

République Algérienne Démocratique et Populaire

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



جامعة عبد الحميد بن باديس
مستغانم
كلية علوم الطبيعة والحياة

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

Mémoire de fin d'études

Présenté par

Mme. TAYEB Chérifa

Pour l'obtention du diplôme de

Master en BIOLOGIE

Spécialité : Production & Transformation laitière

Thème

*ETUDE DES APTITUDES TECHNOLOGIQUES
DE SOUCHES LACTIQUES ISSUES DU J'BEN
DE CHEVRE*

Soutenu publiquement le 13/09/2018

Devant le Jury

Président	Mr. BEKADA	Professeur	U. Mostaganem
Examineurs	Mme. TEHALAITI	Maître assistante	U. Mostaganem
	Mr. DAHOU	Maître assistante	U. Mostaganem
Encadreur	Mr. NEMMICHE	Professeur	U. Mostaganem
Co-Encadreur	Mme. MEGHOUFEL	Doctorante	U. Mostaganem

Thème réalisé au laboratoire de Recherches en Sciences Techniques & de Production

Animale (LSTPA) de Mostaganem

2017 - 2018

Dédicace

J'ai l'immense plaisir de dédié ce travail à :

Mon père qui n'est plus parmi nous aujourd'hui et ma très chère mère, lumière de ma vie.

*Mes très chers frères, sœur et adorables petites nièces : **Kawther** et **Aya**, pour leurs encouragements et leurs présences à mes côtés.*

*Mes chères amies et confrères d'étude les plus proches : **MEZADJA. Karima**, **BENOTMANE.K**, **BOUTEBAL.A**, qui m'ont beaucoup soutenue moralement dans les pires moments de désespoir.*

Et a

Toutes les personnes qui m'ont encouragé et cru en moi.

Un grand merci à tous.

Chérifa

Remerciements

Merci à **Dieu** qui m'a donné le courage, la volonté et la patience pour pouvoir réaliser ce travail.

Je tiens tous d'abord à remercier mon encadreur de mémoire **Mr. NEMMICHES**, Professeur à l'université de Mostaganem, qui m'a offert l'opportunité de pouvoir entamer cette formation.

A ma co-encadreur **M^{me}. MEGHOUFEL Naima**, Doctorante à l'université de Mostaganem, qui m'a supervisée tout au long de ce travail et qui m'a aidée par son savoir et son expérience.

Mr. HOMRANI AËK, Directeur du Laboratoire de Recherche en Sciences et Techniques de Production Animale et Professeur à l'université de Mostaganem, de m'avoir donné l'opportunité de travailler au sein de son établissement.

Les membres du jury, qui m'ont honoré d'avoir acceptés d'examiner et d'évaluer ce modeste travail.

Je remercie également le responsable technique de l'établissement d'accueil **Mr. BENHARRAT. N**, qui s'est montré patient malgré, Mon grand merci va à mes amis d'étude les plus proches **MEZADJA. Karima**, **BENOTMANE.K**, **BOUTEBAL.A.** qui m'ont été d'une aide qu'on ne peut décrire.

Sans oublier mes copines et confrères de travail : **MAROUF**, **MEGDAD**, **BENKAAKAA**, **BELAHCEEN**, **NADER**, **BENKHAMKHAM**, **MEKKAOUI**, **BENYAMINA**, **HARRAT**, **KHALIFA**, **OUALI** et à tous ceux qui m'ont aidée de près ou de loin.

Et pour finir, le plus grand remerciement revient à ma famille, ma très chère mère à la qu'elle je dois la vie, sans oublier mes frères, ma sœur et mes tantes qui m'ont bien encouragé.
Et un très grand merci à la lumière de mes jours ma cher adorée **KAWTHER**.

Chérifa

Liste des abréviations

A : De fonction inconnue

Ac : *Aerococcus*

Ac : Acide

AESA : Autorité Européenne de la Sécurité Alimentaire

ADN : Acide désoxyribonucléique

ADP : Adénosine diphosphate

AHL : Acyl-homosérine lactone

AIP : Auto-inductor peptide

ARN : Acide ribonucléique

ARNr 16S : Acide ribonucléique ribosomique 16^{ème} séquence

ATB : Antibiotiques

ATP : Adénosine triphosphate

ATTC : Séquence d'ADN

B : Participant probablement à la stabilité

Bif : *Bifidobacterium*

BL : Bactérie lactique

C : Cytoplasme

CA-SFM : Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de la Microbiologie

Cb : *Carnobacterium*

CEPS : Protéase extracellulaire à sérine

CMI : Concentration minimale d'inhibition

CO₂ : Dioxyde de carbone

CW : Paroi cellulaire

°D : Degré Dornic

diP : Diphosphate

DGGE : Denaturing Gradient Gel Electrophoresis

D.O : Densité optique

DSMZ : Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen (Collection allemande de micro-organismes et de cultures cellulaires)

En : *Enterococcus*

EMP : Embden Meyerhof-Parnas

EPS : Exopolysaccharide

FML : Fermentation malo-lactique

FISH : Fluorescence in situ hybridization

FPC : Fructose-6-P phosphocétolase

G + C : Guanine + Cytosine

H : Domaines hélix qui positionne (A) et (B) à l'extérieur de la cellule

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène

I : D'insert qui régule probablement leur spécificité

Lb : *Lactobacillus*

Lc : *Lactococcus*

Ln : *Leuconostoc*

M : Membrane cytoplasmique

MALDI-TOF : Matrix-assisted laser desorption/ionization (MALDI) time-of-flight (TOF)

MH : Mueller-Hinton

NaCl : Chlorure de Sodium

NAD⁺ : Nicotinamide adénine dinucléotide oxydée

NADH : Nicotinamide adénine dinucléotide réduite

NaOH : Hydroxyde de Sodium

Oe : *Oenococcus*

P: Phosphate

Pc: *Pediococcus*

PCA: Plate Count Agar

PCR: Polymérase Chain Reaction

PEP: phosphor-énolpyruvate

PFGE: Pulsed-field gel electrophoresis

pH: Potentiel d'hydrogène

pK : Plasmide conjugatif

PP : Correspondent au peptide signal

PR : Catalytique des protéases à sérine

PrtB : Protéase de bulgaricus

PrtH : Protéase de helveticus

PrtP : Protéase de paracasei

PrtR : Protéase de rhamnosus

PrtS : Protéase de streptococcus thermophilus

PTS : Système phosphotransférase

PYR : Pyruvate

RAPD : Random Amplified Polymorphic DNA

RFLP : polymorphisme de longueur des fragments de restriction

RASRBA : Réseau d'Antibiotique Algérien

S : Streptomycine

Sc : *Streptococcus*

Subsp. : Sous espèce

SSCP : polymorphisme de conformation des simples brins

ssp : Sous espèce

SXT : Triméthoprim + sulfaméthoxazole

T-nég : Témoin négatif

Tc : *Tetragenococcus*

TGGE : Temperature Gradient Gel Electrophoresis

TPP : Thianine pyrophosphate

Tn917 : Transposon 917

UFC : Unité Formant Colonie

UHT : Ultra Haute Température

UI : Unité internationale

Vc : *Vagococcus*

V_{NaOH} : Volume de NaOH

VP : Voges Proskauer

W : Domaine hydrophobe

We : *Weisella*

Liste des figures

Fig.1 Les deux principales voies cataboliques du glucose chez les bactéries lactiques (Dellaglio et <i>al.</i> , 1994)	06
Fig.2 Voie bifide de la dégradation du glucose (Drider and Prevost,2009)	08
Fig.3 Représentation schématique de protéases de paroi de déférentes bactéries lactiques selon le modèle proposé par Siezien (1999) et Savijoki et <i>al.</i> (2006)	10
Fig.4 Principales voies de la lipolyse chez les bactériens lactiques (Siegumfeldt et <i>al.</i> , 2000) ...	11
Fig.5 Le métabolisme de citrate chez les bactéries lactiques (Cogan, 1981)	12
Fig.6 Arbre phylogénétique des principaux genres de bactéries lactiques et des genres associés, obtenu par analyse des ARNr 16S (Stiles and Holzapfel, 1997)	14
Fig.7 L'aspect macroscopique de deux souches lactiques ND6 et ND8 sur gélose M17	37
Fig.8 L'aspect microscopique de souches lactiques ND6 et ND2 après coloration de Gram	38
Fig.9 Résultats du test d'acétoïne dans le lait pour les trois ND9, G'3 (<i>Lactococcus</i>) et NF3 (<i>Leuconostoc</i>)	39
Fig.10 Activité protéolytique des souches lactiques étudiées après 24 heures d'incubation à 1% et 8% de poudre de lait additionné	40
Fig.11 Activité protéolytique des souches lactiques étudiées après 24 heures d'incubation et à différent pourcentage de poudre de lait rajouté	42
Fig 12. Activité protéolytique des souches lactiques étudiées après 48 heures d'incubation et à différent pourcentage de poudre de lait rajouté	43
Fig 13. Résultats du test de lipolyse de deux souches lactiques ND8 (<i>Leuconostoc</i>) et ND6 (<i>Lactococcus</i>)	44
Fig 14. Evolution du pH par rapport aux souches testées en fonction du temps d'incubation	45
Fig 15. Evolution de l'acidité Dornic du lait après 24 heures d'incubation	46
Fig 16. Illustration de l'expression phénotypique de deux souches lactiques testées	49

Liste des tableaux

Tableau 01 : Les principaux genres des bactéries lactiques et les caractéristiques physiologiques qui forment la base de la classification et de l'identification (Matamoros, 2008)	13
Tableau 02 : Exemples de méthodes moléculaire utilisées dans la caractérisation des bactéries lactiques au sein des écosystèmes (Renault, 2005)	26
Tableau 03 : Identification et origine des souches de bactéries lactiques	27
Tableau 04 : Liste des antibiotiques utilisés pour le test d'antibiogramme	29
Tableau 05 : Procédure et critères de catégorisation selon les valeurs critiques (CA-SFM, 2012)	35
Tableau 06 : Résultats du test d'acétoïne dans le lait et le milieu Clark et Lubs	39
Tableau 07 : Moyennes des diamètres de lyse en millimètre chez les souches lactiques après 24 heures d'incubation	42
Tableau 08 : Moyennes des diamètres de lyse en millimètre chez les souches lactiques après 48 heures d'incubation	43
Tableau 09 : Résultats du test de lipolyse des souches lactiques étudiées après 48 heures d'incubation	44
Tableau 10 : Evolutives du pH en fonction du temps d'incubation par rapport à chaque souche	45
Tableau 11. Evolution de l'acidité Dornic (en °D) des souches lactiques testées en fonction du temps d'incubation	46
Tableau 12. Valeurs des diamètres de lyse tout au pourtour des disques d'antibiotiques (les diamètres de lyse sont exprimés en millimètre)	50
Tableau 13. Catégorisation des souches lactiques à testées par rapport aux diamètres critiques	51
Tableau 14. Abaques de référence contenant les valeurs critiques pour chaque antibiotique (CA-SFM, 2012)	74

Table des matières

Dédicaces	
Remerciements	
Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	

Partie bibliographique

Introduction	1
Chapitre I : Synthèse bibliographique	
I. Généralités sur les bactéries lactiques	2
I.2. Habitat des bactéries lactiques	2
I.3. Taxonomie et classification des bactéries lactiques	3
I.4. Métabolisme des bactéries lactiques	4
I.4.1. Le métabolisme des sucres	5
I.4.1.1. Homofermentaires	5
I.4.1.2. Hétérofermentaires	5
* chez les lactocoques	7
* chez les <i>leuconostocs</i>	7
I.4.1.3. La voie fermentaire bifide	7
I.4.2. La protéolyse	8
I.4.3. La lipolyse	10
I.4.4. Le métabolisme de citrate	11
I.5. Principaux genres de bactéries lactiques	13
I.5.1. Classification et identification de bactéries lactiques	13
I.5.2. Caractéristiques des principaux genres de bactéries lactiques	15
I.5.2.1. Le genre <i>Lactobacillus</i>	15
I.5.2.2. Le genre <i>Lactococcus</i>	15
I.5.2.3. Le genre <i>Streptococcus</i>	16
I.5.2.4. Le genre <i>Enterococcus</i>	17

I.5.2.5. Le genre <i>Oenococcus</i> et <i>Weissella</i>	17
I.5.2.6. Le genre <i>Leuconostoc</i>	17
I.5.2.7. Le genre <i>Pediococcus</i>	18
I.5.2.8. Le genre <i>Bifidobacterium</i>	19
I.5.2.9. Le genre <i>Vagococcus</i>	19
I.6. Intérêt des bactéries lactiques	19
I.6.1. Rôle organoleptique	20
I.6.1.1. Rôle texturant	20
I.6.1.2. Rôle aromatisant	20
I.6.2. Rôle conservateur	21
I.6.3. Domaine de la santé	22
I.7. Valorisation de l'antibiogramme au sein des bactéries lactiques	23
I.8. Applications industrielles des bactéries lactiques	24
I.9. Méthodes d'étude des bactéries lactiques	25
I.9.1. Méthodes génotypiques	25
I.9.2. Méthode protéomique	26

Partie Expérimentale

Chapitre II : Matériels & Méthodes

II. Matériels & Méthodes	27
II.1. Lieu et objectif de l'étude	27
II.2. Origine des souches utilisées	27
II.3. Matériel et produits	28
II.3.1. Milieux de cultures	28
II.3.2. Matériel biologique utilisé	28
II.4. Revivification des souches lactiques	30
II.5. Purification des souches	30
II.5.1. Caractéristique macroscopique	30
II.5.2. Caractéristique microscopique	30
II.5.3. Test de production de catalase	30
II.6. Conservation des souches	31
II.7. Etude des aptitudes technologiques des souches d'intérêts	31
II.7.1. Production d'acétoïne	31
II.7.2. La protéolyse	32

II.7.3. La lipolyse	32
II.7.4. L'acidification	32
II.8. Antibiogramme	33
Chapitre III : Résultats & Discussion	
III. Résultats & Discussion	37
III.1. Revivification et purification des souches lactiques	37
III.1.a. Examen macroscopique	37
III.1.b. Examen microscopique	37
III.2. Résultats d'étude des aptitudes technologique des souches lactiques	38
III.2.1. Production d'acétoïne	38
III.2.2. La protéolyse	40
III.2.3. La lipolyse	44
III.2.4. L'acidification	45
III.3. Antibiogramme	48
Conclusion	55
Références Bibliographiques	57
Annexes	71
Résumé	76
Abstract	77
ملخص	78

Introduction

Les bactéries lactiques font parties des bactéries les plus bénéfiques et les plus utilisées dans l'industrie agro-alimentaire et précisément laitière (Bakhouche and Baoulahrouf, 2005 ; Hikmate et *al.*,2012).

Par leurs pouvoir fermentaires et du fait de leurs particularités métaboliques produisant de l'acide lactique, elles confèrent des saveurs typiques aux produits (Labaoui et *al.*,2005). L'activité enzymatiques variées de ces bactéries contribue au développement aromatique et savoureux des dérivés laitiers par la production de composés volatils particuliers tel que l'arôme des yaourts (Labaoui et *al.*,2005).

En industrie alimentaire, elles sont aussi à l'origine des processus de transformation conditionnant la texture et la qualité organoleptique des produits alimentaires fermentés (Ganzele et *al.*, 2000 ; Delgado et *al.*, 2001 ; Tailliez, 2001).

Quelques souches lactiques sont capables de produire des exopolysaccharides ayant un rôle texturant important dans le développement de plusieurs produits laitiers (Labaoui et *al.*,2005).

Cette étude a pour objectif d'étudier quelques aptitudes technologiques de certaines souches de bactéries lactiques (de deux espèce *Lactococcus lactis* et *Leuconostoc mesenteroides*) issues du J'ben de chèvre préparé de façon artisanale. Les aptitudes visées concernent l'activité acidifiante, la mise en évidence de quelques-unes des activités métaboliques (activité protéolytique, lipolytique et aromatique) et la définition de la sensibilité de ces souches envers une gamme d'antibiotiques afin de valoriser leurs utilisations futures au sein de ferments fromager.

Ce travail a été entièrement réalisé au niveau du Laboratoire de Recherches des Sciences et Techniques et de Production Animale (LSTPA) au niveau de l'Exploitation Agricole de Hassi Mamèche, affiliée à l'Université de Mostaganem.

Ce mémoire entre dans le cadre d'une thèse de Doctorat réalisé sur les ferments autochtones isolés du J'ben traditionnel.

I. 1. Généralités sur les bactéries lactiques

Au début du XXe siècle et pour la première fois, les bactéries lactiques ont été décrites par Orla-Jensen. Elles constituent un groupe hétérogène, qui n'est pas clairement défini du point de vue taxonomique (Stackebrandt and Goebel, 1994).

Ces bactéries lactiques varient entre des coques ou des bacilles, Gram positif ayant en commun comme produit final de l'acide lactique par la fermentation des sucres. Elles sont procaryotes hétérotrophes et de métabolismes chimio-organotrophes, généralement immobiles asporulées et ont des exigences nutritionnelles complexes en ce qui concerne les acides aminés, les peptides, les vitamines, les sels, les acides gras et les glucides fermentescibles (Dellaglio et al., 1994).

Leurs contenus en G+C de leur ADN varient de 33 à 54%, ce qui les classe parmi les bactéries à faible pourcentage de G+C (Muto and Osawa, 1987).

Ces bactéries ne possédant pas de cytochrome, elles tirent leurs énergies de la phosphorylation des substrats au cours de la fermentation des sucres.

Les bactéries lactiques sont divisées en deux groupes : homolactiques strictes produisant uniquement de l'acide lactique en suivant la voie D'Embden-Meyerhof et hétérolactiques pouvant produire de l'acide acétique, de l'éthanol et du dioxyde de carbone en plus de l'acide lactique suivant la voie des pentoses phosphates (Prescott et al., 2003).

La catégorie des bactéries lactiques abrite plusieurs genres :

Aerococcus, *Alloicoccus*, *Carnobacterium*, *Oenococcus*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Weissella*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus* et *Bifidobacterium* (Klein et al., 1998 ; Guiraud et al., 2003 ; Axelsson, 2004 ; Limsowtin et al., 2004).

I. 2. Habitat des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques ont un large spectre de colonisation. Elles sont ubiquistes, en les trouvent dans différentes niches écologiques : comme le lait et ces dérivés, les végétaux, les viandes, les poissons, le tractus digestif et les muqueuses humaines et animales (Drouault and Corthier, 2001).

Les bactéries lactiques ont une authenticité ethnique à certains milieux, certaines espèces ne sont guère trouvées au part ailleurs que dans leurs habitats naturels (De Roissart, 1986).

I. 3. Taxonomie et classification des bactéries lactiques

La taxonomie des bactéries lactiques est en perpétuelle évolution depuis la description du *Bacterium lactis* (actuellement *Lactococcus lactis*) (Pot, 2008). Au cours de ces dernières années, on vit une augmentation énorme du nombre de nouvelles espèces d'où des réorganisations contribuant à fusionner des espèces en une seule ou les identifier comme une nouvelle espèce (Schleifer et *al.*, 1985).

L'identification des espèces lactiques peut être réaliser sous plusieurs critères la combinaison du G+C de l'ADN, la composition en acides gras ou encore la mobilité électrophorétique de la lactate déshydrogénase qui sont des précurseurs d'études (Vandamme, 1996 ; Stiles and Holzopfel, 1997 ; Ho et *al.*, 2007).

Suivant la morphologie comme étant le critère descriptif de la classification des genres des bactéries lactiques, elles peuvent être divisées arbitrairement en bacilles (*Lactobacillus* et *Carnobacterium*) et coques (tous les autres genres) (Ho et *al.*, 2007).

Le genre *Weissella*, récemment décrit est le seul genre qui comporte à la fois des bacilles et des coques (Collins et *al.*, 1993 ; Ho et *al.*, 2007).

Les bactéries lactiques ont été classée pour la première fois, en 1919 par Orla-Jensen et ceux sur la base des caractéristiques observables telles que les propriétés morphologiques, biochimiques et physiologiques ou encore les marqueurs chimiotaxonomiques (Krieg, 2001).

D'après Ludwig et *al.*, 2008, le phylum firmicutes comprend 3 classes qui sont : Bacilli, Clostridia et Erysipelotrichi, les bactéries lactiques appartenant à la classe Bacilli sont divisées en trois familles :

- Famille des Lactobacillaceae, comportant les *Lactobacillus*, *Paralactobacillus* et *Pediococcus*.
- Famille des Leuconostocaceae, contenant les *Leuconostoc*, *Oeuococcus* et *Weissella*.
- Famille des Streptococcaceae, comprenant les *Streptococcus*, *Lactococcs* et *Lactovum*.

A la lumière de l'innovations moléculaires et par des méthodes très pointus de nouvelles classifications taxonomiques de ces bactéries lactiques ont vu le jour tels que les techniques génétiques (ex : profilages plasmidiques, ...), les techniques de typages (ex : le séquençage des gènes, PCR, ...) et les méthodes pour étudier des populations complexes (ex : DGGE, TGGE, ...) (Pot, 2005), et plus particulièrement l'hybridation ADN-ADN et le séquençage du gène de l'ARNr 16S qui ont permis d'affiner cette classification (Pot, 2005).

Ces deux dernières techniques citées ont abouti à plusieurs remaniements dans la classification de ces bactéries lactiques en :

- Séparant *Streptococcus sensu stricto*, *Lactococcus* et *Enterococcus* du genre *Streptococcus* (Schleifer *et al.*, 1995) ;
- Regroupant des espèces sous le même genre comme le cas du genre *Carnobacterium* créé pour regrouper des espèces de *Lactobacillus* proches (Collins *et al.*, 1987) ;
- Regroupant des bactéries isolées du vin sous le genre *Oenococcus* et précédemment ces bactéries du vin classées dans le genre *Leuconostoc* (Dicks *et al.*, 1995) ;
- Et contribuant à la phylogénèse les genres *Tetragenococcus* et *Aerococcus* dans le genre *Pediococcus* (Collins *et al.*, 1990).

I. 4. Métabolisme des bactéries lactiques

Toute croissance nécessite la production d'énergie et les bactéries lactiques ne font pas exception à la règle. Hétérotrophes, elles tirent leurs énergies de la fermentation des substrats carboniques. Les carbohydrates fermentés en acide lactique par les bactéries lactiques peuvent être des monosaccharides tels que des hexoses (glucose, galactose), des pentoses (xylose, ribose, arabinose), hexitols et pentitols (mannitol, sorbitol, xylitol) ou des disaccarides (lactose, saccharose, cellobiose, tréhalose).

La fermentation des sucres s'effectue essentiellement en trois étapes : le transport du sucre à travers la membrane cellulaire, le catabolisme intracellulaire du sucre et la formation et l'expulsion extracellulaire des métabolites terminaux.

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

I. 4.1. Le métabolisme des sucres

Les bactéries lactiques synthétisent leur ATP grâce à la fermentation lactique des glucides, on les distingue en groupes biochimiques : homofermentaires, hétérofermentaires ou encore une voie bifide.

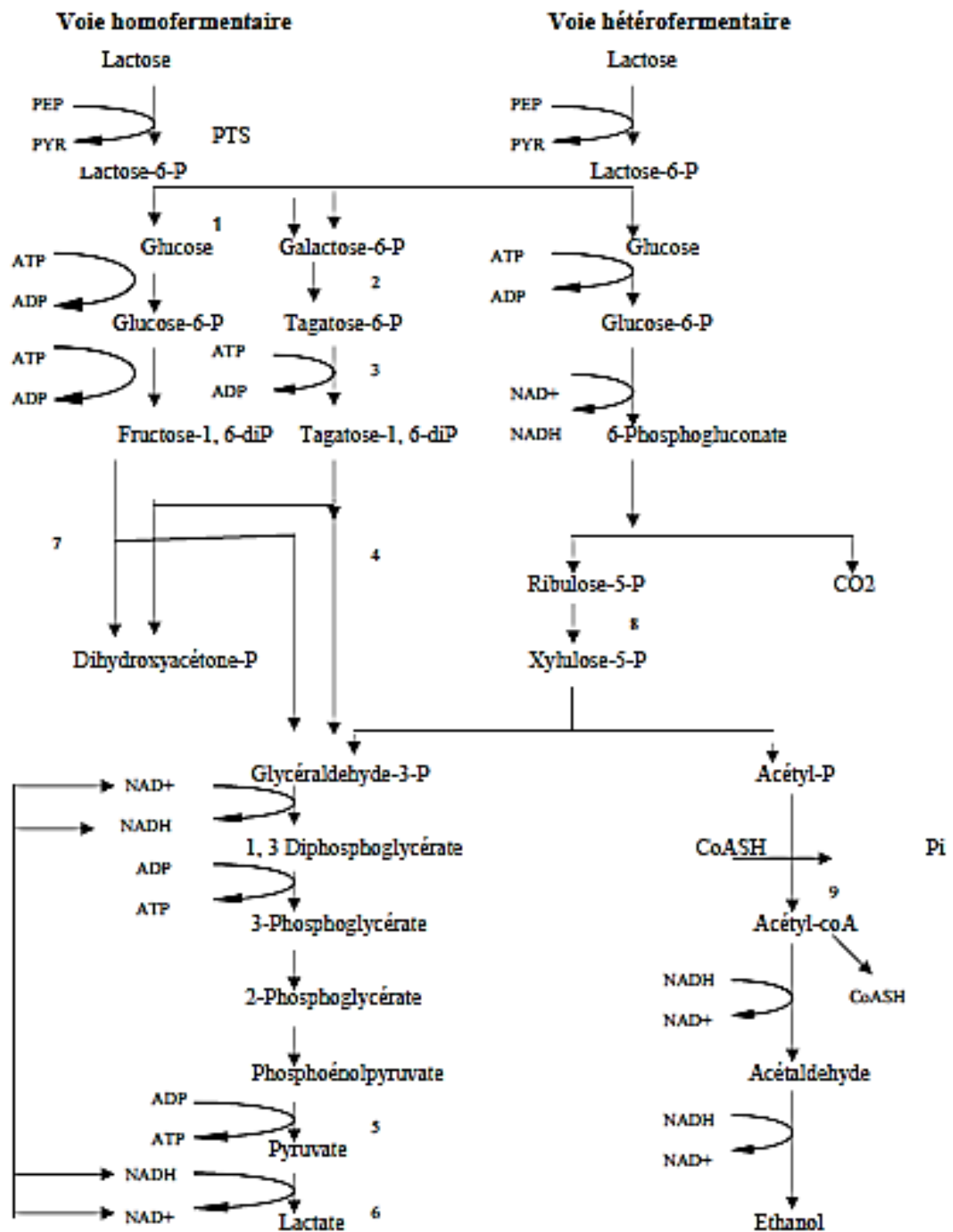
I. 4.1.1. Homofermentaires

L'acide lactique est produit par la transformation du glucose en excès présent dans le milieu de croissance des bactéries lactiques. Ces bactéries produisent deux molécules de lactate (C3) via une molécule de glucose (C6) consommé. Le transport du glucose ou du lactose vers les cellules diffère d'une espèce à l'autre. Les bactéries lactiques utilisent la voie d'Embden-Meyerhof-Parnas dans la dernière étape de la glycolyse convertissant le pyruvate en lactate et régénérant ainsi du NAD⁺ à partir du NADH formé auparavant. Dans cette dernière étape les bactéries font intervenir une lactate-déhydrogénase (Desmazeaud, 1996).

