

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



DEPARTEMENT DE BILOGIE

N° ...../SNV/2017

## MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par

**Ayed soumia**

Pour l'obtention du diplôme de

### **MASTER II EN BIOLOGIE**

**Spécialité : BIOEXPLOITATION DES ECOSYSTEMES MICROBIENS  
LACTIERS**

THÈME

Soutenu publiquement le **09/07/2017**

DEVANT LE JURY

Président	<b>Rachidfi nadra</b>
Encadreur	<b>Henni nassiba</b>
Examineur	<b>Benkadda ahmed</b>

*Thème réalisé au Laboratoire pédagogique de microbiologie au niveau de l'université de  
Mostaganem*

# Remerciements



*Au terme de ce travail*

*Tout d'abord Je tiens à remercier Allah*

*Mes remerciements les plus sincères à mes chers parents*

*Mes vifs remerciements et profonde gratitude à mon encadrante Henni Nassiba  
pour sa disponibilité durant l'évolution de ce travail*

*Je remercie infiniment Mme Rachidi Nadra et Mr Benkada Ahmed d'avoir accepté  
de juré ce mémoire*

*Je tiens à exprimer une profonde reconnaissance aux membres du laboratoire de  
l'université de Mostaganem surtout Mr Benbouziane Djilali pour son aide et sa  
générosité*

*J'adresse des chaleureux remerciements à tous mes enseignants de département de  
Biologie durant ce master II*

*Merci à Mr Chiriguen et Mr Hamrani*

*Ces remerciements ne seraient pas complets sans une pensée aux collègues qui ont  
été un secours pour ce mémoire*

*A toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*

*Merci ..... Mille fois Merci..*





Les bactéries lactiques ont acquis une grande importance par leur présence dans l'industrie agro-alimentaire et ce depuis longtemps. Elles assurent des caractéristiques particulières telles que l'arôme, la texture et une bonne sécurité alimentaire grâce aux acides organiques produits qui abaissent le pH dans le milieu.

Dans ce cadre, notre étude a été portée sur 03 échantillons de lait cru de vache traité provenant de la ferme de Hassi mamèche wilaya de Mostaganem, après isolement et purification ; 10 souches sont révélées appartenir au groupe des bactéries lactiques. L'identification phénotypique ; biochimiques et physiologique (type fermentaire, croissance en présence de NaCl : 6,5 %, croissance à pH 9 aussi les tests de croissance des différentes températures : 4°C, 37°C et 42°C, l'étude de la thermorésistance, le test de croissance en milieu « lait de sharman », test d'ADH, production d'acétoïne, le test d'esculine et à la fin la fermentation des sucres dans un but d'identifier et classer ces souches au niveau de leur genre et espèce.

Les résultats d'identification obtenus nous ont permis d'identifier : 50% *Lactobacille* avec 5 espèces du genre : *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus casei* *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus acidophilus*. Avec un pourcentage de 20% On a identifié 2 sous espèces du genre *Lactococcus lactis subsp. Lacti*, et *Lactococcus lactis ssp diacetylactis*.

Pour le L'*Enterococcus* on a pu identifier comme espèce du genre *Enterococcus faecium* avec un pourcentage de 10% et comme sous espèce de genre *Leuconostoc mesenteroides subsp. Mesenteroides* 10% et 10 % de *Pediococcus halophilus*

---

**Mots clés :** Lait cru de vache, Bactéries lactiques, mésophiles thermophile tests physicochimiques, Test Phénotypiques, Biochimiques et Physiologique.

---



# *Abstract*

---

Lactic acid bacteria have gained great importance by their presence in the agro-food industry for a long time. They provide special characteristics such as aroma, texture and food safety thanks to the organic acids produced that lower the pH in the medium.

In this framework, our study was carried out on 03 samples of raw milk from treated cow coming from the farm of Hassi mamèche wilaya of Mostaganem, after isolation and purification; 10 strains are found to belong to the group of lactic bacteria. Phenotypic identification; Biochemical and physiological studies (fermentation type, growth in the presence of NaCl: 6.5%, growth at pH 9 also the growth tests of the different temperatures: 4 ° C., 37 ° C. and 42 ° C., Growth test in sharman milk, DHA test, acetine production, esculin test and, at the end, fermentation of sugars in order to identify and classify these strains at the level of their genus And species.

The identification results obtained allowed us to identify: 50% Lactobacillus with 5 species of the genus: Lactobacillus plantarum, Lactobacillus casei Lactobacillus fermentum, Lactobacillus rhamnosus, Lactobacillus acidophilus. With a percentage of 20% Two subspecies of the genus Lactococcus lactis subsp. Lacti, and Lactococcus lactis ssp diacetylactis.

For Enterococcus it was possible to identify as a species of the genus Enterococcus faecium with a percentage of 10% and as sub-species of genus Leuconostoc mesenteroides subsp. Mesenteroides 10% and 10% of Pediococcus halophilus

**Key words:** Cow raw milk, lactic bacteria, thermophilic mesophilic physicochemical tests, Phenotypic, biochemical and physiological tests.

---

# Table des matières

Liste des tableaux .....	I
Liste des figures .....	II
Glossaires des abréviations utilisées .....	III
Résumé .....	V
Abstract .....	IV
Introduction générale .....	1

## Partie I : Etude Biobibliographique

### Volet 1 : Généralités sur le lait et les produits laitiers

Définitions du lait .....	6
1.2 Composition du lait.....	6
1.2.1 L'eau.....	6
1.2.2 Matière grasse .....	6
1.2.3 Matière azotée.....	7
1.2.4 Les glucides .....	7
1.2.5 Matière minérale.....	8
1.2.6 Biocatalyseurs.....	9
1.2.6.1 Enzymes.....	9
1.2.6.2 Vitamines .....	10
1.3.1 Facteurs intrinsèques.....	11
1.3.1.1 Facteurs génétiques.....	12
1.3.1.3 Age et nombre de vêlage .....	13
1.3.1.4 Etat sanitaire.....	13
1.3.2 Facteurs extrinsèques.....	13
1.3.2.1 Alimentation.....	13
1.3.2.2 Saison et climat.....	13
1.4 Quelques caractéristiques physico-chimiques du lait.....	14
1.4.1 La densité.....	14
1.4.2 L'acidité de titration ou acidité Dornic.....	14
1.4.3 Le point de congélation .....	14
1.4.4 Le pH.....	14
2. MICROBIOLOGIE DU LAIT CRU.....	14
2.1 Flore originelle .....	15
2.2 Flore de contamination.....	16
2.2.1 Contaminations du lait cru au stade de la production .....	17
2.2.1.1 Contamination par l'animal.....	18
2.2.1.2 Contamination au cours de la traite.....	18
2.2.1.3 Contamination au cours du transport .....	18
2.3 Principales activités microbiennes dans le lait .....	18
2.3.1 Fermentation homolactique et hétérolactique avec acidification du lait.....	19

2.3.2 Protéolyse .....	19
2.3. 3 Lipolyse .....	20
2.5 Contrôle bactériologique du lait cru.....	20
2.5.1 Flore mésophile aérobie totale .....	20
2.6 Altération du lait.....	21
2.6.1 Phase de latence (bactériostatique) .....	21
2.6.2 Phase d'acidification .....	21
2.6.3 Phase de neutralisation.....	22
2.6.4 Phase d'alcalinisation.....	22
3. HYGIENE DE LA TRAITE .....	22
3.1 Trayeur .....	22
3.2 Animal.....	22
3. CONSERVATION DU LAIT A LA FERME.....	24
4. PRODUITS LAITIERS .....	25
4.1 Crèmes de consommation.....	26
4.2 Crèmes glacées, glaces et sorbets.....	26
4.3 Beurre (industrie beurrière).....	26
4.4 Fromage (industrie fromagère) .....	27
5.2. Raïb.....	28
5.3. Bouhezza.....	28
5.4. Klila.....	28
5.5. Takammart.....	28
5.6. Aoules.....	28
5.7. Lebaa .....	28
5.8. Méchouna.....	29
5.9.Madghissa.....	29
5.10. kémaria .....	29
5.11. J'ben (Fromages frais traditionnel).....	29
6. Fausses idées et rumeurs sur la consommation de lait.....	29

## Volet 2 : Généralités sur les bactéries lactiques

1. Bactéries lactiques.....	32
1.1 Définition.....	32
1.2 Origine.....	32
1.3 Taxonomie.....	32
2. Caractéristiques des principaux genres des bactéries lactiques.....	33
2.1 Le genre <i>Lactobacillus</i> .....	33
2.2 Le genre <i>Lactococcus</i> .....	34
2.3 Le genre <i>Streptococcus</i> .....	34
2.4 Les genres <i>Leuconostoc</i> , <i>Oenococcus</i> et <i>Weissella</i> .....	34
2.5 Le genre <i>Enterococcus</i> .....	34
2.6 Les genres <i>Pediococcus</i> et <i>Tetragenococcus</i> .....	34
2.7 Le genre <i>Bifidobacterium</i> .....	35
2.8 Le genre <i>Aerococcus</i> .....	35
2.9 Le genre <i>Carnobacterium</i> .....	35
2.10 Le genre <i>Vagococcus</i> .....	35
3. Physiologie et voies métaboliques centrales des bactéries lactiques .....	36
3.1 Transport des sucres .....	36

3.1.2 Le Système PTS .....	37
3.2 Catabolisme des sucres.....	38
3.2.1 Les voies du métabolisme des sucres chez les BL .....	39
3.2.1.1 Voie homofermentaire ou EMP .....	39
3.2.1.2 Voie hétérofermentaire ou voie des pentoses phosph.....	39
3.2.2 Métabolisme du lactose .....	42
3.5 Métabolisme de l'oxygène .....	42
3.6 Influence des cations .....	42
3.5 Métabolisme de l'oxygène .....	43
3.6 Influence des cations .....	44
4. Applications industrielles des bactéries lactiques.....	46
4.1 Domaine alimentaire .....	
4.1.1 Rôle sur la structure, la texture et les caractéristiques organoleptiques .....	46
4.3 En chimie .....	47
5.2.7 La prévention du cancer du côlon et autres cancers.....	47
5.3 La sélection des probiotiques.....	47

## Partie II : Expérimentale

1. Matériel et méthodes .....	58
1.1 Lieu et période de travail .....	58
1.2 Provenance des échantillon.....	58
1.3 Analyses Physicochimique du lait avec le « Lactocan ».....	58
1.4 Préparation des échantillons.....	60
1.6 Conditions de culture et conservation des bactéries.....	61
1.6.1 Milieux de culture.....	61
1.6.2 Conditions de culture.....	62
1.6.3 Conservation des souches.....	62
1.7 Identification des isolats .....	63
1.8 Caractérisation phénotypique des souches.....	63
1.8.1 Étude morphologique.....	63
1.9 Étude physiologique et biochimique.....	64
1.9.1 Recherche de la catalase (Marchal <i>et al.</i> , 1991).....	64
1.9.2 Test de la Thermorésistance.....	65
1.9.3 Croissance à différentes températures.....	65
1.9.4 Tolérance au pH acide et alcalin.....	65
1.9.7 Recherche de la production de gaz à partir du glucose (type fermentaire).....	65
1.9.8 Le lait de Sherman.....	66
1.9.9 L'hydrolyse de l'esculine.....	66
1.9.10 La production d'acétoïne.....	66
1.9.11 Test de fermentation des sucres .....	66
1.9.12 Recherche de l'Arginine dihydrolase (ADH).....	67

## Résultats et Discussions

2.Résultats.....	68
2.1 Les resultants de l'analyse physico-chimique .....	68
2.3Isolement et purification.....	68
2.3 Pré-identification des souches.....	69
1.3.1 Caractérisation phénotypique des souches.....	69
1.3.1.1.Étude morphologiques .....	69
2.4.1 Test milieu hostile ( % NaCl ).....	73
2.4.2 Croissance à des différentes températures et la thermorésistante.....	74
2.4.3 Tolérance au pH acide et alcalin.....	79
2.4.5 Teste d'acétoïne .....	81
2.4.6 Le test du type fermentaire.....	82
2.4.7 L'hydrolyse de l'esculine.....	83
2.4.6 Recherche de l'Arginine dihydrolase (ADH).....	84
2.4.7 Profil fermentaire.....	88
2.5 Pré identification des souches lactiques isolées a partir du lait de vache.....	89
3.Discussion .....	94
Conclusion	
Références bibliographiques	
Annexes	

# Liste des figures

<b>Figure 1 :</b> Schémas simplifié du réflexe neuro-humoral provoquant l'éjection du lait. [Whittlestone, 1968].....	23
<b>Figure 2 :</b> La lactogénèse simplifiée des composants principaux. [Debry,2001].....	23
<b>Figure 3 :</b> Système perméase (Reynaud, 2006).....	37
<b>Figure 4 :</b> Système PTS (Reynaud, 2006).....	38
<b>Figure 5 :</b> Les principales voies métaboliques chez les bactéries lactiques. (Cathy et Coste, 1994).....	40
<b>Figure 6 :</b> Transport du lactose et du galactose chez les bactéries lactiques (Guetarni, 2013).....	41
<b>Figure 7 :</b> réactions impliquant l'oxygène moléculaire ou des métabolites de l'oxygène, catalysées par des enzymes des bactéries lactiques (Desmazeaud, 1992).....	43
<b>Figure 8 :</b> Lignes directrices pour l'évaluation des probiotiques en vue d'une utilisation alimentaire (Izquierdo Alegre, 2009).....	56
<b>Figure 9:</b> Prélèvement des échantillons du lait à partir des vaches de la ferme de Hassi mamèche de la region de Mostaganem.....	58
<b>Figure 10 :</b> Le Lactoscan l'analyseur chimique moderne.....	59
<b>Figure 11 :</b> Schéma résumant la méthode utilisée pour l'isolement et la purification des souches.....	61
<b>Figure12:</b> Schéma de conservation courte durée des bactéries lactiques purifié.....	63
<b>Figure 13:</b> indique le schéma général de différenciation des genres appartenant aux bactéries lactiques (Carr et al., 2002).....	67
<b>Figure 14 :</b> Aspect de souche pure sur MRS et M17 liquide.....	73
<b>Figure 15:</b> aspect macroscopique des BL ensemencé sur milieuMRS apres isolement.....	74
<b>Figure 16:</b> Des colonies sur milieu MRS solide apres purification .....	76
<b>Figure 17 :</b> Bactéries Lactiques ensemencé sur milieu M17.....	77
<b>Figure 18 :</b> des colonies des bactéries lactiques sur MRS(en Profondeur).....	80
<b>Figure19:</b> Observations microscopiques des bactéries lactiques .....	84

<b>Figure 20</b> : La croissance et la réponse de quelques isolats aux tests de NaCl 6, 5 % et 4 % des milieux hypersalés.....	87
<b>Figure 21</b> : les résultats de la croissance des isolats sur lait de Sherman les tubes blancs indiquent une réaction positive.....	82
<b>Figure 22</b> : Résultats des tests de températures à 4°C 37°C et 42 °C.....	92
<b>Figure 23</b> : Résultats des tests de différents pH.....	79
<b>Figure 24</b> : Résultats positifs du test d'acétoïne sur milieu Clark et Lubs. (FIL, 1996) (Production d'acétoïne: apparition d'anneau rose à la surface).....	81
<b>Figure 25</b> : Résultat du test type fermentaire sur milieu stérile qui contient une cloche de Durham.....	82
<b>Figure 26</b> : Résultat de l'hydrolyse de l'esculine.....	83
Figure 27: Les résultats du test de l'ADH des souches BLh2,4,5.....	85
Figure28 : les résultats du test de l'ADH des souches BLh 1, 3, 6.....	85
Figure29 les résultats du test de l'ADH des souches BLH 7,8,9et10.....	86
<b>Figure 30</b> : Les Résultat du test ADH sur milieu liquide MRS BCP, ADH <sup>+</sup> en violet neutralisation de l'acidification par la production de NH <sub>3</sub> et ADH <sup>-</sup> en jaune acidification	
Figure 31 : Résultats "fermentation: Dextrine, Cellulose, Glucose et Galactose.....	89
Figure32 : Résultats de la fermentation 1. Saccharose 2. Mannitol 3 Glycerol.....	90
Figure 33: Résultats de la fermentation des sucres: Amidon,lactose et xylose.....	91
Figure 34 Résultat du Profil fermentaire des isolats des bacteries lactiques.....	91
<b>Figure 35</b> : Répartition des souches lactiques isolées a partir du lait de vache "Hassi mamech".....	93

# *Abréviations*

AFNOR : Association Française de Normalisation

ADH : Arginine Dihydrolase

CIPC : Commission Interprofessionnelle des Pratiques Contractuelles

CL : Clark et

DSA : Direction des Services Agricole

°D : degré Dornic

AFSSA Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments

Etablissement public français dont la mission principale est d'évaluer les Risques sanitaires et nutritionnels présentés par tous les aliments, qu'ils soient destinés à l'homme ou à l'animal, dans le but d'alerter les pouvoirs publics en cas de nécessité et plus largement d'informer le public.

NAD: Nicotinamide adénine dinucléotide.

TPI: Triose-phosphate isomérase.

EMP: EmbdenMeyerhoffParnas.

PTS: Système phosphotransférase PEP-dépendant.

FBA: Fructose 1-6 phosphate aldolase.

PEP: Phosphoénolpyruvate.

FAO : Food and Agriculture Organization of the United Nation

FIL : Fédération International de Laiterie

INRA : institut national de la recherche Agronomique

JORA : Journal Officiel République Algérienne

LDC : Lysine décarboxylase

MG : Matière Grasse

ONIL : Office National Interprofessionnel Du Lait - ONPG : Orthonitrophenyl <sup>2</sup> -D-galactopyranoside

TB : Taux butyreux

-TP : Taux protéique

UFC : Unité Formant Colonie

VP Voges-Proskauer

### 1.3.7 Profil fermentaire

La détermination des genres et des espèces bactériennes, réside essentiellement dans leur capacité à fermenter les sucres en acide lactique et autres acides organiques.

L'analyse des profils fermentaires (**Tableau 21 et figure 34**) révèle une grande diversité.

**Tableau 21:** Profil fermentaire des isolats des bacteries lactiques

Code des souches	Galactose	Glycerol	Dextrine	Amidon	Mannitol	Xylose	Cellulose	Sacharose	Glucose	Lactose	souche
BLH1	+	-	-	-	+	-	+	+	+	+	<i>Lactobacillus plantarum</i>
BLH2	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	<i>Lactobacillus casei</i>
BLH3	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	<i>Pédiococcus halophilus</i>
BLH4	-	+	+	-	+	-	+	+	+	+	<i>Lactococcus lactis diacétyl</i>
BLH5	-	+	+	+	-	-	+	-	+	+	<i>Lactobacillus fermentum</i>

<b>BLH6</b>	+	+	-	+	-	-	+	-	+	+	<i>Lactobacoccus lactis ssp lactis</i>
<b>BLH7</b>	+	+	+	+	-	-	+	-	+	+	<i>Lactobacillus rhamnosus</i>
<b>BLH8</b>	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	<i>Enterococcus faecium</i>
<b>BLH9</b>	+	+	+	-	+-	-	+	+	+	+	<i>Ln. mesenteroide s subsp. mesenteroide s</i>
<b>BLH10</b>	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	<i>Lactobacillus acidophilus</i>

# *Introduction*

L'Algérie est l'un des plus grands consommateurs de lait en Afrique avec une moyenne annuelle de 110 à 115 litres par habitant, créant ainsi une situation de dépendance vis-à-vis de l'étranger en matière d'approvisionnement en lait.

La recherche sur les bactéries lactiques, qui ont un rôle dominant dans la production de beaucoup de produits laitiers fermentés, a continué à avancer à une vitesse très impressionnante vers la fin du 20<sup>ème</sup> siècle, la capacité de manipuler et de contrôler ces microorganismes a atteint maintenant un niveau considérable (**Caplice et Fitzgerald, 1999**).

Depuis l'époque de Louis Pasteur et Robert Koch, il y a eu un besoin essentiel d'identification scientifique pour contrôler les micro-organismes de l'environnement.

Des efforts considérables ont été consacrés au cours de ces cinquante dernières années pour affermir la compréhension de la physiologie, de la biochimie et de la génétique des BL (**Collins et al., 1989; Berthier et Erlich., 1999; Bolotin et al., 2001; Bourel et al., 2001; Axelsson, 2004; Marroki et al., 2010 et Djadouni et Kihal., 2012**). Toutes ces recherches ont permis aux microbiologistes et aux industriels de choisir les meilleures souches et d'améliorer le rendement de la productivité, la qualité, et la sécurité des produits finis.

La caractérisation des BL a favorisé le développement de souches bactériennes définies, connues sous le nom de levains ou de culture starter. Elles remplacent de plus en plus les mélanges non définis traditionnellement employés en industrie laitière (**Crow et al., 1993; Desmazeaud et Cogan., 1996 et Fitzsimmons et al., 1999**).

Les ferments lactiques jouent un rôle technologique fondamental en transformation laitière et la recherche de nouvelles souches possédant des activités biologiques particulières sont en pleine expansion dans le secteur de l'industrie laitière (**Bredholt et al., 2001; Brillet et al., 2005; Drici et al., 2009 et Boumahira et al., 2011**).

La recherche sur les bactéries lactiques, qui ont un rôle dominant dans la production de beaucoup de produits fermentés, a continué à avancer à une vitesse très impressionnante vers le 20<sup>ème</sup> siècle, et la capacité de manipuler et de contrôler ces microorganismes a atteint maintenant un tel niveau (**Caplice et Fitzgerald, 1999**).

Les bactéries lactiques sont aujourd'hui employées sous forme de ferments concentrés dans les industries de fermentation, dont l'une des plus importantes est l'industrie laitière. L'isolement et la sélection des microorganismes de leurs milieux naturels sont parmi les

---

méthodes les plus employées par les microbiologistes pour l'obtention des cultures pures destinées à des fins scientifiques et/ou industrielles.

Dans cette étude, deux principaux objectifs sont réalisés :

- Le premier consiste en l'obtention d'un lot de souches de bactéries lactiques isolées à partir de lait de vache de la wilaya de Mostaganem . Les souches obtenues représentent une contribution de notre part dans l'acquisition d'un soucier qui fera par la suite l'objet d'études diverses au sein du laboratoire de microbiologie De Université de Mostaganem

- Le second a pour intérêt la mise en évidence des caractérisation phénotypiques biochimique des souches isolées du lait de vache destinées a la fabrication de plusieurs produits laitiers .

---

# *Chapitre 1*

---

## *Généralités sur les Bactéries lactiques*

---

## 1. Bactéries lactiques

### 1.1 Définition

Les bactéries lactiques ou bactéries de l'acide lactique sont des procaryotes, hétérotrophes et chimio-organotrophes, Gram positifs généralement immobiles, en formes de bâtonnet ou coque, jamais sporulées (asporulées), catalase négatives, oxydase négatives, généralement nitrate réductase négatives. Ce sont des bactéries anaérobies mais, aérotolérantes ne liquéfient pas la gélatine, ne produisent pas l'indole ni d'hydrogène sulfureux. Leur capacité de biosynthèse est faible, ce qui explique leur polyauxotrophie pour divers acides aminés, des bases nucléiques, des vitamines et des acides gras mais aussi leur métabolisme fermentaire, elles sont normalement dépourvues de cytochromes et en conséquence inaptées à toute respiration (Desmazeaud, 1983 ; Guiraud *et al.*, 2003 ).

Les bactéries lactiques ont un métabolisme fermentaire qui, en utilisant des glucides, produisent soit exclusivement de l'acide lactique (bactéries homolactiques strictes), soit de l'acide lactique et de l'acide acétique (bactéries hétérolactiques facultatives), soit de l'acide lactique, de l'acide acétique, de l'éthanol ou du CO<sub>2</sub> (bactéries hétérolactiques strictes) (Desmazeaud, 1992).

### 1.2 Origine

Les bactéries lactiques sont ubiquistes, et on les trouve dans différentes niches écologiques. Les espèces des genres *Streptococcus*, *Lactococcus*, ou *Leuconostoc* se rencontrent plutôt chez les hommes, les animaux, et les oiseaux. On peut les isoler de la peau des animaux, des matières fécales, mais aussi de l'ensilage, du foin ou des grains. Dans le domaine laitier, elles existent sur les ustensiles en quantité considérable. Certaines espèces des groupes sérologiques A et B peuvent être pathogènes, mais les autres sont plutôt saprophytes (Guiraud *et al.*, 2003).

Les espèces du genre *Lactobacillus* sont répandues dans la nature. On les trouve dans les végétaux où elles assurent l'acidification de l'ensilage. On les trouve aussi dans l'intestin des animaux et de l'homme, car *Lactobacillus acidophilus* résiste aux sels biliaires. On les isole également des cavités naturelles de l'organisme. *Lactobacillus acidophilus* entre dans la flore normale du vagin, où sa présence empêche l'invasion par *Candida albicans*. Les espèces du genre *Pediococcus* se rencontrent surtout sur les plantes (Hermier *et al.*, 1992).

### 1.3 Taxonomie

La plupart des études génétiques sur les bactéries lactiques concernent les streptocoques pathogènes (*Streptococcus pneumoniae* par exemple) et les souches utilisées dans l'industrie laitière. Depuis quelques années, des études se sont développées notamment sur *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* et *Streptococcus*. (De Vos, 1999 ; Hugenholtz et Kleerebezem, 1999).

Cependant, parmi les souches alimentaires, *Lactococcus lactis* est la bactérie la plus étudiée; elle est de ce fait considérée comme l'espèce modèle. *Lactococcus lactis* est divisé en

deux sous- espèces principales, *lactis* et *cremoris*, initialement séparées sur des bases phénotypiques (Davidson *et al.*, 1996), puis à l'aide de séquençage des gènes codant pour les ARN ribosomiques 16 S (Klinj *et al.*, 1991 ; Salama *et al.*, 1991).

Onze genres bactériens figurent dans la catégorie des bactéries lactiques: *Aerococcus*, *Alloicoccus*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus* et *Vagococcus*. A ces genres, a été ajouté récemment le genre *Bifidobacterium* (Kandler et Weiss, 1986 a ).

La composition de leur ADN permet de connaître l'homogénéité des espèces constituant ces genres (Tableau 1). Le pourcentage en base Guanine et Cytosine (GC %) de leur ADN montre une composition assez proche pour les genres *Streptococcus* (34-46 %), *Leuconostoc* (36-43 %) et *Pediococcus* (34-42 %) (Schleifer 1986, Farrow *et al.*, 1989). Par contre, le genre *Lactobacillus* est caractérisé par l'hétérogénéité de ses espèces : (32-53%) (Kandler et Weiss, 1986 a, b). Le GC des *Bifidobacterium* varie de 55 à 67 % (Scardovi, 1986).

**Tableau 8 :** Les différents genres de bactéries lactiques (Leveau et Bouix, 1993).

	Cellules		Fermentation	ADN : GC %
	Forme	Arrangement		
<i>Streptococcus</i>	coque	chaînes	homolactique	34-46
<i>Leuconostoc</i>	coque	chaînes	hétérolactique	36-43
<i>Pediococcus</i>	coque	tétrades	homolactique	34-42
<i>Lactobacillus</i>	bacille	chaînes	homolactique hétérolactique	32-53
<i>Bifidobacterium</i>	variée	variée	acétique et lactique	55-67

## 2. Caractéristiques des principaux genres des bactéries lactiques

### 2.1 Le genre *Lactobacillus*

*Lactobacillus* est le genre principal de la famille des Lactobacillaceae, il contient de nombreuses espèces qui sont des agents de fermentation lactique intervenant dans de nombreuses industries ou qui sont rencontrées comme contaminants. Il s'agit de bacilles longs et fins (parfois incurvés) 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 et Marth, 1990 ; Leclerc *et al.*, 1994 ).

## 2.2 Le genre *Lactococcus*

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

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, 2008).

## 2.3 Le genre *Streptococcus*

La seule espèce de streptocoques qui soit utilisée en technologie alimentaire est *Streptococcus thermophilus* (Stiles et 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).

## 2.4 Les genres *Leuconostoc*, *Oenococcus* et *Weissella*

Ils ressemblent les coques lenticulaires en paires ou en chaînettes mésophiles, qui possèdent un caractère hétérofermentaire marqué, avec production d'acide lactique (isomère D), de CO<sub>2</sub> et d'éthanol. Les caractéristiques telles que l'hydrolyse de l'esculine, la formation de dextrans, les conditions de croissance, la capacité à croître à différents pH et température, l'assimilation de citrate et/ou malate permettent la différenciation entre les genres *Leuconostoc* et *Weissella* (Pilet et al., 1998 ; Ho et al., 2007).

Le développement des leuconostoc entraîne souvent l'apparition d'une viscosité dans le milieu grâce à la production des exopolysaccharides. 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 CO<sub>2</sub>, des substances aromatiques telles que le diacétyl et l'acétoïne à partir des citrates du lait (Hassan et Frank, 2001 ; Guiraud, 2003).

## 2.5 Le genre *Enterococcus*

Ce genre regroupe les streptocoques fécaux. Ce sont des commensaux de l'intestin. Les espèces rencontrées dans l'alimentation sont essentiellement *En. faecalis* et les espèces proches. Les entérocoques sont des coques qui peuvent être mobiles, homofermentaires, généralement différenciés par la fermentation de l'arabinose et le sorbitol, ils croissent entre 10°C et 45°C (Tamime, 2002 ; Ho et al., 2007).

## **2.6 Les genres *Pediococcus* et *Tetragenococcus***

Les *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**).

## **2.7 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. .

Les bifidobactéries se caractérisent par leur forme très irrégulière souvent en forme V mais pouvant être coccoïdes, la présence d'une enzyme, le fructose - 6- phosphate phosphocétolase, celle-ci leur permet de fermenter les hexoses en produisant de l'acide acétique et de l'acide lactique. Leur température de croissance varie de 36°C à 43°C (**Axelsson et al., 2004 ; Pilet et al., 2005 ; Ho et al., 2007**).

## **2.8 Le genre *Aerococcus***

Les cellules de ce genre sont de forme ovoïde (1-2µm de diamètre), immobiles, anaérobies facultatifs, catalase-négative, oxydase négative, ± hémolytiques, homofermentaires, arginine(-), pouvant croître à une concentration de 6,5% de NaCl, la division se déroule sur deux plans formant ainsi des tétrades. Cependant, des cellules isolées ou en paires peuvent être observées au milieu de la phase exponentielle (**Collins et Falsen, 2009**).

## **2.9 Le genre *Carnobacterium***

Ce genre est constitué de bâtonnets courts parfois incurvés isolés ou en paires, psychrotolérants, pouvant se développer à pH : 9 mais pas à 4,5, incapables de croître à 8% de NaCl ; quelques espèces sont catalase (+) en présence d'hème (**Hammes et Hertel, 2006**).

## **2.10 Le genre *Vagococcus* :**

Les cellules sont ovoïdes isolées, en paires ou en chaînes. La plupart des espèces sont mobiles par des flagelles péritriches. Elles sont capables de croître à 10°C mais pas à 45°C, homofermentaires et ADH (-) (**Collins, 2009**).

### **3. Physiologie et voies métaboliques centrales des bactéries lactiques**

#### **3.1 Transport des sucres**

La membrane cytoplasmique des cellules est imperméable à de nombreux composés et peut donc entraver la pénétration des substrats utiles. Cette particularité est indispensable aux bactéries car une membrane exagérément perméable laisserait s'échapper des composants cellulaires précieux comme l'ATP, les nucléotides ou encore des intermédiaires métaboliques, de plus le maintien d'un potentiel membranaire deviendrait alors impossible. La membrane, structure hydrophobe, laisse donc pénétrer dans la cellule les composés apolaires par diffusion mais se révèle imperméable aux composés polaires hydratés comme les sucres.

Ainsi, l'entrée de ces derniers solutés nécessite la présence de systèmes de transport localisés au niveau de la membrane. Chez la plupart des bactéries lactiques, deux sont particulièrement importants:

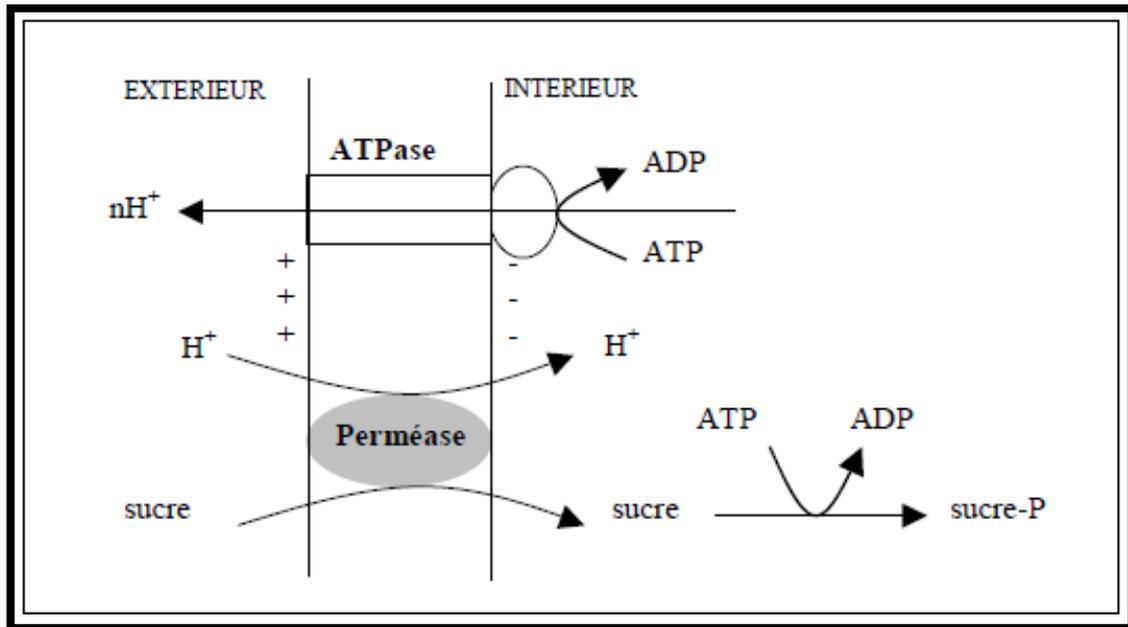
- Le système phosphotransférase phosphoénolpyruvate dépendant (PTS), qui couple le transport et la phosphorylation du glucide,
- Le système perméase énergie-dépendant, qui fait pénétrer les sucres sous forme libre (**Reynaud, 2006**).

