



DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par

**M. BENOTMANE Kamel**

Pour l'obtention du diplôme de

**MASTER EN BIOLOGIE**

**Spécialité: Production & Transformation laitière**

THÈME

**Etude des Interactions entre Bactéries  
Lactiques, et leurs Aptitudes Technologiques  
au sein d'une Communauté**

Soutenue publiquement le ...../...../2018

DEVANT LE JURY

Président	M. BEKADA	Professeur	U. Mostaganem
Encadreur	M. NEMICH	Professeur	U. Mostaganem
Co-Encadreur	Mme. MEGHOUFEL	Doctorante	U. Mostaganem
Examineurs	Mme. TEHALAITI	M.A.A	U. Mostaganem
	M. DAHOU	Docteur	U. Mostaganem

*Thème Réalisé au laboratoire de Recherche en Sciences Techniques & Production Animale  
(LSTPA), Mostaganem.*

2017 - 2018

# Remerciements



Mes remerciements vont tout d'abord :

- A *Dieu*, tout puissant, source de toute connaissance.
- A mon directeur de mémoire, **Mr. NEMMICHE S.**, Professeur à l'université de Mostaganem, pour son aide, ses conseils avisés et éclairés tout au long de la rédaction de ce mémoire.
- A ma co-directrice **M<sup>lle</sup>. MGHOUFEL Naïma**, Doctorante à l'université de Mostaganem, qui m'a supervisé tout au long de ce travail, aussi pour sa patience, sa disponibilité et surtout ses connaissances, qui ont contribué à alimenter ma réflexion afin de mener ce travail à bon port et enfin pour son amitié.
- Au premier responsable de la structure d'accueil (laboratoire de recherche en sciences techniques & production animale), **Mr. HOMRANI AEK.**, Directeur de laboratoire et Professeur à l'université de Mostaganem, pour sa contribution en termes de transmission d'informations. Qu'il trouve ici un hommage vivant à sa haute personnalité.
- Aux membres du jury, pour l'intérêt qu'ils ont porté à cette étude en acceptant d'examiner et d'évaluer ce travail, et plus particulièrement **Mr. BEKADA A**, Président du jury et Professeur à l'université de Tissemsilet, ainsi que **Mme. TEHALATI Hafida**, Maitre assistante à l'université de Mostaganem, qui a bien voulu examiner ce travail.
- Un très grand merci à **Mr. DAHLOUM H**, Docteur à l'université de Mostaganem, pour son aide inestimable pour l'étude statistique des résultats obtenus au cours de ce mémoire.
- A l'équipe pédagogique de l'établissement, pour la richesse et la qualité des enseignements fournis tout au long de l'année.
- Je remercie également tout le personnel du laboratoire d'accueil, en particulier **Mr. HARRAT N.**, pour le soutien technique et la bonne humeur. Ma gratitude va aussi vers les amis et collègues d'étude qui m'ont apporté leur soutien moral et intellectuel tout au long de ma démarche. Ici un petit clin d'œil à mes amis : **ARABI A, BOUTEBAL A, TAYEB Chérifa** et **MEZADJA Karima**.
- Un autre immense remerciement à celle qui fait mon bonheur, ma mère, sans oublié mes frères, mes sœurs, et ma belle-sœur.
- Et pour finir, j'adresse aussi un grand remerciement à mon ami et frère de longue date **DJAMEL**, pour son soutien, sa présence et ses encouragements.

*Kamel*

# Dédicace

*Je dédie ce modeste travail :*

- A la mémoire de mon défunt père,
- A ma très chère mère, source de tendresse et de générosité, que dieu tout puissant puisse t'accorder santé, bonheur et longue vie.
- A mes très chers frères et adorables sœurs et belle-sœur, pour leurs encouragements permanents et leurs supports.
- A mes cher(e)s ami(e)s et collègues surtout : *Djamel, Abed, Abdennour, Hakim, Khilil, Hbib, Dehmane, Houari, Madjid, Karima et Chérifa*, en témoignage de l'amitié et des souvenirs qui nous ont unis.
- A toutes les personnes qui se sont intervenues dans ma vie de près ou de loin, tout ceux qui par un mot m'ont donné la force de continuer et m'ont permis de réussir mes études, je leur témoigne ici amour sincère et fidélité.

Merci d'être toujours là pour moi.

**Kamel**

# Liste des tableaux

---

N° du tableau	Titre du tableau	N° de page
<b>Tableau 01</b>	Différenciation du genre <i>Pediococcus</i> du genre <i>Tetragenococcus</i> .	07
<b>Tableau 02</b>	Caractéristiques différentielles entre <i>Oenococcus oeni</i> et <i>Oenococcus kitaharae</i> .	10
<b>Tableau 03</b>	Identification et origine des souches de bactéries lactiques.	26
<b>Tableau 04</b>	Souches retenues pour la composition de la communauté.	29

# Liste des figures

---

N° de la figure	Titre de la figure	N° de Page
<b>Figure 01</b>	Arbre consensus, basé sur l'analyse comparative des séquences ARNr, montrant les principaux groupes phylogéniques de bactéries lactiques à faible mol % (G + C) et les genres Gram positifs non reliés ou apparentés <i>Bifidobacterium</i> et <i>Propionibacterium</i> .	03
<b>Figure 02</b>	Place des principaux genres de bactéries lactiques dans le phylum des <i>Firmicutes</i> .	05
<b>Figure 03</b>	Voies homofermentaire, hétérofermentaire et bifide de la dégradation du glucose.	14
<b>Figure 04</b>	Métabolisme du citrate conduisant à la formation du diacétyle.	15
<b>Figure 05</b>	Protocole de production d'acétoïne des 6 isolats lactiques sur milieu Clark et Lubs et lait écrémé.	30
<b>Figure 06</b>	Protocole de production d'acétoïne de la communauté sur milieu Clark et Lubs et lait écrémé.	31
<b>Figure 07</b>	Etapes d'étude de l'activité protéolytique des bactéries lactiques individuellement.	32
<b>Figure 08</b>	Etapes d'étude de l'activité protéolytique de la communauté.	33
<b>Figure 09</b>	Protocole suivi pour la réalisation du test d'acidification.	35
<b>Figure 10</b>	Suite du protocole de mesure du pH et du test d'acidification.	36

# Abréviations

---

- **Noms des genres bactériens**

*Bif.* : *Bifidobacterium*

*Ent.* : *Enterococcus*

*Lb.* : *Lactobacillus*

*L.* : *Lactococcus*

*Leu.* : *Leuconostoc*

*O.* : *Oenococcus*

*Ped.* : *Pediococcus*

*W.* : *Weisella*

- **Unités de mesures**

°C : degré Celsius, °D : degré Dornic

g : gramme

h : heure

ml : millilitre, mm : millimètre, µl : microlitre, µm : micromètre

% : pour Cent, S : Svedberg

- **Sigles**

**ADN** : Acide désoxyribonucléique

**AHL** : Acyl-homosérine lactone

**AIP** : Auto-inductor peptid

**ARN** : Acide ribonucléique

**ARNr** : Acide ribonucléique ribosomique

**ATP** : Adénosine triphosphate

**BL** : Bactérie lactique

**Ca<sup>2+</sup>** : Ion de Calcium

**CO<sub>2</sub>** : Dioxyde de carbone

**Com** : Communauté

**FML** : Fermentation malo-lactique

**G + C** : Guanine + Cytosine

**GRAS** : Generally Recognized as Safe

**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>** : Peroxyde d'hydrogène

**LSTPA** : Laboratoire de Recherche en Sciences Techniques et Production Animale

**MRS** : Milieu de Man Rogosa and Sharpe

**NaCl** : Chlorure de Sodium

**NaOH** : Hydroxyde de Sodium

**O<sub>2</sub>** : Oxygène

**PCA** : Plate Count Agar

**pH** : Potentiel d'hydrogène

**Subsp.** : sous espèce

**UFC** : Unité Formant Colonie

**UHT** : Ultra Haute Température

**VP** : Voges Proskauer

# Table des Matières

Introduction	1
--------------	---

## Partie Bibliographique

### Chapitre I : Les Bactéries Lactiques

I. Les Bactéries Lactiques	2
I.1. Définition	2
I.2. Principales caractéristiques	2
I.3. Habitat	2
I.4. Taxonomie et classification des bactéries lactiques	3
I.4.1. Méthodes phénotypiques de classification	4
I.4.2. Méthodes génotypiques de classification	4
I.4.3. Méthode Protéomique de classification	4
I.5. Principaux genres de bactéries lactiques	5
I.5.1. Description et caractéristiques des principaux genres de BL	6
I.5.1.1. Le genre <i>Lactobacillus</i>	6
I.5.1.2. Le genre <i>Pediococcus</i>	7
I.5.1.3. Le genre <i>Enterococcus</i>	8
I.5.1.4. Le genre <i>Leuconostoc</i>	8
I.5.1.5. Le genre <i>Oenococcus</i>	9
I.5.1.6. Le genre <i>Weissella</i>	10
I.5.1.7. Le genre <i>Streptococcus</i>	11
I.5.1.8. Le genre <i>Lactococcus</i>	11
I.5.1.9. Le genre <i>Bifidobacterium</i>	12
I.6. Métabolisme des bactéries lactiques	13
I.6.1. La glycolyse	13
I.6.2. Métabolisme du citrate	15
I.6.3. La protéolyse	16
I.6.4. La lipolyse	16
I.7. Aptitudes technologiques des bactéries lactiques	16
I.7.1. Pouvoir acidifiant	16
I.7.2. Pouvoir texturant	17
I.7.3. Pouvoir aromatisant	17
I.7.4. Aptitude protéolytique	17
I.7.5. Aptitude lipolytique	18
I.7.6. Pouvoir inhibiteur / antagoniste	18
I.8. Applications biotechnologiques des bactéries lactiques	18

## **Chapitre II : Les Interactions Bactériennes**

---

II. Les Phénomènes d'Interactions Entre Microorganismes	20
II.1. Définition	20
II.2. Les différents types d'interactions	20
II.2.1. Interactions positives	21
a. Commensalisme	21
b. Mutualisme	21
II.2.2. Interactions négatives	21
a. Amensalisme	22
b. Compétition	22
c. Parasitisme et prédation	22
II.2.3. Neutralisme	22
II.3. Communication cellulaire	23
a. Le Quorum-Sensing	23
b. Le Quorum-Quenching	23
II.4. Techniques d'étude des interactions	24
II.4.1. Cultures séquentielles	24
II.4.2. Cultures dialysées en Erlen-Meyer ou en fermenteur	24
II.4.3. Mise en œuvre de cultures mixtes	25

## **Partie Expérimentale**

## **Chapitre III : Matériel & Méthodes**

---

III. Matériel & Méthodes	26
III.1. Lieu et objectif de l'étude	26
III.2. Origine des souches utilisées	26
III.3. Milieux de cultures	27
III.4. Revivification des souches lactiques	27
III.5. Purification et pureté des souches	27
III.6. Conservation des souches	28
III.7. Mise en évidence des interactions entre souches de bactéries lactiques	28
III.8. Construction de la communauté	29
III.9. Etude des aptitudes technologique de la communauté modèle	29
III.9.1. Production d'acétoïne	29
III.9.2. La protéolyse	32
III.9.3. La lipolyse	34
III.9.4. L'acidification	34

## **Chapitre IV : Résultats & Discussion**

---



**Conclusion**

**Références Bibliographiques**

**Annexes**

# **Introduction**

L'extrême complexité du phénomène d'interaction entre microorganismes à ouvert de nombreuses voies de recherche en écologie microbienne. En effet, l'étude des bactéries impliquées dans le processus d'interaction ainsi que les particularités du milieu environnemental associé, ont permis de mieux comprendre la dynamique évolutive des microorganismes au sein des populations et tirer bénéfiques des partenaires clés de l'interaction associative.

Aujourd'hui, la plupart des industriels utilisant des microorganismes tels que les bactéries lactiques dans le processus de fermentation pour la préservation des produits alimentaires ont su tirer profit de ces interactions. Les bactéries lactiques ont ainsi gagné en importance, attribuée à leurs fonctionnalités telles que la croissance rapide et la production d'acides ou de composés volatils, et il est devenu clair par la suite que les interactions moléculaires entre les différentes espèces en cultures mixtes sont d'une importance capitale pour le succès des fermentations.

Dans ce contexte, nous nous sommes intéressés à l'étude d'interactions entre des souches de bactéries lactiques isolées du Jben de chèvre pour établir une communauté (culture mixte) modèle et apprécier par la suite certaines caractéristiques technologiques des espèces choisies formant la communauté.

Cette étude fait partie d'une thèse portant sur des interactions entre bactéries lactiques du Jben de chèvre, dont une partie a été divisé en trois sections complémentaires.

L'ensemble de ce travail a été réalisé au niveau du laboratoire de recherche en sciences techniques et production animale dirigé par le Pr. Hamrani. Aek.

## **I. Les Bactéries Lactiques**

### **I.1. Définition**

Les bactéries lactiques sont définies comme des microorganismes, hétérotrophes et chimio-organotrophes (Zergoug, 2017). Elles forment un groupe ou un ensemble d'espèces hétérogènes dont le trait commun est celui de produire de l'acide lactique comme métabolite final de la fermentation des glucides (Doan, 2011).

Considérées comme non pathogènes, elles se voient attribuer le terme GRAS (Generally Regarded As Safe). Cependant, certains genres lactiques sont considérés comme pathogènes opportunistes (Leonard, 2013).

### **I.2. Principales caractéristiques**

Les bactéries lactiques se présentent sous différentes formes : sphériques (cocci), en bâtonnets (Bacilles) ou ovoïdes. Elles sont en général aérotolérantes (microaérophiles) (Joubert, 2016).

Ce sont des bactéries à Gram positifs, dont la teneur en guanine et cytosine (G + C) de leur ADN est inférieure à 50% (à l'exception des bifidobactéries). Immobiles et asporogènes, elles sont capables de croître à des températures comprises entre 10°C et 45°C et à des pH allant de 4,0 à 9,5 (Galia, 2011).

Ne possédant ni catalase, ni nitrate réductase, ni cytochrome oxydase, elles ont des exigences nutritionnelles complexes en terme d'acides aminés, de peptides, de vitamines, de sels, d'acides gras et de sucres fermentescibles (Benazzouz, 2012).

### **I.3. Habitat**

Les bactéries lactiques ont pour habitat de nombreux milieux naturels et diversifiés (LEONARD, 2013). Ubiquitaires, elles se produisent dans des niches écologiques riches en nutriments telles que la matière végétale (fruits, plantes, ensilages...), animales (viandes, poissons,...) et humaines (muqueuses, tractus digestifs, cavités buccales et vaginales ...) ce qui explique leur température de croissance hétérogène (Doguiet, 2010).

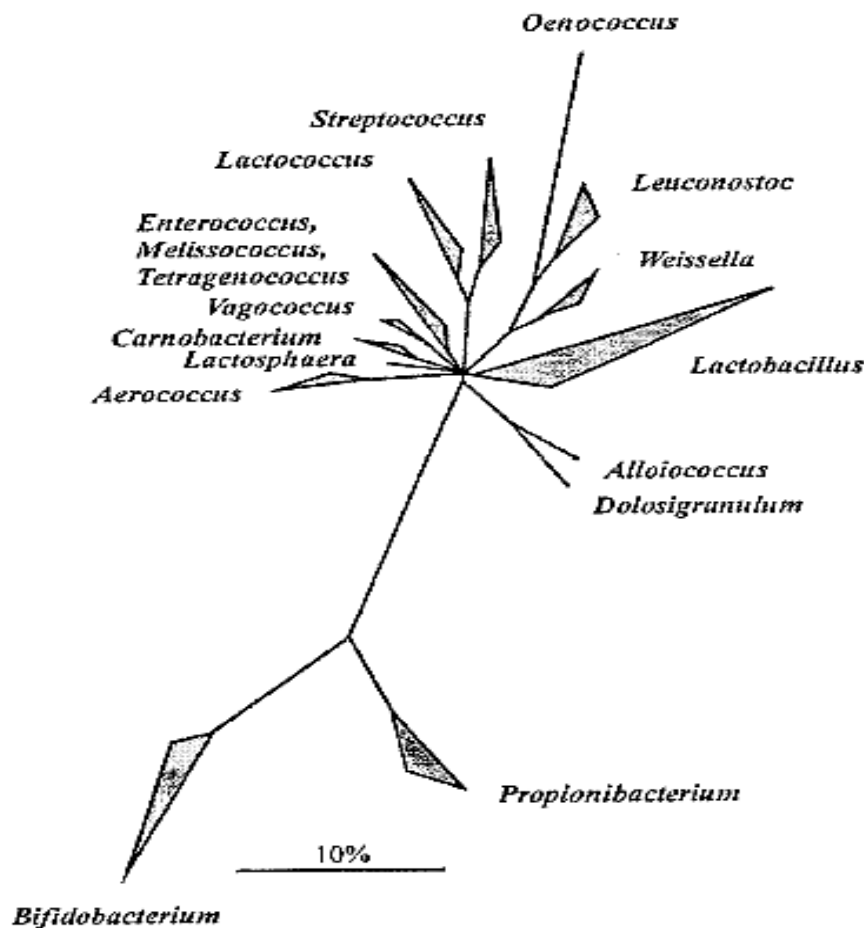
Elles existent en quantité considérable dans le lait et ses dérivés (lait fermenté, fromages,...), considérés comme habitats de la plupart des espèces lactiques (Holzapfel et *al.*, 2014).

#### I.4. Taxonomie et classification des bactéries lactiques

La taxonomie des bactéries lactiques a beaucoup changé au cours des deux dernières décennies. Un éventail beaucoup plus large d'études taxonomiques a graduellement remplacé l'ancienne classification à l'égard de la caractérisation morphologique, physiologique et biochimique, ce qui a nécessité la révision des schémas taxonomiques établis.

De nombreuses techniques génotypiques sont aujourd'hui utilisées dans la taxonomie polyphasique moderne et le séquençage de l'ADN est à présent considéré comme faisant partie de la description standard des espèces (Mahi, 2010).

La taxonomie polyphasique prend en compte toutes les informations phénotypiques et génotypiques disponibles et l'intègre dans une classification de type consensus comme représenté dans la figure 01, encadrée dans une phylogénie générale dérivée de l'analyse comparative des séquences de l'ARN ribosomal 16S (Holzapfel et al., 2001).



**Figure 01.** Arbre consensus, basé sur l'analyse comparative des séquences ARNr, montrant les principaux groupes phylogéniques de bactéries lactiques à faible mol % (G + C) et les genres Gram positifs non liés ou apparentés *Bifidobacterium* et *Propionibacterium* (Holzapfel et al., 2001).

#### **I.4.1. Méthodes phénotypiques de classification**

Les premières classifications des bactéries lactiques étaient exclusivement basées sur des propriétés phénotypiques : caractéristiques morphologiques, mode de fermentation des sucres (homo et hétéro-fermentaire), croissance à différentes températures, valeurs de pH, tolérance à différents taux d'oxygène, liquéfaction de la gélatine.... (Al Atya, 2016).

