient peu de microorganismes lorsqu'il est prélevé dans de bonnes conditions à partir d'un animal sain (moins de 10³germes/ml) (**CUQ, 2007**). La flore originelle des produits laitiers se définit comme l'ensemble des microorganismes retrouvés dans le lait à la sortie du pis, les genres dominants sont essentiellement des mésophiles (**Vignola, 2002**). Il s'agit de

Chapitre I : rappel bibliographique

microcoques, mais aussi *Streptocoques lactiques* et *Lactobacilles*. Ces microorganismes, plus ou moins abondants, sont en relation étroite avec l'alimentation (Guiraud, 2003) et n'ont aucun effet significatif sur la qualité du lait et sur sa production (Varnam et Sutherland, 2001).

3.4.3.1.1. Flore de contamination

Cette flore est l'ensemble des microorganismes contaminant le lait, de la récolte jusqu'à la consommation. Elle peut se composer d'une flore d'altération, qui causera des défauts sensoriels ou qui réduira la durée de conservation des produits, et d'une flore pathogène dangereuse du point de vue sanitaire (Vignola, 2002).

3.4.3.1.2. Sources de contamination

Les principaux genres identifiés comme flore d'altération ; les coliformes, et certains levures et moisissures (Essalhi, 2002).

a) Les coliformes

On appelle « coliformes » les entérobactéries fermentant le lactose avec production de gaz à 30°C. Cependant, lorsqu'ils sont en nombre très élevé, les coliformes peuvent provoquer des intoxications alimentaires. Le dénombrement des coliformes a longtemps été considéré comme un indice de contamination fécale. Comme les entérobactéries totales, ils constituent un bon indicateur de qualité hygiénique (Guiraud, 2003).

b) Les levures

Elles se manifestent rarement dans le lait. Peu d'entre elles sont capables de fermenter le lactose. Les genres *Torulopsis*, productrices de gaz à partir du lactose, supportent des pressions osmotiques élevées et sont capable de faire gonfler des boîtes de lait concentré sucré (FAO, 2007).

c) Les moisissures

Ce sont des eucaryotes hétérotrophes, ils sont obligés de prélever le carbone et l'azote nutritifs de la matière grasse, le sucre et les protéines. D'une façon générale, les aliments sont des substrats très favorables à leur développement, ces germes peuvent y causer des dégradations par défaut d'apparence, mauvais goût, ou plus gravement production de mycotoxines (Cahagnier, 1998).

3.4.3.2. La flore pathogène

La contamination du lait et des produits laitiers par les germes pathogènes peut être d'origine endogène, qui est peut-être due à une excrétion mammaire de l'animal malade ; ou d'origine exogène, il s'agit alors d'un contact direct avec des troupeaux infectés ou d'un apport de l'environnement (eaux) ou bien liées à l'Homme (Brisabois et al., 1997).

3.4.3.2.1. Bactéries infectieuses

Les principaux micro-organismes infectieux sont :

Chapitre I : rappel bibliographique

- *Salmonella sp*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Clostridium perfringens* et *Campylobacter sp* (Vignola, 2002).

- Les principales bactéries toxigènes sont *Staphylococcus sp.* et *Clostridium botulinum* (Vignola, 2002).

a. Salmonelles

Ces entérobactéries lactose sont essentiellement présentes dans l'intestin de l'Homme et des animaux. Ce sont des bactéries aéro-anaérobies facultatives, leur survie et leur multiplication est possible dans un milieu privé d'oxygène. Elles se développent dans une gamme de température variant entre 4°C et 47°C, avec un optimum situé entre 35 et 40°C. Elles sont capables de se multiplier dans une gamme de pH de 5 à 9, mais sont sensibles à la fermentation lactique (Jay, 2000 et Guy, 2006).

b. Listeria

Les bactéries du genre *Listeria* se présentent sous la forme de petits bacilles de forme régulière arrondis aux extrémités et ne formant ni capsule ni spore. Elles sont à Gram positif, leur croissance est possible entre 0 °C et 45 °C (température optimale : 30°C- 37°C), pour des pH compris entre 4,5 et 9,6. Elles sont mobiles grâce à des flagelles péritriche (Lovett, 1989).

c. Staphylocoques

Le genre *Staphylococcus* appartient à la famille des *Staphylococaccae*. Ce sont des coques à Gram positif de 0,5 à 2,5 µm de diamètre, non sporulés et immobiles (Leyral et Vierling, 2007). Ils se trouvent assez fréquemment dans le lait et parfois, en nombre important. L'origine de la contamination est l'infection mammaire et peut être plus fréquemment, l'Homme. Par ailleurs Les staphylocoques ont la particularité de pousser sur les milieux hypersalés et l'espèce *Staphylococcus aureus* est capable de fermenter le mannitol (Abdelkrim et al., 2008).

d. Les clostridiums sulfito-réducteurs

Ce sont des bâtonnets sporulés, mobiles, Gram+ anaérobies stricts, présentent généralement dans le sol et l'eau, mais aussi dans le tube digestif humain et animal, le pouvoir pathogène est dû à la synthèse des toxines (Lamontagne et al., 1996).

3.4.4. Composants chimiques indésirables du lait

Le lait peut contenir des substances ingérées ou inhalées par l'animal, sous la forme soit du constituant original, soit de composés métabolisés. Les substances étrangères peuvent provenir des aliments (engrais et produits phytosanitaires), de l'environnement prescrits à l'animal (produits pharmaceutiques, antibiotiques, hormones) (Mathieu et al., 1977).

3.4.4.1. Antibiotiques

Les résidus d'antibiotiques, surtout si ces substances sont appliquées localement pour le traitement des mammites leurs présences dans le lait engendrent un double inconvénient. Ainsi,

Chapitre I : rappel bibliographique

pour le consommateur, elles peuvent être responsables de phénomènes d'allergie et sont cancérigènes chez les sujets sensibles, comme elles peuvent contribuer à l'installation d'une flore endogène antibiorésistante (**Michell, 2005**).

3.4.4.2. Pesticides

Les résidus de pesticides sont des substances liposolubles, qui s'accumulent dans les graisses de réserve. Lors de la fonte des graisses, les substances emmagasinées sont brusquement remises en circulation qui va ensuite contribuer à la formation de la matière grasse laitière (**Beroza et Bowman, 1996**).

3.4.4.3. Métaux

Parmi les métaux susceptibles de contaminer le lait à des taux inquiétants pour la santé : le sélénium, l'arsenic, le plomb et le mercure (**Vanier, 2005**)

3.4.5. La flore lactique

3.4.5.1. Définition.

Les bactéries lactiques sont des microorganismes utiles à l'homme lui permettant de fabriquer et de conserver un nombre important de ses aliments. Elles sont surtout connues pour le rôle qu'elles jouent dans la préparation des laitages fermentés, elles sont utilisées également dans le saumurage des légumes, la boulangerie, la fabrication du vin, le saurissage des poissons, des viandes et des salaisons (EUFIC1999). Elles sont devenues les principaux candidats probiotiques et bénéficient d'un statut GRAS (Generally Regarded AS Safe) (**Ait Belghanaoui, 2006**).

3.4.5.2. Principales caractéristiques

A quelques exceptions près, les bactéries lactiques sont à Gram positif et ont moins de 55 mol% de contenu G+C dans leur ADN (à l'exception des bifidobactéries). Elles sont asporulées, immobiles, anaérobies mais aérotoles, ne possèdent ni nitrate-réductase, ni cytochrome oxydase ; elles sont aussi catalase négative (certaines souches possèdent une pseudocatalase). Elles ont des exigences nutritionnelles complexes en ce qui concerne les acides aminés, les peptides, les vitamines, les sels, les acides gras et les glucides fermentés. Les bactéries lactiques sont des microorganismes utiles à l'homme lui permettant de fabriquer et de conserver un nombre important de ses aliments. Elles sont surtout connues pour le rôle qu'elles jouent dans la préparation des laitages fermentés, elles sont utilisées également dans le saumurage des légumes, la boulangerie, la fabrication du vin, le saurissage des poissons, des viandes et des salaisons (EUFIC1999). Elles sont devenues les principaux candidats probiotiques et bénéficient d'un statut GRAS (Generally Regarded AS Safe) (**Ait Belghanaoui, 2006**)

Chapitre I : rappel bibliographique

(Holzapfel *et al.*, 2001 ; Gevers 2002)

Toutes les bactéries lactiques ont un métabolisme fermentaire qui repose dans sa grande partie sur l'utilisation des glucides, car en les utilisant elles peuvent produire soit de l'acide lactique exclusivement (bactéries homolactiques strictes), ou de l'acide lactique et de l'acide acétique (bactéries hétérolactiques facultatives) ou encore de l'acide lactique, de l'acide acétique ou de l'éthanol et du CO₂ (bactéries hétérolactiques strictes) (Vandamme *et al.*, 1996).

Certaines espèces ou certaines souches peuvent en outre produire de l'acide formique ou de l'acide succinique (De Roissart *et Luquet*, 1994).

Caractère morphologiques

L'étude de la morphologie bactérienne permet une orientation préliminaire dans l'identification des bactéries auxquelles nous nous intéressons. La détermination de la morphologie comporte deux aspects : macroscopique et microscopique.

- Macroscopique : concerne essentiellement les caractéristiques des colonies après cultures sur milieux solides. Chez les bactéries lactiques, ces colonies sont de formes circulaires, à contour régulier, à surface lisse, de couleur blanche avec un aspect laiteux. Leur diamètre est compris entre 0,5 et 1,5 mm.
- Microscopique : l'observation microscopique des bactéries lactiques après coloration simple ou différentielle révèle deux formes majeures: coques (0,5 à 2 µm de diamètre) ou bâtonnets (0,5 à 2µm de diamètre; 1 à plus de 10 µm de long) (Dellaglio *et al.*,1994).

Elles sont toutes à Gram positif et généralement immobiles. Leur mode d'association est très hétérogène (cellules isolées, paires, tétrades, amas irréguliers, longues ou courtes chaînettes) mais spécifique à chaque genre bactérien.

Caractères biochimiques et physiologiques

Les bactéries lactiques sont caractérisées par un ensemble de traits biochimiques et physiologiques communs qui leur sont propres et permettent ainsi de les distinguer des autres groupes bactériens. Toutes les bactéries lactiques ont la capacité de fermenter certains sucres en acide lactique. Certaines sont dites homofermentaires, car elles produisent très majoritairement de l'acide lactique. Les bactéries hétérofermentaires produisent de l'acide lactique en même temps que d'autres composés (généralement l'acétate et l'éthanol).

Les bactéries lactiques sont dépourvues de cytochrome oxydase et généralement de nitrate

Chapitre I : rappel bibliographique

réductase. Ces bactéries ne possèdent pas de voies fonctionnelles pour la synthèse de l'hème (Bolotin *et al.*, 2001; Miyoshi *et al.*, 2003), c'est pour cette raison qu'elles sont habituellement considérées comme déficientes pour l'activité catalase héminique dont le substrat est le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂). Par contre, si de l'hémine est incluse dans le milieu qui est incubé en aérobiose, certaines bactéries lactiques (*Lactobacillus casei*, *Lactobacillus plantarum*, *Leuconostoc mesenteroides* ou *Pediococcus acidilactici*) développent une activité catalase. Par ailleurs, la majorité des bactéries lactiques sont pourvues d'une pseudo catalase à manganèse appelée aussi super oxyde dismutase (SODs) dont les substrats sont les radicaux libres (Desmazeaud, 1983). Cette enzyme est codée par le gène *sodA* (Bolotin *et al.*, 2001; Miyoshi *et al.*, 2003). En outre, les bactéries lactiques ne liquéfient pas la gélatine et ne produisent pas d'indole ni d'hydrogène sulfureux. Elles sont asporulantes, ne se développent pas en présence de 6.5% de NaCl, ou lorsque le pH est supérieur à 9.6 (Dellaglio *et al.*, 1994). Elles sont anaérobies mais souvent micro-aérophiles, et présentent des exigences nutritionnelles complexes en ce qui concerne les acides aminés, les peptides, les sels, les acides gras et les glucides fermentescibles.

Caractères moléculaires

La classification moderne des bactéries lactiques est basée sur l'analyse des protéines et des acides nucléiques. Le ribo typage et l'ARDRA (Amplified Ribosomal DNA Restriction Analysis) (Gurtler *et al.*, 1991) sont des approches moléculaires qui ciblent l'étude de l'opéron ribosomique « *rrn* » dont l'organisation génétique « ARNr 16S - ARNr 23S - ARNr 5S » est similaire celles décrites généralement chez les Eubactéries. Néanmoins, le nombre de copies de l'opéron *rrn* est variable; ainsi, six copies sont identifiées chez l'espèce *Lactococcus lactis* (LeBourgeois *et al.*, 1995). Le gène qui code pour l'ARNr 16S (*rrs*) possède l'ensemble des propriétés requises pour servir d'outil couvrant tous les niveaux taxonomiques, du règne à l'espèce et dans certains cas, à la sous-espèce.

Ce gène *rrs* représente l'outil de choix pour les études phylogénétiques car il est constitué de régions variables qui présentent la particularité d'être composées de domaines conservés flanquant des domaines plus variables entre espèces bactériennes. Au sein d'une même espèce, les régions variables de l'ADNr 16S d'une zone codante ont généralement conservées. Ainsi, les régions variables V1 à V3 de l'ARNr 16S sont spécifiques à l'espèce. Un pourcentage d'identité supérieur à 97% entre la séquence d'ARNr 16S étudiée et celles contenues dans les banques de données permet de définir l'espèce bactérienne (Goebel *et Stackebrandt*, 1994).

Ces analyses ont significativement changé la taxonomie de ces bactéries. Selon plusieurs travaux de phylogénie (Stiles *et Holzappel*, 1997; Klein *et al.*, 1998; Axelsson, 1998), les

Chapitre I : rappel bibliographique

bactéries lactiques appartiennent au phylum des *Firmicutes*, classe des *Bacilli*, ordre des *Lactobacillales*.

Dans cet ordre, les gènes orthologues couvrent en moyenne 86% de l'ensemble des génomes bactériens (**Makarova et Koonin, 2007**) ce qui explique d'ailleurs leur évolution. L'ordre de *Lactobacillales* regroupe six familles (*Aerococcaceae*, *Carnobacteriaceae*, *Enterococcaceae*, *Lactobacillaceae*, *Leucocaceae* et *Streptococcaceae*), formées de plusieurs genres dont 15 seulement forment le groupe lactique (*Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Oenococcus*, *Lactobacillus*, *Carnobacterium*, *Weissella*, *Aerococcus*, *Alloicoccus*, *Dolosigranulum*, *Globicatella*, *Tetragenococcus* et *Vagococcus*) (**Holzappel et al., 2001**).

Il faut noter que seulement les neuf premiers genres sont utilisés à grande échelle dans l'industrie alimentaire et sont répertoriés comme microorganismes « GRAS » (Generally Regarded As Safe).