##### **3.1.1 Le système perméase :**

Ce système est basé sur la théorie chimiosmotique de Mitchell (1973).

D'après ce concept, une enzyme membranaire (ATP.ase) couple l'hydrolyse de l'ATP à la sortie de protons générant ainsi un potentiel électrochimique de protons, appelé force protomotrice, à travers la membrane. Dans ce cas, le transport du sucre est couplé au mouvement de protons le long du gradient électrochimique, il s'agit donc d'un transport actif puisqu'il peut s'effectuer contre le gradient de concentration du sucre (Fig.3).

Une fois à l'intérieur de la cellule, le substrat carboné est phosphorylé grâce à une kinase ATP-dépendante puis va être dégradé (**Reynaud, 2006**).



**Figure 3 : Système perméase (Reynaud, 2006).**

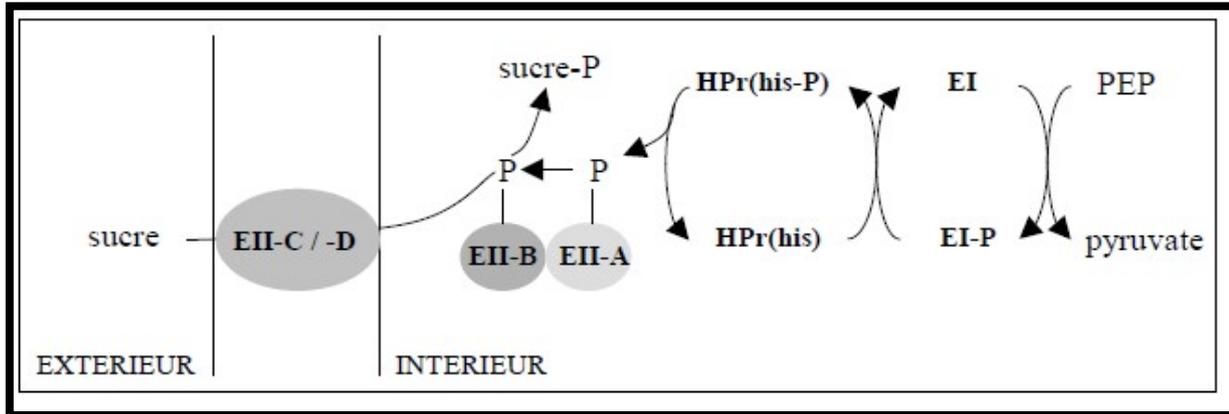
### 3.1.2 Le Système PTS :

Le système PTS (phosphotransférase PEP-dépendant) (Fig.4) est impliqué dans le transport de divers hydrates de carbone chez les bactéries. Il s'agit d'un groupe de translocation qui catalyse de façon concomitante l'entrée du sucre dans la cellule ainsi que sa phosphorylation. Différentes protéines sont impliquées dans ce système,

- ✓ les deux protéines de couplage énergétique, l'enzyme I (EI) et HPr, sont communes à tous les systèmes,
- ✓ « enzyme II » (EII) : sont spécifiques du sucre et impliqués dans son transport. Chaque perméase EII est constituée de trois (IIA, B, C) ou quatre (IIA, B, C, D) domaines ou protéines selon le système.

Une suite de transferts du groupement phosphoryl du PEP vers le sucre s'effectue au sein du groupe de translocation. Le processus commence avec le transfert du groupement phosphoryl du PEP vers EI puis vers la protéine HPr qui a son tour catalyse la phosphorylation d'EII. Les domaines EIIA et B transfèrent le groupement phosphoryl jusqu'au sucre spécifique.

Le système PTS semble énergétiquement plus favorable que le système perméase, en effet, il couple entrée et phosphorylation du sucre avec la dépense d'une molécule de PEP, tandis que l'accumulation du sucre par un système non-PTS nécessite la dépense de plus d'un équivalent ATP car transport et phosphorylation ATP-dépendante sont physiquement séparés (Reynaud, 2006 ; Deutscher et al, 2006).



**Figure 4 : Système PTS (Reynaud, 2006).**

### 3.2 Catabolisme des sucres

Toute croissance nécessite la production d'énergie et les bactéries lactiques ne font pas exception à la règle (Atlan et al, 2008).

Parce qu'elles ne possèdent pas un système respiratoire fonctionnel, elles doivent obtenir leur énergie par phosphorylation au niveau du substrat (Lahtinen et al, 2012).

Hétérotrophes, elles tirent leur énergie de la fermentation de substrats carbonés. 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 (Atlan et al, 2008) :

- le transport du sucre à travers la membrane cellulaire ;
- le catabolisme intracellulaire du sucre ;
- la formation et expulsion extracellulaire des métabolites terminaux.

Selon les genres ou espèces, les bactéries lactiques utilisent principalement l'une des deux voies majeures du métabolisme des sucres (fig.5).

Il s'agit des voies homofermentaire (Embden- Meyerhof-Parnas, EMP) et hétérofermentaire (voie des pentoses-phosphate) (Atlan et al, 2008).

### 3.2.1 Les voies du métabolisme des sucres chez les BL

#### 3.2.1.1 Voie homofermentaire ou EMP :

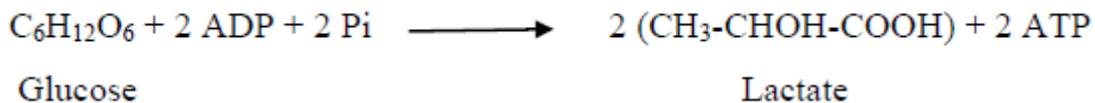
Toutes les bactéries lactiques à l'exception des genres : *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Weissella* et certaines espèces du genre *Lactobacillus*, entravent la voie de la glycolyse pour dégrader les hexoses (ex : glucose).

La fructose-1,6-bisphosphate aldolase (FBA), est une enzyme clé présente chez toutes les espèces homofermentaires et indispensable au fonctionnement de la voie EMP.

Après son transfert vers la cellule, le glucose subit une phosphorylation pour se transformer en fructose qui est à son tour phosphorylé en fructose 1-6 biphosphate (FBP) puis clivé en dihydroxyacétone phosphate (DHAP) et glycéraldéhyde phosphate (GAP). Ces deux derniers sont convertis en pyruvate.

Le pyruvate est dans une dernière étape réduit en acide lactique qui est le produit unique: c'est la fermentation homolactique (Fig.17) (**Mozzi et al, 2010**).

Cette voie conduit dans des conditions optimales de croissance à la production de deux molécules de lactate et deux molécules d'ATP par molécule de glucose consommée (**Thompson et Gentry- Weeks, 1994**).



Dans les conditions défavorables telles la limitation du glucose, ces bactéries produisent également l'acide formique, l'acide acétique, l'éthanol et/ou le CO<sub>2</sub> par la voie de fermentation des acides mixtes (**Mozzi et al, 2010**).

#### 3.2.1.2 Voie hétérofermentaire ou voie des pentoses phosphate :

Les principaux genres de bactéries lactiques présentant ce type de métabolisme sont les leuconostocs et certains lactobacilles. Ces microorganismes sont dépourvus d'une FBA, d'une triose-phosphate isomérase (TPI) ainsi que d'un système PTS fonctionnel.

Dans ces conditions, le glucose est accumulé par l'intermédiaire d'un transport actif puis subit une phosphorylation intracellulaire par le biais d'une glucokinase (GLK) ATP-dépendante. Le glucose-6-phosphate emprunte ensuite la partie oxydative de la voie des pentoses-phosphate qui conduit à la formation de xylulose-5-phosphate. Le xylulose-5-phosphate est scindé en acétyl-phosphate et glycéraldéhyde-3-phosphate par la D-xylulose-5-phosphate phosphocétolase, enzyme spécifique à la voie hétérofermentaire. Enfin, l'acétyl-phosphate est converti en éthanol ou en acétate, et le GAP qui rejoint la glycolyse est métabolisé en acide lactique (Fig.5).

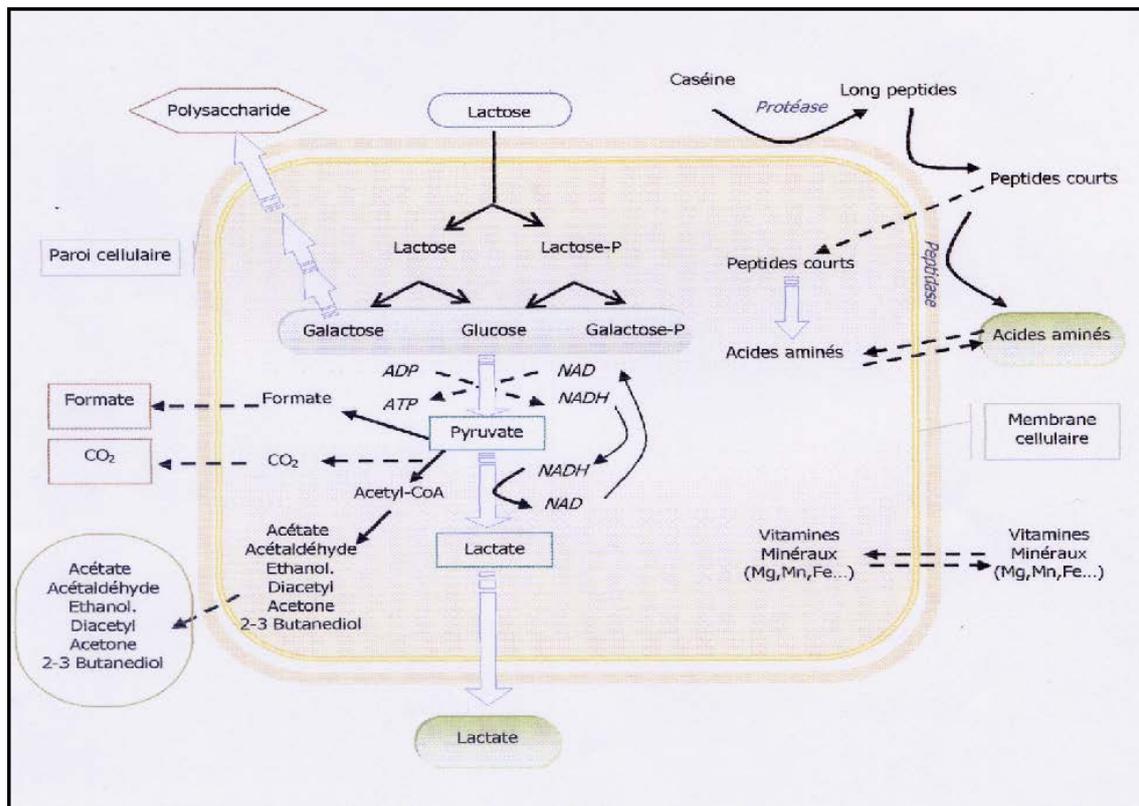
Le métabolisme hétérofermentaire est deux fois moins énergétique que le métabolisme homofermentaire puisqu'une mole de glucose conduit à la production d'une mole de lactate, d'éthanol, de CO<sub>2</sub> et d'un seul ATP (Raynaud, 2006).



Les hexoses autres que le glucose, tels que le mannose, le galactose et le fructose, sont fermentés par beaucoup de BL. Les sucres entrent dans les voies majeures au niveau de la glucose-6-phosphate ou fructose-6-phosphate après isomérisation et / ou phosphorylation. Une exception importante est le métabolisme du galactose par les BL, qui utilisent un système PTS ou une perméase pour l'absorption de ce sucre (Fig.18) (Voir les détails dans le métabolisme du lactose) (Salminen et al, 2004).

**Remarque**

Le métabolisme des bactéries du genre Bifidobacterium a une voie particulière appelée voie fermentaire bifide ou voie de la fructose-6-Phosphocétolase (FPC) (Fig.5). Dans cette voie, le fructose-6-P est scindé par la fructose-6-Phosphate phospho-cétolase en érythrose-4-phosphate et en acétyl-phosphate et du glyceraldéhyde-3-phosphate pour former de l'acétyl-phosphate et du glyceraldéhyde-3-phosphate (Atlan et al, 2008).



**Figure 5 :** Les principales voies métaboliques chez les bactéries lactiques.  
(Cathy et Coste, 1994).

### 3.2.2 Métabolisme du lactose

Le lactose-6-phosphate intracellulaire issu du transport du lactose par le système PTSlac (Fig.18) est clivé en galactose-6-phosphate et glucose par la phospho-<sup>2</sup>-galactosidase (P-<sup>2</sup>-GAL, gène lacG). Le glucose, après phosphorylation par le PTSman ou la GLK, emprunte la glycolyse tandis que le galactose-6-phosphate suit la voie du Tagatose qui elle-même rejoint la glycolyse au niveau des trioses-phosphate (Fig.5).

Il a été montré que les souches, qui métabolisent très lentement ce sucre le transporte via un système perméase (Fig.5).

Le lactose est ensuite clivé en glucose et en galactose par la <sup>2</sup>-galactosidase, le glucose emprunte la glycolyse, tandis que le galactose est dirigé vers la voie de Leloir qui rejoint la glycolyse (Fig.6).

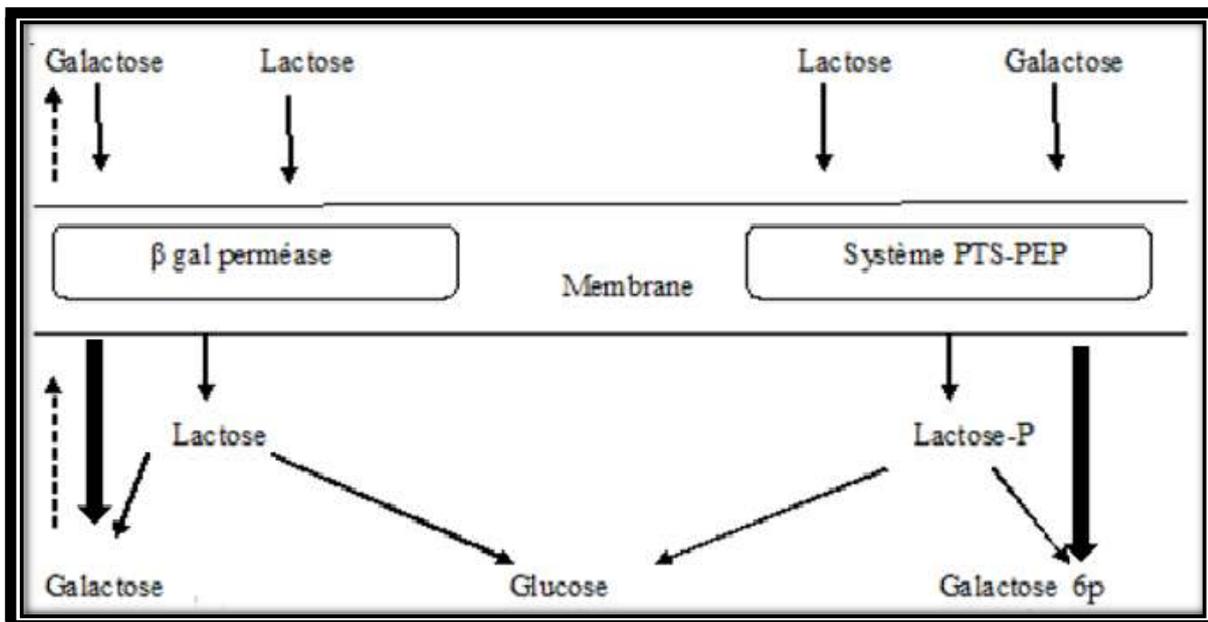


Figure 6 : Transport du lactose et du galactose chez les bactéries lactiques (Guetarni, 2013).

### 3.3 Métabolisme du citrate

L'acide citrique est utilisé par de nombreuses espèces des genres *Streptococcus* (*Streptococcus thermophilus*), *Lactococcus* (*Lc. lactis* subsp. *lactis* biovar *diacetylactis*),

*Enterococcus* (*E. faecium*), *Pediococcus*, *Leuconostoc* (*Leuc. lactis*, *Leuc. cremoris*) et *Lactobacillus* (*Lb. plantarum*, *Lb. casei*). Cependant il ne peut être dégradé qu'en présence d'un substrat fermentescible et d'une source d'azote (Bekhouche, 2006).

Le pyruvate peut résulter du catabolisme des citrates en présence d'une source d'énergie comme le lactose. Les concentrations élevées en pyruvates sont en étroite relation avec la capacité de la bactérie à transporter le citrate dans la cellule puis le transformer en pyruvates. Les voies métaboliques du citrate ont été mises en évidence par **Collins et al (1972)** et expliquées par **Cogan et al (1981)**.

La première enzyme impliquée dans le métabolisme du citrate est la citrate perméase qui permet le transport de celui-ci vers l'intérieur de la cellule. Cette enzyme est fonctionnelle au pH inférieur à 6 et son optimum est à pH 5. A l'intérieur de la cellule, le citrate est transformé en acétate et en oxaloacétate par la citrate-lyase (citratase). L'oxaloacétate produit au cours de ses réactions de catabolisme est ensuite converti en pyruvate et CO<sub>2</sub> par une oxaloacétate-décarboxylase (**Bourel et al, 2001; Salminen et al, 2004; Alexander, 2008**).

**Les étapes conduisant à l'acétoïne s'effectuent en présence des ions Mg<sup>++</sup> et Mn<sup>++</sup> et de la thiamine pyrophosphate.** Le reste des enzymes (acétolactate-synthase, diacétyl-réductase, acétoïne-réductase) sont constitutives chez *Lactococcus lactis* subsp. *diacetylactis* ou partiellement inductibles (acétolactate-synthase) chez *Leuconocstoc* et chez certaines bactéries hétérofermentaires. **Kempler et Mc Kay (1979)** ont démontré que le métabolisme du citrate chez les bactéries lactiques est lié à la présence d'un plasmide (**Cogan et al, 1981; Bassit, 1994**).

### **3.4 Activité protéolytique**

Les bactéries lactiques ont des besoins nutritionnels complexes, et les quantités d'acides aminés ou de courts peptides trouvés dans le lait sont insuffisantes pour une croissance optimale. Des études plus précises ont permis de mettre en évidence des enzymes protéolytiques différentes quant à leur nature et leur localisation.

Ces bactéries possèdent des protéases localisées à l'extérieur de la membrane plasmique, liées à la paroi et capables d'hydrolyser la caséine. Cette activité protéolytique est favorisée par les ions calcium et les pH acides. Il a été démontré que les *Lactobacilles* ont une activité protéolytique marquée et produisent à partir des protéines complexes, des composés azotés de bas poids moléculaire. Ce qui explique la situation de *S.thermophilus* cultivée en association avec *Lb.bulgaricus* ou avec *Lb.helveticus* et confirmant l'absence de ces protéases extracellulaires chez la plupart des souches de *S.thermophilus*.

De nombreuses protéases intracellulaires ont été caractérisées telles que les métallo-protéases chez *Lc.lactis* et *S.thermophilus*. De nombreuses protéases sont synthétisées par les bactéries lactiques. Elles peuvent être des aminopeptidases, dipeptidases ou tripeptidases, situées au niveau de la membrane plasmique ou dans le cytoplasme (**Hols et al, 2005 ; Atlan et al, 2008 ; Salminen et al, 2012**)

### 3.5 Métabolisme de l'oxygène

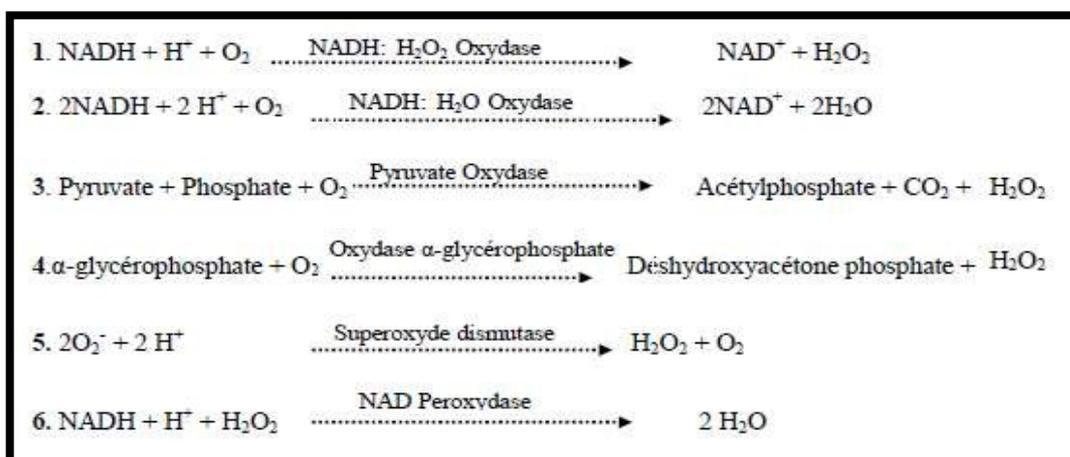
Les bactéries lactiques sont aéro-tolérantes et l'oxygène peut affecter leur métabolisme, mais aussi leur croissance, leur survie et l'intégrité de leur ADN. Certaines espèces comme *L. lactis* disposent de quelques oxydases, mais ne sont pas dotées de la cascade d'enzymes de respiration établissant le gradient électrochimique de protons conduisant à la synthèse d'ATP. En présence d'oxygène, les oxydases à NADH présentes dans le cytoplasme de nombreuses espèces entrent en compétition avec les lactates déshydrogénases pour la régénération des cofacteurs à NADH produits lors de la glycolyse et par conséquent, le métabolisme du pyruvate est modifié (Tailliez, 2001).

Les bactéries lactiques possèdent deux types d'oxydases à NADH. Ces enzymes catalysent la réduction de  $l\bullet O_2$  en  $H_2O_2$  (NADH :  $H_2O_2$  oxydase) ou de  $l\bullet O_2$  en  $H_2O$  (NADH :  $O_2$  oxydase) (Fig.7).

Chez certaines espèces de *Lactobacillus*, une pyruvate oxydase et une  $\pm$ -glycérophosphate oxydase peuvent catalyser la réduction de  $l\bullet O_2$  en  $H_2O_2$ .

L'activité des oxydases conduit généralement à la production moléculaire d' $H_2O_2$  et, dans une moindre mesure de  $l\bullet O_2$ , très toxiques pour les cellules (Desmazeaud, 1992). Le radical  $O_2$  peut être facilement transformé en  $H_2O$  par les super-oxyde dismutases largement répandues chez les bactéries lactiques des genres *Streptococcus*, *Enterococcus* et *Lactococcus* (Tailliez, 2001). Les bactéries lactiques se caractérisent par l'absence de catalase, enzyme capable d'éliminer le  $H_2O_2$  du milieu.

Certaines souches semblent en effet posséder une pseudo catalase active uniquement en présence d'hème dans le milieu (Salminen et al, 2004; Desmazeaud, 1992 ; Tailliez, 2001; Salminen et al, 2012).



**Figure 7** : réactions impliquant l'oxygène moléculaire ou des métabolites de l'oxygène, catalysées par des enzymes des bactéries lactiques (Desmazeaud, 1992).

### 3.6 Influence des cations

Le magnésium ( $^{++}$ ) est un activateur des différentes réactions métaboliques : divisions cellulaires, stabilisation des acides nucléiques ou hydrolyse peptidique, comme il est essentiel pour les phosphokinases impliquées dans la glycolyse.

Le manganèse ( $^{++}$ ) joue un rôle important pour les bactéries lactiques en les protégeant contre la toxicité de l'oxygène. Il se substituerait au super oxyde dismutase pour éliminer les radicaux du super oxyde ( $O_2$ ). Le sodium ( $^{+}$ ) quant à lui, exerce un effet sélectif sur les différentes espèces de bactéries lactiques (**Desmazeaud, 1992**).

## 4. 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**).

### 4.1 Domaine alimentaire

#### 4.1.1 Rôle sur la structure, la texture et les caractéristiques organoleptiques

Dans l'industrie alimentaire, ces microorganismes permettent la conversion d'une grande variété de matières premières, conduisant ainsi à de nombreux produits : saucissons, les laits fermentés et les fromages représentent des produits fabriqués à partir de matières premières d'origine animale, tandis que la choucroute, les olives et certains vins (fermentation malolactique) sont des exemples de transformation de matières premières d'origine végétale. Ils sont aussi utilisés en boulangerie traditionnelle. Parmi ces applications, l'industrie laitière est, sans doute, le plus grand consommateur de ferments lactiques commerciaux, pour la production de laits fermentés, fromages, crèmes et beurres (**Daly et al, 1998 ; Hugenholz et al, 2002 ; Axelsson, 2004 ; Streit et al, 2007**).

Selon Mäyrä-Mäkinen et Bigret (1998), la fermentation du lait par des bactéries lactiques est à l'origine de plus de mille produits différents, chacun avec ses caractéristiques spécifiques d'arôme, de texture et de qualité.

En plus de l'industrie fromagère, les lactobacilles sont utilisés dans d'autres produits laitiers. Parmi ces produits, on trouve le Kuele naoto et le Kwerioonik qui sont des produits ethniques du lait fermenté (Vizoso Pinto et al, 2006), le Laban zeer, le M-Bannick, le Koumiss et le Zincica (**Codex alimentarius, 2003**).

Pour les laits fermentés, l'acidification provoque la coagulation du lait (en facilitant l'action de la présure) et l'augmentation de la formation du caillé. Selon les produits, la texture recherchée est ferme (yaourt ferme) ou onctueuse (yaourt brassé ; kéfir). Pour obtenir une consistance déterminée, l'utilisation des souches plus ou moins acidifiantes peut être couplée à celle des souches productrices de polysaccharides et de mannitol (**Satura et Federighi, 1998**).

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

Le lait ne pouvant pas être conservé longtemps, ses valeurs nutritionnelles sont gardées sous la forme d'un fromage. L'immense variété des fromages est en partie relative à une grande variété de souches employées dans leurs fabrications, modifiant ainsi le goût et la texture de ces produits.

En effet les bactéries lactiques sont responsables de l'apparition de qualités organoleptiques souhaitables de ce produit transformé, en plus de sa protection et sa conservation (Van de Guchte et al, 2002).

En fromagerie, les lactobacilles sont généralement utilisés pour la préparation de pâtes dures ou semi-dures typique des fromages suisses et italiens (Alice et Sanchez-Rivas, 1997).

Ces espèces participent dans l'affinage des fromages par leur activité protéolytique, et la formation d'arômes qui en résulte (Lane et al, 1996 ; Lynch et al, 1996).

La production de CO<sub>2</sub> par les bactéries lactiques provient de l'hétérofermentation du lactose et l'utilisation du citrate.

Dans la technologie des fromages à pâtes persillées, notamment le Roquefort, le CO<sub>2</sub> produit est à l'origine de la formation des cavités dans le caillé, qui seront ensuite peuplées par *Penicillium roqueforti* (Bourel et al, 2001).

Le CO<sub>2</sub> produit donne aussi l'aspect légèrement effervescent et onctueux du beurre (Kihal, 1996).

Dans le cas de l'Emmental « fromage à pâte pressée cuite », une fois les meules formées, après caillage du lait et pressage, ils les immergent dans l'eau salée pour permettre la fabrication d'une croûte. Ensuite débute un affinage de 45 jours, dans les caves tempérées. Les meules sont ensuite transférées dans des caves plus chaudes. Une fermentation hétérofermentaire débute alors.

Les BL libèrent à l'intérieur de la pâte du CO<sub>2</sub>. Ne pouvant s'échapper des meules dont la croûte est imperméable, ces bulles de gaz créent des trous (dits aussi « ouvertures » ou « yeux ») dans la pâte.

C'est également ce qui explique que les meules plates deviennent peu à peu bombées, sous l'effet de la pression.

Ces trous sont l'identité de l'Emmental et permettent de savoir si le fromage est correctement affiné. L'affineur sonne régulièrement le fromage avec un petit marteau pour vérifier l'évolution de la meule. Les trous font caisse de résonance, il peut ensuite sonder la meule en prélevant un cylindre pour confirmer si l'affinage est fini ou pas encore.

Le gruyère et l'emmental sont tous deux des fromages à pâte pressée cuite. Leur principale différence réside dans l'aspect de leur pâte : parsemée de larges trous pour l'emmental mais le gruyère (le vrai gruyère donc « suisse ») n'en contient pas.

**Tableau 9 :** Les principaux produits issus de la fermentation des bactéries lactiques (**Penaud, 2006**)

Genre	Substrat	Exemples de produits
<i>Bifidobacterium</i>	lait	laits fermentés
<i>Lactobacillus</i>	lait	yaourts, laits fermentés, kéfirs, fromages
	viande	saucissons secs, jambons secs
	végétaux	choucroute, olives, "yaourts" au lait de soja
	céréales	pain au levain, bières
<i>Lactococcus</i>	lait	fromages, kéfirs
<i>Leuconostoc</i>	Végétaux	choucroute, olives, vin
	lait	fromages, kéfirs
<i>Pediococcus</i>	végétaux	choucroute
	viande	saucisses semi-séchées
<i>Oenococcus</i>	végétaux	vin
<i>Streptococcus</i>	lait	yaourts, laits fermentés, fromages

#### 4.1.2 Rôle dans la conservation :

- ✓ **Production d'acide lactique** Les bactéries lactiques ont un rôle important dans l'inhibition des flores non lactiques.
- ✓ **Production de bactériocines :** Ces peptides antimicrobiens sont synthétisés par un très grand nombre de souches de bactéries lactique, elles sont généralement thermorésistantes.

#### 4.2 Domaine de santé

L'intérêt des bactéries lactiques en matière de santé humaine a été initialement proposé au début du XX<sup>ème</sup> siècle, en 1907 par le Russe Metchnikoff, selon lui les *Lactobacillus.sp* pouvaient réduire la putréfaction intestinale en modifiant sa flore.

Le rôle des bactéries lactiques sur la santé était dans le cadre des probiotiques (**Langella et al, 2001 ; Calvez et al, 2009**).

Les bienfaits des bactéries lactiques sont de plus en plus étudiés, certains sont bien établis d'autres restent encore controversés (Voir les bienfaits des probiotiques) (**Langella et al, 2001 ; Calvez et al, 2009**).

L'extraordinaire diversité de structures des EPS en fait une classe de molécules dont les applications directes ou indirectes dans le domaine médical sont en plein essor.

Le dextrane et ses dérivés sont utilisés en laboratoire pour la purification de composés d'intérêt médical comme certaines enzymes, mais aussi comme outil thérapeutique en tant que « plasma artificiel ». Ils peuvent servir pour l'encapsulation de médicaments dans le but d'un relargage contrôlé ou en exploitation des propriétés biologiques de ces polymères.

La préparation de vaccins à partir d'EPS évite l'utilisation d'extrait cellulaires et donc les effets secondaires provoqués par les métabolites tels que les lipopolysaccharides et les protéines (**Benasla, 2012**).

Il a été montré qu'un certain nombre d'exopolysaccharides possédaient des activités biologiques innovantes comparables à celles des héparinomimétiques, propriétés antitumorales ou antivirales par exemple.

L'extrême diversité des EPS a rendu possible l'identification d'homologies de structures avec des polysaccharides provenant de cellules eucaryotes. Ces analogues structuraux pourront être utilisés en substitut ou en complément des produits naturels (**Benasla, 2012**).

### **4.3 En chimie**

Les bactéries lactiques sont également utilisées dans l'industrie chimique pour la production d'acide lactique.

## **5. Les bactéries lactiques comme probiotiques:**

### **5.1 Définitions :**

Le terme probiotique a bénéficié de plusieurs définitions qui ont évolué dans le temps en fonction des connaissances scientifiques et des avancées technologiques. La notion de probiotiques a été développée principalement grâce aux travaux de Metchnikoff ayant suggéré que l'ingestion de bactéries lactiques vivantes accroît la longévité en réduisant dans le tube digestif la population de bactéries putréfiantes ou produisant des toxines.

Une des premières définitions des probiotiques comme « facteurs promoteurs de croissance produits par des microorganismes » a été proposée par Lilly et Stillwell en 1965. Ensuite, Parker (1974) élargit cette définition à des « organismes et substances qui contribuent à l'équilibre de la flore ». Cette définition inclut potentiellement des produits métaboliques microbiens y compris les antibiotiques. Plus tard, Fuller en 1989, propose une définition très

proche du sens actuel : « supplément alimentaire microbien vivant qui affecte de façon bénéfique l'hôte en améliorant l'équilibre de sa flore intestinale ». Par opposition aux précédentes définitions, la définition suivante introduit la notion de souche définie bien caractérisée d'un point de vue taxonomique ainsi que la notion de quantité apporté à l'homme. La FAO (Food and Agriculture Organisation) et l'OMS (Organisation mondiale de la santé ; WHO) ont établi en 2001 des lignes directrices pour l'utilisation du terme « probiotiques » dans les aliments (FAO/OMS, 2001) et formulent la définition suivante : « micro-organismes vivants qui lorsqu'ils sont administrés en quantités adéquates, exercent une action bénéfique sur la santé de l'hôte qui les ingère » (Mack, 2013 ; Malago et al, 2011).

Ils contiennent uniquement les microorganismes non pathogènes. De nombreux microorganismes sont considérés comme probiotiques, parmi eux des bactéries lactiques telles que *Bifidobacterium animalis*, *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium longum*, *Lb. acidophilus*, *Lb. bulgaricus*, *Lb. casei*, et *Streptococcus thermophilus* (*S. thermophilus*).

*Lb. bulgaricus* et *S. Thermophilus* sont les premières souches bactériennes qui ont été utilisées pour la fabrication du yaourt (Makhloufi, 2012).

Le microbiote intestinal est l'ensemble des bactéries qui peuplent notre tube digestif. Les liens fonctionnels qui unissent l'organisme humain et les micro-organismes qu'il héberge sont le fruit d'une longue coévolution.

À plus d'un titre, cette association peut être considérée comme mutualiste, et les micro-organismes qui nous colonisent sont responsables de nombreuses fonctions essentielles au maintien de notre santé, au point que l'on peut considérer ce microbiote comme un organe supplémentaire de notre organisme (Gérard, 2011).

## **5.2 Applications des probiotiques :**

Grâce à leurs propriétés nutritionnelles et thérapeutiques utilisées par les industries agroalimentaires et pharmaceutiques, les probiotiques sont parfois utilisés comme compléments dans des produits comme les yaourts ou bien dans des préparations pharmaceutiques sous forme de gélules.