Les critères phénotypiques se sont ensuite étendus dans le même contexte de classification à la composition de la paroi cellulaire en acides gras et la mobilité électrophorétique des acides lactiques déshydrogénases. Cependant, et parce que ces techniques sont laborieuses et encombrantes, les études taxonomiques utilisent de plus en plus des méthodes génotypiques pour la différenciation des espèces (Holzapfel and Wood, 2014).

#### **I.4.2. Méthodes génotypiques de classification**

De nombreuses techniques génotypiques sont utilisées dans la taxonomie polyphasique moderne. Les techniques basées sur l'analyse de l'ADN permettent une meilleure différenciation des microorganismes à différents niveaux, allant du genre jusqu'à la souche en fonction des méthodes utilisées. En général, elles ont l'avantage sur les méthodes d'identifications phénotypiques de ne pas être influencées par les conditions de culture (Ouadghiri, 2009). Le séquençage direct de l'ARNr 16S est l'une des méthodes les plus puissantes pour l'identification en une seule étape d'une souche inconnue (Ghazi et al., 2006).

Le ribotypage, le profil plasmidique, et les méthodes d'analyse des empreintes génomiques basées sur le concept d'homologie ou de similitude, sont devenues aujourd'hui des outils précieux de typage moléculaire pour caractériser les bactéries lactiques et révéler le voisinage phylogénétique d'une nouvelle espèce putative (Holzapfel et al., 2014).

#### **I.4.3. Méthode Protéomique de classification**

Si les techniques conventionnelles d'identification des différents germes se basent sur leurs aspects phénotypiques, il est possible aujourd'hui d'identifier les microorganismes en analysant directement leurs macromolécules, notamment les protéines (Mimoun, 2015).

Les différentes études menées par plusieurs équipes de recherche, ont permis de mettre au point plusieurs techniques. Parmi elle, figure la spectrométrie de masse MALDI-TOF, utile dans l'analyse des biomolécules et où les protéines font l'objet des plus grandes attentions pour ce type d'application (Louardi, 2013).

Le principe de la méthode pour la séparation des molécules, consiste à utiliser une source d'ionisation laser assistée par une matrice pour obtenir une image protéique unique à temps de vol.

### I.5. Principaux genres de bactéries lactiques

Les bactéries lactiques regroupent plusieurs genres dont les plus étudiés sont : *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Carnobacterium*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus* et *Weissella* (Al Atya, 2016).

Tous ces principaux genres lactiques décrits dans la figure 02, sont classés dans le même phylum des *Firmicutes*, appartenant à la classe des *Bacilli*, à l'ordre des *Lactobacillales* (Doguiet, 2010).

#### Phylum XIII : *Firmicutes*

- **Classe I : *Clostridia***
  - **Ordre : *Clostridiales***
    - ✓ **Famille I : *Clostridiaceae***
      - Genre : *Clostridium*
      - Genre : *Sarcina*
    - ✓ **Famille II : *Peptostreptococcaceae***
      - Genre : *Peptostreptococcus*
    - ✓ **Famille III : *Peptococcaceae***
      - Genre : *Peptococcus*
- **Classe II : *Mollicutes***
  - **Ordre : *Mycoplasmatales***
    - ✓ **Famille : *Mycoplasmataceae***
      - Genre : *Mycoplasma*
      - Genre : *Ureaplasma*
- **Classe III : *Bacilli***
  - **Ordre I : *Bacillales***
    - ✓ **Famille I : *Bacillaceae***
      - Genre : *Bacillus*
    - ✓ **Famille II : *Planococcaceae***
      - Genre : *Planococcus*
    - ✓ **Famille III : *Listeriaceae***
      - Genre : *Listeria*
    - ✓ **Famille IV : *Staphylococcaceae***
      - Genre : *Staphylococcus*
  - **Ordre II : *Lactobacillales***
    - ✓ **Famille I : *Lactobacillaceae***
      - Genre : *Lactobacillus*
      - Genre : *Pediococcus*
    - ✓ **Famille II : *Enterococcaceae***
      - Genre : *Enterococcus*
      - Genre : *Tetragenococcus*
      - Genre : *Vagococcus*
    - ✓ **Famille III : *Leuconostocaceae***
      - Genre : *Leuconostoc*
      - Genre : *Oenococcus*
      - Genre : *Weissella*
    - ✓ **Famille IV : *Streptococcaceae***
      - Genre : *Streptococcus*
      - Genre : *Lactococcus*
- **Classe IV : *Togobacteria***

**Figure 02.** Place des principaux genres de bactéries lactiques dans le phylum des *Firmicutes* (Benazzouz, 2012)

Le genre *Bifidobacterium* était auparavant associé aux bactéries lactiques. Aujourd'hui, il appartient au phylum des *Actinomyces* en raison du contenu (G + C) supérieur à 50% comme cité précédemment. Cependant, et du fait de leurs propriétés physiologiques et biochimiques semblables et qu'elles partagent certaines niches écologiques communes tel que le tractus gastro-intestinal, elles peuvent être définies ou considérées comme bactéries lactiques (Battah and Bouhamdani, 2017).

### **I.5.1. Description et caractéristiques des principaux genres de BL**

#### **I.5.1.1. Le genre *Lactobacillus***

Principal groupe de la famille des *Lactobacillaceae*, les membres de ce genre sont généralement en forme de bâtonnets (bacilles fines et allongés, parfois incurvés) organisés en chaînettes, bien que des coccobacilles puissent être observés (Siegumfeldt et *al.*, 2000). La température de croissance optimale est principalement entre 30°C et 40°C, bien que la température de croissance globale puisse aller de 2°C à 53°C ; l'intervalle de pH pour la croissance est compris entre 3 et 8 (Givry, 2006).

Les lactobacilles couvrent et tapissent divers habitats riches en hydrates de carbone (ayant des besoins nutritionnels complexes) tels que les membranes muqueuses de l'homme et de l'animal (cavité buccale, intestin et vagin), sur les végétaux ou matières végétales, dans le fumier et les habitats artificiels. Ils tolèrent en général l'oxygène, mais se développent bien dans des conditions d'anaérobies (Lahtinen et *al.*, 2012).

Les lactobacilles, utilisant le glucose comme source de carbone peuvent être soit homofermentaires, produisant plus de 85% d'acide lactique, soit hétérofermentaires, produisant de l'acide lactique, du CO<sub>2</sub>, de l'éthanol (et/ou de l'acide acétique) en quantités équimolaires (Hammes and Vogel, 1995). C'est sur la base de cette fermentation qu'Orla-Jensen, a subdivisé les *Lactobacillus* en trois groupes distincts (Givry, 2006) :

**Groupe I** « *Thermobacterium* » : Comprend des lactobacilles homofermentaires thermophiles, se développant à 45°C mais pas à 15°C. Les espèces les plus fréquentes dans l'alimentation (lait, yaourt, fromage) sont *Lb. helveticus*, *Lb. delbrueckii*, *Lb. acidophilus*.

**Groupe II** « *Streptobacterium* » : Regroupe des lactobacilles homofermentaires mésophiles et hétérofermentaires facultatifs en fonction du substrat. Les espèces les plus fréquentes dans l'alimentation sont *Lb. casei*, *Lb. curvatus*, *Lb. sake* et *Lb. plantarum*.

**Groupe III** « *Betabacterium* » : Rassemblant des lactobacilles hétérofermentaires. Le sous-groupe comporte les espèces *Lb. fermentum*, *Lb. brevis* et *Lb. sanfransisco* (Boullouf, 2016).

### I.5.1.2. Le genre *Pediococcus*

Les pediocoques sont uniformément sphériques et jamais ovoïdes ou allongées. Ils diffèrent de toutes les autres bactéries lactiques par une division alternée dans deux directions perpendiculaires, ce qui entraîne la formation de tétrades (Ainsi, ils ne forment jamais les chaînes typiques d'autres genres de cellules en forme de cocci telles que *Leuconostoc*, *Lactococcus* ou *Streptococcus* qui forment des chaînes à la suite de la division dans un plan) (Holzapfel and Wood, 2014).

Ces bactéries sont facultativement aérobies (microaérophiles) et produisent de l'acide lactique comme principal produit final de la fermentation du glucose par la voie d'Embden Meyerhof Parnas (Lahtinen et al., 2012). Leur température de croissance optimale est de 25 à 35 °C (celle-ci dépend de l'espèce).

Le genre *Pediococcus* n'est que marginalement apparenté au genre *Tetragenococcus*. Phénotypiquement, ils sont principalement séparés sur la base de la nature halotolérante des tétragénocoques et de la nature acidophile à acido-tolérante des pediocoques. Le tableau 01, présente quelques critères de différenciation du genre *Pediococcus* et du genre *Tetragenococcus* (Holzapfel and Wood, 2014).

**Tableau 01.** Différenciation du genre *Pediococcus* du genre *Tetragenococcus* (Holzapfel and Wood, 2014)

Caractéristiques	<i>Pediococcus</i>	<i>Tetragenococcus</i>
Croissance à : pH 5	+	-
pH 9	-	+
Tolérance de croissance à 18% NaCl	-	+
Aérobie facultative	+	+
Configuration du lactate	DL/L	L
Catalase	-	-
Type de peptidoglycane	Lys-D-Asp	Lys-D-Asp

Onze espèces sont reconnues dans ce genre : *Ped. acidilactici*, *Ped. argentinicus*, *Ped. cellicola*, *Ped. claussenii*, *Ped. damnosus*, *Ped. ethanolidurans*, *Ped. inopinatus*, *Ped. parvulus*, *Ped. pentosaceus*, *Ped. siamensis* et *Ped. stilesii*. Une autre espèce de *Pediococcus*, à savoir *Ped. lolii*, a été précédemment décrite par Doi et al., (2009).



### I.5.1.3. Le genre *Enterococcus*

Le genre *Enterococcus* comprend des bactéries de forme cocci ou ovoïdes (isolées, en diplocoques ou en courtes chaînes). La plupart des espèces sont non motiles (exception faite pour *Ent. gallinarum* et *Ent. casseliflavus*). Certaines souches peuvent révéler un test de catalase positif lorsqu'elles sont cultivées sur des milieux gélosés contenant du sang en raison d'une activité pseudo-catalase. Chimioorganotrophes avec un métabolisme homofermentaire, les Entérocoques nécessitent des milieux de culture complexes pour leur croissance. La température optimale de croissance est de 37°C mais de nombreuses espèces peuvent croître à des températures allant de 10°C à 45°C (Al Atya, 2016).

Les résultats positifs des tests pour la croissance à 10°C et 45°C, dans du NaCl à 6,5%, un pH de 9.6, et la possession de l'antigène du groupe D, ont été traditionnellement considérés comme des caractères typiques de ce genre et qui ont été largement utilisés pour le traçage ou la caractérisation des entérocoques. D'autres tests jugés utiles pour différencier le genre *Enterococcus* sont l'hydrolyse de l'esculine et la résistance à 40% de bile, ou une combinaison de ces tests dans un test bile-esculine (El Seraih, 2016).

Etant capables de survivre jusqu'à 04 mois dans de vieilles cultures, les entérocoques sont présents dans un large éventail de milieux écologiques différents, notamment les sols, les eaux de surface, les eaux usées, les stations d'épuration municipales, les plantes, le tractus gastro-intestinal des animaux à sang chaud (y compris les humains) mais également dans les aliments pour humains (Holzapfel and Wood, 2014).

Les espèces d'*Enterococcus* typiquement associées au genre sont *Enterococcus faecalis* et *Ent. faecium*.

### I.5.1.4. Le genre *Leuconostoc*

Du point de vue morphologique, le groupe est considéré comme composé uniquement d'espèces coccoïdes ou coccobacillaires (sphériques ou ellipsoïdales), disposées en paires ou en chaînes (Björkroth and Holzapfel, 2006).

Les espèces du genre *Leuconostoc* sont non thermophiles et la température optimale pour la croissance est entre 20°C et 30°C. Presque aucune croissance ne se produit au-dessus de 40°C. Les espèces sont généralement non acidophiles et préfèrent un pH moyen initial entre 6 et 7. Elles sont obligatoirement hétérofermentaires et métabolisent le glucose par la voie des pentoses phosphates,

produisant 1 mole d'acide lactique, d'éthanol et de dioxyde de carbone et des traces d'acide acétique à partir d'un mole de glucose métabolisé (Endo and Okado, 2008).

La teneur en (C + G) de leur ADN est comprise entre 37 et 45% (Tormo, 2010). Se développant parfois mieux dans des conditions aérobies qu'anaérobies, les espèces sont généralement sensibles à l'acidité, mais une croissance à un pH inférieur à 4 a été enregistrée pour *Leuc. holzapfelii* et quelques souches de *Leuc. inhae* (Holzapfel and Wood, 2014).

Une croissance à basse température a été aussi rapportée pour plusieurs espèces ; *Leuconostoc carnosum*, *Leuc. gasicomitatum*, *Leuc. gelidum* et *Leuc. inhae* sont des espèces psychrotrophes. Une croissance à 1°C a été enregistrée pour les souches de *Leuc. carnosum*, *Leuc. gelidum* et *Leuc. inhae* et une croissance à 4°C pour les souches de *Leuc. gasicomitatum*. En raison de ces capacités, les espèces sont parfois considérées comme des organismes de détérioration pour les produits réfrigérés (Holzapfel and Wood, 2014).

Les *Leuconostocs* sont associés à de nombreux habitats. Ils sont souvent rencontrés dans les matières végétales en décomposition et les aliments d'origine animale, notamment le lait cru et les produits laitiers, la viande, la volaille et le poisson. Ils ont également été retrouvés dans les intestins de l'omble chevalier (poisson de la famille des salmonidés) mais ne sont généralement pas associés à l'intestin ni aux muqueuses des animaux à sang chaud (Björkroth and Holzapfel, 2006).

L'espèce type du genre est *Leuconostoc mesenteroides subsp. mesenteroides*.

#### **I.5.1.5. Le genre *Oenococcus***

Le genre *Oenococcus* est composé de deux espèces, *Oenococcus oeni* et *Oenococcus kitaharae*.

*Oenococcus oeni*, l'espèce type du genre, appartenait autrefois au genre *Leuconostoc* sous le nom de *Leuconostoc oenos*, mais a ensuite été re-classifiée par Dicks et al, (1995) (Fahimi, 2012). L'espèce est bien connue pour être un habitant du vin et joue un rôle clé dans la fermentation malolactique (FML). Son isolement dans des habitats autres que le vin n'a pas été signalé (Maitre, 2012).

La seconde espèce, *Oenococcus kitaharae*, n'a été décrite que récemment. Elle a été isolée du compost de résidus de Shochu au Japon et décrite par Endo et Okada, (2006). L'espèce a également été isolée des eaux usées d'une usine d'amidon au même pays. Son habitat préféré est incertain, mais le compost, les boues et les eaux usées sont des niches possibles (Holzapfel and Wood, 2014).

Les *Oenococcus* sont, ellipsoïdales à cocci, mesurant  $0,2-0,4 \times 0,5-0,8 \mu\text{m}$ , généralement disposés en paires ou en chaînettes. Leur morphologie peut être influencée par les conditions de croissance et l'âge de la culture.

Acidophiles et à croissance lente, les *Oenococcus* ssp. produisent très peu de biomasse et nécessitent des milieux de culture complexes et riches en acides aminés et en vitamines (Dimopoulou, 2013).

Mésophiles ( $20^{\circ}\text{C}$  à  $30^{\circ}\text{C}$ ) et anaérobies facultatives, leurs pH de croissance optimal se situent entre 4,2 et 4,7. Une faible croissance est enregistrée à pH 3,7. Cependant, certaines souches poussent mieux à pH 3,6 qu'à pH 4,7. La gamme de pH à laquelle *O. kitaharae* se développe est très différente. Une bonne croissance est enregistrée entre pH 5,0 et 6,5, avec une croissance très faible à pH 4,0 et aucune croissance à pH 7,0. *O. kitaharae* n'est donc pas aussi acidophile que l'espèce *O. oeni* (Holzapfel and Wood, 2014).

Pour ce qui est du métabolisme glucidique, *Oenococcus* spp. sont obligatoirement hétérofermentaires. La séparation des deux espèces par le caractère fermentatif du maltose et l'incapacité d'*O. kitaharae* à fermenter les pentoses sont confirmés par la génomique comparative des deux espèces (Holzapfel and Wood, 2014). Le tableau 02, présente quelques caractéristiques différentielles entre les deux souches *Oenococcus oeni* et *Oenococcus kitaharae*.

**Tableau 02.** Caractéristiques différentielles entre *Oenococcus oeni* et *Oenococcus kitaharae* (Holzapfel and Wood, 2014).

Caractéristiques	<i>O. oeni</i>	<i>O. kitaharae</i>
Croissance dans un bouillon contenant 10% d'éthanol	+	-
Fermentation malolactique	+	-
pH optimal de croissance	5.0 – 6.5	4.8
acides à partir du maltose	-	+

#### I.5.1.6. Le genre *Weissella*

Les espèces du genre *Weissella* sont des tiges courtes, avec des extrémités effilées, arrondies ou sous forme ovoïdes. Elles se présentent par paires ou en chaînes courtes et certaines espèces ont tendance au pléomorphisme (capacité à se présenter sous différentes formes). Hétérofermentaires, les hydrates de carbone sont fermentés par les voies de l'hexose-monophosphate et de la phosphokétolase.

Les produits finaux de la fermentation du glucose sont l'acide lactique, le CO<sub>2</sub>, l'éthanol et/ou l'acétate (Corrieu and Luquet, 2008).

Les *Weissella* requièrent généralement des acides aminés, des peptides, des hydrates de carbone fermentescibles, des acides gras, des acides nucléiques et des vitamines pour la croissance. La biotine, l'acide nicotinique, la thiamine et l'acide pantothénique ou ses dérivés sont nécessaires. L'arginine n'est pas hydrolysée par toutes les espèces de ce genre et la croissance se produit à 15°C (certaines espèces poussent jusqu'à 45°C) (Lahtinen et al., 2012).

L'habitat des espèces de *Weissella* est variable et implique le plus souvent des aliments fermentés; mais les sources d'isolement suggèrent une origine environnementale (sol, végétation...).

Les espèces : *W. viridescens*, *W. halotolerans* et *W. hellenica* ont été associés à la viande et ses dérivés. *W. cibaria*, *W. confusa* et *W. koreensis* ont été détectées dans des aliments fermentés d'origine végétale (Holzapfel and Wood, 2014).

#### **I.5.1.7. Le genre *Streptococcus***

La seule espèce de streptocoques qui soit utilisée en technologie alimentaire est *Streptococcus thermophilus*. Cette dernière se distingue de la plupart des autres streptocoques par son habitat (lait et produits laitiers), son caractère non pathogène et sa résistance à la température (Guetarni, 2013).