Avec les travaux plus récents (**Ennahar et al., 2003; Makarova et Koonin, 2007**), 15 nouveaux genres sont inclus dans le groupe lactique (*Abiotrophia*, *Dolosicoccus*, *Ermococcus*, *Faklamia*, *ignavigranum*, *Alkalibacterium*, *Allofustis*, *desemzia*, *Granulicatella*, *Isobaculum*, *Marinilactibacillus*, *Trichococcus*, *Atopobacter*, *Paralactobacillus*, *Oscillospira*)

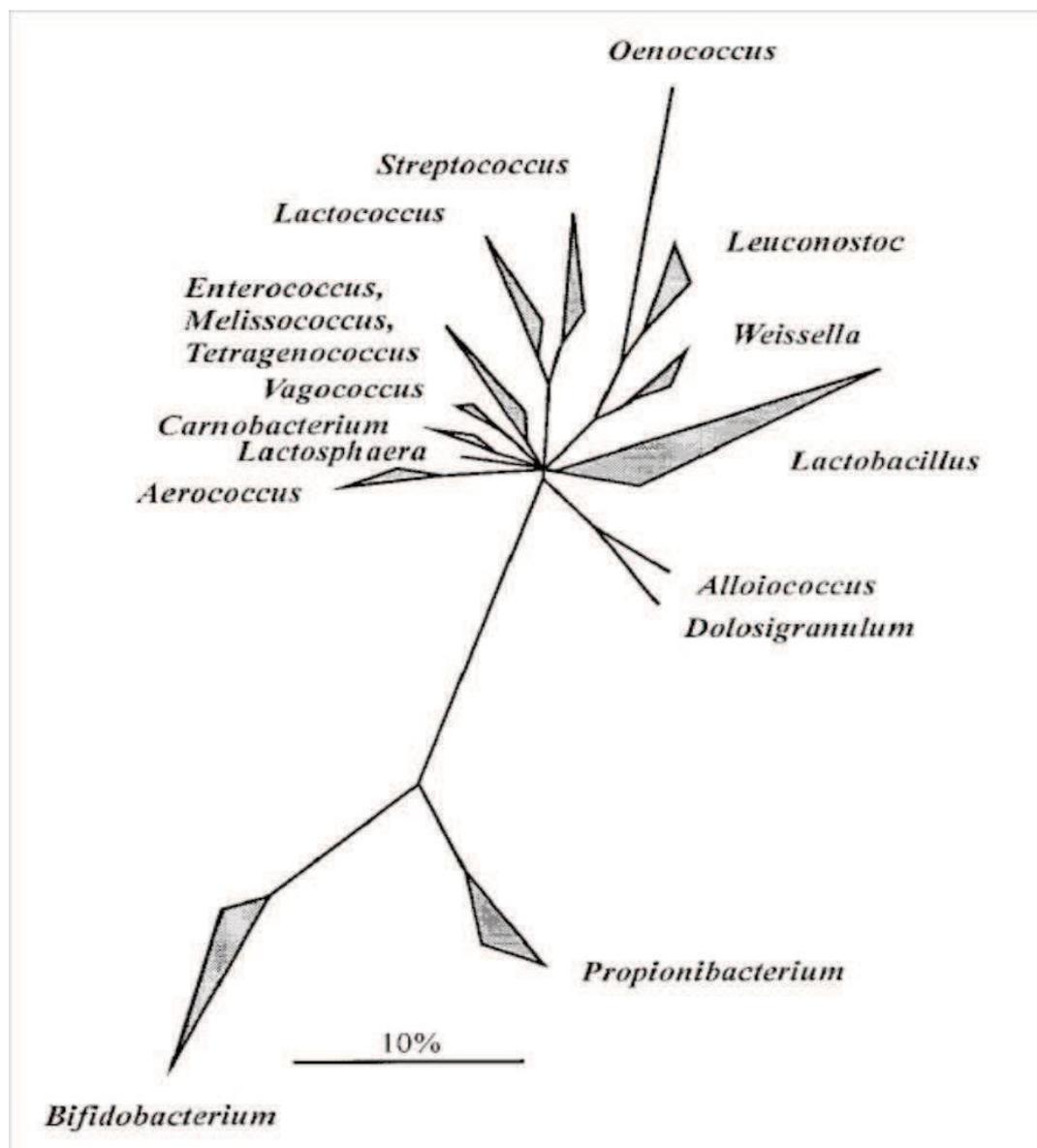


Figure (9) : Arbre phylogénétique consensus, basé sur l'analyse comparative des séquences du gène 16SrRNA, montrant la majorité de groupe phylogénétique des bactéries lactiques à faible pourcentage molaire dans leurs ADN en Guanine et Cytosine (mol% G+C) et les genres Gram positif non reliés *Bifidobacterium* et *Propionibacterium* (Holzapfel et al., 2001)

Parmi ces 15 nouveaux genres, seul *Paralactobacillus* est d'origine alimentaire (Leisner et al., 2000). Le contenu G+C des bactéries lactiques est un caractère moléculaire très étudié qui varie de 30 à 50%. Chez le genre *Lactococcus*, le contenu en G+C est généralement de 35%, alors que chez *Leuconostoc*, il est de 37,7%. Quant au genre *Lactobacillus*, il montre une grande diversité génétique. En effet, le contenu G+C varie de 32% pour *Lactobacillus salivarius* subsp. *salivarius* à 50% pour *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *Bulgaricus*, (Wegmann et al., 2007). Généralement, on considère que deux souches bactériennes appartiennent à des espèces

Chapitre I : rappel bibliographique

différentes si la différence de leur contenu en G+C est supérieure à 5%. Toutefois, deux souches ayant le même G+C n'appartiennent pas forcément à la même espèce, car cette valeur ne prend pas en considération l'arrangement linéaire des nucléotides dans la molécule d'ADN. La disponibilité de génomes complètement séquencés pour l'ensemble des principales familles des *Lactobacillales* a permis la construction d'arbres phylogénétiques dont les degrés de résolution et de robustesse sont élevés. Ainsi, de nouveaux phylogrammes ont été construits à partir de séquences protéiques codées par des gènes ou des groupes de gènes (clusters) orthologues (Makarova *et al.*, 2006). Par exemple, cette approche a été appliquée dans une étude (Makarova et Koonin, 2007) concernant l'évolution génomique des bactéries lactiques. Ces deux auteurs ont analysé les sous-unités α , β , β' , et δ de l'ARN-polymérase ADN-dépendante, ce qui a permis d'établir les relations phylogénétiques entre les différentes espèces et sous-espèces des bactéries lactiques. Les génomes des bactéries lactiques présentent un nombre de gènes qui peut varier de 1600 à 3000 gènes (Makarova et Koonin, 2007). Ceci indique une hétérogénéité élevée dans les taux d'évolution génomique, qui peut être dû à la duplication, l'acquisition ou la perte de gènes, ce qui signifie aussi une diversité génétique. Ainsi, il a été montré que le genre *Leuconostoc* présente une évolution accélérée d'un facteur allant de 1,7 à 1,9 comparé au genre *Pediococcus*, alors que chez *Oenococcus oeni* ce facteur est encore plus important (1,6 fois plus) comparé à celui de *Leuconostoc* (Makarova et Koonin, 2007).

En conclusion, *Oenococcus oeni* est considéré comme l'espèce qui évolue le plus rapidement, en accord avec l'observation des taux de mutation élevés dans le génome d'*Oenococcus oeni*.

3.4.5.3. Taxonomie

La taxonomie des bactéries lactiques repose sur l'identification phénotypique basée sur les tests morphologiques, physiologiques et biochimiques. Néanmoins, ces méthodes conventionnelles ont leurs limites, notamment dans le cas de variations du phénotype par la présence ou l'absence d'un plasmide codant pour des fonctions métaboliques. Par conséquent, les méthodes moléculaires s'avèrent indispensables car elles sont plus fiables pour une classification couvrant des niveaux d'identification allant de la famille à l'espèce. De plus, les informations obtenues avec les méthodes moléculaires sont utiles pour le concept de phylogénie (Zakhia et Lajudie, 2006).

Chapitre I : rappel bibliographique

3.4.5.4. Méthodes d'identification et typage des bactéries lactiques.

L'approche classique de la taxonomie des bactéries lactique sa toujours été basée sur les caractéristiques morphologiques et physiologiques. Cette identification a été élargie pour inclure des marqueurs chimio taxonomiques (acides gras cellulaires), analyse des protéines totales de la cellule et autres caractéristiques de la cellule (**Holzapfel et al.,2001; Temmerman et al.,2004**). Une identification fiable est dépendante de l'information génotypique. Les méthodes génotypiques telles que le séquençage de l'ADNr 16S, ribotypage, Random Amplified polymorphic DNA (RAPD), rep-PCR finger printing, Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP), électrophorèse en champ pulsé (PFGE) de l'ensemble de l'ADN chromosomique digéré constituent aujourd'hui une partie importante de la taxonomie moderne des bactéries lactiques (**Holzapfel et al.,2001 ; Gevers,2002; Temmer man, 2003; Temmer man et al.,2004**). Un aperçu concis des techniques les plus importantes utilisées pour la classification et l'identification des bactéries lactiques est donné ci-dessous.

3.4.5.4.1. Méthodes phénotypiques.

Les méthodes phénotypiques sont encore et toujours utilisées dans les laboratoires de microbiologie alimentaire appliquée. Différents tests clef sont été largement adoptés et de nos jours, les caractérisations morphologiques ainsi que les méthodes physiologiques, métaboliques, biochimiques et chimio taxonomiques sont pratiquées. Des tests physiologiques simples, tels que la croissance à différentes températures, la tolérance aux acides et au sel ainsi que la production de gaz sont utiles pour la différenciation des genres (**Gevers,2002;Temmer man et al.,2004**).

Parmi les méthodes biochimiques utilisées, les micro méthodes ont connus un développement important, avec la commercialisation des systèmes d'identification associant, pour un groupe bactérien donné ,une galerie miniaturisée de tests biochimiques, et des document sou des programmes informatiques permettant d'interpréter les résultats obtenus (**De Roissart et Luquet,1994**). La première galerie biochimique miniaturisée destinée à l'identification des bactéries lactique sa été la galerie API (Analytic Programme Index) 50 CHL, commercialisée en 1970 pour l'étude des souches du genre *Lactobacillus*, puis rapidement tendue à d'autres genres (*Leuconostoc* et *Lactococcus*). Cette technique nécessite une durée d'incubation plus ou moins longue (12heuresà48 heures) mais exige l'emploi d'un inoculum de faible charge bactérienne.

Chapitre I : rappel bibliographique

Tableau16 : Caractéristiques des génomes des bactéries lactiques d'après (Makarova *et* Koonin,2007).

| Espèces/souche Génome | Taille du (Mb) | G C % | Nbre de plasmids (Nb redegènes) | Nombre protéines | Référence |
|---|-------------------|-------------|--|---------------------|---|
| <i>L. lactissubsp.cremoris</i> SK11 | 2,3 | 30, 9 | 5 (129) | 2509 | (Makarova <i>et</i> <i>al.</i> ,2006) |
| <i>L. lactissubsp.cremoris</i> MG1363 | 2,6 | 35 | - | 2434 | (Wegmann <i>et</i> <i>al.</i> ,2007) |
| <i>L. lactissubsp.lactis</i> IL1403 | 2,3 | 35, 4 | - | 2321 | (Bolotin <i>et al.</i> , 2001) |
| <i>S.thermophilus</i> CNRZ1066 | 1,8 | N D | - | 1915 | (Bolotin <i>et al.</i> , 2004) |
| <i>S.thermophilus</i> LMG18311 | 1,8 | N D | - | 1889 | (Bolotin <i>et al.</i> , 2004) |
| <i>S.thermophilus</i> LMD-9 | 1,9 | N D | 2 (6) | 1718 | (Makarova <i>etal.</i> ,2006) |
| <i>Leu.mesenteroides.subsp.Mes enteroides</i> | 2,1 | 37 | 1 (34) | 2009 | (Makarova <i>et</i> <i>al.</i> ,2006) |
| <i>Lb.plantarum</i> WCFS1 | 3,3 | 42 | 3 (50) | 3009 | (Kleerebezem <i>et</i> <i>al.</i> , 2003) |
| <i>Lb.johnsonii</i> NCC533 | 2 | 34 | - | 1821 | (Pridmore <i>et al.</i> , 2004) |
| <i>Lb.acidophilus</i> NCFM | 2 | 34 | - | 1864 | (Altermann <i>et</i> <i>al.</i> ,2005) |
| <i>Lb.sakei</i> subsp. <i>sakei</i> 23K | 1,9 | 41 | - | 1879 | (Chaillou <i>et al.</i> , 2005) |
| <i>Lb.salivarius</i> subsp. <i>salivarius</i> UCC118 | 1,83 | 32 | 3 (320) | 1717 | (Claesson <i>etal.</i> ,20 06) |
| <i>Lb.delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricu</i> sATCC11842 | 1,9 | 50 | - | 1562 | (Van de Guchte <i>et al.</i> ,2006) |

Chapitre I : rappel bibliographique

| | | | | | |
|---|------|--------|--------|------|------------------------|
| <i>Lb.delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricu</i> sATCCBAA-365 | 1,9 | 50 | - | 1725 | (Makarova et al.,2006) |
| <i>Lb.gasseri</i> | 2 | 35 | - | 1763 | (Makarova et al.,2006) |
| <i>Lb.casei</i> | 2,9 | N D | 1 (20) | 2776 | (Makarova et al.,2006) |
| <i>Lb. brevis</i> | 2,34 | 46 | 2 (37) | 2221 | (Makarova et al.,2006) |
| <i>Oenococcusoeni</i> | 1,8 | 37 | - | 1701 | (Makarova et al.,2006) |
| <i>P. pentosaceus</i> | 1,8 | 37 | - | 1757 | (Makarova et al.,2006) |

(-): non déterminé

3.4.6. Flore lactique et activités métaboliques d'intérêt technologique.

3.4.6.1 Les bactéries lactiques

Dans le processus de transformation du lait en fromage à coagulation lactique ou mixte, la microflore lactique est la première flore à intervenir. Les genres *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* et *Streptococcus* sont majoritairement retrouvés dans les fromages. La fonction principale de ces bactéries est de dégrader le lactose, sucre majoritairement contenu dans le lait, pour produire de l'acide lactique (fermentation lactique). Du fait de cette propriété, l'utilisation des bactéries lactiques comme levain en fromagerie a été introduite par Weigmann en 1890 (Stiles et Holzapfel, 1997), principalement dans le but d'accomplir l'acidification du lait simultanément à sa coagulation.

3.4.6.2. Ferments lactiques et flore NSLAB (*Non Starter Lactic Acid Bacteria*)

On peut différencier les bactéries lactiques dites «sauvages» naturellement présentes au départ dans le lait de fabrication du fromage ou apportées par l'ambiance des ateliers de fabrication ,des ferments lactiques qui correspondent aux bactéries lactiquesensemencées volontairement dans le lait. On distingue couramment deux types de ferments : les mésophiles et les thermophiles. Les levains mésophiles (ex. *Lactococcus*,*Leuconostoc*) sont en général utilisés pour des variétés de fromage dont la température des caillés pendant la phase d'acidification ne dépasse pas 40 °C, alors que les levains thermophiles (ex. *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus delbrueckii*) sont plutôt employés dans des variétés de

Chapitre I : rappel bibliographique

fromage où la température dépasse 40 °C en début de fabrication (Fleet,1999; Parente et Cogan,2004).

Le taux d'ensemencement des levains lactiques dans les laits de fromagerie varie entre 10^5 et 10^7 ufc/ml. Parallèlement à la synérèse du caillé, ces bactéries se développent rapidement pour atteindre une population de l'ordre de 10^9 ufc/g dans la majeure partie des fromages, un jour après ensemencement. *Pediococcus* ainsi que certaines espèces de *Lactobacillus* mésophiles homo- ou hétérofermentaires sont généralement désignés sous le nom de *bactéries lactiques non-levain* (en anglais NSLAB). Ce terme décrit la flore lactique «fortuite», capable de croître dans des conditions sélectives lors de l'affinage des fromages, contrairement aux levains lactiques. Cette flore tolère en effet l'environnement hostile de l'affinage, caractérisé par un très faible taux d'humidité dans le produit (68 à 61 % de matière sèche), 4 à 6 % de sel, un pH variant de 4,9 à 5,3 et une déficience en nutriments (Fox et al., 1998). *Lactobacillus casei* ssp. *casei*, *Lb.casei* ssp. *Pseudo plantarum*, *Lb. paracasei* ssp. *paracasei*, *Lb. plantarum* et *Lb. curvatus* sont les espèces les plus couramment isolées et sont pour la plupart des hétérofermentaires facultatifs. Ces lactobacilles sont habituellement présents suite à une contamination après pasteurisation, mais constituent également une partie de la microflore du lait qui résiste à la pasteurisation (Martley et Crow,1993)

3.4.6.3. Habitat des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques sont très répandues dans la nature, elles peuvent coloniser des milieux très différents du point de vue physico-chimique et biologique. Dans certains écosystèmes comme le lait elles sont dominantes, dans d'autres elles sont minoritaires.

Leurs grandes exigences nutritionnelles les associent à des environnements naturels particulièrement riches en nutriments ; plantes, animaux, produits laitiers et carnés. Grâce à des phénomènes de synergie ou de coopération, différentes espèces de bactéries lactiques sont très souvent associées dans un habitat donné (Marshall, 1987). Les milieux d'isolement des différentes espèces de bactéries lactiques, sont donnés dans le **Tableau(17)**.