I. 4.1.2. Hétérofermentaires

Les bactéries lactiques utilisent les voies du tagatose-6-phosphate de la glycolyse et des pentoses phosphates. Seule une molécule d'acide lactique est produite à partir du glucose, une autre molécule en di-carbone (C2) et une molécule d'oxygène sont produite (en général soit de l'éthanol soit de l'acide acétique). Le résultat de la fermentation hétérofermentaires lactique aboutit à la formation de quantité équimolaire de lactate, d'éthanol et de gaz carbonique. Une production de formate et d'acétate peuvent avoir lieu notamment en aérobiose (Desmazeaud, 1996).

La différence entre ces deux groupes est détectable par le dégagement de CO₂ (Bourgeois et al., 1996). La figure 01 présente les deux principales voies de la du métabolisme des sucres chez les bactéries lactiques.



1 : phospho-β-galactosidase ; 2 : tagatose-6-phosphate Isomérase ; 3 : tagatose-6-phosphate Kinase ; 4 : tagatose-1, 6-diphosphate aldolase ; 5 : pyruvate Kinase ; 6 : lactate déshydrogénase ; 7 : fructose-1, 6-diphosphate aldolase ; 8 : pentose-5-phosphate cétolase ; 9 : éthanol déshydrogénase)

Figure 1. Les deux principales voies cataboliques du glucose chez les bactéries lactiques (Dellaglio et *al.*, 1994).

- **Chez les Lactocoques**, les sucres sont transportés par un système actif mettant en jeu une phosphotransférase (PTS) qui phosphoryle les sucres au dépend du phospho-énolpyruvate (PEP). Le PEP dans ce cas intervient surtout dans le métabolisme des sucres transportés. Le lactose (dans le cas du lait), apparaît dans la cellule sous forme de glucosyl- β -(1-4) - galactoside- 6-P (ou lactose-P) et prêt à être hydrolysé par une β -D-phosphogalactosidase (Lee et *al.*, 1973 ; Molskness et *al.*, 1973 ; Thompson, 1979).
- **Chez les *Leuconostocs***, le transport du lactose se fait librement par l'intermédiaire d'une perméase, puisque la présence systématique d'une β -galactosidase a été démontrée dans 28 souches (Somkuti and Steinberg, 1979a).

Le glucose et le galactose issus de la dégradation du lactose sont transformés respectivement en glucose-6-P selon la voie d'Embden-Meyerhof-Parnas et en galactose-6-P selon la voie du D-tagatose-6-P.

I. 4.1.3. La voie fermentaire bifide (ou voie de la fructose-6-P phosphocétolase FPC)

Elle est la voie empruntée par les bactéries du genre *Bifidobacterium* car pour une molécule d'hexose consommée en a une production de 1,5 molécule d'acétate et 2,5 molécules d'ATP.

Les hexoses autres que le glucose (mannose, galactose, fructose) rejoignent en général les voies précédentes après différentes étapes d'isomérisations et de phosphorylation en glucose-6-P et fructose-6-P, le lactose entre dans la cellule par le système phosphotransférase (PTS) et est phosphorylé en lactose-6-phosphate et hydrolysé à l'intérieur de la cellule en glucose et galactose-6-phosphate, il rejoint finalement la glycolyse au niveau des trioses-phosphate. Les pentoses consommés (ribose, arabinose, xylose) sont convertis en xylulose-5-phosphate par des réactions de phosphorylation et d'isomérisation ou d'épimérisation (Drider and Prevost, 2009). La figure 02 présente la voie bifide de la dégradation du glucose.

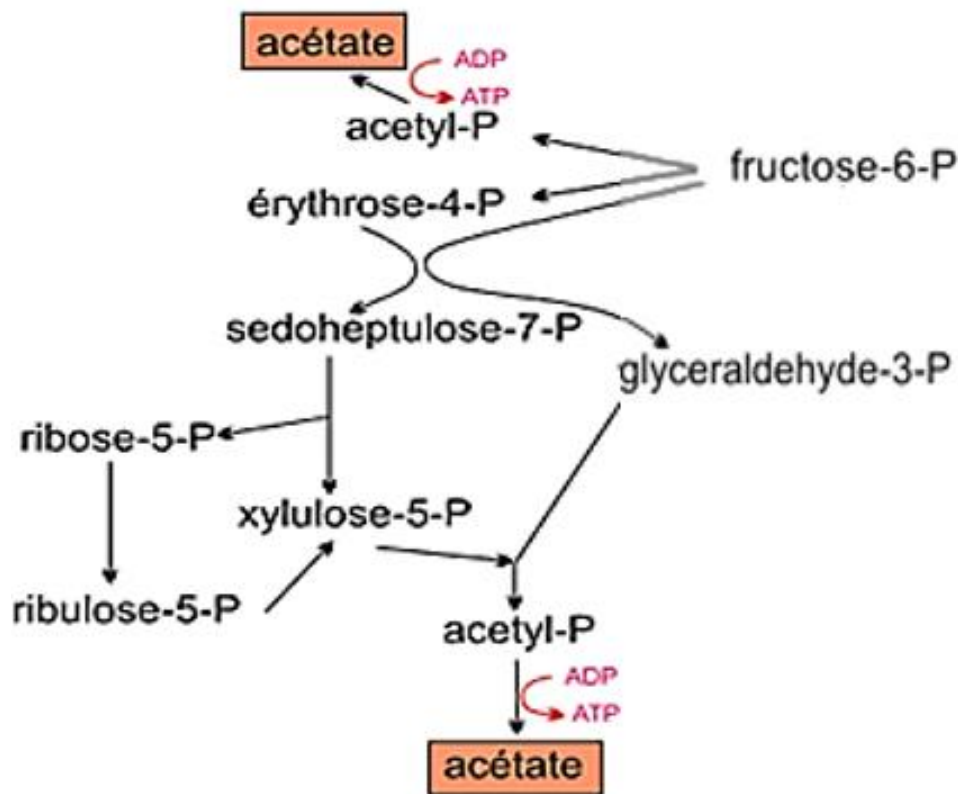


Figure 02. Voie bifide de la dégradation du glucose (Drider and Prevost, 2009)

I. 4. 2. La protéolyse

En vue de l'incapacité des bactéries lactiques à synthétiser les acides aminés nécessaires à la synthèse protéique où les protéines constituent la principale source d'azote, un fonctionnement actif du système protéolytique est déclenché dans leurs environnements (Law and Haandrikman, 1997). Ce système est complexe de par le nombre et la nature des protéases et peptidases présentes mais également de par leur localisation cellulaire.

Le système protéolytique des bactéries lactiques est composé de protéases associées à la paroi cellulaire qui catalysent l'hydrolyse des protéines en peptides contenant de 07 à 16 résidus aminés. (Law and Haandrikman, 1997). La figure 03 représente une schématisation de protéases de paroi de différentes bactéries lactiques.

Les bactéries lactiques démontrent des potentialités différentes liées à leurs équipements enzymatiques pour l'utilisation de la fraction azotée. (Donkor et al., 2007 ; Monnet et al., 2008 ; Roudj et al., 2009).

Le système protéolytique joue un rôle clé dans la fermentation du lait et permet l'obtention des acides aminés à partir des caséines, les protéines les plus abondantes dans le lait (Moussaoui, 2013). L'activité protéolytique des bactéries lactiques reste faible comparativement à celle des autres genres bactériens (Giraffa, 2003). Les Lactobacilles présentent généralement une activité protéolytique plus prononcée que les Lactocoques (Donkor et *al.*, 2007 ; Monnet et *al.*, 2008 ; Roudj et *al.*, 2009).

Des études comparatives effectuées sur la protéolyse du cheddar fait avec ou sans ferments lactiques ont démontré l'importance de ces bactéries pour la libération de petits peptides et d'acides aminés libres durant la maturation fromagère (Lynch et *al.*, 1997 ; Lane and Fox, 1996 ; Farkye et *al.*, 1995).

Le départ de la protéolyse chez les souches lactiques commence par l'action des protéases extracellulaires (CEPS) qui sont des enzymes à sérine, elles se lient de manière covalente à la paroi et hydrolyse les caséines en oligopeptides qui peuvent ensuite être transportés à l'intérieur de la bactérie (Hassaine, 2013).

Selon Jeanson (2000), 2 types de protéases agissant sur les caséines (protéines impliquées dans la coagulation du lait) sont synthétisées, protéase de type I responsable de la protéolyse de la caséine β et la protéase de type III responsable de la protéolyse des caséines β , α_1 et κ .

Certaines souches de bactéries lactiques ne possèdent pas des protéases de la paroi et sont dépendantes alors de l'action de la protéase présente chez les autres souches pour se développer dans le lait (Savijoki et *al.*, 2006).

Les protéases extracellulaires (CEPS) des bactéries lactiques sont synthétisées comme pré-protéines d'environ 200 résidus. Elles sont composées de plusieurs domaines fonctionnels distincts :

- (PP) correspondent au peptide signal ;
- (PR) catalytique des protéases à sérine ;
- (I) d'insert qui régule probablement leur spécificité ;
- (A) de fonction inconnue ;
- (B) participant probablement à la stabilité ;
- (H) domaines hélix qui positionne (A) et (B) à l'extérieur de la cellule ;

- (W) domaine hydrophobe ;
- CW : Paroi cellulaire ;
- M : Membrane cytoplasmique ;
- C : Cytoplasme (Hassaine, 2013).

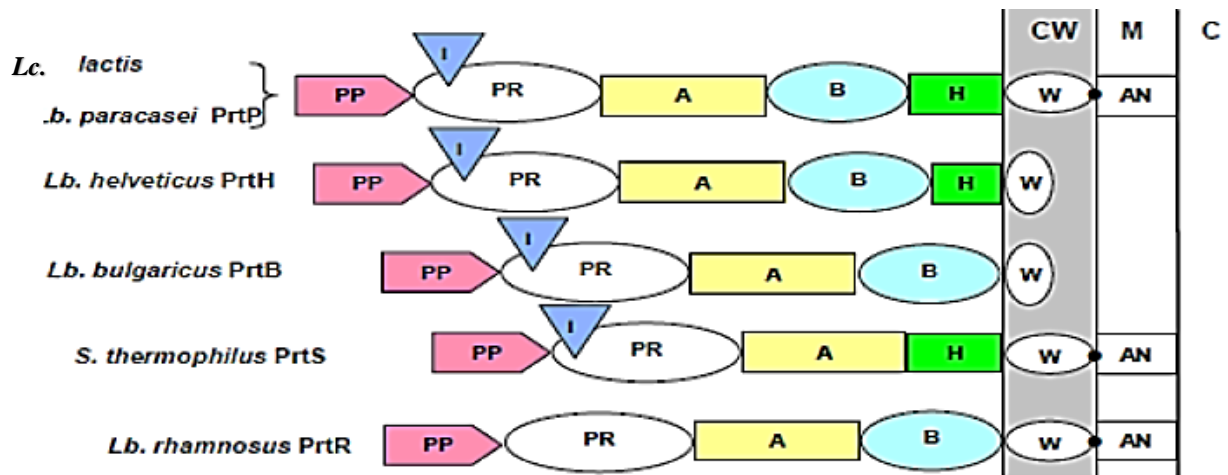


Figure 3. Représentation schématique de protéases de paroi de différentes bactéries lactiques selon le modèle proposé par Siezien (1999) et Savijoki et *al.* (2006).

I.4.3. La lipolyse

Les lipases bactériennes catalysent en partie la production des acides gras à longues chaînes à partir des mono et di glycérides alors que les estérases permettent la libération des acides gras volatils. Les acides gras dont la concentration augmente pendant l'affinage seraient responsables en partie de la saveur typique des fromages à pâte pressée cuite, ils sont également des précurseurs pour la formation de méthyl, cétones, alcools, lactones et esters (Siegumfeldt et *al.*, 2000). La figure 04 présente les différentes voies conduisant à la formation de ces composés.

Les propriétés lipolytiques des bactéries lactiques sont plus au moins faibles, les lactocoques sont considérés comme étant plus lipolytiques que les lactobacilles et les streptocoques précisément *Streptococcus thermophilus* (Béal et *al.*, 2008).

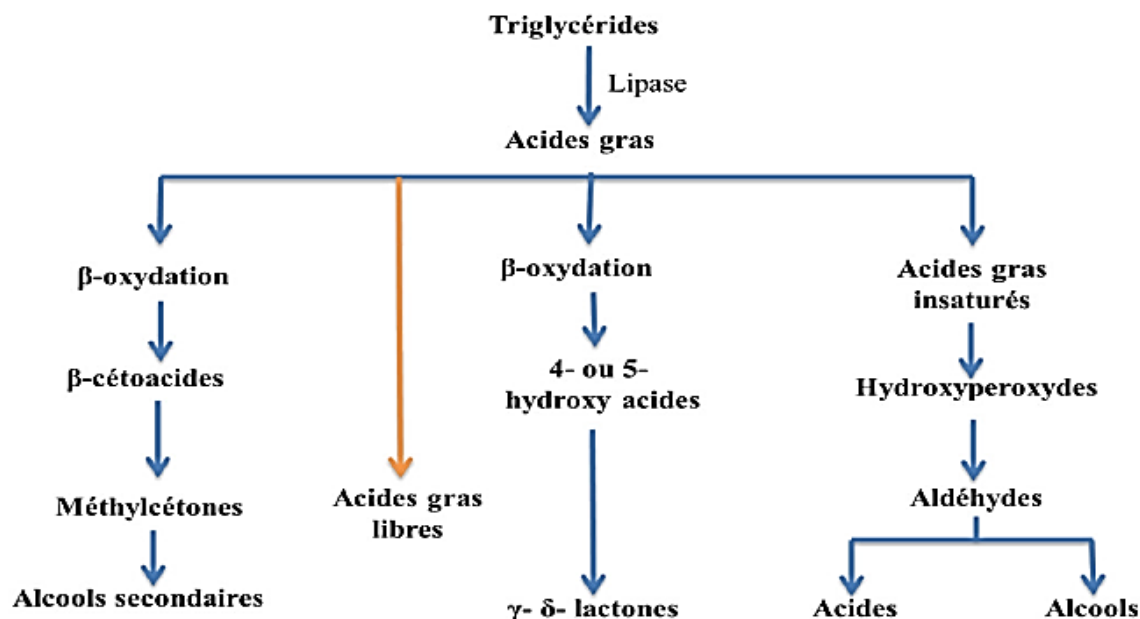


Figure 4. Principales voies de la lipolyse chez les bactéries lactiques (Siegumfeldt et *al.*, 2000).

I. 4. 4. Le métabolisme du citrate

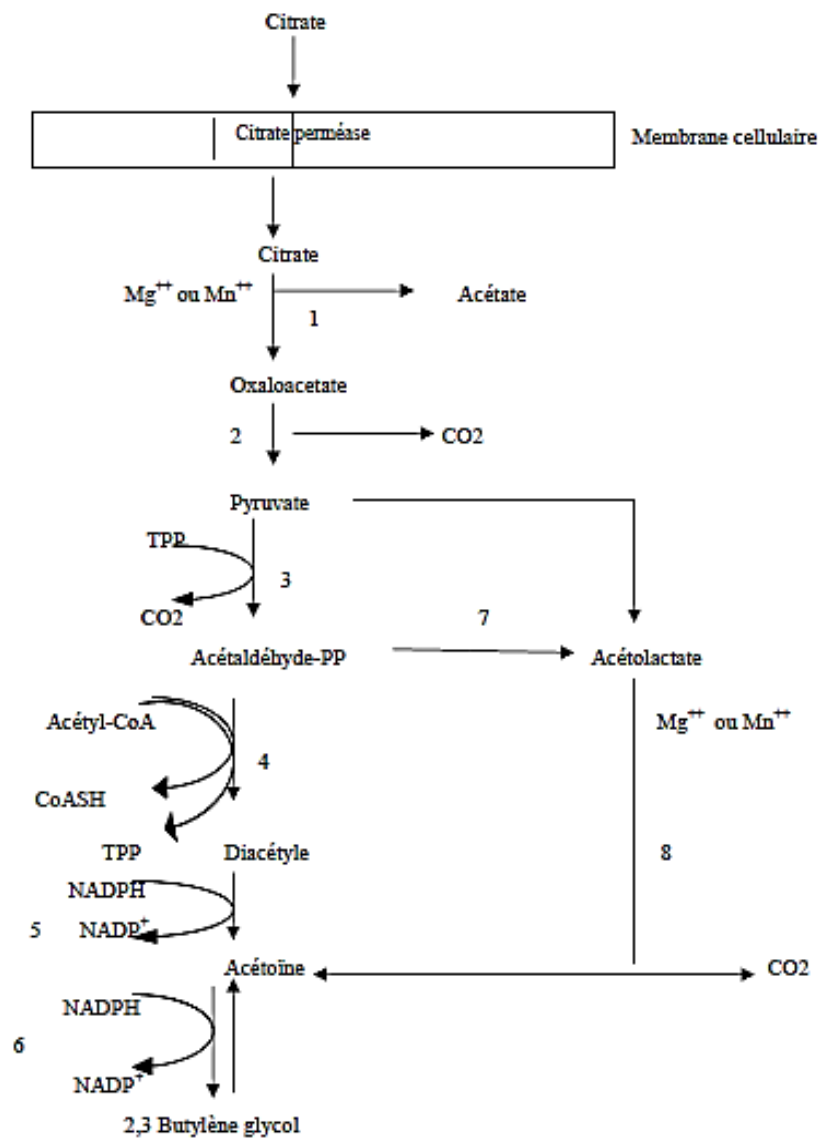
Dans la fermentation du lait l'acide citrique est considéré comme le principal précurseur de la formation des composés aromatiques particulièrement recherchés et appréciés dans certains produits laitiers tels que le beurre et les fromages frais. (Baharal,1999).

Le diacétyl, l'acétoïne et l'acide acétique sont les principaux composés aromatiques formés pendant le co-métabolisme du citrate avec d'autres sucres. (Bourel et *al.*, 2001).

L'acide citrique est utilisé par de nombreuses espèces des genres *Streptococcus* (*Streptococcus thermophilus*), *Lactococcus* (*Lc. lactis subsp lactis biovar diacetylactis*), *Enterococcus* (*Ec. faecium*), *Pediococcus*, *Leuconostoc* (*Ln. lactis*, *Ln. cremoris*) et *Lactobacillus* (*Lb. plantaru*, *Lb. casei*). Cependant il ne peut être dégradé qu'en présence d'un substrat fermentescible et d'une source d'azote (Leveau and Bouix, 1993).

Chez les *leuconostoc*, le catabolisme du citrate est directement associé à une stimulation de croissance alors que chez *Lactococcus lactis*, le citrate est dérivé vers la voie de l' α -acétolactate synthase avec là encore des conséquences en termes de produits aux arômes différents. (Benson et *al.*, 1996).

Le citrate est transporté à l'intérieur des cellules par une citrate-perméase où il est scindé en acétate (en majeure partie excrétés) et en oxaloacétate par le complexe enzymatique citrate-lyase. L'oxaloacétate est ensuite converti en pyruvate et en CO₂ par une oxaloacétate décarboxylase. Des transformations successives du pyruvate aboutissent à la formation de composés aromatisants et le produit fini est le 2,3-butylen-glycol (2,3-butanediol) (Cogan, 1981 et 1982). La figure 05 présente le métabolisme de citrate chez les bactéries lactiques.



TPP : thiamine pyrophosphate ; 1 : citrate lyase (citritase) ; 2 : oxaloacétate décarboxylase ; 3 : pyruvate décarboxylase ; 4 : diacétyle synthétase ; 5 : diacétyle réductase ; 6 : acétoïne réductase ; 7 : acétolactate synthétase ; 8 : acétolactate décarboxylase

Figure 5. Le métabolisme de citrate chez les bactéries lactiques (Cogan, 1981).

I. 5. Principaux genres de bactéries lactiques

I. 5. 1. Classification et identification de bactéries lactiques

Les principaux genres des bactéries lactiques, les caractéristiques physiologiques qui forment la base de leurs classifications, l'identification et l'arbre phylogénétique des principaux genres de bactéries lactiques et les genres associés obtenu par analyse des ARNr 16S sont présente sur le tableau 01 et la figure 06.

Tableau 01. Les principaux genres des bactéries lactiques et les caractéristiques physiologiques qui forment la base de la classification et de l'identification (Matamoros, 2008)

Genre	Forme de la cellule	Type de fermentation	Configuration de l'acide lactique	Espèce type
<i>Aerococcus</i>	Coques	Homofermentaire		<i>Ac. viridans</i>
<i>Carnobacterium</i>	Bacilles	Hétérofermentaire	L(+)	<i>Cb. divergens</i>
<i>Enterococcus</i>	Coques	Homofermentaire	L(+)	<i>Ec. faecalis</i>
<i>Lactobacillus</i>	Bacilles	Homo ou hétéro-fermentaire	D(-), L(+) ou D/L	<i>Lb. delbrueckii</i>
<i>Lactococcus</i>	Coques	Homofermentaire	L(+)	<i>Lc. lactis</i>
<i>Leuconostoc</i>	Coques	Hétérofermentaire	D(-)	<i>Ln. mesenteroides</i>
<i>Oenococcus</i>	Coques	Hétérofermentaire	D(-)	<i>Oe. oeni</i>
<i>Pediococcus</i>	Coques	Homofermentaire	D/L ou L(+)	<i>Pc. damnosus</i>
<i>Streptococcus</i>	Coques	Homofermentaire	L(+)	<i>Sc. salivarius</i>
<i>Tetragenococcus</i>	Coques	Homofermentaire	L(+)	<i>Tc. halophilus</i>
<i>Vagococcus</i>	Coques ovoïdes	Homofermentaire	L(+)	<i>Vc. fluvialis</i>
<i>Weissella</i>	Petits bacilles	Hétérofermentaire	D/L ou D(-)	<i>We. viridescens</i>

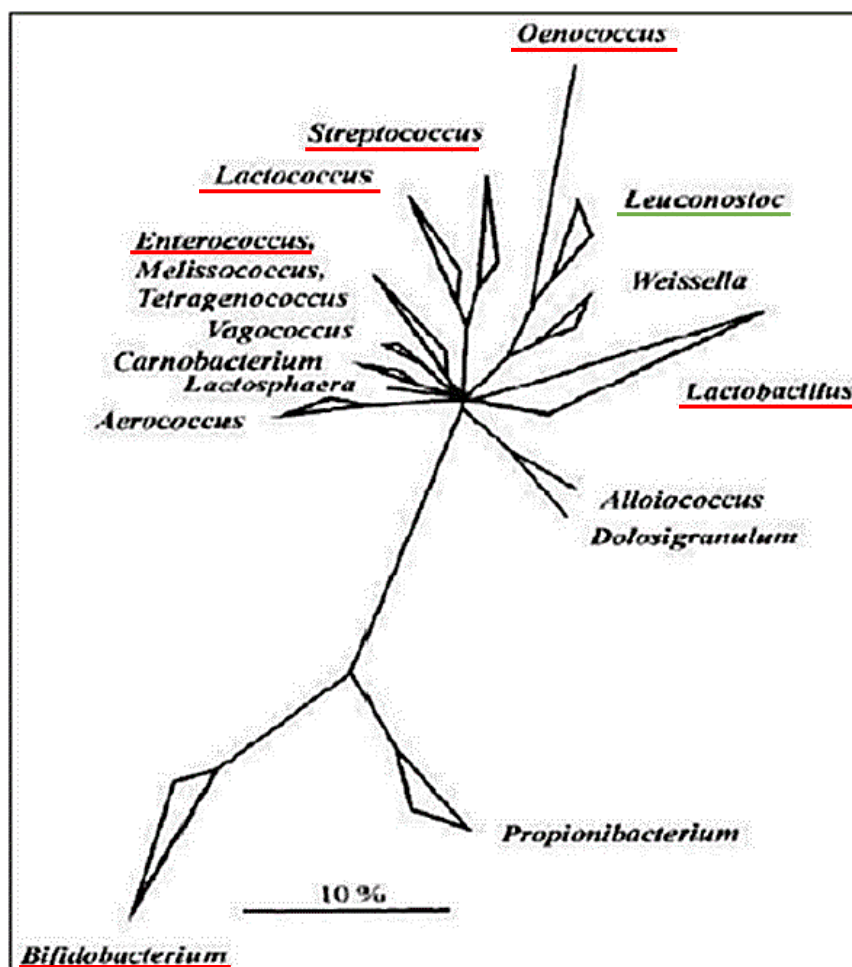


Figure 6. Arbre phylogénétique des principaux genres de bactéries lactiques et des genres associés, obtenu par analyse des ARNr 16S (Stiles and Holzapfel, 1997)

Les bactéries à bas G+C (en haut) sont phylogénétiquement éloignées des bactéries à haut G+C (en bas). Les genres pour lesquels la séquence d'au moins un génome est disponible sont soulignés en rouge et en vert ceux pour lesquels au moins un génome est en cours de séquençage. La barre indique une divergence de séquence estimée de 10% (Schleifer and Ludwig, 1995).