Les streptocoques sont sphériques ou ovoïdes, de diamètre inférieur à 2µm, disposées en paires ou en chaînes longues (Boullouf, 2016). Certaines chaînes peuvent contenir 50 unités cellulaires ou plus. Elles sont microaérophiles et homofermentaires. La teneur molaire en (G + C) de leur ADN varie de 33 % à 46% (Lahtinen et al., 2012).

En raison de leurs besoins nutritionnels complexes, la croissance de la plupart des streptocoques sur les milieux nutritifs basaux est relativement médiocre, la température optimale pour la plupart des espèces est d'environ 37°C, bien que certaines d'entre elles comme *Streptococcus uberis* et *Streptococcus thermophilus* peuvent se développer à 10°C et 45°C respectivement (Lahtinen et al., 2012).

#### **I.5.1.8. Le genre *Lactococcus***

Le genre *Lactococcus* comprend sept espèces, *Lactococcus lactis* (y compris les sous-espèces *cremoris*, *lactis* et *hordniae*), *L. garvieae*, *L. piscium*, *L. plantarum* et *L. raffinolactis*, *L. chungangensis*, et le très récemment caractérisé *L. fujiensis*.

L'espèce type, *Lactococcus lactis*, est la seule espèce du genre utilisée pour la technologie laitière (Rahkila, 2015).

Morphologiquement les lactocoques sont des cocci de 0.5 à 1.5 µm de diamètre. Retrouvées par paires, en chaînes courtes ou en groupes irréguliers (la longueur de la chaîne dépend de la souche, et parfois du milieu de croissance utilisé) (Tormo, 2010).

Ce sont des bactéries mésophiles, anaérobies facultatives, qui poussent à une température de 10°C mais pas à 45°C (la température optimale de croissance est de 30°C) (Bazo, 2011). Elles sont modérément halophiles et se multiplient habituellement dans du NaCl à 4% (20°C à 30°C pendant 10 à 20h), à l'exception de *Lactococcus lactis* subsp. *Cremoris* qui peut tolérer jusqu'à 2% de NaCl.

Exigeantes, elles nécessitent des milieux complexes contenant des hydrates de carbone, des acides aminés, des vitamines, des acides gras et d'autres oligo-éléments pour une croissance optimale. Les lactocoques se développent bien à des pH proches de la neutralité dans des milieux tamponnés, mais cessent de croître à un pH = 4,5 (Boullouf, 2016).

Toutes les espèces de *Lactococcus* ont le caractère homofermentaire (TCHAMBA, 2007). Largement distribuées, ils ont été isolés à partir de matières végétales, de poissons, de lait ou d'autres sources animales, y compris l'intestin humain (*Lactococcus lactis* extrêmophiles). Cependant, le lait reste l'habitat privilégié des lactocoques (Rahkila, 2015).

#### **I.5.1.9. Le genre *Bifidobacterium***

Le nom du genre, *Bifidobacterium*, est dérivé du fait que les bactéries apparaissent typiquement comme des tiges bifides, ramifiées ou en forme de Y (Mahmoudi, 2014). Cependant, dans des conditions de croissance défavorables, elles manifestent un pléomorphisme élevé (ayant la capacité de modifier leur forme ou leur taille en réponse aux conditions environnementales). Il a été démontré que la présence de N-acétylglucosamine, d'alanine, d'acide aspartique, d'acide glutamique, de sérine et d'ions Ca<sup>2+</sup> dans le milieu de croissance influence la forme cellulaire des bifidobactéries (Euloge, 1992).

Les bifidobactéries ne réduisent pas les nitrates et utilisent généralement l'ammonium comme source d'azote, produisant de petites quantités d'acide formique, d'éthanol et d'acide succinique, mais jamais d'acide butyrique ou propionique ce qui est le cas des bactéries lactiques. Le glucose est dégradé exclusivement et particulièrement par l'enzyme fructose 6-phosphokétolase (F6PPK), une enzyme clé du genre *Bifidobacterium* (Delcenserie et al., 2002).

La température optimale de développement des souches humaines est comprise entre 36°C et 38°C. En revanche, celle idéale pour les souches animales est légèrement plus élevée, aux environs de 41°C à 43°C et peut atteindre les 46,5°C (Kouame, 2013). Le pH initial optimum de croissance se situe entre 6,5 et 7,0. Aucune croissance ne peut se dérouler en dessous du pH 5,0 et au-delà de pH 8,0 (Euloge, 1992).

Les Bifidobactéries sont le plus souvent trouvées dans l'intestin de l'homme et des animaux, au niveau de la cavité buccale et au sein de la flore vaginale (Kouame, 2013). Cependant, elles peuvent être présentes dans d'autres niches écologiques « non autochtones » telles que les eaux usées et les produits laitiers fermentés qui ne sont pas habituellement des habitats bifidobactériens. Dans les égouts, les bifidobactéries proviennent d'une contamination fécale animale ou humaine, alors que dans les produits dérivés du lait (par exemple le yaourt), les bifidobactéries sont intentionnellement ajoutées comme probiotiques (Arezki, 2008).

Il y a actuellement environ 30 espèces connues de *Bifidobacterium*. Les espèces qui habitent le tractus intestinal humain sont plutôt distinctes de celles qui habitent les intestins des animaux. Les espèces représentatives d'origine humaine comprennent *Bif. longum*, *Bif. breve*, *Bif. infantis*, *Bif. bifidum*, *Bif. adolescentis* et *Bif. pseudocatenulatum*. Les représentants d'espèces d'origine animale comprennent *Bif. pseudolongum*, *Bif. thermophilus* et *Bif. animalis* (Ishibashi et al., 1997).

Parmi les espèces de *Bifidobacterium* utilisées dans divers yogourts, *Bif. animalis* est souvent identifié. La raison de l'utilisation de cette espèce est que les espèces d'origine animale sont plus résistantes aux acides et se conservent donc mieux dans le produit. Récemment, les souches de *Bif. animalis* isolées de ces yaourts ont montré des différences génétiques par rapport à la souche type et ces souches ont été nommées *Bif. lactis*. Cette espèce n'est pas non plus un habitant du tractus intestinal humain. L'utilisation d'espèces d'origine humaine comme complément alimentaire semble être le choix le plus raisonnable et correct (Ebel, 2012).

## **I.6. Métabolisme des bactéries lactiques**

### **I.6.1. La glycolyse**

Etant incapables d'obtenir leur énergie par la respiration, les bactéries lactiques recourent à la fermentation des glucides suivant différentes voies : la voie homofermentaire, hétérofermentaire et la voie bifide. La figure 03, présente les différentes voies de dégradation du glucose, empruntées par les bactéries lactiques (Dridier and Prevost, 2009).

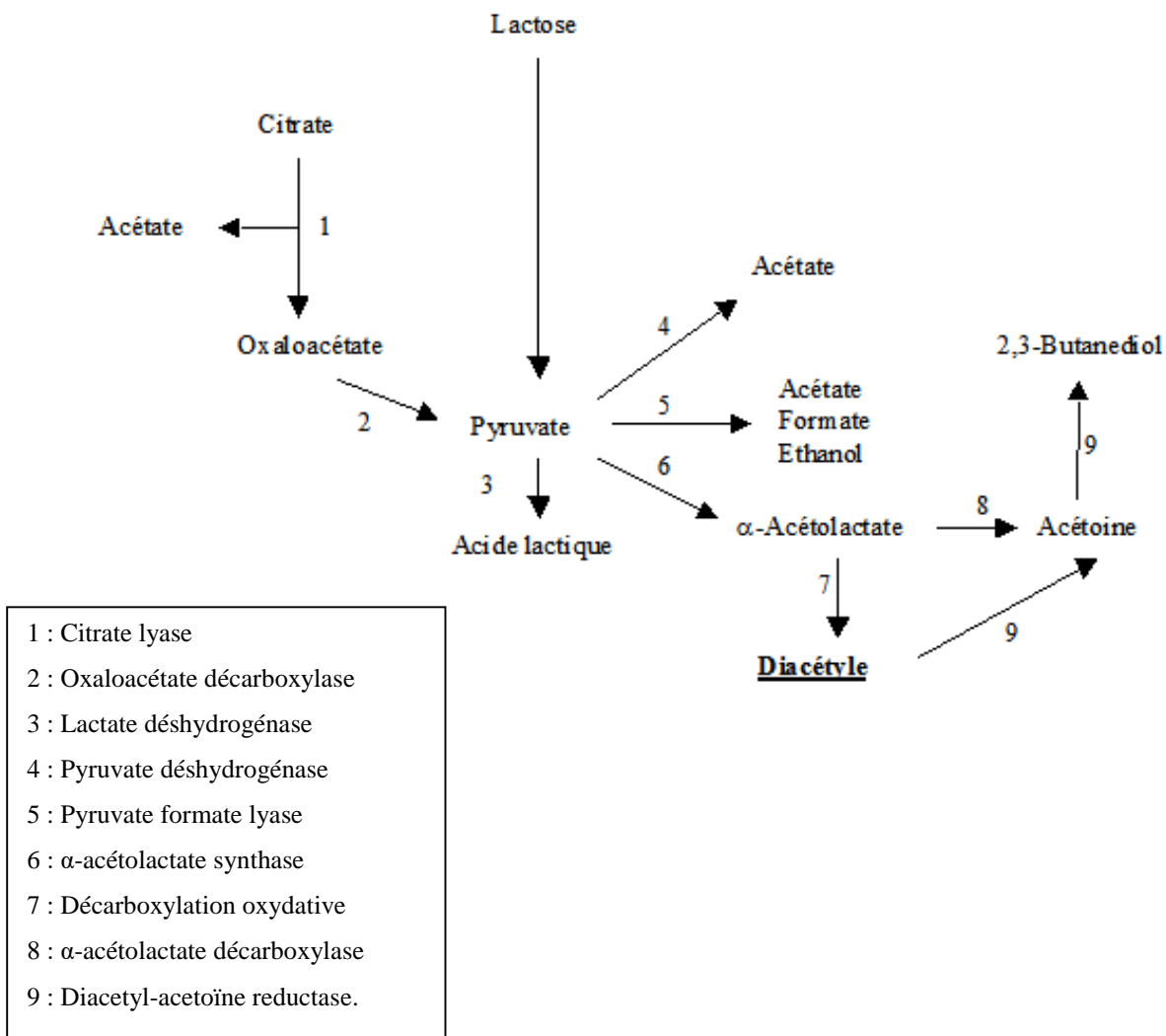


### I.6.2. Métabolisme du citrate

Dans la fermentation du lait, l'acide citrique est considéré comme le principal précurseur de la formation des composés aromatiques particulièrement recherchés et appréciés dans certains produits laitiers tels que le beurre et les fromages frais (Baharak, 1999).

Le diacétyl, l'acétoïne et l'acide acétique sont les principaux composés aromatiques formés pendant le co-métabolisme du citrate avec d'autres sucres.

Le transport du citrate à travers la membrane cellulaire est assuré par une citrate perméase. Une fois dans la cellule, le citrate est clivé en acétate et oxaloacétate par une citrate lyase. L'oxaloacétate est décarboxylé en pyruvate qui est transformé en diacétyl par le biais d'une série de réactions intermédiaires présentées comme suit, dans la figure 04 (Bourel et *al.*, 2001).



**Figure 04.** Métabolisme du citrate conduisant à la formation du diacétyl (Grattepanche, 2005).



### **I.6.3. La protéolyse**

Certaines bactéries lactiques, nécessitent un fonctionnement actif de leur système protéolytique dans les environnements où les protéines constituent la principale source d'azote (Boullouf, 2016). Dans le lait, l'exploitation de la caséine par ces bactéries est initiée par une protéase de l'enveloppe cellulaire qui dégrade la protéine en oligopeptides, ces derniers sont absorbés par les cellules *via* des systèmes de transport peptidiques spécifiques pour une dégradation ultérieure en peptides et acides aminés plus courts. Cette action nécessite l'intervention de diverses peptidases intracellulaires (Holzapfel and Wood, 2014).

### **I.6.4. La lipolyse**

Les connaissances sur l'activité lipolytique des bactéries lactiques sont encore fragmentaires (Idder, 2014), néanmoins, elles sont considérées comme faiblement lipolytiques comparées à d'autres bactéries telles que *Pseudomonas*, *Aeromonas*, *Acinetobacter* et *Flavobacterium* (Dellali, 2012).

L'activité lipolytique est retrouvée généralement à travers les estérases et les lipases présentes dans le contenu intracellulaire de certaines bactéries lactiques. Elles hydrolysent préférentiellement des acides gras à courtes chaînes (C4 ou C6), et leurs activités diminuent considérablement avec l'allongement de la chaîne carbonée.

Les voies métaboliques liées à la lipolyse génèrent des acides gras libres, précurseurs d'arômes qui entrent dans la saveur globale des produits alimentaires (Idder, 2014).

Plusieurs bactéries lactiques dont *Enterococcus faecalis*, *Ent. faecium*, *Ent. casei*, *Lactobacillus casei*, *Lb. plantarum* et *Lb. rhamnosus*, ont été signalées comme ayant une activité lipolytique (Holzapfel and Wood, 2014).

## **I.7. Aptitudes technologiques des bactéries lactiques**

### **I.7.1. Pouvoir acidifiant**

L'une des principales fonctions métaboliques des bactéries lactiques est l'activité acidifiante. Elle se manifeste par la production de l'acide lactique issu de la fermentation des hydrates de carbone au cours de la croissance bactérienne (Allouache and Smaoun, 2017). Cette propriété d'acidification a pour conséquence, la coagulation des protéines caséines du lait, chute du pH et l'inhibition de la croissance des bactéries pathogènes et de la flore d'altération. Du point de vue technologique, l'acidification participe aux propriétés rhéologiques (texture et saveur) du produit final.

Dans la sélection des ferments lactiques pour les produits carnés fermentés, les bactéries homolactiques sont généralement préférées aux hétérofermentaires. Ces derniers peuvent causer des défauts au niveau de la texture et/ou la saveur du produit fini. Cependant, pour certains produits, les bactéries hétérolactiques sont utilisées en tant que starters fonctionnels (Nguyet thu, 2008).

La dose d'adjonction des ferments lactiques dépend principalement de leur potentiel à se développer dans le produit cible.

### **I.7.2. Pouvoir texturant**

Les exopolysaccharides (EPS) synthétisés par les bactéries lactiques, interviennent dans la création de la viscosité des produits laitiers fermentés. Ainsi par exemple, les filaments de polysaccharides produits chez *Lactobacillus bulgaricus*, lient les cellules les unes aux autres, structurant la microcolonie et les connectent à la matrice du yaourt constituée de caséines précipitées par l'acidification.

Dans le cas des yaourts brassés, l'onctuosité du produit pourrait être améliorée en utilisant des souches particulières, produisant un épaississement du lait supérieur à celui obtenu par la simple prise en gel du lait sous l'effet de l'acidification (Desmazeaud, 1996).

### **I.7.3. Pouvoir aromatisant**

Comme déjà citée précédemment (paragraphe I.6.2), certaines bactéries lactiques qualifiées d'aromatiques, sont capables de produire un certain nombre de composés, en particulier le diacétyle et l'acétoïne, résultants de la dégradation du citrate (Boullouf, 2016). Ces composés, contribuent de façon déterminante à la formation de l'arôme de divers produits laitiers (Cogan, 1980). Cette fonctionnalité particulièrement importante participe aux qualités organoleptiques des laits fermentés, fromages, crème et beurre, dont l'arôme principal est lié à cette activité microbienne (Allouache and Smaoun, 2017).

### **I.7.4. Aptitude protéolytique**

Aussi comme ci-devant précités dans le paragraphe I.6.3, nous avons vu que pour croître à leur maximum dans le produit escompté, la plupart des bactéries lactiques, possèdent un système protéolytique, capable d'hydrolyser les protéines en peptides et acides aminés. L'arsenal enzymatique lié à ce système de protéolyse est composé d'une protéase ancrée à la paroi capable de dégrader les lactoprotéines, d'un système de transport des peptides dégradés et des acides aminés, et d'un pool de peptidases intracellulaires indispensables à la dégradation des peptides internalisés (Galia, 2011).

L'activité protéolytique des bactéries lactiques joue un rôle important lors de l'opération d'affinage des différents types de fromages. Elle est à l'origine du goût typique, de la flaveur désirée et de la texture caractéristique du produit fini (Tchamba, 2007).

#### **I.7.5. Aptitude lipolytique**

L'activité lipolytique des bactéries lactiques, contribue généralement à développer les qualités organoleptiques du produit (fromage) lors des étapes ultérieures de sa fabrication. Ceci est dû comme cité précédemment à la présence d'enzymes lipases qui génèrent des acides gras libres, précurseurs importants des réactions cataboliques qui produisent des composés volatiles contribuant à la flaveur du fromage (Dellali, 2012).

Dans l'industrie laitière, on exploite cette propriété lipolytique de façon contrôlée dans la production de certains fromages comme le Brie et le Saint-paulin, car une lipolyse trop poussée se traduira par une détérioration du goût (Chilliard, 1982).

#### **I.7.6. Pouvoir inhibiteur / antagoniste**

Le pouvoir antagoniste des bactéries lactiques est dû à la production de plusieurs métabolites tels que les acides organiques, le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ), le dioxyde de carbone, le diacétyle et les bactériocines. Aux propriétés antimicrobiennes, ces produits sont capables d'inhiber le développement des microorganismes indésirables et/ou pathogènes sans pour autant modifier les propriétés organoleptiques du produit (Nguyet thu, 2008).

#### **I.8. Applications biotechnologiques des bactéries lactiques**

Les bactéries lactiques sont au service de la conservation (biopréservation) des aliments. Elles agissent sur les textures et les saveurs qui se révèlent différentes de celles de l'aliment à son état originel (Tabak and Bensoltane, 2011). Fréquemment associées et de manière positive à l'alimentation humaine, à travers la fermentation d'une grande variété de produit, elles sont présentes en tant que flore technologique dans les produits laitiers (yaourts, fromages), les produits carnés (charcuteries), les produits végétaux (choucroute, pickles, olives fermentées), les levains de panification et les boissons alcoolisées (vins, bières blanches, saké).

Ayant la capacité de produire diverses molécules antimicrobiennes, ces bactéries peuvent être employées comme alternative biologique pour contrecarrer le phénomène de résistance de certains agents pathogènes (Mechai, 2017). Plusieurs molécules produites aussi par ces bactéries, trouvent leur intérêt industriel et médical. Les molécules de dextrans par exemple sont utilisées dans la fabrication des gels de chromatographie (Séphadex), comme additif dans le plasma sanguin, comme

agent défloculant (industrie du papier) ou dans la stabilisation et l'épaississement des sirops (Doguiet, 2010).

Jouant un autre rôle de probiotiques, elles apportent beaucoup de bénéfices pour la santé en améliorant par exemple le transit gastro-intestinal, en prévenant des gastroentérites et des maladies inflammatoires de l'intestin (Mechai, 2017).