De nombreuses souches bactériennes ont montré leurs bénéfices sur la santé humaine et sont déjà commercialisées par des firmes telles que Danone avec *Bifidobacterium lactis*. Parmi leurs applications on a :

### **5.2.1 L'amélioration de la digestion du lactose**

L'un des effets des BL qui a été le plus mis en avant et démontré chez l'homme est celui qui concerne l'amélioration de l'intolérance au lactose. Ce disaccharide, présent exclusivement dans le lait et ses dérivés, est formé de glucose et de galactose reliés entre eux par une liaison <sup>2</sup>. Sa digestion nécessite une lactase, ou <sup>2</sup>-galactosidase, qui hydrolyse cette liaison et permet alors l'absorption des sucres simples libérés.

Chez les personnes souffrant d'intolérance au lactose, un déclin de la production de cette enzyme est observé au-delà de la petite enfance.

La deuxième cause d'intolérance (intolérance secondaire) est représentée par les maladies dont la conséquence est une réduction de la surface de digestion-absorption intestinale ou une accélération du transit jéjunal, comme les résections intestinales, les gastro-entérites, la maladie céliaque ou les gastrectomies.

Plusieurs études ont montré que la  $\beta$ -galactosidase des BL participait à la digestion du lactose dans l'intestin. En principe, le remplacement du lait par du yaourt conduit à une meilleure absorption et une meilleure tolérance chez les sujets présentant une intolérance au lactose (primaire et secondaire).

Il a été démontré que les bactéries qui survivaient dans l'intestin gardaient une activité métabolique suffisante pour hydrolyser le lactose et que celles dont la membrane est facilement lysée par les acides biliaires libéraient leur lactase dans l'intestin (**Izquierdo Alegre, 2009**).

### **5.2.2 Réduction du taux de cholestérol sanguin**

Il a été observé que, par rapport à des témoins, les animaux élevés en environnement stérile, et donc exempts de microorganismes, excrètent des niveaux de cholestérol dans les selles plus faibles, ce qui a suggéré que la flore intestinale aurait une influence sur les niveaux de cholestérol sanguin.

Des tests *in vitro* ont montré une réduction du taux de cholestérol dans un milieu de culture avec certains *Lactobacillus*. Plusieurs hypothèses ont été émises pour expliquer ce fait, comme l'assimilation du cholestérol par les bactéries ou l'hydrolyse des sels biliaires conjugués (**Izquierdo Alegre, 2009**).

Les acides biliaires, synthétisés par le foie à partir du cholestérol, sont "recyclés" et utilisés en moyenne trois fois pendant un même repas.

L'hydrolyse des sels biliaires conjugués (les acides biliaires doivent être conjugués à la taurine et à la glycine pour être solubles) rend nécessaire la synthèse de sels biliaires supplémentaires, ce qui conduirait à une réduction du cholestérol. Bien que la déconjugaison des sels biliaires puisse avoir des effets bénéfiques sur l'hôte, comme la diminution des niveaux de cholestérol, une déconjugaison excessive ou une déshydroxylation des acides biliaires par certains microorganismes semble avoir plusieurs effets néfastes sur l'hôte.

En effet, il a été suggéré que les sels biliaires secondaires qui en découlent (acide désoxycholique et lithocholique) endommagent l'ADN, augmentent les risques de cancer du colon et de calculs biliaires et peuvent causer des altérations de muqueuses digestives provoquant de l'inflammation et de la diarrhée. Les bactéries les plus fréquemment désignées comme probiotiques, telles que les souches des genres *Lactobacillus* et *Bifidobacterium*, sont incapables de déshydroxyler les sels biliaires déconjugés (**Izquierdo Alegre, 2009**).

Une autre explication évoque une diminution du taux de cholestérol qui serait uniquement due à la co-précipitation du cholestérol avec les sels biliaires déconjugués, phénomène qui ne peut pas se produire in vivo car le pH est plus élevé que dans un milieu de culture acidifié par les BL.

Des études ont été réalisées sur des humains pour tester l'influence de la consommation de produits laitiers fermentés sur le taux de cholestérol sanguin, mais les résultats n'ont jamais été concluants (**Izquierdo Alegre, 2009**).

### **5.2.3 Diminution des allergies alimentaires**

L'incidence au cours des dernières décennies des maladies allergiques est en constante augmentation dans les pays industrialisés, pouvant toucher plus de 20 % de la population (**Granette, 2011 ; Waligora et al, 2011**).

Cette théorie est à l'origine de l'utilisation des probiotiques, modulateurs du microbiote, dans la prévention et le traitement de l'allergie, stratégie qui suscite beaucoup d'intérêt (**Waligora et al, 2011**).

L'augmentation dans les pays industrialisés d'incidence d'un certain nombre de désordres immunitaires a coïncidé avec l'amélioration des conditions de vie. Cette augmentation est actuellement reliée, entre autres facteurs, à un défaut de maturation du système immunitaire par les bactéries commensales (le manque d'exposition aux agents microbiens en bas âge), à une hygiène accrue, à la vaccination et à l'utilisation fréquente d'antibiotiques, responsables d'une modification d'établissement du microbiote intestinal au cours des premiers mois de vie ; ce qui serait responsable de l'augmentation de fréquence des allergies, suite à un défaut de réponse précoce (**Granette, 2011 ; Waligora et al, 2011**).

La réaction allergique inflammatoire intervient dans un certain nombre de pathologies telles que la rhinite allergique, la dermatite atopique, les allergies alimentaires et l'asthme. Ces réactions allergiques sont dues à des réponses immunes exagérées, initiées par le contact avec des molécules allergènes.

Elles sont caractérisées par une production accrue d'immunoglobulines IgE spécifiques de ces allergènes, associée au développement d'une réaction inflammatoire.

L'allergie alimentaire du nourrisson se traduit souvent par de l'eczéma atopique. Les traitements curatif et préventif de cette pathologie par des BL ont été évalués lors d'une étude clinique sur 27 enfants nourris au sein et souffrant d'eczéma atopique par **Isolauri et al(2000)**.

Il a été notamment observé qu'après deux mois de traitement avec une formule supplémentée en *Lb. rhamnosus* GG et *B.lactis* Bbl2, il y a eu une amélioration plus rapide de l'état atopique en comparaison avec le groupe placebo. Un effet préventif de *Lb. rhamnosus* GG a aussi été observé chez des enfants à risque nés de parents atopiques (**Izquierdo Alegre, 2009**).

Les mécanismes ainsi que les processus régulateurs de l'allergie sont loin d'être tous connus. Plusieurs mécanismes touchant à l'immunité ou à l'état de la muqueuse ont été suggérés pour expliquer l'effet protecteur des BL. Celles-ci pourraient, en diminuant la perméabilité intestinale très augmentée en période de réactivité allergique, participer aux mécanismes du passage des protéines alimentaires. Elles pourraient également influencer directement les mécanismes régulateurs de la tolérance orale. Les premières données cliniques sont prometteuses, cependant, d'autres études sont nécessaires pour apporter des preuves supplémentaires quant aux effets protecteurs des BL dans les processus allergiques et quant aux mécanismes impliqués (**Izquierdo Alegre, 2009**).

#### **5.2.4 Réduction du risque de diarrhée**

Plusieurs types de diarrhées sont dus à des infections microbiennes. Des effets protecteurs de souches probiotiques contre certaines infections intestinales ont été observés sur des animaux. Les mécanismes potentiellement impliqués incluent la production d'acide lactique, de peroxyde d'hydrogène, d'autres substances antimicrobiennes telles que les bactériocines, la compétition pour des nutriments ou des récepteurs d'adhésion, des actions anti-toxines et la stimulation du système immunitaire. Plusieurs études randomisées contrôlées sur l'homme ont montré l'efficacité des souches probiotiques pour prévenir ou atténuer les perturbations digestives liées à la prise d'antibiotiques et les diarrhées nosocomiales infantiles dues surtout à des rotavirus. Cependant, ces effets ne sont pas universels et les probiotiques ne semblent pas efficaces en toutes circonstances (**Izquierdo Alegre, 2009**).

Les souches probiotiques *Lb. acidophilus* et *Lb. casei*, qu'on retrouve entre autre dans le lait fermenté, ont fait l'objet d'études montrant leur efficacité contre la diarrhée associée à la prise d'antibiotiques en milieu hospitalier (**Penner et al, 2005**).

L'une des affections les plus fréquentes, la diarrhée du voyageur, est une situation clinique le plus souvent due à un mécanisme infectieux. De nombreux produits pharmaceutiques destinés à prévenir cette pathologie existent sur le marché. Cependant, les études randomisées et contrôlées ayant été menées n'ont pas permis de démontrer un effet indiscutable d'un probiotique sur la diarrhée du voyageur, soit du fait d'une méthodologie statistique critiquable, soit du fait d'un trop grand nombre de sujets ayant abandonné l'étude (**Izquierdo Alegre, 2009**).

#### **5.2.5 Le traitement des maladies inflammatoires chroniques intestinales (MICI)**

Les MICI représentent un problème majeur de santé publique, affectant environ 2,2 millions de personnes en Europe. Elles regroupent deux grandes pathologies, la maladie de Crohn (MC) et la rectocolite hémorragique (RC) (**Grangette, 2011**).

L'étiologie de ces maladies reste mal connue, cependant elle semble liée à une perte de tolérance vis-à-vis de la flore endogène chez des sujets génétiquement prédisposés.

De récentes études métagénomiques indiquent clairement que le microbiote des patients atteints de MICI est instable et que la complexité des différents phyla bactériens est réduite, indiquant de sérieuses dysbioses. Des études ont reporté des niveaux plus faibles de lactobacilles et de bifidobactéries. De ce fait, l'utilisation de probiotiques a émergé comme un outil thérapeutique intéressant pour le traitement des patients, représentant une alternative intéressante à l'utilisation de drogues immunosuppressives/anti-inflammatoires qui présentent de nombreux effets secondaires (**Grangette, 2011**).

Un certain nombre d'études cliniques randomisées ont indiqué des effets positifs de certains probiotiques pour le traitement des MICI. Les résultats les plus probants sont essentiellement basés sur l'utilisation du cocktail VSL#3 (mélange de quatre lactobacilles, trois bifidobactéries et d'une souche de *Streptococcus thermophilus*). Le mélange VSL#3 est efficace dans le traitement de maintenance des pouchites et des RC, voire même dans la prévention de colite aigüe (**Grangette, 2011**).

### **5.2.6 Le traitements gastriques**

L'infection à *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) touche plus de 50% de la population mondiale et 80% de la population dans les pays en développement. Elle est la principale cause de l'ulcère gastroduodénal (70-90% des cas), le lymphome et dans 1% des cas, ça conduit au développement de cancer de l'estomac (**Malago et al, 2011**).

En médecine classique le traitement, une trithérapie de sept jours associant un inhibiteur de la pompe à protons à deux antibiotiques, permet de s'en débarrasser dans 70 % des cas. Pour les malades résistants, un second traitement, quadrithérapie, plus puissant et plus long, fait disparaître la bactérie dans 63 % des cas, soit au total, un taux d'éradication de 90 %. L'inflammation persiste pendant 6 à 24 mois et la muqueuse redevient normale. Si celle-ci était déjà atteinte, les lésions persistent, mais leur extension et leur aggravation sont définitivement stoppées.

Plusieurs souches de lactobacilles et bifidobactéries semblent réduire les effets secondaires des traitements antibiotiques et améliorer la complaisance des patients. Une méta-analyse récente de 14 essais randomisés suggère que l'adjonction de certains probiotiques aux traitements antibiotiques anti-*H. pylori* peut augmenter les taux d'éradication et pourrait se révéler utile chez les patients chez lesquels l'éradication de *H. pylori* a échoué. Actuellement l'évidence est insuffisante pour supporter le concept qu'un probiotique seul, sans antibiothérapie associée est efficace (**WGO, 2011**).

Plusieurs études ont montré que les patients traités avec des probiotiques associés à l'antibiothérapie ont eu un taux d'éradication supérieur avec moins d'effets secondaires.

Une étude pilote effectuée par Saggiaro et al en 2005 sur 30 adultes infectés par *H. pylori* traités avec l'oméprazole + Placebo ou oméprazole + *Lb. reuteri* pendant 30 jours, a montré que 60% des patients ont été éradiquée, tandis qu'aucun dans le groupe placebo. Lionetti et ses collègues en 2006 ont montré une réduction des symptômes gastro-intestinaux par *Lb. reuteri* supplémentation pendant et après la thérapie d'éradication dans un groupe

d'enfants infectés. Enfin, Francavilla et ses collègues en 2008 dans une étude pilote récente menée sur 40 adultes *H. pylori* positifs, subissant le traitement d'éradication standard, ont montré que la pré-administration de *Lb. reuteri* dans les quatre semaines avant le traitement réduit significativement la charge bactérienne, et diminue les symptômes gastro-intestinaux associés.

D'excellents résultats sont également signalés par l'administration de lait fermenté enrichi avec des probiotiques (**Tong et al 2007; Sachdeva et Nagpal 2009**).

### **5.2.7 La prévention du cancer du côlon et autres cancers**

La flore intestinale et le système immunitaire jouent un rôle dans la cancérogenèse colique, ces deux paramètres pouvant être eux-mêmes modulés par des probiotiques. Plusieurs études ont montré que certains probiotiques pouvaient diminuer l'activité d'enzymes, la concentration de mutagènes ou d'acides biliaires secondaires dans les selles, qui pourraient être impliqués dans la cancérogenèse colique. Les probiotiques pourraient empêcher la croissance d'autres souches qui transforment les procancérogènes en cancérogènes, réduisant ainsi la quantité de cancérogènes dans l'intestin (**Moroni, 2007 ; Izquierdo Alegre, 2009**).

Des études épidémiologiques ont montré une relation inverse entre la consommation de produits laitiers fermentés contenant des lactobacilles ou des bifidobactéries et l'incidence des cancers du colon et du poumon. Des études sur l'animal ont montré que la supplémentation de l'alimentation avec des souches spécifiques pouvait prévenir l'établissement, la croissance et la métastase des tumeurs induites chimiquement. Deux études randomisées et contrôlées au Japon ont montré que l'administration orale de *Lb. casei* souche *biolactis* diminuait de manière significative le risque de récurrence de tumeurs superficielles de la vessie chez l'homme.

D'un autre côté, bien qu'il n'y ait pas de preuves expérimentales directes de la suppression des cancers par la consommation de cultures probiotiques : il existe de nombreuses preuves indirectes basées sur des études de laboratoire, ce qui ouvre des perspectives pour l'application des probiotiques dans la prévention de certains types de cancer et encouragent la recherche dans ce domaine (**Izquierdo Alegre, 2009**).

**Tableau 10 :** Effets positifs des probiotiques sur la santé humaine (Izquierdo Alegre, 2009).

Effets des probiotiques	Mécanismes d'activité proposés
Amélioration de la digestion du lactose	- Action de la $\beta$ -galactosidase bactérienne dans l'intestin grêle
Diminution des allergies alimentaires	- Diminution du passage des protéines alimentaires par diminution de la perméabilité intestinale - Stimulation du système immunitaire
Réduction du risque des diarrhées	- Résistance à la colonisation par des pathogènes - Stimulation du système immunitaire
Traitement des maladies inflammatoires de l'intestin	- Modulation de la flore intestinale - Stimulation du système immunitaire
Réduction du cholestérol	- Assimilation du cholestérol - Déconjugaison des sels biliaires
Prévention du cancer du côlon	- Stimulation du système immunitaire - Production de composés antimutagéniques - Modulation des enzymes fécales carcinogéniques - Dégradation de carcinogènes - Elimination des bactéries impliquées dans la production de cancérogènes

### 5.3 La sélection des probiotiques

Une grande variété de produits probiotiques a été développée et mise sur le marché ces dernières années ; cependant, les effets attribués à bon nombre de ces produits ne sont pas soutenus par une justification scientifique adéquate. Les produits de qualité médiocre doivent être dénoncés car ils discréditent les autres aux yeux des non spécialistes. Par conséquent, il est nécessaire d'établir des critères rationnels pour le criblage et la sélection des microorganismes candidats, sans oublier d'évaluer l'efficacité des souches sélectionnées sur l'homme avec des essais cliniques contrôlés.

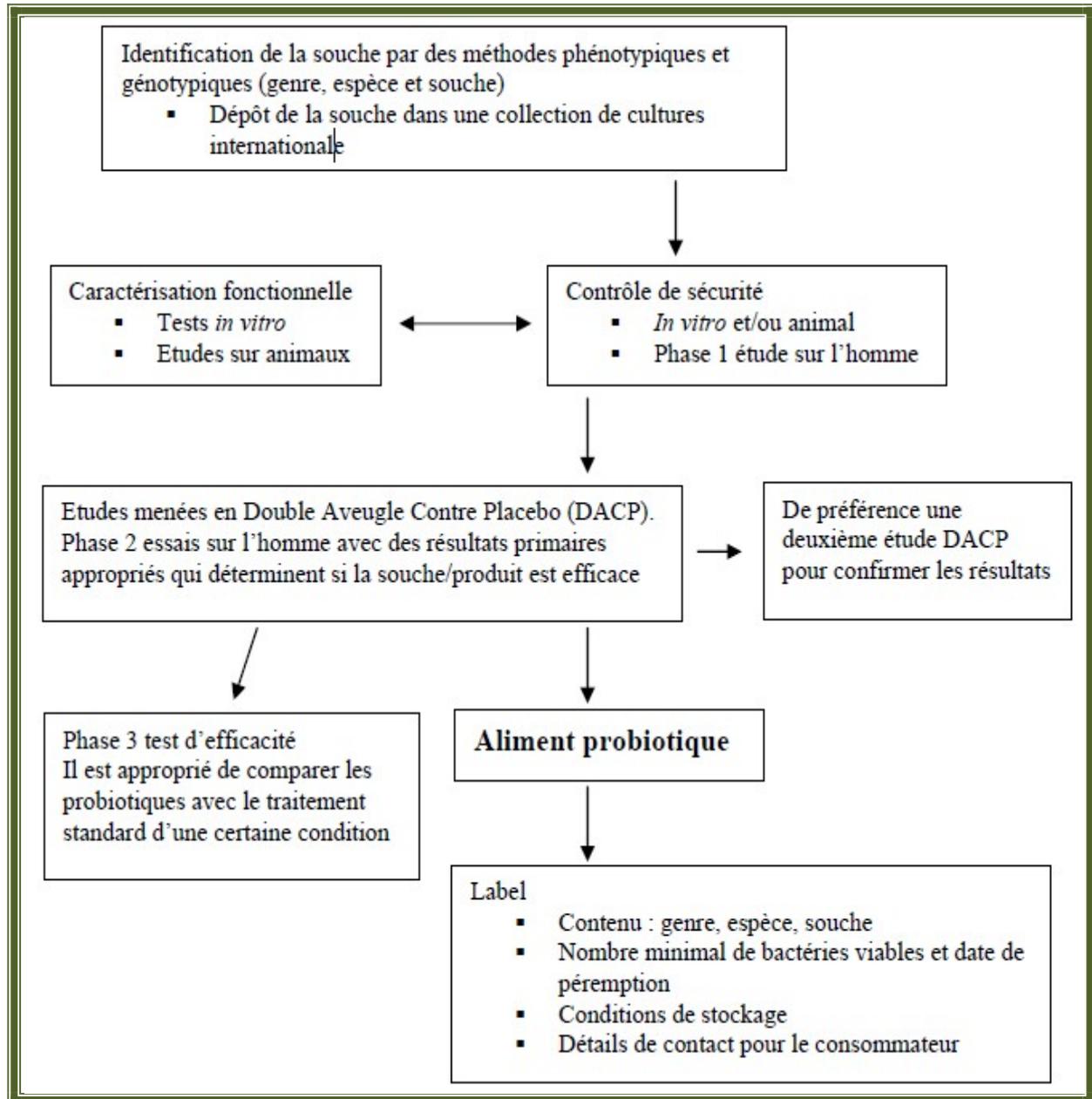
L'élucidation des mécanismes à la base des effets santé et nutritionnels attribués aux probiotiques peut aider à associer de façon plus rationnelle ces effets aux bactéries probiotiques, et à choisir les souches ou les mélanges de souches les plus prometteurs à cet égard (**Izquierdo Alegre, 2009**).

Il est généralement admis que les effets manifestés par une souche probiotique ne peuvent pas être extrapolés à une autre souche, même si elles appartiennent au même genre et à la même espèce. L'activité probiotique est donc "souche-spécifique", ce qui n'est pas surprenant si l'on considère la grande variété de résultats qui sont obtenus dans les tests in vitro en fonction des souches utilisées et peut être expliqué par des différences métaboliques et physiologiques entre celles-ci (**Izquierdo Alegre, 2009**).

C'est un comité mixte d'experts FAO/OMS qui a établi des critères et une méthodologie à utiliser pour l'évaluation des probiotiques et défini des données nécessaires à la justification des allégations santé. Le schéma de la Figure 8 résume les lignes directrices exposées dans le rapport rendu par ce comité.

Il est ainsi recommandé de suivre celles-ci connue préalable à toute allégation concernant un produit probiotique.

Dans un premier temps, les tests in vitro sont critiques pour s'assurer de l'innocuité des microorganismes utilisés comme probiotiques. Dans ce sens, le comité recommande, même pour les groupes de bactéries ayant une longue histoire en terme de sécurité d'utilisation (GRAS), une certaine caractérisation des souches pour éliminer la possibilité de résistance aux antibiotiques, d'activités métaboliques nocives (production de D-lactate, déshydroxylation des sels biliaires, etc.), de production de toxines d'activité hémolytique, ou d'effets secondaires particuliers (**Izquierdo Alegre, 2009**).



**Figure 8** : Lignes directrices pour l'évaluation des probiotiques en vue d'une utilisation alimentaire (Izquierdo Alegre, 2009).

# *Chapitre 2*

---

## *Généralité sur le Lait*

---

## **1. GENERALITES SUR LE LAIT**

### **1.1 Définitions du lait :**

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

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

Le Codex Alimentarius en 1999, le définit comme étant la sécrétion mammaire normale d'animaux de traite obtenue à partir d'une ou plusieurs traites, sans rien y ajouter ou en soustraire, destiné à la consommation comme lait liquide ou à un traitement ultérieur.

Selon Deforges et al. en 1999, le lait cru est un lait non chauffé au-delà de 40°C ni soumis à un traitement non thermique d'effet équivalent notamment du point de vue de la réduction de la concentration en micro-organismes.

### **1.2 Composition du lait :**

Le lait de vache est un lait caséineux. Sa composition générale est représentée au tableau n°1. Les données sont des approximations quantitatives, qui varient en fonction d'une multiplicité de facteurs : race animale, alimentation et état de santé de l'animal, période de lactation, ainsi qu'au cours de la traite. Il reste que la composition exacte d'un échantillon de lait ne peut s'obtenir que par analyse (Roudaut et Lefrancq, 2005).

#### **1.2.1 L'eau**

L'eau est l'élément quantitativement le plus important : 900 à 910 g par litre. En elles, sont dispersés tous les autres constituants du lait, tous ceux de la matière sèche (Mathieu, 1998).

#### **1.2.2 Matière grasse**

La matière grasse ou taux butyreux représente 25 à 45 g par litre (Luquet, 1985). Elle est constituée par 98,5% de glycérides (esters d'acide gras et de glycérol), 1% de phospholipides polaires et 0,5% de substances liposolubles cholestérol, hydrocarbures et vitamines A, D, E, et K (Goursaud, 1985).

La matière grasse est dispersée en émulsion, sous forme de microgouttelettes de triglycérides entourées d'une membrane complexe, dans la phase dispersante qu'est le lait écrémé (Boutonnier, 2008).

Cet état globulaire est fragile ; toute altération de la membrane par voie chimique, physique et microbienne conduit à la déstabilisation de l'émulsion. Cette évolution peut être accidentelle, elle se traduit alors le plus souvent par une séparation de la phase grasse sous forme d'huile ou d'agrégats et/ou par l'apparition de saveurs indésirables (rancidité-

oxydation) ; lorsqu'elle est dirigée, elle permet la concentration de la phase grasse sous forme de beurre après barattage, ou sous forme d'huile de beurre et de matière grasse laitière anhydre après chauffage et centrifugation (Madji, 2009).

### 1.2.3 Matière azotée

La matière azotée du lait englobe deux groupes, les protéines et les matières non protéiques qui représentent respectivement 95% et 5% de l'azote minéral du lait (Goursaud, 1985). Les protéines se répartissent en deux phases : une phase micellaire et une phase soluble. La phase micellaire représente la caséine totale (environ 80% des protéines du lait) du lait. Elle est formée par quatre protéines individuelles:

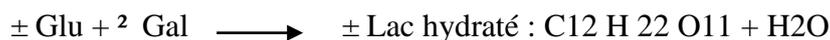
- Alpha-caséines ou caséines <sup>1</sup> 36 % et <sup>2</sup> 10 %
- Bêta-caséine ou caséine <sup>2</sup> 34 %
- Kappa-caséine ou caséine <sup>0</sup> 13 %
- Gamma-caséines ou caséine <sup>3</sup> 7 % (produits de la protéolyse de la <sup>2</sup>-caséine) (Goy et al., 2005).

Une micelle de caséine contient environ 92 à 93% de protéines, les caséines, et 8% de minéraux. La partie minérale de la micelle comporte 90% de phosphate de calcium et 10% d'ions citrate et de magnésium (2,9 % de Ca, 0,1% de Mg, 4,3% d'ions phosphate, 0,5% d'ions citrate) (Cayot et Lorient, 1998). La présence de phosphate de calcium lié à la caséine est l'une des forces responsables de la stabilité de la structure des micelles de caséine (Marchin, 2007).

Une propriété importante des micelles est de pouvoir être déstabilisée par voie acide ou par voie enzymatique et de permettre la coagulation. Elle constitue le fondement de la transformation du lait en fromage et en laits fermentés (Ramet, 1985). L'autre fraction protéique (environ 17%) du lait est présente dans le lactosérum. Les deux principales protéines sériques sont la <sup>2</sup>-lactoglobuline et l'<sup>1</sup>-lactalbumine (Cayot et Lorient, 1998).

### 1.2.4 Les glucides

Le sucre principal du lait est le lactose ; c'est aussi le composé prépondérant de la matière sèche totale. Sa teneur s'élève en moyenne à 50g par litre. C'est un disaccharide constitué par de l'<sup>1</sup> ou <sup>2</sup> glucose uni à du <sup>2</sup> galactose, ce qui est à l'origine de la présence de 2 lactoses (Luquet, 1985):



Le lactose est fermentescible par de nombreux micro-organismes et il est à l'origine de plusieurs types de fermentations pouvant intervenir dans la fabrication de produits laitiers (Morrissey, 1995).

- Fermentation lactique : due aux bactéries lactiques naturelles ou ajoutées (ferments lactiques) qui utilisent le lactose en le transformant en acide lactique. Cette fermentation lactique est souvent accompagnée d'une production plus au moins grande de substances secondaires (ex. diacétyle) responsables de l'arôme des produits laitiers (Gordon et Loisel, 1991).

- Fermentation propionique : due aux bactéries propioniques qui transforment le lactose en acide propionique et en acide acétique responsables de la flaveur des fromages à pâte cuite et en gaz carbonique induisant l'ouverture de ces fromages (Luquet, 1985).

- Fermentation butyrique : par des bactéries du genre *Clostridium* qui utilisent l'acide lactique déjà produit en le transformant en acide butyrique, responsable d'odeurs putrides et de goût piquant, et en gaz carbonique et hydrogène. Ces substances induisent le gonflement tardif des fromages, en particulier à pâte cuite.

- Fermentation alcoolique : due à des levures qui hydrolysent le lactose en glucose et galactose et qui transforment ensuite le glucose en alcool éthylique. Cette fermentation est utilisée en particulier dans la fabrication du kéfir, boisson issue de la fermentation du lait, contenant peu d'alcool et légèrement gazeuse.

A température élevée, le lactose participe avec les protéines à des réactions de brunissement non enzymatique pouvant altérer la couleur des laits stérilisés (Alais, 1975).

### **1.2.5 Matière minérale**

La matière minérale du lait (7g à 7,5g/l) est fondamentale d'un point de vue nutritionnel et technologique. Il est possible de doser les matières minérales ou cendres du lait par une méthode de calcination à 550°C (Luquet, 1985).

Synthèse Bibliographique 6 Les minéraux sont présents, soit en solution dans la fraction soluble, soit sous forme liée dans la fraction insoluble (ou colloïdale). Certains minéraux se trouvent exclusivement à l'état dissous sous forme d'ions (sodium, potassium et chlore) et sont particulièrement biodisponibles. Les ions calcium, phosphore, magnésium et soufre existent dans les deux fractions (Mathieu, 1998).

Il existe un équilibre entre les formes solubles et colloïdales, d'une part, et entre les formes ionisées et non dissociées d'autre part. Cet état est précaire parce qu'il est sensible à divers facteurs, notamment au pH, à la température, et à la concentration ou à l'addition de calcium. Toute altération de ces équilibres modifie la stabilité du lait, notamment les propriétés de la caséine native.

En raison de la présence concomitante de lactose et de phosphopeptides (produits d'hydrolyse de la caséine), les minéraux sont, de tous les éléments du lait, ceux qui sont les

mieux adsorbés et retenus. A cet égard, le rapport calcium/phosphore (Ca/P) du lait de vache (voisin de 1,2), bien qu'inférieur à celui du lait maternel (voisin de 2,2), est de loin supérieur à celui des autres denrées alimentaires, faisant du lait une excellente source de calcium et un bon correctif des rations pauvres en calcium (FAO, 1995).

### **1.2.6 Biocatalyseurs**

#### **1.2.6.1 Enzymes**

Ce sont des substances organiques de nature protidique, produites par des cellules ou des organismes vivants, agissant comme catalyseurs dans les réactions biochimiques. Plus de 60 enzymes principales ont pu être isolées du lait ou dont l'activité a été déterminée. La moitié d'entre elles sont des hydrolases (Blanc, 1982 ; Pougheon, 2001).

Ces enzymes peuvent jouer un rôle très important en fonction de leurs propriétés :

- Lyses des constituants originels du lait ayant des conséquences importantes sur le plan technologique et sur les qualités organoleptiques du lait (lipases, protéases). Ainsi, on distingue des protéases originelles du lait ; la plasmine est le composant majoritaire (elle provient du sang et migre via la glande mammaire), et des protéases d'origine microbienne. Le genre *Pseudomonas* et tout particulièrement l'espèce *Pseudomonas fluorescens*, synthétise des protéases exocellulaires thermostables. Il est également à souligner que dans les laits de mammites, le nombre de cellules somatiques peut être considérablement accru, le niveau de protéolyse est nettement plus élevé que dans les laits normaux (Miranda et Gripon, 1986).

- Rôle antibactérien, elles apportent une protection au lait (lactoperoxydase et lysozyme).

- Indicateurs de qualité hygiénique (certaines enzymes sont produites par des bactéries et des leucocytes), de traitement thermique (phosphatase alcaline, peroxydase, acétylsterase, sont des enzymes thermosensibles) et d'espèces (test de la xanthineoxydase pour détecter le lait de vache dans le lait de chèvre) (Pougheon, 2001).

**Tableau n°1** : Composition moyenne du lait de vache (Alais et al., 2008).

	Composition (g/L)	Etat physique des composants
Eau	905	Eau libre (solvant) plus eau liée (3,7%)
Glucides (lactose)	49	Solution
Lipides	35	Emulsion des globules gras (3 à 5 µm)
Matière grasse proprement dite	34	
Lécithine (phospholipides)	0,5	
Insaponifiable (stérols, carotènes, tocophérol)	0,5	

Protides	34	Suspension micellaire phosphocaséinate de calcium (0,08 à 0,12 µm) Solution (colloïdale) Solution (vraie)
Caséine	27	
Protéines solubles (globulines, albumines)	2,5	
Substances azotées non protéiques	1,5	
Sels	9	Solution ou état colloïdale
De l'acide citrique (en acide)	2	
De l'acide phosphorique (P <sub>2</sub> O <sub>3</sub> )	2,6	
Du chlorure de sodium (NaCl)	1,7	
Constituants divers (vitamines, enzymes, gaz dissous)	Traces	
Extrait sec total	127	
Extrait sec non gras	92	

### 1.2.6.2 Vitamines

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

On classe les vitamines en deux grandes catégories :

- les vitamines hydrosolubles (vitamines du groupe B et vitamine C) de la phase aqueuse du lait et

- les vitamines liposolubles (vitamines A, D, E, et K) associées à la matière grasse, certaines sont au centre du globule gras et d'autres à sa périphérie (Debry, 2001).

**Tableau 2:** Propriétés des principaux nutriments du lait [Debry, 2001].

Nutriment	Fonctions	Intérêt sanitaire
<b><u>Minéraux</u></b>		
Calcium	Formation de l'os, Contraction musculaire, Coagulation du sang, Régulation d'enzymes.	Prévention de l'ostéoporose et de fractures, de l'hypertension artérielle, du cancer du côlon.
Phosphore	Métabolisme énergétique (ATP). Coenzyme NADP. Phospholipides des membranes cellulaires.	Développement et maintien de la masse osseuse.
Magnésium	Cofacteur dans plus de 300 réactions métaboliques. Transmission de l'influx nerveux.	Prévention de troubles du système nerveux : convulsions, hallucinations.