Le genre *Bifidobacterium* qui d'un point de vue physiologique fait partie des bactéries lactiques appartient à la branche des Actinomycètes qui comprend aussi *Propionibacterium* et *Brevibacterium* (Vandamme et al., 1996). Il y a peu de corrélation entre la classification traditionnelle et la parenté phylogénétique des bactéries lactiques, des genres morphologiquement distincts *Lactobacillus*, *Leuconostoc* et *Pediococcus* sont de manière phylogénétique entremêlés (Schleifer and Ludwig, 1995 ; Gevers, 2002).

I. 5. 2. Caractéristiques des principaux genres des bactéries lactiques

I. 5. 2. 1. Le genre *Lactobacillus*

Le genre *Lactobacillus* est quantitativement le plus important des genres du groupe des bactéries lactiques. Il s'agit de bacilles longs, parfois courts et fins, souvent groupés en chaînes, immobiles, asporulés, catalase négative, se développent à un optimum de température situé entre 30 et 40°C. Les lactobacilles ont des exigences nutritionnelles très complexes en acides aminés, en vitamines, en acides gras, en nucléotides, en glucides et en minéraux (Khalid and Marth, 1990; Leclerc et *al.*, 1994).

Le genre *Lactobacillus* a été subdivisé par Orla-Jensen en trois groupes et cette classification est encore utilisée en milieu industriel (Tamime, 2002 ; Guiraud and Rosec, 2004) :

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

Groupe II « *Streptobacterium* » : regroupe les lactobacilles homofermentaires mésophiles et peuvent être occasionnellement hétérofermentaires 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* » : ce sont des lactobacilles hétérofermentaires. Il comporte les espèces *Lb. fermentum*, *Lb. brevis* et *Lb. sanfransisco*.

I. 5. 2. 2. Le genre *Lactococcus*

Les lactocoques se présentent sous forme de coques en paires ou en chaînes de longueur variable. Ce sont des bactéries anaérobies facultatives homofermentaires ne produisant que de l'acide lactique L (+) seul *Lactococcus lactis* ssp *lactis* biovar *diacetylactis* produit le diacétyl (Tamime, 2002). Leur température optimale de croissance est proche de 30°C capable à se développer à 10°C mais pas à 45°C. Elles sont très exigeantes sur le plan nutritionnel, quelques espèces produisent des exopolysaccharides et des bactériocines, elles sont capables à se développer à 3% de bleu de méthylène et d'hydrolyser l'arginine (Tamime, 2002).

Elles sont très fréquentes dans l'industrie alimentaire comme agents de fermentation homolactique (avec la production de l'acide lactique de type dextrogyre) (Pilet et *al.*, 2005).

Actuellement, le genre *Lactococcus* comprend cinq espèces *Lactococcus lactis* est l'espèce la plus connue avec ses trois sous-espèces : *Lc. lactis* ssp *lactis*, *Lc. lactis* ssp *cremoris* et *Lc. lactis* ssp *hordniae* (Pot et al., 1996 ; Pot, 2008). Et Selon Guiraud (1998), le genre *Lactococcus* est aussi représenté par les espèces suivantes : *Lc. lactis* ssp *cremoris*, *Lc. Lactis* ssp *lactis* et *Lc. diacetylactis*, la sous espèce *Streptococcus lactis* ssp *diacetylactis* est remplacée par la sous espèce *Lactococcus lactis* ssp *lactis*.

Le lait est un habitat privilégié des lactocoques (Dellaglio et al., 1994 ; Corroler et al., 1999). *Lactococcus lactis* est l'espèce la plus étudiée et la plus fréquemment détectée dans les laits crus (Corroler et al., 1998 ; Dalmaso et al., 2008).

I. 5. 2. 3. Le genre *Streptococcus*

Ce genre est généralement divisé en trois groupes : pyogène (la plus parts des espèces pathogènes et hémolytiques), oral (tel que *St. salivarius* et *St. bovis*) et les autres streptocoques (Scheilfer, 1987). Les cellules de ce genre sont immobiles, sphériques ou ovoïdes qui ont un diamètre inférieur à 2 µm avec une disposition en paires ou en chaines longues. La fermentation des carbohydrates produit principalement de l'acide lactique mais il n'y a pas de production de gaz. Le peptidoglycane est du groupe A et leur température optimale de croissance est 37°C. Elles sont incapables de se développer à 15°C et à pH : 9,6. Beaucoup d'espèces sont commensales ou parasites de l'homme et des animaux et certaines sont hautement pathogènes.

La seule espèce de Streptocoques qui soit utilisée en technologie alimentaire est *Streptococcus thermophilus* qui a été incluse dans le groupe des « autres Streptocoques » mais ensuite transféré au groupe des streptocoques oraux à cause de leur degré d'homologie avec l'ADN de *Streptococcus salivarius* (Stiles and Holzapfel, 1997).

Streptococcus thermophilus se différencie par son habitat (lait et produits laitiers) et son caractère non pathogène. La résistance à la température, la capacité de croître à 52°C et le nombre limité des hydrates de carbones permettent de distinguer les *St. thermophilus* de la plupart des autres Streptocoques (Haddie, 1986 ; Pilet et al., 2005).

I. 5. 2. 4. Le genre *Enterococcus*

Le genre *Enterococcus* représentent le groupe des entérocoques, ils sont composés de Streptocoques fécaux (*Enterococcus faecalis* et *Enterococcus faecium*), ce genre comprend des bactéries ovoïdes isolées en paires ou en courtes chaînes. Il se caractérise par sa tolérance à 6,5% de NaCl, au pH 9,6 et par la croissance à 10°C et 45°C avec une température optimale de croissance de 35°C à 37°C (Zhang and Cai, 2014).

Les entérocoques peuvent être mobiles, homofermentaires, généralement différenciés par la fermentation de l'arabinose et le sorbitol (Tamime, 2002 ; Ho et al., 2007).

I. 5. 2. 5. Les genres *Oenococcus* et *Weissella*

Les genres *Oenococcus* et *Weissella* ressemblent le plus étroitement au genre *Lactobacillus*. Ils sont Gram positif, catalase négative et anaérobie facultatif. Le genre *Weissella* regroupe deux types morphologiquement différents : les bacilles (anciennement les Lactobacilles hétérofermentaires "atypique") et les coques de forme ovoïde (*Leuconostocs*, *Oenococcus* et *Streptococcus* "typique") : *Weissella paramesenteroides* et *Weissella hellenica* (Björkroth and Holzappel, 2003).

Les caractéristiques physiologiques tels que l'absence de l'arginine désaminase et la production prédominante du D (-) - lactate à partir du glucose sont partagées par toutes les espèces du genre *Oenococcus*, et seulement par les espèces de *Weissella* ayant une forme ovoïde (*W. paramesenteroides*, *W. hellenica* et *W. thailandensis*) (Hammes and Vogel, 1995).

I. 5. 2. 6. Le genre *Leuconostoc*

Les *Leuconostoc* sont hétérofermentaires strictes, ils produisent de l'acide lactique, le CO₂ et l'éthanol. Ce sont des coques groupées en paires ou en chaînes, Gram positif et catalase négatif. (Larpen et al., 1997). Elles se développent généralement à 4% de NaCl et à un pH proche de la neutralité leur croissance s'arrêtant lorsque le pH du milieu atteint 4,5. Ce genre est un habitant typique des plantes, des animaux et de leurs produits (Zhang and Cai, 2014).

Elles produisent la forme D lactate à partir du glucose et dégradent l'alginate. Généralement, non protéolytiques et certaines espèces possèdent l'activité caséinolytique. Ils ont la particularité et le pouvoir de prédominer dans un environnement. Les *Leuconostoc* jouent un rôle important dans la qualité organoleptique et texturale des aliments. (Mathot et al., 1994).

Leurs températures de croissance se situe entre 25°C-30°C, leurs croissances est lente. Le développement des *Leuconostoc* entraine souvent l'apparition d'une viscosité dans le milieu (Guiraud et al., 2003).

Selon la collection DSMZ (2008), ce genre renferme plusieurs espèces. Le genre *Leuconostoc* a auparavant inclus des coccobacilles hétérofermentaires produisant uniquement de l'acide lactique et ne produisant pas d'ammoniaque à partir d'arginine ainsi ce genre est différent des autres coques par la fermentation hétérolactique. Il est facile de confondre les *Leuconostoc* et certains coccobacilles hétérolactiques (Krieg et al., 2001).

Les études phylogénétiques des *Leuconostoc* montrent une diversité dans ce genre (Chenoll et al., 2003 ; Eom et al., 2007 ; Hu et al., 2009).

Les *Leuconostoc* principalement *Ln. mesenteroides* ssp *cremoris* et *Ln. lactis* sont utilisés en association avec les Lactocoques dans l'industrie laitière pour produire en plus de l'acide lactique et le CO₂ des substances aromatiques telles que le diacétyle et l'acétoïne à partir des citrates du lait (Hassan and Frank, 2001 ; Guiraud, 2003 ; Ogier et al., 2008).

Certaines espèces de *Ln. carnosum* ont été proposées pour la bioconservation des produits carnés emballés sous vide et entreposés au froid contre les *Listéria monocytogenes* (Budde et al., 2003).

Ce genre également important dans les fermentations naturelles des produits d'origines végétales (Eom et al.,2007).

Récemment, l'espèce *Leuconostoc oenos* isolée du vin a été classée dans un nouveau genre, *Oenococcus oeni* et certaines espèces de lactobacilles hétérofermentaires ont été groupées avec *Leuconostoc paramesenteroides* dans le nouveau genre *Weissella* (Stiles and Holzapfel, 1997).

I. 5. 2. 7. Le genre *Pediococcus* :

Les genres *Pediococcus* sont des coques homofermentaires dont la particularité est le regroupement en tétrade. Ils sont mésophiles le plus souvent incapable d'utiliser le lactose et leur développement nécessite la présence de divers facteurs de croissance. Certaines espèces se distinguent par leur capacité à se développer à des teneurs en sels très élevées comme *Pediococcus halophilus*, renommé *Tetragenococcus halophilus* et *Tetragenococcus muriaticus* qui tolère jusqu'à 18% de NaCl (Pilet et al., 2005).

Les espèces de *Tetragenococcus* ont un rôle crucial dans la fabrication des produits alimentaires à concentration élevée en sel comme les sauces de soja, alors que les *Pediococcus* sont parfois utilisés comme levains lactiques pour les charcuteries (Guiraud and Rosec, 2004 ; Tosukhowong et al., 2005).

I. 5. 2. 8. Le genre *Bifidobacterium* :

Le genre *Bifidobacterium* est considéré comme faisant partie du groupe des bactéries lactiques grâce à la similarité de ses propriétés physiologiques et biochimiques et à sa présence dans le même habitat écologique tel que le tube gastro-intestinal. Ces microorganismes sont phylogénétiquement sans rapport avec ces dernières. Ils sont davantage liés au phylum *Actinobacteria* (anciennement *Actinomycètes*) des bactéries Gram positif dont l'ADN est à haut pourcentage de G +C. Les bifidobactéries se caractérisent par leur forme très irrégulière souvent en forme V mais pouvant être coccoïdes, la présence de l'enzyme fructose-6-phosphate phosphocétolase leurs permettent de fermenter les hexoses et produire l'acide acétique et l'acide lactique. Leur température de croissance varie de 36°C à 43°C (Axelsson, 2004 ; Pilet et al., 2005 ; Ho et al., 2007).

I. 5. 2. 9. Le genre *Vagococcus* :

Les espèces du nouveau genre *Vagococcus* sont facilement confondues avec les lactocoques au niveau morphologique. Ces deux genres sont clairement distincts par leur composition en acides gras. Certaines espèces de *Vagococcus* sont mobiles (Teixeira et al., 1999).

Les amorces d'oligonucléotides spécifiques à ce genre et ses espèces sont disponibles ce qui rend l'identification des bactéries de ce genre réalisable et fiable (Ammor et al., 2006).

I.6. Intérêt des bactéries lactiques

L'utilisation des bactéries lactiques pour une application industrielle donnée est déterminée par leurs propriétés fonctionnelles et technologiques. Celles-ci recouvrent les propriétés suivantes : activité acidifiante, propriétés enzymatiques (activité protéolytique, peptidique et lipolytique), production de métabolites d'intérêt telle que la peroxyde d'hydrogène, les acides organiques et les bactériocines (Belyagoubi, 2014).

D'autres qualités ont depuis été associées aux bactéries lactiques lorsqu'elles sont associées aux produits alimentaires comme l'augmentation des valeurs nutritionnels des aliments, la réduction de la formation de produits toxiques et la propriété probiotique, en plus de la propriété de bioconservation, plusieurs propriétés ont été attribuées aux bactéries productrices de bactériocines telles que la diminution des gaz dus à la fermentation ainsi qu'à l'amélioration du goût et de la qualité du produit fini (Makhloufi, 2011).

I.6.1. Rôle organoleptique

I. 6.1.1. Rôle texturant

La texture recherchée des produits laitier repose sur la nature des bactéries lactiques présentes dans les laits fermentés et leurs pouvoirs acidifiants à pouvoir formé un caillé plus ou moins ferme comme pour les yaourt fermes ou onctueux, le cas des yaourts brassés et le kéfir. Pour obtenir une consistance déterminée l'utilisation des souches plus ou moins acidifiantes peut être couplée à celle des souches productrices de polysaccharides (Satura and Federighi., 1998).

La capacité des bactéries lactiques à synthétiser des exopolysaccharides (EPS) joue un rôle important pour la consistance et la rhéologie des produits transformés (Welman and Maddox, 2003 ; Ruas- Madiedo et *al.*, 2002).

Ces composés polymériques sont généralement considérés comme des agents épaississants naturels en industrie alimentaire. Des souches de *Lactobacillus delbrueckii ssp bulgaricus* et de *Streptococcus thermophilus* produisant des (EPS) sont utilisées en tant que starters fonctionnels dans la fabrication des yaourts afin d'améliorer la texture, éviter la synérèse et augmenter la viscosité des produits finis (Durlu-Özkaya et *al.*, 2007 ; Amatayakul et *al.*, 2006).

L'utilisation des (EPS) produites par les souches *Lactococcus lactis ssp cremoris* est très prometteuse pour la structure et la viscosité des produits laitiers fermentés (Ruas-Madiedo et *al.*, 2005).

I.6.1.2. Rôle aromatisant

Certaines bactéries lactiques sont capables de produire des composés aromatiques (tels que : l'acétolactate, l'acétaldehyde, le diacétyle, l'acétoïne, l'éthanol, l'acétate, le formiate et le 2,3-butanediol ... etc.) qui participent aux qualités organoleptiques des fromages. La plupart des composés d'arôme sont issus du métabolisme du lactose, des matières grasses, des acides aminés

et du citrate ; l'acétoïne et le diacétyle sont les plus importants (Bourgeois and Larpent, 1996 ; Tamime, 1990 ; Gerrit et *al.*, 2005 ; Cholet, 2006). La production du diacétyle est généralement associée à la fermentation du citrate (Vignola, 2002).

Cette fonctionnalité est particulièrement importante lors de l'élaboration des laits fermentés, des fromages frais, des crèmes et du beurre d'où l'arôme principal est lié à l'activité microbienne (Bourgeois and Larpent, 1996 ; Gerrit et *al.*, 2005 ; Cholet, 2006).

Les Lactobacilles (*Lb. helveticus*, *Lb. bulgaricus*) synthétisent de l'acétaldéhyde. La teneur en acétaldéhyde est à la fois fonction de son degré de synthèse et du rythme de sa dégradation (Vignola, 2002). Les *Leuconostocs* hétérofermentaires sont souvent associés aux Lactocoques dans la production de composants aromatiques (éthanol, acide acétique, diacétyle et acétoïne) (Mahaut et *al.*, 2000).

I. 6.2. Rôle conservateur

Les bactéries lactiques constituent un moyen biologique efficace pour la préservation des qualités hygiéniques des aliments du fait de leur aptitude inhibitrice vis-à-vis des microorganismes nuisibles par leurs facultés acidifiantes en produisant de l'acide lactique (cette propriété métabolique est la plus recherchée des bactéries lactiques utilisées dans l'industrie alimentaire et elle est manifestée à partir de la fermentation des hydrates de carbone au cours de la croissance bactérienne (Mäyrä- Mäkinen and Bigret, 2004 ; Monnet et *al.*, 2008)) et antimicrobiennes par la production des bactériocines qui sont des peptides antimicrobiens synthétisés que par un nombre réduit de souches (Caridi et *al.*, 2003 ; Dortu and Thonart, 2009). Généralement ces bactéries sont thermorésistantes (Caridi et *al.*, 2003).

La production de ces peptides biocides peut présenter un intérêt dans la lutte contre les bactéries à Gram positif d'altération ou pathogènes (Edima, 2007). Certaines souches de bactéries lactiques produisent des bactériocines à spectre d'action plus ou moins large comme : la nisine et la lactostrepcine produites par *Lc. lactis*, la diplosine produites par *Lc. cremoris*, la plantaricine produites par *Lb. plantarum*, la mésentéroïne et la leucocine produites par *Ln. mesenteroides* (Piard and Desmazeaud 1992 ; Piard et *al.*, 1992 ; Vandenberg, 1993 ; Corbier et *al.*, 2001).

Les trois bactéries les plus fréquemment citées pour leurs rôles majeurs différents respectivement par leurs aptitudes acidifiantes sont *Lactococcus lactis* subsp, *Lactococcus lactis* ssp *cremoris* et *Lactococcus lactis* biovar *diacetylactis* (Casalta et *al.*, 1995 ; Lafarge et *al.*, 2004).

I. 6.3. Domaine de la santé

L'intérêt des bactéries lactiques en matière de santé humaine a été initialement proposé au début du siècle, en 1907, par le russe Metchnikoff, selon lui les *Lactobacillus sp.* pouvaient réduire la putréfaction intestinale en modifiant la flore de ces derniers.

Les bactéries lactiques forment actuellement un groupe d'organismes utilisés pour l'enrichissement de certains yaourts et laits (Klaenhammer et al., 2007).

Cette utilisation est due aux effets nutritionnels et thérapeutiques de ces bactéries car elles enrichissent le milieu où elles se trouvent en vitamines (B et K), acides aminés, composés organiques (acide lactique et acétique), enzymes (lactase) et bactériocines responsables de l'inhibition des bactéries pathogènes (Soomro et al., 2002).

Leurs rôles sur la santé se traduit dans le cadre des probiotiques. Les bienfaits des bactéries lactiques sont de plus en plus étudiés, certaines sont bien établis d'autres restent encore controversés, elles ont comme rôles d'améliorer la digestion du lactose, le traitement de certaines infections, la diminution du cholestérol sérique, la stimulation du système immunitaire et la déconjugaison des sels biliaires (Ninane et al., 2009).

Différentes études ont démontré le rôle préventif aussi bien que curatif des bactéries lactiques sur plusieurs types de diarrhées (Mirtchyan et al., 2010). D'autres ont cité leurs capacités de diminuer les allergies liées aux aliments grâce à leurs activités protéolytiques (El-Ghaish et al., 2011).

Uehara et al. (2006) ont démontré la capacité des souches de *Lactobacillus crispatus* utilisées sous forme d'ovules pour empêcher la colonisation du vagin par les bactéries pathogènes et de prévenir ainsi les rechutes chez les femmes qui souffrent d'inflammations fréquentes et répétées de la vessie.

Les bactéries les plus fréquemment utilisées comme probiotiques sont des *Lactobacillus* et des *Bifidobacterium* (Khan and Ansari, 2007). Les Lactobacilles ont été incorporés dans des laits fermentés (Heller, 2001 ; Oliveira et al., 2001), des fromages (Gomes and Malcata, 1998 ; Nayra et al., 2002) et des glaces (Christiansen et al., 1996).

I. 7. Valorisation de l'antibiogramme au sein des bactéries lactiques

Puisque les bactéries lactiques sont présentes dans l'appareil gastro-intestinal en grand nombre et sont également intentionnellement ajoutées à notre régime, les soucis ont été augmentés au sujet de la résistance aux antibiotiques dans ces espèces bactériennes réputées bénéfiques pour la santé humaine.

Par exemple, les bactéries lactiques résistantes à certains antibiotiques pourraient aider à maintenir l'équilibre gastro-intestinal dans le cas des diarrhées provoqués par un traitement antibiotique. Cependant, il y a un risque lié à la capacité de ces bactéries lactiques résistantes de transmettre leurs facteurs de résistance (gène) horizontalement aux bactéries pathogènes (Teuber *et al.*, 1999 ; Salyers *et al.*, 2004 ; Maria *et al.*, 2010).

Récemment, ces craintes ont été renforcées par des études qui montrent que les gènes de résistances aux antibiotiques trouvés chez les agents pathogènes de l'homme sont identiques à ceux portés par les bactéries lactiques (Perreten *et al.*, 1997 ; Salyers *et al.*, 2004 ; Wang *et al.*, 2006 ; Maria *et al.*, 2010).

Les espèces des bactéries lactiques peuvent donc agir comme des « réservoirs » de gènes de résistance transmissibles aux bactéries colonisant le tractus gastro-intestinal humain via la chaîne alimentaire (Mathur and Singh, 2005 ; Ammor *et al.*, 2007).

Les tests de sensibilité bactérienne les plus répandus ont pour but d'étudier l'effet bactériostatique ou bactéricide des antibiotiques (Chengappa *et al.*, 1990 ; Eberlin *et al.*, 1994 ; Jorgensen *et al.*, 1999).

Pour chaque souche bactérienne, on peut définir une concentration minimale inhibitrice (CMI) qui correspond à la concentration minimale d'antibiotique qui inhibe la croissance visible du germe. Elle est donc associée à un phénomène macroscopique.

Il existe deux grandes familles de tests pour étudier l'effet bactériostatique ou bactéricides, ceux utilisant une méthode quantitative aboutissant à un résultat chiffré correspondant à une CMI qui sont les tests par dilution et ceux utilisant une méthode qualitative permettant de classer les bactéries en sensible (S) ou résistante (R) qui sont les tests par diffusion en milieu solide.

Ces méthodes doivent suivre des règles de standardisation rigoureuses pour pouvoir être reproductibles, interprétables et comparables au sein du laboratoire, du pays ou entre les Etats.

A la suite des recommandations du Comité d'Experts de Standardisation Biologique de l'OMS (1979), la Société Française de Microbiologie a créé un Comité de l'Antibiogramme (CA-SFM) chargé de déterminer les valeurs critiques qui délimitent les catégories cliniques et de proposer un guide pour la détermination de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques. Les valeurs critiques définies pour les concentrations et les diamètres des zones d'inhibition ainsi que les recommandations spécifiques à certaines espèces ou à certains groupes d'antibiotiques sont publiées dans un communiqué annuel par le CA-SFM.

Toutefois, il existe d'autres méthodes pour l'étude de l'antibiorésistance utilisant des méthodes génotypiques permettant de détecter les déterminants génétiques de la résistance. La PCR (Polymerase Chain Reaction) est classiquement utilisée. Cependant, le développement des techniques de la biologie moléculaire a permis de développer des puces ADN qui peuvent détecter un large panel de gènes de résistance (Ojha et *al.*, 2008).

La méthode la plus répandue est la méthode par diffusion en milieu solide qui consiste en l'application de disques imprégnés d'antibiotiques sur une gélose préalablementensemencée par des bactéries. L'antibiotique va diffuser dans la gélose avec une concentration décroissante vers la périphérie. Dans la zone où la concentration est inhibitrice on n'observera pas de croissance bactérienne. Avec la mesure du diamètre de la zone d'inhibition et grâce à des abaques on pourra classer les bactéries en sensibles (S) ou résistantes (R).

L'analyse de l'efficacité de différents antibiotiques sur une souche bactérienne donne un antibiogramme (Tunneva and Ericson, 1954 ; Chabbert, 1963 ; Bauer et *al.*, 1966).