Habités à vivre dans des espaces réduits ou densément peuplés, les microorganismes sont amenés à coexister en communauté avec d'autres. Il va alors survenir des interactions multiples, diversifiées et complexes entre eux et avec le milieu dans lequel ils évoluent. De là va s'instaurer un certain équilibre stable ou instable entre microorganismes grâce à ces interactions bilatérales.

A travers ce chapitre, nous tenterons d'apporter des précisions sur le fonctionnement des écosystèmes bactériens et les interactions qui leurs sont associées.

## **II. Les Phénomènes d'Interactions Entre Microorganismes**

### **II.1. Définition**

L'interaction tout comme le métabolisme est un caractère fondamental du vivant (Boulila, 2012). Prenant des formes diversifiées, ces interactions entre microorganismes qui interfèrent non seulement entre eux mais aussi avec des plantes et des animaux, expliquent la coexistence des espèces, leurs distributions, leurs productivités et leurs capacités de résistance et de résilience (Tahiri, 2017). L'ensemble de ces interactions gouverne la structure des communautés microbiennes et leur activité (Hadeif, 2012).

Évoluant en fonction des souches qui y sont associées et de leurs propriétés physiologiques, les interactions sont étroitement liées aux conditions environnementales (parmi eux, les facteurs nutritionnels prennent une place importante) (Juillard, 1998).

Selon quelles soient bénéfiques ou conflictuelles, les interactions sont généralement classées en deux catégories : interactions positives, se caractérisant par la stimulation d'un ou de plusieurs microorganismes et interactions négatives correspondant au phénomène d'inhibition de la croissance et de l'activité métabolique (Hadeif, 2012).

Les interactions qui impliquent un contact physique direct entre deux populations de microorganismes, sont dites « interactions directes », sinon, elles sont dites « indirectes » si elles utilisent des métabolites extracellulaires (Fahimi, 2012).

### **II.2. Les différents types d'interactions**

Quand les microorganismes établissent des échanges gagnant – gagnant, on parlera ici d'interactions positives ou bénéfiques. Cependant, si l'interaction est néfaste sur un ou plusieurs partenaires, on parle dans ce cas d'interactions négatives, conflictuelles ou de compétition (Pujol, 2014).

### II.2.1. Interactions positives

Aussi dites interactions de coopération, elles surviennent lorsqu'il y a stimulation de la croissance d'une espèce bactérienne suite à la production ou la libération de métabolites particuliers dans le milieu (acide lactique, arômes...) par une autre espèce. Elles peuvent avoir pour origine la modification des substrats (en particulier des sources azotées) ou des conditions du milieu (changement du pH, élimination des facteurs d'inhibition, etc.) (Juillard et *al.*, 1987). Un bon exemple de ce type d'interaction est retrouvé chez les souches utilisées pour la production de yogourt.

Plusieurs exemples possibles de coopération sont décrits. Les principales sont des interactions de type commensalisme et mutualisme (symbiose et protocoopération).

#### a. Commensalisme

C'est une interaction biologique à bénéfice non réciproque, où l'un des partenaires n'a aucun effet sur l'autre mais profite de sa présence (Guennoc, 2017). Ce profit peut avoir lieu si un des partenaires produit une substance nécessaire pour la croissance de l'autre ou consomme une substance inhibitrice de la croissance de l'autre. Ici, un des partenaires retire un bénéfice de l'association tandis que l'autre n'y trouve ni avantage ni véritable inconvénient (Van de Meer, 1993).

#### b. Mutualisme

Dans ce type d'interaction, chaque partenaire est stimulé par la présence de l'autre. On parle alors d'une relation à bénéfice réciproque (Guennoc, 2017). Ce phénomène d'association entre deux espèces vivantes est indispensable voire obligatoire pour la survie des deux populations (cas de symbiose), contrairement à la protocoopération qui présente un caractère facultatif (Benadi, 2012).

### II.2.2. Interactions négatives

Elles désignent une lutte réciproque de deux populations par la production de molécules inhibitrices contre la flore compétitive y compris les bactéries pathogènes et d'altération.

Le phénomène d'inhibition peut être relié à un ou plusieurs mécanismes : compétition nutritionnelle, changements physicochimiques du milieu et formation de produits antimicrobiens : acides organiques, peroxyde d'hydrogène et bactériocines (Al Atya, 2016).

Dans ce type d'interactions, il convient de parler : d'amensalisme, de compétition, de parasitisme et de prédation.

#### **a. Amensalisme**

L'amensalisme est une interaction biologique interspécifique (entre deux espèces différentes) dans laquelle une des deux espèces par son comportement ou son métabolisme produit des substances inhibitrices ayant un effet négatif sur la croissance de l'autre sans frais ou avantages reçu par lui-même (Benadi, 2012). Toutefois, l'amensalisme n'est ni une compétition, ni un antagonisme (prédation), ni du parasitisme.

#### **b. Compétition**

C'est une interaction au cours de laquelle les partenaires ont une influence négative réciproque (Flacher, 2016). L'utilisation commune d'une ressource limitée peut mener à l'élimination de l'espèce la moins compétitive pour cette ressource. Bien que l'espèce la plus compétitive se maintienne dans le milieu, ses performances s'en trouveront également diminuées.

#### **c. Parasitisme et prédation**

Le parasitisme est une interaction entre deux organismes par laquelle le parasite se nourrit aux dépens de son hôte (Courtin, 2012). C'est une interaction durable et obligatoire à au moins un stade de sa vie, au cours de laquelle le parasite utilise l'hôte comme son habitat lui permettant de s'abriter, de trouver les nutriments nécessaires à sa survie et à sa reproduction tout en ayant généralement un impact négatif sur son hôte (Panek, 2016).

Dans le cas de la prédation, une espèce tire profit tandis que l'autre est tuée.

#### **II.2.3. Neutralisme**

Dans ce cas précis, les espèces cohabitent dans le même milieu sans se prêter attention l'une à l'autres (aucune relation mutualiste ou concurrentielle). Cependant, ce genre d'interaction n'est possible que si aucun des substrats n'est limitant ou si les espèces ont des besoins nutritionnels totalement différents.

- Il est important de noter que toutes les interactions ne sont ni exclusives, ni statiques, elles peuvent varier selon les conditions du milieu ou l'état physiologique des populations impliquées (Guennoc, 2017).

### II.3. Communication cellulaire

#### a. Le Quorum-Sensing

Pour avoir des interactions sociales, il faut avant tout communiquer, et grâce à ce système extraordinaire du Quorum, les bactéries ont appris à interagir, ce qui leur permet de se comporter «collectivement », comme si elles étaient un seul organisme multicellulaire (Siewerts, 2009).

Le principe est qu’au fur et à mesure que le nombre de cellules d’une population bactérienne augmente, le système renseigne chaque bactérie sur la densité de la population (de sa propre espèce ou d’autres espèces), *via* différentes molécules signales captables par la communauté. Lorsque la concentration correspondant à un seuil précis est atteint, le groupe détecte la molécule signal et y répond par : une inhibition de la croissance, induction de facteurs de virulence, sporulation, synthèse d’antibiotiques et bien d’autres (Fahimi, 2012). A noter qu’il y a une molécule pour chaque type d’information.

Chez les bactéries à Gram négatives, la communication se fait *via* une molécule intra-espèce de type Acyl – Homosérine Lactone (AHL). Alors que des peptides auto-inducteurs (AIP) sont impliqués chez les bactéries à Gram positives (Hebert, 2010).

#### b. Le Quorum-Quenching

Il n’est pas surprenant que des mécanismes aient évolué pour interférer avec le Quorum-Sensing en inhibant son activité (Waters and Bassler, 2005). Par définition le Quorum-Quenching est un mode de perturbation de la signalisation, qui englobe des phénomènes et des mécanismes très divers, présentés aujourd’hui comme des outils prometteurs dans différents domaines (Grandclément et *al.*, 2015)

Il existe trois stratégies phares du Quorum – Quenching :

- Arrêter la production de la molécule signal en ciblant l’enzyme impliquée dans sa synthèse telle que l’AHL synthétase ;
- Sécréter des enzymes qui dégradent la molécule signal ;
- Produire de petites molécules antagonistes qui rentrent en compétition en se liant au récepteur de la molécule signal.

Les trois principales étapes de la régulation par Quorum-Sensing qui sont ainsi ciblées sont la synthèse, la stabilité et la détection de la molécule signal (Galet, 2014).



## **II.4. Techniques d'étude des interactions**

Il existe différentes méthodes d'études des interactions entre microorganismes, les plus couramment utilisées sont les cultures séquentielles (cultures en milieu solide ou liquide), les cultures dialysées en Erlenmeyer ou en fermenteur et les cultures mixtes cultivées généralement dans un bioréacteur (Corrieu and Luquet, 2008).

### **II.4.1. Cultures séquentielles**

Cette méthode qui peut être conduite sur des milieux solides ou liquides, consiste à cultiver deux populations différentes de microorganismes, dans le but d'apprécier l'effet de l'une sur l'autre à travers le phénomène d'interaction (Corrieu and Luquet, 2008).

Les cultures en milieu solide ont été inspirées de la technique des antibiogrammes, développée par la suite pour l'étude des interactions entre microorganismes. Ici, le principe est le même, sauf que l'antibiotique a été remplacé par un autre microorganisme. La technique consiste à épandre une couche uniforme d'une bactérie (dite indicatrice) dans la masse de la gélose d'une boîte de pétri et d'ensemencer l'autre espèce (inhibitrice) en spot à la surface. L'apparition de halos clairs autour des spots après incubation, signifie qu'il y a inhibition de la croissance de la bactérie indicatrice par l'autre (Nehme, 2008). La quantification du pourcentage d'inhibition se fait par mesure du diamètre des halos autour des dépôts microbiens (Fahimi, 2012).

Lorsque la technique est conduite sur un milieu liquide, le filtrat ou le surnageant de la culture d'une population « A » dont on souhaite tester l'effet bactériocinogène est introduite dans des puits formés dans une gélose ensemencée par le microorganisme de la population « B ». La mesure du diamètre d'inhibition après incubation autour des puits renseigne sur le degré d'inhibition de la souche « B » (Cornu, 2000).

Si ce protocole d'étude permet de mettre en évidence des interactions éventuelles entre les deux populations, il ne s'agit cependant pas d'une véritable culture mixte (Corrieu and Luquet, 2008).

### **II.4.2. Cultures dialysées en Erlen-Meyer ou en fermenteur**

C'est un système utile pour étudier des interactions indirectes permettant des échanges de métabolites, sans contact direct entre les microorganismes cultivées dans deux compartiments séparés par une membrane à fibre de dialyse (Corrieu and Luquet, 2008).

Les deux compartiments évoluent dans le même milieu de culture grâce à une circulation alternative de ce milieu d'un compartiment à l'autre (Nehme, 2008).

#### **II.4.3. Mise en œuvre de cultures mixtes**

Les données de cette technique seront obtenues à l'aide d'un bioréacteur à membranes (BRM) spécialement conçu pour l'étude des cultures mixtes au sein duquel deux populations de micro-organismes partagent le même milieu de culture (Pommier, 2003).

Le suivi différentiel des deux populations en mélange nécessite l'usage de techniques de différenciation. La caractérisation est effectuée par comparaison des cinétiques de croissance avec celles observées lors de cultures pures (Corrieu and Luquet, 2008).

### III. Matériel & Méthodes

#### III.1. Lieu et objectif de l'étude

Ce travail a été accompli au sein du laboratoire (LSTPA), laboratoire de recherche en sciences techniques et production animale au niveau de l'exploitation agricole de Hassi Mamèche, affiliée à l'Université de Mostaganem.

L'objectif principal de l'étude consiste à :

- Etudier les interactions entre certaines souches de bactéries lactiques, afin de construire une communauté modèle pour laquelle certaines aptitudes ont été testées.

#### III.2. Origine des souches utilisées

Lors de ce travail, 12 souches de bactéries lactiques ont été utilisées pour l'étude des interactions, toutes isolées du Jben de chèvre de la région de Naâma et identifiées par spectrométrie de masse (MALDI TOF / MS) comme présenter dans le tableau 03.

**Tableau 03.** Identification et origine des souches de bactéries lactiques.

N°	Code de la souche	Identification	Score d'identification MALDI TOF	Origine
BL1	G'3	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	2,014	Jben de chèvre -Ain Sefra-
BL2	H2	<i>Leuc. mesenteroides</i>	1,785	Jben de chèvre -Ain Sefra
BL3	ND2	<i>Leuc. mesenteroides</i>	2,099	Jben de chèvre -El Biodh-
BL4	ND6	<i>Lactococcus lactis</i>	2,089	Jben de chèvre -El Biodh-
BL5	ND7	<i>Leuc. mesenteroides</i>	1,912	Jben de chèvre -El Biodh-
BL6	ND8	<i>Leuc. mesenteroides ssp mesenteroides</i>	2,222	Jben de chèvre -El Biodh-
BL7	ND9	<i>Lc. lactis</i>	1,986	Jben de chèvre -El Biodh-
BL8	ND10	<i>Lc. lactis</i>	1,813	Jben de chèvre -El Biodh-
BL9	NF1	<i>Leuc. mesenteroides ssp cremoris</i>	1,834	Jben de chèvre -Naâma-
BL10	NF3	<i>Lc. lactis</i>	2,207	Jben de chèvre -Naâma-
BL11	WOA3	<i>Lc. lactis ssp lactis</i>	2,042	Jben de chèvre -Méchéria-
BL12	WUI7	<i>Lc. lactis ssp lactis</i>	1,965	Jben de chèvre -Méchéria-

### III.3. Milieux de cultures

Différents milieux de cultures ont été utilisés dans cette étude :

- Le milieu M17 en bouillon a été utilisé pour la revivification, la conservation et la préparation des cultures overnight des différentes souches isolées ;
- Le milieu M17 gélosé ou solide a été utilisé pour la purification des différentes souches lactiques, mais aussi dans la mise en évidence des interactions entre elles. Tout au long de l'étude, les populations de bactéries lactiques ont été énumérées sur ce même milieu ;
- L'usage du bouillon Clark & Lubs était pour la mise en évidence de la production d'acétoïne ;
- L'aptitude à la protéolyse des différentes espèces a été étudiée sur milieu PCA (Plate Count Agar) additionné de lait écrémé à différents pourcentages ;
- L'activité lipolytique a été étudiée sur milieu triglycéride.
- Le lait a été aussi utilisé comme un milieu d'enrichissement, de conservation, pour le test de production d'acétoïne et pour l'étude de l'acidification.

### III.4. Revivification des souches lactiques

Les souches lactiques identifiées auparavant et conservées sur milieu M17 glycérolé sont revivifiées sur bouillon MRS, M17 ou lait demi écrémé.

La technique consiste à prendre un volume de 100 µl de la souche conservée et l'ensemencer dans un tube à essai stérile contenant 5ml de bouillon M17 déjà préparé, après une incubation à 30°C (température optimale de croissance des espèces *Lactococcus lactis* et *Leuconostoc mesenteroides*) pendant 24 à 48 heures la croissance est appréciée par l'apparition d'un trouble dans le milieu.

### III.5. Purification et pureté des souches

Elle suit l'étape de revivification et consiste à réaliser un isolement par stries à partir du bouillon d'enrichissement sur gélose M17. L'incubation est réalisée à 30°C pendant 24 à 48 heures.

L'opération est répétée plusieurs fois à partir des cultures obtenues après incubation, jusqu'à l'obtention de colonies de même taille, de même forme et de même couleur, renseignant sur la pureté des souches. Cette pureté sera validée aussi par observation microscopique après une coloration de Gram pour déterminer la morphologie et le type de Gram (+ ou -) et un test de catalase pour compléter la vérification.

La catalase est une enzyme qui catalyse la dégradation du peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), produit toxique du métabolisme aérobie de nombreuses bactéries, en H<sub>2</sub>O et ½ O<sub>2</sub>.

Catalase



La technique consiste à déposer une goutte d'eau oxygénée à 10 volumes sur une lame sèche et propre et y déposer, à l'aide d'une anse de platine ou d'une pipette Pasteur stérile, une colonie isolée d'une culture de moins de 24 heures de la souche à tester. La lecture du résultat est immédiate : s'il y a effervescence, signe d'un dégagement gazeux d'oxygène, la souche testée est dite catalase +, sinon elle est considérée comme étant catalase – (Delarras, 2007).

### III.6. Conservation des souches

La conservation des isolats purifiés peut être de courte ou de longue durée :

- Une conservation de courte durée est réalisée après avoir ensemencé les souches pures dans des tubes contenant le bouillon M17 et incubé à 30°C pendant 24 heures. Les tubes seront conservés par la suite à 4°C au réfrigérateur et le renouvellement de la conservation se fera toutes les 4 semaines.
- Une conservation de longue durée, est faite en maintenant les cultures fraîches et pures en suspension dans un milieu liquide (bouillon M17 ou lait écrémé à 10%) additionné de glycérol à 20%, de volume. Le mélange sera ensuite conservé à -20°C (Badis et *al.*, 2005).

### III.7. Mise en évidence des interactions entre souches de bactéries lactiques

Dans cette partie, nous avons étudié l'effet de chaque souche pure sur la croissance des autres souches lactiques testées, et les résultats obtenus vont servir à déterminer la compatibilité entre les isolats pour pouvoir établir une communauté modèle.

Pour cela, nous avons utilisé la méthode décrite par Fleming et *al.* (1975) dont le principe consiste à :

- Ensemencer en touches sur gélose M17, les 12 souches de bactéries lactiques sélectionnées (Elles sont dites souches inhibitrices). Après séchage, l'ensemble est incubé à 30°C pendant 16 à 18 heures.
- Dans un second temps, prendre 0,5ml d'une culture jeune de la souche dite indicatrice avec 7ml d'une gélose semi solide (fondue et refroidie à 39°C). Mélanger l'ensemble et le couler à la surface de la gélose préalablement inoculé par les 12 souches puis on la laisse se solidifier.
- La lecture des résultats s'effectue après 24 et 48 heures d'incubation à 30°C. La taille des zones (transparentes) est mesurée en mm à l'aide d'un pied à coulisse. Les souches présentant une zone d'inhibition de plus de 0,5mm de diamètre sont considérées comme des souches inhibitrices.

- Les cultures jeunes utilisées dans tous les tests, doivent être de moins de 20 heures d'incubation (16 à 18 heures) et un comptage est nécessaire afin d'homogénéiser la concentration de départ pour toutes les souches, qui est d'environ  $10^6$  à  $10^7$ .

### III.8. Construction de la communauté

Le choix des souches pour établir la communauté modèle a été fait par rapport aux tests d'interactions et aux scores d'identification au MALDI TOF / MS. De là, six souches ont été retenues appartenant à deux espèces différentes, *Lactococcus lactis* et *Leuconostoc mesenteroides* comme présentées dans le tableau 04.