Potassium	Contrôle de la contraction musculaire. Equilibre des échanges cellulaires (avec Na).	Maintien de la force musculaire. Prévention de l'hypertension artérielle.
Zinc	Constituant de l'insuline et de plus de 200 enzymes engagés dans la croissance, la circulation, l'immunité.	Croissance, puberté et appétit normaux. Défence contre les infections.
<b><u>Vitamines</u></b>		
Riboflavine	Coenzymes FAD et FMN du métabolisme énergétique.	Protection des muqueuses et de la peau. Vision normale.
Vit. B12	Cofacteur dans la synthèse des acides nucléiques (avec folate).	Prévention de l'anémie
Biotine	Cofacteur de réaction carboxylation-décarboxylation.	Activité cardiaque et appétit normaux.
Pantothénate	Coenzyme A du métabolisme énergétique et de la synthèse des constituants lipidiques.	Prévention de l'insomnie et de la fatigue.
Niacine	Coenzyme NAD du métabolisme énergétique et	Prévention contre la pellagre (dermatite, démence, diarrhée)
Vit. A	Constituant d'un pigment visuel de la rétine. Développement des os, des dents, de la peau.	Prévention contre la cécité, les infections, le dessèchement de la peau et des yeux.
Vit. D	Facteur favorisant le système actif d'absorption intestinale	Prévention de problèmes de développement osseux.
Pyridoxine	du calcium.	Prévention de convulsions (déficit en sérotonine).
Thiamine	Cofacteur de réactions de synthèse et de modification d'acides aminés. Coenzyme de réactions du métabolisme des glucides	Prévention du bériberi (déficit mental cardiaque musculaire)
<b><u>Protéine</u></b> s Lleu, Leu Lys, Thr, Trp Phe, Val	Source d'acides aminés essentiels à la synthèse des protéines des parois cellulaires, fibres musculaires, enzymes et hormones.	Prévention contre les retards de croissance. Résistance et défense contre les infections

### 1.3 Variations dans la composition du lait

Le lait qui arrive à l'usine, constitue une matière première dont la composition n'est pas fixe. Ce caractère rend donc l'utilisation de cette matière première assez difficile, diminue les rendements et modifie les caractères organoleptiques des produits finis.

Deux grands types de variation existent, au stade de l'animal et au stade du traitement du lait. La composition chimique du lait et ses caractéristiques technologiques varient sous l'effet d'un grand nombre de facteurs (Stoll, 2003).

Ces principaux facteurs de variation sont bien connus. Ils sont soit intrinsèques liés à l'animal (facteurs génétiques, stade de lactation, état sanitaire, etc.), soit extrinsèques liés au milieu et à la conduite d'élevage (saison, climat, alimentation). Cependant, si les effets propres de ces facteurs ont été largement étudiés, leurs répercussions pratiques sont parfois plus difficiles à interpréter compte tenu de leurs interrelations (Wolter, 1988).

**Tableau 3:** Composition moyenne du lait de différentes espèces animales [Vignola, 2002]

<b>Animaux</b>	<b>Eau (%)</b>	<b>Matière grasse (%)</b>	<b>Protéines (%)</b>	<b>Glucides (%)</b>	<b>Minéraux (%)</b>
Vache	87.5	3.7	3.2	4.6	0.8
Chèvre	87.0	3.8	2.9	4.4	0.9
Brebis	81.5	7.4	5.3	4.8	1.0
Chamelle	87.6	5.4	3.0	3.3	0.7
Jument	88.9	1.9	2.5	6.2	0.5
Femme	87.1	4.5	3.6	7.1	0.2

### **1.3.1 Facteurs intrinsèques**

#### **1.3.1.1 Facteurs génétiques**

On observe des variations importantes de la composition du lait entre les différentes races laitières et entre les individus d'une même race. D'une manière générale, on remarque que les fortes productrices donnent un lait plus pauvre en matières azotées et en matière grasse. Ces dernières sont les plus instables par rapport au lactose (Veisseyre, 1979).

Jakob et Hänni en 2004, notent l'existence de variants génétiques A et B issus des mutations ponctuelles. Ces derniers donnent des protéines différentes qui ne se distinguent que par l'échange d'un ou deux acides aminés. Les variants génétiques des protéines du lait, notamment ceux de la caséine <sup>o</sup> (<sup>o</sup>-Cn) et de la <sup>2</sup>-lactoglobuline (<sup>2</sup>-Lg), influencent la composition du lait et certains critères de productivité des vaches.

#### **1.3.1.2 Stade de lactation**

Au cours de la lactation, les quantités de matière grasse, de matières azotées et de caséines évoluent de façon inversement proportionnelle à la quantité de lait produite. Les taux de matière grasse et de matières azotées, élevés au vêlage, diminuent au cours du premier mois et se maintiennent à un niveau minimal pendant le deuxième mois. Ils amorcent ensuite une remontée jusqu'au tarissement. L'amplitude de variation est généralement plus importante pour le taux butyreux que pour le taux protéique. Les laits de fin de lactation présentent les mêmes caractéristiques des laits sécrétés par les animaux âgés. En outre, les deux taux, protéique et butyreux, ont tendance à diminuer au cours des lactations successives (Meyer et Denis, 1999).

### **1.3.1.3 Age et nombre de vêlage**

Veisseyre en 1979, montre que la quantité de lait augmente généralement du 1er vêlage au 5eme, puis diminue sensiblement et assez vite à partir du 7eme.

Le vieillissement des vaches provoque un appauvrissement de leur lait, ainsi la richesse du lait en matière sèche tend à diminuer. Ces variations dans la composition sont attribuées à la dégradation de l'état sanitaire de la mamelle ; en fonction de l'âge, le nombre de mammites croit et la proportion de protéines solubles augmente en particulier celles provenant du sang (Mahieu, 1985).

### **1.3.1.4 Etat sanitaire**

Lors d'infection, il y a un appel leucocytaire important qui se caractérise par une augmentation de comptage cellulaire induisant des modifications considérables dans la composition du lait (Badinand, 1994).

Les mammites sont les infections les plus fréquentes dans les élevages laitiers. Elles sont à l'origine d'une modification des composants du lait avec pour conséquence, une altération de l'aptitude à la coagulation des laits et du rendement fromager (Toureau et al., 2004).

## **1.3.2 Facteurs extrinsèques**

### **1.3.2.1 Alimentation**

L'alimentation joue un rôle important ; elle permet d'agir à court terme et de manière différente sur les taux de matière grasse et de protéines. En effet, selon Coulon et Hoden en (1991), le taux protéique varie dans le même sens que les apports énergétiques, il peut aussi être amélioré par des apports spécifiques en acides aminés (lysine et méthionine). Quant au taux butyreux, il dépend à la fois de la part d'aliment concentré dans la ration, de son mode de présentation et de distribution ( finesse de hachage, nombre de repas, mélange des aliments).

### **1.3.2.2 Saison et climat**

L'effet propre de la saison sur les performances des vaches laitières est difficile à mettre en évidence compte tenu de l'effet conjoint du stade physiologique et des facteurs alimentaires (Coulon et al, 1991).

A partir des travaux réalisés par Spike et Freeman en (1967) cité par Coulon et al. en (1991), il a été montré que la production laitière est maximale au mois de juin et minimale en décembre. A l'inverse, les taux butyreux et protéique du lait sont les plus faibles en été et les plus élevés en hiver. Chez des vaches de type pie noire, ils atteignent 3g/Kg pour le taux butyreux et près de 2g/Kg pour le taux protéique.

## **1.4 Quelques caractéristiques physico-chimiques du lait**

### **1.4.1 La densité**

Elle oscille entre 1,028 et 1,034. Elle doit être supérieure ou égale à 1,028 à 20°C. La densité des laits de grand mélange des laiteries est de 1,032 à 20°C. La densité des laits écrémés est supérieure à 1,035. Un lait à la fois écrémé et mouillé peut avoir une densité normale (Vierling, 2008).

### **1.4.2 L'acidité de titration ou acidité Dornic**

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

On exprime couramment l'acidité d'un lait en degrés Dornic ; ce dernier étant le nombre du dixième de millilitre de soude utilisée pour titrer 10 millilitres de lait en présence de phénolphtaléine. Deux laits peuvent avoir le même pH et des acidités titrables différentes et inversement. C'est dire qu'il n'y a pas de relation d'équivalence réelle entre le pH et l'acidité de titration (Dieng, 2001).

### **1.4.3 Le point de congélation**

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

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

### **1.4.4 Le pH**

Le pH renseigne précisément sur l'état de fraîcheur du lait. Un lait de vache frais a un pH de l'ordre de 6,7. S'il y a une action des bactéries lactiques, une partie du lactose du lait sera dégradée en acide lactique, ce qui entraîne une augmentation de la concentration du lait en ions hydronium (H<sub>3</sub>O<sup>+</sup>) et donc une diminution du pH, car :

$$\text{pH} = -\log [H_3O^+]$$

A la différence avec l'acidité titrable qui elle mesure tous les ions H<sup>+</sup> disponibles dans le milieu, dissociés ou non (acidité naturelle + acidité développée), reflétant ainsi les composés acides du lait (CIPC lait, 2011).

Un lait mammitéux, contenant des composés à caractéristiques basiques, aura un pH  $\tilde{A}$  7 et le colostrum un pH voisin de 6 (Luquet, 1985).

## **2. MICROBIOLOGIE DU LAIT CRU**

Le lait contient un nombre variable de cellules ; celles-ci correspondent à la fois à des constituants normaux comme les globules blancs, mais également à des éléments d'origine exogène que sont la plupart des microorganismes contaminants (Gripon et al., 1975).

Les microorganismes, principalement, présents dans le lait sont les bactéries. Mais, on peut aussi trouver des levures et des moisissures, voire des virus. De très nombreuses espèces bactériennes sont susceptibles de se développer dans le lait qui constitue, pour elles, un excellent substrat nutritif. Au cours de leur multiplication dans le lait, elles libèrent des gaz (oxygène, hydrogène, gaz carbonique, etc.), des substances aromatiques, de l'acide lactique (responsable de l'acidification en technologie fromagère), diverses substances protéiques, voire des toxines pouvant être responsables de pathologie chez l'homme (Institut de l'élevage, 2009).

L'importance et la nature des bactéries contaminants le lait, dépendent, de l'état sanitaire de l'animal, de la nature des fourrages (Agabriel et al., 1995), mais aussi des conditions hygiéniques observées lors de la traite, de la collecte, de la manutention et de la température de conservation du lait (Robinson, 2002). Un lait est considéré comme peu contaminé s'il renferme quelques centaines à quelques milliers de germes par Synthèse Bibliographique 13 millilitre, un lait fortement pollué peut en contenir plusieurs centaines de milliers à plusieurs millions par ml (Ramet, 1985).

Dans cette microflore contaminante, les bactéries conditionnent le plus directement la qualité hygiénique ainsi que l'aptitude à la conservation et à la transformation de la matière première (Adda et al, 1982).

### **2.1 Flore originelle**

Le lait contient peu de microorganismes lorsqu'il est prélevé dans de bonnes conditions à partir d'un animal sain (moins de 103 germes/ml). A sa sortie du pis, il est pratiquement stérile et est protégé par des substances inhibitrices appelées lacténines à activité limitée dans le temps (une heure environ après la traite) (Cuq, 2007).

La flore originelle des produits laitiers se définit comme l'ensemble des microorganismes retrouvés dans le lait à la sortie du pis, les genres dominants sont essentiellement des mésophiles (Vignola, 2002). Il s'agit de microcoques, mais aussi streptocoques lactiques et lactobacilles. Ces microorganismes, plus ou moins abondants, sont en relation étroite avec l'alimentation (Guiraud, 2003) et n'ont aucun effet significatif sur la qualité du lait et sur sa production (Varnam et Sutherland, 2001). Le tableau n°2 regroupe les principaux microorganismes originels du lait avec leurs proportions relatives.

**Tableau n°4** : Flore originelle du lait cru (Vignola, 2002)

<i>Microorganismes</i>	Pourcentage (%)
	30-90
<i>Micrococcus sp</i>	
<i>Lactobacillus</i>	10-30
<i>Streptococcus ou Lactococcus</i>	< 10
Gram négatif	< 10

## 2.2 Flore de contamination

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

Ces contaminations par divers microorganismes peuvent provenir de l'environnement : entérobactéries, Pseudomonas, Flavobacterium, microcoques, corynébactéries, Bacillus, etc., par l'intermédiaire du matériel de traite et de stockage du lait, par le sol, l'herbe ou la litière (tableau n°3).

Des contaminations d'origine fécale peuvent entraîner la présence de Clostridium, d'entérobactéries coliformes et, éventuellement, d'entérobactéries pathogènes : Salmonella, Yersinia. Ceci explique l'importance d'un contrôle rigoureux du lait (Leyral et Vierling, 2007).

D'autres microorganismes peuvent se trouver dans le lait, lorsqu'il est issu d'un animal malade. Il peut s'agir d'agents de mammites, c'est-à-dire d'infections du pis : Streptococcus pyogenes, Corynebactérium pyogenes, staphylocoques, etc. Il peut s'agir aussi de germes d'infection générale qui peuvent passer dans le lait en l'absence d'anomalies du pis : Salmonella ; Brucella, agent de la fièvre de Malte, et exceptionnellement Listeria monocytogenes, agent de la listériose ; Mycobacterium bovis et tuberculosis, agents de la tuberculose ; Bacillus anthracis, agent du charbon ; Coxiella burnetii, agent de la fièvre Q, et quelques virus.

Hormis les maladies de la mamelle, le niveau de contamination est étroitement dépendant des conditions d'hygiène dans lesquelles sont effectuées ces manipulations, à savoir l'état de propreté de l'animal et particulièrement celui des mamelles, du milieu environnant (étable, local de traite), du trayon, du matériel de récolte du lait (seaux à traire,

machines à traire) et, enfin, du matériel de conservation et de transport du lait (bidons, cuves, tanks) (FAO, 1995).

### 2.2.1 Contaminations du lait cru au stade de la production

La flore du lait cru est abondante et susceptible d'évoluer rapidement. Il faut donc abaisser sa température à moins de 10°C le plus rapidement possible, au mieux dans l'heure qui suit la traite.

Le lait recueilli à la ferme par traite mécanique ou manuelle est soit directement transporté au centre de ramassage où il est réfrigéré, soit stocké dans des réservoirs réfrigérés avant transport dans le cas d'exploitations importantes. Dans ces conditions, la flore microbienne est stabilisée. Le lait cru doit être toujours maintenu au froid. La durée de conservation de ce lait est courte en raison de la possibilité du développement des germes psychrotrophes et psychrophiles (quelques jours) (Guiraud et Galzy, 1980)

**Tableau n°5** : Germes contaminant le lait cru (Jakob et al., 2009).

Sources de contamination		Psychrotrophes
Germes Gram positifs -Germes sporulés aérobies	Terre, poussière, foin (très répandu)	Certaines espèces
Germes sporulés anaérobies (clostridies)	Ensilage, fourrage vert en fermentation, boue	Non
Entérocoques	Fèces, résidus de lait	Non
Staphylocoques	Peau, muqueuses	Non
Microcoques	Peau, résidus de lait	Certaines espèces
Bactéries propioniques	Peau, résidus de lait, fourrage vert en fermentation, ensilage	Non
Bactéries lactiques	Plantes, ensilages, résidus de lait, muqueuses	Non
Bactéries corynéformes	Peau, sol	Certaines espèces
Germes Gram négatifs - Colibactéries (E. coli)	Fèces, eaux usées	Non
Entérobactéries	Plantes, fèces, eaux usées	Certaines espèces
Pseudomonas	Eau, sol (très répandu)	Oui
Alcaligenes, Flavobacterium, etc.	Eau, sol (très répandu)	Oui
Levures	Sol, plantes, résidus de lait (très répandues)	Oui

### **2.2.1.1 Contamination par l'animal**

Le lait renferme, lorsque l'animal est sous médication, des résidus d'antibiotiques qui sont à l'origine de perturbations importantes des processus de fermentation et de maturation des produits laitiers de large consommation tels que les yaourt, fromages et autres laits fermentés (Ben Mahdi et Ouslimani, 2009). Ces laits anormaux doivent être séparés du lait sain et ne pas être utilisés pour la transformation.

### **2.2.1.2 Contamination au cours de la traite**

C'est en surface des trayons que l'on retrouve la plus grande diversité de groupes microbiens : une douzaine de groupes microbiens parmi les flores utiles, flores d'altération et pathogène sont systématiquement détectés. Les groupes microbiens utiles (bactéries lactiques) sont fortement dominants, leurs niveaux étant au moins 100 fois supérieures à ceux des groupes d'altération ou pathogènes (staphylocoques à coagulase positive).

Dans le lactoduc et l'air du lieu de traite, la diversité microbienne est moindre puisque que seuls quelques groupes microbiens sont systématiquement présents. Les niveaux des flores d'altération sont alors du même ordre de grandeur que ceux des groupes utiles.

Pour un même réservoir, des différences de niveaux et de composition microbienne existent et sont liées à la saison ; ainsi, en été, les surfaces des trayons abritent des niveaux moindres de tous les groupes microbiens ; par contre, dans les lactoducs, en été, on extrait des niveaux plus importants de *Pseudomonas* (germes d'altération). Pour une même saison, des différences de composition microbienne de ces réservoirs existent entre les exploitations : elles sont alors associées aux pratiques mises en œuvre.

Ainsi, en hiver, le niveau et la composition de la charge microbienne présente en surface des trayons sont en lien avec la nature des litières et le confinement de l'ambiance (Lemire, 2007).

### **2.2.1.3 Contamination au cours du transport**

La collecte et le transport se font grâce à des camions-citernes réfrigérés qui récoltent régulièrement le lait dans les fermes. Ils doivent respecter un certain nombre de règles légales afin de livrer un lait de bonne qualité, notamment par le maintien du lait au froid qui a pour but d'arrêter le développement des microorganismes. Il constitue un traitement de stabilisation (Weber, 1985).

Une altération de la qualité au cours du transport par une mauvaise réfrigération, peut avoir un impact grave sur la qualité du lait et engendrer des pertes financières importantes (Jakob et al., 2011).

## **2.3 Principales activités microbiennes dans le lait**

Les altérations du lait sont associées à la multiplication de levures, moisissures et bactéries. Cependant et compte tenu de leurs caractères écologiques, les contaminations

bactériennes sont les plus fréquentes et les plus importantes et leurs potentialités de développement les plus à craindre.

Ces processus de dégradation sont possibles, lorsque les conditions du milieu environnant sont favorables à la prolifération microbienne et à l'activité enzymatique. De graves défauts de goût et d'odeur peuvent apparaître par accumulation des produits issus, soit du métabolisme cellulaire, soit de l'action de systèmes enzymatiques complexes sur les constituants du lait. Le plus fréquemment, il s'agit de lait acide, amer, fruité, rance, malté, à goût étranger (Kim et al., 1982). Les principales activités microbiennes sont regroupées dans le tableau n°4.

### **2.3.1 Fermentation homolactique et hétérolactique avec acidification du lait**

Un tel processus conduit à la coagulation de la caséine et à la prise en masse du lait. Selon la température du lait et les bactéries impliquées, le phénomène de coagulation sera plus ou moins rapide : de 10°C à 37°C, le germe le plus fréquemment impliqué est *Streptococcus lactis* avec plus rarement association avec des coliformes, entérocoques, microcoques et lactobacilles.

Au dessus de 37°C, les germes en cause sont *Streptococcus thermophilus*, *Enterococcus faecalis* et *Lactobacillus bulgaricus*. A des températures inférieures à 10°C, le processus est plus lent, la prise en masse nécessite un délai relativement important. Le caillot peut être dégradé dans une seconde étape par les espèces psychrotrophes protéolytiques : *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, microcoques ... (Guiraud et Galzy, 1980 ; Leyral et Vierling, 2007).

Après pasteurisation, l'acidification est produite par des germes thermotolérants ou des sporulés ayant résisté comme les *Clostridium* et les *Bacillus*. Lorsque des bactéries lactiques hétérofermentaires interviennent, il y a en plus des acides organiques, de nombreux composés volatils variés (aldéhydes, cétones, alcools) (Guiraud, 2003). Ces composés, lorsqu'ils sont élaborés en quantité limitée, sont parfois recherchés, car ils contribuent à former le bouquet caractéristique de beaucoup de produits laitiers ; mais lorsqu'ils sont présents à forte concentration, ils engendrent des mauvais goûts et odeurs. Un exemple classique est donné par le diacétyl qui à l'état très dilué est responsable d'un goût de noisette et à l'état plus concentré se traduit par une amertume marquée (Kim et al., 1982).

### **2.3.2 Protéolyse**

Au cours de leurs activités métaboliques, certains microorganismes, grâce à l'action de leurs protéases, dégradent des fractions protéiques du lait. Ce phénomène produit la libération de sous produits très variés, dont des peptides à longue ou courte chaîne à l'origine des goûts amers, des saveurs non désirées et atypiques ou de textures inadéquates des fromages contaminés. Les germes incriminés sont *Micrococcus*, *Alcaligenes*, *Aeromonas*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Pseudomonas* ainsi que d'autres germes de la flore banale à Gram négatif (Vignola, 2002 ; Guiraud, 2003).

Le genre *Pseudomonas*, avec comme espèce principale *P. fluorescens*, est dominant dans les laits conservés à basse température, les comportements des enzymes sécrétées sont loin d'être homogènes mais elles sont très thermorésistantes (Chilliard et Lamberet, 1984).

Dans d'autres cas, la protéolyse est recherchée, elle est contrôlée et joue un rôle primordial dans l'obtention d'une texture caractéristique et de saveurs désirées de divers types de fromage lors de l'affinage (Vignola, 2002), l'activité protéolytique des bactéries lactiques en est le meilleur exemple, ces bactéries dotées d'un système protéolytique complexe comprenant des protéases situées à la surface cellulaire, et une large gamme de peptidases intracellulaires, qui lorsqu'elles sont libérées dans le caillé fromager participent efficacement à l'affinage du fromage (Roudj et al., 2009).

### **2.3. 3 Lipolyse**

La lipolyse est une réaction enzymatique de dégradation de la matière grasse qui se traduit dans le lait par une augmentation de la teneur en acides gras libres. Au-delà de certains seuils, cette augmentation peut provoquer l'apparition de défauts de goûts (rance, savon...) dans les produits laitiers (Heuchel et al., 2003).

Dans un lait cru réfrigéré, la flore dominante est représentée par les psychrotrophes. 70% ou plus de cette population possèdent une activité lipolytique. Cependant, elle n'est perceptible au goût qu'à partir des teneurs de 106 à 107 germes/ml, c'est-à-dire pour des laits crus considérés comme très pollués (Richard, 1983 ; Chilliard et Lamberet, 1984).

L'activité lipolytique est exploitée dans la production du Brie, du Saint-paulin et de nombreux fromages à pâtes molles, elle est alors contrôlée (Vignola, 2002).

## **2.5 Contrôle bactériologique du lait cru**

L'appréciation de la qualité bactériologique du lait cru consiste en la recherche des germes pathogènes, des germes utiles et des germes nuisibles à la conservation. Ces microorganismes peuvent proliférer dans le lait qui constitue un excellent milieu de culture. Selon l'intérêt de l'étude, on oriente donc notre recherche. Dans ce cas précis, on s'intéresse aux germes pathogènes et aux germes indésirables qui génèrent des problèmes de transformation fromagère et qui peuvent être gênants pour le consommateur.

### **2.5.1 Flore mésophile aérobie totale**

La flore mésophile aérobie totale est constituée d'un ensemble de microorganismes variés correspondant aux germes banaux de contamination. Son dénombrement reflète la qualité microbiologique générale du lait cru et permet de suivre son évolution au cours de sa transformation. Ainsi le nombre de germes totaux pourra donner une indication de l'état de fraîcheur ou de décomposition (altération) du lait (Guiraud et Rosec, 2004).

Des valeurs élevées n'indiquent pas nécessairement la présence de pathogènes, aussi des valeurs basses peuvent accompagner la présence de pathogènes à des niveaux dangereux (Sutra et al., 1998).

**Tableau n°6 :** Synthèse des principales activités métaboliques microbiennes dans les produits laitiers (Vignola, 2002).

Composants	Réactions	Produits	Microorganismes
Glucide est le premier (substrat privilégié) <sup>2</sup> - galactosidase	Lactose Glucose + Galactose	Acide lactique Acide lactique + CO <sub>2</sub> Acides mites + CO <sub>2</sub> Ac. Propionique + CO <sub>2</sub> Ac. Butyrique + CO <sub>2</sub> Polysaccharides Alcool Désacidification	Bactéries lactiques homo fermentaires Bactéries lactiques hétéro fermentaires Bactéries entériques Propionibacterium sp. Clostridium sp. Bactéries filantes Levures Levures et moisissures
Protéines protéases	Protéines Longs peptides (amertume) Courts peptides Acides aminés	Acides aminés ou dérivés (fruités, maltés...) Composés soufrés Composés ammoniacaux Amertume Polypeptides	Psychrotrophes Levures et moisissures Propionibacterium sp. Brevibacterium sp. Ferments lactiques Bactéries filantes
Lipides Lipases	Lipides Glycérol + Acides gras libres	Rancidité	Psychrotrophes Levures et moisissures Propionibacterium sp. Brevibacterium

## 2.6 Altération du lait

Suivant le degré de dégradation des constituants du lait sous l'effet des microorganismes, on distingue quatre états bactériologiques du lait.

### 2.6.1 Phase de latence (bactériostatique)

Du fait des substances antibactériennes du lait et des bactériocines produits par les bactéries lactiques, les autres germes tendent à stagner ou à régresser. C'est une phase d'adaptation. Le lait peut alors se conserver pendant longtemps sous éfrigération. Toutefois, cette durée est réduite considérablement à une température élevée (Petrasxiene et Lapiéd, 1981).

### 2.6.2 Phase d'acidification

Durant cette phase, l'acidité ionique diminue et le degré Dornic augmente. La fermentation du lactose par les espèces du groupe lactique principalement, aboutit à la production d'acide lactique.

Les streptocoques sont les premiers germes acidifiants intervenant par abaissement du pH et par augmentation de l'acidité, puis viennent les lactobacilles acidophiles qui, en proliférant, abaissent davantage le pH et entravent la croissance d'autres germes. Cette phase se poursuit jusqu'à la coagulation du lait par acidification (maximum pH 4,6) (Petransxiene et Lapiéd, 1981).

### **2.6.3 Phase de neutralisation**

Les levures acidophiles jouent un rôle désacidifiant. Leur prolifération dans le lait, élève sensiblement le pH et entraîne la production d'alcool. C'est la phase de neutralisation. Elle correspond à une reprise d'activité des germes de putréfaction. Ce stade est à éviter si l'on veut conserver les qualités hygiéniques et marchandes du produit (Dieng, 2001).

### **2.6.4 Phase d'alcalinisation**

Elle est également dite de putréfaction et se traduit par une production d'hydrogène sulfuré, indice de dégradation systématique du lait, car il affecte aussi bien les caractères hygiéniques qu'organoleptiques (Petransxiene et Lapiéd, 1981).

## **3. HYGIENE DE LA TRAITE**

Le lait est une denrée fragile dont le devenir industriel (lait en nature, beurre, fromage) dépend de sa qualité. La production d'un lait de qualité n'exige ni des installations coûteuses dans la ferme, ni des transformations ruineuses dans le système commercial et industriel ; il faut surtout un suivi rigoureux et permanent des bonnes pratiques d'hygiène tout le long du circuit de sa production notamment à la traite (Crapelet et Thibier, 1973). Ces recommandations concernent (tableau n°7):

### **3.1 Trayeur**

- Bon état de santé : pour éviter la pollution du lait et la contagion de certaines maladies (tuberculose) à la vache : - Propreté :

le vacher, avant de commencer à traire, doit se laver soigneusement les mains et les essuyer avec un linge propre.

- Tenue : le trayeur doit être habillé proprement et simplement. La meilleure tenue est le bleu de mécanicien ; le trayeur doit mettre un tablier blanc toujours propre et une calotte blanche cachant ses cheveux (Crapelet et Thibier, 1973).

### **3.2 Animal**

- Propreté générale : elle sera obtenue par une litière correcte, si nécessaire un pansage journalier évitant la présence de souillures voire de plaques d'excréments.

- Propreté de la mamelle : elle sera acquise par le passage sur le pis d'un linge propre trempé de solution légèrement antiseptique tiède ; cette dernière devra être renouvelée aussi souvent que nécessaire pour rester propre et remplir son rôle.

- Pour la traite en étable, la queue devra être attachée, pour éviter qu'elle ne souille le lait. - Santé : on détectera précocement et systématiquement les maladies particulièrement dangereuses : tuberculose, mammites (Crapelet et Thibier, 1973).

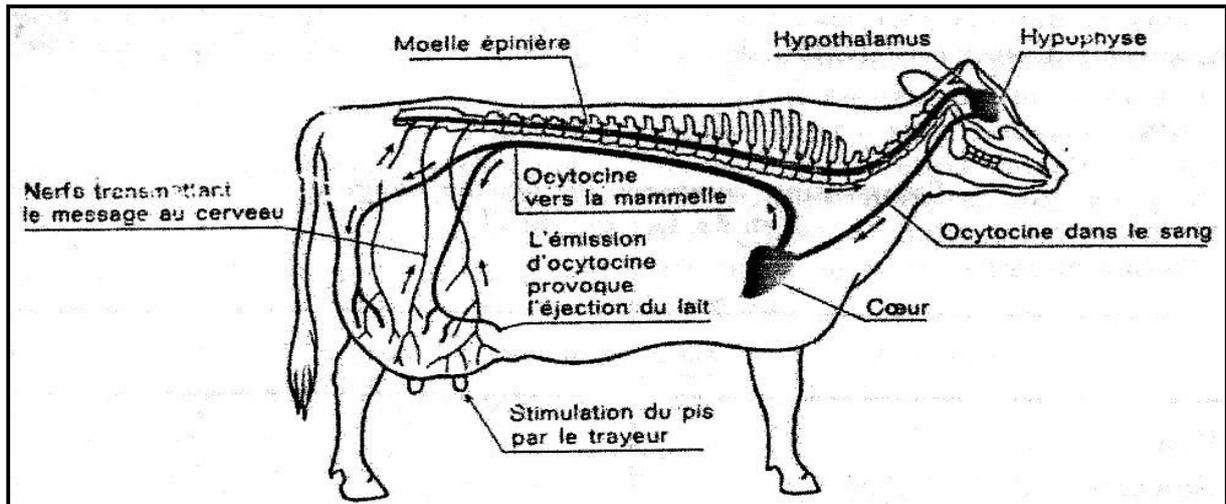


Figure 1 : Schémas simplifié du réflexe neuro-humoral provoquant l'éjection du lait. [Whittlestone, 1968].

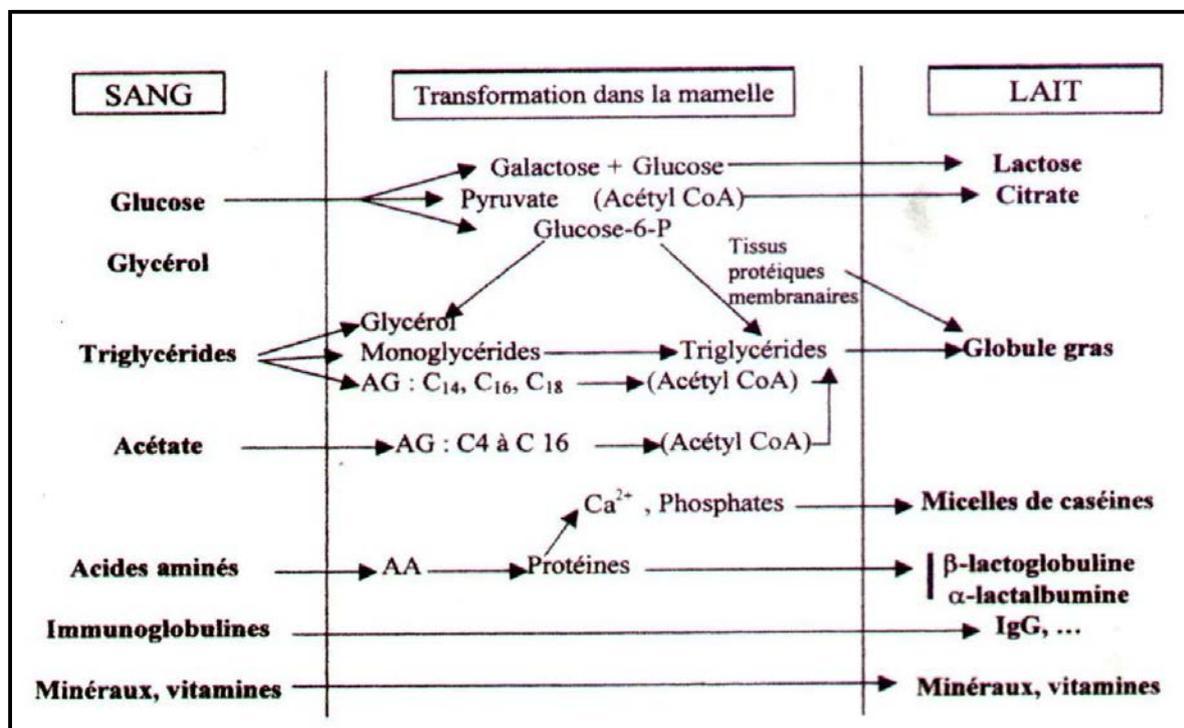


Figure 2 : La lactogénèse simplifiée des composants principaux. [Debry, 2001].

### **3. CONSERVATION DU LAIT A LA FERME**

La réfrigération du lait à la ferme, qui s'est généralisée en Europe vers les années 70, a constitué un grand progrès d'un point de vue hygiénique (le taux de contamination des laits collectés en bidons non réfrigérés dépassait souvent 106 germes/ml alors qu'il est, maintenant, inférieur à 50 000 germes/ml).

Mais, la flore dominante n'est pas la même car le froid favorise le développement d'espèces psychrotrophes qui peuvent générer des enzymes protéolytiques et lipolytiques susceptibles d'altérer la qualité et la stabilité des laits (Veisseyre, 1979).

Le froid peut également entraîner des perturbations de nature physico-chimique ou biochimique avec des conséquences sur la qualité technologique des laits (stabilité thermique, aptitude à la transformation en fromage).

Les plus importants sont la solubilisation de la <sup>2</sup>-caséine, la solubilisation des sels minéraux, la tendance à la cristallisation de la matière grasse et l'altération de l'équilibre des bactéries dans le lait (Bennett et al., 2005). C'est pourquoi il est recommandé, pour certaines fabrications, de ne pas prolonger la réfrigération au-delà de 48 heures.

De plus, cette évolution s'est traduite par un mélange de laits issus de plusieurs traites et provenant de plusieurs troupeaux, ce qui peut avoir un impact négatif pour les producteurs qui font des efforts de qualité (Académie des Technologies, Académie d'Agriculture de France, 2004).

Ainsi et afin d'obtenir un lait cru de bonne qualité microbiologique, deux paramètres sont à considérer le premier étant de réduire au minimum la contamination initiale; l'autre est représenté par le refroidissement à basse température (< 4°C), rapide du lait afin de ralentir le développement des microorganismes. C'est ainsi que l'on a souvent tendance à surestimer les avantages que présente l'utilisation du froid artificiel en oubliant que la qualité microbiologique du lait dépend avant tout des soins qui sont apportés au moment de sa récolte : le froid n'améliore pas la qualité microbiologique du lait, il ne fait que la conserver (Dieng, 2001).