I. 8. Applications industrielles des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques présentent des activités métaboliques assez diversifiées et une capacité d'adaptation à différents environnements. Cette diversité est responsable de leur large gamme d'applications à l'échelle industrielle (Streit et *al.*, 2007).

Dans l'industrie alimentaire, ces microorganismes permettent la conversion d'une grande variété de matières premières conduisant ainsi à de nombreux produits : les saucissons, les laits fermentés, les fromages, le beurre, les olives fermentées et certains vins (Bourgeois and Larpent,

1996 ; Lopez-Lopez *et al.*, 2004 ; Gerrit *et al.*, 2005 ; Cholet, 2006). Parmi ces applications, l'industrie laitière est sans doute la plus grande utilisatrice de ferments lactiques commerciaux (Axelsson, 2004 ; Streit *et al.*, 2007).

Les bactéries lactiques sont également utilisées dans l'industrie chimique (production d'acide lactique), dans le domaine médical (notamment pour le traitement de dysfonctionnements intestinaux) et dans l'industrie des additifs alimentaires (production d'exopolysaccharides). Elles sont aussi utilisées pour la production de bactériocines et des protéines thérapeutiques (Rodriguez *et al.*, 2003).

I. 9. Méthodes d'étude des bactéries lactiques

Au cours des dernières décennies, différentes méthodes d'identification moléculaire des bactéries lactiques ont été élaborées afin de réduire le temps d'analyse généralement nécessaire aux tests phénotypiques. En outre, parce qu'elles ne sont pas influencées par des facteurs physiologiques et environnementaux les méthodes moléculaires offrent des résultats d'identification plus fiables.

Parmi ces outils figurent des méthodes cultures dépendantes et des méthodes culture indépendantes. Les méthodes moléculaires permettent une identification au niveau de l'espèce et de la souche. De plus, les souches de bactéries peuvent être différenciées entre elles et en outre, les souches porteuses de gènes spécifiques peuvent être détectées quelle que soit l'espèce (Renault, 2005).

On distingue, deux sortes de méthodes génomiques et protéomiques,

I. 9.1. Méthodes génotypiques

Les méthodes génomiques sont l'une des méthodes utilisées dans la caractérisation des bactéries lactiques au sein de leurs écosystèmes par une identification moléculaire.

Tableau 2. Exemples de méthodes moléculaire utilisées dans la caractérisation des bactéries lactiques au sein des écosystèmes (Renault, 2005).

Méthodes	Utilisation
Isolement de clones	Détermination des espèces Etude de spécimens représentatifs
Inventaire des 16S	Détermination des espèces
DGGE, TGGE, SSCP	Analyse rapide de population
PCR Quantitative	Détection et quantification de différentes populations
Puces à ADN	Détection et quantification de différentes populations
RFLP, PFGE	Détection et quantification de différentes populations
FISH	Détection et quantification de différentes populations Visualisation spatiale des individus

I. 9.2. Méthode Protéomique

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 protéines consiste à utiliser une source d'ionisation laser assistée par une matrice pour obtenir une image protéique unique à temps de vol qui sera comparée avec d'autres profils.

II. Matériels & Méthodes

II. 1. Lieu et objectif du travail

Ce travail a été entièrement réalisé au niveau du Laboratoire de Recherches des Sciences et Techniques de Production Animale (LTSPA) au niveau de l'Exploitation Agricole de Hassi Mamèche, affiliée à l'Université de Mostaganem.

Cette étude a pour objectif d'étudier quelques aptitudes technologiques de certaines bactéries lactiques (genre : *Lactococcus*, *Leuconostoc*) issues du J'ben de chèvre de la région de Naâma, préparé de façon artisanale. Les aptitudes visées sont l'activité acidifiante, les activités : protéolytique, lipolytique et la production d'acétoïne ainsi que la résistance aux antibiotiques afin de définir la capacité probiotique de ces bactéries. Les résultats obtenus serviront à valoriser leurs utilisations futures au sein de ferments fromager.

II. 2. Origine des souches utilisées

Lors de ce travail, 06 souches de bactéries lactiques nous ont été fournies par M^{lle}. MEGHOUFEL (doctorante au laboratoire STPA). Parmi ces souches, 03 sont du genre *Lactococcus* et 03 du genre *Leuconostoc*. Elles ont toutes été identifiées par spectrométrie de masse (MALDI TOF / MS). L'origine, le nom et le code de ces souches sont mentionnés dans le tableau 03.

Tableau 3. Identification et origine des souches de bactéries lactiques.

Code de la souche	Identification	Origine
G'3	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	J'ben de chèvre -Ain Sefra-
ND2	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	J'ben de chèvre -El Biodh-
ND6	<i>Lactococcus lactis</i>	J'ben de chèvre -El Biodh-
ND8	<i>Leuconostoc. mesenteroides ssp mesenteroides</i>	J'ben de chèvre -El Biodh-
ND9	<i>Lactococcus. Lactis</i>	J'ben de chèvre -El Biodh-
NF3	<i>Lactococcus. Lactis</i>	J'ben de chèvre -Naâma-

II. 3. Matériels et produits

II. 3. 1. Milieux de cultures

Les tests de cette étude ont nécessité plusieurs milieux de cultures. Qui sont :

- Le milieu M17 en bouillon pour revivifier, conserver et préparer les cultures over-night des six souches testées ;
- Le milieu M17 gélosé afin de purifier les souches lactiques de l'étude ;
- Le bouillon Clark & Lubs pour mettre en évidence la capacité de ces souches à produire de l'acétoïne ;
- Un milieu PCA (Institut Pasteur) additionné en poudre de lait écrémé, cette poudre de lait est ajoutée à raison de différents pourcentages (1, 2, 4, 5 et 8%) pour étudier le pouvoir protéolytiques de ces souches ;
- Le milieu aux triglycérides pour définir l'activité lipolytique des souches ;
- Le lait écrémé reconstituer à 10% a aussi été utilisé pour l'enrichissement et la conservation aussi pour les tests de production d'acétoïne et l'acidification ;
- Pour la réalisation de l'antibiogramme, nous avons utilisé le milieu MH (Institut Pasteur).

II. 3. 2. Matériel biologique utilisé

Pour réaliser l'antibiogramme, nous avons utilisé des antibiotiques (BioMérieux), portés sur le tableau 4.

Tableau 4. Liste des antibiotiques utilisés pour le test d'antibiogramme.

Famille d'antibiotiques	Classes d'antibiotiques	Antibiotiques	Abréviation des antibiotiques	Charge du disque
Aminosides	Aminosides	Gentamicine	GMN ₁₀	10 UI
		Kanamycine	KMN ₃₀	30 UI
		Néomycine	NEO ₃₀	30 µg
		Streptomycine	S	10 UI
B-Lactamine	Aminopénicilline	Ampicilline	AMP ₁₀	10 µg
		Amoxicilline	AMX ₂₅	25 µg
		Amoxicilline + Ac.clavulanique	AMC ₃₀	30 (20/10) µg
	Céphalosporine 1 ^{ère} génération	Céfalotine	CEF ₃₀	30 µg
	Céphalosporine 2 ^{ème} génération	Céfoxitine	FOX	30 µg
	Céphalosporine 3 ^{ème} génération	Céfotaxime	CTX ₃₀	30 µg
	Pénicillines	Oxacilline	OX ₁	1 µg
		Pénicilline G	P	6 µg
Cyclines	Tétracyclines	Tétracycline	TE ₃₀	30 UI
Glycopeptides	Glycopeptides	Vancomycine	VAN ₃₀	30 µg
Quinolones	Fluoroquinolone	Ciprofloxacine	CIP	5 µg
		Marbofloxacin	MAR	100 µg
	Quinolones 1 ^{ère} génération	Fluméquine	UBN ₃₀	30 µg
Lincosamides	Lincosamides	Clindamycine	CMN ₂	2 UI
		Lincomycine	LCN ₁₅	15 µg
Macrolides	Macrolides	Erythromycine	E	15 UI
		Spiramycine	SP	100 µg
	Streptogramines	Pristinamycine	PT	15 µg
Nitrofuranes	Nitrofuranes	Nitroflurantoïde	FTN ₃₀₀	300 µg
Phénicolés	Phénicolés	Chloramphénicol	C ₃₀	30 µg
Polypeptides	Polypeptides	Colistine	COL ₁₀	10 µg
		Bacitracine	BCT ₁₃₀	130 µg
Sulfamides et associés	Sulfamides-Triméthoprim	Triméthoprim + sulfaméthoxazole	SXT ₂₅	1,25/23,75 µg
Autres	Divers	Rifampicine	RA ₃₀	30 µg

La charge du disque est elle-même la CMI (CA-SFM, 2012).

II.4. Revivification des souches lactiques

Les six souches lactiques ayant subi une longue conservation (paragraphe II.6) de plus de 6 mois, ont été revivifiées, en procédant comment suit :

- Ensemencement de 100 µl de chaque souche conservée dans un tube contenant 5ml de bouillon M17 et 10 ml de lait demi écrémé reconstitué, suivie d'une incubation à 30°C d'une durée allant de 24 à 48 heures.
- Les résultats de la revivification sont appréciés par l'apparition d'un trouble dans le milieu.

II. 5. Purification des souches

Les souches revivifiées ont été purifiées par ensemencement en stries sur gélose M17 et incubées à 30°C pendant 24 à 48 heures.

Cette opération a été répétée jusqu'à l'obtention d'un résultat uniforme du point de vue morphologique nous renseignant sur les caractéristiques macroscopiques et microscopiques de ces souches concernant leurs aspect (la taille, la forme et la couleur). L'observation de la pureté sera complétée par un test de catalase.

II. 5. 1. Caractéristique macroscopique

On se base sur l'observation à l'œil nu des colonies obtenues après incubation des genres *Lactococcus* et *Leuconostoc*, afin de déterminer la taille, la forme et la couleur des cultures bactériennes obtenues.

II. 5. 2. Caractéristique microscopique

L'examen microscopique a été effectué après coloration de Gram (annexe II) à partir d'une culture jeune de 24h, qui permet de décrire la forme des cellules et leurs modes d'association, après réalisation des frottis colorés.

II. 5. 3. Test de production de la catalase

L'enzyme catalase est une enzyme respiratoire produite par les bactéries aérobies strictes ou facultatives. Cette enzyme dégrade le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) qui est un produit toxique du métabolisme, en eau (H₂O) et en oxygène (O₂) selon la réaction :

Catalase



Pour mettre en évidence la production de cette enzyme, on prélève à l'aide d'une anse de platine une colonie bien isolée à partir d'une culture pure jeune de moins de 24h, qu'on étale sur une lame bien propre et sèche, où se trouve déjà une goutte de peroxyde d'hydrogène à 10%. La présence de catalase se manifeste par une effervescence instantanée qui indique une formation de bulles d'air, dues à la dégradation de H_2O_2 , alors la bactérie est dite catalase (+) et s'il n'y a aucune réaction, elle est catalase (-) (Guiraud, 1998 ; Prescott, 2003).

II. 6. Conservation des souches

Il y a deux sortes de conservations des souches purifiées :

- A court terme : la conservation des souches purifiées est réalisée par la préparation d'une culture pure over-night de chaque souche. Après incubation à 30°C pendant 24 heures, ces tubes sont conservés au réfrigérateur à 4°C. Le renouvellement de la conservation se fera toutes les 4 semaines (Samelis et *al.*, 1994).
- A long terme : 100 µl d'une culture pure over-night de chaque souche purifiée sont ajoutés à du bouillon M17 additionné de 30% du volume total de glycérol et conservés à -20°C (Samelis et *al.*, 1994).

II. 7. Etude des aptitudes technologiques des souches d'intérêts

Afin de confirmer nos résultats tous les tests ont été effectués en trois fois.

II. 7. 1. Production d'acétoïne

La mise en évidence de la production d'acétoïne par les souches étudiées a été faite en se basant sur les réactions de Voges Proskauer (VP) et par l'ensemencement à 1% de culture pure over-night de chaque souche dans 10 ml de lait écrémé stérile reconstitué à 10% à partir d'une poudre de lait 0% de matière grasse suivi d'une incubation à 30°C pendant 24h et après observation d'une coagulation, 200µl (soit 4 gouttes) de chaque réactif VP1 (NaOH à 30%) et VP2 (α naphthol à 6%) sont ajoutées respectivement. Les tubes sont laissés à l'air libre et à température ambiante pendant 5 à 10 minutes.

La production de l'acétoïne est appréciée par l'apparition d'un anneau rouge à la surface du lait. Un VP positif signifie que la souche possède une voie métabolique particulière pour la fermentation des hexoses, la voie butylène glycolique (Zourari *et al.*, 1992 ; Guessas, 2006).

La capacité à produire de l'acétoïne a été aussi testée sur milieu Clark et Lubs en suivant le même principe cité, avec de légères différences, suivant la méthode Facklam and Elliot, 1995, chaque tube contient 4ml du milieu Clark et Lubs et reçoit 2% d'une culture over-night d'une des 6 souches lactiques et il y a agitation après ajout des réactifs VP1 et VP2.

II. 7. 2. La protéolyse

Afin de pouvoir définir l'activité protéolytique de ces souches lactiques, on a utilisé le milieu PCA additionné à différentes concentrations de poudre de lait écrémé (1%, 2%, 4%, 5% et 8%). Par la suite, des disques en papier Wattman stérile ont été déposés à la surface de la gélose pour recevoir un volume de 5µl d'une culture over-night de chaque souche. Les boîtes sont incubées à 30°C pendant 24 et 48 heures (Veuillemard, 1986).

Les résultats positifs sont appréciés par la mesure du diamètre en millimètre des zones de lyse claires de plus de 0.5mm, apparues autour des colonies.

II. 7. 3. La lipolyse

La lipolyse est mise en évidence en suivant le même principe méthodique que celui suivi pour la protéolyse évoquée dans le paragraphe (II.7.2.) sur gélose aux triglycérides.

La mesure des résultats se fait comme pour la protéolyse à savoir un seuil minimum de zone de lyse de 0.5mm, de plus l'apparition d'un dépôt autour de cette zone confirme l'activité lipolytique.

II. 7. 4. L'acidification

L'un des caractères technologiques essentiels des bactéries lactiques est leurs pouvoirs acidifiants qui dépend de la fermentation du lactose (Guiraud, 1998).

Le pouvoir acidifiant de nos souches est évalué par la mesure simultanée, de l'évolution du pH des six cultures en fonction du temps et le dosage de l'acidité titrable en degré Dornic neutralisé par une solution de soude (NaOH) de N/9, en présence d'un indicateur coloré qui est

la phénolphthaléine à raison de 200 µl, comme révélateur, jusqu'au virage de la couleur au rose pâle persistant au moins 10 secondes (Guiraud,1998).

- Du lait écrémé stérile reconstitué à 10% a été préparé dans des flacons d'une capacité de 500mL.
- Chaque flacon a étéensemencé à raison de 1% (soit 5 ml) d'une culture jeune de chaque souche.
- Pendant l'incubation des flacons à 30°C durant 24 h, les mesures du pH et de l'acidité Dornic ont été prises toutes les 2 heures à partir du temps zéro (le début de l'incubation) (Larpen, 1997).

L'acidité Dornic est déterminée par la formule :

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

Où : V_{NaOH} : volume de NaOH utilisé pour titrer l'acide lactique contenu dans les 10 mL de lait.

La mesure du pH est faite directement par le pH-mètre, en plongeant l'électrode dans le lait et cela avant chaque dosage de l'acide titrable.

L'activité acidifiante est appréciée par un abaissement du pH et une hausse de l'acidité Dornic.

II. 8. Antibiogramme

Ce test a pour but de tester la sensibilité bactérienne de ces souches à plusieurs antibiotiques, afin de pouvoir déduire l'effet bactériostatique ou bactéricide d'une gamme d'antibiotique (Chengappa et *al.*, 1990 ; Eberlin et *al.*, 1994 ; Jorgensen et *al.*, 1999). L'antibiogramme permet aussi de définir l'utilité de ces bactéries lactiques au sein de l'industrie agro-alimentaire (Tunneva and Ericson, 1954 ; Chabbert, 1963 ; Bauer et *al.*, 1966).

- A partir d'une jeune culture purifiée sur gélose MH et à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques sont raclées.
- L'anse est ensuite déchargée dans 5 à 10 ml d'eau physiologique stérile.
- La suspension bactérienne est par la suite bien homogénéisée, la D.O de l'inoculum doit se situer entre 0.08 à 0.10, lue à 625 nm.

- A l'aide d'un écouvillon stérile trempé dans l'inoculum l'ensemencement de chaque souche est réalisé par stries serrées sur la totalité de la surface gélosée, l'opération est répétée 2 fois afin de s'assurer du bon ensemencement.
- Les 28 antibiotiques cités dans le tableau 04 ont été testés. L'écouvillon est rechargé à chaque ensemencement d'une boîte.
- On dernier, les disques d'antibiotiques sont disposés à l'aide d'un distributeur d'antibiotique à raison de 6 antibiotiques par boîte.
- Les boîtes sont incubées à 30°C pendant 24h.

Les disques d'antibiotiques sont des disques de papier imprégnés avec une concentration déterminée d'un agent antimicrobiens à une concentration minimale d'inhibition CMI. Cette concentration est définie et standardisée par le Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de la Microbiologie (CA-SFM)

Après incubation, les boîtes de Petri sont examinées et les zones d'inhibition entourant les disques sont mesurées et comparées aux valeurs critiques (Annexe III) des différents agents antimicrobiens testés, afin de déterminer la catégorisation de classement de ces bactéries (résistant, intermédiaire, sensible). Le diamètre de la zone d'inhibition est proportionnel à la sensibilité de la bactérie testée à une CMI.

Aux regards des concentrations et des diamètres critiques les souches sont considérées comme :

- Sensibles (S) : les souches pour lesquelles la CMI de l'antibiotique testé est inférieur ou égale à la concentration critique basse (c), ce qui équivaut à un diamètre mesuré supérieur ou égale au diamètre critique D ;
- Résistantes (R) : les souches vis-à-vis desquelles la CMI de l'antibiotique testé est supérieure à la concentration critique haute C, correspondant à un diamètre mesuré inférieur au diamètre critique d ;
- De sensibilité intermédiaire (I) : les souches vis-à-vis desquelles la CMI de l'antibiotique testé et du diamètre mesuré correspondant sont compris entre les deux concentrations critiques et les deux diamètres critique. Le tableau 05 représente les critères de catégorisation des souches (CA-SFM, 2012).

Tableau 5. Procédure et critères de catégorisation selon les valeurs critiques (CA-SFM, 2012).

Critères de catégorisation selon les valeurs critiques		
	CMI (mg/L)	Diamètre mesuré (mm)
S	$CMI \leq c$	Diamètre $\geq D$
R	$CMI > C$	Diamètre $< d$
I	$c < CMI \leq C$	$d \leq \text{Diamètre} < D$

- Haute concentration (C) : la concentration maximale pouvant être supportée par les sujets testés jusqu'au seuil où elle peut devenir létale.
- Basse concentration (c) : la plus petite concentration pouvant provoquer la mort de ces individus.
- Grand diamètre (D) : diamètre d'action relatif à la concentration maximale (C).
- Petit diamètre (d) : diamètre d'action relatif à la concentration minimale (c).

Les valeurs critiques prédéfinies par le CA-EFM sont mis au point suite à plusieurs centaines de tests réalisés sur des milliers d'isolats sauvages et souches de références par diffusions sur gélose et/ou E-test.

Le Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de la Microbiologie (CA-SFM) a standardisé la méthode de l'antibiogramme et a déterminé la CMI (Concentration Minimale d'Inhibition) des antibiotiques et les valeurs critiques pour chaque bactérie. Dans notre cas d'étude la souche de référence pour les genres *Lactococcus* et *Leuconostoc* est l'espèce *streptococcus pneumoniae* ATCC 49619 (RASRBA, 2011).

La comparaison des diamètres d'inhibition mesuré pour chaque antibiotique au diamètre critique donné par le Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de la Microbiologie (CA-SFM), permet de définir les catégories des souches par l'interprétation des tests de sensibilité par Sensible (S), Résistant (R) et/ou Intermédiaire (I) (CA-SFM, 2012).

Les souches de bactéries lactiques forment un ensemble hétérogène pour lequel la lecture interprétative de l'antibiogramme, fondée sur la connaissance des phénotypes de résistance a conduit dans certains cas à transformer un résultat initialement catégorisé S en résultat I ou R, ces transferts de catégories sont sans doute dû à un risque de transmission horizontale entre les espèces ou d'un échange vertical par voie hiérarchique de descendance de ces bactéries.

Ces changements catégoriques ont été réalisée en fonctions des recommandations référentielles du CA-SFM (Comite de l'Antibiogramme de la Société Françaises de la Microbiologie) (CA-SFM, 2012).

III. Résultats & Discussion

III.1. Revivification et purification des souches lactiques

Suite à la revivification des 06 souches lactiques sur bouillon M17 à 30°C pendant 24h, il apparaît un trouble au fond des tubes. La purification de ces souches est résulté par une observation macroscopique et confirmé par un test de catalase et une coloration de Gram.

III.1.a. Examen macroscopique

L'observation à l'œil nu des cultures sur gélose M17 a été appréciée par des colonies visibles, de tailles similaires pour chaque genre (environ 1 mm de diamètre pour le genre *Lactococcus* et 2 mm de diamètre pour le genre *Leuconostocs*), de forme circulaire et un peu bombées, avec une couleur blanchâtre à crème. La figure 07 illustre l'aspect macroscopique de deux souches lactiques ND6 (*Lactococcus*) et ND8 (*Leuconostoc*).



ND6 (*Lactococcus*)



ND8 (*Leuconostoc*)

Figure 07. Aspect macroscopique de deux souches lactiques ND6 et ND8 sur gélose M17.

Les souches lactiques étudiées s'avèrent être à catalase négatives vu que ce test est l'un des examens clés complémentaires à la confirmation de la pureté des souches étudiées. Ces résultats sont en accord avec ceux trouvés par Kihal (1996), Carr *et al.* (2002) et Badis *et al.* (2005).

III.1.b. Examen microscopique

L'examen microscopique basé sur la coloration de Gram a montré que toutes les souches étaient à Gram positifs, de forme cocci, associées en paires, en amas, ou en courtes chaînes. Cette description est conforme à celle donnée par Carr *et al.* (2002). La figure 08 illustre l'aspect microscopique des deux souches lactiques ND6 et ND2.

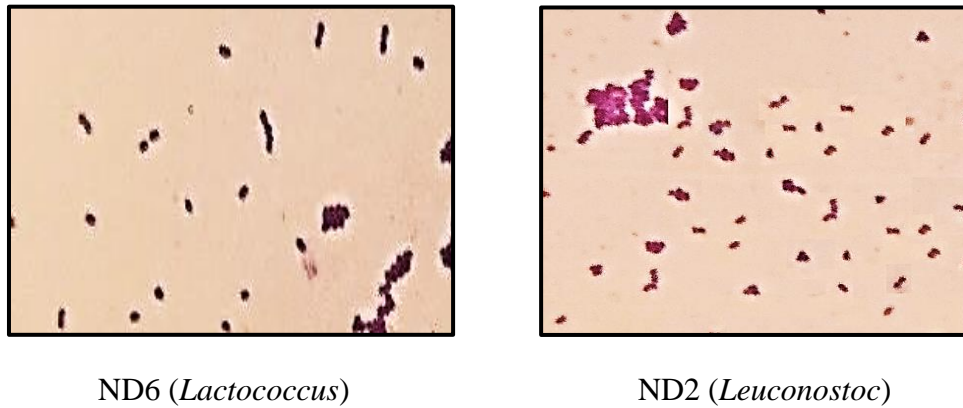


Figure 08. Aspect microscopique de deux souches lactiques ND6 et ND2 après coloration de Gram.

III.2. Résultats d'étude des aptitudes technologiques des souches lactiques

III.2.1. Production d'acétoïne

La production aromatique chez les bactéries lactiques est l'une des caractéristiques technologiques les plus importantes lors de la fabrication et de l'élaboration des produits laitiers fermentés. Les bactéries lactiques ont la capacité de produire de nombreux composés aromatiques à partir de différents substrats (comme le pyruvate) qui participent aux qualités organoleptiques des produits fermentés (Raynaud et *al.*, 2003 ; Cholet, 2006).

Pour le test de production d'acétoïne, les résultats obtenus ont révélé que seulement 3 souches des 6 souches lactiques étudiées arrivent à produire de l'acétoïne. Elles correspondent aux souches G'3, NF3 et ND9, appartenant aux deux genres *Leuconostoc* et *Lactococcus*.

Les autres souches ND2, ND6 et ND8 n'ont présenté aucun anneau rougeâtre signe d'un résultat négatif à ce test. Ceci peut être expliqué par une production d'un autre arôme autre que l'acétoïne, ou bien une production rapide de ce dernier qui est très vite réutilisé dans une autre voie aromatique. Le tableau 06 et la figure 09 résument les résultats obtenus.

Cogan, (1975), a constaté que la production du diacétyl et de l'acétoïne sont sans doute le caractère le plus fréquent chez les *Leuconostoc*. Par contre, les études de Badis et *al.* (2002 et 2005) et Ghazi et *al.* (2009) ont rapporté que la sous-espèce *Leuconostoc mesenteroides ssp mesenteroides* n'a pas la faculté de produire cet arôme ; de ce, nos résultats concernant la souche ND8 sont en parfaite accord avec les résultats de ces derniers.