Les cultures overnight des 6 souches sur bouillon M17 sont ajustées à une concentration de  $10^6$  UFC/ml pour les différents tests à venir (à volumes égaux 1 : 1 : 1 : 1 : 1 : 1).

**Tableau 04.** Souches retenues pour la composition de la communauté

Code de la souche	G3'	ND2	ND6	ND8	ND9	NF3
Identification	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	<i>Lactococcus lactis</i>	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	<i>Lactococcus lactis</i>	<i>Lactococcus lactis</i>

### III.9. Etude des aptitudes technologique de la communauté modèle

Chaque test a été effectué en triplicat pour confirmer les résultats obtenus.

#### III.9.1. Production d'acétoïne

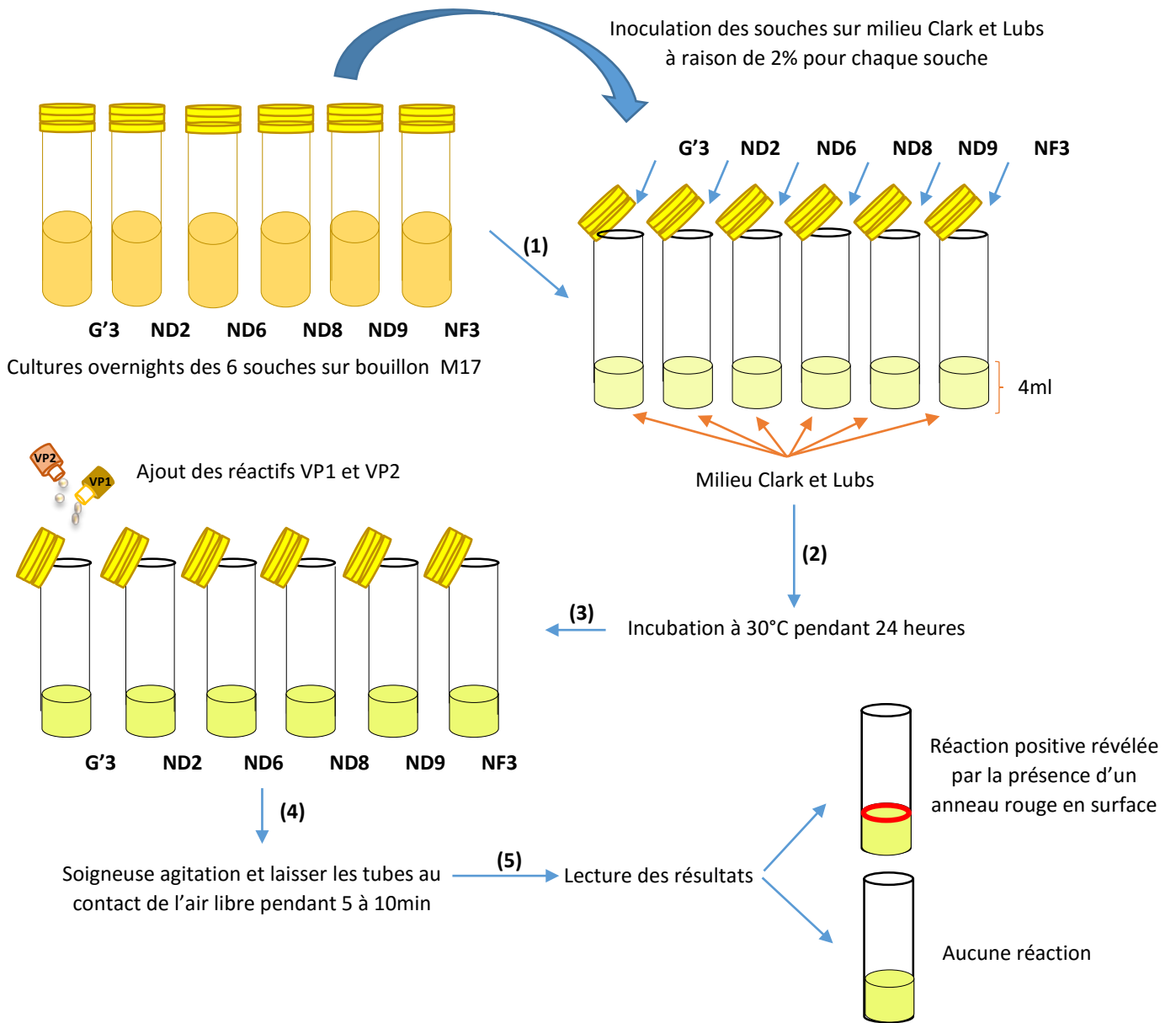
La production d'acétoïne est testée sur milieu Clark et Lubs et mise en évidence par la réaction de Voges Proskauer (VP) comme expliquer dans les figures 05 et 06 (Facklam and Elliot, 1995).

Pour réaliser cet examen, chaque tube contenant 4 ml du milieu Clark et Lubs reçoit 2% d'une culture overnight des 6 souches lactiques, ainsi que la communauté. Après une incubation à 30°C pendant 24 heures, 200µl (4 gouttes) de chaque réactif VP1 et VP2 sont ajoutées suivi d'une soigneuse agitation. Les tubes seront par la suite laissés en contact avec l'air pendant 5 à 10 minutes et à température ambiante.

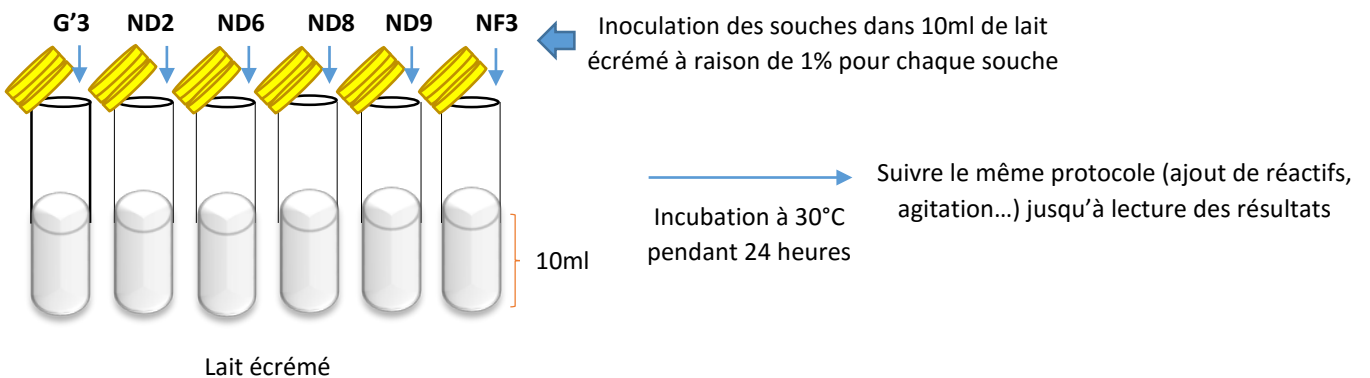
La réaction positive se traduit par l'apparition d'un anneau rouge à la surface du milieu.

La capacité à produire de l'acétoïne, a été aussi recherchée après l'ensemencement de 100µl de cultures over-night des isolats et de la communauté dans 10ml de lait écrémé stérile reconstitué à 12% en utilisant le même protocole et les mêmes réactifs.

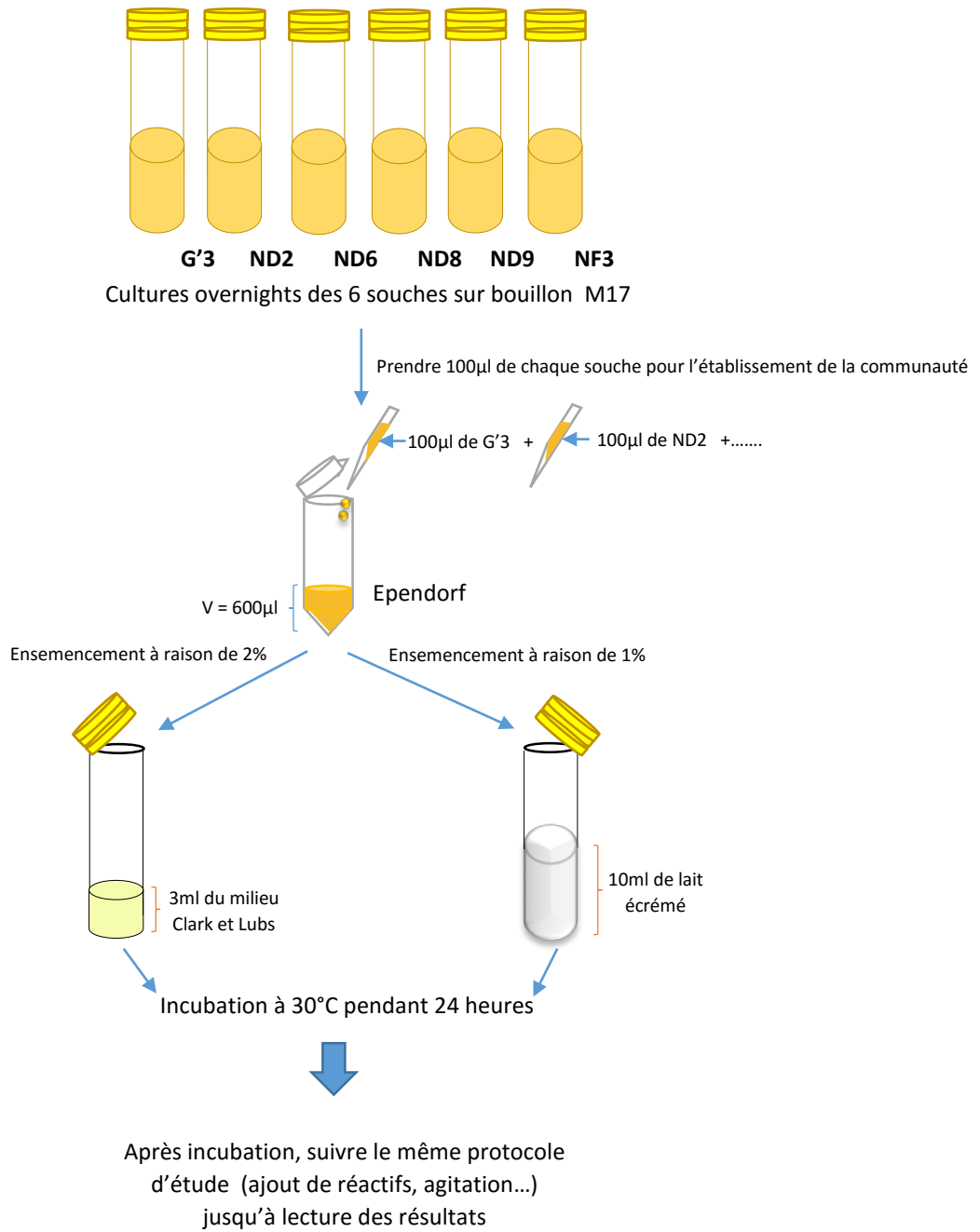
**Production d'acétoïne sur milieu Clark et Lubs**



**Production d'acétoïne sur lait écrémé**



**Figure 05.** Protocole de production d'acétoïne des 6 isolats lactiques sur milieu Clark et Lubs et lait écrémé



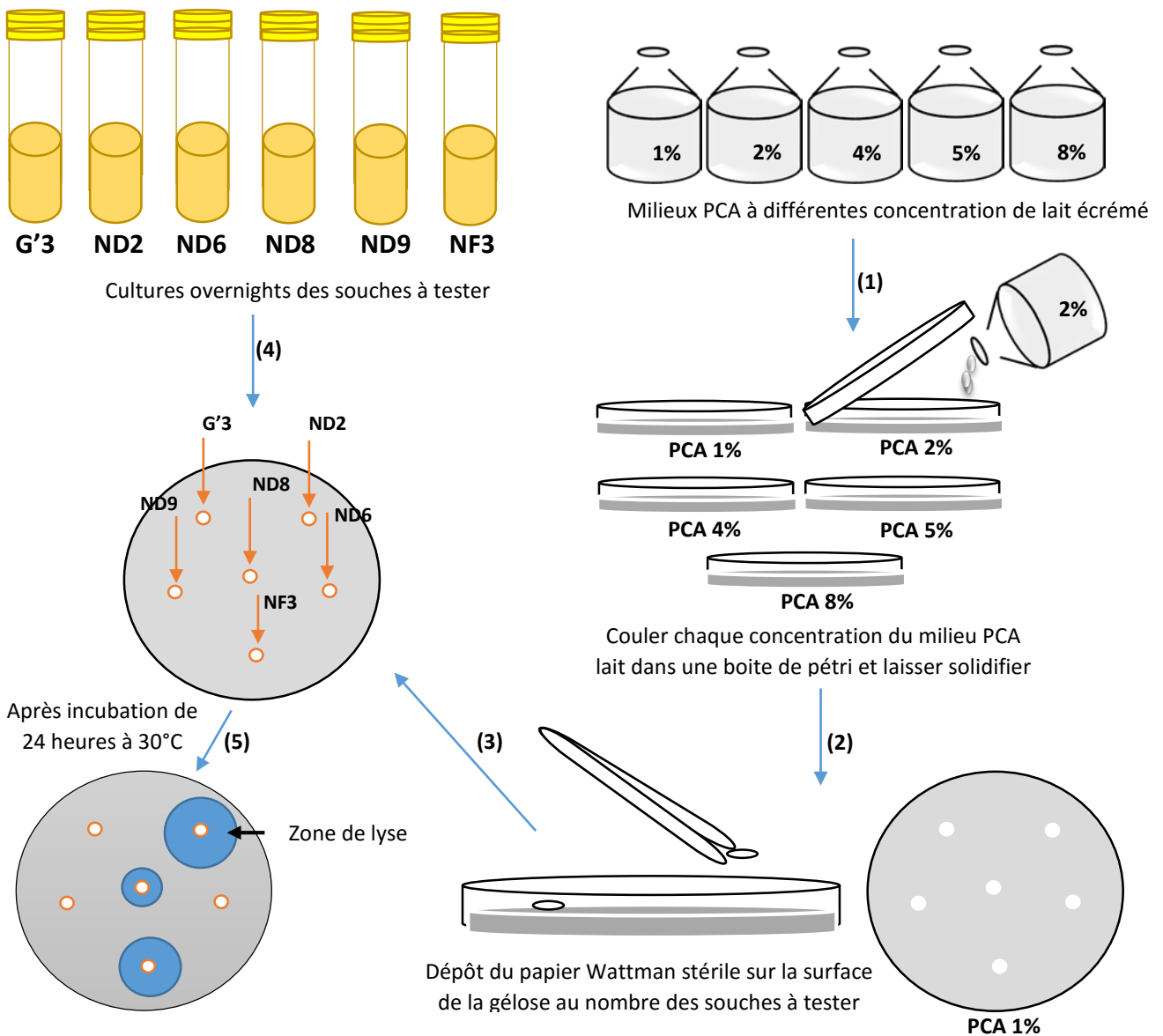
**Figure 06.** Protocole de production d'acétoïne de la communauté sur milieu Clark et Lubs et lait écrémé



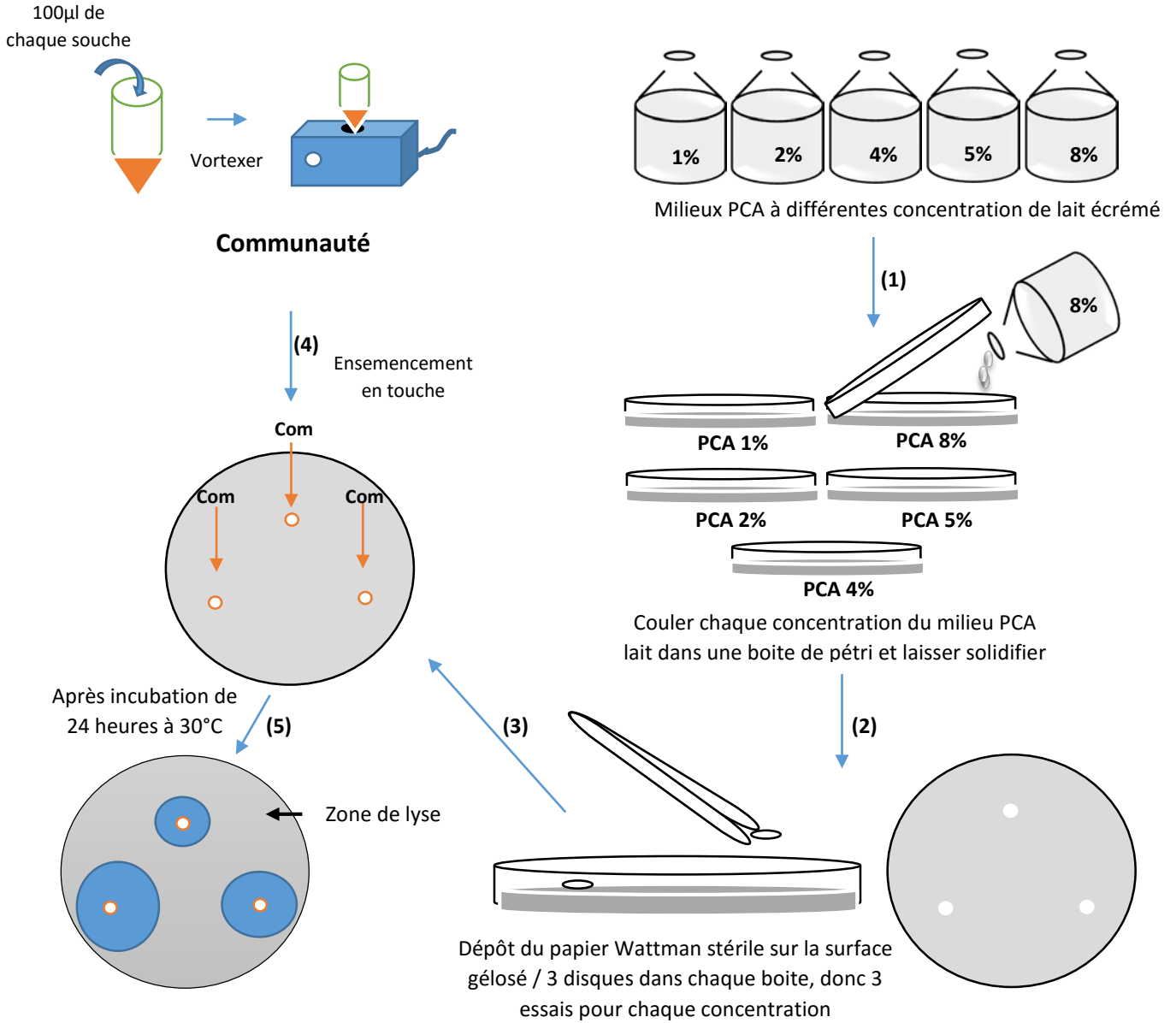
### III.9.2. La protéolyse

Pour comparer l'activité protéolytique des souches lactiques et de la communauté, nous avons utilisé le milieu PCA supplémenté par différentes concentrations de poudre de lait écrémé (1%, 2%, 4%, 5% et 8%). Des disques de papier Wattman stérile seront par la suite déposés à la surface de la gélose pour recevoir un volume de 5µl d'une culture jeune de chaque souche et de la communauté. La lecture des résultats s'est effectuée après une incubation à 30°C pendant 24 et 48 heures (Vandenberg *et al.*, 1986).