Chapitre I : rappel bibliographique

Tableau (17): Milieux d'isolement des bactéries lactiques (ketrouci,2021).

| Bactéries lactiques | Habitat ou milieu d'isolement. |
|--|---|
| <i>Lactobacillus</i> | |
| <i>Lb. delbrueckii</i> subsp. | Végétaux |
| <i>delbrueckii</i> <i>Lb. delbrueckii</i> subsp. | Yaourt, fromage |
| <i>Bulgaricus</i> | Lait, fromage |
| <i>Lb. delbrueckii</i> subsp. <i>lactis</i> | Bouche, tractus intestinal |
| <i>Lb. acidophilus</i> | Bouche, tractus intestinal |
| <i>Lb. gasseri</i> | Fromage |
| <i>Lb. helveticus</i> | Rumen |
| <i>Lb. casei</i> subsp. <i>casei</i> | Fromage, fourrage |
| <i>Lb. casei</i> subsp. <i>Pseudopantarum</i> | Bouche |
| <i>Lb. casei</i> subsp. <i>tolerans</i> | Tractus intestinal |
| <i>Lb. casei</i> subsp. | Végétaux, produits carnés |
| <i>Rhamnosus Lb. sake</i> | Végétaux, produits carnés, lait |
| <i>Lb. curvatus</i> | Végétaux |
| <i>Lb. bavaricus</i> | Végétaux, fromage, produits carnés, bouche |
| <i>Lb. plantarum</i> | Fromage |
| <i>Lb. bif fermentans</i> | Végétaux, lait, fromage, tractus intestinal |
| <i>Lb. brevis</i> | Végétaux, lait, fromage, bouche |
| <i>Lb. buchneri</i> | Kéfir |
| <i>Lb. kefir</i> | Tractus intestinal, produits carnés |
| <i>Lb. reuteri</i> | Végétaux, fromage, bouche |
| <i>Lb. fermentum</i> | Végétaux |
| <i>Lb. confusus</i> | Produits |
| <i>Lb. viridescens</i> | carnés Pain |
| <i>Lb. sanfrancisco</i> | |
| <i>Lactococcus</i> | |
| <i>Lc. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> | Lait cru, laits fermentés, végétaux |
| <i>Lc. lactis</i> subsp. <i>lactis bio</i> | Végétaux, lait |
| <i>vardi acetylactis</i> | |
| <i>Lc. lactis</i> subsp. | Lait |
| <i>Cremoris</i> | Lait caillé |
| <i>Lc. raffinolactis</i> | Lait de mammite |
| <i>Lc. garviae</i> | |

Chapitre I : rappel bibliographique

| | |
|--|---|
| <i>Leuconostoc</i> | Lait, produits laitiers, fruits, légumes, végétaux en fermentation (choucroute), produits de panification, Solutions visqueuses de sucres |
| <i>Ln.oenos</i> | Vin (absent dans le lait) |
| <i>Pediococcus</i> | Végétaux, boissons (bière, cidre et vin) |
| <i>Pc.pentosaceus, Pc.acidilactici</i> | Matières végétales, lait et produits laitiers |
| <i>Pc. halophilus</i> | Produits de pêche, anchois salé |
| <i>Streptococcus thermophilus</i> | Lait , produits laitiers, yaourt, le vains artisanaux |

3.4.6.4. Intérêts et rôle des bactéries lactiques dans l'industrie agro-alimentaire.

Les bactéries lactiques appartiennent à un groupe de bactéries qui possèdent le "statut GRAS" ce qui autorise officiellement leur usage dans les applications alimentaires et qui témoigne de leur parfaite innocuité (**Rigaux, 2008**). Elles sont utilisées en particulier dans les laitages fermentés comme par exemple le yaourt, le fromage, le beurre, le babeurre, le kéfir et le koumis. Elles sont utilisées également dans le saumurage des légumes, la boulangerie, la fabrication du vin, des viandes et des salaisons. La fermentation modifie les textures et les saveurs des aliments d'origine et en améliore la conservation.

Le lait ne pouvant être conservé longtemps, ses valeurs nutritionnelles sont gardées sous la forme d'un fromage (préservation), L'immense variété des fromages est en partie relative à une grande variété de souches employées dans leurs fabrications, modifiant ainsi le goût et texture de ces produits. En effet ces bactéries sont responsables de l'apparition des qualités organoleptiques souhaitables de ce produit transformé, en plus de sa protection et sa conservation (**Vande Guchte et al., 2002**).

C'est l'acide lactique qui donne aux laitages fermentés cette saveur légèrement aigrelette caractéristique. D'autres sous-produits des bactéries lactiques donnent des saveurs et des arômes supplémentaires. C'est le cas par exemple, de l'acétaldéhyde qui donne au yaourt son arôme si caractéristique ou encore le diacétyl qui donne une saveur crémeuse à d'autres laitages fermentés. Les bactéries lactiques ont un rôle fondamental dans l'inhibition des flores non lactiques, dont certaines sont pathogènes ou préjudiciables à la qualité des fromages ou autre produit laitier. Cette action est due à l'abaissement du pH (qui inhibe la croissance de la plupart des germes non lactiques) à la toxicité propre de l'acide lactique, mais aussi à la sécrétion de bactériocines (facteurs bactéricides) dont la niacin est le meilleur exemple.

Chapitre I : rappel bibliographique

3.4.6.4.1. Les lactocoques.

Ce sont des bactéries lactiques de forme sphérique disposées en paire ou en petites chaînettes et habituellement immobiles. Leur température optimale de croissance est d'environ 30°C, c'est pour quoi qu'on les appelle ferments mésophiles. *Les lactocoques* sont des bactéries homofermentaires, c'est-à-dire qu'ils mènent à la production d'acide lactique L (+) à partir du lactose, glucose et galactose. Cette production d'acide est une caractéristique recherchée lors de la production fromagère. Elles se distinguent par leur thermo sensibilité et leur inaptitude à croître en présence de 6.5% de NaCl et à pH 9,6.

Le genre *Lactococcus* comprend une espèce et deux sous-espèces : *Lactococcus lactis* ssp. *lactis*, ainsi que *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* biovar. *diacetylactis* et *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris* (De Roissart et Luquet, 1994).

Les représentants du genre *Lactococcus* sont très répandus dans l'environnement (Facklam et Elliott, 1995). Il est cependant difficile de définir l'habitat naturel de ces bactéries. Elles sont principalement isolées de végétaux frais et de la peau des animaux (De Roissart et Luquet, 1994); *Lc. lactis* ssp. *Lactis* peut représenter jusqu'à 95% des bactéries présentes dans le lait de vache, tandis que *Lc. lactis* ssp. *cremoris* et *Lc. lactis* ssp. *diacetylactis* ne sont que rarement isolés (Sandine et al., 1972). *Lc. lactis* ssp. *lactis* a été également trouvé dans la bouche, le tube digestif, les matières fécales et sur la peau des bovins (Sandine et al., 1972 ; Nakarai et al., 2000). On a même pensé que la contamination du lait se faisait à partir de la peau des bovins. Certaines pourraient faire partie intégrante de la flore normale humaine et être occasionnellement trouvées dans l'oropharynx, le tube digestif ou le vagin (Sandine et al., 1972 ; Saloff-Coste, 1994; Kaneko et al., 1997; Antolin et al., 2004).

Les souches de *Lc. lactis* sont utilisées comme base de cultures pour une grande variété de produits laitiers. Ils ont pour intérêt d'amener une production acide correcte et une génération de saveurs et d'arômes. En fermentant le lait, ces lactocoques donnent au produit fini des caractéristiques organoleptiques particulières (Saloff-Coste, 1994 ; Drouault et al., 1999 ; Fernandez et al., 2000 ; Basaran et al., 2001). Ces caractéristiques sont dues à la production d'acide lactique, à la coagulation des protéines du lait et à la production de divers composés, qui sont le résultat du métabolisme des lactocoques et des interactions entre les souches sélectionnées (Saloff-Coste, 1994 ; Fernandez et al., 2000).

3.4.6.4.2 Les Entérocoques.

Appartenant au groupe des coques lactiques, les entérocoques ont un métabolisme homofermentaire et produisent de l'acide lactique L (+). Elles sont capables de croître à 10 et 45°C, à un pH 9,6, en présence de 6,5% de NaCl, en présence de 40% de bile. Les entérocoques sont des hôtes normaux du tractus intestinal de l'homme et des animaux. Ces bactéries sont présentes

Chapitre I : rappel bibliographique

dans le lait et ses dérivés, dans le sol, sur les plantes et dans les insectes et les oiseaux. Plusieurs espèces peuvent avoir un caractère pathogène (**De Roissart et Luquet, 1994**).

Des études faites par (**Abeijón et al. 2006**) sur des souches d'*Enterococcus faecium* isolées de lait de brebis et de fromage artisanal du nord-ouest de l'Argentine, a démontré la présence de quantités élevées de peptidases et d'activités estérase lipase élevée set une faible activité protéolytique extracellulaire est observée. La plupart des souches peuvent utiliser le citrate comme principal source d'énergie et produire du di acétyle dans le lait. Une détection post-électrophorétique des activités estérases a révélé la présence de multiples estérases. L'hydrolyse de la tributyrine, de latricapryline et du gras laitier a été observée dans des extraits acellulaires. Les mêmes propriétés ont été étudiées par (**El Din et al. 2002**). Ces résultats indiquent que ces souches présentent un potentiel métabolique pouvant contribuer au développement gustatif des fromages et peuvent être sélectionnées pour leurs propriétés biotechnologiques utiles au développement de la saveur.

3.4.6.4.3. Les lactobacilles.

Les micro-organismes appartenant au genre *Lactobacillus* se distinguent des autres bactéries à Gram positif par le fait qu'ils sont anaérobies facultatifs, stricts ou micro aérophiles, immobiles, dépourvus de catalase et d'oxydase. Très polymorphes, leur morphologie microscopique varie d'une espèce à l'autre de coccobacilles aux bacilles fins et allongés. Leur métabolisme énergétique est fermentaire. Le principal produit final de la dégradation des sucres est le lactate auquel peut s'ajouter l'acétate ,l'éthanol et le gaz carbonique pour les espèces hétéro fermentaires.

Le genre *Lactobacillus* sont présents naturellement chez l'homme et l'animal et constituent la flore autochtone dominante de la partie supérieure du tractus intestinal. Les lactobacilles sont également naturellement présents dans les aliments tels que la viande et ses dérivés ainsi que les produits laitiers. Ils sont utilisés industriellement dans trois domaines:

- En tant que probiotiques dans l'alimentation animale,
- Dans les préparations pharmaceutiques destinées à l'homme,
- En tant que ferments lactiques pour produits fermentés (dans les domaines laitiers et carnés).

Lactobacillus sakei, *Lb. curvatus*, *Lb. plantarum* et *Lb. pentosus* sont utilisés en tant que ferments protecteurs dans les produits carnés. Ils assurent un rôle inhibiteur de la croissance de

Chapitre I : rappel bibliographique

bactéries indésirables, responsables de l'altération des aliments ou potentiellement pathogènes. Ce rôle inhibiteur est attribué aux acides et aux bactériocines. Dans l'environnement, on peut les rencontrer sur les végétaux, dans les eaux de surface et dans les eaux usées.

Elles interviennent dans la sécurité, la texture, le goût et la qualité organoleptique des produits. Les bactéries constituant ces ferments sont des espèces bien définies qui sont sélectionnées pour leur activité globale technologique l'acidification, la rotéolyse, l'autolyse, la production de bactériocines...

3.4.6.4.4. Genres *Leuconostoc* et *Oenococcus*

Les genres *Leuconostoc* et *Oenococcus* ressemblent le plus étroitement au genre *Lactobacillus*. Ils sont Gram positifs, à catalase négative et anaérobies facultatifs et de forme ovoïde (**Holzappel, 2003**). Les cellules de *Leuconostoc* sont des coques en paires ou en chaînes comme les entérocoques mais elles sont hétérofermentaires produisant de l'acide lactique, de l'éthanol et du CO₂ (Figure 10).

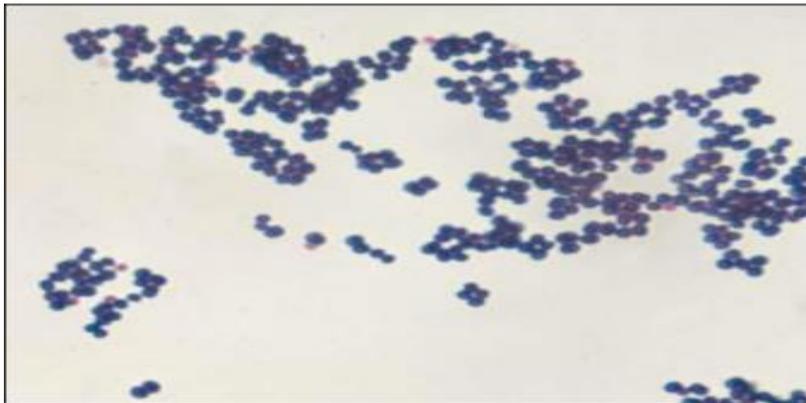


Figure 10 : Aspect d'un *Leuconostoc* en microscopie optique (X 1000)

Le genre *Leuconostoc* sont des bactéries mésophiles (optimum : 20°C-30°C) et sont caractérisés par la production, à partir du citrate du lait, de diacétyle et parfois aussi (cas de *Ln. mesenteroides ssp. cremoris*) d'acétate. Une autre caractéristique de certaines espèces de ce genre est l'hydrolyse de l'esculine et la production de dextrans et de levanes extracellulaires en présence de saccharose (**Dror et al., 2018**). Les leuconostoc sont également anaérobies facultatifs et exigeants du point de vue nutritionnel et leur croissance est toujours lente et leur développement entraîne souvent l'apparition d'une viscosité dans le milieu grâce à la production des exopolysaccharides (**Guiraud, 2003**). Principalement les espèces *Ln. mesenteroides ssp. cremoris* et *Ln. lactis* sont utilisées en association avec les lactocoques dans l'industrie laitière pour produire en plus de l'acide lactique et du CO₂, des substances aromatiques telles que le diacétyle et l'acétoïne à partir des citrates du lait (**Ogier et al., 2008**)

Chapitre I : rappel bibliographique

3.4.6.4.5. Genre Streptococcus

Les espèces de *Streptococcus* ont été parmi les premières bactéries à être reconnues par les microbiologistes en raison de leur implication dans un grand nombre de maladies humaines et animales. Les cellules de ce genre sont immobiles, sphériques ou ovoïdes, ont un diamètre inférieur à 2 µm avec une disposition en paires ou en chaînes longues (Figure 11)

Figure 11 : Aspect d'un *Streptococcus* en microscopie optique (X 1000)



La fermentation des carbohydrates produit principalement de l'acide lactique mais il n'y a pas de production de gaz. Leur température optimale de croissance est 37°C. Elles sont incapables de se développer à 15°C et à pH 9,6. Beaucoup d'espèces sont commensales ou parasites de l'homme et des animaux et certaines sont hautement pathogènes. La seule espèce de streptocoques qui soit utilisée en technologie alimentaire est *Streptococcus thermophilus* qui a été incluse dans le groupe des « autres streptocoques », mais ensuite transféré au groupe des streptocoques oraux à cause de leur degré d'homologie avec l'ADN de *Streptococcus salivarius* (Stiles et Holzapfel, 1997)

3.4.6.4.6. Genre *Pediococcus*

Le genre *Pediococcus* sont des coques homofermentaires dont la particularité est le regroupement en tétrade (Figure 12). Elles sont mésophiles, le plus souvent incapable d'utiliser le lactose, et leur développement nécessite la présence de divers facteurs de croissance

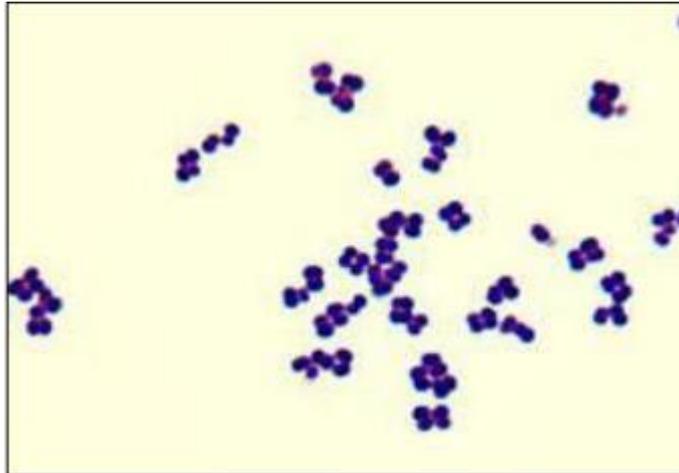


Figure 12 : Aspect d'un *Pediococcus* en microscopie optique (X 1000)

Certaines espèces se distinguent par leur capacité à se développer à des teneurs en sels très élevées, comme *Pediococcus halophilus*, renommé *Tetragenococcus halophilus* et *Tetragenococcus muriaticus* qui tolère jusqu'à 18% de NaCl (Pilet *et al.*, 2005). Les espèces de *Tetragenococcus* ont un rôle crucial dans la fabrication des produits alimentaires à concentration élevée en sel comme les sauces de soja, alors que les *pediocoques* sont parfois utilisés comme levains lactiques pour les charcuteries (Guiraud et Rosec, 2004 ; Tosukhowong *et al.*, 2005).

3.4.6.4.7. Genre *Bifidobacterium*

Traditionnellement, le genre *Bifidobacterium* a été associé aux bactéries lactiques. Par la suite, il a été séparé en raison du contenu G+C supérieur à 50% et affecté au phylum des *Actinobacteria* (Leahy *et al.*, 2005). Le genre *Bifidobacterium* est considéré comme faisant partie du groupe des bactéries lactiques grâce à la similarité de ses propriétés physiologiques et biochimiques et à sa présence dans le même habitat écologique, tel que le tube gastro intestinal (Klein *et al.*, 1998)



Figure 13 : Aspect d'un *Bifidobacterium* en microscopie optique (X 1000)

Elles ont généralement un pH optimal de croissance autour de 6,5 à 7 et une température de croissance comprise entre 37°C et 41°C. Elles ont la forme irrégulière d'un V ou une morphologie bifide en forme de Y (Figure 13). Elles sont hétérofermentaires et dégradent les hexoses en produisant de l'acide lactique et l'acide acétique (Leahy *et al.*, 2005).

Chapitre II
Matériel et méthodes

1. Objectifs de l'étude

Notre travail vise à : L'objectif principal de cette étude est l'isolement, l'identification des bactéries lactiques autochtones à partir du lait de vache de la région Zemoura Wilaya de RELIZANE.