**Tableau n°7:** Récapitulatif des règles pratiques d'hygiène de traite (Charron, 1986)

	Recommandé	Acceptable	A éviter
Lavage des mamelles	Lavette individuelle pour le lavage et l'essuyage	Douchette et essuyage avec des serviettes individuelles de papier	Une même lavette pour plusieurs vaches Mamelles dégoulinantes à la pose des gobelets Suppression du lavage
Elimination des premiers jets	Dans un récipient	Au sol en salle de traite	Sur les mains Au sol en étable entravée
Pose des gobelets	Immédiatement après le lavage Pas d'entrée d'air		Attente prolongée après le lavage Entrée d'air importante
Ordre de traite	Traite en dernier des vaches infectées (cas clinique, CMT ou taux cellulaires élevés)	Un ou deux faisceaux supplémentaires en salle de traite pour les vaches infectées	Absence totale de précaution
Fin de traite	Egouttage bref sans entrée d'air Dépose des gobelets par gravité après coupure du vide	Suppression complète de l'égouttage Utilisation de systèmes de décrochage automatique fonctionnant bien	Egouttage long, avec entrée d'air Dépose par arrachage avec entrée d'air Longue sur traite
Désinfection des trayons	Systématiquement après chaque traite après trempage	Utilisation de certains systèmes de pulvérisation	Pas de désinfection ou désinfection mal faite et intermittente
Autres	Traite en douceur Pas de modifications brutales de la routine		Coups, bruits, chocs élec. Modifications brutales de la routine

## **4. PRODUITS LAITIERS :**

### **4.1 Crèmes de consommation**

La crème (agroalimentaire) est une préparation alimentaire obtenue par écrémage du lait, et beaucoup plus riche en matières grasses que celui-ci. La crème sert essentiellement à la fabrication du beurre mais est également commercialisée en tant que crème fraîche.

La crème épaisse contient environ 50 p. 100 de matières grasses, la crème liquide 30 p. 100, et la crème légère 12 p. 100. On conditionne également la crème sous pression (chantilly) avec addition de sucre (15 p. 100), de gélatine (0,1 p. 100) et de protoxyde d'azote. On distingue :

La « crème crue » : seulement si elle n'a pas fait l'objet de traitement thermique ;

La crème pasteurisée ou « fraîche » : seulement si la crème n'a pas subi de traitement thermique autre que celui de la pasteurisation et si elle été conditionnée sur le lieu de production dans les 24 heures suivant celle-ci ;

La crème fouettée : lorsque la crème a subi un foisonnement.

### **4.2 Crèmes glacées, glaces et sorbets**

Ce sont des desserts lactés comprenant une grande variété de produits ;

crèmes glacées ou glaces à la crème : les dénominations « crème glacée », « glace à la crème » sont réservées aux produits obtenus par la congélation d'un mélange pasteurisé de lait, crème et de sucre (saccharose) , parfumé à l'aide de fruits, ou de jus de fruits, ou de l'un des arômes naturels prévus .

Glace aux œufs : la dénomination « glace aux œufs » suivie d'un nom d'arôme naturel est réservée aux produits obtenus par congélation d'un mélange pasteurisé de lait, de jaune d'œufs et de sucre (saccharose).

### **4.3 Beurre (industrie beurrière)**

Le beurre est extrait de la crème du lait de vache.

Définition : la dénomination « beurre » avec ou sans qualificatif est réservée exclusivement à une émulsion résultant du barattage de la crème ou du lait de vache qui sur 100g ne doit pas renfermer plus de 18g de matière non grasse dont 16g maximum d'eau.

Composition :

Le beurre est composé de :

-eau : 16%

-matière grasse : 82%

-éléments non gras : 02%

#### **4.4 Fromage (industrie fromagère) :**

Le fromage, produit frais ou affiné, est obtenu par égouttage après coagulation du lait, de la crème, du lait écrémé ou partiellement écrémé.

Classification :

Elle se fait en fonction :

-de la teneur en matière grasse (fromage maigre, gras, etc.);

-de l'origine animale (fromage de chèvre, vache, etc.);

-du mode de fabrication (KEILING). Ainsi on distingue :

Le fromage à pâte fraîche ou fromages blancs Ils sont obtenus par caillage acide. Sont très humides (60 à 80% d'eau) et consommés en l'état ou additionnés de sel, de sucre, arômes, d'herbe, etc.... Exemple : « Petit suisse ».

Le fromage à pâtes molles : à croûte fleurie (Camembert), à croûte lavée définies (Pont l'Évêque), à croûte non définies (Carré de l'Est, Le Saint-Marcellin) et à croûte séchée (Le Chèvre).

Le fromage à pâtes pressées : à croûte moisie (St Nectaire), croûte lavée (St Paulin).

Le fromage à pâtes fermes non cuites : à croûte lavée (Cantal).

Le fromage à pâtes fermes cuites : à croûte avec ouverture (Comté), à croûte sans ouverture (Beaufort).

## **5 .Exemples Produits laitiers fermentés traditionnels Algériens**

### **5.1. L'ben**

L'origine de ce produit remonte à des temps immémoriaux, probablement à l'époque où l'homme a commencé à domestiquer les espèces laitières et à utiliser leurs laits. Sa fermentation lactique lui donne son arôme naturel et sa saveur inimitable. Sa préparation artisanale est simple, le lait est abandonné à lui-même jusqu'à sa coagulation. Celle-ci se fait à température ambiante et dure 24 à 48 h selon la saison. Le barattage qui lui succède dure 30 à 40 minutes. A la fin du barattage, on ajoute généralement un certain volume d'eau (environ 10 % du volume du lait), chaude ou froide, suivant la température ambiante, de façon à ramener la température de l'ensemble à un niveau convenable au rassemblement des grains de beurre (Ouahghiri, 2009 ; Benkerroum et Tamime, 2004).

## **5.2. Raïb**

Le Raïb fait partie des produits laitiers fermentés populaires en Algérie, en plus du L'ben (lait écrémé fermenté). Le Raïb a une très ancienne tradition en Algérie; il est fabriqué à partir du lait cru de vache ou de chèvre. La fermentation du lait, comme de nombreux procédés traditionnels de fermentation, est spontanée et incontrôlée et pourrait être une source précieuse des bactéries lactiques autochtones (**Mechai et Kirane, 2008**).

## **5.3. Bouhezza**

Ce type de fromage est répandu dans le territoire de l'Aurès (zone Chaouia). Il est fabriqué à partir de lait de chèvre, de vache ou de brebis baratté et écrémé (Iben) (**Touati, 1990 et Hallal, 2001**). Le salage, l'égouttage et l'affinage sont réalisés simultanément dans une outre perméable (Chekoua) avec incorporation de poudre du piment rouge (figure 4), la fabrication de bouhezza dure plusieurs semaines à plusieurs mois, il a un goût acidulé fort caractérisé au fromage (**Zaidi, 2002**).

## **5.4. Klila**

La klila est préparée à partir du lben chauffé sur feu doux pendant 12 minutes environ pour favoriser la séparation du caillé et du lactosérum et accélérer le processus d'égouttage. Le lait caillé est égoutté dans un tissu fin. La klila peut être consommée à l'état frais ou additionnée à certains plats traditionnels après avoir été coupé en petits cubes et séchés au soleil (**Touati, 1990**).

## **5.5. Takammart**

D'après (Hellal, 2001), c'est un fromage du Hoggar, il est fabriqué par introduction d'un bout de caillette de jeunes chevreaux dans le lait, après quelques heures, le caillé est retiré à l'aide d'une louche et déposé en petits tas sur une natte et sera ensuite pétri pour évacuer le sérum puis déposé sur une autre natte faite de tige de fenouil sauvage qui lui donne de l'arome. Les nattes sont ensuite placées à l'ombre jusqu'à durcissement du fromage. Le fromage peut subir un affinage durant un mois (**Gast et coll., 1969 cité par Abd Elaziz et Ait Kasi, 1992**).

## **5.6. Aoules**

Il est fabriqué à partir du lait de chèvre qui est extrêmement aigre. Après une coagulation intense, le fromage obtenu a une pâte dure (matière sèche représente 92%). L'égouttage se fait dans une paille ensuite, il est reformé sous forme des boules plates séchées au soleil, il peut être consommé en mélange avec les dates (**Abdelaziz et aitkaci, 1992**).

## **5.7. Lebaa**

La matière première est le colostrum, parfois il est mélangé avec des oeufs, il est salé puis bouillit pendant 15 mn environ. Le produit obtenu est appelé lebaa (**Lemouchi, 2008**).

### **5.8. Méchouna**

Il est fabriqué à partir du lait cru qui est chauffé jusqu'à ébullition. Ensuite, on ajoute de lait fermenté <<Iben>> ou <<rayeb>> et du sel. En utilisant une gaze, le mélange est laissé égoutter. Il est consommé frais ou avec la galette (**Lemouchi, 2008**).

### **5.9. Madghissa**

Le fromage est connu dans la zone du chaouia coté Est du pays. Il est préparé avec la klila fraîche après salage et incorporation du lait frais. L'ensemble est porté à ébullition sur feu doux jusqu'à séparation du caillé et de lactosérum. Après refroidissement du mélange, la marmite est basculée pour éliminer le lactosérum. Le fromage ainsi préparé est une pâte jaune salée et élastique appelée madghissa (**Aissaoui, 2003**).

### **5.10. kémaria**

La kémaria c'est un type de fromage traditionnel qui caractérise une place très important dans la société d'une valeur de consommation très remarquable autochtone de la wilaya de Ghardaïa. (**HARROUZ et OULAD HADJ, 2007**).

### **5.11. J'ben (Fromages frais traditionnel)**

Le « J'ben » est le fromage traditionnel frais le plus connu depuis fort longtemps aussi bien en milieu rural qu'en milieu urbain. Le J'ben est obtenu par coagulation enzymatique (présure extrait à partir de la caillette de veau). Le lait destiné à la fabrication est chauffé, une fois tiède, un fragment de caillette bovine est macéré dans le lait. après coagulation du lait et égouttage, le caillé ainsi obtenu peut être salé ou additionné de quelques épices ou de plantes aromatiques (**Abdelaziz et Ait Kaci, 1992**).

Le fromage frais commercialisé est fabriqué soit à partir du lait de vache ou du lait de chèvre. Le processus de fabrication nécessite trois grandes étapes essentielles : la maturation, la coagulation et l'égouttage (**Randazo et al., 2002**).

## **6. Fausses idées et rumeurs sur la consommation de lait**

On ne cesse de progresser dans la connaissance du lait et des produits laitiers et de leur trouver de nouvelles vertus pour la santé. Pourtant, selon certaines rumeurs, le lait serait responsable d'au moins « 60 à 70% des troubles rencontrés en médecine générale » : allergies, otites, diabète, polyarthrite rhumatoïde, cancers... Il faudrait donc exclure le lait et les produits laitiers de notre alimentation ?

Certains font une généralité de ces cas isolés d'intolérance ou d'allergie : ils les tiennent pour preuve de la nocivité absolue des produits laitiers, et, dans des livres, des interviews dans les médias, ou encore sur des sites internet, ils déconseillent à tous de les

consommer. Ce discours se développe surtout dans le milieu des médecines alternatives qui considèrent que l'alimentation moderne est la cause de la plupart de nos maux. Il est également soutenu par les militants d'une idéologie qui ne voit en l'Homme qu'un animal comme les autres. A leurs yeux, consommer des produits animaux (tels le lait, les œufs, le miel...) revient à exploiter ses semblables à son seul profit. Il faut donc les bannir de notre alimentation. Pour servir leur combat, ils n'hésitent pas à relayer les propos alarmistes sur le lait et les produits laitiers.

Les discours ainsi développés sont un adroit mélange de vérités et d'erreurs, d'un peu de science et de beaucoup de croyances. Ils sont suffisamment efficaces pour alimenter les rumeurs. Pourtant on consomme du lait et des produits laitiers depuis des millénaires et les autorités scientifiques (Ministère de la Santé, AFSSA...) recommandent de poursuivre cette consommation : le Plan National Nutrition Santé mis en place par le Ministère de la Santé recommande 3 produits laitiers par jour [1].

Ce qui est valable à l'échelle d'une population peut ne pas l'être pour un individu en Particulier. Si la plupart des personnes consomment des produits laitiers sans aucun problème de santé, certaines peuvent ne pas bien les tolérer. Ce n'est pas spécifique aux produits laitiers mais valable pour tous les groupes d'aliments...

- Il faudrait supprimer le lait et les laitages quand on a des rhumatismes [2]

Les otites sont dues la plupart du temps à des virus ou à une bactérie, à la suite d'un rhume, ou peuvent provenir d'un problème mécanique : la trompe d'Eustache se bouche, ce qui entraîne une inflammation de l'oreille. De récentes études sur l'influence de la consommation de lait sur les affections rhino-pharyngées n'ont mis en évidence aucune corrélation entre la consommation de lait et une augmentation des sécrétions.

- Le lait favoriserait le diabète [2]

La rumeur associe les produits laitiers au diabète insulinodépendant, appelé aussi diabète de type 1. Il survient généralement avant 30 ans. C'est une maladie d'origine essentiellement génétique. Le rôle de l'alimentation précoce de l'enfant, notamment celui des protéines de lait, a cependant été très étudié. Les études biologiques, épidémiologiques, expérimentales se poursuivent, mais il n'existe actuellement aucune preuve d'un lien de cause à effet entre produits laitiers et diabète de type 1.

- Le lait provoquerait des cancers [2]

Rumeur infondée et démentie au plus haut niveau : dans un document réalisé en 2003 à la demande de la Direction générale de la santé (DGS), quatre chercheurs de l'Unité de surveillance et d'épidémiologie nutritionnelle mettent les choses au point : « Cette idée fautive, véhiculée par quelques gourous pseudo-scientifiques est particulièrement importante à battre en brèche, compte tenu du fait qu'elle peut amener certains consommateurs à abandonner la prise de ces sources majeures de calcium, nutriment essentiel intervenant, entre autres, dans la minéralisation osseuse. On ne peut en aucun cas mettre en accusation le lait et les produits laitiers en termes de risque de cancer. A l'inverse, on recommande de consommer trois produits laitiers par jour ! ».

*Partie*  
*Expérimentale*



## 1. Matériel et méthodes

### 1.1 Lieu et période de travail

Ce travail a été réalisé au laboratoire de Microbiologie de l'Université de Mostaganem « Abdelhamid Ibn Badis » du 02 avril au 15 juin 2017.

### 1.2 Provenance des échantillons

Les bactéries lactiques utilisées au cours de notre travail sont des bactéries isolées par nous même à partir du lait traité des 3 vaches provenant de la ferme de Hassi mamèche de la région de Mostaganem. Les prélèvements sont réalisés dans des conditions aseptiques selon les règles d'hygiène et d'asepsie recommandées en microbiologie.

Après lavage à l'eau savonneuse, rinçage à l'eau javellisée puis séché avec une lingette stérile des mamelles de la vache, le lait a été recueilli dans des flacons stériles (250 ml/flacon) après avoir éliminer quelques jets, conservé dans une glacière et acheminé directement au laboratoire pour l'analyser.

L'enrichissement est réalisé en incubant les échantillons à 30°C pendant 24h (**Badis et al., 2004**).



**Figure 9:** Prélèvement des échantillons du lait à partir des vaches de la ferme de Hassi mamèche de la région de Mostaganem.

### **1.3 Analyses Physicochimique du lait avec le « Lactocan »**

Le lactoscan est un analyseur chimique moderne qui convient à l'analyse de tout type de lait. Grâce à la technologie à ultrasons qu'il utilise, il n'est pas nécessaire de procéder à son calibrage à intervalles réguliers. Il est automatiquement calibré, sans utilisation d'ordinateur.

La précision des déterminations ne dépend pas de l'acidité du lait et l'analyse peut être réalisée dès la température de 5°C.

Dans sa version de base, Lactoscan est proposé réglé pour l'analyse de lait de vache, de brebis et de chèvre. En option, il est proposé avec réglages pour l'analyse d'autres produits laitiers telle que la crème de lait, le lait concentré ou écrémé. En outre, le calibrage peut être effectué par l'utilisateur, pour analyser des échantillons de yaourt, de mélange de crème glacée ou de lactosérum.



**Figure 10 : Le Lactoscan l'analyseur chimique moderne**

#### **1.4 Préparation des échantillons**

Après homogénéisation vigoureuse des échantillons, on a réalisé une série de dilutions décimales de  $10^{-1}$  à  $10^{-6}$

A partir de chaque dilution on a déposé 0,1ml dans une boîte de Pétri contenant du milieu :

- MRS (**De Man *et al.*, 1960**) ajusté à pH 5,4 et dans une seconde boîte contenant du milieu
  
- M17 (**Terzaghi et Sandine, 1975**) ajusté à pH 7,2 On a étalé par la suite ces gouttes sur les milieux de cultures à l'aide d'un étaloir en verre stérile.

Les boîtes sont incubées à 30° et 42 °C pendant 24 à 72 heures.

#### **1.5 Isolement et purification des souches bactériennes**

Les bactéries lactiques ont été obtenues à partir des dilutions ayant donné moins de 10 colonies par boîtes de Pétri (**Leisner *et al.*, 1997**). On a repiqué au hasard quelques colonies bien isolées dans un nouveau milieu de culture solide (M17 et MRS) et porté à incubation à 30°C et 42°C pendant 24 heures.

Les colonies obtenues sont examinées macroscopiquement et les bactéries sont caractérisées microscopiquement après une coloration de Gram. Les isolats qui montrent généralement les caractéristiques présomptives des bactéries lactiques sont purifiés par la méthode des stries sur milieu solide (M17 et MRS). Ces colonies pures sont retenues pour la suite de l'étude.

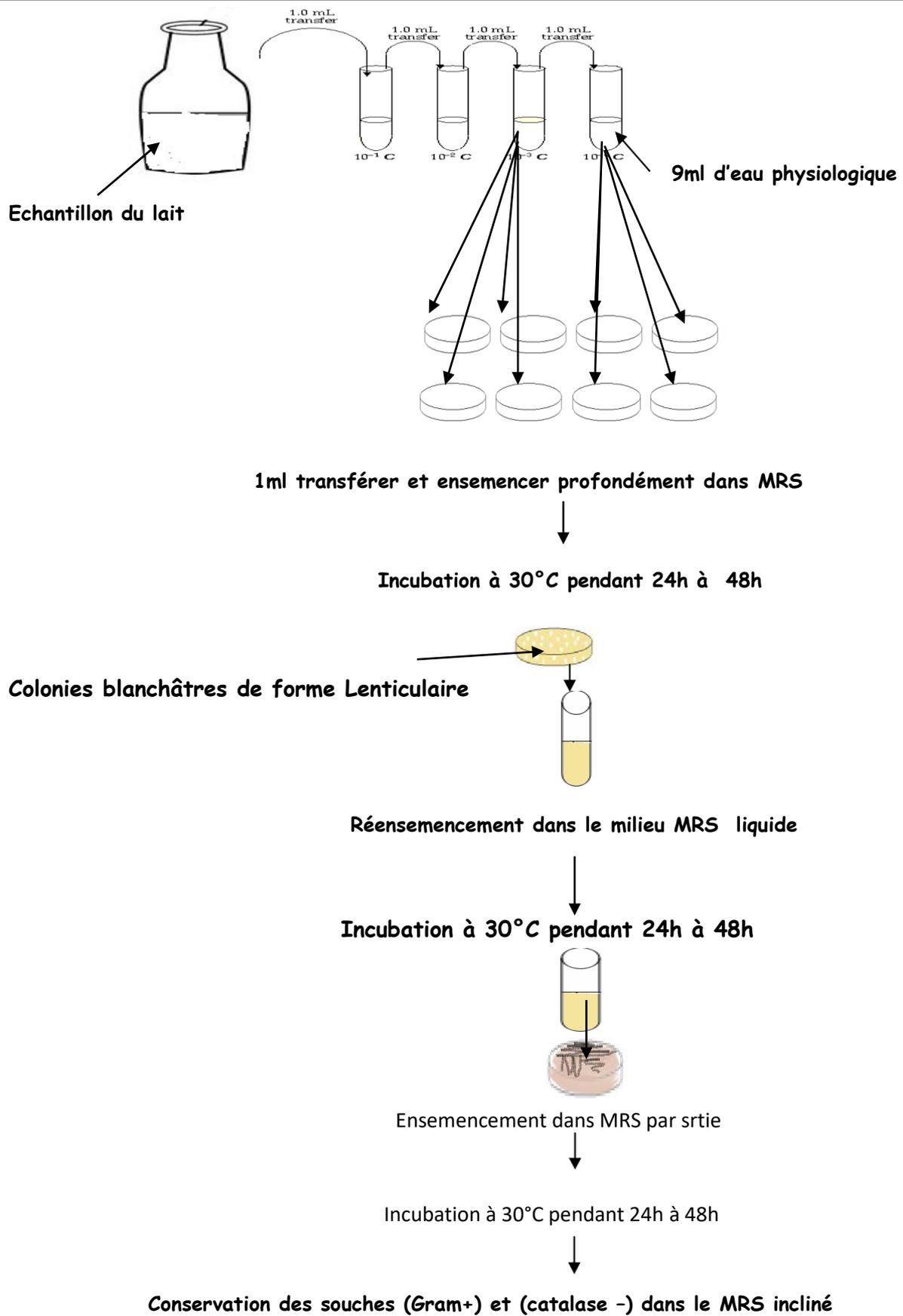


Figure 11 : Schéma résumant la méthode utilisée pour l'isolement et la purification des souches

## **1.6 Conditions de culture et conservation des bactéries**

### **1.6.1 Milieux de culture**

Pour la culture de ces souches, nous avons utilisé différents milieux de culture liquides ou rendus solides si c'est nécessaire par l'ajout de 2 % d'agar-agar.

Milieu M17 (**Terzaghi et Sandine, 1975**) :

Ce milieu est recommandé pour la culture de *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Enterococcus* et *Pediococcus*. Il est constitué d'une solution de base et d'une solution de lactose qui se mélange après stérilisation (voir Annexe).

Milieu MRS (**De Man et al., 1960**) :

Ce milieu est recommandé pour la culture de *Lactobacillus* et *Leuconostoc* (voir Annexe).

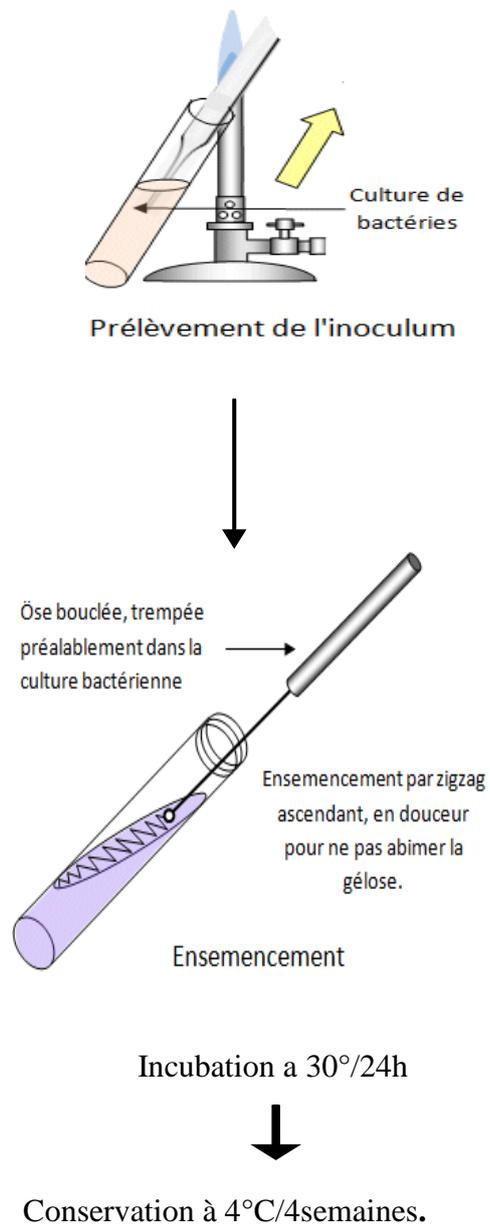
### **1.6.2 Conditions de culture.**

Nous avons réalisé nos cultures bactériennes dans différents milieux, les bactéries ensemencées en milieu solide ou liquide ont été portées à l'étuve à 30°C et 42 °C pendant 24heures.

### **1.6.3 Conservation des souches**

La conservation des souches à courte durée a été effectuée à 4°C dans des tubes à essais en géloses inclinées en tubes à raison d'un repiquage toutes les 4 semaines.

**(Badis et al., 2005).**



**Figure12:** Schéma de conservation courte durée des bactéries lactiques purifié

## **1.7 Identification des isolats**

L'identification des souches a été réalisée par l'application des techniques classiques de microbiologie basées sur la recherche d'un certain nombre de caractères morphologiques, physiologiques et biochimiques.

## **1.8 Caractérisation phénotypique des souches**

### **1.8.1 Étude morphologique**

L'étude macroscopique nous a permis de noter le diamètre, la pigmentation et l'aspect des colonies. L'étude microscopique par l'intermédiaire de la coloration de Gram, nous a permis d'examiner la forme, le mode d'association et le Gram de ces bactéries.

#### **Technique :**

La première étape de la coloration consiste à réaliser une suspension en eau physiologique à partir d'une culture jeune (sur un milieu solide) et prélever un aliquote de suspension à l'anse de platine (ou à la pipette stérile) puis on étale sur 1 à 2 cm par un mouvement circulaire en partant du centre de la lame ;

La seconde étape nécessite le séchage et la fixation par la chaleur (pour tuer les bactéries, fixer leur structure cytologique, et les faire adhérer à la lame).

La troisième étape nécessite quelques gouttes de violet de gentiane sur un frotti fixé pendant une minute, après rinçage, on ajoute de Lugol (solution aqueuse d'iode et d'iodure de potassium) pendant 30 secondes ;

La quatrième étape, à savoir le bain d'alcool 90°, (ne va traverser que la paroi de certaines bactéries « les Gram<sup>-</sup> », et décolorer leur cytoplasme). Puis on rince avec de l'eau distillée.

En fin, quelques gouttes de fuchsine de Ziehl sont versées sur la lame qu'on laisse agir une minute. La lame est lavée à l'eau distillée. Après séchage, on passe à l'observation microscopique.

## **1.9 Étude physiologique et biochimique**

### **1.9.1 Recherche de la catalase (Marchal *et al.*, 1991)**

La catalase est une enzyme de haut poids moléculaire existant chez toutes les bactéries aérobies, elle leur permet de vivre en présence d'oxygène. En plus de la chaîne respiratoire des cytochromes, il existe en effet chez les bactéries aérobies une chaîne accessoire courte, fixant l'hydrogène sur l'oxygène en aboutissant à de l'eau oxygénée (peroxyde d'hydrogène) connu pour sa haute toxicité pour les bactéries. La catalase permet la décomposition de l'eau oxygénée selon la réaction :



La recherche de cette enzyme est effectuée simplement par la mise en contact d'une colonie avec une goutte d'eau oxygénée (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) à 10V. Un dégagement gazeux abondant traduit la présence d'une catalase. Les bactéries lactiques sont catalase négative.

### **1.9.2 Test de la Thermorésistance**

Ce test permet de sélectionner des espèces thermorésistantes. Les souches à tester sont préalablement réparties dans des tubes de milieu MRS et M17. Ces tubes sont par la suite exposés à une température de 65°C pendant 30 min au bain marie. **(Guiraud, 1998).**

A partir de chaque tube traité on aensemencé un nouveau tube de milieu MRS ou M17 et porté à incubation à 30°C pendant 24 heures. Les bactéries thermorésistantes donneront sur ce milieu un trouble démontrant ainsi leur croissance **(Stiles et Holzappel, 1997).**

### **1.9.3 Croissance à différentes températures**

Ce test permet de différencier les souches thermophiles des mésophiles, ce test est réalisé en bouillon MRS et M17. La croissance est appréciée par un trouble du milieu après 24 heures à 72 heures (jusqu'à une semaine) à 4, 37 et 42°C en comparaison avec un tube témoin non ensemencé.

### **1.9.4 Tolérance au pH acide et alcalin**

La croissance des souches a été testée à différents pH (4, 6,5, 9)

La croissance se manifeste par un trouble en milieu liquide MRS **(Guiraud, 1998).**

### **1.9.6 Culture sur milieu Hypersalé**

La croissance des souches a été testée à différentes concentrations de NaCl (4% et 6,5%). La croissance des bactéries est appréciée par l'apparition d'un trouble dans les tubes **(Leveau et Bouix, 1980).**

### **1.9.7 Recherche de la production de gaz à partir du glucose (type fermentaire)**

Ce test permet d'apprécier le type de métabolisme par lequel le substrat carboné est transformé, il consiste à mettre en évidence la formation de CO<sub>2</sub> qui est piégé dans une cloche de Durham en milieu MRS-BCP et en milieu M17-BCP glucosé. Ce test permet de différencier les isolats homolactiques des hétérolactiques après une incubation à 30°C pendant 24 heures jusqu'à 72 heures.

### **1.9.8 Le lait de Sherman**

Nous avons ensemencé les isolats dans deux séries de tubes contenant du lait écrémé à 0,1% et 0,3% de bleu de méthylène (Guiraud, 1998). Le bleu de méthylène tire sa couleur grâce à l'oxygène. Ce test porte toujours sur le système respiratoire des Lactocoques, car vu que ce sont des microaérophiles, ils ne vont utiliser qu'une faible partie de l'oxygène présent dans le bleu de méthylène et de ce fait la couleur du lait (bleue) ne virera que légèrement vers le blanc et ce contrairement aux Entérocoques (aérobies) qui utilisent tout l'oxygène du bleu de méthylène (Larpent *et al.*, 1990).

### **1.9.9 L'hydrolyse de l'esculine**

On prélève une colonie d'une boîte incubée pendant 24h et on l'ensemence sur gélose à l'esculine (Lelliott et Stead, 1987). L'esculine est un hétéroside formé d'un glucide complexe qui peut être dégradé par l'esculinase. Les produits de la réaction sont le glucose et l'esculine formé peut réagir avec les ions de fer pour donner un précipité noir dans le milieu situé autour des colonies. L'incubation va de 2 jours à 5 jours à 30°C.

### **1.9.10 La production d'acétoïne**

La production d'acétoïne est testée sur milieu Clark et Lubs (Samelis *et al.*, 1994 ;Guiraud, 1998) qui est inoculé par les souches à tester et incubé à 30°C. Après 24h et dans un tube à hémolyse on dépose 2ml de cette culture avec 0.5ml de réactif  $\pm$  naphtol à 6% dans l'alcool absolu (VP1) et 0.5ml d'une solution de soude (NaOH) à 16% dans l'eau distillée (VP2) pour assurer la réaction de Voges-Proskauer dite réaction de VP, on agite soigneusement les tubes et on les laisse en contact avec l'air libre pendant 5 à 10 min à température ambiante.

La production d'acétoïne se traduit par l'apparition d'un anneau rose à la surface du milieu.

### **1.9.11 Test de fermentation des sucres**

Les souches à tester sont ensemencées dans une série de tubes de bouillons MRS-BCP contenant le sucre à tester. Le milieu de base, dépourvu de sucre et d'extrait de viande est additionné de 0,04 g/l de pourpre de bromocrésol (BCP) puis on ajoute aseptiquement un sucre à une concentration finale de 1% par tube (Tourneur, 1972). Les sucres testés sont le glucose; amidon; cellulose; galactose; saccharose; lactose; Dextrine; Mannitol, xylose et Glycérol.

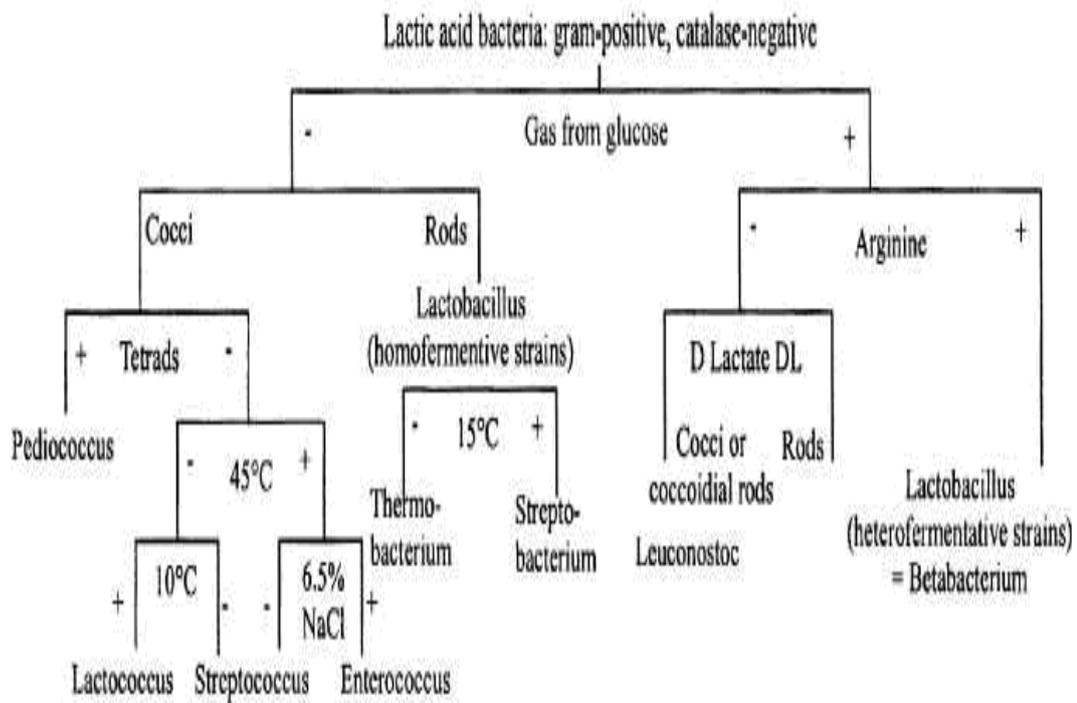
Après ensemencement des souches le mélange est recouvert de quelques gouttes d'huile de paraffine stérile pour assurer les conditions d'anaérobiose (Samelis *et al.*, 1994).