Tableau 06. Résultats du test d'acétoïne dans le lait et le milieu Clark et Lubs.

Genres	Souches	Lait écrème stérile	Milieu Clark et Lubs
<i>Leuconostoc</i>	G'3	+++	++
	ND2	-	-
	ND8	-	-
<i>Lactococcus</i>	NF3	+++	++
	ND6	-	-
	ND9	+	+

Négative (-) : Absence de l'anneau rouge

Positif (+) : Présence de l'anneau rouge

+++ : Forte.

++ : Moyenne.

+ : Faible.

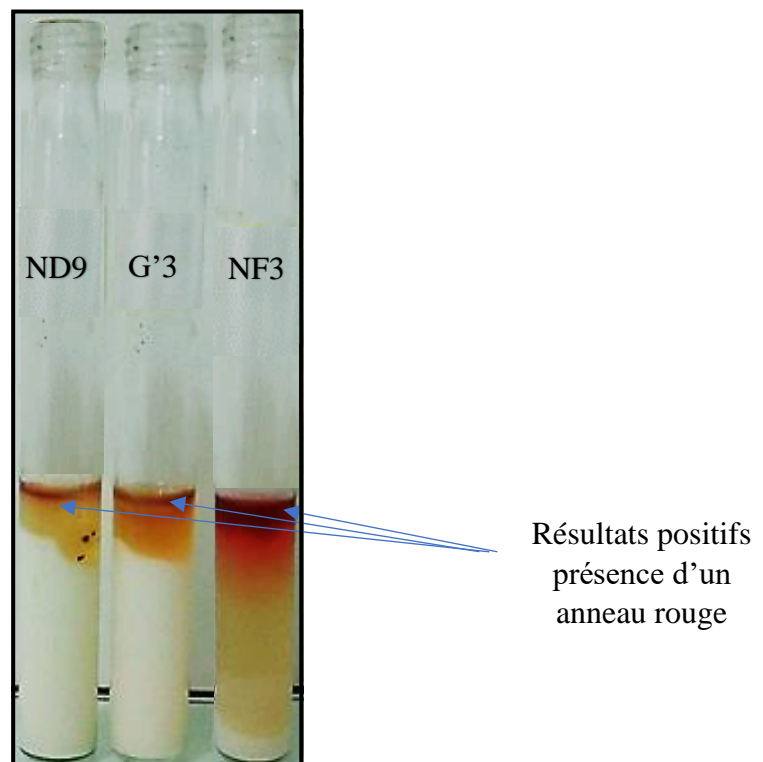


Figure 09. Résultats du test d'acétoïne dans le lait pour les trois souches ND9, G'3 (*Lactococcus*) et NF3 (*Leuconostoc*)

III.2.2. La protéolyse

Les valeurs rapportées sur le tableau 07 et 08 et les figures 11 et 12, représentent les résultats de la protéolyse des souches lactiques étudiées. La figure 10, présente l'aspect visuel de l'activité protéolytique des souches lactiques à deux pourcentages différents de poudre de lait rajouté (1% et 8%) après 24h d'incubation.

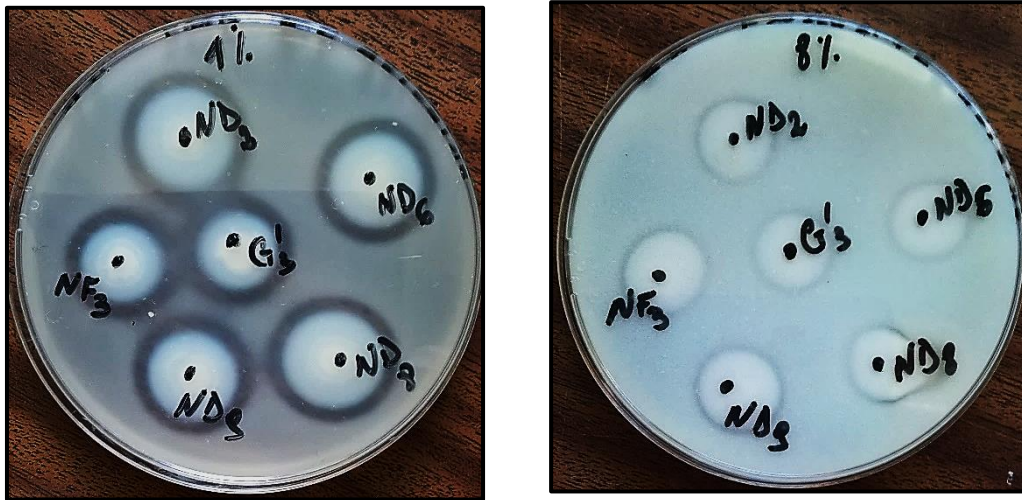


Figure 10. Activité protéolytique des souches lactiques étudiées après 24h d'incubation à 1% et 8% de poudre de lait additionné.

L'activité protéolytique chez les bactéries lactiques est essentielle pour leur croissance dans le lait, elle est ainsi impliquée dans le développement des propriétés organoleptiques des différents produits laitiers fermentés (Axelesson, 1998). Elle est une propriété importante pour la culture secondaire, car elle peut influencer la saveur d'un produit en lui fournissant la plupart des précurseurs d'arôme (Yvon, 2006).

D'après la mesure des diamètres de lyse, Il en résulte que pour toutes les souches, le diamètre de lyse augmente en fonction du temps et baisse par rapport au pourcentage de poudre de lait rajouté.

Après 24h d'incubation et à haut pourcentage de poudre de lait rajoutée (8%), nous avons constaté que les souches ND9 du genre *Lactococcus* et ND2 du genre *Leuconostoc* ont respectivement un diamètre de protéolyse de 13.01 et 12.33 mm, ne dépassant pas la valeur maximale de protéolyse qui est de 15 mm rapporté par Veuillemard (1986) dans ces travaux. Ce qui les rends les plus performantes à ce stade d'étude.

Par contre, à bas pourcentage de poudre de lait rajoutée (1%), nous remarquons que les souches NF3, ND9, G'3, ND2 et ND6 ont une protéolyse au-delà de la norme protéolytique qui est comprise entre 5 à 15 mm de diamètre, selon Veuillemard (1986), elle est considérée comme une protéolyse excessive pouvant provoquer la production incontrôlée de peptides amers et d'autres composés indésirables voir même un produit final trop mou en production fromagère selon ce qu'il a été décrit par Buffa et *al.* (2005). À l'exception de la souche ND8 du genre *Leuconostoc* ayant une protéolyse de 13.56 mm de diamètre.

Au bout de 48h et à haut pourcentage de poudre de lait rajoutée (8%), nous remarquons que les souches G'3 du genre *Leuconostoc* et ND9 du genre *Lactococcus* sont fortement protéolytiques avec une protéolyse de 16.22 et 16.06 mm de diamètre respectivement.

La souche ND8 du genre *Leuconostoc* a montré une protéolyse de 11.41 mm, elle représente la plus petite valeur protéolytique par rapport aux autres souches testées, donc elle est la moins performante.

Les souches ND6, NF3 et ND2 sont les plus performantes avec une protéolyse de 14.77 mm, 14.54 mm et 14.07 mm respectivement.

Tableau 07. Moyenne des diamètres de lyse en millimètre chez les souches lactiques après 24 heures d'incubation.

Après 24 heures d'incubation					
Souches	% de poudre de lait rajouté				
	1%	2%	4%	5%	8%
G'3	16.82	14.26	13.53	12.73	11.85
ND2	16.45	15.03	14.91	14.06	12.33
ND6	15.44	14.24	12.64	11.84	11.39
ND8	13.56	12.10	10.10	09.40	08.49
ND9	16.89	16.30	15.41	13.66	13.01
NF3	17.64	15.52	12.80	12.23	11.85

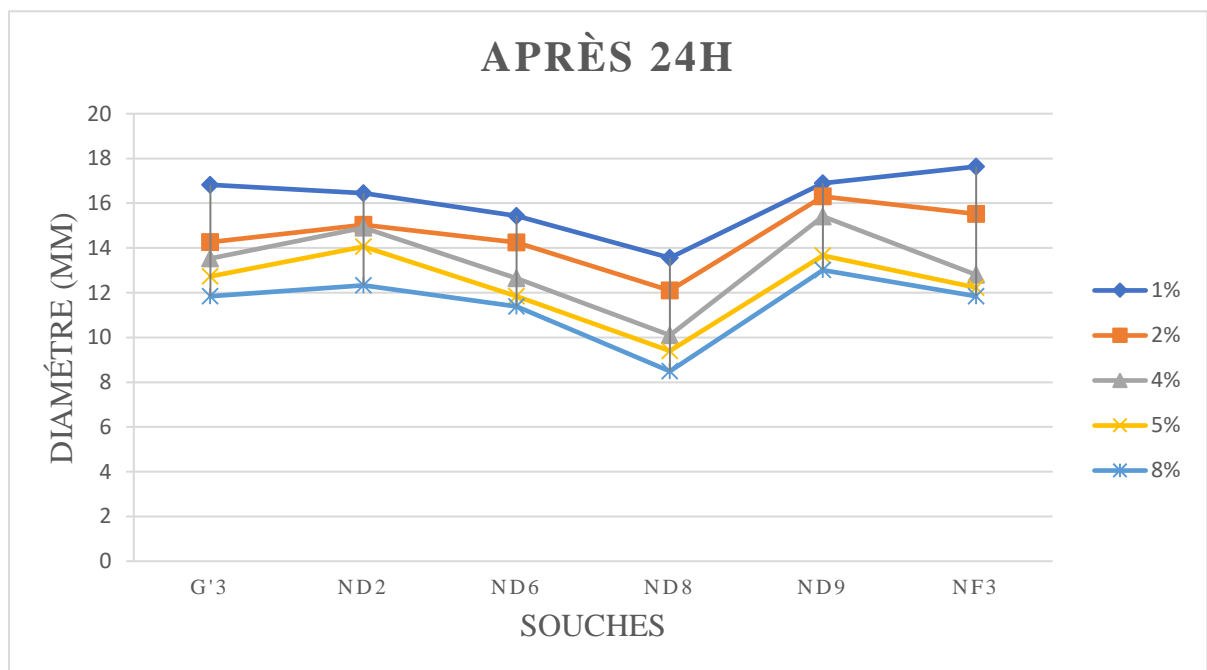
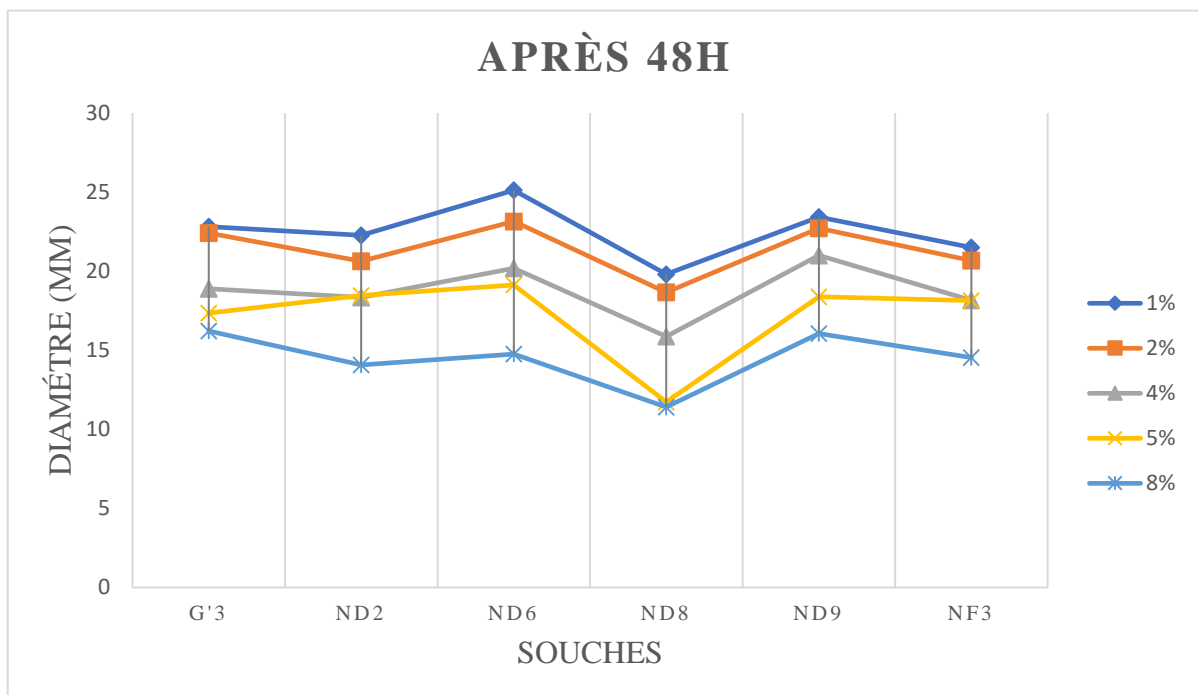
**Figure 11.** Activité protéolytique des souches lactiques étudiées après 24 heures d'incubation et à différent pourcentage de poudre de lait rajouté.

Tableau 08. Moyenne des diamètres de lyse en millimètre chez les souches lactiques après 48 heures d'incubation.

Après 48 heures d'incubation					
Souches	% de poudre de lait rajouté				
	1%	2%	4%	5%	8%
G'3	22.82	22.42	18.89	17.35	16.22
ND2	22.27	20.64	18.35	18.46	14.07
ND6	25.12	23.15	20.18	19.13	14.77
ND8	19.81	18.66	15.87	11.73	11.41
ND9	23.43	22.72	21	18.39	16.06
NF3	21.51	20.68	18.16	18.14	14.54

**Figure 12.** Activité protéolytique des souches lactiques étudiées après 48 heures d'incubation et à différent pourcentage de poudre de lait rajouté.

III.2.3. La lipolyse

D'après les résultats obtenus, figurant dans le tableau 09 et illustrés par la figure 13, on constate que l'ensemble des souches lactiques étudiées ne présentent aucune activité lipolytique puisqu'elles ne présentent aucune zone de lyse caractéristique autour des disques malgré qu'il y ait une croissance microbienne.

Mayers et *al.* (1996) avaient déjà rapportés la faible activité lipolytique des *leuconostoc* et cela nous en confirme qu'elle peut être soit indétectable au laboratoire, soit elle est perdue, mais il existe une croissance bactérienne comme il est rapporté par les études de Fernandez et *al.* (2000), qui ont montrées que la croissance des bactéries ne nécessite pas une activité estérasique.

Tableau 09. Résultats du test de lipolyse des souches lactiques étudiées après 48h d'incubation.

Genres	Souches	Croissance	Activité lipolytique
<i>Leuconostoc</i>	G'3	+	-
	ND2	+	-
	ND8	+	-
<i>Lactococcus</i>	NF3	+	-
	ND6	+	-
	ND9	+	-

(+) : Croissance bactérienne ; (-) : Pas de zones de lyse.

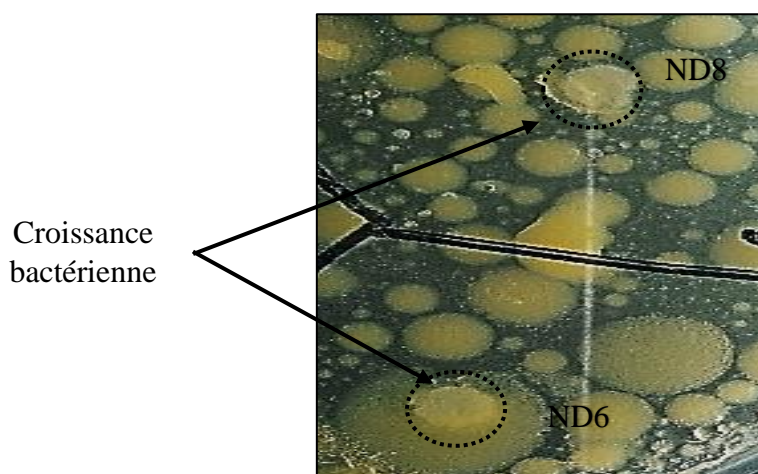


Figure 13. Résultats du test de lipolyse de deux souches lactiques ND8 (*Leuconostoc*) et ND6 (*Lactococcus*)

III.2.4. L'acidification

Les bactéries lactiques sont reconnues par leurs pouvoirs acidifiant. Dans le présent travail, nous avons testé le pouvoir acidifiant des 6 souches lactiques appartenant au genre *Lactococcus* et *Leuconostoc*, en suivant l'évolution du pH et de l'acidité Dornic en fonction du temps. Les résultats obtenus sont résumés dans les tableaux 10 et 11 et représentés schématiquement dans les figures 14 et 15.

D'après les résultats obtenus, nous remarquons que toutes les souches étudiées ont un pouvoir acidifiant appréciable, elles produisent de l'acide lactique progressivement en fonction du temps. Cette acidité produite est accompagnée d'un abaissement du pH du lait et provoque sa coagulation.

Tableau 10. Evolution du pH en fonction du temps d'incubation par rapport à chaque souche

Souches	Evolution du pH en fonction du temps d'incubation											
	0h	2h	4h	6h	8h	10h	12h	14h	16h	18h	20h	24h
Témoin négatif	6.75	6.73	6.71	6.68	6.65	6.62	6.58	6.55	6.52	6.24	6.02	5.98
G'3	6,65	6,46	6,31	6,22	6,02	5,92	5,86	5,77	5,68	5,59	5,49	5,08
ND2	6,63	6,46	6,42	6,27	5,96	5,87	5,77	5,67	5,59	5,52	5,47	5,36
ND6	6,68	6,57	6,34	6,16	5,83	5,73	5,64	5,55	5,47	5,43	5,39	5,09
ND8	6,69	6,58	6,36	6,19	5,88	5,69	5,56	5,47	5,44	5,24	5,16	5,05
ND9	6,64	6,57	6,29	6,10	5,80	5,68	5,59	5,51	5,46	5,44	5,40	5,01
NF3	6,70	6,64	6,47	6,28	6,01	5,92	5,83	5,74	5,64	5,63	5,53	5,30

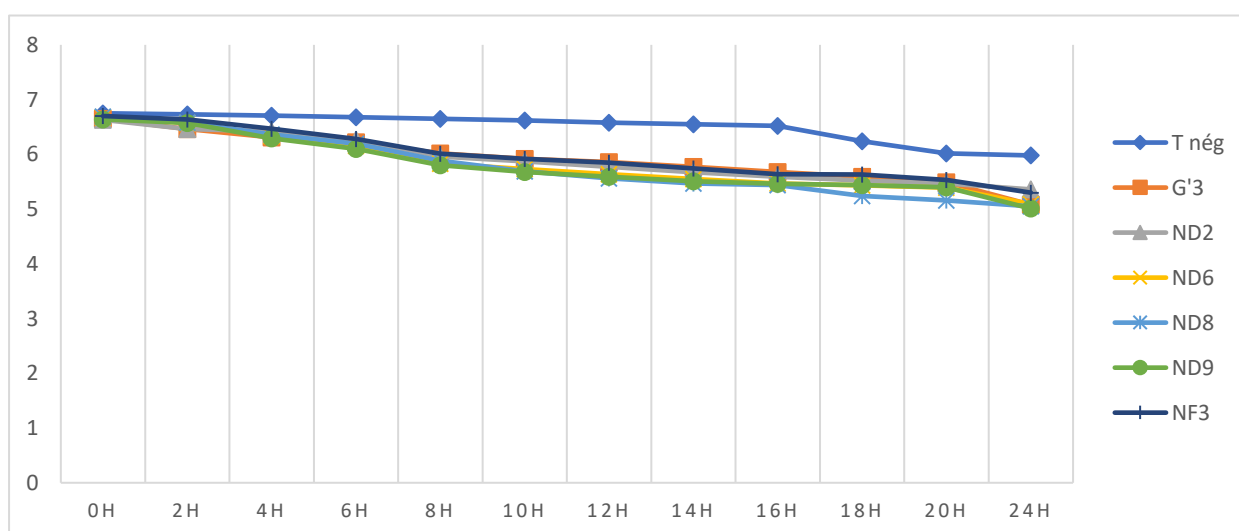


Figure 14. Evolution du pH par rapport aux souches testées en fonction du temps d'incubation.

Tableau 11. Evolution de l'acidité Dornic (en D°) des souches lactiques testées en fonction du temps d'incubation

Souches	Evolution de l'acidité Dornic en fonction du temps											
	0h	2h	4h	6h	8h	10h	12h	14h	16h	18h	20h	24h
T nég	14,33	15,33	15,67	15,67	16,33	17	17,67	18,67	19,67	24,33	32	35,67
G'3	16,33	17,33	19,33	22,66	33,66	34	35,67	39	41,67	41,67	45,67	54
ND2	16,33	18	20,33	23,33	30	35,67	38,67	46,67	49,67	55	59,33	65
ND6	16,33	17,33	19,33	25,33	34	36,33	40	48	52	56,67	59,33	69
ND8	14,83	16,33	18,33	25,33	35	44,33	47	52	58,67	64	68	74,33
ND9	17	17,67	21,33	30	37,33	43	48	50,67	52	55,67	59,33	68
NF3	15,33	16,33	18,47	22,67	28,33	31,33	37	38,67	41,67	45,33	49	58,67

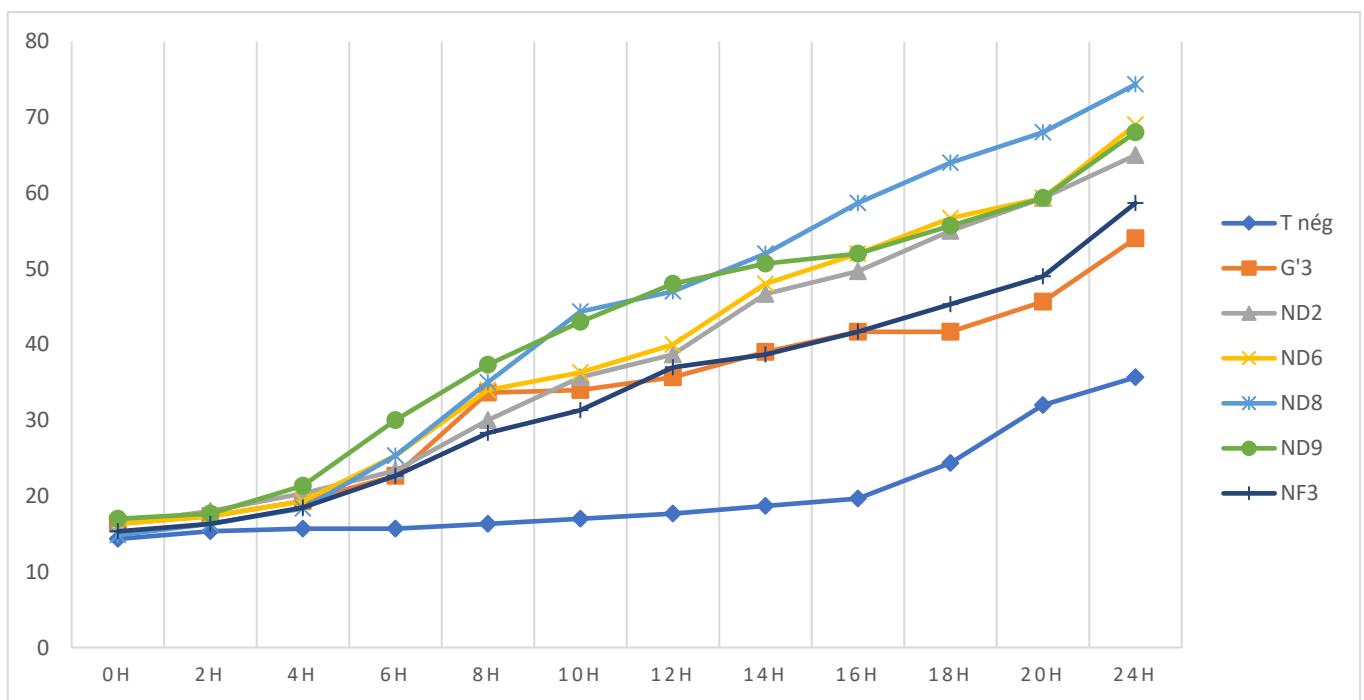


Figure 15. Evolution de l'acidité Dornic du lait après 24 heures d'incubation.

Des résultats obtenus et en fonction du temps d'incubation de nos échantillons de lait reconstitué et additionné par nos souches lactiques, nous avons constaté une nette diminution du pH accompagné d'une évolution progressive de l'acidité Dornic. Un phénomène dû à la production de l'acide lactique suite à la fermentation du lactose par les bactéries lactiques mise en culture.

Selon Bourgeois and Larpent (1996), l'acidité titrable est une expression de l'acidité développée dans le lait par la fermentation du lactose en acide lactique.

A temps 0h, et comparativement au témoin négatif, l'acidité Dornic a visiblement augmenté pour toutes les souches. La plus haute valeur a été constatée pour la souche ND9 avec 17°D et la moindre différence proche de la valeur du témoin négatif a été remarquée pour la souche ND8.

Après 4h d'incubation à 30°C, la baisse du pH évolue pour toutes les souches. ND9 et G'3 ont marqué la plus faible valeur de pH, suivi des souches ND6 et ND8. L'acidité Dornic la plus élevée a été constatée pour la souche ND9 avec une valeur de 21.33°D suivi de ND2 avec une valeur de 20.33°D.