Une zone de lyse claire apparaît autours des colonies positives à la protéolyse comme il est indiqué dans les figures 07 et 08.



**Figure 07.** Etapes d'étude de l'activité protéolytique des bactéries lactiques individuellement



**Figure 08.** Etapes d'étude de l'activité protéolytique de la communauté

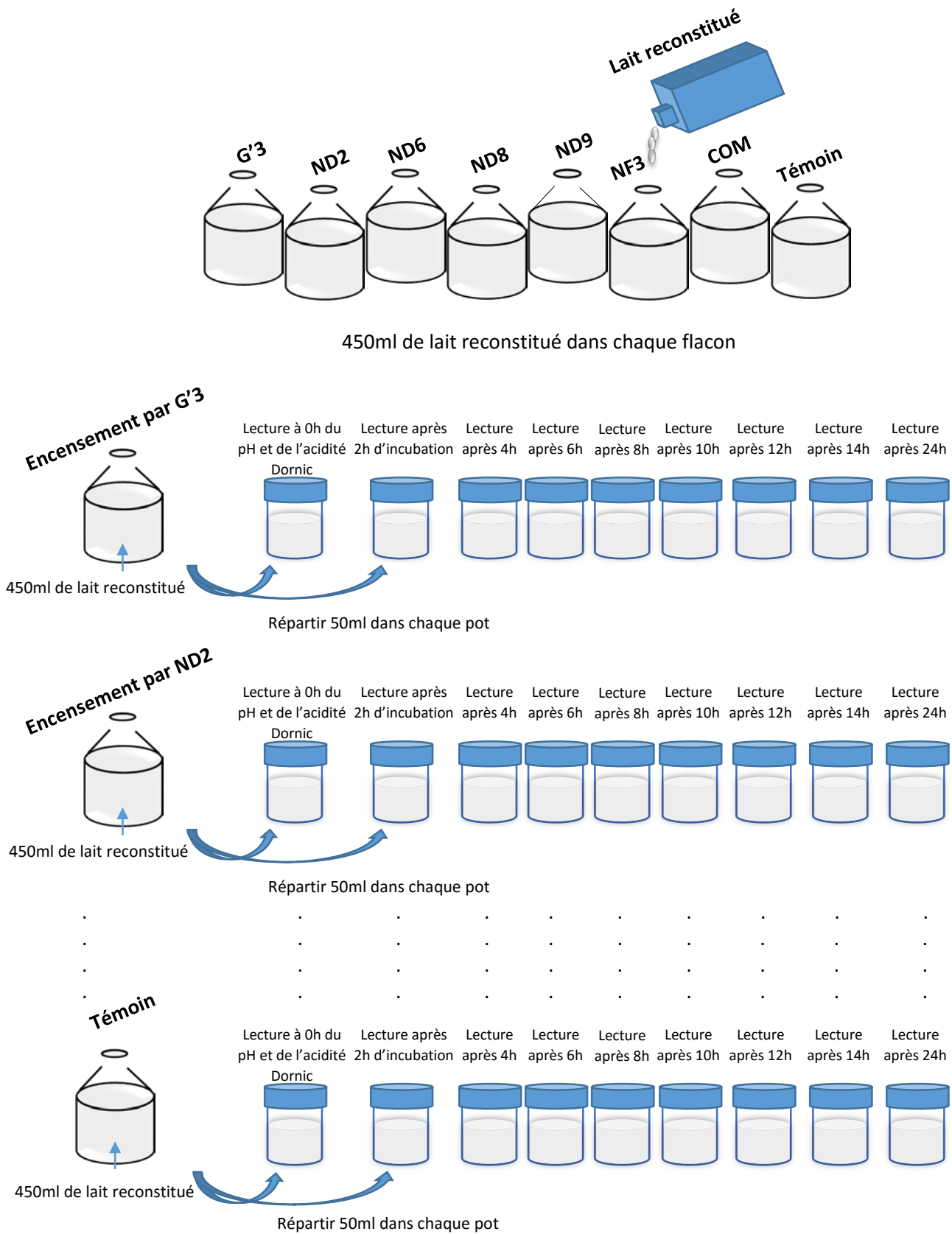
### **III.9.3. La lipolyse**

La lipolyse est mise en évidence sur gélose aux triglycérides, la même méthode d'étude citée dans le paragraphe III.9.2 est utilisée. La lipolyse est révélée aussi par une zone d'éclaircissement autour des disques (Guiraud, 2003).

### **III.9.4. L'acidification**

La mesure de l'activité acidifiante des cultures pures et de la communauté mixtes consiste à suivre d'une part : l'évolution du pH des différentes cultures en fonction du temps, et de doser en simultané l'acidité par titrimétrie avec la soude (NaOH, N/9). L'estimation de l'acidité titrable est exprimée en degré Dornic et elle est révélée en utilisant la phénolphtaléine comme indicateur de couleur (Larpent, 1997).

Pour réaliser ce test comme la montre les figures 09 et 10, les souches pures et la communauté ont étéensemencées à raison de 1% dans des flacons contenant 50ml de lait écrémé stérile reconstitué à 12%. Après agitation les mesures ont été prises tous les 2 heures à partir de 0h jusqu'à 20h d'incubation à 30°C.



**Figure 09.** Protocole suivi pour la réalisation du test d'acidification

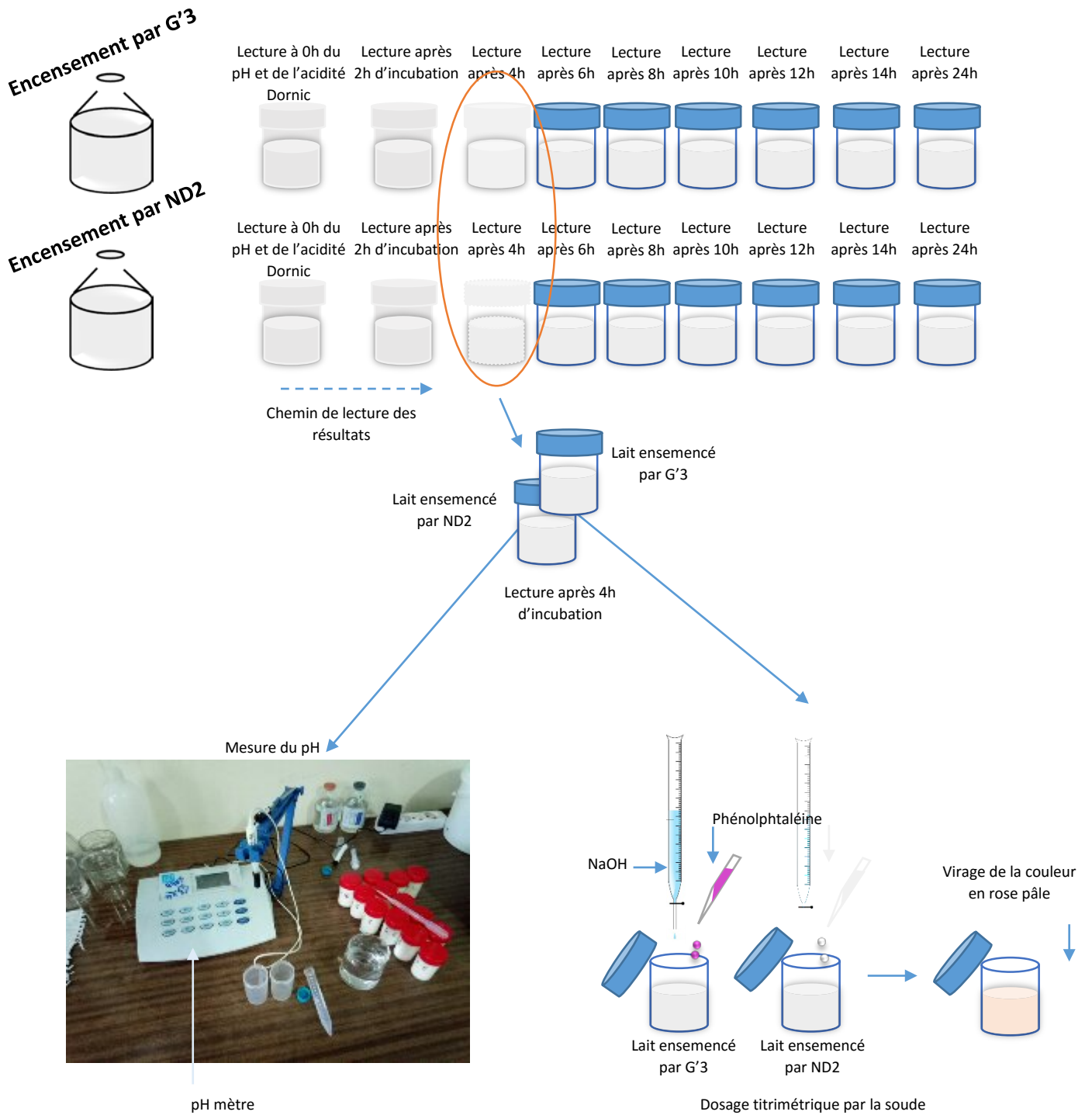


Figure 10. Suite du protocole de mesure du pH et du test d'acidification

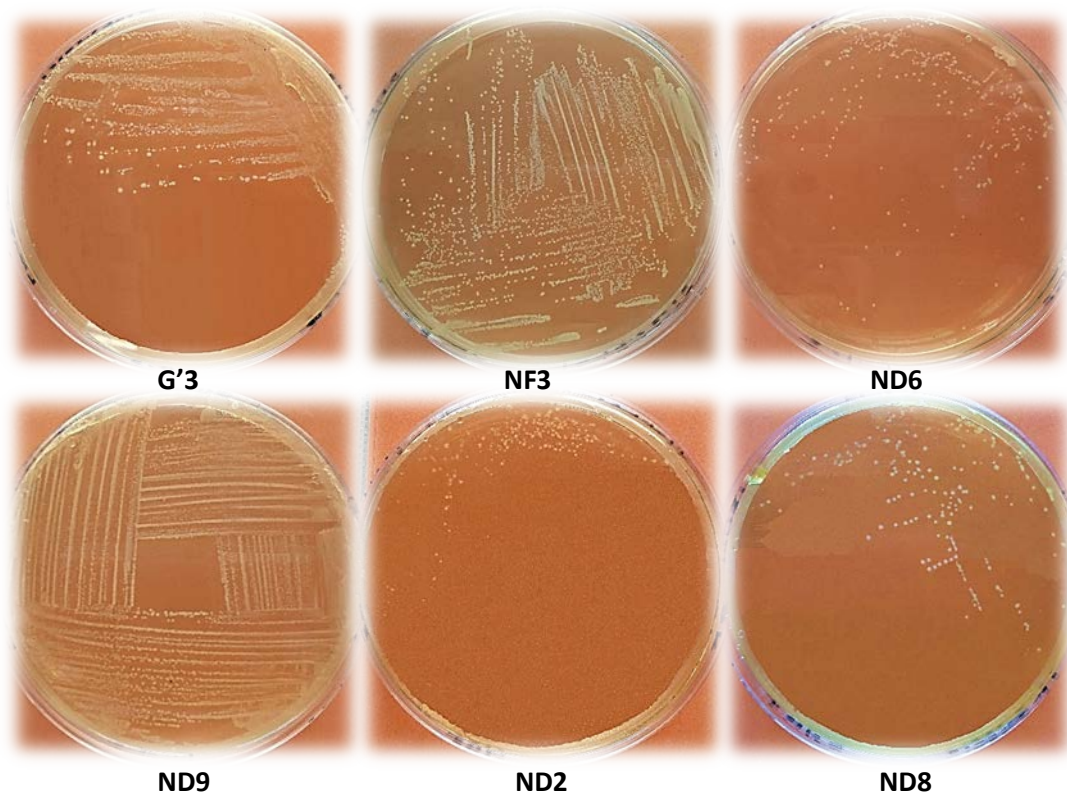
## IV. Résultats & Discussion

### IV.1. Purification des souches lactiques

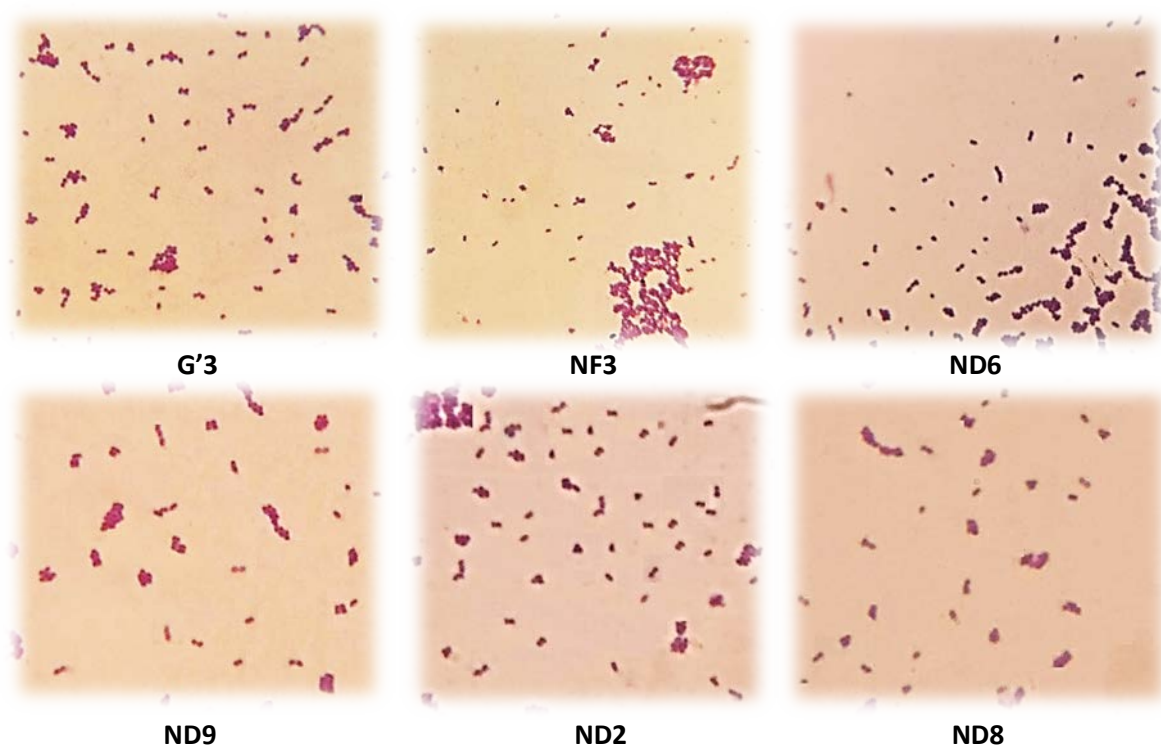
Après avoir effectué une revivification des souches lactiques sur bouillon M17 et apprécier le résultat par l'apparition d'un trouble après 24 heures d'incubation à 30°C, l'étape de purification qui a suivi a révélé des colonies visibles, de tailles variables (environ 1 à 2mm de diamètre), de forme circulaire et bombées, avec une couleur blanchâtre. La figure 11, montre l'aspect de quelques souches lactiques purifiées sur gélose M17.

La coloration de Gram et le test de catalase qui s'avère être des examens clés de pré-identification ont permis de confirmer la pureté des souches lactiques isolées. Elles sont toutes Gram positives et dépourvues de catalase. L'examen microscopique a montré que toutes les souches étaient de forme cocci, associées en paires, en amas, ou en courtes chaînes comme indiqué dans la figure 12.

L'aspect des colonies sur gélose et l'apparence des cellules après coloration sont en accord avec les travaux de Leveau *et al.*, (1991) et Champagne *et al.*, (2000).



**Figure 11.** Aspect macroscopique de quelques souches de bactéries lactiques (G'3, NF3, ND6, ND9, ND2 et ND8) purifiées sur gélose M17.



**Figure 12.** Observation microscopique des différentes souches de *Lactococcus lactis* (ND6, ND9, NF3) et de *Leuconostoc mesenteroides* (G'3, ND2, ND8) après une coloration de Gram.

#### IV.2. Résultats des interactions entre souches de bactéries lactiques

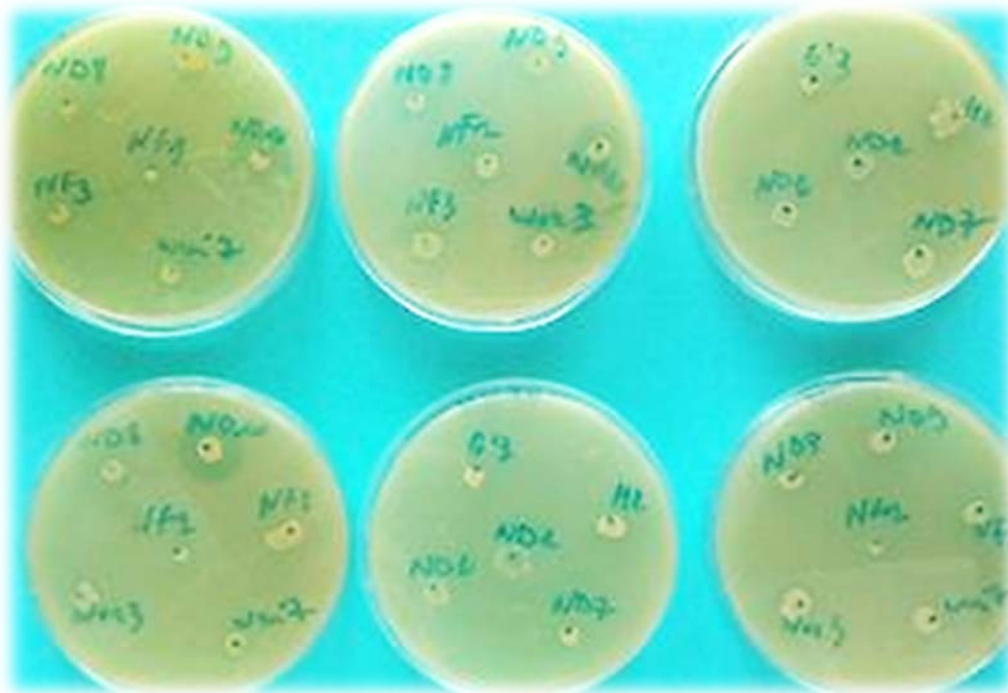
Le tableau 6, représente les résultats des interactions sur milieu M17 solide (Fleming et *al.*, 1975)

Ce tableau montre clairement que

**Tableau 6.** Résultats des interactions entre les 12 souches testées.

Souches indicatrices \ Souches inhibitrices		Souches inhibitrices											
		G'3	H2	ND2	ND6	ND7	ND8	ND9	ND10	NF1	NF3	WOA3	WUI7
G'3		■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
H2		■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
ND2		■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
ND6		■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
ND7		■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
ND8		■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
ND9		■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
ND10		■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
NF1		■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
NF3		■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
WOA3		■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
WUI7		■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■

Interactions non testées
  Inhibition positive
  pas d'inhibition
  Interactions incertaines (dans les limites)



**Figure 13.** Résultats de quelques interactions entre les souches lactiques isolées



### **IV.3. Communauté modèle**

Comme cité précédemment dans la partie matériel et méthodes (paragraphe III.8), le choix de la communauté modèle a été fait par rapport aux résultats du test d'interaction entre souches lactiques et aux scores d'identifications (MALDI TOF / MS).