2. Lieu et durée du travail

Cette étude a été réalisée au sein de laboratoire de recherche des Sciences et Techniques de Production animale (LSTPA) de l'université Abdelhamid IBN BADIS de Mostaganem, sis à hassi mameche.

Le travail a été réparti durant la période de 18 mai au 14 juillet.

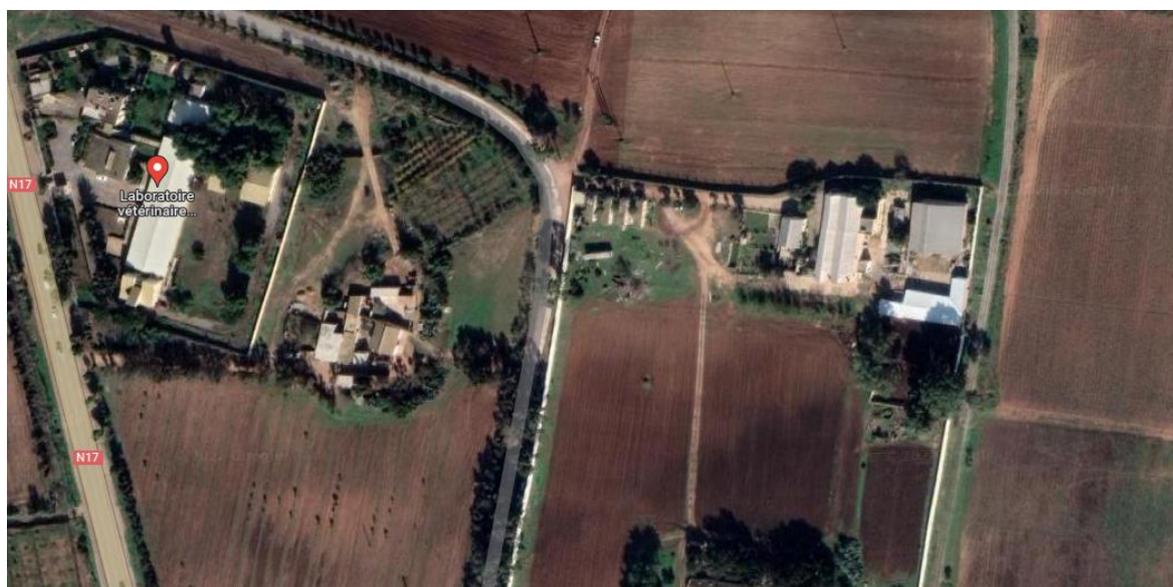


Figure 14 : Situation géographique de laboratoire de recherche LSTPA de l'université Abdelhamid IBN BADIS de Mostaganem (Google maps)

3. Produits et matériels utilisés

3.1 Produits

3.1.1 Matières premières

3.1.1.1. Lait

- Les échantillons sont prélevés de la région de ZAMOURA.
- Ces prélèvements sont transportés dans une glacière ;
- Arrivés au laboratoire, ils sont mis au congélateur en attendant les analyses.

3.1.2. Autres produits

- Eau distillée

-Eau peptonnée tamponnée

3.1.2.1. Milieux de culture

- Milieu au lactate.

- MRS

- M17

3.1.2.2. Réactifs chimiques

- Tampons de pH (4,00 et 7,00)
- Hydroxyde de sodium NaOH (0,1N et 3N)
- Phénolphtaléine
- Acide chlorhydrique HCL (4N et 3N)
- Bicarbonate de sodium NaHCO₃
- Chlorure de sodium Na Cl
- Solvant (Hexane)
- Sulfite de sodium
- Alun de fer

3.2. Matériels

3.2.1. Verreries

- Ballon à fond plat
- Ballons à font rond
- Béchers (10ml- 100ml- 1000ml)
- Pipettes graduées (1ml-10ml-25ml)
- Pipettes pasteur
- Burette graduée (25ml)
- Pipette seringue
- Capsules
- Réfrigérant
- Tubes à essais
- Eprouvettes graduées (100 ml, 250ml 500ml)
- Verre à montre

3.2.2. Appareillages

- Centrifugeuse (Hettich UNIVERSAL 2s)
- Agitateur magnétique (STUART)
- Etuve (Memmert)

Chapitre II : Matériel et méthodes

- Appareil de Soxhlet (Behr, Labor-Technik)
- PH-mètre (LEYBOLD-HERAEUS)
- Thermomètre (COOKING thermo-timer)
- Autoclave
- Plaque chauffante (IKA-RCT basic)
- Bain marie (HAAKE F3)
- Réfrigérateur
- Balance électrique (KERN)
- Thermo-lactodensimètre
- Vortex (Kartell)
- Viscosimètre (Thermo-ELECTRON CORPORATION)
- Four (Heraeus)

3.2.3. Autres matériels

- Bec Bunsen
- Papier filtre
- Papier aluminium
- Pince
- Barreau magnétique
- Papier filtre
- Boîtes de Pétri
- Cartouche d'extraction
- Coton
- Propipette

4. Méthodes

Cette analyse consiste à mettre en évidence la flore lactique contenue dans le lait cru. Nous nous sommes basés dans la détermination des genres, des espèces qu'on veut isoler sur les résultats de travaux réalisés par **Badis et al. (2005)**.

4.1. Protocole expérimental

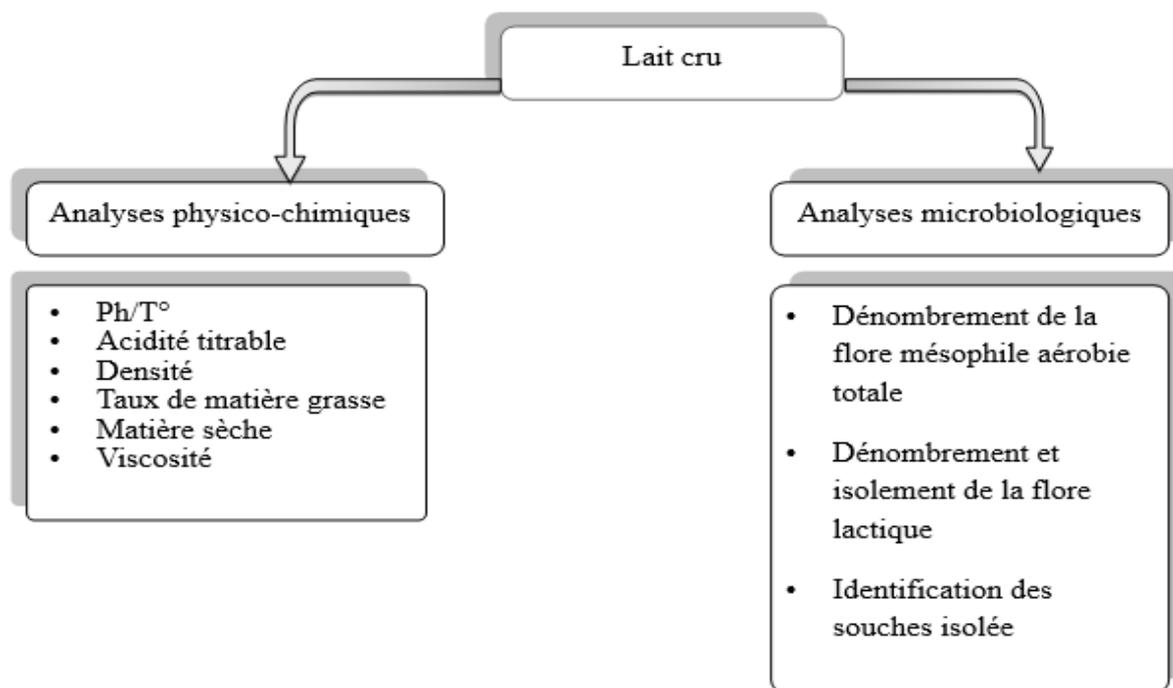


Figure 15 : Protocole expérimental général.

4.2. Analyses physico-chimiques du lait

On a utilisé le LACTOSCAN pour mesurer quelque paramètre physicochimique du lait (sauf L'acidité) :

F : matière grasse

FP : point de congélation

D : densité

S' : taux de salinité

C : taux de cendre

W : activité de l'eau

S : matière sèche

L : lactose

P : protéine

T : température

PH : potentiel hydrogène

4.2.1. pH

A. Principe

Le pH est mesuré à l'aide d'un pH-mètre. Avant chaque mesure, l'électrode du pH-mètre est nettoyée avec de l'eau de robinet, puis rincée à l'eau distillée et séchée avec du papier buvard. Un contrôle sur la fiabilité du pH-mètre est effectué avant chaque mesure, par étalonnage de l'appareil à l'aide de deux solutions tampons de pH connus (4,00 et 7,00). Ensuite la mesure est faite par immersion du bout de l'électrode dans le lait. La valeur du pH s'affiche immédiatement sur l'écran. Avant d'entreprendre une autre mesure, l'électrode est à nouveau nettoyée, puis rincée comme précédemment (Abakar, 2012).

B. Mode opératoire

- Rincer l'électrode du pH-mètre par l'eau distillée ;
- Étalonner l'appareil à l'aide de deux solutions tampons de pH connus (4,00 et 7,00) ;
- Prendre 10ml d'échantillon est mis dans un bécher ;
- Régler la température de l'appareil à 20°C ;
- Le bout de l'électrode du pH-mètre est immergé dans le lait ;
- La valeur du pH s'affiche sur l'écran.

4.2.2. Acidité Titrable

A. Principe

Un échantillon de 10 ml de lait à un pH d'environ 6.7 et mélangé à 10 ml d'eau est titré avec une solution standard d'hydroxyde de sodium de 0,1 N au point de virage de la phénolphthaléine à un pH de 8.6 (Carole, 2002).

Les résultats sont exprimés en quantité d'acide lactique par litre de lait (1.5-1.7 g/L d'acide lactique ou 15-17°D pur le lait frais) (Croguennec, 1998).

L'acidité est égale à :

$$n \times 10$$

n : volume de Na OH

B. Mode opératoire

- Remplir la burette par Na OH (0,1 N) ;
- A l'aide d'une pipette, prélever 10 ml d'échantillon ;
- Verser cet échantillon dans un bécher ;
- Ajouter quelques gouttes de Phénolphthaléine dans l'échantillon ;
- Laisser couler, goutte à goutte la soude dans l'échantillon tout en remuant l'échantillon ;
- Attendre l'apparition d'une coloration rose pâle, persistant quelques instants ;

Chapitre II : Matériel et méthodes

- Lire sur la colonne. Le nombre de dixièmes de ml de soude versé indique l'acidité du lait en degré Dornic.

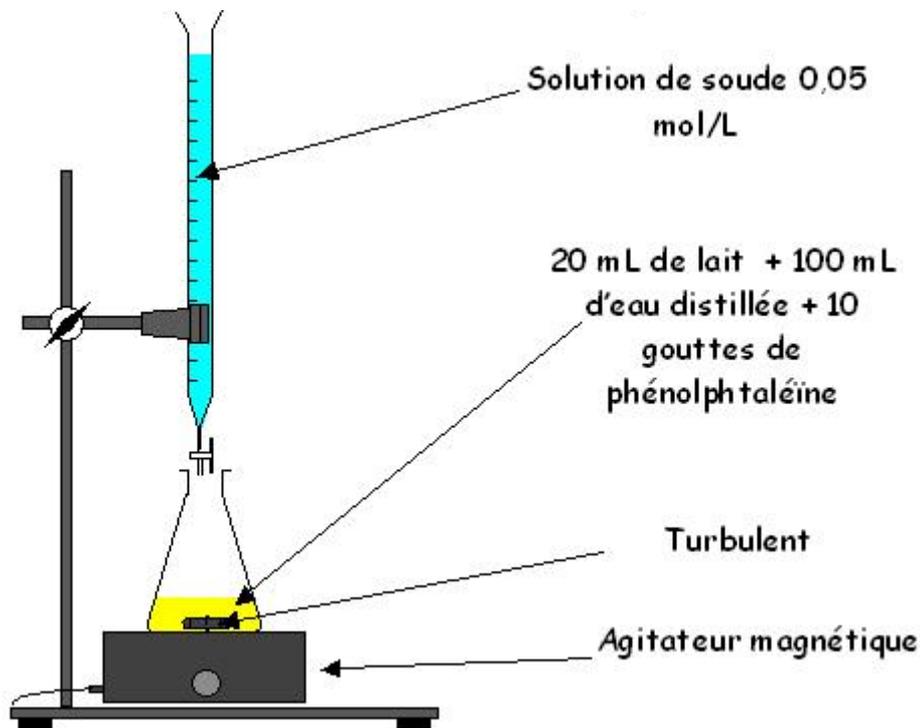


Figure 16: Mesure de l'acidité Dornic

4.2.3 Densité

A. Principe

La densité est mesurée à 20°C à l'aide d'un thermo-lactodensimètre.

La valeur de la densité est calculée par la formule suivante :

$$D - (T^{\circ} \text{ correction} - T^{\circ} \text{ lait}) 0,0002$$

$T^{\circ} \text{ correction} : 15^{\circ} \text{C} ;$

$T^{\circ} \text{ lait} : \text{température du lait indiquée sur le thermo-lactodensimètre} ;$

$D : \text{Densité du lait indiquée sur le thermo-lactodensimètre.}$

B. Mode opératoire

- Prendre un échantillon de lait, amener sa température à 20°C puis le mettre dans une éprouvette et plonger le lactodensimètre en lui donnant une légère rotation ;
- Pour éviter des erreurs de lecture, il est nécessaire de se mettre bien en face du lactodensimètre, les yeux à la hauteur de la zone de lecture ;
- Noter la température indiquée sur le lactodensimètre ;
- Après chaque utilisation, le lactodensimètre est nettoyé par l'eau.

4.2.4. Viscosité (Mode opératoire)

- Remplir le tube viscosimètre avec le lait cru ;
- Lier le viscosimètre avec un bain marie et fixer la température à 25°C ;
- Choisir une bille de 4,42 g pour laquelle son écoulement à travers l'échantillon dans le tube viscosimètre ;

- Déterminer le temps de la chute de la bille sur le repère inférieur du tube viscosimétrique.

La détermination de la viscosité est obtenue par la formule suivante :

$$V = t. (D_1 - D_2).k$$

V : Viscosité ;

t : Temps de chute en seconde ;

D₁ : Densité de la bille ;

D₂ : Densité de l'échantillon à la température de mesure ;

k : Constante d'échantillon par gravité de tube.

4.2.5. Matière Grasse

A. Principe

La méthode de Soxhlet a été utilisée. L'échantillon est d'abord hydrolysé à l'acide chlorhydrique (hydrolyse acide).

B. Mode opératoire

- Peser 10g d'échantillon à analyser de (lait ou fromage) dans un ballon à fond plat ;
- Ajouter 15 ml d'eau distillé et 50ml d'Hcl (4N) ;
- Relier le ballon au réfrigérant à air et chauffer jusqu'à ce que son contenu arrive à l'ébullition puis laisser bouillir pendant 30 min sur la plaque chauffante en agitant avec un mouvement rotatoire de temps en temps puis rincer l'intérieur du réfrigérant avec de l'eau distillée chaude ;
- Retirer le ballon du réfrigérant ;
- Filtrer le contenu du ballon ;
- Rincer le ballon 3 à 4 fois avec de l'eau distillée chaude ;
- Laisser bien égoutter le filtre ;

Chapitre II : Matériel et méthodes

- Sécher le papier filtre à l'air libre et introduire ce dernier dans une cartouche d'extraction et boucher la cartouche avec du coton ;
- Placer la cartouche dans la colonne de Soxhlet ;
- Ajouter le solvant (Hexane) ;
- Assurer en premier lieu une réfrigération à l'aide d'un bain marie avec une pompe ; laisser chauffer pendant 4 heures ;
- Peser un ballon à fond rond vide (B_1) et récupérer la matière grasse dans le même ballon ;
- Evaporer le solvant à l'aide du rota vapeur et le reste de ce dernier est éliminé par évaporation dans l'étuve à une température d'environ 50 C ;
- Laisser refroidir à la température ambiante ;
- Peser le ballon qui contient de la matière grasse (B_2).

C. Expression des résultats

Les résultats sont exprimés par la formule suivante :

$$MG\% = \frac{B_2 - B_1}{P} \times 100$$

MG : Teneur de la matière grasse en % ;

B_1 : Poids du ballon vide en g ;

B_2 : Poids du ballon + MG en g ;

P : Poids de prise d'essai en g.

4.3. Les analyses bactériologiques

4.3.1 Règles générales de la bonne pratique du laboratoire

La manipulation de base est celle du transfert des germes d'un récipient à un autre, il faut donc respecter certaines règles lors des manipulations :

- Se laver les mains avant et après manipulation ;
- Nettoyer et aseptiser les paillasse avant et après manipulation ;
- Travailler le plus près possible du bec bunsen avec ustensiles stériles ;
- Travailler de façon absolument aseptique ;
- Toutes les boîtes de pétri, bouillons ensemencés, ainsi que les ustensiles souillés (Pipettes, tube...)

devront être autoclaves ou décontaminés.