Après 48 heures d'incubation à 30°C, un virage de couleur au jaune est synonyme de croissance et fermentation de ce sucre.

**1.9.12 Recherche de l'Arginine dihydrolase (ADH)**

Cette propriété est décelée en utilisant le bouillon de Möeller (**Möeller, 1955**) ou encore sur une gélosé **MRS-BCP** rapportée par **Thomas, (1973)**. Ce milieu contient du lactose (pas plus de 2 mg/ml), de l'arginine (4mg/ml) et du pourpre de bromocrésol (0,05 mg/ml). (Voir Annexe).

Après 24 à 48 heures d'incubation à 30°C, les bactéries utilisant le lactose acidifient le milieu qui prend alors une coloration jaunâtre tandis que celles utilisant l'arginine ré alcalinisent le milieu en libérant de l'ammoniaque, et de ce fait le milieu garde sa coloration initiale violette.



**Figure 13:** indique le schéma général de différenciation des genres appartenant aux bactéries lactiques (**Carr et al., 2002**)

## 2. Résultats

### 2.1 Les resultants de l'analyse physico-chimique :

Les analyses ont été effectuées selon :

- Les normes algériennes (NA) décrites par le Ministère du commerce.
- Les normes AFNOR, ISO.

**Tableau 11: L'analyse physico-chimique de l'échantillon du lait mesuré par le "LACTOSCAN**

<b>Paramètres</b>	<b>Taux</b>
<b>Matiere grasses</b>	40 g
<b>Extrait sec dégraissé</b>	89.5 g
<b>Protéines</b>	22,4g
<b>Lactose</b>	28,7
<b>Densié</b>	1,0259
<b>Point de congélation</b>	0.266°
<b>Minéraux</b>	0.64
<b>L'acidité</b>	17,8 ° D
<b>pH</b>	6, 58
<b>Temperature</b>	<b>16,8°C</b>
<b>L'eau</b>	<b>49,23</b>

### 2.2 Isolement et purification

A partir des 3 échantillons du Lait cru, on a isolé les bactéries lactiques sur milieu MRS et M17 solide. La purification des souches lactiques isolées par plusieurs repiquages successifs sur milieu M17et MRS (alternant sur milieux liquide), on a obtenu 11 souches pures, les colonies sont d'un aspect (couleur, taille et forme) typique et homogènes, ils ont été conservées pour la suite de l'étude (figure 3,4,5,6)

## 2.3 Pré-identification des souches

Lors de cette étude nous avons identifié les souches isolées à partir du lait de vache par les procédures phénotypique conventionnelles basées sur les tests morphologiques, physiologiques et biochimiques.

### 1.3.1 Caractérisation phénotypique des souches

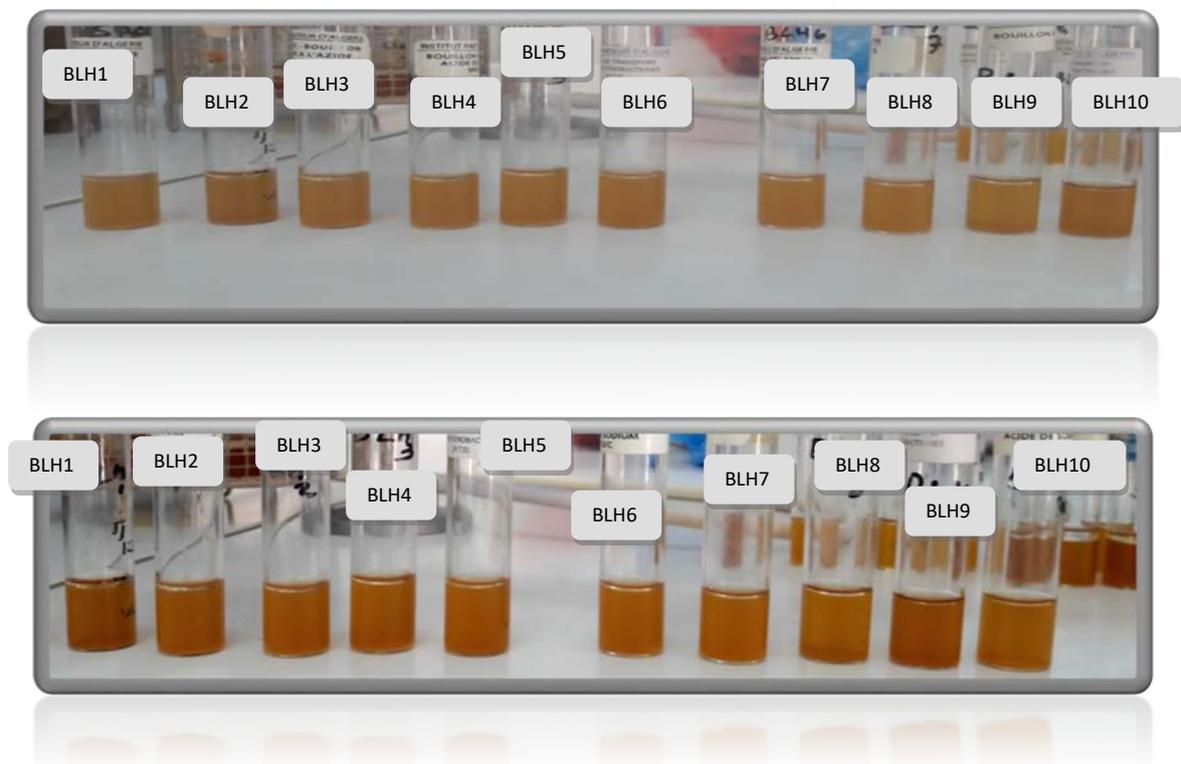
Ces tests sont effectués pour but de déterminer le genre des souches isolées

#### 1.3.1.1.Étude morphologiques

##### A/ L'aspect macroscopique

##### -Sur milieu liquide

La croissance des bactéries apparaît sous forme de trouble homogène fumeux dans le milieu MRS/M17 liquide, Ce trouble est concentré au fond du tube à la recherche des conditions anaérobiques de ces bactéries. (Kihal, 1996 ; Carr *et al*, 2002)(Figure 1).

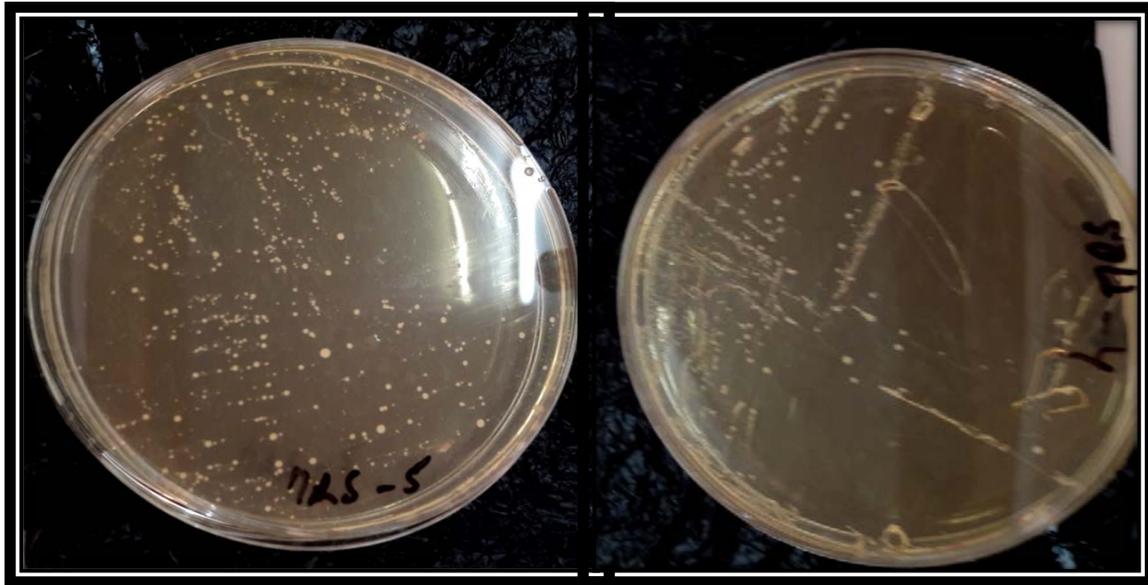


**Figure 14 : Aspect de souche pure sur MRS et M17 liquide**

**-Sur milieu solide**

Les cultures obtenues sur les boîtes de Pétri sont observées à l'œil nu pour caractériser la forme, la taille, l'aspect ainsi que la couleur des colonies (**Badis et al., 2006**).

Ces colonies sont apparues de petite taille, de forme circulaire ou lenticulaire, avec une couleur blanchâtre et d'un pourtour régulier (**Figure**) (**Voir le tableau 2**).



**Figure 15:** aspect macroscopique des BL ensemencé sur milieu MRS après isolement



**Figure 16:** Des colonies sur milieu MRS solide après purification



**Figure 17** : Bactéries Lactiques  
ensemencé sur milieu M17

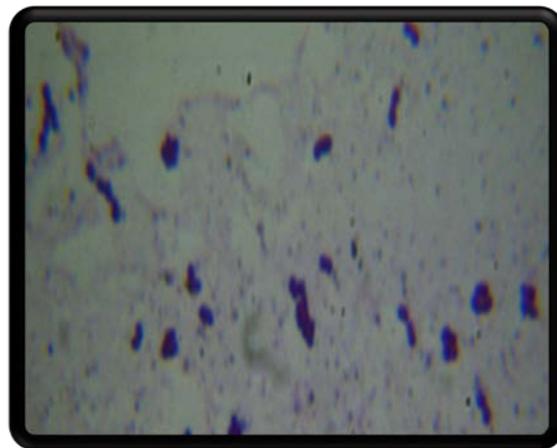
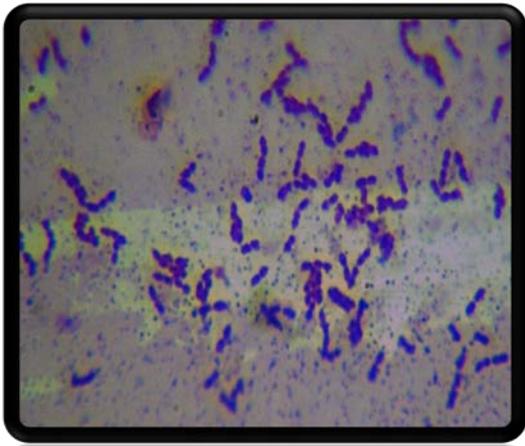


**Figure 18** : des colonies des  
bactéries lactiques sur MRS(en  
Profondeur)

### **B/ L'aspect microscopique**

L'examen microscopique nous a permis d'observer après coloration de gram que les souches testées étaient gram positif. Qui se présentent sous formes bacillaires isolés, en paires ou en chaînes, des cocci.

Cette observation permet de classer les bactéries selon le gram, leurs morphologies cellulaires et leur mode d'association (**Joffin et Leyral, 1996**).



**Figure19:** Observations microscopiques des bactéries lactiques avec un (G x100)

**Tableau 12** : Caractéristiques microscopiques des isolats de bactéries lactiques isolées du lait cru de vache

Code de souche	Gram	Catalase	Forme	Mode d'association
<b>BLH1</b>	+	-	Bâtonnet	En chaine et en diplo
<b>BLH2</b>	+	-	Bâtonnet	En chaînettes
<b>BLH3</b>	+	-	Bacilles	petites chaînettes
<b>BLH4</b>	+	-	Bacilles	Isolés et en diplo
<b>BLH5</b>	+	-	Bacilles	en diplobacilles
<b>BLH6</b>	+	-	Cocci	En chaînettes
<b>BLH7</b>	+	-	Bacilles	En diplobacilles
<b>BLH8</b>	+	-	Bacilles	En Grandes chainettes
<b>BLH9</b>	+	-	Cocci	En diplobacilles
<b>BLH10</b>	+	-	Bacilles	En chaine et en diplo

#### 2.4 Tests biochimiques et physiologiques:

- L'étude de la catalase a montré que toutes les souches utilisées sont catalase négative ce qui indique que ces dernières appartiennent probablement au groupe de bactéries lactiques.
- La croissance en présence de NaCl 4% et 6,5%, le développement sur pH 9,6 et le teste du lait bleu de Shermann à 1% et 3% de BM (bleu de méthylène) ont été aussi réalisées (**Tableau 13 et 14**)

**2.4.1 Test milieu hostile ( % NaCl ) :**

**Tableau 13 :** La croissance et la réponse des isolats aux tests de NaCl des milieux hypersalés

<b>Code des souches</b>	<b>4% de NaCl</b>	<b>6,5% de NaCl</b>
<b>BLH1</b>	+	+
<b>BLH2</b>	-	+
<b>BLH3</b>	+	-
<b>BLH4</b>	+	+
<b>BLH5</b>	+	-
<b>BLH6</b>	+	-
<b>BLH7</b>	+	-
<b>BLH8</b>	+	-
<b>BLH9</b>	-	-
<b>BLH10</b>	+	-

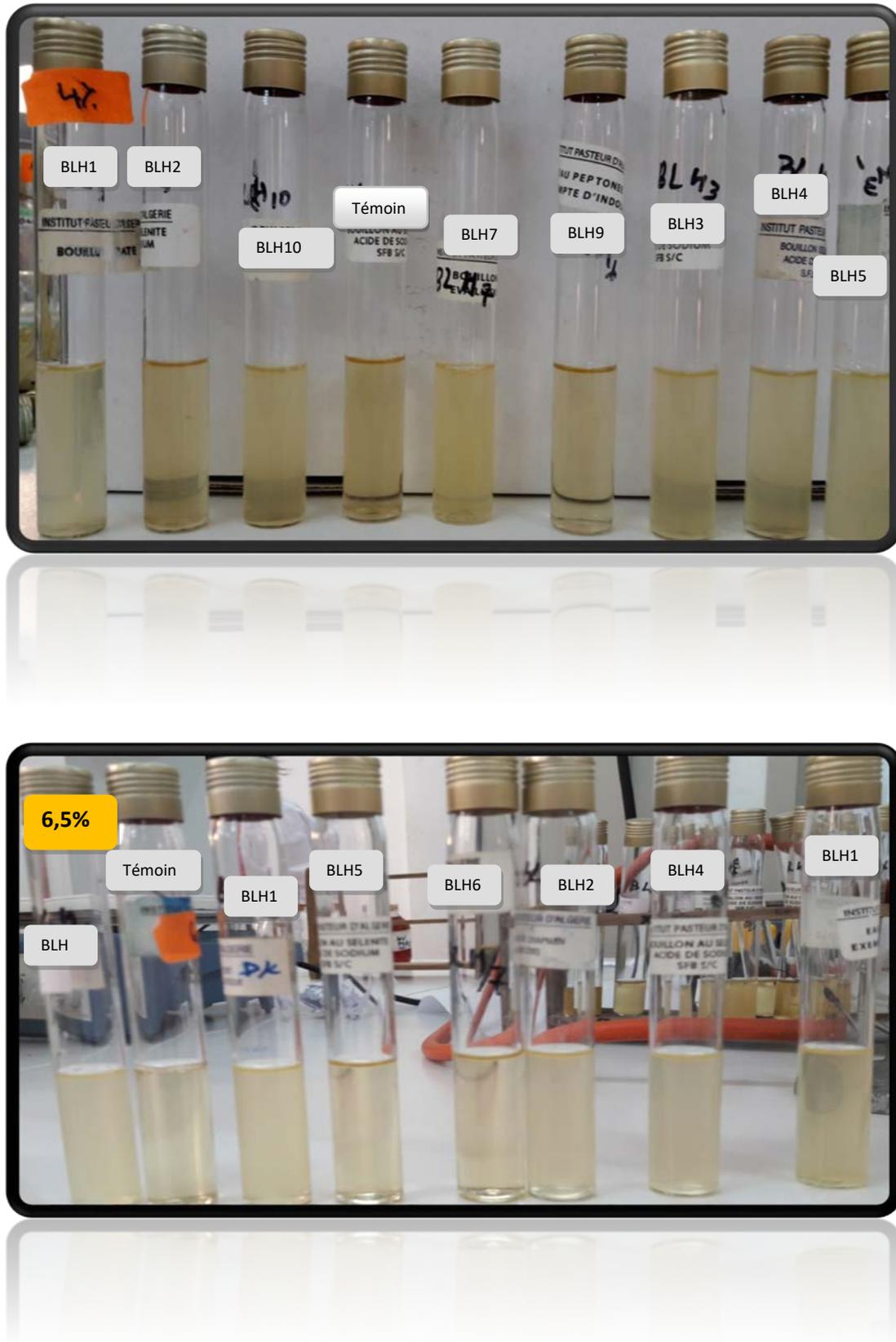


Figure 20 : La croissance et la réponse de quelques isolats aux tests de NaCl 6, 5 % et 4 % des milieux hypersalés

**Tableau 14:** Résultats de la culture des souches de cocci dans le lait bleu de Sherman à 1% et 3% de Bleu de Méthylène

Code de souche	1% de BM		3% de BM	
	R	C	R	C
<b>BLH1</b>	+	+	+	+
<b>BLH2</b>	+	+	+	+
<b>BLH3</b>	+	+	+	+
<b>BLH4</b>	+	+	+	+
<b>BLH5</b>	+	+	+	+
<b>BLH6</b>	+	+	+	+
<b>BLH7</b>	+	+	+	+
<b>BLH8</b>	+	+	+	+
<b>BLH9</b>	+	+	+	+
<b>BLH10</b>	+	+	+	+

+ : test positif - test négatif R : réduction C coagulation



**Figure 21:** les résultats de la croissance des isolats sur lait de Sherman les tubes blancs indiquent une réaction positive.

**2.4.2 Croissance à des différentes températures et la thermorésistance**

L'étude de la croissance à 4°C à 37°C et 42°C et Le test de la thermorésistance à 65° pendant 30mn (**Badis et al.2004**) permet de faire la différence entre la flore thermophile et mesophile.

**Tableau 15:** Résultats des tests de températures et de thermo résistance

Souches	Culture à 4°C	Culture à 37°C	Culture à 42°C		Thermorésistance (65°C)
<b>BLH1</b>	+	+	+	<b>Thermophile</b>	-
<b>BLH2</b>	+	+	+	<b>Thermophile</b>	-
<b>BLH3</b>	+	+	-	<b>Mésophiles</b>	-
<b>BLH4</b>	-	+	-	<b>Mésophiles</b>	-
<b>BLH5</b>	+	+	-	<b>Mésophiles</b>	-
<b>BLH6</b>	+	+	-	<b>Mésophiles</b>	-
<b>BLH7</b>	+	+	-	<b>Mésophiles</b>	-
<b>BLH8</b>	+	+	+	<b>Thermophile</b>	+
<b>BLH9</b>	-	+	-	<b>Mésophiles</b>	-
<b>BLH10</b>	+	+	-	<b>Mésophiles</b>	-

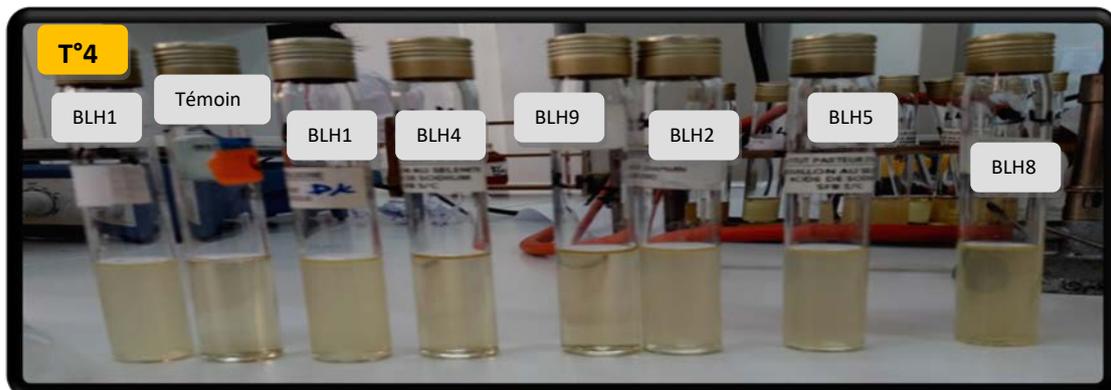
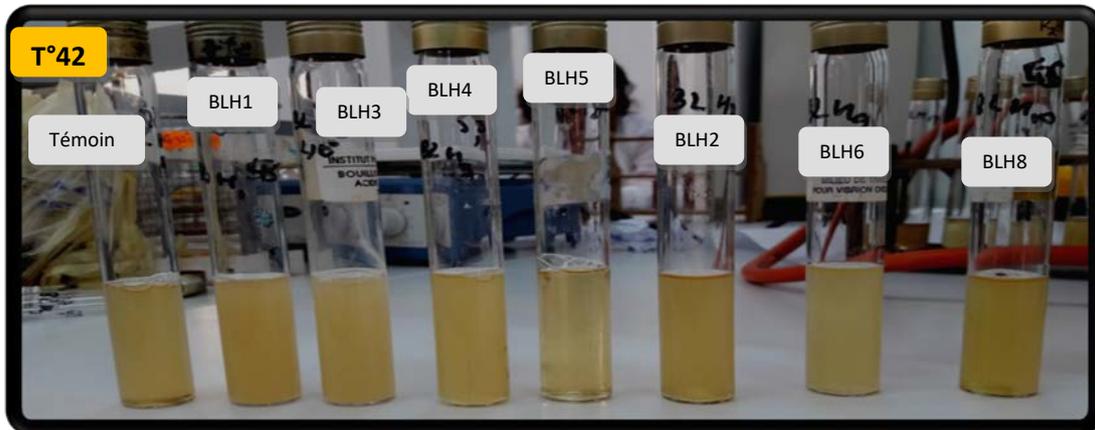
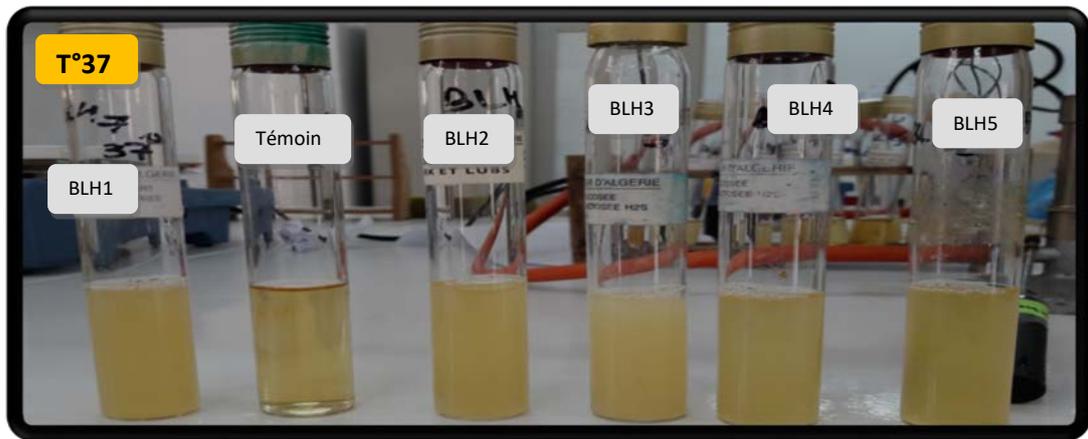


Figure 22: Résultats des tests de températures à 4°C 37°C et 42 °C

### 2.4.3 Tolérance au pH acide et alcalin

Les résultats de la croissance des souches ont été testée à différents pH (4, 6,5, 9)

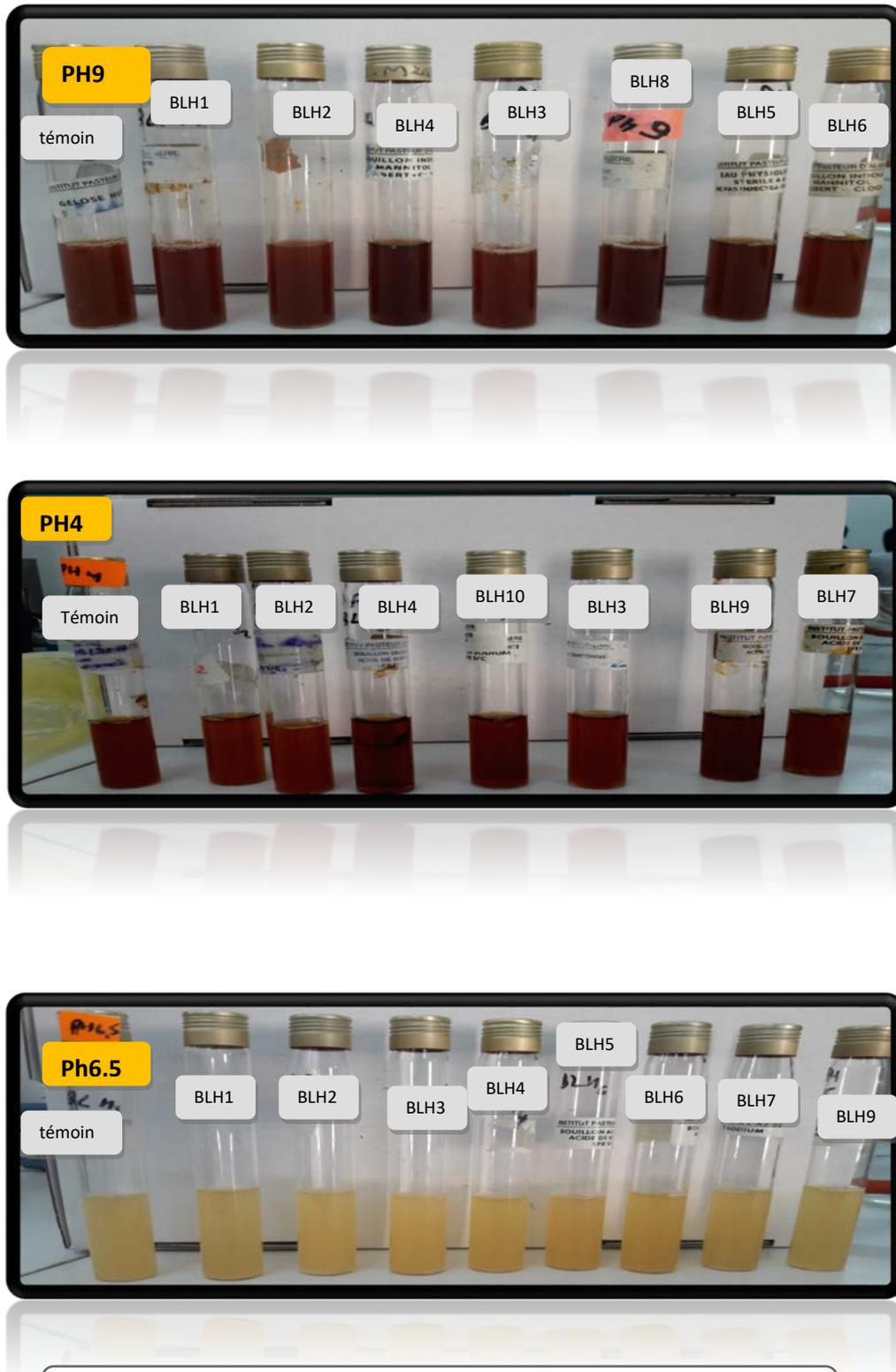


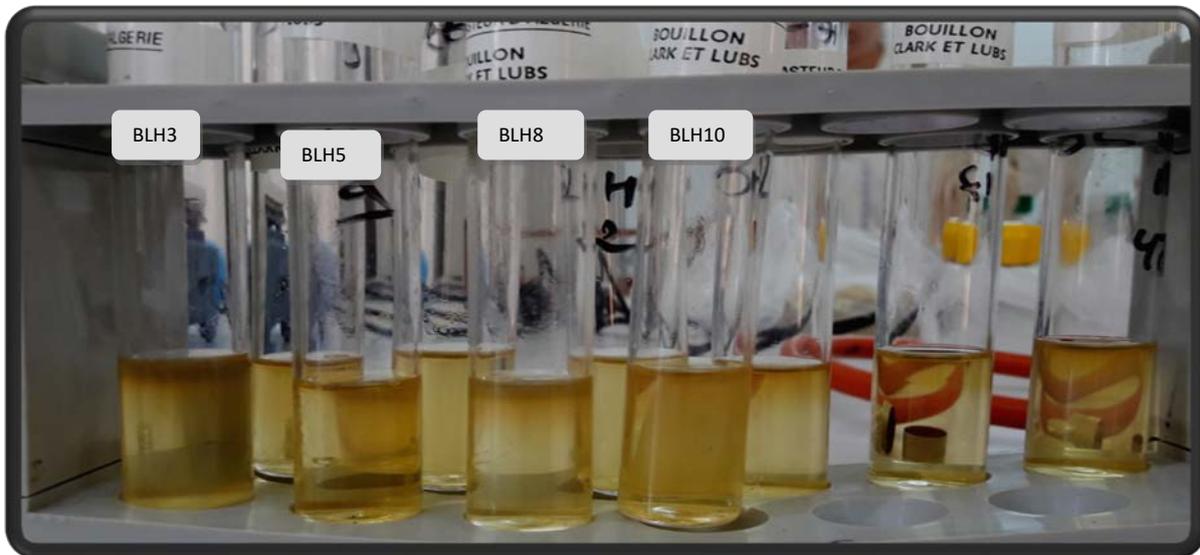
Figure 23 : Résultats des tests de différents pH

**Tableau 16:** Résultats des tests de différents pH (4, 6,5, 9 )

<b>Souches</b>	<b>pH= 4</b>	<b>pH= 6,5</b>	<b>pH= 9</b>
<b>BLH1</b>	+	+	-
<b>BLH2</b>	+	+	-
<b>BLH3</b>	+	+	-
<b>BLH4</b>	-	+	+
<b>BLH5</b>	+	+	-
<b>BLH6</b>	+	+	-
<b>BLH7</b>	+	+	-
<b>BLH8</b>	+	+	+
<b>BLH9</b>	-	+	-
<b>BLH10</b>	+	+	-

**2.4.5 Teste d'acétoïne :**

La production d'acétoïne se traduit par l'apparition d'un anneau rose à la surface du milieu, nos résultats révèlent que seulement les isolats BLH3, BL5, BL8 et BL10 sont productrisent d'acétoïne (VP<sup>+</sup>).



**Figure 24:** Résultats positifs du test d'acétoïne sur milieu Clark et Lubs. (FIL, 1996) (Production d'acétoïne: apparition d'anneau rose à la surface)

**Tableau 17:** représente les résultats du test d'acétoïne

Souches	acétoïne
<b>BLH1</b>	-
<b>BLH2</b>	-
<b>BLH3</b>	+
<b>BLH4</b>	-
<b>BLH5</b>	+ -
<b>BLH6</b>	-
<b>BLH7</b>	-
<b>BLH8</b>	+ -
<b>BLH9</b>	-
<b>BLH10</b>	+ -

**2.4.6 Le test du type fermentaire :**

Nous a permis de différencier entre les souches homo fermentaire et les souches hétéro fermentaire on utilise un milieu stérile qui contient une cloche de Durham, la présence de gaz dans la cloche de Durham indique un métabolisme hétéro fermentaire, les résultats obtenus confirme que 50 à nos souches étaient homo fermentaire et 50% heterofermentaire.



**Figure 25:** Résultat du test type fermentaire sur milieu stérile qui contient une cloche de Durham.

**Tableau 18 :** représente les Résultats du test du type fermentaire

Souches	Homofermentaires	Hétérofermentaires
<b>BLH 1</b>	+	-
<b>BLH2</b>	-	+
<b>BLH3</b>	+	-
<b>BLH4</b>	+	-
<b>BLH5</b>	+	-
<b>BLH6</b>	-	+
<b>BLH7</b>	-	+
<b>BLH8</b>	+	-
<b>BLH9</b>	-	+
<b>BLH10</b>	-	+

### 2.4.7 L'hydrolyse de l'esculine

L'esculine est un hétéroside (molécule composée d'un ose associée à une structure non osidique).

L'hydrolyse de l'esculine, catalysée par une  $\alpha$ -glucosidase : l'esculinase, est un des critères usuels utilisé dans l'identification différentielle au sein de nombreux genres bactériens.

La dégradation de l'esculine en glucose et esculetine est détectée par l'observation d'un complexe noir formé entre esculetine et le citrate de fer. (Guiraud, 1998)

Les résultats obtenus montrent que toutes nos souches ne sont pas capables de dégrader l'esculine sauf *BLH9* et *BLH10* qui sont capables de le dégrader. Selon **Badis et al. (2005)** le caractère de l'hydrolyse d'esculine est variable chez les espèces de *Leuconostoc mesenteroides* selon la souche testée.



**Figure 26** : Résultat de l'hydrolyse de l'esculine

### 2.4.6 Recherche de l'Arginine dihydrolase (ADH)

Sur MRS BCP on observe que la majorité des isolats n'ont pas la capacité à hydrolyser l'arginine, car ne possèdent pas l'ADH (arginine déshydrogénase) (**Kheddidi et al., 2006**), ceci signifie que Les bactéries lactiques utilisent le lactose en acidifiant le milieu, les colonies donnant ainsi une coloration jaunâtre (**Figure 27 et 28**).

Et les autres isolats sont capables d'utiliser l'arginine et ré-alcalinisent le milieu, leurs colonies apparaissent blanchâtres. La couleur de l'indicateur de pH demeure inchangée (mauve) (résultats dans le **tableau 19**).

*Leuconostoc*, et *Lactobacillus*, nos résultats révèlent que la plupart des isolats étaient ADH<sup>-</sup> excepté les souches , qui est ADH<sup>+</sup>.