D'après les résultats d'interactions, plusieurs modèles probables de communautés peuvent être établis

### **IV.4. Résultats d'étude des aptitudes technologique de la communauté modèle**

#### **IV.4.1. Production d'acétoïne**

#### IV.4.2. La protéolyse

L'activité protéolytique se manifeste par l'apparition de zone claire de protéolyse autour des spots (figure 11). Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau X (Annexe II).

Il en ressort du tableau que toutes les souches étudiées présentent une croissance avec une activité protéolytique se situant entre 12 et 34mm de diamètre. Les résultats sont présentés sous forme d'un histogramme (figure 12).

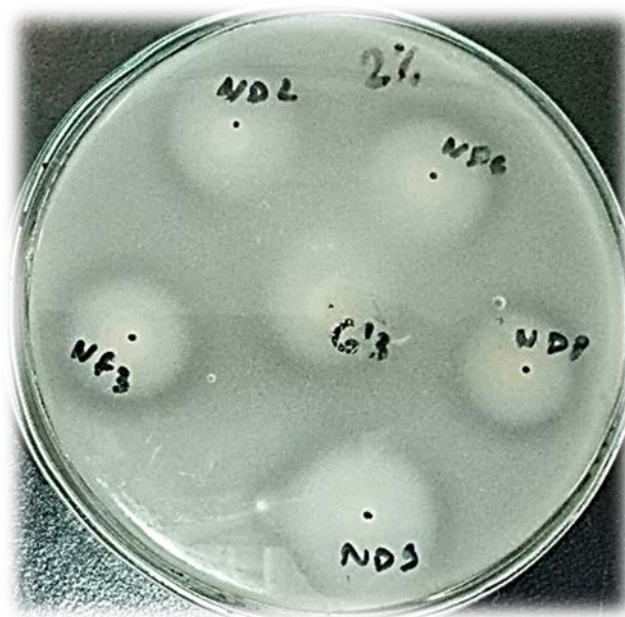
Selon **Yelnetty et al., (2014)**, les bactéries à pouvoir protéolytique sont réparties en trois groupes :

- Les souches dont le diamètre est supérieur à 20mm sont qualifiées comme souches fortement protéolytiques.
- Les souches avec un diamètre qui varie entre 10 à 15mm sont moyennement protéolytiques.
- Le groupe des souches faiblement protéolytique leurs diamètre inférieur à 10mm.

Selon cette classification, les souches étudiées sont qualifiées de :

- Souches fortement protéolytiques (S6, S7, S10, S16, et S17) avec un diamètre supérieur à 20 mm.
- Souches moyennement protéolytiques (S31) avec un diamètre de 14,33mm.

#### Protéolyse des souches



#### Protéolyse de la communauté

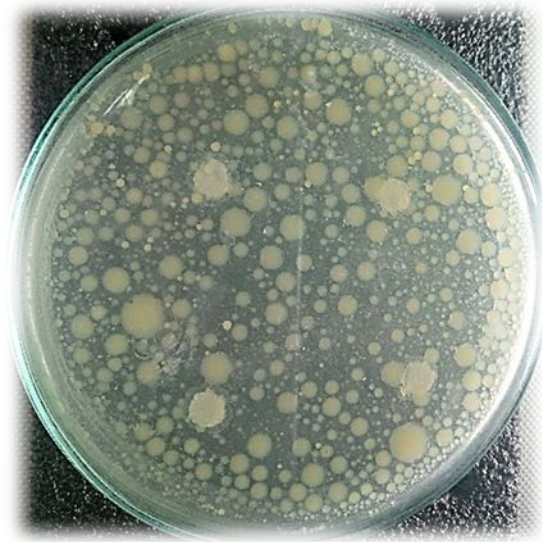


#### IV.4.3. La lipolyse

Les souches testées ne possèdent aucune activité lipolytique, même chose était constatée pour la communauté.

Les résultats montrent que l'activité lipasique est généralement faible chez les bactéries lactiques testées sur gélose aux triglycérides.





#### IV.4.4. L'acidification

L'évolution du pH et de l'acidité Dornic de "Raib" fabriqué à partir du préferment (S6S10) est représentée dans la figure 15. Les valeurs obtenues sont représentés dans les tableaux XII et XIII (Annexe II). Les valeurs représentées sur la figure sont la moyenne de trois répétitions.

Au cours de cette étude, l'activité acidifiante est suivie par la mesure de l'acidité Dornic et du pH. Le suivi de l'acidification a montré une diminution progressive du pH

Le suivi du pH et d'acidité Dornic pendant 24heures du laitensemencé à 1%, et 5% (v/v) par les isolats de bactéries lactiques est représenté sur la figure 09 (A, B, C, et D). Les valeurs obtenues sont représentés dans les tableaux II, III, IV, et V (Annexe II).

D'après ces résultats, nous remarquons que toutesles souches testées présentent en générale une diminution progressive du pH et ce en fonction du temps, accompagnée d'une augmentation de l'acidité Dornic. Cette activité acidifiante est variable d'une souche à l'autre (Figure 09).

La diminution du pH du lait est due à la production d'acide lactique résultant de la fermentation du lactose (**Thomson et al., 1994**).

La détermination de la variation de pH ( $\Delta \text{pH} = \text{pH lait } t=0 - \text{pH lait } t \neq 0$ ), permet de classer les bactéries lactiques acidifiantes en fonction de leur vitesse d'acidification pendant les 6 premières heures d'incubation (**Lairini et al., 2014**), ainsi les souches sont qualifiées de :

Souches à grande vitesse d'acidification si la variation de pH atteint une valeur de 0,4 unité pH en moins de 3 heures.

Souches à vitesse d'acidification moyenne si cette valeur est atteinte entre 3 et 5 heures.

Souches à faible vitesse d'acidification si la valeur de 0,4 est atteinte après 5 heures d'incubation.

Après avoir calculé  $\Delta \text{pH}$  (Tableau VI, Annexe II), toutes les souches étudiées présentent une faible vitesse d'acidification car la valeur 0,4 atteinte après 18h d'incubation.

Les résultats de l'acidité Dornic et de pH obtenus par les cultures mixtes sont donnés dans les tableaux VIII et IX (Annexe II), ainsi que les courbes qui en résultent (Figure 10).

L'une des principales fonctions des bactéries lactiques en technologie laitière est la production d'acide lactique, car cet acide organique permet de concentrer et de conserver la matière sèche du lait, en intervenant comme coagulant et antimicrobien. On comprend donc que l'activité acidifiante soit le critère déterminant de sélection des bactéries lactiques (Boudier, 1985).

L'évolution de l'acidité Dornic et celle du pH en début et à 24 heures d'incubation des cultures de Lactocoques et de Leuconostoc est indiquée dans les tableaux .... Et figures ...

Figure : Evolution du pH chez les leuconostoc en fonction du temps d'incubation

Nous observons que l'acidité du lait enregistrée pour l'ensemble des souches appartenant aux genre Lactococcus et Leuconostoc durant les deux premières heures d'incubation est autour de 18°D avec un pH variant de 6,4 et 6,5. (figures....)

L'acidité titrable maximale enregistrée en 24 heures de temps est de 72°D, correspondant à un pH de 4,8. Elle est produite par la souche ... par contre les souches appartenant aux espèces .... Produisent une quantité d'acide lactique en 24 heures de temps de ..... Respectivement

## Références bibliographiques

---

- **Al Atya, A., Kh. (2016).** Recherche et caractérisation de nouveaux peptides antimicrobiens à partir de bactéries lactiques isolées de méconium, Thèse de Doctorat, Spécialité : Ingénierie des fonctions biologiques, Université de Lille 1, p.12, 14.
- **Allouache, K., Smaoun, O. (2017).** Caractérisation de Souches Locales de Bactéries Lactiques Isolées à Partir de Quelques Produits Laitiers Artisanaux et Mise au Point d'un Produit Type « Raib », Mémoire de Master, Option : Microbiologie Alimentaire et Santé, Université de Béjaia, p.5.
- **Arezki, A.A. (2008).** Etude de Croissance de *Bifidobacterium sp.* dans le Lait de Brebis, Mémoire de Magister en Microbiologie Alimentaire, Université Es-Senia d'Oran, p.15.
- **Badis, A., Laouabdia, S.N., Guetarni, D., Kihal, M., Ouzrout, R. (2005).** Caractérisation phénotypique des bactéries lactiques isolées à partir de lait cru de chèvre de deux populations caprines locales « Arabia et Kabyle », *Sciences et Technologie 23* : 30-37.
- **Baharak, A. (1999).** Effet de la Température sur la Croissance Bactérienne et la Production de Composés d'Arôme dans du Lait Supplémenté de Citrate par des Bactéries Lactiques Mésophiles Aromatisantes en Culture Mixte, Thèse de Maîtrise ès Sciences Nutrition – Alimentation, Université de Moncton, Canada, p.13.
- **Battah, A., Bouhamdani, K. (2017).** Isolement et Essais d'Identification de Quelques Bactéries Lactiques à Partir d'un Fromage Artisanal, Mémoire de Master, Option : Microbiologie Alimentaire et Santé, Université de Béjaia, p.9.
- **Bazo, M. (2011).** Recherche des Effets de l'Activité Antibactérienne des Bactéries Lactiques sur le *Staphylococcus aureus* Résistant à la Méthicilline (SARM), Mémoire Présenté comme Exigence Partielle de la Maîtrise en Biologie, Université du Québec, Montréal, p.6.
- **Benadi, R. (2012).** Etude de l'Effet Antagoniste d'une Souche Lactique S93 (*Lactococcus lactis subsp lactis*) Vis-à-vis des Bactéries Nuisibles, Mémoire de Master, Option : Microbiologie, Université Abou Bekr Belkaïd – Tlemcen, p.9.
- **Benazzouz, Dj. (2012).** Isolement et Caractérisation des Bactéries Lactiques Productrices d'Arômes (diacétyle), Thèse de Magistère, Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie, El Harrach, Alger, Volume 130, p.13, 14.
- **Benazzouz, Dj. (2012).** Isolement et caractérisation des bactéries lactiques productrices d'arômes (diacétyle), Thèse de Magister en Agronomie, option : Sciences Alimentaires, Université EL Harrach, Alger, pp. 35, 36.

- **Björkroth, J. & Holzapfel, W.H. (2006).** Genera *Leuconostoc*, *Oenococcus* and *Weissella*. In: Dworkin, M., Falkow, S., Rosenberg, E., Schleifer, K.-H. & Stackebrandt, E. (eds), *The Prokaryotes*, 3rd edn, Vol. 4. New York: Springer, pp. 267–319.
- **Boulila, F. (2012).** Ecologie microbienne, cours, Université de Béjaia, département des sciences biologiques de l'environnement, p.8
- **Boullouf, A. (2016).** Etude du Pouvoir Technologique de Quelques Bactéries Lactiques du Fromage Traditionnel "Bouhezza", Thèse de Magister, Université des Frères Mantouri, Constantine, Département de Technologie Alimentaire, p.20, 22, 23.
- **Bourel, G., Henini, S., Krantar, K., Oraby, M., Diviès, C., Garmyn, D. (2001).** Métabolisme Sucre – Citrate chez *Leuconostoc mesenteroides*, Laboratoire de Microbiologie UMR-INRA, France, p.76.
- **Chilliard, Y. (1982).** Variations Physiologiques des Activités Lipasiques et de la Lipolyse Spontanée dans les Laits de Vache, de Chèvre et de Femme : Revue Bibliographique (suite). Le Lait, INRA Edition, p.126.
- **Cogan, T., M. (1980).** Les Levains Lactiques Mésophiles. Une Revue, Le Lait, INRA édition, p.407, 408.
- **Cornu, M. (2000).** Dynamique des populations bactériennes en cultures mixtes, Thèse de Doctorat, Université Claude Bernard, Lyon I, p. 35, 61
- **Corrieu, G., Luquet, F., M. (2008).** Bactéries Lactiques, de la Génétique aux Ferments, Collection « Sciences et Techniques Agroalimentaires », 2<sup>ème</sup> éditions, p.83.
- **Courtin, J., P. (2012).** L'homme et les lois de la nature, Précis de culture générale scientifique, Tome 2, Biologie – Ingénierie – Sociologie, p.9.
- **Delarras, C. (2007).** Microbiologie Pratique pour le Laboratoire d'Analyse ou de Contrôle Sanitaire, Edition Lavoisier, p.128.
- **Delcenserie, V., China, B., Gavini, F., Beerens, H., Daube, G. (2002).** Proposition pour un nouveau standard indicateur de la contamination d'origine fécale dans les aliments : le genre *Bifidobacterium*, Article de synthèse, Faculté de Médecine Vétérinaire, Université de Liège, p. 285.
- **Dellali, A. (2012).** Activités Lipolytiques chez les Bactéries Lactiques, Thèse de Magister en Biotechnologie, Université d'Oran, p.22.

- **Desmazeaud, M. (1996).** Les Bactéries Lactiques dans l'Alimentation Humaine : Utilisation et Innocuité, Alimentation et Santé I, p336.
- **Dimopoulou, M. (2013).** Les Polysaccharides de la Bactérie Lactique *Oenococcus oeni*, de l'Elucidation de leurs Structures et Voies de Biosynthèse à leur Valorisation Technologique, Thèse de Doctorat, Spécialité : Œnologie, Université de Bordeaux 2, p.9.
- **Doan, T., L. (2011).** Identification et Caractérisation des Déterminants Physicochimiques et Biologiques mis en jeu dans l'Adhésion de *Lactococcus lactis* à la Mucine Modèle PGM, Thèse de Doctorat, Spécialité : Microbiologie et Biocatalyses Industrielles, Université de Toulouse, p.9.
- **Doguiet, K., D., D. (2010).** Biocontrôle des Moisissures du Genre *Fusarium* Productrices de Fumonisines par Sélection de Bactéries Lactiques Autochtones de Mais, Thèse de Doctorat, Discipline : Biologie, Spécialité Alimentation et Nutrition, Université Bordeaux I, p.35.
- **Dridier, Dj., Prevost, H. (2009).** *Bactéries Lactiques, Physiologie, Métabolisme, Génomique et Applications industrielles*, 593p.
- **Ebel, B. (2012).** Sélection de bactéries probiotiques et amélioration de la survie et de la fonctionnalité d'une bactérie modèle, *Bifidobacterium bifidum*, par modification du potentiel d'oxydoréduction par bullage de gaz. Thèse de Doctorat, Spécialité : Microbiologie, Université de Bourgogne, p. 31, 32, 38, 40.
- **El Saraih, A.A. (2016).** Propriétés Antagonistes et Probiotiques de Nouvelles Bactéries lactiques et Levures Isolées des Matières Fécales Humaine et Animale, Thèse de Doctorat, Spécialité : Ingénierie des Fonctions Biologiques, Université Lille 1 – Sciences et technologies, p.38.
- **Endo, A. & Okada, S. (2008).** Reclassification of the genus *Leuconostoc* and proposals of *Fructobacillus fructosus* gen. nov., comb. nov., *Fructobacillus durionis* comb. nov., *Fructobacillus ficulneus* comb. nov. and *Fructobacillus pseudoficulneus* comb. nov. *Int.J. Syst. Evol. Microbiol* 58: 2195–205.
- **Euloge, P., B. (1992).** Action Comparée sur la Flore Intestinale de Trois Laites Fermentés au *Bifidobacterium*. Evaluation des Propriétés Probiotiques et du Comportement de la Souche BB 536 de *Bifidobacterium longum* chez l'homme, Thèse de Doctorat, Université Nancy I, France, p.5.
- **Facklam, R., Elliot, J.A. (1995).** Identification, Classification, and Clinical Relevance of Catalase–Negative, Gram–positive Cocci, Excluding the Streptococci ad Enterococci. *Clinical Microbiol. Reviews.*, 8 : 479 – 495.



- **Fahimi, N. (2012).** Etude des interactions entre bactéries lactiques œnologiques *Oenococcus oeni*, Analyses Cinétiques et Modélisation, Thèse de doctorat, Université de Toulouse, France, p. 58 – 61.
- **Flacher, F. (2016).** Influence des interactions entre espèces végétales sur les relations plantes-pollinisateurs : cas de la compétition induite par la présence d'espèces anémophiles sur l'attractivité aux pollinisateurs d'espèces entomophiles, Thèse de Doctorat en Ecologie, Université Pierre et Marie Curie, p.20.
- **Galet, J. (2014).** Vers la compréhension des dialogues microbiens dans l'écosystème sol.
- **Galia, W. (2011).** Caractérisation de la Variabilité du Système Protéolytique de Surface de la Bactérie Lactique *Streptococcus thermophilus*, Thèse de Doctorat, Institut Polytechnique de Lorraine, Département des Sciences Agronomiques, p.16, 32.
- **Ghazi, F., Benmechernene, Z., Aggad, H., Gessas, B., Boudjamaa, M.B., Henni, D.E., Kihal, M. (2006).** Phenotypic Identification and Whole Cell Protein Analysis by SDS – Page of dominants lactic acid bacteria isolated from Algerian raw milk. Journal Algérien des régions arides N°06, p.11-22.
- **Givry, S. (2006).** Optimisation de Procédés de Fermentation Lactique sur Sirop de Son de Blé, Thèse de Doctorat, Spécialité : Microbiologie Industrielle, Université de Reims Champagne – Ardenne, p.20.
- **Grandclément, C., Tannières, M., Moréra, S., Dessaux, Y., Faure, D. (2015).** Quorum quenching : role in nature and applied developments, Review Article, Institut for Integrative Biology of the cell, Department of Microbiology, CNRS CEA Paris – sud university, France, p.90.
- **Grattepanche, F. (2005).** Etude d'un Système de Préfermentation en Continu du Lait par une Culture Mixte Immobilisée Fonctionnelle, Thèse de Doctorat en Sciences et Technologie des Aliments, Université Laval, p.9.
- **Guennoc, C., M. (2017).** Etude de l'interaction physique entre le champignon ectomycorrhizien *Laccaria bicolor* S238N et la bactérie auxiliaire de la mycorhization *Pseudomonas fluorescens* BBc6, Thèse de Doctorat, Université de Lorraine, p. 20, 24.
- **Guetarni, H. (2013).** Effets Antibactériens des Bactéries Lactiques Isolées à Partir des Laits Crus Algériens sur la Croissance de *Helicobacter pylori*, Thèse de Doctorat en Microbiologie Alimentaire et Industrielle, Université d'Oran Es-Sénia, p.39.
- **Hammes, W. P., Vogel, R. F. (1995).** The Genera of Lactic Acid Bacteria, The Genus *Lactobacillus*, p.19.