Notre analyse microbiologique se base sur le dénombrement des germes recherchés dans le lait cru qui sont :

- La flore mésophile aérobie Totale (lait cru) ;

Chapitre II : Matériel et méthodes

4.3.2. Préparation des dilutions

Des dilutions décimales ont été réalisées en double à l'aide d'une solution d'eau peptone à 9 % à raison de 9 ml par tube, après homogénéisation, on étale 0,1 ml de chaque dilution sur les milieux de dénombrements (Milieu au lactate, MRS et M17). Les boîtes sont ensuite incubées 37°C pendant 24 h à 72 h. Les boîtes contenant 25 à 300 colonies ont été retenues. On a repiqué au hasard quelques colonies bien isolées dans un nouveau milieu de culture solide (MRS et M17) et incubé à 37°C pendant 24 h.

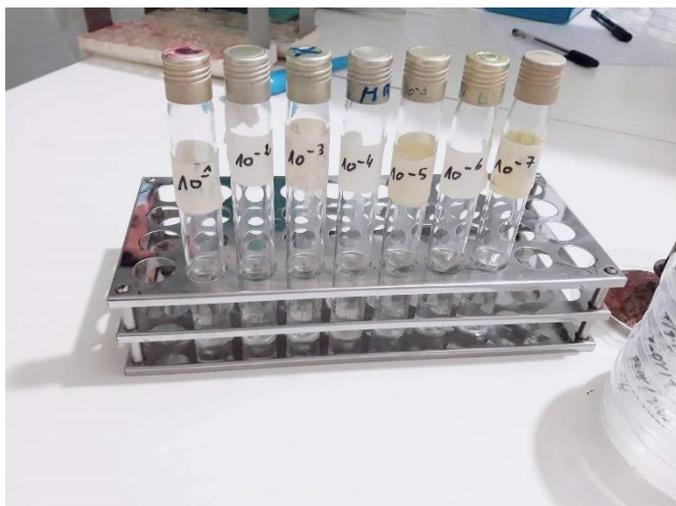


Figure 17 : préparation des dilutions de 10^{-1} à 10^{-7}

4.3.3. Dénombrement de la flore mésophile aérobie totale

Cette flore, appelée aussi FMAR (flore aérobie mésophile revivifiable) est un bon indicateur de la qualité générale et de la stabilité des produits ainsi que de la qualité (propreté) des installations (Guiraud, 2012).

A. Mode opératoire

Le dénombrement de cette flore est réalisé par un ensemencement en étale.

- Le milieu utilisé : gélose (Milieu au Lactate).
- L'incubation est conduite à 37°C pendant 72 heures.

On procède donc progressivement aux phases suivantes :

- Commencer par de la solution mère (lait cru), puis on fait des dilutions de facteur 10 ;
- Compléter ensuite avec environ 18ml de gélose Milieu Au lactate liquéfié puis refroidie ;
- Faire ensuite des mouvements circulaires et de va-et-vient en forme de « 8 » pour solidifier la gélose sur paillasse ;

Chapitre II : Matériel et méthodes

- Prendre aseptiquement 1 ml dans une boîte de pétrie stérile préparée à cet usage et numérotée, pour chaque dilution et étaler doucement sur la gélose
- Placer les boîtes de pétrie retournées dans une étuve à 37 °C pendant 72h.

4.3.4. Dénombrement et isolement de la flore lactique

L'isolement a été réalisé sur deux milieux :

1- (Man, Rogosa, Sharpe) MRS solide, milieu adapté à la recherche spécifique des lactobacilles. Les boîtes de Pétri ont été incubées pendant 48-72 h à 37°C en anaérobiose.

2-M17 solide (selon Terzaghi et Sandine), milieu adapté à la recherche spécifique plusieurs espèces (des Lactocoque, des Enterococcus etc.). Les boîtes de Pétri ont été incubées pendant 48-72 h à 37°C en aérobiose.

B. Mode opératoire

Le dénombrement de cette flore est réalisé par un ensemencement en étales.

- Le milieu utilisé : (Man, Rogosa, Sharpe) MRS solide / M17 solide
- L'incubation est conduite à 37°C pendant 24/ 72 heures.

On procède donc progressivement aux phases suivantes:

- Commencer par de la solution mère (lait cru), puis on fait des dilutions de facteur 10
- Compléter ensuite avec environ 18ml de gélose MRS et M17 liquéfié puis refroidie ;
- Faire ensuite des mouvements circulaires et de va-et-vient en forme de « 8 » pour solidifier la gélose sur paillasse ;
- Prendre aseptiquement 1 ml dans une boîte de pétrie stérile préparée à cet usage et numérotée, pour chaque dilution et étaler doucement sur la gélose.
- Pour les lactobacilles ; crée un milieu anaérobiose (Milieu MRS).
- Placer les boîtes de pétrie retournées dans une étuve à 37 °C pendant 24h /72h.



Figure 18: Un milieu anaérobie au niveau laboratoire LSTPA

-Le but de l'isolement est d'avoir une collection de micro-organismes identiques en vue de leur identification.

4.4.5. Purification des souches:

Consiste à réaliser des repiquages successifs sur la gélose MRS avec incubation à 30°C pendant 48h jusqu'à l'obtention des colonies de même taille, forme, couleur, renseignant sur la pureté de la souche. (Idoui et al., 2009).

Conservation des souches:

❖ **Conservation à court terme :** La conservation à court terme des isolats purifiés est effectuée par ensemencement des souches pures sur gélose MRS inclinée à l'aide d'une anse en

Chapitre II : Matériel et méthodes

platine stérile. Après incubation à 30°C pendant 18h, Les tubes sont maintenus à 4°C et le renouvellement des souches se fait par repiquage toutes les trois à quatre semaines (Saidi et al., 2002).

❖ **Conservation à long terme :** A partir des jeunes cultures de 18 h sur milieu liquide, les cellules sont récupérées par centrifugation à 4000 tr / min pendant 10 min. Une fois le surnageant éliminé, on ajoute le milieu de culture de conservation (lait écrémé 70% et 30% de glycérol) sur le culot. Les cultures sont conservées en « Eppendorfs » à - 20 °C. La figure 11 montre le protocole de conservation à longue durée (Badis et al., 2004). Les cultures peuvent être conservées plusieurs mois.

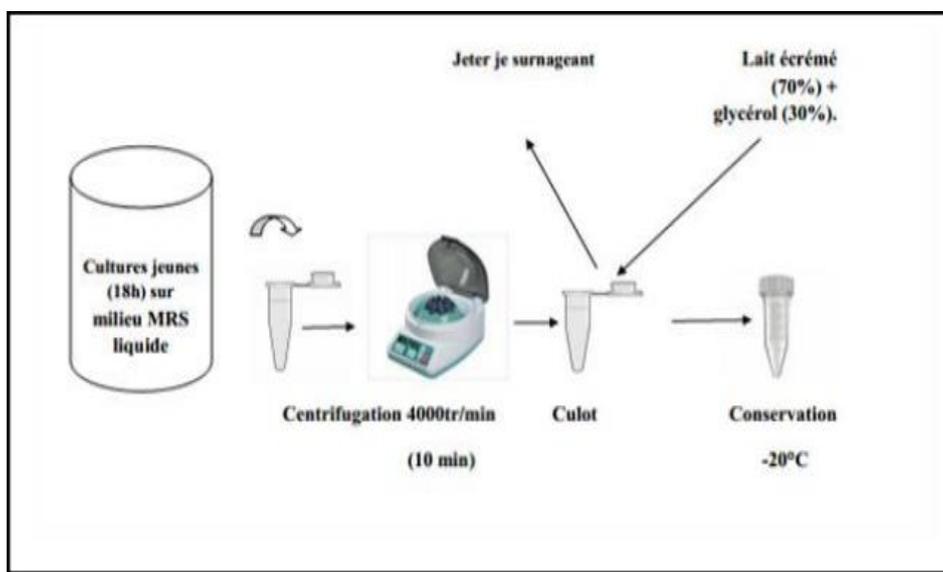


Figure 19: Schéma de conservation longue durée des bactéries lactiques purifiées.

4.4.6. Identification des souches lactiques isolées:

L'identification des souches a été réalisée par l'application d'un certain nombre de techniques classiques de microbiologie, basées sur la recherche de certains caractères morphologiques (aspect de la colonie sur gélose MRS M17), microscopiques (Coloration de Gram, forme, mobilité), physiologiques (Le test de catalase, la croissance à différentes températures, la croissance à différentes concentrations (%) en NaCl) et les caractères biochimiques (La fermentation des sucres détectée par les galeries API50 CH). Toutes les techniques d'identification ont été décrites par (Larpent, 1997, Idoui et Karam, 2008 et Gusils et al., 2010).

Chapitre II : Matériel et méthodes

4.4.6.1 Critères morphologiques :

❖ Examen macroscopique :

Une observation macroscopique (à l'œil nu) permet de décrire l'aspect des colonies sur la gélose MRS à savoir la taille, la couleur, la forme, la texture, le contour et la viscosité.

❖ Examen microscopique :

Après l'examen macroscopique des colonies sur gélose MRS, et dans le but d'écartier tout ce qui ne peut pas être une bactérie lactique, les isolats purifiés ont été soumis à la coloration de Gram qui a été effectuée selon le protocole décrit par **Prescott et al (2003)**.

-La coloration de Gram permet de différencier les bactéries selon leur Gram en bactéries Gram positif et d'autres Gram négatif et selon leur morphologie cellulaire en bâtonnets ou coques et selon leur mode de regroupement ou d'association (**Joffin et Leyral, 1996**).

4.4.6.2 Critères physiologiques :

❖ Test de catalase :

Le test catalase sert à démontrer si la bactérie possède l'enzyme catalase qui est une enzyme produite en abondance par les bactéries ayant un métabolisme respiratoire qui détruit le peroxyde d'hydrogène et libère l'oxygène (**Delarras, 2007**).

Pour mettre en évidence cette enzyme une partie de la colonie suspecte est diluée dans une goutte d'eau oxygénée sur une lame stérile. Le dégagement des bulles de gaz indique la présence de la catalase qui décompose le peroxyde d'hydrogène selon la réaction suivante :



Les bactéries présentant une réaction positive à la coloration de Gram (Gram positif) et dénuées d'activité catalase (catalase négative) sont présumées des bactéries lactiques et elles sont retenues pour être identifiées ultérieurement (**Zadi-Karam et Karam, 2006**).

❖ Croissance à différentes températures :

Ce test est important car il permet de distinguer les bactéries lactiques mésophiles des bactéries lactiques thermophiles (**Leveau et al., 1991**).

Deux tubes de bouillon MRS ont étéensemencés par les isolats du lait de vache puis incubés, l'un à 37°C, pendant une période de 24 à 48 heures. Au bout de ce délai, la croissance est appréciée par l'apparition d'un trouble.

Chapitre II : Matériel et méthodes

❖ Croissance en présence de différentes concentrations (%) de NaCl :

Un milieu MRS à 6,5% de NaCl (6,5g de NaCl par 100mL du milieu MRS liquide) est ensemencé puis incubé à 30°C pendant 2 à 3 jours. Des concentrations plus faibles en NaCl peuvent être ainsi testées (4,5% et 6,5%) (Carr et al., 2002 et Mathara et al., 2004). On apprécie la croissance par l'apparition d'un trouble.

❖ Recherche de type fermentaire :

Les souches sont ensemencées dans un bouillon MRS contenant les cloches de Durham, puis incubées à 30°C pendant 24h. L'absence de gaz dans les cloches montre qu'il s'agit d'un métabolisme homofermentaire alors que la présence de gaz indique qu'il s'agit d'un métabolisme hétérofermentaire (Hariri et al., 2009).

4.4.6.3 Critères biochimiques :

❖ L'hydrolyse de l'esculine :

Elle est mise en évidence par l'API 50CH, la cupule contenant l'esculine est ensemencée puis incubée à 37°C pendant 24 heures.

*Le noircissement indique que la réaction est positive

❖ Métabolisme ou fermentation des hydrates de carbone sur les galeries API 50 CH:

Les galeries API 50 CH permettent une identification des bactéries lactiques au niveau de l'espèce et même parfois de la sous-espèce sur la base de la fermentation de 49 sucres différents. La galerie API 50 CH (Biomerieux) est constituée de 50 microtubes permettant l'étude de la fermentation de substrat, appartenant à la famille des hydrates de carbone et dérivés (hétérosides, polyalcools, acides uroniques

➤ Mode opératoire :

❖ Sélection des colonies :

-Vérifier la pureté de la souche, car seules des cultures pures contenant un seul type de microorganismes doivent être utilisées.

-Vérifier son appartenance aux bactéries lactiques : bactéries Gram (+), catalase (-), anaérobies (stricts ou facultatifs), bacilles poussant sur milieu MRS.

Chapitre II : Matériel et méthodes

Préparation des galeries :

- Chaque galerie est constituée de 5 bandes comprenant chacune 10 tubes numérotés.
- Préparer une boîte d'incubation (fond et couvercle).
- Inscrire la référence de la souche sur la languette latérale de la boîte.
- Répartir environ 10 mL d'eau distillée ou déminéralisée dans les alvéoles du fond pour créer une atmosphère humide.
- Sortir les bandes de leur emballage, séparer les bandes et les déposer dans le fond de la boîte d'incubation.

Préparation des inoculumms :

Chaque souche lactique (lactobacille) isolée et purifiée est ensemencée dans le milieu MRS liquide puis incubée à 30° C pendant 18h.

Inoculation de la galerie :

- Répartir chaque suspension bactérienne dans les 50 tubes de la galerie à l'aide d'une micropipette stérile.
- Recouvrir les tubes tests avec de l'huile de paraffine stérile.
- Incuber à 30° C, en aérobiose pendant 48 heures.

Lecture de la galerie :

La lecture des résultats se fait après 24 et 48 heures d'incubation.

- Durant la période d'incubation, la fermentation des sucres se traduit par un changement de couleur dans les tubes, dû à une production d'acide en anaérobiose révélée par l'indicateur de pH (pourpre de bromocrésol).

La réaction est considérée positive lorsqu'il y'a un changement de couleur dans les tubes comme suit :

- Virage de la couleur du rouge vers le jaune dans les tubes de 1 à 49.
- Virage vers le noir pour le test de l'esculine dans le tube n° 25 de la galerie.
- Le tube N° 0, sans principe actif, sert de témoin négatif.

Chapitre II : Matériel et méthodes

- Interpréter chaque test en mettant (+) pour la réaction positive et (-) pour la réaction négative.
- Enregistré
- Enregistrer les résultats sur la fiche de résultats
- Les résultats obtenus constituent le profil biochimique permettant l'identification du microorganisme à l'aide du logiciel d'identification « ApiWeb » de «Biomérieux», avec un pourcentage de similitude très élevé (**Sneath, 1973 ; Prescott et al., 2003**)

The image shows an Api 50 CH biochemical test strip. At the top left, it features the 'api 50 CH' logo and a CE mark. To the right, there is a 'REF:' field and a scale. Below this, the text 'Origine / Source / Herkunft / Origin / Origen / Προέλευση / Ursprung / Oprindelse / Pochodzenie' is printed. The strip itself consists of 49 wells, numbered 0 to 49. Below the wells, there are several rows of test labels: '01 EBY', '02 ERY', '03 DAR', '04 DAR', '05 RIB', '06 OXI', '07 LVI', '08 ADO', '09 IND', '10 SAL', '11 GUL', '12 FRU', '13 MFE', '14 SGE', '15 PHA', '16 DUL', '17 IND', '18 MAH', '19 SGR', '20 MOM', '21 MUG', '22 TNG', '23 ANV', '24 ARB', '25 ESC', '26 SAL', '27 CEL', '28 MAL', '29 LAC', '30 MEL', '31 SAC', '32 TRE', '33 NAL', '34 MIP', '35 SAF', '36 AND', '37 GYS', '38 ALJ', '39 BEN', '40 TUR', '41 LVI', '42 MUG', '43 DFC', '44 LFC', '45 DAR', '46 DAR', '47 DNT', '48 SCS', '49 SCS'. Below the grid, there are three main sections for recording results: 'Inoc./inok./Υαλινό ενοφθαλμισμό:', 'Incub./inkub./Θερμοκρασία επώασης:', and 'Autres tests / Other tests / Andere Tests / Otras pruebas / Altri test / Outros testes / Άλλες εξετάσεις / Άδρα tester / Andra tests / Inne testy:'. To the right of these sections is a field for 'Ident. / Ταυτοποίηση:'. The 'BIO M E R I E U X' logo is visible on the right side of the strip.