Au bout de 8h d'incubation et dans les mêmes conditions de culture, on constate que la cinétique d'acidité est en continuelle évolution avec une baisse progressive du pH. Ici, la souche ND9 est toujours la plus acidifiante par rapport aux autres souches avec un pH de 5.80. Cependant, la souche G'3 marque un petit recul par rapport aux souches ND6 et ND8. La plus haute acidité Dornic de 37.33 °D a été constatée pour la souche ND9 du genre *Lactococcus*, cela marque un large écart entre les souches du même genre. La souche NF3 reste toujours en dernier classement avec une faible acidité de 28.33°D. A ce stade d'étude, les souches du genre *Leuconostoc* se montrent moins performantes que les souches du genre *Lactococcus*.

Après 24h d'incubation, on a pu classer les souches selon leurs vitesses d'acidification présentant une différence significative dans le temps. La souche ND9 du genre *Lactococcus* est toujours la plus acidifiante avec la plus faible valeur de pH de 5.01 ; malgré qu'elle ne marque pas la plus haute acidité titrable, soit elle produit un autre acide en alternative avec l'acide lactique qui est moins acide ou bien l'acide lactique est produit et vite transformé par cette dernière ; suivi par les souches ND8 et G'3 marquant respectivement un pH de 5.05 et 5.08. La souche ND8 du genre *Leuconostoc* est devenue la plus performante marquant la plus grande valeur d'acidité qui est de 74,33 °D suivi respectivement par les souches ND6 et ND9 du genre *Lactococcus* avec une acidité de 69°D et 68°D.

A exception, la souche NF3 appartenant au genre *Lactococcus* présente une certaine stabilité d'évolution dans le temps, mais reste toujours la moins performante comparativement aux autres souches lactiques étudiées.

Dans ce travail, les conditions de fermentations étaient les mêmes pour toutes les souches, par conséquent, la différence des propriétés acidifiantes dépend de la spécificité de chaque souche comme il a été rapporté dans les études de Badis et *al.* (2004) et Xanthopoulos et *al.* (2001).

Cette différence est due probablement à une diversité génétique (perte de plasmides au cours de la croissance bactérienne ou mutations entre les individus du même genre).

Sanchez et *al.* (2006), ont révélé que l'activité acidifiante due au genre *Lactococcus* est plus élevée que celle due au genre *Leuconostoc*. Cette activité est accompagnée d'une baisse de pH. Ce qui n'est pas le cas de nos résultats, car au cours de notre étude nous avons constaté que la souche la plus acidifiante après 24h d'incubation avec une acidité de 74.33°D était du genre *Leuconostoc*.

Cheriguene et *al.* (2006), ont trouvé que les souches de *Lactococcus lactis* produisaient des quantités importantes en acide lactique atteignant les 75 °D après 24h d'incubation. Idoui et *al.* (2009), ont eux aussi rapporté une importante activité acidifiante du même genre *Lactococcus Lactis*, en produisant une quantité d'acide lactique supérieur à 85°D en moyenne après 24h d'incubation.

III.3. Antibiogramme

L'antibiogramme a été réalisé dans le but de valoriser nos souches d'étude et définir leurs sensibilités envers une gamme d'antibiotiques.

La procédure et les critères de la catégorisation des souches afin d'interpréter un antibiogramme se fait sur la base des diamètres critiques, en fonction de la concentration minimale d'inhibition (CMI) d'un antibiotique et le diamètre d'action d'un antibiotique sur l'activité des souches à tester exprimé phénotypiquement par une zone de lyse autour de l'antibiotique (CA-SFM, 2012). La figure 16, illustre l'expression phénotypique de l'antibiogramme pour deux souches testées.



Figure 16. Illustration de l'expression phénotypique de deux souches lactiques testées.

Les résultats de l'antibiogramme réalisé sur nos 06 souches lactiques vis-à-vis les 28 antibiotiques testés de différentes familles, nous ont permis de les catégoriser comme étant sensible (S), intermédiaire (I) ou résistante (R). Les résultats sont groupés dans les tableaux 12 et 13.

Le tableau 12. Valeurs des diamètres de lyse tout au pourtour des disques d'antibiotiques (les diamètres de lyse sont exprimés en millimètre).

Antibiotiques à testés			Souches d'étude					
Classes d'antibiotiques	Familles d'antibiotiques	Abv des ATB	ND ₂	ND ₆	ND ₈	ND ₉	G ₃ '	NF ₃
Aminosides	Aminosides	GMN ₁₀	25.60	26.84	23.48	27.43	26.03	37.02
		KMN ₃₀	29.46	27.86	30.22	29.79	28.67	32.47
		NEO ₃₀	23.11	22.39	23.89	25.52	22.11	/
		S	12.57	12.73	14.21	15.02	12.57	14.91
B-Lactamine	Aminopénicilline	AMP ₁₀	19.97	18.43	21.63	23.93	22.80	24.72
		AMX ₂₅	22.64	25.45	26.70	26.50	25.88	28.17
		AMC ₃₀	09.92	23.86	26.30	25.89	32.00	28.16
	Céphalosporine 1 ère génération	CEF ₃₀	10.90	14.43	13.52	12.75	14.52	15.62
	Céphalosporine 2 ème génération	FOX	25.07	29.37	31.35	31.24	31.14	38.72
	Céphalosporine 3 ème génération	CTX ₃₀	22.30	41.83	44.20	42.76	37.94	36.41
	Pénicillines	OX ₁	00	00	00	00	00	00
P	00	00	00	00	00	00	00	
Cyclines	Tétracyclines	TE ₃₀	/	/	/	/	/	20.78
Glycopeptides	Glycopeptides	VAN ₃₀	00	00	00	00	00	00
Quinolones	Fluoroquinolone	CIP	37.68	42.90	35.07	40.24	49.31	31.04
		MAR	19.72	39.15	31.66	44.47	47.48	29.85
	Quinolones 1 ère génération	UBN ₃₀	44.67	42.36	18.60	44.11	46.49	39.44
Lincosamides	Lincosamides	CMN ₂	00	00	00	00	00	00
		LCN ₁₅	00	00	00	00	00	00
Macrolides	Macrolides	E	08.44	11.14	08.35	09.68	10.48	15.61
		SP	07.29	10.94	09.57	08.14	00	15.57
	Streptogramines	PT	00	00	00	00	00	00
Nitrofuranes	Nitrofuranes	FTN ₃₀₀	08	07.87	11.42	12.70	11.19	/
Phénicolés	Phénicolés	C ₃₀	29.13	30.13	32.91	30.61	31.75	34.90
Polypeptides	Polypeptides	COL ₁₀	22.68	14.22	08.04	17.43	15.63	19.66
		BCT ₁₃₀	00	00	00	00	00	09.23
Sulfamides et associés	Sulfamides-Triméthoprime	SXT ₂₅	27.12	30.50	43.39	40.58	40.50	37.21
Autres	Divers	RA ₃₀	16.90	17.05	15.77	19.76	14.97	19.99

Tableau 13. Catégorisation des souches lactiques à testées par rapport aux diamètres critiques

Antibiotiques à testés				Souches d'étude					
				ND ₂	ND ₆	ND ₈	ND ₉	G ₃	NF ₃
Familles ATB	Classes ATB	Abréviation des ATB	Charge des ATB	Diamètres critiques					
Aminosides	Aminosides	GMN ₁₀	10 UI	S	S	S	S	S	S
		KMN ₃₀	30 UI	S	S	S	S	S	S
		NEO ₃₀	30 µg	S	S	S	S	S	/
		S	10 UI	R	R	I	S	R	I
B-Lactamine	Aminopénicilline	AMP ₁₀	10 µg	I	I	S	S	S	S
		AMX ₂₅	25 µg	I	S	S	S	S	S
		AMC ₃₀	30 (20/10) µg	R	S	S	S	S	S
	Céphalosporine 1 ^{ère} génération	CEF ₃₀	30 µg	R	I	I	I	I	I
	Céphalosporine 2 ^{ème} génération	FOX	30 µg	S	S	S	S	S	S
	Céphalosporine 3 ^{ème} génération	CTX ₃₀	30 µg	R	S	S	S	S	S
	Pénicillines	OX ₁	1 µg	R	R	R	R	R	R
		P	6 µg	R	R	R	R	R	R
Cyclines	Tétracyclines	TE ₃₀	30 UI	/	/	/	/	/	S
Glycopeptides	Glycopeptides	VAN ₃₀	30 µg	R	R	R	R	R	R
Quinolones	Fluoroquinolone	CIP	5 µg	S	S	S	S	S	S
		MAR	100 µg	Non interpréter à faute de référence					
	Quinolones 1 ^{ère} génération	UBN ₃₀	30 µg	S	S	R	S	S	S
Lincosamides	Lincosamides	CMN ₂	2 UI	R	R	R	R	R	R
		LCN ₁₅	15 µg	R	R	R	R	R	R
Macrolides	Macrolides	E	15 UI	R	R	R	R	R	R
		SP	100 µg	R	R	R	R	R	R
	Streptogramines	PT	15 µg	R	R	R	R	R	R
Nitrofuranes	Nitrofuranes	FTN ₃₀₀	300 µg	R	R	R	R	R	/
Phénicolés	Phénicolés	C ₃₀	30 µg	S	S	S	S	S	S
Polypeptides	Polypeptides	COL ₁₀	10 µg	S	R	R	S	S	S
		BCT ₁₃₀	130 µg	R	R	R	R	R	R
Sulfamides et associés	Sulfamides-Triméthoprim	SXT ₂₅	1,25/23,75 µg	S	S	S	S	S	S
Autres	Divers	RA ₃₀	30 µg	I	I	I	S	I	S

S

Catégorie Sensible

I

Catégorie Intermédiaire

R

Catégorie Résistante

Les résultats de cet examen pour chaque souche étudiée par rapport aux antibiotiques utilisés ont permis de faire les remarques suivantes :

Toutes les souches lactiques, présentent une résistance envers 10 antibiotiques testés de différentes familles qui sont : l'Oxacilline, la Pénicilline (β -Lactamines), la Vancomycine (Glycopeptides), la Clindamycine, la Lincomycine (Lincosamides), l'Erythromycine, la Spiramycine, la Pristinamycine (Macrolides), la Nitroflurantoïde (Nitrofuranes) et la Bacitracine (Polypeptides).

La forte résistance aux Pénicillines (Pénicillines et Oxacilline) a été démontrée dans plusieurs études (Katla et al, 2001 ; Danielsen and Wind, 2003 ; Coppola et al, 2005 ; Belletti et al, 2009). Ces résultats de résistance à l'Oxacilline par les souches du genre *Lactococcus* sont en accord avec celles trouvées par Yazdanparsat (2002).

D'après les travaux de Donohue (2004), le genre *Lactococcus* présente une résistance à la Vancomycine. La même résistance était aussi décrite pour le genre *Leuconostoc* suite aux travaux réalisés par Orberg and Sandine (1984), Swenson et al. (1990), Benkerroum et al. (1993) et Ogier et al. (2008). Des résultats qui sont en accord avec celles trouvés dans notre travail de recherche.

Il a été démontré aussi, que la résistance du genre *Lactococcus* aux macrolides est majoritairement acquise. Plusieurs auteurs ont signalé que cette acquisition est soit due à un transfert horizontal du transposon Tn917 (Tomich et al., 1980 ; Hans et al., 1993) ou grâce à un plasmide conjugatif pK214 (Perreten et al., 1997 ; Raha et al., 2002 ; Delgado and Mayo, 2004). Ce dernier (plasmide) peut porter d'autres gènes de résistance comme celui de la résistance à la Streptomycine (Devirgiliis et al., 2008). L'étude de Yazdanparsat (2002) a démontré aussi que le genre *Lactococcus* était résistant à l'érythromycine ce qui corrobore avec nos résultats.

Les données rapportaient par Halami et al. (2000), George et al. (2001) et Pantip et al. (2007) démontrant que le genre *Lactococcus* est sensible aux Nitrofuranes ce qui nous met en discordance car nos souches du genre *Lactococcus* se sont révélées résistantes à cet antibiotique.

La souche ND2 du genre *Leuconostoc* est la plus résistante de toutes les souches étudiées car elle résiste à 14 antibiotiques testés : la Streptomycine (Aminosides), l'Amoxicilline + Ac.Clavulanique, Céfaloïne, Céfotaxime (β - Lactamines) et les 10 autres antibiotiques déjà cités. Cette souche présente une importante résistance à la famille des β - Lactamines, elle est suivie de ND8 du même genre présentant une résistance à la Fluméquine (Quinolones 1^{ère} génération) et la Colistine (Polypeptides) en plus des 10 antibiotiques sur-cités. La résistance de la souche ND8 à

l'un des Quinolones fait objet de similitude avec les résultats d'études de plusieurs auteurs dont Danielesen and Wind (2003), Delgado et al. (2005), Florez et al. (2005) et Karapetkov et al. (2011) qui ont démontré qu'en générale les bactéries lactiques ont une résistance intrinsèque à la plupart des inhibiteurs de la synthèse d'acide nucléique y compris les Quinolones. La souche G'3 de ce genre est la moins résistante de toutes les souches du genre *Leuconostoc* car en plus des 10 antibiotiques sur-cités elle résiste à la Streptomycine (Aminosides).

La souche ND6 du genre *Lactococcus* est résistante à la Streptomycine (Aminosides) et la Colistine (Polypeptides) sans oublier les 10 antibiotiques cités en premier lieu. La résistance de la souche ND6 à la Streptomycine concorde avec les travaux de plusieurs auteurs déterminant une résistance similaire chez l'espèce *Lactococcus lactis* essentiellement (Herrero et al., 1996 ; Temmerman et al., 2003 ; Florez et al., 2005). Cette résistance intrinsèque à la Streptomycine chez la souche ND6 est attribuée probablement à l'absence de transport d'électrons du cytochrome-médiation, permettant l'absorption de l'antibiotique (Charteris et al, 2001). Par contre et selon Noreen et al. (2011) et Kushiro et al. (2009), l'espèce *Lactococcus lactis* est l'une des espèces les plus sensibles à la Bacitracine ce qui ne s'accorde pas avec nos résultats. Les souches ND9 et NF3 du genre *Lactococcus* présentent des variations entre sensibilité intermédiaires et sensibilités et elles ne résistent à aucun antibiotique.

Ces résistances sont largement décrites parmi les bactéries lactiques et sont généralement considérés comme naturelle (intrinsèque) et pouvant être acquise (Mathur and Singh, 2005).

Plusieurs études ont montré la résistance naturelle d'un nombre important de bactéries lactiques aux antibiotiques (Botes et al., 2008).

Quelques-unes de nos souches d'étude ont marqué une sensibilité intermédiaire à 05 antibiotiques : la Streptomycine (Aminoside), l'Ampicilline, l'Amoxicilline (Aminopénicilline), la Céfaloine (Céphalosporines 1^{ème} génération) et la Rifampicine (Rifamycines). Cette sensibilité intermédiaire envers ces antibiotiques varie d'une souche à l'autre, elle est probablement attribuée à un transfert horizontal ou à une mutation chromosomique comme il a été rapporté dans les travaux de Yamashita et al. (2000).

Au cours de cette étude, nous avons remarqué que toutes les souches testées étaient sensibles à 7 antibiotiques qui sont : la Gentamicine, la Kanamycine, la Néomycine (Aminosides), la Céfoxitine (Céphalosporines 1^{ère} génération), la Ciprofloxacine (Fluoroquinolones), la Chloramphénicol (Phénicoles) et la Triméthoprime + Sulfaméthoxazole (Sulfamides-

Triméthoprimes). L'étude élaborée par Ogier et *al.* (2008) a démontré que le genre *Leuconostoc* était considéré comme étant résistant à la Gentamicine et au Chloramphénicol ce qui ne correspond pas avec les résultats de notre étude, car nos souches du genre *Leuconostoc* se sont révélées sensibles à ces deux antibiotiques. Selon les travaux de Brisse et *al.* (1998), Klein et *al.* (1999) et Mathur et *al.* (2005) les souches du genre *Lactococcus* étaient résistantes aux Fluoroquinolone ce qui est en désaccord avec nos résultats d'étude, car nos souches se sont révélées sensibles à cet antibiotique.

Les souches du genre *Lactococcus* se sont montrées largement plus sensibles aux antibiotiques testés que les souches du genre *Leuconostoc*. La souche ND9 du genre *Lactococcus* a montré une sensibilité pour 15 antibiotiques, en plus des sept que nous venons de citer, elle est sensible à la Streptomycine (Aminosides), l'Ampicilline, l'Amoxicilline, l'Amoxicilline + Ac. Clavulanique (Aminopénicillines), la Céfotaxime (Céphalosporines 3^{ème} génération), la Fluméquine (Quinolones 1^{ère} génération), la Colistine (Polypeptides) et la Rifampicine (Rifamycines). Cette souche présente une importante sensibilité à la famille des Aminosides. D'après les travaux de Donohue (2004) l'espèce *Lactococcus Lactis* étaient résistante à l'Ampicilline nos résultats ont révélé que nos souches testées du genre *Lactococcus* étaient sensibles à cet antibiotique ce qui nous induit en désaccord. Ensuite on retrouve la souche NF3 du même genre montrant la même sensibilité aux antibiotiques que celle révélée par ND9 à l'exception de l'antibiotique Streptomycine auquel elle présente une sensibilité intermédiaire. Pour que vienne après la souche ND6 du genre *Leuconostoc* présentant une sensibilité à 13 antibiotiques les 7 déjà cités et à l'Amoxicilline, l'Amoxicilline + Ac. Clavulanique (Aminopénicillines), la Céfotaxime (Céphalosporines 3^{ème} génération) et la Fluméquine (Quinolones 1^{ère} génération).

L'importante sensibilité de ces souches envers ces antibiotiques peut nous conduire à combiner entre elles pour mettre au point un ferment ou même les utilisés comme probiotiques dans la production laitière. D'après Ammor and Mayo (2007), il est important de s'assurer que les souches lactiques impliquées dans une production probiotique ne portant aucun gène de résistance aux antibiotiques. La résistance des probiotiques aux antibiotiques pouvant être transmissible à des souches pathogènes peut poser un réel problème. Ce qui a induit la suggestion de l'Autorité Européenne de la Sécurité Alimentaire (AESA) a que les probiotiques ne doivent pas avoir une résistance acquise aux antibiotiques rapporté par Zago et *al.* (2011) dans leurs travaux.

Conclusion

Les bactéries lactiques sont utilisées empiriquement depuis des siècles dans la fabrication de nombreux aliments fermentés comme les produits laitiers, tels que les fromages et les yaourts. Un intérêt industriel tout particulier a été porté à ces bactéries, elles sont utilisées aussi pour améliorer les caractères organoleptiques des produits du fait le gout, la saveur, la texture et l'arôme (du lait fermenté, du yaourt, du fromage et des produits carnés...etc.).

Au cours de cette étude, six souches de bactéries lactiques ont été ciblées (trois *Lactococcus lactis* et trois *Leuconostoc mesenteroides*) pour étudier quelques-unes de leurs caractéristiques technologiques (pouvoir acidifiant, production d'acétoïne, pouvoir protéolytique, pouvoir lipolytique) et tester leurs sensibilités envers les antibiotiques afin de valoriser leurs utilisations futures au sein de l'industrie laitière.

Le test d'acétoïne réalisé au cours de la présente étude a révélé que seulement trois de nos souches lactiques étudiées étaient capables de produire de l'acétoïne l'un des plus importants des composés aromatiques, deux du genre *Lactococcus* (NF3 et ND9) et une du genre *Leuconostoc* (ND6).

Les résultats acquis après l'étude de l'activité protéolytique ont permis de constater que toutes les souches ont une activité protéolytique appréciable, avec les souches (ND6 et NF3) du genre *Lactococcus* et ND2 du genre *Leuconostoc* qui se sont montrées plus performantes que les autres avec respectivement un diamètre de protéolyse de 14.77 mm, 14.54 mm et 14.07 mm. Alors qu'aucune des six souches lactiques testée ne présente une activité lipolytique.

Les souches lactiques étudiées ont montré un pouvoir acidifiant appréciable au bout de 24h d'incubation à 30°C dont une très acidifiante la souche ND8 du genre *Leuconostoc* avec une valeur de 74.33 °D, cette acidité produite stimule la coagulation du lait et joue même un rôle important dans la conservation de nombreux aliments.

Pour ce qui est du test de la sensibilité aux antibiotiques, les souches du genre *Lactococcus* se sont montrées largement plus sensibles aux antibiotiques testés que les souches du genre *Leuconostoc*. Les souches ND9, NF3 et ND6 du genre *Lactococcus* ont présenté respectivement une importante sensibilité envers 15, 14 et 13 antibiotiques testés ce qui les

rends les plus performantes et les plus aptes à être utilisées au sein de l'industrie laitière en tant que ferment et voire même comme améliorant lactique.

Enfin, au vu de ces résultats générés lors de ce travail, nous pouvons rappeler que ces souches lactiques testées ont révélé des caractéristiques technologiques intéressantes faisant d'elles de très bonnes candidates pour d'éventuelles applications technologiques et pourraient devenir des ferments autochtone ou voire même les utiliser comme probiotiques dans différentes productions laitières.

Ceux qui nous permet d'ouvrir les perspectives suivantes :

- Il serait intéressant d'étudier plus de propriétés technologiques telle que l'activité autolytique, le pouvoir texturant et probiotique.
- Valorisation des souches lactiques étudiés à l'échelle industrielle.

Références bibliographiques

- ✓ Amatayakul T., Halmos A.L., Sherkat F. and Shah N.P., 2006. Physical characteristics of yoghurts made using exopolysaccharide-producing starter cultures and varying casein to whey protein ratios. *International Dairy Journal*. Vol. 16, 40-51.
- ✓ Ammor S., Tauveron G., Dufour E. and Chevallier I., 2006. Antibacterial activity of lactic acid bacteria against spoilage and pathogenic bacteria isolated from the same meat small-scale facility, 1-Screening and characterization of the antibacterial compounds. *Food Control*. vol. 17, 454-461.
- ✓ Ammor M.S. et Mayo B., 2007. Selection criteria for lactic acid bacteria to be used as functional starter cultures in dry sausage production. *Meat. Science*. 76 : 138-146.
- ✓ Atlan D, Béal C, Champonier-Vergès MC, Chapot-Chartier MP, Chouayekh H, Cocaïgn-Bousquet M, Deghorain M, Gadu P, Gilbert C, Goffin P, Guédon E, Guillouard I, Guzzo J, Juillard V, Ladero V, Lindley N, Lortal S, Loubière P, Maguin E, Monnet C, Monnet V, Rul F, Tourdot-Maréchal R. et Yvon M. (2008). Métabolisme et ingénierie métabolique. In : Bactéries lactiques de la génétique aux ferments (Corrieu G et Luquet FM). Tec & Doc.Lavoisier. Paris, 271-447.
- ✓ Axelsson L. (1998). Lactic acid bacteria: Classification and physiology. In Salminen S and A.Lactic Acid Bacteria: Microbiological and Functional Aspects, Von Wright (Eds). 3e Ed: New York, Marcel Dakker, pp. 1-72.
- ✓ Axelsson L. (2004). Classification and physiology. In: Lactic acid bacteria: Microbiological and functional aspects (Salminen S, Wright AV et Ouwehand A). 3e Ed: Marcel Dekker, Inc. New York. 1-66.
- ✓ Badis A, Laouabdia-Sellami N, Guetarni D, Kihal M et Ouzrout R. (2002). 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.
- ✓ Badis A, Guetarni D, Moussa BB, Henni DE et Kihal M. (2004). Identification and technological properties of lactic acid bacteria isolated from raw goat milk of four Algerian races. *Food Microbiol*. 21, 579-588.
- ✓ Badis A, Laouabdia-Sellami N, Guetarni D, Kihal M et Ouzrout R. (2005). Caractérisation phénotypique des bactéries lactiques isolées à partir de lait cru de chèvre de deux populations caprines locales «Arabia et Kabyle». *Sciences et technologie*. 23, 30-37.
- ✓ Bauer, A.W., Kirby, W. M. M., Sherris, J.C et Turck, M., (1966). Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *American Journal of Clinical Pathology*. 36, 493-496.
- ✓ Béal C, Marin M, Fontaine E, Fonseca F et Obert JP. (2008). Production et conservation des ferments lactiques et probiotiques. In : Bactéries lactiques de la génétique aux ferments (Carrieu G et Luquet FM). Tec & Doc. Lavoisier, Paris, 1-144.