**Tableau 19** : représente les résultats du test de l'ADH

Souches	ADH
<b>BLH 1</b>	-
<b>BLH 2</b>	-
<b>BL H3</b>	+
<b>BLH 4</b>	-
<b>BLH 5</b>	+
<b>BLH 6</b>	+
<b>BLH 7</b>	+
<b>BLH 8</b>	-
<b>BLH 9</b>	-
<b>BLH 10</b>	-

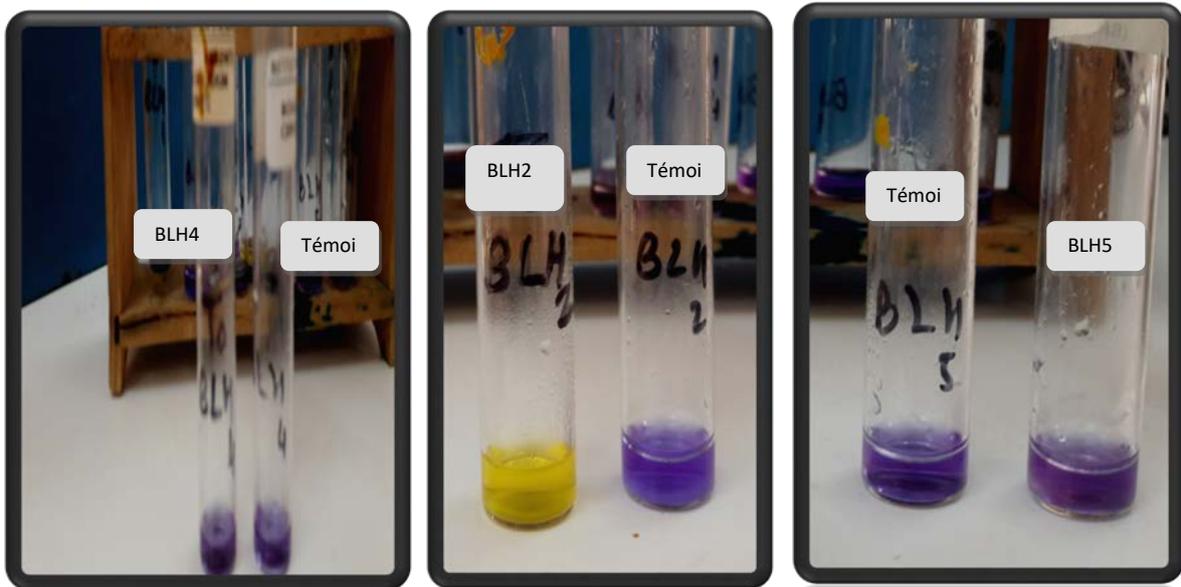


Figure 27: Les résultats du test de l'ADH des souches BLh2,4,5

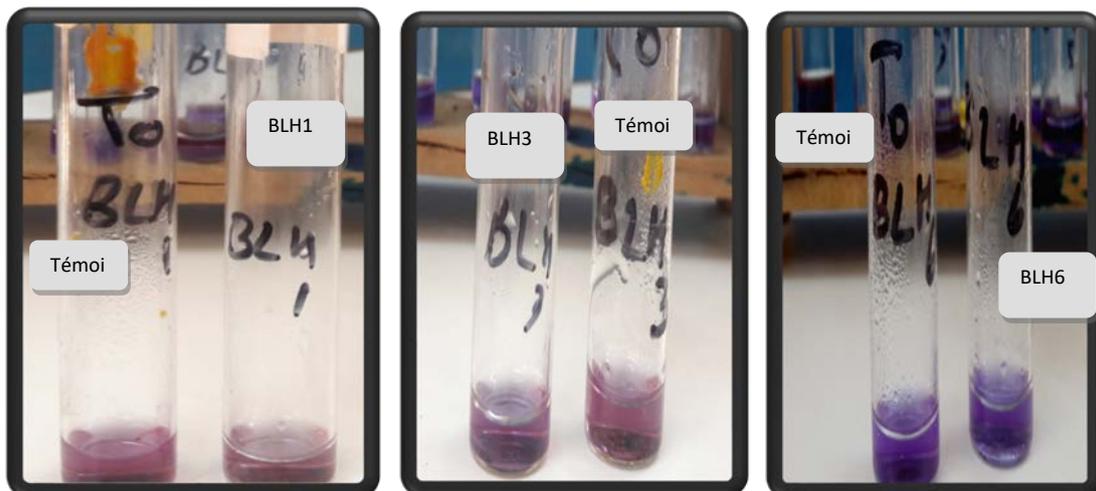


Figure28 : les résultats du test de l'ADH des souches BLh 1, 3, 6

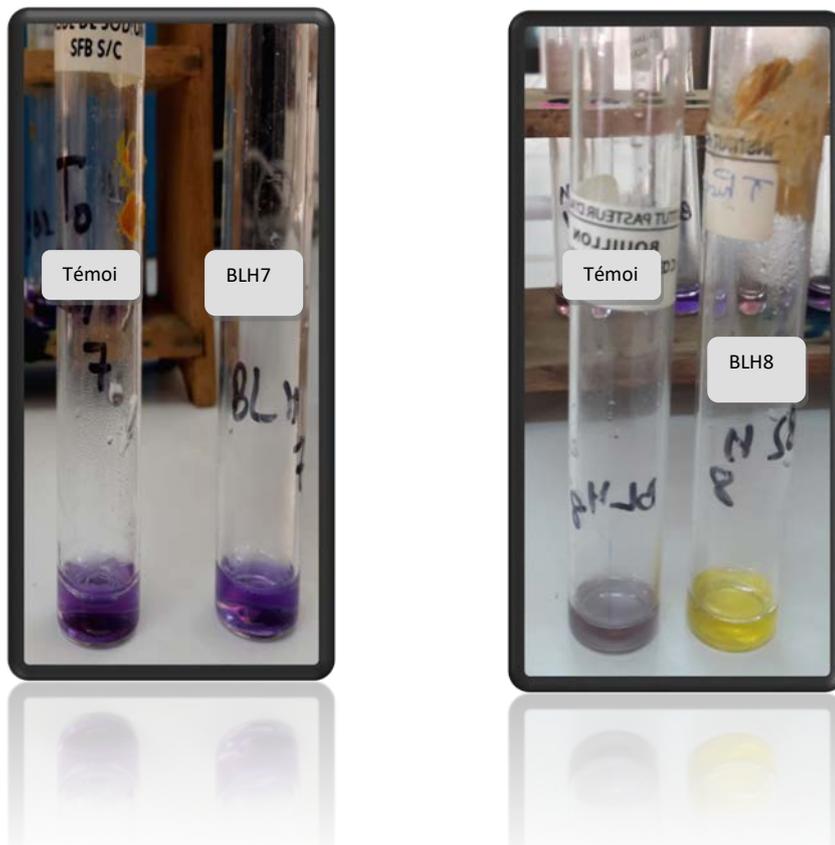


Figure29 les résultats du test de l'ADH des souches BLH 7,8,9et10

**Figure 30 :** Les Résultat du test ADH sur milieu liquide MRS BCP, ADH<sup>+</sup> en violet neutralisation de l'acidification par la production de NH<sub>3</sub> et ADH<sup>-</sup> en jaune acidification.

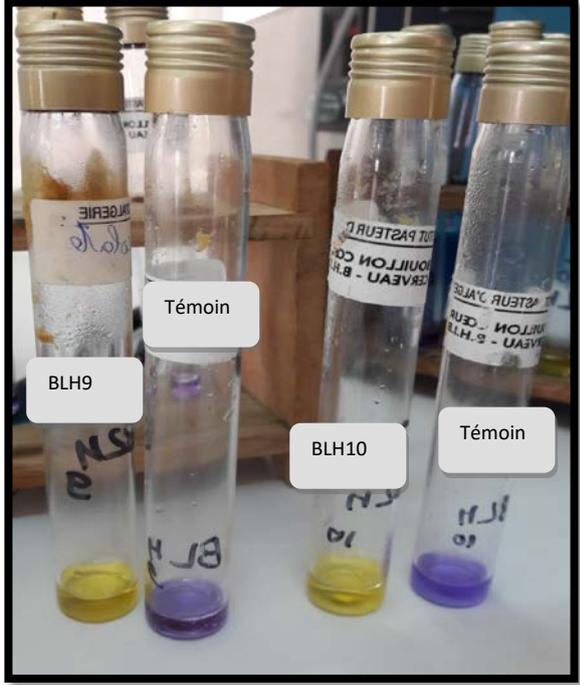


Tableau 20: récapitulatif des caractéristiques biochimiques et physiologiques des souches:

Tests  Souches	Gram	Catalase	Forme de cellules Et Regroupement	Type fermentaire	Test physiologique et lait de Sherman										Thermorésistance <sup>+</sup>	
					Lait de Sherman		P H		Na cl			Températures				
					1 %	2 %	4	9	ADH	4%	6,5 %	Ac éto ine	4°C	37°C		42°C
BLH 1	+	-	Batonnet en chaînette	Homofermentaire	+	-	+	-	-	+	+	-	+	+	+	-
BLH 2	+	-	Batonnt	Hétéofermentaire	+	-	+	-	-	-	+	-	+	+	+	-
BLH 3	+	-	Cocci; Chaînette	Homofermentaire	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-
BLH 4	+	-	Cocci ; isolé	Homofermentaire	+	-	-	+	-	+	+	-	-	+	-	-
BLH 5	+	-	Bacilles	Homofermentaire	+	-	+	-	+	+	-	+/-	+	+	-	-
BLH 6	+	-	Couque- isolé	Hétéofermentaire	+	-	+	-	+	+	-	-	+	+	-	-
BLH 7	+	-	Bacilles	Hétéofermentaire	-	-	+	-	+	+	-	-	+	+	-	-
BLH 8	+	-	Cocci ; chainettes	Homofermentaire	+	-	+	+	-	+	-	+/-	+	+	+	+
BLH 9	+	-	Cocci ; isolé	Hétéofermentaire	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	-
BLH 10	+	-	Bacilles	Hétéofermnetaire	+	-	+	-	+	+	-	+/-	+	+	-	-

**2.4.7 Profil fermentaire**

La détermination des genres et des espèces bactériennes, réside essentiellement dans leur capacité à fermenter les sucres en acide lactique et autres acides organiques.

L'analyse des profils fermentaires (**Tableau 21**) révèle une grande diversité.

**Tableau 21:** Profil fermentaire des isolats des bacteries lactiques

Code des souches	Galactose	Glycerol	Dextrine	Amidon	Mannitol	Xylose	Cellulose	Sacharose	Glucose	Lactose
BLH1	+	-	-	-	+	-	+	+	+	+
BLH2	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+
BLH3	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+
BLH4	-	+	+	-	+	-	+	+	+	+
BLH5	-	+	+	+	-	-	+	-	+	+
BLH6	+	+	-	+	-	-	+	-	+	+
BLH7	+	+	+	+	-	-	+	-	+	+
BLH8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
BLH9	+	+	+	-	+-	-	+	+	+	+
BLH10	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+



Figure 31 : Résultats "fermentation: Dextrine, Cellulose, Glucose et Galactose



**Figure32** : Résultats de la fermentation : 1. Saccharose 2.Mannitol 3.Glycerol



**Figure 33:** Résultats de la fermentation des sucres: Amidon,lactose et xylose

**Figure 34 :** Résultat du Profil fermentaire des isolats des bacteries lactiques

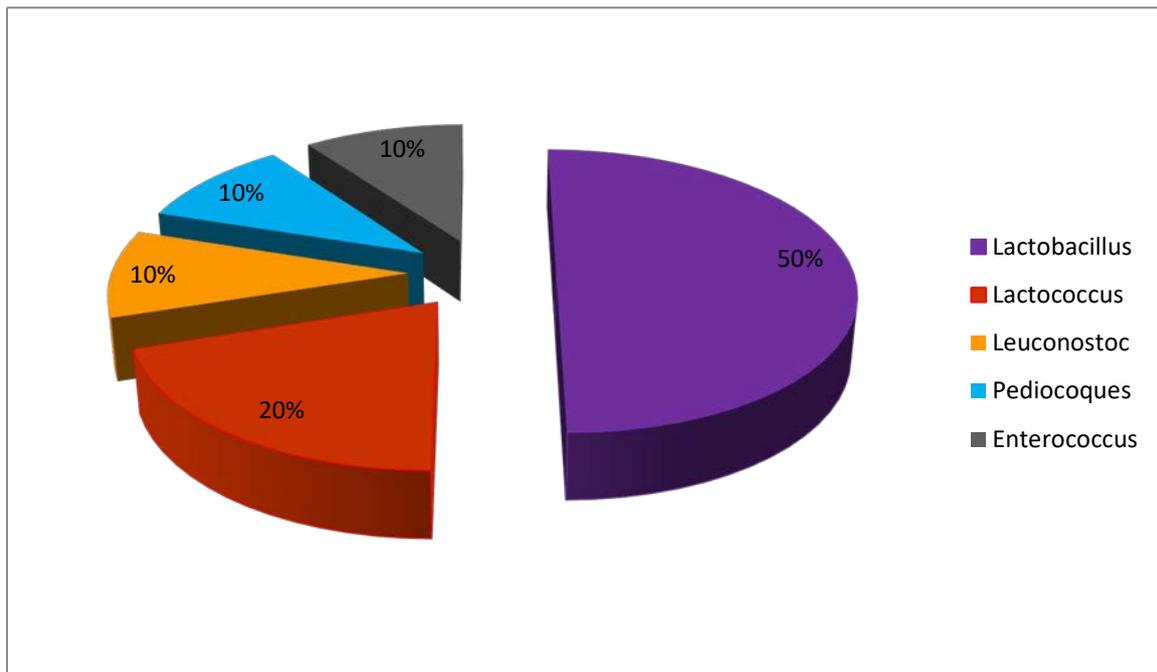
## 2.5 Pré identification des souches lactiques isolées a partir du lait de vache

La pré'identification se fait sur la base phénotypique, physiologique et biochimique, on indentifie les souches isolées comme montre ce tableau

**Tableau 22:** Résultats de la pré-identification des genres et espèces après comparaison avec des tableaux référentiels de **Björkroth et Holzapfel, (2006)** et de **Hammes et Hertel, (2006)**.

Code de la souche	Genre et espèce	Pourcentage de fiabilité
<b>HBL 1</b>	<i>Lactobacillus plantarum</i>	75%
<b>HBL 2</b>	<i>Lactobacillus casei</i>	70%
<b>HBL 3</b>	<i>Pédiococcus halophilus</i>	67%
<b>HBL4</b>	<i>Lactococcus lactis diacétyl</i>	-
<b>HBL 5</b>	<i>Lactobacillus fermentum</i>	75%
<b>HBL 6</b>	<i>Lactobacoccus lactis ssp lactis</i>	64%
<b>HBL 7</b>	<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	67%
<b>HBL 8</b>	<i>Enterococcus faecium</i>	64%
<b>HBL 9</b>	<i>Ln. mesenteroides subsp. mesenteroides</i>	75%
<b>HBL 10</b>	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	90%

**La Figure 35:** illustre les résultats préliminaires. On remarquera que les formes Bacilles avec un pourcentage de (50%) et il ressort le genre *Lactobacillus* (50%) est plus dominant dans le lait de vache. 50% de la forme cocci avec (20%) *lactococcus* suivi de 10 % d'*Enterococcus* ensuite 10% de *Pediococcus* et en fin *Leuconostoc* avec un pourcentage de 10%).



**Figure 35 :** Répartition des souches lactiques isolées a partir du lait de vache “Hassi mamech”

### **3. Discussion**

L'étude des principaux caractères morphologiques, biochimiques et physiologiques ont montré une diversité de genres et d'espèces isolées à partir du lait cru de vache. Les espèces de bactéries lactiques détectées dépendent essentiellement de la nature du lait cru et des conditions d'analyse (Saidi *et al.*, 2002)

L'étude macroscopique réalisée sur milieu solide nous a permis d'observer de petites colonies blanchâtres, parfois même transparentes, lisses et régulières. L'examen microscopique nous a permis de sélectionner des bactéries qui présentent une forme bacillaire ou sphérique, qui se colorent positivement à la coloration de Gram, et qui sont immobiles et asporulées.

Les bactéries sous forme de cocci (5 isolats) se disposent en petites chaînettes ou sont parfois isolées, par contre celles de forme bacillaire (3 isolats) sont sous forme de grandes chaînettes régulières.

Parmi les 10 isolats, 4 sont capables de croître à 4 °C et 37°C et non pas à 45°C et non plus à pH 9.6. Ces isolats poussent en présence de 4 % de NaCl et non pas à 6,5%, elles ne survivent pas après leur exposition à 65°C pendant 30 min et produisent du NH<sub>3</sub> à partir de l'arginine.

En présence de différentes sources hydrocarbonées, parmi ces 4 isolats la souche **BLH6** utilise le lactose, tandis que l'utilisation du mannitol, saccharose et xylose semble être dépendante des souches. À la lumière de ces caractéristiques, le phénotype qui caractérise ces souches la souche BLH 6 semble très similaire à celui décrit pour *Lc. lactis subsp. lactis* (Sharpe, 1979; Schleifer *et al.*, 1985; DeRoissart, 1986; Balows *et al.*, 1991; Guirrad, 2003; Bekhouche et Boulahrouf, 2005).

La différenciation entre les différentes espèces du genre *Lactobacillus* repose essentiellement sur leur faculté de fermenter différemment les carbohydrates.

Les profils fermentaires enregistrés (Tab 21) sont comparés avec celui des souches de référence dans la clé d'identification de Bergey (Kandler et Weiss, 1986, Stiles *et al.* 1997; Carr *et al.*, 2002).

Les isolats mésophiles et homofermentaires fermentent les hexoses en produisant exclusivement du lactate et ne produisent pas de gaz à partir du glucose. Ils peuvent fermenter les pentoses (Kandler et Weiss, 1986; Lopez et Mayo, 1994; Klein, 2001).

Les lactobacillus « bâtonnets » sont homofermentaires et peuvent être identifiées comme suit :

**BLH1** : Elles se développent à la température de 4°C et pas à 45°C (**Schillinger et Lücke, 1987; Singleton et Sainsbury, 1987**). Il y a quelques exceptions, *Lactobacillus fermentum* est capable de pousser à 42°C (**Sharpe, 1962**).

La capacité de fermenter le mannitol dissocie les lactobacilles en deux groupes principaux (**Schillinger et Lücke, 1987; Carr et al., 2002**).

Le groupe mannitol positif : renferme l'espèce: *Lb. plantarum*

Le groupe mannitol négatif : comprend: *Lb. bavaricus*, *Lb. sake*, *Lb. curvatus*, et *Lb. casei* subsp. *tolerans*.

Ceux qui fermentent le mannitol peuvent être encore séparés par la production de l'ammoniaque (**Schillinger et Lücke, 1987; Singleton et Sainsbury, 1987**)

Les souches qui fermentent le mannitol, le cellulose sont identifiées comme *Lb. plantarum* (**Schillinger et Lücke, 1987**).

La souche **BLH7** croit à 4°C et 42°C, et fermentent l'amidon, elle est identifiée à *Lb. rhamnosus*. n'hydrolyse pas l'ADH, mais hydrolyse l'esculine (**Collins et al., 1989**).

Deux espèces appartenant à ce groupe ont été isolées et se répartissent comme suit:

*Lb. plantarum* (souche BLH 1), *Lb. casei* (souche BLH 2) est capables de pousser à des températures comprises entre 2°C et 8°C et de ce fait peuvent être considérés comme étant des espèces psychrophiles, cependant leur croissance à ces températures est lente (**Sharpe, 1962; Schillinger et Lücke, 1987**).

La souche **BLH10** considéré comme *Lactobacillus acidophilus*. et la souche **BLH5** comme identifié *Lactobacillus fermentum*.

Pour les souches er **BLH3** est identifier comme *Pediococcus*, elle est capable de coitre a 37°C, et en presence de 6,5% NaCl mais pas a pH 6,9, homofermentaire, dégrade l'ADH et produit de l'acétoïne et comme elle fermente le lactose et le galactose mais pas le mannitol on identifier l'espèce comme *Pc.halophilus*. Selon **Bourgeois et Leveau 1991**.

Parmi les souches sélectionnées, la **BLH 8** appartient au genre « *Enterococcus* » car elle se développe dans les conditions hostiles c'est-à-dire à 4 °C et 45 °C, à pH 9,6, en présence de 6,5% de NaCl, peut aussi se croître à 1% de lait de sharman et elle est considérée comme étant une thermorésistance car elle résiste à une température de 65 °C durant 30 min (pour l'ensemble des souches), pratiquement selon les résultats trouvés par **Stlies et Holzapfel 1996; Larpent et al.** Elle fermente le mannitol, le galactose, le saccharose, le mannose ; ce qui le rapproche à l'espèce *Enterococcus faecium*.

La souche **BLH 9** est considérée comme *Leuconostoc* car elle croît sur milieu MRS, l'observation après coloration de Gram, indique qu'il s'agit des coques ovoïdes Gram positif en chaînettes, croît à pH 6,5, ne pousse pas à une concentration de 6,5 % de NaCl **Pilet et al., 1998 ; Ho et al., (2007)**. Et elle est considérée comme hétérofermentaire car elle est capable de produire le CO<sub>2</sub> à partir du glucose, aussi elle croît à 37°C mais pas à 42° C donc elle est mésophile **Gravie, 1967**.

L'établissement des profils fermentaires de notre souche BLH9 nous permet de constater qu'on a comme sous espèces : *Ln. mesenteroides subsp. mesenteroides* dont le sucre clé était l'arabinose selon les auteurs : (**Carr et al., 2002 ; Badis et al., 2005 ; Hammes et Hertel, 2006 ; Khedid et al., 2006**)

La souche fermente le glucose, le lactose, le galactose, le saccharose, le fructose, le maltose, tandis qu'elle possède une lente ou bien ne fermente pas le mannitol, le rhamnose, le raffinose, le sorbitol, la xylose.

Alors nous avons pu conclure qu'on a une souche de *Leuconostoc* dont elle appartient à *Leuconostoc mesenteroides subsp mesenteroides*.

La souche **HBL4** est considérée comme une sous espèce du genre *Lactococcus* *lactis diacetyl* (**GARVIE et FARROW, 1982**). Cette sous espèce diffère de *lc. Lactis ssp lactis* par sa capacité de produire le diacétyl à partir du citrate (**COGAN, 1976**).

Aucun *Streptococcus thermophilus* n'a été isolé des laits examinés, ceci est probablement dû au fait que la méthode d'identification basée sur les caractéristiques morphologiques et physiologiques sur un grand nombre d'échantillons (**Cheriguene A.,2008**) .

Les résultats obtenus sont certainement préliminaires et non définitives, car il a été démontré, notamment chez les bactéries lactiques, que les tests physiologiques et biochimiques ne permettent pas toujours de différencier deux espèces ou sous espèces proche.

Ces résultats sont donc à considérer comme une contribution à la valorisation de notre collection de souches de bactéries lactiques qui évoluent, au niveau de notre laboratoire de recherche.

Et pour une meilleure différenciation et exacte identification le recours aux méthodes moléculaires demeure une nécessité absolue pour une analyse plus fine du polymorphisme et une identification correcte et précise des souches.

# Conclusion

Dans notre travail, 3 échantillons de lait cru de mélange ont fait l'objet d'une étude microbiologique portant sur 10 isolats. Nous avons également déterminé quelques caractéristiques physico-chimiques de ce lait.

Les résultats des analyses physico-chimiques sont généralement, compris dans des intervalles proches des normes internationales retenues pour ce produit, avec une densité de 1,0259 et une acidité moyenne de 17,8°D. Toutefois, le taux de la matière grasse est de 40g/l, il dépend essentiellement du facteur alimentaire

L'identification phénotypique de ces isolats a été assurée en utilisant des méthodes classiques de microbiologie. Les résultats d'identification obtenus par les différentes méthodes, ont abouti à un résultat très variable avec des moyennes de dénombrements de la flore mésophile et thermophile.

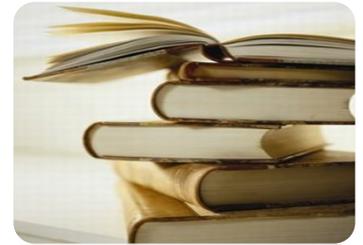
Les souches ont été cultivées et isolées sur milieu MRS et M17, l'illustration des résultats était comme suit ; le genre le plus dominant dans le lait de vache était *Lactobacillus* avec un pourcentage de 50% espèces du genre : « *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus fermentum* *Lactobacillus lactis*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus rhamnosus* et avec un pourcentage de 20 % (2 souches) révèlent correspondantes aux *Lactococcus lactis ssp lactis* et *Lactococcus lactis diacétylactis*.

Une souche identifié comme genre *Pediococcus halophilus* avec un pourcentage de 10 %, et avec un pourcentage de 10% on a pu identifier une espèce du genre *Leuconostoc mesenteroides subsp. Mesenteroides* ; et en fin avec un pourcentage de 10 % le genre *Entérocooccus* identifié comme *Enterococcus faecium*.

### **Perspectifs d'avenir :**

Pour notre part, nous proposons d'envisager une poursuite de ce travail par l'étude de la qualité bactériologique des laits crus de la ferme Hassi mamèche, corrélée aux conditions d'élevage (hygiène des étables et de la traite, et itinéraire zootechnique), Une identification génétique de ces souches est primordiale, aussi l'étude des paramètres technologiques semble nécessaire pour l'exploitation dans l'industrie fromagère.

# Références



# Bibliographiques

## A

**Abdeldjalil M.C. (2005).** Suivi sanitaire et zootechnique au niveau d'élevages de vaches laitières. Mémoire de Magister en médecine vétérinaire. Département des sciences vétérinaires. Université de Constantine. pp: 2-2

**Académie des Technologies, Académie d'Agriculture de France AAF. (2004).** Rapport : Progrès technologiques au sein des industries alimentaires. Impact sur la qualité des produits. La filière laitière

**Alexandre H., Grandvalet C., Guilloux-Benatier M., Remize-Barnavon F., Tourdot-Maréchal R.. 2008.** Les bactéries lactiques en œnologie. Lavoisier, Paris, 173 pages

**Alice A.F. and Sanchez-Rivas C.. 1997.** DNA supercoiling and osmoresistance in *Bacillus subtilis* 168. *Curr. Microbiol.* 35: 309–315

**Axelsson L.. 2004.** Classification and physiology. *In* : Lactic acid bacteria: Microbiological and functional aspects (Salminen S., Wright A.V. et Ouwehand A.). 3e Ed., *Marcel Dekker, Inc.* New York. 1-66.

**Afif A., Faid M. et Najimi M. (2008).** Qualité microbiologique du lait cru produit dans la région de Tadla au Maroc. *Reviews in Biology and Biotechnology Vol 7. N°1.* pp: 2-7.

**AFNOR (1980).** Recueil des normes françaises. Laites et produits laitiers.

**AFNOR. (1985)** . Contrôle de la qualité des produits laitiers –Analyses physiques et chimiques, 3ème édition.

**Agabriel C., Coulon J.B., Brunshwig G., Sibra C. et Nafidi C. (1995).** Relations entre la qualité du lait livré et les caractéristiques des exploitations. *INRA Prod. Anim.*, 8 (4). pp : 251-258.

**Agabriel C., Coulon J.B., Journal C. et De Rancourt B. (2001).** Composition chimique du lait et systèmes de production dans les exploitations du massif central. INRA. Prod. Anim., 14(2). pp : 119-128.

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

**Alais C., Linden G. et Miclo L. (2008).** Biochimie alimentaire, Dunod 6emeédition. Paris. pp :86-88.

**Alais C. (1984).** Sciences du lait. Principes de techniques laitières. 3ème édition, édition Publicité France.

**ABDELAZIZ S. et AIT KACI F., 1992.** Contribution à l'étude physico-chimique et Microbiologique d'un fromage traditionnel algérien fabriqué à partir du lait de chèvre le "Djben". Mémoire d'ingénieur d'état en agronomie. Institut national agronomique d'El Harrach,Alger. 67 p.

**AISSAOUI ZITOUN O., 2003.** Fabrication et caractéristiques d'un fromage traditionnel algérien *bouhezza*. Thèse de magister, INATAA, Constantine, Algérie. 138 p.

**Aggad H., Mahouz F., Ahmed Ammar Y. et Kihal M. (2009).** Evaluation de la qualité hygiénique du lait dans l'ouest algérien. Revue Méd. Vét., 160, 12. pp :590-595.

**ARRÊTÉ INTERMINISTÉRIEL du 25 janvier 1998 (JORA)** relatif aux spécifications microbiologiques de certaines denrées. Ministère du commerce. JORA N°35, 1998, Algérie.

**Adda J., Gripon J. C. et Vassel L. (1982).**The chemistry of flavor and texture generation in cheese. Food chemistry . pp : 9,115 - 129.

**Alais C., Linden G. et Miclo L. (2008).** Biochimie alimentaire, Dunod 6emeédition. Paris. pp :86-88.

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

**Atlan D., Béal C., Champonier-Vergès M.C., Chapot-Chartier M.P., Chouayekh H., Coccagn-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 F.M.). *Tec & Doc, Lavoisier*.Paris. 271-447.

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

**Axelsson, L.T., 2004.** Lactic Acid Bacteria: Classification and Physiology. In Lactic Acid Bacteria - Microbiology and functional aspects. Edited by S. Salminen, A.v. Wright et A. Ouwehand. Marcel Dekker, Inc. 1-66.



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

**Bourgeois, C.M., Mescle, J., Zucca, J., et Larpent, J.F. 1996.** Microbiologie alimentaire (tome 1) Lavoisier.Paris, P : 29-245.

**Bennett A., Cahill S., Lhoste F. et Edge J. (2005).** Avantages et risques potentiels du système lactoperoxydase pour la conservation du lait cru. Rapport d'une réunion technique FAO/OMS.68p.

**Badinand F. (1994).** Maîtrise du taux cellulaire du lait. *Rec. Méd. Vét.*, n°170.

**Beerens H. et Luquet F.M. (1987).** Guide pratique d'analyse microbiologique des laits et des produits laitiers. Edition Tec et Doc. Lavoisier. pp :1-65.

**Bitton G. (1999).** Wastewater Microbiology. John Wiley & Sons. 578p.

**Bloquel R. et Veillet-Poncet L. (1980).** Evolution et détermination de la flore bactérienne d'un lait cru réfrigéré paucimicrobien en fonction du temps. *Revue Le lait.* pp :474-486.

**Bonnefoye C., Guillet F., Leyral G. et Verne-Bourdais E. (2002).** Microbiologie et qualité dans les industries agroalimentaires. Edition Biosciences et Techniques. 138p.

**Bonfoh B., Fané A., Traoré N. A, Coulibaly Z., Simbé C. F, Alfaroukh O., Nicolet J., Farah Z. et Zinsstag J. (2002).** Qualité microbiologique du lait et des produits laitiers vendus en saison chaude dans le district de Bamako au Mali. *Bioterre, Rev. Inter.Sci. de la vie et de la terre*, N° spécial actes du colloque international, centre Suisse. Editions Universitaires de Cote d'Ivoire. pp: 242-250.

**Bourgeois C.M., Mescle J.F. et Zucca J. (1996).** Microbiologie Alimentaire Aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments Tome 1. Edition Tec et Doc Lavoisier, Paris. 32p.

**Boutonnier JL. (2008).** Matière grasse laitière Composition, organisation et propriétés. Dans *Techniques de l'ingénieur, Traité Agroalimentaire (F 6320)*, Paris.

**Boudier J.F. et Luquet F.M. (1978).** Utilisation du lactosérum en alimentation humaine et animale, N°21, édition APRIA, Paris.

- Bouziani A. (2009).** La lettre ALGEX. Lettre bimensuelle n°18.pp :1-2.  
<http://www.algex.dz/content.php?artID=1384&op=51>
- Bornert G. (2000).** Importance des bactéries psychrotrophes en hygiène des denrées alimentaires. Revue Méd. Vét., 151, 11.pp: 1003-1010.
- BOURGEOIS C.M. et LEVEAU J.Y. ,1991.** Technique d'analyse et de contrôle dans les industries agroalimentaires. Le contrôle microbiologique. Edition TEC et DOC Lavoisier, Paris, volume 3,499P
- Brisabois A., Lafarge V., Brouillard A., de Buyser M.L., Collette C., Garin-Bastuji B. et Thorel M.F. (1997).** Les germes pathogènes dans le lait et les produits laitiers: situation en France et en Europe. Rev. sci. tech. Off. int. Epiz., 16 (1). pp: 452-471.
- Bourel G., Henni S., Krantar K., Oraby M., Divies C. et Garmyn D.. 2001.** Métabolisme sucre-citrate chez *Lenconostoc mesenteroides*. Le lait 81 : 75-82.
- Boudjema K.. 2008.** Essai d'optimisation de la production d'acide lactique sur lactosérum par *streptococcus thermophilus*. Mémoire de magister.Université M•Hamed Bougara Boumerdès.
- Bekouche F, ; Boulahrouf M, ; (2005).**Etudes quantitative et qualitatives des bacteries lactiques de lair cru produits par des vaches locales appartenant a six , constantine. Science thecnologique C N° 23,38-45.
- De Roissart H 1986, bacterie lactiques in E
- Bassit N., Latrille E., Boquien C. Y., Picque D. et Corrieu G.. 1994.** Effet combiné de l'oxygène et de la température sur l'acidification et les productions de diacétyle et d'acétoïne par *Lactococcus lactis subsp lactis biovar diacetylactis*. Lait. 74 : 115-126.
- Badinand F. (1994).** Maîtrise du taux cellulaire du lait. Rec. Méd. Vét., n°170.
- Blanc B. (1982).** Les protéines du lait à activité enzymatique et hormonale. International dairy journal, 62. pp :350-395
- Bachouche N. et Kellouche A.. 2012.** Étude de l'entomofaune de l'olivieraie de la région de Tizi-Ouzou. 1- 6. <http://www.ummtto.dz/IMG/pdf/bachouche.pdf>.
- Bekhouche F.. 2006 :** Bactéries lactiques du lait cru de vache et Microorganismes pectinolytiques des olives noires et vertes (1. Isolement et Identification biochimique. 2. Evaluation et Optimisation de la production d'enzyme polygalacturonase).Thèse de doctorat. Université De Mentouri Constantine.
- Boutonnier JL. (2008).** Matière grasse laitière Composition, organisation et propriétés. Dans Techniques de l'ingénieur, Traité Agroalimentaire (F 6320), Paris.

**Badis, A., Guetarni, D., Moussa-Boudjema, B., Henni, D.E., Tornadijo, M.E., et Kihal, M., 2004.** Identification of cultivable of lactic acid bacteria isolated from algerian raw goat's milk and evaluation of their technological properties. *Food Microbiol.* 3: 72-78.

**Badis A., Guetarni D., Moussa-Boudjema B., Henni D. E., Tornadijo M. E., Kihal M., (2004a):** Identification of cultivable lactic acid bacteria isolated from Algerian raw goat's milk and evaluation of their technological properties. *Food. Microbiol.* 21: 343-349.