Chapitre III
Résultats et discussion

Chapitre III : Résultats et discussion

1. Paramètres physico-chimiques et biochimiques :

Les résultats d'analyse de lait de vache collecté ont pour but de déterminer la qualité.

| Les paramètres physico-chimiques | Valeur |
|----------------------------------|----------|
| Ph | 06,64 |
| Acidité Dornic | 17 ,00 |
| Point de congélation FP | 0,517 |
| Température T | 21,80 C° |
| Matière grasse F | 03,68 % |
| Matière minérale C | 04,17 % |
| Matière sèche S | 09,05 |
| Protéine P | 03,00 % |
| Taux de sel S | 0,64 % |
| Lactose L | 4,43 % |

Tableau 18 : l'analyse physico-chimique de lait de vache

2. Les analyses microbiologiques :

2.1 Dénombrement, Isolement et purification des bactéries lactiques :

2.1.1 Dénombrement des colonies :

Cas ou les boîtes contenant de 15 à 300 colonies

Retenir les boîtes contenant aux + 300 colonies au niveau de deux dilutions successives.

Il faut qu'une boîte renferme au moins 15 colonies.

Les résultats sont exprimés selon la formule suivante :

$$N = \frac{\Sigma C}{(n1 + 0.1n2) d}$$

➤ **N** : est le nombre d'unité formant colonie (Ufc/μl).

Chapitre III : Résultats et discussion

- ΣC : est la somme des colonies comptées sur les boîtes.
- $n1$: le nombre des spots comptés à la dilution la plus faible.
- $n2$: le nombre de spots retenus à la dilution la plus élevée.
- d : la valeur correspondant à la dilution à partir de laquelle les premiers Dénombrements ont été retenus.

| Dilution | 1/100= 10^{-2} | 1/1000= 10^{-3} | 1/10000= 10^{-4} |
|-------------------------------|-------------------|-------------------|--------------------|
| Facteur de dilution (1) | 10^{-2} | 10^{-3} | 10^{-4} |
| Facteur de dilution (2) | 10^{-2} | 10^{-3} | 10^{-4} |
| Nombre d'UFC comptées (1) | 250 | 140 | 40 |
| Nombre d'UFC comptées (2) | 230 | 160 | 30 |
| C_N cellules suspension (1) | 2.5×10^5 | 1.4×10^6 | 1.4×10^7 |
| C_N cellules suspension (2) | 2.3×10^5 | 1.6×10^6 | 1.3×10^7 |

Tableau 19 : Dénombrement des colonies

2.2 Isolement et purification des bactéries lactiques :

L'identification des genres repose sur deux étapes. La première consiste à tester l'ensemble des isolats obtenus par la coloration de Gram, la production de catalase et la présence de spores. La seconde est basée sur l'étude morphologique (macroscopique et microscopique) et le type fermentaire.

2.2.1. Pré-identification des isolats

Observation macroscopique :

Les cultures obtenues sur les boîtes de Petrie sont observées à l'œil nu pour caractériser la forme, la taille, l'aspect ainsi que la couleur des colonies. Ces colonies sont apparues de petite taille, de forme circulaire ou lenticulaire, avec une couleur blanchâtre et d'un pourtour régulier ou irrégulier. La figure montre l'aspect macroscopique des colonies de bactéries lactiques cultivées sur gélose MRS (Dribine et Khellal, 2017).

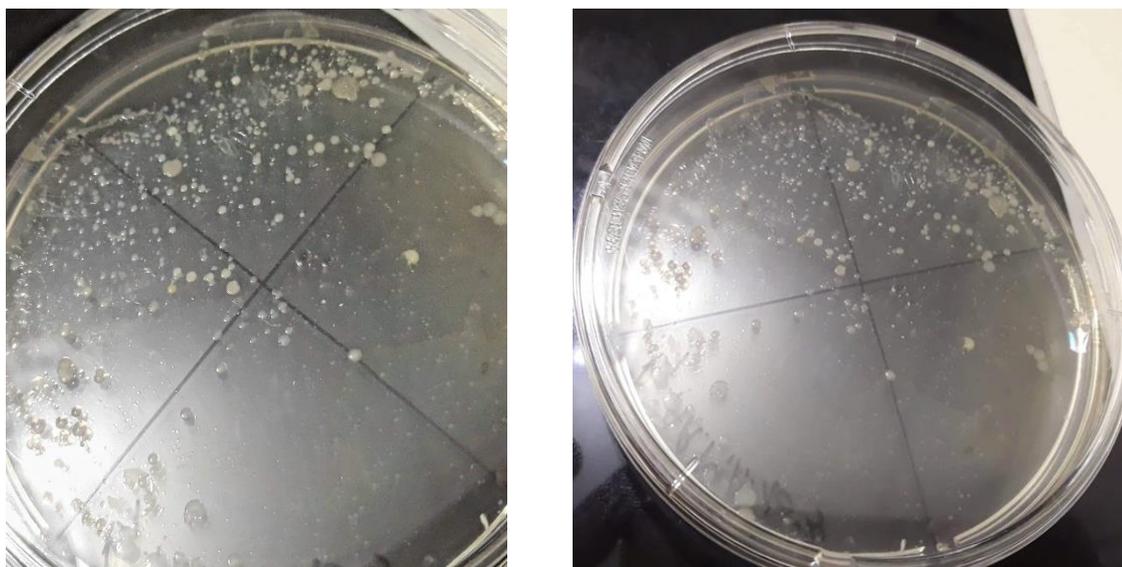


Figure 19 : Aspect macroscopique de quelque colonie de souches lactiques isolées sur gélose MRS.

L'observation macroscopique des colonies d'apparues sur milieu MRS a montré des colonies de couleur blanchâtre, de formes rondes, à contour régulier selon **Bouabellou et Bouzzenir (2018)**.

Observation microscopique :

Après l'observation microscopique des cellules et de la coloration de Gram, on trouve que les souches isolées sont Gram-positif, en formes bâtonnets et même des coccobacilles, l'arrangement cellulaire est variable : paires, chaînettes et en amas, qui sont les caractéristiques morphologiques des bactéries lactiques (**Bourgoi, 1996 ; Guiraud, 1998 ; Corrieu et Luquet, 2008**).

| Code de souche | Gram | catalase | Forme | Mode d'association |
|----------------|------|----------|-------|-----------------------|
| 01 | + | – | B | En chaine et en diplo |
| 02 | + | – | B | Petites chaînettes |
| 03 | + | – | B | En amas |
| 04 | + | – | B | En chaine et en diplo |
| 05 | + | – | B | En diplo |
| 06 | + | – | B | Petites chaînettes |
| 07 | + | – | B | En chaine |
| 08 | + | – | B | En amas |
| 09 | + | – | B | En chaine et en diplo |

Tableau 20 : critères morphologique des bactéries lactiques isolées à partir de lait de vaches

Les souches des bactéries lactiques ont été isolée à partir du lait de vache on a obtenu 9 souches pures, sur l'aspect microscopique des souches (Gram positif) et sur le test de catalase (négative).

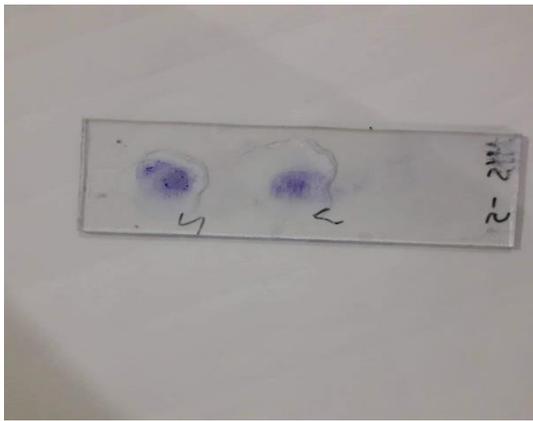


Figure 21: Coloration de gram



Figure 22: teste de catalase

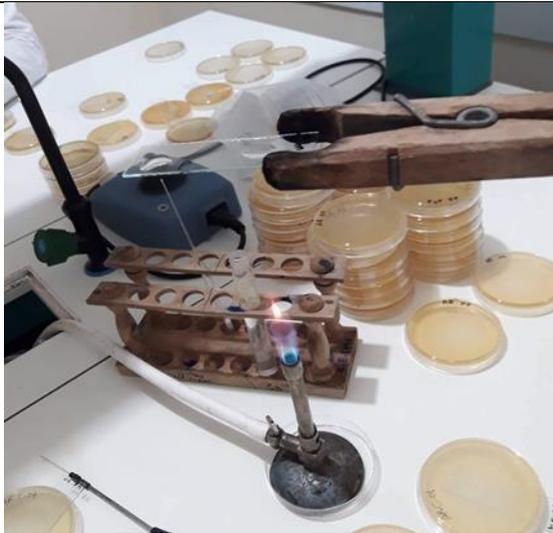


Figure 23 : Fixation de la souche

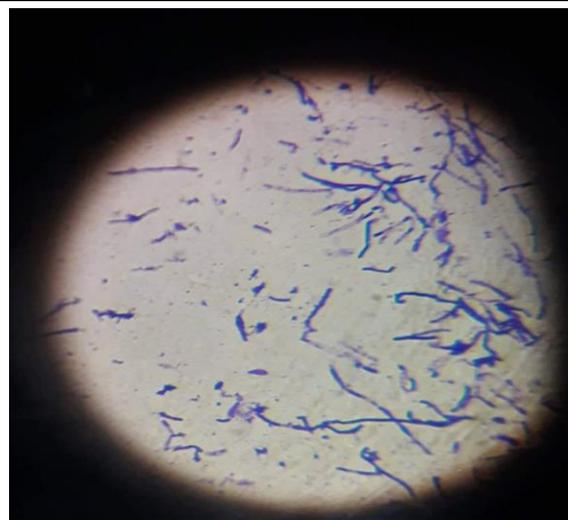


Figure 24 : Aspect microscopique après coloration x×100

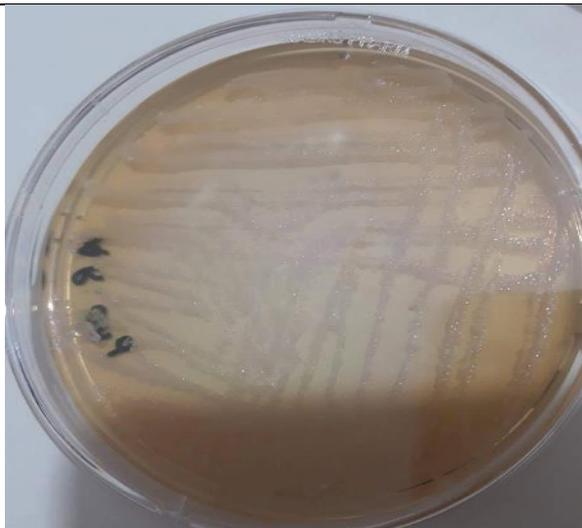


Figure 25 : Aspect macroscopique après purification

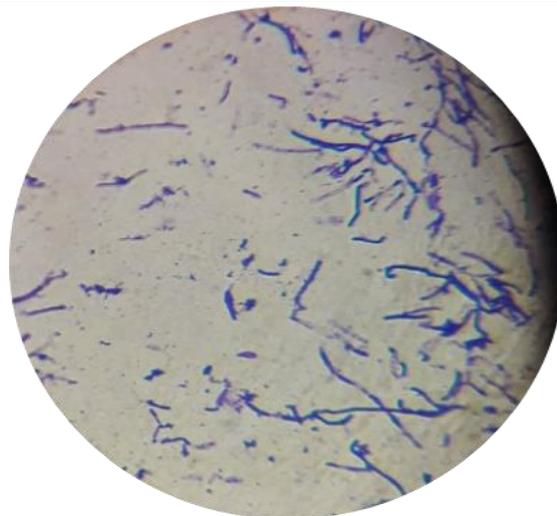


Figure 26 : Aspect microscopique après purification x×100

Chapitre III : Résultats et discussion

2.2.2. Identification phénotypique (Tests physiologiques et biochimiques) :

L'isolement sur milieu MRS nous a permis d'isoler 09 isolats et qui ont été rattachés à 2 groupes de bactéries lactiques. Les résultats des méthodes phénotypiques appliquées pour l'identification des souches sont regroupés dans le tableau 11 et les isolats ont été identifiés au stade du genre en se basant sur leurs caractéristiques physiologiques et biochimiques :

a. Type fermentaire

Ce test constitue la première clé d'identification phénotypique des bactéries lactiques. Ce test a permis de différencier entre les isolats hétérofermentaires et homofermentaires.

Ce test a permis de sélectionner 5 isolats hétérofermentaire 02, 03, 04 fort croissance par rapport 07, 08.

Tableau 21: Résultats du test de type fermentaire

| Echantillons | Type fermentaire |
|--------------|------------------|
| 01 | Homo |
| 02 | Hétero ++ |
| 03 | Hétero ++ |
| 04 | Hétero ++ |
| 05 | Hétero + |
| 06 | Homo |
| 07 | Hétero + |
| 08 | Hétero + |
| 09 | Homo |

b. Croissance à différentes températures

Ce test permet de distinguer entre la flore mésophile et thermophile.

A 37°C : toutes les bactéries se développent à cette température.

A 45°C et 10°C : la majorité des bactéries sont capable de se développer à ces températures indiquant qu'elles sont thermophiles à l'exception des isolats numéro 02, 04 et 05 qui sont mésophiles.

Chapitre III : Résultats et discussion

Tableau 22: Résultats de test de croissance à différentes températures

| Echantillons | Températures | | |
|--------------|--------------|------|------|
| | 10°C | 37°C | 45°C |
| 01 | + | + | + |
| 02 | +/- | + | - |
| 03 | + | + | + |
| 04 | +/- | + | - |
| 05 | +/- | + | - |
| 06 | + | + | + |
| 07 | +/- | + | + |
| 08 | + | + | + |
| 09 | + | + | + |

+ : réaction positive - : réaction négative +/- : faible croissance

01, 02, 03... : numéro d'isolat.

c. Test de thermorésistante

L'exposition des isolats à une température de 63.5°C pendant 30 min permet de révéler que la majorité des isolats ne supportent pas cette température à l'exception des isolats 01, 02, 04 05 et 12.

Tableau 23: résultats de test de thermorésistante

| Echantillons | Thermorésistante 63.5°C |
|--------------|-------------------------|
| 01 | - |
| 02 | + |
| 03 | - |
| 04 | - |
| 05 | - |
| 06 | + |
| 07 | + |
| 08 | + |
| 09 | + |

Chapitre III : Résultats et discussion

d. Test de croissance à différents pH

Tous les isolats ont pu se développer dans un milieu acide (pH 4.5) et par contre on a noté une croissance chez seulement 11% (1/09) isolats dans un milieu alcalin (pH 9.6)

Tableau 24: Résultat du test de croissance à différents pH

| Echantillons | Ph | |
|--------------|-----|-----|
| | 9.6 | 4.5 |
| 01 | + | + |
| 02 | + | + |
| 03 | - | + |
| 04 | + | + |
| 05 | + | + |
| 06 | + | + |
| 07 | + | + |
| 08 | + | + |
| 09 | + | + |

e. Culture sur milieu hypersalé

Les résultats des tests montrent que tous les isolats ont pu croître en présence de 4% et 6.5% de NaCl à l'exception des isolats 04 (4%), 01, 04 et 08 (6.5%).

Tableau 25: Résultats du test de culture sur milieu hypersalé

| Echantillons | NaCl | |
|--------------|------|------|
| | 4% | 6.5% |
| 01 | + | - |
| 02 | + | + |
| 03 | + | + |
| 04 | - | - |
| 05 | + | + |
| 06 | + | + |
| 07 | + | + |
| 08 | + | - |
| 09 | + | + |

Chapitre III : Résultats et discussion

f. Hydrolyse de l'esculine

L'hydrolyse de l'esculine se traduit par un noircissement sur milieu à esculine gélosé. Nous remarquons que tous les isolats se sont révélés positifs à ce test à l'exception d'01, 03,04, 08,09 .