- ✓ Bekhouche and Boulahrouf. (2005). Etude quantitative et qualitative des bactéries lactiques de lait cru produits par des vaches locales appartenant à six stations d'élevage de Constantine. *Science technologique*. C N° 23, 38-47.
- ✓ Belyagoubi L., 2014. Antibiotiques produits par des bactéries (actinomycètes et bactéries lactiques) issus de différents écosystèmes naturels Algériens. *Thèse de Doctorat en Biologie*. Université Aboubakr Belkaid-Tlemcen. 170p.
- ✓ Benson K.H., Godon J.J., Renault P., Griffin H.G. et Gasson M.J., 1996. Effect of *ilvBN*-encoded alpha-acetolactate synthase expression on diacetyl production in *Lactococcus lactis*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 1-2, 107-111.
- ✓ Brisse S., Fluit A.C., Wagner U., Heisig P., Milatovic D., Verhoef J., Scheuring S., Kohrer K. et Schmitz F.J., (1999). Association of alteration in ParC and GyrA proteins with resistance of clinical isolates of *Enterococcus faecium* to nine different fluoroquinolones. *Antimicrobe. Agents Chemother.* 43, 2513-2516.
- ✓ Benkerroum N., Ghouati Y., Sandine W.E., Tantaoui-Elaraki A., 1993. Methods to demonstrate the bactericidal activity of bacteriocins, -*Lett. Appl. Microbiol.*, 17 (2), 78-81.
- ✓ Björkroth J. and Holzapfel W., 2003. Genera *Leuconostoc*, *Oenococcus* and *Weissella*. In: M. Dworkin (Ed.) *The Prokaryotes*, 3rd ed. (electronic version). *Springer-Verlag*. New York, NY.
- ✓ Bourel, G., Henini, S., Krantar, K., Oraby, M., Divies, C. et Garmyn, D. (2001). Métabolisme sucre-citrate chez *Leuconostoc mesenteroides*. INRA EDP Sciences, pp : 75-82.
- ✓ Bourgeois CM and Larpent JP. (1996). *Microbiologie alimentaire : Aliments fermentés et fermentations alimentaires*. Tec & Doc. Lavoisier, Paris, 432-704.
- ✓ Botes M., van Reenen C.A. et Dicks L.M.T., 2008. Evaluation of *Enterococcus mundtii* ST4SA and *Lactobacillus plantarum* 423 as probiotics by using a gastro-intestinal model with infant milk formulations as substrate. *Int. J. Food Microbiol.* 128 : 362-370.
- ✓ Buchbinder, Baris, Goldstein, *Publ. Hlth. Rep.*, 66, 327 (1951); NF EN ISO 4833. Mai 2003. *Microbiologie des aliments. Méthode horizontale pour le dénombrement des micro-organismes. Technique de comptage des colonies à 30 °C*. Biokar Diagnostics – Rue des Quarante Mines – ZAC de Ther – Allonne – B.P. 10245 – F60002 Beauvais Cedex – France – [en ligne]; «Ressources électroniques» : [http:// www.biokar-diagnostics.fr](http://www.biokar-diagnostics.fr).
- ✓ Budde BB., Hornbæk T, Jacobsen T, Barkholt V, Koch AG. (2003). *Leuconostoc carnosum* 4010 has the potential for use as a protective culture for vacuum-packed meats, culture isolation, bacteriocin identification, and meat application experiments *International Journal of Food Microbiology*. Vol 83: 171-184.
- ✓ Buffa M, Morais J, Jiménez-Belenguer A, Herdandez-Giménez E et Guamis B. (2005). Technological characterization of lactic acid bacteria isolated from raw ewe's milk for cheese making. *Milchwissenschaft*. 61, 404-407.
- ✓ Carr FJ, Hill D, Maida N. (2002). The lactic acid bacteria: A literature survey. *Crit. Rev. Microbiol.* 28, 281-370.

- ✓ Caridi A., Micari P., Caparra P., Cufari A. and Sarullo V., 2003. Ripening and seasonal changes in microbial groups and in physico-chemical properties of the ewes' cheese Pecorino del Poro. *International Dairy Journal* 13, 191-200.
- ✓ Casalta E., Vassal Y., Desmazeaud M.J. and Casabianca F., 1995. Comparison of the acidifying activity of *Lactococcus lactis* isolated from Corsican goat milk and cheese. *Food Science and Technology-Lebensmittel-Wissenschaft & Technology* 28, 291-299.
- ✓ Chabbert, Y. A. (1963). L'antibiogramme : sensibilité et résistance des bactéries aux antibiotiques. Editions de la Tourelle, Saint-Mandé.
- ✓ Charteris W. P., Kelly P. M., Morelli L., Collins J. K. (2001). Gradient diffusion antibiotic susceptibility testing of potentially probiotic *Lactobacilli*. *J. Food Prot.* 64, 2007–2014. 10.4315/0362-028X-64.12.2007.
- ✓ Chengappa, M.M., (1990). Antimicrobial agents and susceptibility testing, in Diagnostic procedures in veterinary bacteriology and mycology, Academic Press. p. 479-492.
- ✓ Cheriguene A, Chougrani F et Bensoltane A. (2006). Identification and characterization of lactic acid bacteria isolated from goat's Algerian milk. *Pakistan J. Biol. Sci.* 9(7): 1242-1249.
- ✓ Chenoll E, Macian MC, Aznar R. (2003). Identification of *Carnobacterium Lactobacillus*, *Leuconostoc* and *Pediococcus* by rDNA-based technique. *Systematic and Applied Microbiology*. vol 26: 546-556
- ✓ Cholet O, (2006). Etude de l'écosystème fromager par une approche biochimique et moléculaire. Institut National Agronomique Paris-Grignon. Ecole Doctorale ABIES. UMR de Génie et Microbiologie des Procédés Alimentaires INRA, INA.16.
- ✓ Christiansen P.S., Edelsten D., Kristiansen J.R. and Nielsen E.W., 1996. Some properties of ice cream containing *Bifidobacterium bifidum* and *Lactobacillus acidophilus*. *Milchwissenschaft*, 51: 502-504.
- ✓ Clark, W.M., and Lubs, H.A. Improved chemical methods for differentiating bacteria of the Coli-aerogenes family. *J. Biol. Chem.* 30: 209-234 (1917). 44 reference.
- ✓ Cogan TM. (1975). Citrateutilization milk by *Leuconostoc cremoris* and *Streptococcus diacetylactis*. *J. Dairy Res.* 42, 139-146.
- ✓ Cogan, T.M. (1981). Constitutive nature of the enzymes of citrate metabolism in *Streptococcus lactis subsp. diacetylactis*. *Journal of Dairy Research*, 48, pp: 489-495.
- ✓ Cogan, T.M. (1982). Acetoin production and citrate metabolism in *Streptococcus lactis subsp. lactis*. *Journal of Food Science and Technology*, 6, pp: 69-78.
- ✓ Collins, M.D., Farrow, J.A., Phillips, B., Ferusa, S. and Jones, D. (1987) Classification of *Lactobacillus divergens*, *Lactobacillus piscicola* and some catalase-negative, asporogenous, rod-shaped bacteria from poultry in a new genus, *Carnobacterium*. *International Journal of Systematic Bacteriology* 37, 310-316.
- ✓ Collins M.D., Williams A. M. et Wallbanks S. (1990). The Phylogeny of *Aerococcus* And *Pediococcus* As Determined By 16s Rrna Sequence Analysis, Description of *Tetragenococcus*, Gen. Nov. *Fems Microbiology Letters*. Vol. 70, 255.

- ✓ Collins M.D., Samelis J, Metaxopoulos J et Wallbanks S. (1993). Taxonomic studies of some *Leuconostoc*-like organisms from fermented sausages, description of a new genus *Weissella* for the *Leuconostoc paramesenteroides* group of species. *J. Appl. Bacteriol* vol. 75, 595-603.
- ✓ Comité de l'antibiogramme-Société française de microbiologie, communiqué 2012. http://www.sfm-microbiologie.org/UserFiles/file/Casfm_2012.pdf.
- ✓ Corbier C., Krier F., Mulliert G., Vitoux B. and Revol-Junelles A.M., 2001. Biological activities and structural properties of the atypical bacteriocins mesenterocin 52b and leucocin b-ta33a. *Applied and Environmental Microbiology*. 67, 4, 1418-22.
- ✓ Corroler D., Mangin I., Desmasures N. and Gueguen M., 1998. An ecological study of lactococci isolated from raw milk in the camembert cheese registered designation of origin area. *Appl Environ Microbiol* 64, 4729-4735.
- ✓ Corroler D., Desmasures N. and Guéguen M., 1999. Correlation between polymerase chain reaction analysis of the histidine biosynthesis operon, randomly amplified polymorphic DNA analysis and phenotypic characterization of dairy *Lactococcus* isolates. *Applied Microbiology and Biotechnology* 51, 91-99.
- ✓ Coppola R., Succi M., Tremonte P., Reale A., Salzano G., Sorrentino E., (2005). Antibiotic susceptibility of *Lactobacillus rhamnosus* strains isolated from Parmigiano Reggiano cheese. *Lait*. 85,193-204.
- ✓ Dalmaso M., Prestoz S., Rigobello V. and Demarigny Y., 2008. Behavior of *Lactococcus lactis* subsp *lactis* biovar. *diacetylactis* in a Four *Lactococcus* Strain Starter during Successive Milk Cultures. *Food Science and Technology International* 14, 469-477.
- ✓ Danielsen M., Wind A. (2003). Susceptibility of *Lactobacillus* spp. to antimicrobial agents. *Int. J. Food Microbiol.* 82, 1–11. 10.1016/S0168-1605(02)00254-4
- ✓ Delgado A, Dulce B, Pedro F, Cidalia PJ et Figueiredo M. (2001). Antimicrobial activity of *L. plantorum*, isolated from a traditional lactic acid fermentation of table olives. *Lait*. 81, 203-215.
- ✓ Delgado S., Florez A.B., Mayo B., (2005). Antibiotic susceptibility of *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* species from the human gastro-intestinal tract. *Curr. Microbiol.* 50, 202-207.
- ✓ Delgado, S., Mayo, B., (2004). Phenotypic and genetic diversity of *Lactococcus lactis* and *Enterococcus* spp. Strains isolated from Northern Spain starter-free farmhouse cheese. *International Journal of Food Microbiology*. 90,309-319.
- ✓ Dellaglio FH, de Roissard, S Torriani, MC Curk et D Janssens. (1994). Caractéristiques générales des bactéries lactiques. Dans différents bactéries lactiques. H. De Roissard et F.M.Luquet (ed). *Lorica, Uriage*. Vol 1 : 25 -116.
- ✓ de Roissart H.B. (1986). Les bactéries lactiques. Dans : le lait et les produits laitiers. Luquet F. M., 3, Eds. *Techniques et Documentations Lavoisier*. Paris, pp : 343-407.
- ✓ Desmazeaud M. (1996). Les bactéries lactiques dans l'alimentation humaine : utilisation et innocuité. *Cahier agricultures*. 5, 331-343.

- ✓ Devirgillis, C., Caravelli, A., Coppola, D. Barile, S., Perozzi, G., (2008)., Antibiotic resistance and microbial composition a long the manufacturing process of Mozzarella di Bufala Compana. *International Journal of Food Microbiology*. 128, 378-784.
- ✓ Dicks L.M.T., Fantuzzi L., Gonzalez F.C., Du Toit M. and Dellaglio F., 1993. *Leuconostoc argentinum* sp. nov., isolated from argentine raw milk. *Int J Syst Bacteriol*. 43:347–351.
- ✓ Donkor ON, Henriksson A, Vasiljevic T et Shaha NP. (2007). Proteolytic activity of dairy lactic acid bacteria and probiotics as determinant of growth and in vitro angiotensin converting enzyme inhibitory activity in fermented milk. *INRA, EDP Sciences*. 86, 21-38.
- ✓ Donohue D.C. (2004). Safety of novel probiotic bacteria. In: *Lactic acid bacteria: microbiological and functional aspects* (Salminen S., Wright A.V. et Ouwehand A.). 3e Edition : Marcel Dekker, Inc. New York.pp. 531-546.
- ✓ Dortu C. and Thonart P., 2009. Les bactériocines des bactéries lactiques : caractéristiques et intérêts pour la bioconservation des produits alimentaires. *Biotechnol. Agron. Soc. Env*. 13(1): 143-154.
- ✓ Drider, Dj., Prevost, H. (2009). *Bactéries Lactiques, Physiologie, Métabolisme, Génomique et Applications industrielles*, 593p.
- ✓ DSMZ. (2008) Bacterial nomenclature up to date. (http://www.dsmz.de/microorganisms/bacterial_nomenclature)
- ✓ DurJu-Ozkaya, F. B. Aslim et M. Taha Ozkaya .2005. *Effect of exopolysaccharides (EPS), produced by Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus strains to bacteriophage and nisin sensitivity ofthe bacteria*, J, L WT.
- ✓ Durlu-Özkaya F., Aslim B. and Taha Ozkaya M., 2007. Effect of exopolysaccharides (EPSs) produced by *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus* strains to bacteriophage and nisin sensitivity of the bacteria. *LWT -Food Science and Technology*. Vol. 40, 564-568.
- ✓ Drouault, S and Corthier G. (2001). Effets des bactéries lactiques ingérées avec des laits fermentés.
- ✓ Eberlin T., and Renaud F., (1994). Etude de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques. In *Manuel de bactériologie clinique*. Edition Scientifiques Elsevier. p. 431-452.
- ✓ Edima H.C., 2007. *Carnobacterium maltaromaticum*: caractéristiques physiologiques et potentialités en technologie fromagère. *Thèse de doctorat*. INPL et PhD. Université de Ngaoundéré.165p.
- ✓ El-Ghaish S., Ahmadova A., Hadji-Sfaxi I., El Mecherfi K.E., Bazukyane I., Choiset Y., Rabesona H., Sitohy M., Popov Y.G., A. Kuliev A., Mozzi F., Chobert J.M. et Haertlé T., 2011. Potential use of lactic acid bacteria for reduction of allergenicity and for longer conservation of fermented foods. *Tre. Food Sci. Technol*. 1-8.
- ✓ Eom H, SEO DM, HAN NS. (2007). Selection of psychotrophic *Leuconostoc spp*. Producing highly active dextransucrase from lactate fermented vegetables. *International Journal of Food Microbiology*. vol 117: 61-67.

- ✓ 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.
- ✓ Farkye N.Y., Madkor S.A. and Atkins H.G., 1995. Proteolytic abilities of some lactic acid bacteria in a model cheese system. *Int Dairy J* 5: 715-725.
- ✓ Fernandez L, Beerthuyzen MM, Brown J, Coolbear T, Holland R et Kuipers OP. (2000). Cloning, Characterization, controlled overexpression and inactivation of major tributyrin esterase gene of *Lactococcus lactis*. *App. Env. Microbiol.* 66, 1360-1368.
- ✓ Ganzele G, Michael, Alexndra Holtzel, Jens Walter, Gunther Jung, Et Walter P, Hammes. (2000). Characterization of Rentericyclin Producet By *Lactobacillus Reuter Lth* 2584. *Appl and environ, Microbiol.* 4325-4333.
- ✓ George G., zhanel, Daryl J., Hoban., James A., Karlowsky. (2001). Nitrofurantoin Is Active against Vancomycin-Resistant *Enterococci*. *Antimicrobial Agent and Chemotherapy*, p. 324-326.
- ✓ Gerrit S, Bart AS et Wim JME. (2005). Flavour formation by lactic acid bacteria and biochemical flavour profiling of cheese products. *FEMS. Microbiol. Rev.* 29: 591-610.
- ✓ Gevers D. (2002). Tetracycline resistance in lactic acid bacteria isolated from fermented dry sauvagers. *These Doc. Univ. Gent. Fac. Sci. Gent. Belgium.*
- ✓ Ghazi F, Hienni DE, Benmchernene Z, Kihal M. (2009). Phenotypic and Whole Cell Protein Analysis by SDS-PAGE for identification of Dominants Lactic Acid Bacteria Isolated from Algerian Raw Milk. *World Journal of Dairy & Food Sciences* 4 (1): 78-87.
- ✓ Giraffa, (2003) G. Functionality of enterococci in dairy products. *Int.J.Food Microbiol*, 88: 215–222.
- ✓ Gomes A.M.P. and Xavier Malcata F., 1998. Development of probiotic cheese manufactured from goat milk: response surface analysis *via* technological manipulation. *J.Dairy Sci.*, 81: 1992-1507.
- ✓ Guessas B., Hadadji M., Saidi N. and Kihal M., 2006. Inhibition of *Staphylococcus aureus* Growth by Lactic Acid Bacteria in Milk. *Dirasat, Agruicultural Sci.* 32: 3, 304-312.
- ✓ Guiraud JP. (1998). *Microbiologie alimentaire*. 1e Ed. Dunod, Paris, 136-144.
- ✓ Guiraud, JP. (2003). *Microbiologie alimentaire*. Dunod-RIA., 696.
- ✓ Guiraud, JP and Rosec, JP. (2004). *Pratique des normes en microbiologie alimentaire*. Ed, Afnor. P :238-241.
- ✓ Haddie J.M., 1986. Other streptococci. *In: Bergey's manual of systematic bacteriology* (Sneath P.H.A., Mair N.S., Sharpe M.E., Holt J.G.W. et Baltimore W.). 1: 1070.
- ✓ Halami P.M., Chandrashekar A. and Nand K., (2000). *Lactobacillus farciminis* MD, a newer train with potential for bacteriocin and antibiotic assay. *Letters of applied Microbiology.* 30, 197-202.

- ✓ Kihal M, Prevost H, Lhotte ME, Huang DQ, Diviès C. (1996). Instability of plasmid encoded citrate permease in *Leuconostoc*. *J. Appl. Microbiol.* 22, 219-223.
- ✓ Klaenhammer T.R., Azcarate-Peril M.A., Altermann E. and Barrangou R., 2007. The influence of dairy environment on gene expression and substrate utilization in lactic acid bacteria. *The Journal of Nutrition Effects of Probiotics and Prebiotics*, 137: 748S-750S.
- ✓ Kein G., Pack A.C., Wagner U., Heisig P., Milatovic D., Verhoef J., Scheuring S., Kohrer K. and Schmitz F.J., (1999). Association of alteration in ParC and GyrA proteins with resistance of clinical isolates of *Enterococcus faecium* to nine different fluoroquinolones. *Antimicrob. Agents Chemother.* 43, 2513-2516.
- ✓ Klein G, Pack A, Bonaparte C, Reuter G. (1998). Taxonomy and physiology of probiotic lactic acid bacteria. *International Journal of food Microbiology* vol 41: 103-125.
- ✓ Kushiro A, Christian C., Stephanie C., Audrey P., Sophie L., David O., Masaharu O., Ariane V., (2009). Antimicrobial susceptibility testing of lactic acid and bifidobacterial by broth microdilution method and E-test. *International Journal of Food Microbiology.* 132, 54-58.
- ✓ Krieg NR. (2001). The Archaea and the deeply branching and phototrophic bacteria- Identification of procaryotes. In *Bergey's Manual of systematic Bacteriology*. Garrity GM., Boone DR., Castenholz R. W. Williams and Wilkins, Baltimore. 721, 33 -38.
- ✓ Labaoui H, Elmoualdi L, El yahiaoui M et Ouhssine M. (2005). Sélection de souches des bactéries lactiques antibacterienne. *Bal doc Dparm. Bordeaux*, 144, 237-250.
- ✓ Lafarge V., Ogier J.C., Girard V., Maladen V., Leveau J.Y., Gruss A. and Delacroix- Buchet A., 2004. Raw cow milk bacterial population shifts attributable to refrigeration. *Applied and Environmental Microbiology.* 70, 5644-5650.
- ✓ Lane C.N. and Fox P.F., 1996. Contribution of starter and adjunct lactobacilli to proteolysis in Cheddar cheese during ripening. *International Dairy Journal.* 6, 7, 715-728.
- ✓ Larpent J.P., 1997. *Microbiologie alimentaire. Tec & doc, Lavoisier.* Paris. 10-72.
- ✓ Law J. and Haandrikman A., 1997. Proteolytic enzymes of lactic acid bacteria. *Int. Dairy J.* 7 : 1-11.
- ✓ Leclerc H., Gaillard F.L. et Simonet M., 1994. Les grands groupes de bactéries. *In : Microbiologie générale : la bactérie et le monde microbien. DOIN.* Paris. 445.
- ✓ Leveau JY, Boiux M et De Roissart HB. (1993). La flore lactique : technique d'analyse et de contrôle dans les industries agro-alimentaires. 2e Ed., Tec & Doc. Lavoisier. Paris. 3, 2-40.
- ✓ Lee, D.R., Molskness, T.A., Sandine, W.E. and Elliker, P.R. (1973). Carbohydrate metabolism in lactic streptococci: fate of galactose s.
- ✓ Limsowtin GKY, Powell IB, Porente E. (2004). Type of starters. In: Cogan, T., Accolas, JP (Eds.), *Dairy starters cultures.* VCH publishers, Inc. New York. 101-129.
- ✓ Lopez-Lopez, A., Garcia-Garcia, P., Duran-Quintana, M.C. and Garrido-Fernandez, A. (2004). Physicochemical and Microbiological Profile of Packed Table Olives. *Journal of Food Protection*, 67 (10), pp: 2320-2325.

- ✓ 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.
- ✓ Ludwig W, Schleifer K-H, Whitman W B. (2008). Bergey's taxonomic outlines-Revised Road Map to the Phylum Firmicutes.Vol.3. Disponible sur http://www.bergeys.org/outlines/Bergeys_Vol_3_Outline.pdf.
- ✓ Lynch C.M., MC Sweeney P.L.H., Fox P.F., Cogan T.M. and Drinan F.D., 1997. Contribution of starter lactococci and non-starter lactobacilli to proteolysis in Cheddar cheese with a controlled microflora. *Lait* 77, 441-459.
- ✓ Mahaut M., Jeantet R. et Brule G., 2000. Initiation à la technologie fromagère. *Tec & Doc Lavoisier*. 194p.
- ✓ Makhloufi K.M., 2011. Caractérisation d'une bactériocine produite par une bactérie lactique *Leuconostoc pseudomesenteroides* isolée du boza. *Thèse de Doctorat en Microbiologie, Biochimie*. Université Pierre et Marie Curie-Paris 6. France. 200p.
- ✓ Matamoros S., 2008. Caractérisation de bactéries lactiques psychrotrophes en vue de leur utilisation dans la biopréservation des aliments. Étude physiologique et moléculaire des mécanismes d'adaptation au froid. *Thèse de Doctorat en Microbiologie*. Université de Nantes. 189p.
- ✓ Mathur S. and R. Singh, 2005. *Antibiotic resistance in food lactic acid bacteria: a review International Journal of Food Microbiology*, 105,281-295.
- ✓ Mathot, A. G., Kihal, M., Prévost, H., et Diviés, C. (1994). Selective enumeration of *Leuconostoc* on Vancomycin Agar Medium. *International Daily Journal*. 4: 459-469.
- ✓ Maria E., Hans L., Johan O., Stefan R. (2010). Transferability of tetracycline resistance gene from probiotic *Lactobacillus reuteri* to bacteria in the gastrointestinal tract of humans. *Antonie van Leeuwenhoek*. 97, 189-200.
- ✓ Mayers, S.A., Cuppett, S.L. et Hutkins, R.W., 1996. Lipase production by lactic acid bacteria and activity on butter oil. *Food Microbiol*. 13 : 383–389.
- ✓ Mäyrä-Mäkinen A et Bigret M. (2004). Industrial use and production of lactic acid bacteria. *In: Lactic acid bacteria: microbiology and functional aspects* (Salminen S., Wright A.V. et Ouwehand A.). 3e Ed., Marcel Dekker, Inc. New York, 73-102.
- ✓ Metchnikoff E., 1907. Prolongation of life: Optimistic studies. *William Heinemann*, London. pp: 161-183.
- ✓ Mirtchyan H., Gibbons S., Heidelberger S., Zloh M. and Limaki H.K., 2010. Purification, characterization and identification of acidocin LCHV, an antimicrobial peptide produced by *Lactobacillus acidophilus* n.v. Er 317/402 strain narine. *Int.J. Antimicrobial Agents*, 35: 255-260.
- ✓ Molskness, T.A., Lee, D.R., Sandine, W.E. and Ellike, P.R. (1973). β - phosphogalactoside galactohydrolase of lactic streptococci. *Journal of Applied Microbiology*, 25, pp: 373-380.

- ✓ Monnet V, Latrille E, Béal C et Corrieu G. (2008). Croissance et propriétés fonctionnelles des bactéries lactiques. *In* : Bactéries lactiques de la génétique aux ferments (Corrieu G. et Luquet F.M.). Tec & Doc. Lavoisier. Paris, 512-592.
- ✓ Moussaoui, H. (2013). Protéolyse et autolyse de souches de lactobacilles d'origine laitier, l'étude de leur aptitude à hydrolyser les caséines et les protéines de poisson. Thèse de magister. Université d'Oran, 118p.
- ✓ Nayra S., Sharaf O.M., Ibrahim G.A. and Tawfik N.F., 2002. Incorporation and viability of some` probiotic bacteria in functional dairy food: I. Soft cheese. *Egyptian Journal of Dairy Science*, 30: 217-229.
- ✓ Ninane V., Mukandayambaje R. et Berben G., 2009. Probiotiques, aliments fonctionnels et kéfir : le point sur la situation règlementaire en Belgique et sur les avancées scientifiques en matière d'évaluation des effets santé du kéfir. *Biotechnol Agron Soc Environ*, 13(3) : 459–466.
- ✓ Noreen N., Yeng Hooi W., Baradaran A., Rosfarizan M., Sieo C., Rosli M., Yusoff K., Raha A.R., (2011). *Lactococcus lactis* M4, a potential host for the expression of heterologous proteins. *Microbial Cell Factories*, 10-28.
- ✓ Ogier J.C., Casalta E., Farrokh C. and Saihi A., 2008. Safety assessment of dairy microorganisms: The *Leuconostoc* genus. *Int. J. Food Microbiol.* 126 : 286-290.
- ✓ Ojha S. and Kostrzynska M., (2008). Examination of animal zoonotic pathogens using microarrays. *Vet Res.* 39, 4.
- ✓ OMS, 1979. Organisation Mondiale de la Santé.
- ✓ Orberg P.R., Sandine W.E. 1984. Common occurrence of p1asmid DNA and vancomycine resistance in *Leuconostoc* spp. *Appl. Environ. Microbiol.*, 48, 1129- 1133.
- ✓ Orla-Jensen S., 1919. The lactic acid bacteria. A.F. hostand son, Koenighichen Hof-Boghamdel, Copenhagen.
- ✓ Oliveira M.N., Sodini I., Remeuf F. and Corrieu G., 2001. Effect of milk supplementation and culture composition on acidification, textural properties and microbiological stability of fermented milks containing probiotic bacteria. *International Dairy Journal*, 11: 935-942.
- ✓ Pantip C., Ratri H., Natnicha I., Vee C., (2007). Species Distribution and Antimicrobial Susceptibility of *Enterococcus* in Hospitalized Patients in Southern Thailand. *J Infect Dis Antimicrob Agents.* 24, 49-54.
- ✓ Perreten V., Kollöffel B., Teuber M., (1997). Conjugal transfer of Tn916-like transposon TnF01 from *Enterococcus faecalis* isolated from cheese to other Gram-positive bacteria. *Systematic and Applied Microbiology.* 20, 27-38.
- ✓ Piard J.C. and Desmazeaud M.J., 1992. Inhibiting factors produced by lactic acid bacteria. 2. bacteriocins and other antimicrobial substances. *Le Lait.* 72, 113-142.