- **Hebert, A. (2010).** Ecosystème fromager : de l'étude du métabolisme du soufre chez *Kluyveromyces lactis* et *Yarrowia lipolytica* à l'interaction entre *Kluyveromyces lactis* et *Brevibacterium aurantiacum*, Thèse de Doctorat, Ecole doctorale ABIES, Paris, p. 79 – 87.
- **Holzappel, W.H., Haberer, P., Geisen, R., Björkroth, J., and Schillinger, U. (2001).** Taxonomy and Important Features of Probiotic Microorganisms in Food and Nutrition. Am J Clin Nutr 2001 Feb;73(2 Suppl) :365S-373S.
- **Holzappel, W.H., Wood, B. J. B. (2014).** Lactic Acid Bacteria, Biodiversity and taxonomy, whiley blackwell, 632p.
- **Idder, Z. (2014).** Etude du Pouvoir Acidifiant des Bactéries Lactiques Appartenant au Genre *Leuconostoc*, Mémoire de Master en Microbiologie, Université AbouBakr Belkaid, Tlemcen, p.7.
- **Ishibashi, N., Yaeshima, T., Hayasawa, H. (1997).** Bifidobacteria : Their Significance in Human Intestinal Health, Morinaga Milk Industry Co. Ltd., Nutritional Science Laboratory, 5-1-83, Higashihara, Zama-City, Kanagawa, 228-8583, Japan.
- **Joubert, D. (2016).** Les Ferments Lactiques, Revue des Ecoles Nationales d'Industrie Laitière, N° 345, p.2.
- **Juillard, V., Spinnler, H., E., Desmazeaud, M., J., Boquien, C.,Y. (1987).** Phénomènes de coopération et d'inhibition entre les bactéries lactiques utilisées en industrie laitière. Le Lait, INRA Editions, p.149 - 172.
- **Juillard, V., Foucaud, C., flambard, B., Furlan, S., Bellengier, P., Richard, J. (1998).** Interactions entre bactéries lactiques mésophiles dans le lait : Rôle des facteurs nutritionnels, Le lait, INRA Edition, p.91.
- **Kouame, S. S. M. (2013).** Contribution à la gestion des risques de contamination microbienne et diversité génotypique des espèces du genre *Bifidobacterium* isolées de la chaîne de production du lait local d'Abidjan, Thèse de Doctorat en Sciences et Technologie des Aliments, Université Nangui Abrogoua, Côte d'Ivoire, p.31 – 36.
- **Lahtinen, S., Ouwehand, A. C., Salminen, S., Vonwright, A. (2012).** Lactic Acid Bacteria, Microbiological and Fonctionnal Aspects, Fourth edition, p. 18-33, 77.
- **Larpent, J.P. (1997).** Microbiologie Alimentaire. *Tec & doc, Lavoisier*, Paris, 10 – 72.
- **Leonard, L. (2013).** Evaluation du Potentiel Bioprotecteur des Bactéries Lactiques Confinées dans une Matrice Polymérique, Thèse de Doctorat, Discipline : Sciences de l'Alimentation, Université de Bourgogne, p.8.

- **Louardi, M. (2013).** Applications de la Spectrométrie de Masse, type MALDI TOF à la Bactériologie et à la Distinction de Variants Génétiques, Thèse de Doctorat, Ecole Doctorale, science de la vie et de la santé, Université de Strasbourg, p. 13, 14 – 51, 53.
- **Mahi, M. (2010).** Etude Technologique des Bactéries Lactiques Isolées à Partir du Lait de Brebis, Mémoire de Magister, Option : Microbiologie Alimentaire, Université d’Oran, p. 27, 30, 36.
- **Mahmoudi, F. (2014).** Les substances antimicrobiennes produites par les *Bifidobacterium* et leurs effets sur les bactéries entéropathogènes, Thèse de Doctorat, option : Contrôle microbiologique et hygiène alimentaire, Université d’Oran, p. 29, 32.
- **Maitre, M. (2012).** Le Chaperon Moléculaire Lo18 de *Oenococcus oeni* : Caractérisation de ses Activités en lien avec sa Plasticité Oligomérique, Thèse de Doctorat, Spécialité : Microbiologie, Université de Bourgogne, p.10.
- **Mechai, A. (2017).** Les Bactéries Lactiques, Diversité et Potentiels Biotechnologiques, 96 p.
- **Mimoun, H.F. (2015).** Effet des Substances Antimicrobiennes Produites par *Leuconostoc mesenteroides* Isolées à Partir du Lait de Chamelle Algérien sur *Listeria ssp.* dans les Produits Alimentaires, Thèse de Doctorat, Spécialité, Microbiologie Appliquée, Université d’Oran, p. 51-56.
- **Mozzi, F., Torino, M., I., Valdez, G., F. (2001).** Identification of Exopolysaccharides Producing
- **Nehme, N. (2008).** Etude des interactions entre *Saccharomyces cerevisiae* et *Oenococcus oeni* : impact sur la réalisation de la fermentation malolactique en cultures séquentielles et mixtes, Thèse de Doctorat, Institut National Polytechnique de Toulouse, Spécialité : Génie des procédés et Environnement, p. 45 – 48.
- **Nguyet Thu H.T. (2008).** Etude de la flore lactique du Nem Chua, produit carné fermenté cru traditionnel du sud Vietnam et Maîtrise du processus de fermentation par ajout de souches lactiques sélectionnées spécifiques du produit. Thèse de Doctorat, Spécialité : Sciences des Aliments et Nutrition, Université de Bordeaux 1, p.38, 40.
- **Ouadghiri, M. (2009).** Biodiversité des Bactéries Lactiques dans le Lait Cru et ses Dérivés « Lben » et « Jben » d’Origine Marocaine, Thèse de Doctorat, Spécialité : Microbiologie et Biologie Moléculaire, Université Mohammed V – AGDAL, Rabat, Maroc, p.40.

- **Panek, J. (2016).** Etude des interactions hôte – parasite dans le cadre d’infections par des microsporidies, un groupe de champignons parasites intracellulaires obligatoires, Thèse de Doctorat, Université Blaise Pascal, Auvergne, p.6
- **Pommier, S. (2003).** Dynamique de populations microbiennes en culture mixte : étude expérimentale en bioréacteur a membranes et modélisation du phénomène killer chez *saccharomyces cerevisiae*, Thèse de Doctorat, Institut National Polytechnique de Toulouse, Spécialité : Génie des procédés et Environnement, p.71
- **Pujol, B. (2014).** Aux Frontières de l’Ecologie et de la Biologie, Dossier issu du Laboratoire Evolution et Diversité Biologique, Université Paul Sabatier, Toulouse, p.7.
- **Rahkila, R. (2015).** Taxonomy and Diveristy of Coccal Lactic Acid Bacteria Associated with Meat and the Meat Processing Environment, Department of Food Hygiene and Environmental Health, Faculty of Veterinary Medecine, University of Helsinki, Finland, p.13.
- **Siegumfeldt, H., Rechinger, K.B., Jakobsen, M., (2000).** Dynamic changes of intracellular pH in individual lactic acid bacterium cells in response to a rapid drop in extracellular pH. *Appl Environ Microbiol*, 66: 2330-2335.
- **Sieuwerts, S. (2009).** Analysis of Molecular Interactions between Yoghurt Bacteria by an Integrated Genomics Approach, Thesis submitted in partial fulfillment of the requirements for the degree of doctor at Wageningen University, p.19.
- **Tabak, S., Bensoltane, A. (2012).** L’activité Antagoniste des Bactéries Lactiques (*Streptococcus thermophilus*, *Bifidobacterium bifidum*, *Lactobacillus bulgaricus*) Vis-à-vis de la Souche *Helicobacter pylori* Responsable des Maladies Gastroduodénales, Revue «Nature & Technologie», n°6, Faculté des Sciences, Université d’Oran, p.71.
- **Tchamba, C., N. (2007).** Caractérisation de la Flore Lactique des Laites Fermentés Artisanaux au Sénégal, Cas de la Zone de Niayes, Thèse de Doctorat, Université Cheikh Anta Diop de Dakar, p.19.
- **Tormo, H. (2010).** Diversité des Flores Microbiennes des Laites Crus de Chèvre et Facteurs de Variabilité, Thèse de Doctorat, Spécialité : Pathologie, Toxicologie, Génétique et Nutrition, Université Paul Sabatier, Toulouse, p.28, 31.
- **Van de Meer, P. (1993).** Impacts écologiques potentiels à long terme des organismes génétiquement modifiés, Etude des documents, des lignes directrices et de la législation, les éditions du Conseil de l’Europe, p. 50
- **Vandenberg, J.C., Smith, A., Pot, B., Ledebøer, A.M., Keresters, K., Verbakel, J.M.A., Verrips, C.T. (1993).** Isolation, Screening and Identification of Lactic Acid Bacteria from

Traditionnal Food, Fermentation Processes and Culture Collection. *Food Biotechnologie*, 7 : 183 – 205.

- **Waters, C.M., Bassler, B.L. (2005).** QUORUM SENSING: Cell-to-Cell Communication in Bacteria. *Annu Rev Cell Dev Biol* 21 : 319 – 346. Doi : 10.1146 / annurev. cellbio. 21.012704. 131001.
- **Zergoug, A. (2017).** Effet des Probiotiques et Bactériocines Vis-à-vis des Pathogènes Responsables des Infections Urinaires, Thèse de Doctorat, Spécialité : Microbiologie Appliquée, Université de Mostaganem, p.4.

## T Speech :

### Partie bibliographique

Un grand merci monsieur le président et un honorable salut estudiantin pour l'assistance ici présente.

Tout d'abord et avant d'entamé le vif du sujet, je tiens à adresser mes profonds remerciements à mon directeur et co-directeur de mémoire **Mr Nemich Said** et **Mme Mghoufel naima** pour avoir accepté d'encadrer ce sujet et d'avoir su orienter mon travail de recherche par leur judicieux conseils et leurs constante disponibilité. Je leur témoigne ici, un profond respect et une totale reconnaissance.

Je tiens également à remercier les 1<sup>er</sup>s responsables de cette structure d'accueil, qui de près ou de loin ont contribué et avec un soin particulier à la réalisation de plusieurs travaux de recherches concrétisés par des publications scientifiques, faisant preuve de rigueur et d'assiduité, d'un esprit de recherche et de créativité.

Mon dernier remerciement est destiné à vous aussi monsieur le président ainsi qu'au 4<sup>ème</sup> membre du jury **Mme Tehalaiti**, pour m'avoir fait l'honneur de présider et de juger ce travail qui j'espère sera à la hauteur de vos attentes à travers les quelques idées bibliographiques sur le sujet que je vais présenter et la partie pratique qui a été faite avec beaucoup d'attention et de minutie.

.....

**(slide 01)** Bref, Le sujet de ce mémoire qui constitue une petite partie d'une thèse de doctorat suit plusieurs objectifs : mis à part l'objectif de se former par la pratique sur terrain ou au sein d'un laboratoire, et aussi sur comment soutenir une opinion devant un jury et développer L'idée de recherche à travers un débat constructif. Viens L'objectif principal qui suit la thématique d'étude.

Un établissement d'une communauté lactique modèle à partir d'interactions entre souches de bactéries lactiques isolées du Jben de chèvre de la wilaya de Nâama, pour laquelle certaines propriétés fonctionnelles ou aptitudes technologiques vont être testées, d'où l'intitulé de notre thème « **Etude des Interactions Entre Bactéries Lactiques, et leurs Aptitudes Technologiques au Sein d'une Communauté** »

.....

Le produit de terroir choisi comme vous le voyez ici était le Jben de chèvre, produit dans des conditions artisanales à partir du lait cru sans ajout de cultures starters industrielles.

L'évaluation de la diversité des bactéries lactiques indigènes contenues dans ce cru et leur mode de vie en consortium via diverses combinaisons nous a ramené à réitérer quelques idées bibliographiques pour mieux appréhender par la suite notre étude expérimentale.

**(Slide 02)** Et là, que peut-on dire de ces microorganismes aux multiples vertus ? D'abord elles sont partout dans la nature, et elles sont connues pour le rôle qu'elles jouent dans la préparation des laitages fermentés. Mais pas que ça, puisqu'elles sont aussi utilisées dans plusieurs processus de saumurage, de saurissage et de salaisons.

**(Slide 03)** Ils améliorent ainsi la conservation des aliments, en agissant sur les textures et les saveurs qui se révèlent différentes de celles de l'aliment à son état originel.

On ne va pas s'étaler bien sûr, sur toutes les caractéristiques de ces bactéries et dire que c'est des bactéries à Gram positives, prenant tel ou tel forme, hétérotrophes, anaérobies et qui tolèrent l'oxygène dans une certaine mesure.....puisque la plupart de ces données sont mentionné dans le manuscrit.

**(Slide 04)** Et J'ai préféré dévoiler ce qui intéresse l'industriel et le consommateur à travers les aptitudes et les propriétés fonctionnelles de ces bactéries, considérées comme des critères de choix parmi tant d'autres non négligeables, entrant dans la fabrication du produit escompté. Parmi ces aptitudes, on trouve le pouvoir acidifiant, texturant, aromatisant, protéolytique, lipolytique et le pouvoir inhibiteur ou antagoniste.

.....

**(Slide 05) L'activité acidifiante** considérée comme l'une des principales fonctions des bactéries lactiques, se manifeste par la production d'acide lactique, issu de la fermentation des hydrates de carbones au cours de la croissance bactérienne. Elle a pour conséquence la coagulation des protéines caséines du lait, chute du pH et l'inhibition de la croissance des bactéries pathogènes et de la flore d'altération. Du point de vue technologique, l'acidification participe aux propriétés rhéologiques du produit final.

Le **pouvoir texturant** se manifeste à travers les EPS synthésisés par ces bactéries et qui interviennent dans la création de la viscosité et l'onctuosité du produit.

**(Slide 06)** Pour ce qui est du **pouvoir aromatisant**, certaines bactéries lactiques qualifiées d'aromatiques sont capables de produire un certain nombre de composés, comme le diacétyl et l'acétoïne résultant de la dégradation du citrate. Ils contribuent (avec S à la fin) à la formation de l'arôme de divers produits laitiers.

**L'activité protéolytique** des bactéries lactiques joue un rôle important lors de l'opération d'affinage des différents types de fromages. Elle est à l'origine du goût typique, de la flaveur désirée et de la texture caractéristique du produit fini.

**L'activité lipolytique** quant-à-elle, participe aussi à développer les qualités organoleptiques du produit à travers la lipolyse, qui génèrent des acides gras libres, précurseurs d'arômes.

Enfin, le **pouvoir inhibiteur** des bactéries lactiques d'intérêt technologique et dû à la production de plusieurs métabolites telles que les acides organiques, le peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), le dioxyde de carbone, le diacétyl et les bactériocines. Aux propriétés antimicrobiennes, ces produits sont capables d'inhiber le développement des microorganismes indésirables et/ou pathogènes sans pour autant modifier les propriétés organoleptiques du produit.

.....

**(Slide 07)** En plus de ces aptitudes technologiques, ce qui intéresse l'industriel et plus le chercheur c'est aussi de connaître les interactions entre les membres du consortium car lorsque les bactéries lactiques sont utilisées en cultures mixtes pour la fermentation, des interactions entre les différentes souches se manifestent.

**Mais en fait, c'est quoi une interaction ?** Tout comme le métabolisme, l'interaction est un caractère fondamental du vivant. Un phénomène qui gouverne la structure des communautés

microbiennes et leur activité en fonction bien sûr des souches qui y sont associés et dans le milieu dans laquelle cette communauté évolue.

Selon quelles soient bénéfiques ou conflictuelles, elles sont généralement classées en deux catégories :

Quand les échanges établis entre les microorganismes sont gagnant – gagnant, là où il y'a stimulation d'un ou de plusieurs microorganismes on parlera ici d'interactions positives, sinon elles sont dites négatives ou de compétition si l'interaction est néfaste sur un ou plusieurs partenaires.

Plusieurs exemples possibles de coopération sont décrits. Les principales sont des interactions de type commensalisme et mutualisme.

**Le commensalisme** est une interaction biologique à bénéfice non réciproque où l'un des partenaires n'a aucun effet sur l'autre mais profite de sa présence. Cependant, **en mutualisme** la relation est à bénéfice réciproque.

Pour ce qui est des interactions négatives, elles désignent une lutte réciproque de deux populations par la production de molécules inhibitrices contre la flore compétitive y compris les bactéries pathogènes et d'altération. Dans ce type d'interactions, il convient de parler : d'amensalisme, de compétition, de parasitisme et de prédation.

Dans **l'amensalisme**, une des deux espèces par son comportement ou son métabolisme produit des substances inhibitrices ayant un effet négatif sur la croissance de l'autre sans frais ou avantages reçu par lui-même.

La **compétition** est une interaction au cours de laquelle les partenaires ont une influence négative réciproque.

Le **parasitisme** et la **prédation** sont aussi deux autres interactions négatives comme déjà citées précédemment, par lesquelles, le parasite utilise l'hôte comme son habitat lui permettant de s'abriter, de trouver les nutriments nécessaires à sa survie et à sa reproduction. Dans le deuxième cas de prédation, une espèce tire profit tandis que l'autre est tuée.

Un autre cas existe aussi, mais qu'on ne peut pas considérer comme interaction proprement dite, c'est ce qu'on appelle **neutralisme**. Dans ce cas précis, les espèces cohabitent dans le même milieu sans se prêter attention l'une à l'autres (aucune relation mutualiste ou concurrentielle existent entre eux).

De ces quelques idées théoriques venant maintenant exploiter ce qui nous intéresse le plus dans la partie expérimentale.



## Partie expérimentale

(Slide 8) Donc, ce travail a été réalisé ou accompli au sein de ce même laboratoire LSTPA, laboratoire de recherche en sciences techniques et production animale, dans un but d'étudier comme déjà cité en thème **les interactions entre certaines souches de bactéries lactiques, afin de construire une communauté modèle pour laquelle certaines aptitudes vont être testées.**

(Slide 9) Lors de ce travail, 12 souches de bactéries lactiques ont été utilisées pour l'étude des interactions, toutes isolées du Jben de chèvre de la région de Naâma et identifiées par spectrométrie de masse (MALDI TOF / MS) comme présenter dans le tableau

(Slide 10) Différents milieux de cultures ont été utilisés dans cette étude à savoir :