Tableau 26: Résultats de l'hydrolyse de l'esculine

| Echantillons | Test de l'esculine |
|--------------|--------------------|
| 01 | - |
| 02 | + |
| 03 | - |
| 04 | - |
| 05 | + |
| 06 | + |
| 07 | + |
| 08 | - |
| 09 | - |

Chapitre III : Résultats et discussion

| Echantillon | Gram | Catalase | Forme | NaCl | | Ph | | Thermo résistance | Température | | | Type fermentaire | Esculine | Identification |
|-------------|------|----------|---------|------|-------|-----|-----|-------------------|-------------|------|------|------------------|----------|----------------------|
| | | | | 4% | 6,50% | 9,6 | 4,5 | 63.5 °C | 10 C° | 37°C | 45°C | | | |
| 01 | + | - | Coque | + | - | + | + | - | + | + | + | Homo | - | <i>Enterococcus</i> |
| 02 | + | - | Bacille | + | + | + | + | + | +/- | + | - | Hétero ++ | + | <i>Lactobacillus</i> |
| 03 | + | - | Coque | + | + | - | + | - | + | + | + | Hétero ++ | - | <i>Leuconostoc</i> |
| 04 | + | - | Coque | - | - | + | + | - | +/- | + | - | Hétero ++ | - | N.D |
| 05 | + | - | Bacille | + | + | + | + | - | +/- | + | - | Hétero + | + | <i>Lactobacillus</i> |
| 06 | + | - | Coque | + | + | + | + | + | + | + | + | Homo | + | <i>Enterococcus</i> |
| 07 | + | - | Bacille | + | + | + | + | + | +/- | + | + | Hétero + | + | <i>Lactobacillus</i> |
| 08 | + | - | Coque | + | - | + | + | + | + | + | + | Hétero + | - | <i>Leuconostoc</i> |
| 09 | + | - | Coques | + | + | + | + | + | + | + | + | Homo | - | <i>Enterococcus</i> |

+ : Résultat Positif

N.D = Non Déterminer

- : Résultat Négatif

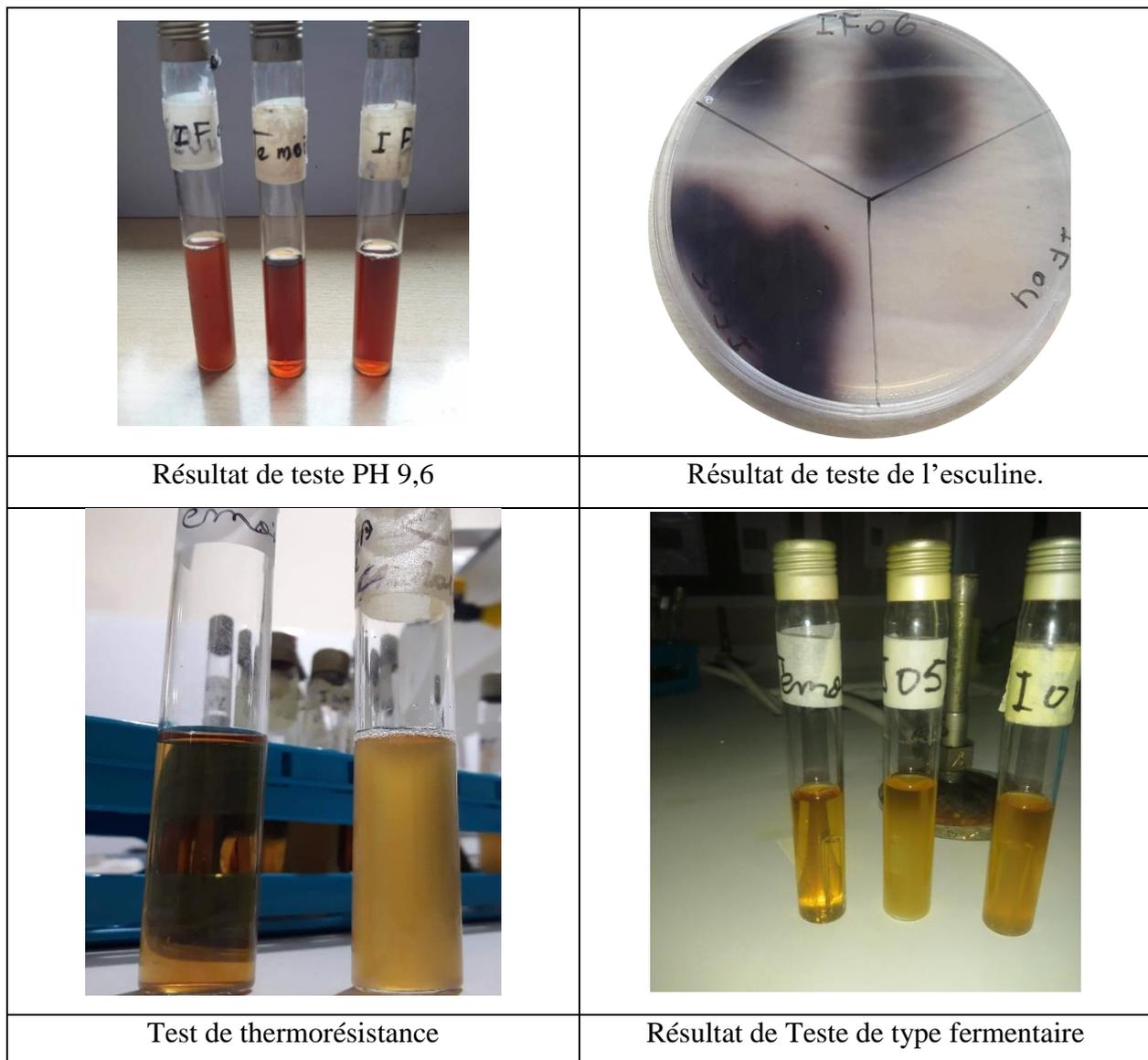


Figure 27 : Résultat des tests phénotypiques

• Le profil fermentaire

L'identification biochimique des différents isolats est basée principalement sur la réponse aux différents tests microbiologiques effectués. La pré-identification est suivie par l'étude des propriétés fermentaires des sucres par les isolats entre autre le profil fermentaire des sucres qui a concerné uniquement les Lactobacilles et Entérocooccus. L'identification est faite en comparant les profils obtenus avec ceux des souches de référence trouvés dans la bibliographie et dans le Bergey's manual of systematic bacteriology (Lopez et Mayo, 1994; Mathara et al., 2004; Lee et al., 2006)

Chapitre III : Résultats et discussion

Galerie API 50 CH est constituée de 50 microtubes permettant l'étude de la fermentation de substrat, appartenant à la famille des hydrates de carbone et dérivés (hétérosides, polyalcools, acides uroniques). Les tests de fermentation sont inoculés avec API 50 CHL Medium ou API 50 CHB/E Medium qui réhydrate les substrats.

Durant la période d'incubation, la fermentation se traduit par un changement de couleur dans le tube, dû à une production d'acide en anaérobiose révélée par l'indicateur de pH du milieu choisi. Le premier tube, sans principe actif, sert de témoin négatif.

La galerie API 50 CH peut être utilisée pour étudier deux autres voies :

- l'oxydation se traduisant par un changement de couleur dans la cupule, dû à une production d'acide en aérobie révélée par l'indicateur de pH du milieu choisi.
- l'assimilation se traduisant par une croissance du microorganisme dans la cupule quand le substrat est utilisé comme seule source de carbone présente.



Figure 28 : Résultat de la souche 02

Chapitre III : Résultats et discussion

2. Discussion.

2.1. Ph :

-Selon la FAO, (1995), le pH du lait de vache est compris à 20°C varie entre 6,6 et 6,8.

La valeur de pH (6,64) dans la présente étude a été proche aux normes rapportées.

Selon Mathieu (1998), le pH du lait varie d'une espèce à l'autre et dépend, pour une espèce donnée, de la richesse de son lait en certains constituants, plus particulièrement en phosphates, citrates et caséines. Or il est connu que le lait de brebis est particulièrement riche en ces constituants par rapport à celui des autres ruminants (**Mathieu, 1998 et Chilliard et Sauvart, 1987**).

2.2. L'acidité :

-Selon la FAO, (1995), L'acidité du lait cru et normal est de **16 à 18° D** la teneur en acidité (17°D), donc le résultat sont en accord avec les normes.

L'acidité du lait est influencée par certains facteurs tels que les conditions hygiéniques et climatiques (température) ainsi que le stade de lactation (**Pavic et al., 2009**).

2.3. Taux matière grasse :

-La teneur en matière grasse selon la FAO de **3.6% à 4.4%** de matière grasse.

La valeur de matière grasse (**30%**) dans la présente étude a été proche aux normes

La MG dans le lait est en relation avec l'alimentation et le stade de lactation. (**Pavic et al., 2009**).

2.4. Le point de congélation :

Dépend uniquement de la concentration des substances dissoutes. Plus cette concentration est élevée, plus le point de congélation est bas. Le point de congélation diminue avec la concentration du lait en nutriments. Il permet de mettre en évidence toute addition d'eau.

Selon la FAO, (1995), Le point de congélation du lait de vache se situe en moyenne à **-0,520°C**.

La valeur point de congélation (-0,517) dans la présente étude a été proche aux normes

2.5. Taux protéique

La part protéique a un impact majeur sur la valeur nutritionnelle et technologique du lait. Entre autres, elle est considérée comme étant la matière utile du lait en technologie fromagère.

La valeur de taux protéine (**28% à 32%**) dans la présente étude a été diminuée aux normes

Chapitre III : Résultats et discussion

Cette valeur reste inférieure à la valeur décrite par la FAO (1995) qui est de l'ordre de (3,6 %) pour le lait de vache

II. Isolement et identification des bactéries lactiques .

Dans un deuxième temps nous nous sommes dirigés vers l'objectif de notre étude qui est l'isolement et l'identification des bactéries lactiques.

Les isolats des bactéries lactiques ont été isolés à partir du lait de vache. On a obtenu 9 isolats.

Les milieux de cultures ont été effectués sur le milieu MRS et M17 et milieu au lactate, doivent être très riches en sucres, en matières azotées et surtout en facteurs de croissance (**Pilet *et al.*, 2005**).

L'observation microscopique a révélée deux formes de cellules Coques et Bâtonnets, disposées par paire (diplocoques), en chainettes et en amas.

L'étude des principaux caractères morphologiques, biochimiques et physiologiques ont montré une diversité de genres isolés à partir du lait de vache.

Les résultats d'identification de cette étude montrent une présence majoritaire de coques avec 67,67% par rapport aux bacilles qui sont à des pourcentages de 33,33 %, Le même type de résultats est apporté par **Franciosi *et al.* ; 2009 ; Cheriguene A. 2008 ; Bekhouche F. Boulahrouf A. 2005 et Kacem M *et al.*, 2002**.

Les espèces lactiques de lait de vache sont très variées. Notre présente étude a permis d'isoler et identifier 12 souches ont été rattachés à 3 groupes de bactéries lactiques réparties essentiellement entre de *Lactobacillus* 33,33 %, la même constatation a été mentionné par **Benslimane, 2019**, et de 11,11 N.D .et de *Enterococcus* 33,34 % et de *Leuconostoc* 22,22 %, Nos résultats concordent avec ceux de (**Bekhouche et Boulahrouf, 2005**).

Une étude similaire a démontré la présence de différentes espèces de bactéries lactiques appartenant aux genres lactobacilles, *Leuconostoc*, *Enterococcus* dans le lait de vache (**Lairiniet *al.*, 2014**).

Le test de la dégradation des carbohydrates par les galeries API 50 CHL a été étudié est confirmer les résultats des tests physiologiques et biochimiques des isolats et pu identifier les genres des bactéries lactique isolées.

Chapitre III : Résultats et discussion

A travers cette étude, nous avons tenté d'apporter une contribution à la caractérisation et l'identification des souches lactiques à partir de lait cru de la vache provenant de région située dans la wilaya de Relizane (Zamora).

Après isolement, purification et détermination des caractéristiques morphologiques, physiologiques et biochimiques (identification). Nous avons pu obtenir neuf isolats différentes.

D'après les résultats de l'étude, on a démontré que le lait cru de vache de la région Ouest d'Algérie exacte dans Zemoura la wilaya de Relizane riche en plusieurs genres des bactéries lactiques comme les les Enterococcus, les Lactobacillus et les Leuconostoc.

Ces isolats peuvent être exploitées pour la confection d'un starter de culture qu'on utilise dans la fabrication des aliments (le fromage, le yaourt).

Les résultats de caractérisation obtenus, on a permis d'avoir une idée sur la nature de la flore lactique présente dans le lait de vache, et on conclure que la majorité des genres des bactéries lactiques sont présente dans le lait cru de vache.

**Les références
Bibliographiques**

Adrian 1973, Valeur alimentaire du lait. La maison Rustique .Paris

Amellal R., 1995. La filière lait en Algérie: entre l'objectif de la sécurité alimentaire et la réalité de la dépendance. Les agricultures maghrébines à l'aube de l'an 2000. Options Méditerranéennes, Série B 14.

AMIOT J., FOURNER S., LEBEUF Y., PAQUIN P., SIMPSON R.,

Anonyme. Éditeur Inconnu. Année 2019. Dimensions L.220 H.138 P.108

Alais (1985) : Milk protein : biochemical and biological aspects.

Alais C. (1975). Sciences du lait. Principes des techniques laitières. Edition Sepaic, Paris.

Axelsson L. T. (2004). Lactic Acid Bactéria: classification and physiology. In Lactic Acid Bacteria-microbiology and functional aspects. Edited by S. Salminen, Av. Wrigh et A Ou we hand Marcel Dekker, Inc. 1-66

Badis A., Laouabdia-Sellami N., Guetarni D., Kihal M. et Ouzrout R. (2005).

Caractérisation phénotypique des bactéries lactiques isolées à partir de lait cru de chèvre de deux populations caprines locales « Arabia et Kabyle ». Sci et Technol.23 :30-37.

Bekhouche F. (2006). Bactéries lactiques du lait cru de vache et Microorganismes petionolytiques des olives noires et vertes : 1. Isolement et Identification Biochimique. 2.Evaluation et Optimisation de la production d'enzyme Polygalacturonase. Thèse présenté pour obtenir le grade de Docteur en Microbiologie et Enzymologie, Option : Génie alimentaire. Université de Docteur en Microbiologie et Enzymologie, Option : Génie alimentaire. Université de Mentouri Constantine. P21, 24,27.

Boclé J-C Et Thomann C. (2005). Effets des probiotiques et prébiotiques sur la flore et l'immunité de l'homme adulte. Afssa (agence française de sécurité sanitaire des aliments) Nancy. P 19.

Bolotin, A., Wincker, P., Manger, S., Jaillon, O., Malarme, K., Weissenbach, J., Ehrlich, S. D. & Sorokin, A. (2001). The complete genome sequence of the lactic acid bacterium *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* IL1403. *Genome Res* 11, 731-753.

Bonaiti-Pellié. I.N.S.E.R.M. U. 155 - Château de Longchamp, Bois de Boulogne 1985 - 75016

Biavati B, Vescovo M, Torriani S & Bottazzi V. (2000). Bifidobacteria : history, ecology, physiology and application. *Annals of Microbiology*, 50, 117-131.

Broadbent J.R., 2001. Genetics of Lactic Acid Bacteria. In: *Applied Dairy Microbiology* (Marth E.H. ET Steele J.L.). 2 e Ed., Marcel Dekker, Inc. New York. 243-300

C. Brule¹, Jason Burgess¹ +3 more•Institutions (1) 05 Aug 1989-*Journal of Biological Chemistry* RIS - France.

Carr F.J., Chill D., Maida N. 2002. The lactic Acid Bacteria : A Literature survey. *Critical Rev. Microbiol.*28 :281-370. ²

Casalta, E. (2003). Bases scientifiques de la qualité du Venaco, fromage traditionnel au lait cru. Mise au point de ferments sélectionnés spécifiques: Thèse de Doctorat à l'Institut National de la Recherche Agronomique. Laboratoire de Recherches sur le Développement de l'Élevage, Corté, France.

CELANO, G.V., CAFARCHIA, C., BUJA, F. and TIECCO, G. 1992. Ricerca di amine biogene in alcuni formaggi. *Ind. Aliment.* 31, 764–768.

Charles Alais. Société d'édition et de publicité agricoles industrielles et commerciales, 1975 - Dairy bacteriology

Coulon JB, Chilliard Y, Rémond B (1991) Effets du stade physiologique et de la saison sur la composition chimique du lait de vache et ses caractéristiques technologiques (aptitude à la coagulation, lipolyse). *INRA Prod Anim* 4, 219-228

COTON, E., ROLLAN, G., BERTRAND, A. and LONVAUD-FUNEL, A.1998. Histamine-producing lactic acid bacteria in wines: Early detection, frequency and distribution. *Am. J. Enol. Vitic.* 49, 199–204.

Dellaglio F., de Roissard H., Torriani S., Curk M.C., Janssens D., (1994). Caractéristiques générales des bactéries lactiques. Dans : Bactéries lactiques. Vol 1. De Roissard H et Luquet FM (ed). Lorica : Uriage.25-116

De Roissart, H. et Luquet, F.M. (1994). Les bactéries lactiques. Uriage, Lorica, France, 1 :1-286.

Desmaures, N. (1995). Étude des laits de haute qualité: caractéristiques et aptitude microbiologique à la transformation en camembert au lait cru: these de doctorat de l'université de Caen, France.

Devriese, L.A., Vancanneyt, M., Descheemaeker, P., Baele, M., Van Landuyt, Dong X, Xin Y, Jian W, Liu X & Ling D. (2000). Bifidobacterium thermacidophilum sp. *Evolutionary Microbiology* (2000), 50, 119-125.

Duwat, P. S., S Cesselin, B Lambert, G Vido, K Gaudu, P Le Loir, Y Violet, F Loubière, P Gruss, A. (2001). Respiration capacity of the fermenting bacterium *Lactococcus lactis* and its positive effects on growth and survival. *J Bacteriol* 183,4509-4509-4516

Dror, R. Lasenby, and M. Pospelov, Phys. Rev. Lett. 119, 141803 (2017).

Dror, R. Lasenby, and M. Pospelov, Phys. Rev. D 96, 075036 (2017).

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

FAO. (1995). Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine. Collection FAO Alimentation ET nutrition n°28

E. ET OUHSSINE M. (2009). Étude physico-chimique et Microbiologique de laits crus. *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*, 2009, 148. P: 7-16.