- ✓ Piard J.C., Muriana P.M., Desmazeaud M.J. and Klaenhammer T.R., 1992. Purification and Partial Characterization of Lacticin 481, a Lanthionine-Containing Bacteriocin Produced by *Lactococcus lactis* subsp. *Lactis* CNRZ 481. *Applied Environmental Microbiology*. 58, 1, 279-284.
- ✓ Pilet M.F., Magras C. et Federighi M., 2005. Bactéries lactiques. In : bactériologie alimentaire (Federighi M.). 2e Ed., *Economica*. Paris. 219-240.
- ✓ Pot B., Devriese L.A., Uris D., Vandamme P., Haesebrouck F. and Kersters K., 1996. Phenotypic identification and differentiation of *Lactococcus* strains isolated from animals. *Syst. Appl. Microbiol.* 19: 213-222.
- ✓ Pot B. (2005). The taxonomy of lactic acid bacteria. In : Bactéries lactiques de la génétique aux ferments (Corrieu G. et Luquet F.M.). Tec & Doc. Lavoisier. Paris, 13-18.
- ✓ Pot B. (2008). The taxonomy of lactic acid bacteria. In : Bactéries lactiques de la génétique aux ferments (Corrieu G. et Luquet F.M.). Tec & Doc. Lavoisier. Paris, 1-106.
- ✓ Prescott LM, JP Harley et DA Klein. (2003). Les bactéries lactiques : les Gram –positif pauvres en GC. Dans : microbiologie, 2eme éd. Française. Prescott, L.M., M-P-Harley, D.A. Klein (eds). De Book Université, Bruxelles, Belgique. 5A-535.
- ✓ Raha A.R., Ross E., Yusoff K., Manap M.Y., Ideris A., (2002). Characterisation and molecular cloning of an Biochemistry, Molecular Biology and Biophysics. 6, 7-11.
- ✓ RASRBA, (2011). Réseau Algérien de la Surveillance de la Résistance aux Antibiotiques, édition 2011.
- ✓ Raynaud S, Perrin R, Cocaign-Bousquet M et Loubière P. (2003). Metabolic and transcriptomic adaptation of *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar diacetylactis in response to auto acidification and temperature downshift in skim milk. *App. Env. Micobiol.* 71(12), 8016-8023.
- ✓ Renault, (2005). Génétique des bactéries lactiques. In : Bactéries lactiques de la génétique aux ferments (Corrieu G. et Luquet F.M.). Collect. Sciences et techniques agroalimentaires. Tec & Doc. Lavoisier. Paris, 155
- ✓ Rodriguez JM, Martínez MI, Horn N et Dodd HM. (2003). Heterologous production of bacteriocins by lactic acid bacteria. *Int. J. Food Microbiol.* 80, 101-116.
- ✓ Roudj S, Belkheir K, Zadi-Karam H et Karam NE. (2009). Protéolyse et autolyse chez deux lactobacilles isolés de lait camelin du Sud-Ouest Algérien. *European. J. Sci. Res.* 34 (2) : 218-227.
- ✓ Ruas-Madiedo, P., Hugenholtz, J., Zoon, P. (2002). An overview of the functionality of exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria. *International Dairy J.* vol. 12. n°2-3, p.163-171.
- ✓ Salyers A.A., Gupta A., Wang Y., (2004). Human intestinal bacteria as reservoirs for antibiotic resistance genes. *Trends Microbiol.* 12, 412-416.

- ✓ Samelis J., Maurogenakis F. and Metaxopoulos J., 1994. Characterisation of lactic acid bacteria isolated from naturally fermented Greek dry salami, *Inter. J. Food. Microbiol.*, 23, pp. 179-196.
- ✓ Sanchez JI, Martinez B, Guillen R, Jimenez DR et Rodriguez A. (2006). Culture conditions Determine the Balance between Two Different Exopolysaccharides Produced by *Lactobacillus pentosus* LPS 26. *App. Environm. Micro. Vol 72(12): 7495-7502.*
- ✓ Savijokie K., Ingmer, H. Varmanen, P, (2006). Proteolytic systems of lactic acid bacteria. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 71 : 394-406.
- ✓ Satura and Federighi (1998). In Essai d'optimisation de la production d'acide lactique sur lactosérum par *Streptococcus thermophilus*. Mémoire de magister. Option biochimie et microbiologie appliquées. Université M'Hmed Bougara -Boumerdés.
- ✓ Schleifer, K.H., Kraus, J., Dvorak, C., Kilpper-Bälz, R., Collins, M.D. and Fischer, W. (1985). Transfer of *Streptococcus lactis* and related Streptococci to the genus *Lactococcus* gen. nov. *Systematic and Applied Microbiology*, 6, pp: 183-195.
- ✓ Schleifer K.H., (1987). Recent changes in the taxonomy of lactic acid bacteria. *FEMS Microbiol. Letters.* 46 : 201-203.
- ✓ Schleifer, K. H. and Ludwig, W. (1995). Phylogenetic relationships of lactic acid bacteria, p. 7-18. In B. J. B. Wood and W. H. Holzapfel (eds.), the lactic acid bacteria, vol.2: The genera of lactic acid bacteria. Blackie Academic and Professional, Glasgow.
- ✓ Schleifer, K. and Ludwig, W. (1995). Phylogeny of the genus *Lactobacillus* and related genera. *Systematic and Applied Microbiology*, 18, pp: 461-467.
- ✓ Siegumfeldt H., Rechinger K.B. and 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.
- ✓ Siezen, R.J., 1999. Multi-domain, cell-envelope proteinases of lactic acid bacteria. *Antonie*
- ✓ Van Leeuwenhoek. 76(1-4), 139-155.
- ✓ Somkuti, G.A., and Steinberg, D.H. (1979a). Adaptability of *Streptococcus thermophilus* to lactose, glucose and galactose. *Journal of Food and Protection*, 11, pp: 885-887.
- ✓ Soomro A.H., Masud T. and Anwaar K., 2002. Role of lactic acid bacteria (LAB) in food preservation and human health. *Pakistan Journal of Nutrition*, 1(1): 20-24.
- ✓ Stackebrandt, E and GOEBEL, B M. (1994). Taxonomic note: A place for DNA-DNA reassociation and 16s rRNA sequence analysis in the present species definition in bacteriology. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 44, 846-849.
- ✓ Stiles ME and Holzapfel WH. (1997). Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy. *Int. J. Food Microbiol.* 36, 1-29.
- ✓ Streit F, Corrieu G et Béal C. (2007). Acidification improves cryotolerance of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* CF11. *J. Biotechnol.* 128, 659-667.

- ✓ Swenson J.M., Facklam R.R., Thornsberry C., (1990). Antimicrobial susceptibility of vancomycin-resistant *Leuconostoc*, *Pediococcus* and *Lactobacillus* species. *Antimicrobe. Agents Chemother.* 34, 543-549.
- ✓ Tailliez, P. (2001). Les bactéries lactiques, ces êtres vivants apparus il y a près de 3 milliards d'années. *Lait.* 81, 1-11.
- ✓ Tamime A.Y., 1990. Microbiology of starter cultures. In: Robinson, R. K. (Ed), *Dairy Microbiology*, vol. 2. *Elsevier, London.* pp. 131- 201.
- ✓ Tamime A.Y., 2002. Microbiology of starter cultures. In: *Dairy microbiology handbook* (Robinson R.K.). 3rd Ed., *John Wiley and Sons, Inc.*, New York. 261-366.
- ✓ Teixeira L.M., Carvalho M.G.S. and Facklam R.R., 1999. *Vagococcus*. In *Encyclopedia of Food Microbiology*. Robinson R.K. *Oxford, Elsevier.* 2215-2220.
- ✓ Temmerman R., Pot B., Huys G., Swings J., (2003). Identification and antibiotic susceptibility of bacterial isolates from probiotic products. *Int. J. Food Microbiol.* 81, 1-10.
- ✓ Teuber M., Meile L., Schwarz F., (1999). Acquired antibiotic resistance in lactic acid bacteria from food. *Antonie van Leeuwenhoek.* 76, 115-137.
- ✓ Terzaghi, B.E. and Sandine, W.E. (1975). Improved medium for lactic streptococci and their bacteriophages. *Journal of Applied Microbiology*, 29, 807-813.
- ✓ Thompson, J. (1979). Lactose metabolism in *Streptococcus lactis*: phosphorylation of galactose and glucose moieties in vivo. *Journal of Bacteriology*, 140, pp: 774-785.
- ✓ Tomich P.K., An F.Y. and Clewell D.B., (1980). Properties of erythromycin-inducible transposon Tn917 in *Streptococcus faecalis*. *J. Bacteriol.* 141, 1366-1374.
- ✓ Tosukhowong A., Nakayama J., Mizunoe Y., Sugimoto S., Fukuda D. and Sonomoto K., 2005. Reconstitution and function of *Tetragenococcus halophile* chaperonin 60 tetradecamer. *J. Biosci. Bioengin.* 99: 30-37.
- ✓ Tunneval G., & Ericson H., (1954). Sensitivity tests by disc method as a guide for chemotherapy. *Antibiotics and Chemotherapy.* 4(8), 886-893.
- ✓ Uehara S., Monden K., Nomoto K., Seno Y., Kariyama R. and Kumon H., 2006. A pilot study evaluating the safety and effectiveness of *Lactobacillus* vaginal suppositories in patients with recurrent urinary tract infection. *Int. J. Antimicrobial Agents*, 28: 30-34.
- ✓ Vandamme P, Pot B, Gillis M, DeVos P, Kersters K et Swings J. (1996). Polyphasic taxonomy, a consensus approach to bacterial systematic. *Microbiol. Rev.* 60: 407.
- ✓ Van den Berg, D. J. c., Robijn, G. W., Janssen, A. c., Giuseppin, M. L. F., Vreeker, R., Kamerling, J. P., Vliegthart, J. F. G., Ledebor A. M. and Verrips, C. T. (1995).
- ✓ Veuillermard J.C., 1986. Microbiologie des aliments. Evolution de l'activité protéolytique des bactéries lactiques. *Tec & Doc, Lavoisier.* Paris. 3 : 1-65.
- ✓ Vignola C.L., 2002. Science et technologie du lait, transformation du lait. *Presses internationales polytechnique*, Québec ; 608p.

- ✓ Wang H.H., Manuzon M., Lehman M., Wan K., Luo H., Ittum T.E., (2006). Food commensal microbiol. Lett. 254, 226-231.
- ✓ Welman, A.D., Maddox, I. S. (2003). Exopolysaccharides from lactic acid bacteria Perspectives and challenges. Trends in Biotechnology. Vol, 21: p. 269-274.
- ✓ World Health Organization Expert Committee on Biological Standardization. 1981. Technical report series 673 (Révision 1981). W.H.O., Geneva – p156-192. 2-
- ✓ World Health Organization Expert Committee on Biological Standardization. 1992. Technical report series 822. W.H.O., Geneva
- ✓ Xanthopoulos D, Petridis N, Tzanetakis. (2001). Characterization and Classification of *Streptococcus Thermophilus* and *Lactobacillus Delbruckii Subsp. Bulgaricus* Strains Isolated from Traditional Greek Yoyurts. Journal of Food Science. 1365-2621.
- ✓ Yamashita S.K., Louie M., Smor A.E., Rachlis A., (2000). Microbiological surveillance and parenteral antibiotic use in a critical care unit. Can J Infect Dis. 11, 107-111.
- ✓ Yazdanparast, A., C. J. Jackson, R. C. Barton, and E. G. Evans. 2003. Molecular strain typing of *Trichophyton rubrum* indicates multiple strain involvement in onychomycosis. Br. J. Dermatol. 148 : 51–54.
- ✓ Yvon M. (2006). Key enzymes for flavour formation by lactic acid bacteria. Australian Journal Dairy Technology. 61, 16-24.
- ✓ Zago M., Fornasari M. E., Carminati D., Burns P., Suarez V., Vinderola G., Reinheimer J., Giraffa G. 2011. Characterization and probiotic potential of *Lactobacillus plantarum* strains isolated from cheeses. *Food Microbiol.* 28 : 1033- 1040.
- ✓ Zhang H. and Cai Y., 2014. Lactic Acid Bacteria Fundamentals and Practice. *Springer Dordrecht Heidelberg*. New York London. 536p.
- ✓ Zourari A., Accolas J.P. and Desmazeaud M.J., 1992. Metabolism and biochemical characteristics of yogurt bacteria. *A review. Lait.* 72: 1-34.

Annexe I**Milieux de culture**

(Formule en g/l d'eau distillée)

Tous les milieux sont stérilisés par autoclavage à 121°C pendant 15 min

Milieu M17 en bouillon (pH = 7.1 ± 0.2) (Terzaghi and Sandine, 1975)

Peptone papinique de soja	5g
Peptone de viande	2.5g
Peptone de caséine	2.5g
Extrait de levure	2.5g
Extrait de viande	5.5g
Acide ascorbique	0.5g
Sodium β-glycérophosphate	19g
Sulfate de magnésium	0.25g
Eau distillée QSP	1000ml
Agar (pour milieu solide)	15g

Milieu Clark & Lubs (pH = 7.5 ± 0.2) (Clark and Lubs, 1917)

Peptone	5g
Glucose	5g
Hydrogenophosphate de potassium K ₂ HPO ₄	5g
Eau distillée QSP	1000ml

Milieu PCA (pH = 7.0 ± 0.2) (Buchbinder et al., 1951)

Tryptone	5g
Glucose	1g
Extrait de levure	2,5g
Agar	15g
Eau distillée QSP	1000ml

Annexes I**Milieu aux triglycérides (pH = 6.5)**

Peptone	5g
Extrait de levure	3g
Triglycérides	10ml
Agar	15g
Eau distillée QSP	1000ml

Milieu Mueller-Hinton (MH) (pH = 7,4 ± 0,2) (W.H.O, 1981 et 1992)

Milieu MH déshydraté	35g	
Composé de	Peptones	3g
	Hydrolysate de caséine	17,5g
	Agar	15g
	Ca ²⁺	20 - 25 mg/L
	Mg ²⁺	10 - 12,5 mg/L
Eau distillée QSP	1000ml	

Lait écrémé reconstitué à 10%

Poudre de lait à 0% (M.G)	100g
Eau distillée QSP	1000ml

Eau physiologique à 0.9%

NaCl	9g
Eau distillée QSP	1000ml

Annexe II

Coloration de Gram (Guiraud, 2003).

La coloration de Gram a été réalisée selon la technique suivante :

- Sur une lame, fixer une infime quantité d'une colonie sur une goutte d'eau distillée par la chaleur ;
- Recouvrir la lame avec la solution de violet de gentiane pendant une minute ;
- Ajouter du Lugol pendant 30 secondes ;
- Décolorer avec de l'alcool 95°, puis rincer à l'eau ;
- Faire une contre coloration en utilisant la Fuschine et laisser agir 30 secondes ;
- Laver à l'eau ;
- Après séchage, soumettre la lame à une observation microscopique à l'objectif (x100).

Les bactéries à Gram positif apparaissent en violet et les bactéries à Gram négatif en rose.

Annexe III

Tableau 14. Abaques de référence contenant les valeurs critiques pour chaque antibiotique (CA-SFM, 2012)

Antibiotiques	Charge du disque	Concentrations critiques (mg/L)		Diamètres critiques (mm)	
		S	R	S	R
PENICILLINES					
Oxacilline	1 µg	≤ 0.25	> 2	≥ 29	< 18
Pénicilline G	6 µg	≤ 0.25	> 2	≥ 29	< 18
Ampicilline	10 µg	≤ 2	> 8	≥ 21	< 16
Amoxicilline	25 µg	≤ 2	> 8	≥ 23	< 16
Amoxicilline/ac.clavulanique	20/10 µg	≤ 2/2	> 8/2	≥ 23	< 16
CEPHALOSPORINES					
Céfalotine	30 µg	≤ 8	> 32	≥ 18	< 12
Céfoxitine	30 µg	≤ 8	> 32	≥ 22	< 15
Céfotaxime	30 µg	≤ 1	> 2	≥ 26	< 23
AMINOSIDES					
Streptomycine	10 UI	≤ 8	> 16	≥ 15	< 13
Gentamicine	15 µg	≤ 2	> 4	≥ 18	< 16
Néomycine	30 µg	≤ 2	> 4	≥ 21	< 19
Kanamycine	30 UI	≤ 8	> 16	≥ 17	< 15
PHENICOLES					
Chloramphénicol	30 µg	≤ 8	> 16	≥ 23	< 19
TETRACYCLINES					
Tétracycline	30 UI	≤ 4	> 8	≥ 19	< 17
MACROLIDES					
Erythromycine	15 UI	≤ 1	> 4	≥ 22	< 17
Spiramycine	100 µg	≤ 1	> 4	≥ 24	< 19
LINCOSAMIDES					
Lincomycine	15 µg	≤ 2	> 8	≥ 21	< 17
Clindamycine	2 UI	≤ 2	> 2	≥ 15	< 15
STREPTOGRAMINES					
Pristinamycine	15 µg	≤ 1	> 2	≥ 22	< 19
GLYCOPEPTIDES					
Vancomycine	30 µg	≤ 4	> 8	≥ 17	-
POLYPEPTIDES					
Bacitracine	130 µg	≤ 2	> 2	≥ 15	< 15
Colistine	50 µg	≤ 2	> 2	≥ 15	< 15
SULFAMIDES-TRIMETHOPRIME					
Triméthoprim/sulfaméthoxazole	1.25/23.75 µg	≤ 2/38	> 8/152	≥ 16	< 10
NITROFURANES					
Nitrofurane	300 µg	≤ 64	> 64	≥ 15	< 15
QUINOLONES					
Fluméquine	30 µg	≤ 4	> 8	≥ 25	< 21
FLUOROQUINOLONES					
Ciprofloxacine	5 µg	≤ 0.5	> 1	≥ 25	< 22
DIVERS					
Rifampicine	5 µg	≤ 2	-	≥ 19	-

Annexe III

Les valeurs critiques sont prédéfinies par le CA-EFM comme suit :

- 1) Les concentrations critiques sont des concentrations sériques obtenues et définies sur des individus testés sains en bonne santé, ces individus pouvant être des souris d'expériences de laboratoire et/ou des humains en leurs injectant par voie parentérale des concentrations d'antibiotiques à testés, il en découle les valeurs suivantes :
 - Haute concentration (C) : la concentration maximale pouvant être supportée par ces individus jusqu'au seuil où elles peuvent devenir létale ;
 - Basse concentration (c) : la plus petite concentration pouvant provoquer la mort de ces individus.
- 2) Les diamètres critiques sont mis au point suite à plusieurs centaines de tests réalisés sur des milliers d'isolats sauvages ayant une résistance naturelle (intrinsèques) aux antibiotiques et des souches de références présentant des résistances intrinsèques aux antibiotiques définie génétiquement, ils sont déterminés par diffusion sur gélose et/ou par E-test (malgré que ce test soit un peu coûteux et très peu utilisé). Ces diamètres critiques sont relatifs aux concentrations critiques.
 - Grand diamètre (D) : diamètre d'action relatif à la concentration maximale (C) ;
 - Petit diamètre (d) : diamètre d'action relatif à la concentration minimale (c).

Après avoir défini ces valeurs critiques, elles sont disposées dans des abaques afin de faciliter leurs utilisations comme valeurs de références pour la lecture d'un antibiogramme donné.

Et sur la base de ces valeurs critiques en peu classé et catégorisé n'importe quelle souche faisant objet d'étude comme étant résistante (R), intermédiaire (I) ou sensible (S).

Résumé

Afin d'apprécier et de donner une identité technologique aux bactéries lactiques, 06 souches lactiques 03 du genre *Lactococcus* et 03 du genre *Leuconostoc*, issue du J'ben de chèvre de la région de Naâma, préparé de façon artisanale ont fait l'objet d'étude de quelques aptitudes technologiques.

L'examen des aptitudes technologiques visées a révélé que 03 souches seulement sur les 06 souches étudiées étaient capables de produire de l'acétoïne, les 06 souches avaient une importante activité protéolytiques avec 03 souches très performantes présentant une protéolyse dans les normes, absence totale de l'activité lipolytique pour toutes les souches étudiées alors que leurs activités acidifiantes étaient appréciable marquant une corrélation entre l'acidification du milieu par la baisse du pH et la production de l'acide lactique par la hausse de l'acidité Dornic et le test de sensibilité aux antibiotiques a permis de les catégorisées en souches résistantes (R) aux antibiotiques, d'une sensibilité intermédiaire aux antibiotiques (I) et sensibles (S) aux antibiotiques. Toutes les souches ont montré une importante résistance à 10 antibiotiques, une importante sensibilité envers 7 antibiotiques et une variance de sensibilité intermédiaire à 5 antibiotiques.

Cette catégorisation nous a permis de définir la probabilité d'utilisation future de ces bactéries comme probiotiques ou ferment au sein de la production fromagère.

Mots clés : J'ben de chèvre, souches lactiques, aptitudes technologiques, genre *Lactococcus*, genre *Leuconostoc*, antibiotiques.

Abstract

In order to appreciate and give a technological identity to the lactic acid bacteria, 06 lactic strains 03 of the genus *Lactococcus* and 03 of the genus *Leuconostoc*, outcome from the goat cheese of the region of Naâma, prepared in an artisanal manner were the subject of study of some technological skills.

The examination of the technological aptitude abilities revealed that only 03 strains of the 06 strains studied were able to produce acetoin, the 06 strains had a high proteolytic activity with 03 high-performance strains presenting a proteolysis in the standards, a total absence of lipolytic activity for all the strains studied while their acidifying activities were appreciable marking a correlation between the acidification of the medium by the drop in pH and the production of lactic acid by the increase of the acidity Dornic and the test of Antibiotic susceptibility made it possible to categorize them into antibiotic resistant (R) strains, antibiotic intermediate sensitivity (I) and antibiotic sensitivity (S). All strains showed high resistance to 10 antibiotics, a high sensitivity to 7 antibiotics and a variance of intermediate sensitivity to 5 antibiotics.

This categorization allowed us to define the probability of future use of these bacteria as probiotics or ferment within the cheese production.

Key words: Goat's goat, lactic acid strains, technological aptitude, genus *Lactococcus*, genus *Leuconostoc*, antibiotics.

ملخص

من أجل تعزيز وإعطاء هوية تكنولوجية لبكتيريا لبنية، 06 سلالات لبنية 03 منها من جنس *Lactococcus* و03 أخرى من جنس *Leuconostoc* مستخلصة من جبن المعز من منطقة النعام، والمحضر بطريقة تقليدية استهدفت لدراسة بعض القدرات التكنولوجية.

فحص قدراتهم التكنولوجية المشار إليها تكشف لنا على أن 03 سلالات فقط من 06 سلالات مختبرة كانت قادرة على إنتاج الـ Acétoïne ، و أظهرت السلالات الـ 06 المدروسة نشاطا بروتيني هام مع 03 منها ذات فعالية هامة في حدود المعايير المعمول بها، لوحظ لذا هذه السلالات الـ 06 المدروسة غياب تام للنشاط الليبي بينما نشاطها الحمضي جد ملحوظ حيث أنها سجلت علاقة عكسية بين انخفاض نسبة الحموضة (pH) في الوسط و ارتفاع درجة الحموضة عن طريق إنتاج الحمض اللبني، أما تعريضها لاختبار الحساسية للمضادات الحيوية مكننا من تصنيفها الى 03 أقسام : السلالات المقاومة للمضادات الحيوية (R)، متوسطة الحساسية للمضادات الحيوية (I) وحساس للمضادات الحيوية (S).

وبهذا التصنيف يمكننا تحديد احتمالية استخدامها مستقبلا كمؤيد حيوي (probabilité) أو خميرة في الإنتاج الجبني.

الكلمات المفتاحية: جبن المعز، بكتيريا لبنية، القدرات التكنولوجية، جنس *Lactococcus*، جنس *Leuconostoc*، المضادات الحيوية.