EDWARDS, S.T. and SANDINE, S.L. 1981. Microbial metabolites of importance in dairy products. *J. Dairy Sci.* *64*, 2431–2438.

FREDOT E., (2005) Connaissance des aliments-Bases alimentaires et nutritionnelles de la diététique, Tec et Doc, Lavoisier:10-14 (397 pages).

Fox et Morrissey, Département of chemistry food university college, Cork,Irish republic ,journal of dairy reserche 1981 ,44,627-646 .

GAUCHERON F., TANGUY G. UMR1253 science et technologie du lait et de l'oeuf, INRA - Agrocampus Ouest, 65 rue de Saint Briec, 35042 Rennes, France

GARG, S.K. and MITAL, B.K. 1991. Enterococci in milk and milk products. *Crit. Rev. Microbiol.* *18*, 15–45.

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. 73 pages.

GLÓRIA, M.B.A., WATSON, B.T., SIMON-SARKADI, L. and DAESCHEL, M.A. 1998. A Survey of biogenic amines in Oregon Pinot noir and **HALÁSZ, A., BARÁTH, A., SIMON-**

Guiraud J. P., (1998). Microbiologie alimentaire. Ed. DUNOD, Paris.

Guiraud J.P, 2003. Microbiologie Alimentaire. Dunod. Paris. 651p.

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. Loquet F. M. Edition Tec et Doc Lavoisier, Paris

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, Pari

Gregory, R. and Hutchesson, P. (1975) The Parliamentary Ombudsman: A Study in the Control of Administrative Action. Allen and Unwin, London, 2.

Grappin, R, Pochet, S, Le lait, 1999, P 3-22.

H. W., Gordts, B., Butaye, P., Swing, J., et Haesebrouck, F.,(2002). Differentiation and identification of *Enterococcus durans*, *E. hirae* and *E. villorum*. *Journal of Applied Microbiology* 92: 821-827.

HEGAZI, F.Z. 1991. Factors influencing the synthesis of an extracellular proteinase by *Enterococcus faecalis* ssp. *liquefaciens*. *Nahrung* 35, 841–848.

Hoden, A., & Maîtrise, J. C. (1991). Maîtrise de la composition du lait : influence des facteurs nutritionnels sur la quantité et les taux de matières grasses et protéiques (1) Maîtrise de la composition du lait : 1.

Jacquet,A. (2009). Immunomodulatory properties of *Lactobacillus plantarum* and its use as a recombinant vaccine against mite allergy. *Allergy* 64,406-414

JOOSTEN, H.L.M.J. and NORTHOLT, M.D. 1989. Detection, growth and amine-producing capacity of lactobacilli in cheese. *Appl. Environ. Microbiol.* 55, 2356–2360.

Kilian M. (2002). *Streptococcus* and *Enterococcus*. *Bacterial pathogens and associated diseases*, N°16.174-188.

Klein G., (2003). Taxonomy, ecology and antibiotic resistance of enterococci from food and the gastro-intestinal tract. *Int. J. Food Microbiol.* 88: 123-131.

Klein G., Pack A., Bonaparte C., Reuter G., (1998). Taxonomy and physiology of probiotic lactic acid bacteria *International Journal of Food Microbiology*. 41: 103-125.

Kotelnikava EA,et Gelfand MS.2002, Bacteriocin production by Gram positif bacteria and the Mechanisms of Transcriptional Regulation, *Russian J,Genetics*,38(6):628-641,translated from *genetika*,38(6):758-772

L’agriculture, O. des N. U. pour l’alimentation et. (1995). Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine - Laites d’animaux laitiers. In *FAO : Alimentation et nutrition* (p. 271 pp). <http://www.fao.org/docrep/T4280F/T4280F04.htm>

LABIOUI H., LAAROUSI E., BENZAKOUR A., EL YACHIOUI M., BERNY Pougheon, S. (Ecole N. V. de T. (1974). Contribution à l'étude des variations de la composition du lait et ses conséquences en technologie laitière. 102.

LANDETE, J.M., FERRER, S., POLO, L. and PARDO, I. 2005b. Biogenic amines in wines from three Spanish regions. *J. Agric. Food Chem.* 53, 1119–1124.

Larpent J-P., (1997). « Microbiologie alimentaire. Techniques de laboratoire. Paris: Technique et documentation », 273 p. (Boudier et Luquet, 1981).

Laurent, S. (1998). Manuel de bactériologie alimentaire. Poly technica Paris. 307 pages. Le codex Alimentarius (CODEX STAN 206-1999).

Leveau J.Y., Bouix M., Deroissart H., (1991). La flore lactique. In : Techniques d'analyse et **Luquet F. M. (1985).** Lait et produits laitiers-Vache, brebis, chèvre. Tome 1 : Les laits De la mamelle à la laiterie. Tech. & Doc., Coll. STAA, Lavoisier, Paris.

Leahy S.C Higgins D.G., Fitzgerald G.F and Van Sinderen, D (2005). Getting better with bifidobacterial: a review. *J. Appl. Microbiol.*, 98: 1303-1335

LANET Stephanie. William J. and James M. Utterback. 2005. "Patterns of Industrial Innovation." *Technology Review* 80:40

LINDEN, G. les enzymes in CEPIL. LE lait matiere premiere de l'industrie laitiere, CEPIL-INRA, paris, 1987, 121-127

Marchal, N., Bourdon, J. L. et Richard, CL. (1991). Les milieux de culture pour l'isolement et l'identification biochimique des bactéries. 3 èmeEd. Doin éditeurs, Paris.

Marchal, L.V.m., Laws, A, P., Gu, Y., Levander, f., radstrom, P., De Vuyst., Degeest, B., Veningel gem, F.,Dunn, H. and Elvin, M.(2001). Exopolysaccharides producing strains of thermophilic lactic acid bacteria cluster into groups according to their EPS stractus. *Lett. App. Mic.* 32, (6) :433-437.

MAFRA, I., HERBERT, P., SANTOS, L., BARROS, P. and ALVES, A. 1999. Evaluation of biogenic amines in some Portuguese quality wines by HPLC fluorescence detection of OPA derivatives. *Am. J. Enol. Vitic.* 50, 128–132.

MOELLER, V. 1954. Distribution of amino acid decarboxylase in Enterobacteriaceae. *Acta Pathol. Microbiol. Scand.* 35, 259–277.

Makarova KS, Wolf YI, Koonin EV. The basic building blocks and evolution of CRISPR-cas systems. *Biochem Soc Trans.* 2006 41:1392–400. pmid:24256226

Makarova KS, Wolf YI, Alkhnbashi OS, Costa F, Shah SA, Saunders SJ, et al. An updated evolutionary classification of CRISPR-Cas systems. *Nat Rev Microbiol.* 2006; 13:722–36. pmid:26411297

Makarova KS, Wolf YI, Iranzo J, Shmakov SA, Alkhnbashi OS, Brouns SJJ, et al. Evolutionary classification of CRISPR-Cas systems: a burst of class 2 and derived variants. *Nat Rev Microbiol.* 2007;18:67–83. Pmid:31857715

MAHAUT M., JEANTET R., BRULÉ G. 2000. Les produits laitiers. LONDRESPARIS- NEW YORK : Lavoisier, Tec & Doc.

MARTIN B., COULON, J.B. (1995) : “Facteurs de production du lait et caractéristiques des fromages. II. Influence des caractéristiques des laits de troupeaux et des pratiques fromagères sur les caractéristiques du reblochon de Savoie fermier”, *lait*, 75, 133-149.

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

MAURICE, Y. (1998). Analyse industrielle de la laiterie Shola : points critiques et facteurs de risques sanitaires. Rapport CIRAD-EMVT n0 96057, septembre 1996, Montpellier, France, p.43

Mahaut Michel, Romain Jeantet et Gérard Brulé, Initiation à la technologie fromagère, Lavoisier Tec & Doc, 2000, p 194.

MOUILLET, L., LUQUET, F. M., & CASALIS, J. (1975). Contribution à l'étude

des variations de la teneur en sels minéraux du lait de vache dans différentes régions françaises. *Le Lait*, 55(549–550), 683–694. <https://doi.org/10.1051/lait:1975549-55038>

Mottram DS, RG Berger. The Maillard reaction: source of flavour in thermally processed foods, *Flavours and Fragrances: chemistry, bioprocessing and sustainability*, 2007 BerlinSpringer-Verlag(pg. 269-284)

Mottram DS, Wedzicha BL, Dodson AT. Acrylamide is formed in the Maillard reaction, *Nature*, 2002, vol. 419 (pg. 448-449)

Ministère de la Santé, Ministère des Soins de Longue durée (Ontario canada) : health.gov.on.ca/fr/public/programs/publichealth/foodsafety/milk_facts.aspx

Pilet M-F., Magras Catherine et Michel Federighi, (2005). Bactéries lactiques In bactériologies alimentaire « compendium d'hygiène des aliments » Federighi L. *Economica*, pp : 219-242.

Production, U. M. R. (2007). Effet des nutriments énergétiques sur la production et la teneur en matière grasse du lait de vache. 20(2), 163–176.

Romain, A.J., Longpre'-Poirier, C., Tannous, M., Abdel-Baki, A., 2008b. Preferences of physical activity and perception of health behaviour in early psychosis individuals. In: Presented at the Early Intervention in Psychiatry. Wiley-Blackwell, Milan, p. 193.

Royaume-Uni : www.vidal.fr/actualites/21865-intoxication-alimentaire-a-campylobacte: TOXICATION ALIMENTAIRE À CAMPYLOBACTER APRÈS CONSOMMATION DE LAIT CRU AU PAYS DE GALLES.

Rigaux, P., Daniel, C., Hisbergues, M., Muraille, E., Hols, P., Pot, B., Pestel, J.&

SARKADI, L. and HOLZAPFEL, W.1994. Biogenic amines and their production by micro-organisms in food. *Trends Food Sci. Technol.* 5, 42–48.

SAMBROOK, J., FRITSCH, E.F. and MANIATIS, T. 1989. *Molecular Cloning. A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY.

Sandine, W. E., K. S. Muralidhara, P. R. Elliker, and D. C. England, 1972.

Lactic acid bacteria in food and health: A review with special reference to enteropathogenic *Escherichia coli* as well as certain enteric diseases and their treatment with antibiotics and lactobacilli. *J. Milk Food Technol.* 35:691-692.

Stiles M.E. and Holzapfel W.H., (1997). Review article Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy. *Int. J. Food Microbiol.* 36 : 1-29.

STRAUB, B.W., KICHERER, M., SCHILCHERT, S.M. and HAMMES, W.P.1995. The formation of biogenic amines by fermentation organisms. *Z. Lebensm.-Unters.-Forsch.* 201, 79–82.

Vilain, A. C. (2010). What's milk? *Revue Francaise d'Allergologie*, 50(3), 124–127. <https://doi.org/10.1016/j.reval.2010.01.032>

TAKAHASHI, H., KIMURA, B., YOSHIKAWA, M. and FUJII, T. 2003. Cloning and sequencing of the histidine decarboxylase genes of Gram-negative, histamine-producing bacteria and their application in detection and identification of these organisms in fish. *Appl. Environ. Microbiol.* 69, 2568–2579.

TURGEON H. 2002. Composition, propriétés physicochimiques, valeur nutritive, qualité technologique et techniques d'analyse du lait In VIGNOLA C.L. Science et technologie du lait -Transformation du lait, École polytechnique de Montréal, 600 p.

Vandamme P., Pot B., Gillis M., De Vos P., Keresters K. et Swings J., (1996). Polyphasic taxonomy, a consensus approach to bacterial systematic. *Microbiol.Rev.* 60 : 407.

WESSELS, D., JOOSTEN, P.J. and MOSTERT, J.F. 1990. Technologically important characteristics of *Enterococcus* isolates from milk and dairy products. *Int. J. Food Microbiol.* 10, 349–352.

ZADI-KARAM, H. and KARAM, N.-E. 2006. Bactéries lactiques du lait de chamelle d'Algérie: Mise en évidence de souches de *Lactococcus* résistantes au sel. *Tropicultura* 24(3), 153–156.

<http://www.fao.org/3/t4280f/T4280F04.htm#Chapitre%202%20Laits%20d'animaux%20laitiers>

<http://www.fao.org/3/a1250e/annexes/CountryReports/Algeria.pdf> **Rapport**

National sur les Ressources Génétiques Animales : Algérie

<https://fr.statista.com/statistiques/990816/evolution-de-l-elevage-bovin-en-algerie/>

<https://fr.db-city.com/Alg%C3%A9rie--Mostaganem--Hassi-Mameche>

<https://api.swissmilk.ch/wp-content/uploads/2019/05/informations-specialisees-le-lait-source-precieuse-de-proteines-et-de-matiere-grasse-nutrition-fr.pdf>

Les annexes

Annexe 1 : Préparation NaOH (0.1 N) et (3N)

Masse Moléculaire de l'NaOH =40g

a- **NaOH 0.1N**

1N → 40g

0.1N → X

$X=4g / L \Rightarrow$ pour 100ml on est besoin 0.4g.

Mettre 0.4g d'NaOH et on remplir avec du l'eau distillé jusqu'à 100ml.

b- **NaOH 3N**

1N → 40g

3N → X

$X = 120g / L \Rightarrow$ Pour 100ml on est besoin 12g.

Mettre 12g d'NaOH et on remplir avec d'eau distillé jusqu'à 100ml.

Annexe 2 : Préparation HCL (4N) et (3N)

Masse moléculaire d'Hcl = 36.5g

a- **Hcl 3N**

$$VL = \frac{Pm * N * 100}{(C.D.H)} \Rightarrow VL_{HCL (3N)} = \frac{36.5 * 3 * 100}{(37 * 1.18 * 1)} = 250 \text{ g/L}$$

250g → 1000ml

X → 100ml

X= 25 g

Mettre 25 g d'Hcl et on remplir avec d'eau distillé jusqu'à 100ml.

$$VL = \frac{Pm * N * 100}{(C.D.H)} \Rightarrow VL_{HCL (4N)} = \frac{36.5 * 4 * 100}{(37 * 1.18 * 1)} = 334.40 \text{ g/L}$$

334.40g → 1000ml

X → 100ml

X = 33.44 g

Mettre 33.44g d'Hcl et on remplir avec d'eau distillé jusqu'à 100ml.

Pm : Poids moléculaire HCL

N : Normalité

C : Concentration HCL

D : Densité de HCL

H : Nombre d'hydrogène de HCL3

Annexe 3 : Dénombrement des colonies

Cas ou les boites contenant de 15 à 300 colonies

Retenir les boites contenant aux + 300 colonies au niveau de deux dilutions successives.

Il faut qu'une boite renferme au moins 15 colonies.les résultats sont exprimés selon la formule suivante :

$$N = \frac{\Sigma C}{(n1 + 0.1n2) d}$$

- **N** : est le nombre d'unité formant colonie (Ufc/μl).
- **ΣC**: est la somme des colonies comptées sur les boîtes.
- **n1** : le nombre des spots comptés à la dilution la plus faible.
- **n2** : le nombre de spots retenus à la dilution la plus élevée.
- **d**: la valeur correspondant à la dilution à partir de laquelle les premiers Dénombrements ont été retenus.

Annexe 4: Compositions des milieux de culture utilisés

➤ **Milieu MRS (Man, Rogasa et Sharpe) (pH 6,5)**

| | |
|--------------------------------|---------|
| - Peptone | 10 g |
| - Extrait de viande | 10 g |
| - Extrait de levure | 5 g |
| - Glucose | 20 g |
| - Tween 80..... | 1 mL |
| - Phosphate bipotassique | 2 g |
| - Acétate de sodium | 5 g |
| - Citrate d'ammonium | 2 g |
| - Sulfate de magnesium, | 0,2 g |
| - Sulfate de manganèse | 0,5 g |
| - Agar | 15 g |
| - Eau distillée qsp | 1000 mL |

Le milieu est stérilisé à 121°C durant 15 min

➤ **Milieu M17 (pH 7,2)**

- Peptone papainique de soja 5 g
- Peptone pepsique de viande 2,5 g
- Peptone trypsique de caséine 2,5 g
- Extrait de viande 5 g
- Extrait de levure 2,5 g
- Glycérophosphate de sodium 19 g
- Sulfate de magnésium, 7H₂O 0,25 g
- Acide ascorbique 0,50 g
- Agar-agar 15 g
- Eau distillée qsq 950 mL

Le milieu est stérilisé à 121°C durant 15 min.

➤ **Eau physiologique (pH 7)**

- Chlorure de sodium 9 g
- Eau distillée qsp 1000 mL

Le milieu est stérilisé à 121°C durant 15 min.

➤ **Bouillon MRS (Man, Rogasa et Sharpe)**

- Peptone 10 g
- Extrait de viande 10 g
- Extrait de levure 5 g
- Glucose 20 g
- Tween 80..... 1 mL
- Phosphate bipotassique 2 g
- Acétate de sodium 5 g
- Citrate d'ammonium 2 g
- Sulfate de magnésium, 0,2 g
- Sulfate de manganèse 0,5 g
- Eau distillée qsp 1000 mL

Le milieu est stérilisé à 121°C durant 15 min.