**Bourgeois et Leveau, (1980) :** Techniques d'analyse et de contrôle dans les industries agro-alimentaires, Band 3 *Collection Sciences et techniques agro-alimentaires* Technique & documentation, 1980

**Björkroth. J et Holzapfel. W, 2006 :** Genera *Leuconostoc*, *Oenococcus* and *Weissella*. Chap. 1. 2.9. In prokaryotes. 4 :267-319.

**Benasla A.. 2012.** Production d'exopolysaccharides par des souches de lactobacilles. Thèse de Magister en Biotechnologie. Université d'ORAN ES-Senia.

**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 & Technologie N°23*. Pp :30-37

**Charron G. (1986).** Les produits laitiers Vol1 les bases de la production. Edition Tec et Doc. 347p.



**Carr F.J., Chill D. and Maida N. (2002):** The Lactic Acid Bacteria: A literature Survey. *Critical Reviews in Microbiology.* 28, 4, 281-370

**Cathy J. and Coste S. (1994):** Lactic acid bacteria. *Danone News Letter.* 5. 5-16.

**Clausen EM., Green BL et Litsky W. (1977).** Fecal streptococci: indicators of pollution. Dans: Hoadley, AW et BJ Dutka, édit., *Bacterial Indicators/Health hazards associated with water.* American Society for Testing and Materials, ASTM STP 635, pp: 247-264.

**Crapelet C. et Thibier M. (1973).** La vache laitière reproduction Génétique Alimentation Habitat Grandes maladies. Edition Vigot Paris. pp: 114-116.

**Cuq J.L. (2007).** Microbiologie Alimentaire. Edition Sciences et Techniques du Languedoc. Université de Montpellier. pp: 20-25.

( 1 )Centre National Interprofessionnel de l'Economie Laitière, *site des produits laitiers, nutrition et santé* [en ligne], mis à jour Septembre 2009 [<http://www.produitslaitiers.com/nutrition-sante/questions-de-sante/rumeurs>] (consulté le 10/10/09)

( 2 )Site du Programme National Nutrition et Santé PNNS [en ligne], mis à jour 13/10/09, [<http://www.mangerbouger.fr/>] (consulté le 15/10/09)

**Coulon J-B. et Hoden A. (1991).** Maitrise de la composition du lait : influence des facteurs nutritionnels sur la quantité et les taux de matières grasses et protéiques. INRA Prod. Anim., 4 (5).pp: 361-367.

**Coulon J-B., Chilliard Y. et Remond B. (1991).** Effets du stade physiologique et de la saison sur la composition chimique du lait de vache et ses caractéristiques technologiques. INRA Prod. Anim., 4 (3).pp: 219-228.

**Crapelet C. et Thibier M. (1973).** La vache laitière reproduction Génétique Alimentation Habitat Grandes maladies. Edition Vigot Paris. pp: 114-116.

**Clausen EM., Green BL et Litsky W. (1977).** Fecal streptococci: indicators of pollution. Dans: Hoadley, AW et BJ Dutka, édit., Bacterial Indicators/Health hazards associated with water. American Society for Testing and Materials, ASTM STP 635, pp: 247-264.

**Cremona. (2003).** Problèmes de qualité du lait ? – Causes possibles et mesures à prendre. brochure 1ere édition Paris. 3p.

**Cuq J.L. (2007).** Microbiologie Alimentaire. Edition Sciences et Techniques du Languedoc. Université de Montpellier. pp: 20-25.

**Chilliard Y. et Lamberet G. (1984).** La lipolyse dans le lait : les différents types, mécanismes, facteurs de variations, signification pratique. Le lait 64.pp : 544-578.

**Cayot P. et Lorient D. (1998).** Structures et Technofonctions des Protéines du Lait. Edition Tec et Doc Lavoisier. Paris.

**Codex Alimentarius. (1999).** Norme générale pour l'utilisation de termes de laiterie CODEX STAN 206-1999. pp :1-4.

**CIPCLait Commission Interprofessionnelle des Pratiques Contractuelles (2011).** Avis relatif à la définition et aux méthodes d'analyse de l'acidité du lait n°2011-02.

**Chilliard Y. et Lamberet G. (1984).** La lipolyse dans le lait : les différents types, mécanismes, facteurs de variations, signification pratique. Le lait 64.pp : 544-578.

**Charron G. (1986).** Les produits laitiers Vol1 les bases de la production. Edition Tec et Doc. 347p.

- Cauty I. et Perreau J-M. (2009).** Conduite du troupeau bovin laitier. Production, Qualité Rentabilité. 2eme édition France Agricole.
- Cauquil M. (2011).** Incidence des pratiques d'élevage sur les équilibres microbiens de la litière, de la peau des trayons et du lait cru en filière AOP Comte. Thèse de Docteur vétérinaire. Ecole Nationale Vétérinaire, Agroalimentaire et de l'Alimentation Nantes Atlantique-ONIRIS. pp: 81-170.
- Cuq J.L. (2007).** Microbiologie Alimentaire. Edition Sciences et Techniques du Languedoc. Université de Montpellier. pp: 20-25.
- Codex Alimentarius. (1999).** Norme générale pour l'utilisation de termes de laiterie CODEX STAN 206-1999. pp :1-4.
- Cayot P. et Lorient D. (1998).** Structures et Technofonctions des Protéines du Lait. Edition Tec et Doc Lavoisier. Paris.
- CIPCLait Commission Interprofessionnelle des Pratiques Contractuelles (2011).** Avis relatif à la définition et aux méthodes d'analyse de l'acidité du lait n°2011-02.
- Coulon J-B., Chilliard Y. et Remond B. (1991).** Effets du stade physiologique et de la saison sur la composition chimique du lait de vache et ses caractéristiques technologiques. INRA Prod. Anim., 4 (3).pp: 219-228.
- Collins M.D.2009.** Genus Vagococcus. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. The firmicutes. Second Edition. Volume Three. Springer.
- Collins M.D. and Falsen E.. 2009.** Genus Aerococcus. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology: The firmicutes. Second Edition. Volume Three. Springer.
- Collins E. B., 1972:** Biosynthesis of flavour compounds by microorganisms. *Journal of Dairy Science*. 55: 1022-1028
- Cogan T. M., O'Dow M. and Mellerick D.. 1981.** Effects of pH and sugar on acetoin production from citrate by *Leuconostoc lactis*. *Applied and Environmental Microbiology*. 41: 1-8.
- Codex alimentarius.2003.** Codex standard for fermented milk.CODEX STAN.243: 1-5.
- Calvez S., Belguesmia Y. Prévost H., Drider D. et Kergourley G.. 2009.** Les bactériocines : de la synthèse aux applications. Bacteries lactiques :physiologique , métabolisme,genomique et applications industrielles edition : Economica . Paris
- Coulon J-B. et Hoden A. (1991).** Maitrise de la composition du lait : influence des facteurs nutritionnels sur la quantité et les taux de matières grasses et protéiques. INRA Prod. Anim., 4 (5).pp: 361-367.
- Carr, F.J., Chill, D., et Maida, N., 2002.** The Lactic Acid Bacteria: A Literature Survey. *Critical Rev. Microbiol.*, 28: 4, 281-370.

**Charteris, W.P., Kelly, P.M., Morelli, L., et Collins, J.K., 2001.** Quality control *Lactobacillus* isolates for use with the API 50CH and API ZYM systems at 37°C. *J. Basic Microbiol.* 41: 241-251.

**Collins, M.D., Farrow, J.A.E., Phillips, B.A., Feresu, S. et Jones, D., 1987.** Classification of *Lactobacillus divergens*, *Lactobacillus piscicola*, and Some Catalase-Negative, Asporogenous, Rod-Shaped Bacteria from Poultry in a New Genus, *Carnobacterium*. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 37: 310-316.

**Carr F.J., Chill D. and Maida N. (2002):** The Lactic Acid Bacteria: *A literature Survey*. *Critical Reviews in Microbiology*. 28, 4, 281-370.

**Calvez S., Belguesmia Y. Prévost H., Drider D. et Kergourley G.. 2009.** Les bactériocines : de la synthèse aux applications. Bactéries lactiques : physiologique , métabolisme, génomique et applications industrielles édition : Economica . Paris

**Caplice E., et Fitzgerald, G.F., 1999.** Food fermentations: role of microorganisms in food production and preservation. *Int. J. Food Microbiol.* 50: 131-149.

**Collins, M. D., Ash, C., Farrow, J. A. E., Wallbanks, S. et Williams, A. M., 1989 b.** 16S ribosomal ribonucleic acid sequence analyses of lactococci and related taxa. Description of *Vagococcus fluvialis* gen. nov., sp. nov. *J Appl Bacteriol* 67, 453-460.



**De Vos W.M. (1999):** Gene expression systems for lactic acid bacteria, *Curr. Opin. Microbiol.* 2 289-295.

**Dieng M. (2001).** Contribution à l'étude de la qualité microbiologique des laits caillés industriels commercialisés sur le marché dakarais. Thèse Docteur vétérinaire, Université de Dakar Sénégal.

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

**Desmazeaud M. J., 1992 :** Les bactéries lactiques, In : Hermier J., Lenoir J., weber F., Les groupes microbiens d'intérêt laitier. *Ed. Cepil.* 6-14.

**Desmazeaud, M., et Cogan, T.M., 1996.** Role of cultures in cheese ripening. In: Cogan, T.M., Accolas, J.-P. (Eds.), *Dairy Starter Cultures*. VCH Publishers, Inc., New York, pp. 207-231.

**Dellaglio F., De Roissart H., Torriani S., Curk M.C. et Janssens D.. 1994.** Caractéristiques générale des bactéries lactiques in « Bactérielactique », de Roissard et Luquet, Tech.Doc., Lavoisier, Paris.

**Deutscher J., Francke C. and Postma W.. 2006.** How phosphotransférase system- Related Protein Phostphorylation Regulates Carbohydrate Metabolism in Bacteria. *Microbiology andMolecular biology Reviews*. Vol. 70 N° 4. P. 939- 1031.

**Devriese L., Baele M. and Butaye P.. 2006.** The genus Enterococcus: Taxonomy. The Prokaryotes: a Handbook on the Biology of Bacteria. 3rd edn. New York: Springer. vol. 4. 163-174.

**Dellaglio, H., de Roissart, H., Torriani, S., Curk, M.C., et Janssens, D., 1994.** Caractéristiques générales des bactéries lactiques. In: de Roissart, H., Luquet, F.M. (Eds.), Les bactéries lactiques: aspects fondamentaux et technologiques. Loriga, Uriage, pp. 25-116.

**Deutscher J., Francke C. and Postma W.. 2006.** How phosphotransférase system- Related Protein Phostphorylation Regulates Carbohydrate Metabolism in Bacteria. *Microbiology andMolecular biology Reviews*. Vol. 70 N° 4. P. 939- 1031.

**Deforges J., Derens E., Rosset R. et Serrand M. (1999).** Maitrise de la chaîne du froid des produits laitiers réfrigérés. Edition Cemagref Tec et Doc, Paris.

**Dieng M. (2001).** Contribution à l'étude de la qualité microbiologique des laits caillés industriels commercialisés sur le marché dakarais. Thèse Docteur vétérinaire, Université de Dakar Sénégal.

**Debry G ; 2001 :** lait, nutrition et santé technique et documentation, lavoisier Paris.

**Daly C., Fitzgerald G. F., O'connor L. and Davis R.. 1998.** Technological and health benefits of dairy starter cultures. *International Dairy Journal* **8**, 195-205.

**De Man, J.C., Rogosa, M., et Sharpe, M.E., 1960.** A medium for the cultivation of lactobacilli. *J. Appl. Bacteriol.* 23: 130-135.

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

**Desmaures, N., Mangin, I., Corroler, D. & Gueguen, M. (1998).** Characterization of lactococci isolated from milk produced in the Camembert region of Normandy. *J Appl Microbiol* **85**, 999-1005.

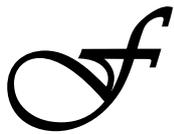
**Desmazeaud, M. J. & Gripon, J. C. (1977).** General mechanism of protein breakdown during cheese ripening.

*Milchwissenschaft* **32**, 731.

**Desmazeaud, M. J. (1983).** L'état des connaissances en matière de nutrition des bactéries lactiques. *Le lait* **63**, 267-316.

**Deutscher J., Francke C. and Postma W.. 2006.** How phosphotransférase system- Related Protein Phosphorylation Regulates Carbohydrate Metabolism in Bacteria. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. Vol. 70 N° 4. P. 939- 1031.

**Dellaglio, H., de Roissart, H., Torriani, S., Curk, M.C., et Janssens, D., 1994.** Caractéristiques générales des bactéries lactiques. In: de Roissart, H., Luquet, F.M. (Eds.), *Les bactéries lactiques: aspects fondamentaux et technologiques*. Loriga, Uriage, pp. 25-116.



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

**FAO.. 2015.** Food and Agriculture Organization (<http://www.fao.org/home/fr/>)



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

**Guiraud J. et Galzy P. (1980).** L'analyse microbiologique dans les industries alimentaires. Edition l'usine. 119p.

**Guiraud J.P. (2003).** *Microbiologie Alimentaire*. Edition DUNOD. Paris. pp : 136-139.

**Guinot Thomas P. Ammourey M. et Laurent F. (1995).** Effects of storage conditions on the composition of raw milk. *International Dairy Journal* N° 5. pp: 211-223.

**Guiraud J.P. et Rosec J.P. (2004).** *Pratique des normes en microbiologie alimentaire*. Edition AFNOR. 95p.

**Guinot Thomas P. Ammourey M. et Laurent F. (1995).** Effects of storage conditions on the composition of raw milk. *International Dairy Journal* N° 5. pp: 211-223.

- Guiraud Joseph-Pierre (2003):** Microbiologie alimentaire. Techniques d'analyses microbiologiques. *Ed. Dunod*, Paris, 651p.
- Guiraud J.P. (2003).** Microbiologie Alimentaire. Edition DUNOD. Paris. pp : 136-139.
- Goursaud J., (1985).** Composition et propriétés physico-chimiques. Dans Laits et produits laitiers vache, brebis, chèvre. Tome 1 : Les laits de la mamelle à la laitière. Luquet F.M.. Edition Tec et Doc Lavoisier, Paris.
- Goy D., Häni JP. , Wechsler D. et Jakob E. (2005).** Valeur de la teneur en caséine du lait de fromagerie. Edition, Agroscope Liebfeld-Posieux. Groupe de discussions Gruyère N°27f .
- Guiraud J.P. et Rosec J.P. (2004).** Pratique des normes en microbiologie alimentaire. Edition AFNOR. 95p.
- Gérard P.. 2011.** Nutrithérapie, Le microbiote intestinal : composition et fonctions.*Phytothérapie* 9: 72–75
- Grangette C.. 2011.**Nutrithérapie Probiotiques et régulation de la réponse immunitaire : impact sur les maladies allergiques et les maladies inflammatoires intestinales. *Phytothérapie* 9: 93–99.
- Guiraud J. et Galzy P. (1980).** L'analyse microbiologique dans les industries alimentaires. Edition l'usine. 119p.
- Guiraud J.P.. 2003.** Microbiologie Alimentaire. *Tec &Doc, Dunod*. Paris. 90-292.
- Guiraud J.P.. 1998.** Microbiologie alimentaire. 1e Ed., Dunod. Paris. 136-144.
- Guentari H.. 2013.** Effets antibactériens des bactéries lactiques isolées à partir des laits crus Algériens sur la croissance de *Helicobacter pylori*. Thèse de doctorat. Université d'Oran Es-Senia.
- Guiraud Joseph- Pierre (1998):** Microbiologie alimentaire. *Dunod*, Paris, ISBN 210p.
- Gordon B. et Loisel W. (1991).** Dosage des protéines. Dans : Multon J.L., Techniques d'analyses et de contrôle dans les industries agronomiques. Vol 4, 2ème édition, Tec& Doc, Lavoisier, Paris.



- HARROUZ W et OUELD HADJ YUCEF S, 2007.** La filière lait ; vers une nouvelle dimension de développement dans la vallée du M'Zab et Metlili. . Mémoire Ing .ITAS Ouargla ,108p.
- Heuchel V. et Sommellier L. (2003).** Caractérisation microbiologique et aptitudes technologiques des laits ultra-propres. Compte rendu final n°9983118. Institut de l'élevage ENSAIA de Nancy. Institut technique du Gruyère. pp :2-12.
- Hermier J., Lenoir J., Weber F. (1992):** Les groupes microbiens d'intérêt laitier. Cepil, *lavoisier, Paris.* 568p.
- Hughenoltz J., Kleerebezem M., (1999):** Metabolic engineering of lactic acid bacteria: overview of the approaches and results of pathway rerouting involved in food fermentations, *Curr. Opin. Biotechnol.* 10 492-497
- Hughenoltz J., Sybesma W., Groot M. N., Wisselink W., Ladero V., Burgess K., Van Sinderen D., Piard J.C., Eggink G., Smid E. J., Savoy G., Sesma F., Jansen T., Hols P. and Kleerebezem L M.. 2002.** Metabolic engineering of lactic acid bacteria for the production of nutraceuticals. *Antonie van Leeuwenhoek* 82. P 217-235.
- Haddie J.M.. 1986.** Other streptococci. *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.
- Ho T.N.T., Tuan N., Deschamps A. and Caubet R.. 2007.** Isolation and identification of lactic acid bacteria (LAB) of the Nem Chua fermented meat product of Vietnam. *Int. Workshop on Food Safety and Processing Technology.* 134-142.
- Hassan A.N. and Frank J.F.. 2001.** Starter Cultures and their use. *Applied Dairy Microbiology* (Marth E.H. et Steele J.L.) 2e Ed., *Marcel Dekker, Inc.* New York. 151-205.
- Hammes W.P. and Hertel C.. 2006.** The Genera *Lactobacillus* and *Carnobacterium*. The Prokaryotes. Vol 4. Springer. pp 320–403.
- Hammes. W.P et Hertel. C, 2006 :** The genera *Lactobacillus* and *Carnobacterium*. Chap. 1. 2. 10. In prokaryotes. 4 : 320-403.
- Hammes, W.P., et Hertel, C., 2003.** The Genera *Lactobacillus* and *Carnobacterium*. In The Prokaryotes: An Evolving Electronic Resource for the Microbiological Community. Edited by M. Dworkin. New York. <http://link.springer-ny.com/link/service/books/10125/>: Springer-Verlag. Epub December 15<sup>th</sup>.



**Izquierdo Alegre E.. 2009.** Les proteines bactériennes en tant que biomarqueurs de l'activité probiotique. Thèse de doctorat. Université de Strasbourg



**Joffin J.N., et Leyral G. (1996):** Microbiologie technique. Centre Régional de Documentation Pédagogique d'Aquitaine Bordeaux, France, pp. 219-223.

**Jakob E. et Hänni J-P. (2004).** Fromageabilité du lait. Edition, Agroscope Liebefeld Posieux. Groupe de discussions N° 17F.

**Jakob E., Winkler H. et Haldemann J. (2009).** Critères Microbiologiques Pour La Fabrication Du Fromage. Edition, Agroscope Liebefeld-Posieux. Groupe de discussions N° 77. F. pp :5-31.

**Jakob E., Winkler H., Schaeren W., Amrein R. et Geinoz M. (2011).** La qualité du lait cru un défi permanent. Edition Agroscope Liebefeld-Posieux forum n°78 f.pp :5- 17



**Kim H., Hardy J., Novak G., Ramet J.P. et Weber W. (1982).** Les goûts anormaux du lait frais et reconstitué. Collection FAO Alimentation et nutrition n°35.

**Kandler O., Weiss N., (1986a):** Regular non-sporing Gram positive rods. In: Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Vol. 2, 1208-1209, Williams, Wilkins, Baltimore.

**Kandler O. and Weiss N. (1986):** Regular, non-sporing Gram-positive rods: Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. P.H.A Sneath, N. Mair, M.E. Sharpe and J.G. Holt. Williams and Wilkins, Baltimore. 2: 1208-1234.

**Kihal M., Prevost H., Lhotte M.E., Huang D.Q. and Divies C.. 1996.** Instability of plasmid-encoded citrate permease in *Leuconostoc*. *J.Appli.Micobiol.*22 ,219-223.

**Kihal M., 1996.** Etude de la production du dioxyde de carbone par *Leuconostoc mesenteroides*, éléments d'application en technologie fromagère type fromage bleu. Thèse de Doctorat. Université d'Oran.

**KHALID N.M. et MARTH E.H., 1990.** Lactobacilli, their enzymes and role. In: Ripening and spoilage of cheese. Rev. Dairy Sci. 73 : 158-167.

**Klein, J. R., Schmidt, U. & Plapp, R. (1994b).** Cloning, heterologous expression, and sequencing of a novel proline iminopeptidase gene, *pepI*, from *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis* DSM 7290. *Microbiology* **140** ( Pt 5), 1133-1139.

**Kandler .O and Weiss. N, 1986 :** Genus *Lactobacillus*. In : Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, vol 2, 9<sup>ième</sup> ed. Ed. Sneath PHA, Mair NS, Sharpe ME, Holt JG. Williams and Wilkins, Baltimore USA.

**Kandler, O., 1983.** Carbohydrate metabolism in lactic acid bacteria. *Antonie van Leeuwenhoek* 49: 209-224.

**Kandler, O., et Weiss, N., 1986.** Genus *Lactobacillus* Beijerinck 1901. In Bergey's manual of systematic bacteriology pp. 1209-1234. Edited by P. H. A. Sneath, N. S. Mair, M. E. Sharpe et J. G. Holt. Baltimore: Williams et Wilkins.

**KHEDID, K., FAID, M., MOKHTARI, A., SOULAYMANI, A. ET ZINEDINE, A. (2006).** Characterization of lactic acid bacteria isolated from the one humped camel milk produced in Morocco. *Microbiol. Res.* 10 : 10-16. bacteria and yeast .

**Klinj N., Weerkamp A.H., de Vos W.M. (1991):** Identification of mesophilic lactic acid bacteria by using polymerase chain reaction-amplified variable regions of 16S rRNA and specific DNA probes, *Appl. Environ. Microbiol.* 57 3390-3393.

**Kandler O. and Weiss N. (1986):** Regular, non-sporing Gram-positive rods: Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. P.H.A Sneath, N. Mair, M.E. Sharpe and J.G. Holt. Williams and Wilkins, Baltimore. 2: 1208-1234.



**Leyral G. et Vierling É. (2007).** Microbiologie et toxicologie des aliments: hygiène et sécurité alimentaires. 4e édition Biosciences et techniques. 87p.

**Lemire G. (2007).** Évaluation de la qualité du lait et de la santé du troupeau laitière en régime biologique. Edition l'envol lait biologique. Québec. 9p.

- Lynch, C. M., McSweeney, P. L. H., Fox, P. F., Cogan, T. M., Drinan, F. D. 1996.** Manufacture of Cheddar cheese with and without adjunct lactobacilli under controlled microbiological conditions. *Int. Dairy J.* 6 : 851-867
- Luquet F. M. (1985).** Laits et produits laitiers - Vache, brebis, chèvre. Tome 1 : Les laits De la mamelle à la laiterie. Tech. & Doc., Coll. STAA, Lavoisier, Paris.
- Lahtinen S., Ouwehand A.C., Salminen S. and Wright A.V.. 2012.** Lactic Acid Bacteria Microbiological and functional aspects Fourth edition Taylor & Francis Group. Boca Raton London New York
- Leveau J.Y., Bouix M., 1993 :** Microbiologie industrielle. Les Micro-organismes d'intérêt industriel. Tec & doc Lavoisier Paris. 169-330 p.
- Lane C. N. and Fox P. F.. 1996.** Contribution of starter and added lactobacilli to proteolysis in Cheddar cheese during ripening. *Int. Dairy J.* 6 : 715-728.
- Langella P., Nouaille S., Commissaire J., Bolotine A.,Gruss A. et Le Loir Y.. 2001.** Characterization of host factors affecting heterologous protein secretion in *Lactococcus lactis*. *Lait* 81, 19-28.
- Larpent, J.. P. et larpent, G.M. 1990.** Mémento technique de microbiologie 2<sup>ème</sup> Ed. Technique et documentaire lavoisier, Paris, P :417
- LELLIOTT R.A ET STEAD D.E. 1987.** Methods for diagnosis of bacterial diseases of plants. Blackwell Scientific Publications Volume 2.Oxford (GB).
- Leisner, J., Rusul, G., Wee, B., Boo, H. & Mohammad, K. (1997).** Microbiology of Chili Bo. A popular Malaysian food ingredient. *J Food Protect* 60, 1235-1240.
- Le Bourgeois, P., Lautier, M., van den Berghe, L., Gasson, M. & Ritzenthaler, P. (1995).** Physical and genetic map of the *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* MG1363 chromosome: comparison with that of *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* IL 1403 reveals a large genome inversion. *Journal of Bacteriology* 177, 2840–2850.
- Lopez, S., et Mayo, B., 1994.** Identification and characterization of homofermentative mesophilic *Lactobacillus* isolates isolated from artisan starter-free cheeses. *Lett. Appl. Microbiol.* 25: 233- 238.
- LEMOUCHI, L, 2008.** Le fromage traditionnel *bouhezza* : enquête dans la wilaya de Tébessa et suivie de l'évolution des caractéristiques physico-chimiques de deux fabrications. Mémoire d'ingénieur, INATAA, Constantine, Algérie, 65 p.
- Luquet F. M. (1985).** Laits et produits laitiers - Vache, brebis, chèvre. Tome 1 : Les laits De la mamelle à la laiterie. Tech. & Doc., Coll. STAA, Lavoisier, Paris.

**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. 44

**Leveau J.Y. et Bouix M.. 1980.** Microbiologie industrielle : les microorganismes d'intérêt industriel. *Tec &Doc, Lavoisier*. Paris. 85-87.



**MECHAI A. ET KIRANE D., (2008).** Antimicrobial activity of autochthonous lactic acid bacteria isolated from Algerian traditional fermented milk • Raïb• *African Journal of Biotechnology*, 7 (16): 2908-2914.

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

**Madji A. (2009).** Séminaire sur les fromages AOP ET IGP.INAT. Tunisie.

**Marchin S. (2007). Dynamique de la micelle de caséines : caractérisation structurale.** Thèse INRA/ Agrocampus Rennes.

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

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

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

**Miranda G. et Gripon J-C. (1986).** Origin, nature and technological significance of proteolysis in milk . *International dairy journal*, n°66. pp:1-18.

**Meyer C. et Denis J.P (1999).** Elevage de la vache laitière en zone tropicale. Edition Quae, CTA, presses agronomiques de Gembloux.

**Mahieu H. (1985).** Modification du lait après récolte. Dans : Lait et produits laitiers. Vaches, brebis, chèvres. Luquet F.M tome 1. Tech. & Doc., Coll. STAA, Lavoisier, Paris.

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

**Mozzi F., Raya R.R. et Vignolo G.M.. 2010.** Biotechnology of lactic acid bacteria: Novel applications. *Blackwell. Publishing.* 13.

**Mack D.R.. 2013.** Probiotic Therapy. *Pediatric Inflammatory Bowel Disease.*chapter 13.

**Malago J.J., Koninkx J.F.J.G. and Marinsek-Logar J.. 2011.** Probiotic Bacteria and Enteric Infections. Cytoprotection by Probiotic Bacteria. Springer Dordrecht Heidelberg London New York. P: 476

**Makhloufi K. M.. 2012.** Caractérisation d'une bactériocine produite par une bactérie lactique *Leuconostoc pseudomesenteroides* isolée du boza. Thèse de doctorat de l'université pierre et marie curie.

**Moroni O.. 2007.** Contribution a l'étude du role des probiotiques dans le contrôle et la prévention des infections enteriques à *listeria monocytogenes*: analyse *in vitro* et étude *in vivo* des mécanismes d'action antimicrobien. Thèse de doctorat. Université Laval. P :146

**Marchal N., Bourdon J. L. et Richard C.L.. 1991.** Les milieux de culture pour l'isolement et l'identification biochimique des bactéries. *Ed. Doin. P. 65-149.*

**Möeller V. (1955):** Simplified tests for some amino acid decarboxylases for the arginine dihydrolase sustem. *Acta. Pathol. Microbiol. Scand.* 36:158-172



**Novel, G.. 1993.** Les bactéries lactiques. Microbiologie industrielle, les Micro-organismes d'intérêt industriel. Leveau, J.Y, Bouix, M., Tech. et Doc. Lavoisier Paris, pp: 170-374.



**OUADGHIRI M., (2009).** Biodiversité des bactéries lactiques dans le lait cru et ses dérivés «Lben» et «Jben» d'origine marocaine, thèse de doctorat en Microbiologie et Biologie Moléculaire. Université Mohammed V–agdal Faculté des sciences Rabat, Maroc. 132 p.

**OGIER J.C., CASALTA E., FARROKH C. ET SAIHI A. 2008.** Safety assessment of dairy microorganisms : The *Leuconostoc* genus. *International Journal of Food Microbiology* 126 p 286- 290.

**Oison, N. F. (1990).** The impact of lactic acid bacteria on cheese flavor. *FEMS Microbiology Reviews* 87, 131- 148.

**OGIER, J.C., SERROR, P., 2008.** Safety assessment of dairy microorganisms: The *Enterococcus* genus. *International Journal of Food Microbiology* 126, 291-301



**Petransxiene D. et Lapied L. (1981).** Qualité bactériologique du lait et produits laitiers. Analyses et tests. Edition Tec.& Doc, Paris.

**Pougheon S. (2001).** Contribution à l'étude des variations de la composition du lait et ses conséquences en technologie laitière. Thèse doctorat d'état en médecine vétérinaire, université Paul Sabatier de Toulouse, France.

**Plusquellec A. (1980).** Le contrôle des matières premières et des produits: laits et produits laitiers. dans techniques d'analyses et de contrôle dans les IAA, Vol. 3, Paris, Tec. & Doc.

**Pougheon S. (2001).** Contribution à l'étude des variations de la composition du lait et ses conséquences en technologie laitière. Thèse doctorat d'état en médecine vétérinaire, université Paul Sabatier de Toulouse, France.

**Pougheon S. (2001).** Contribution à l'étude des variations de la composition du lait et ses conséquences en technologie laitière. Thèse doctorat d'état en médecine vétérinaire, université Paul Sabatier de Toulouse, France.

**Pilet M.F., Magras C. et Federighi M.. 2005.** Bactéries lactiques. *In* : bactériologie alimentaire (Federighi M.). 2e Ed., *Economica*. Paris. 219-240.

**Pilet M.F., Magras C. et Federighi M.. 1998.** Bactéries lactiques. *In* : Manuel de bactériologie alimentaire (Sutra L., Federighi M., Jouve J.L.). *Polytechnica*. Paris. 235- 260.

**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.

**Penner R., Fedorak R.N. and Madsen K.L.. 2005.** Probiotics and nutraceuticals: non medicinal treatments of gastrointestinal diseases. *Current Opinion in Pharmacology* 5: 596-603.

**Penaud S.. 2006.** Analyse de la séquence génomique et étude de l'adaptation à l'acidité de *Lb.delbrueckii* sp. *Bulgaricus* ATCC 11842. Thèse de Doctorat. Institut National Agronomique de Paris-Grignon.



**RANDAZZO, C.L., CAGGIA, C. ET NEVIANI, C.L.E. (2012)** . Application of molecular approaches to study lactic acid bacteria in artisanal cheeses. *J. Microbiol. Methods*, 78:p 1–9

**Richard J. (1983).** Nature de la flore microbienne dominante et sous-dominante des laits crus très pollués. *Le lait* n°63.pp: 148-170.

**Roudj S., Belkheir K., Zadi Karam H. et Karam N.E. (2009).** Protéolyse et autolyse chez deux lactobacilles isolés de lait camelin du sud ouest algérien. *European journal of scientific research*. Vol.34 n°2, pp:218-227.

**Ramet J.P. (1985).** La fromagerie et les variétés de fromages du bassin méditerranéen. Collection FAO Alimentation et nutrition n°48.

**Roudaut H. et Lefrancq E. (2005).** Alimentation théorique. Edition Sciences des Aliments

**Raynaud S.. 2006.** Régulation métabolique et transcriptionnelle de l'auto acidification chez *Lactococcus lactis*. Thèse de Doctorat. L'institut national des sciences appliquées de Toulouse.



**Sutra L., Federighi M. et Jouve J.L. (1998).** Manuel de bactériologie alimentaire. Edition Polytechnica. 9p.

**Stoll W. (2003).** Vaches laitières: l'alimentation influence la composition du lait. RAP Agri. N° 15/2003, vol. 9, Suisse.

**Salama M., Sandine W., Giovannoni S., (1991):** Development and application of oligonucleotide probes for identification of *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, *Appl. Environ. Microbiol.* 57 1313-1318.

**Schillinger U. and Lucke F. K. (1986):** Lactic acid bacteria on vacuum-packaged meat and influence on shelf life. *Fleischwirtschaft* 66:1515-1520

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

**Sutra L. et Federighi M.. 1998.** Manuel de bactériologie alimentaire. Polytechnica (ed).

**Schleifer K.H., kraus J., Dvorak C., kilpper –balz R., Collins M.D. and fischer R.. 1985.** Transfer of *Streptococcus lactis* and related streptococci to the genus *lactococcus*.gen. *Novsystematic and appliedMicrobiology.* 6, 183-195.

**Schleifer K.H., 1987.** Recent changes in the taxonomy of lactic acid bacteria. *FEMS Microbiol. Letters.* 46 : 201-203.

**Streit F.. 2008.** Influence des conditions de récolte et de concentration sur l'état physiologique et la cryotolérance de *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* CF11. Thèse de Doctorat. L'Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement (Agro Paris Tech).

**Salminen S., Wright A.V. and Ouwehand A.C.. 2004.** Lactic Acid Bacteria Microbiological and functional aspects Third edition Taylor & Francis Group. Boca Raton London New York

- Streit F., 2008.** Influence des conditions de récolte et de concentration sur l'état physiologique et la cryotolérance de *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* CF11. Thèse de Doctorat. L'Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement (Agro Paris Tech).
- Streit F., Corrieu G. and Béal C., 2008.** Acidification improves cryo tolerance of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* CF11. *J. Biotechnol.* **128** : 659-667.
- Samelis, J., Maurogenakis, F., et Metaxopoulos, J., 1994.** Characterization of lactic acid bacteria isolated from naturally fermented Greek dry Salami. *Int. J. Food. Microbiol.* **23**: 179-196.
- Stiles, M.E., et Holzapfel, W.H., 1997.** Review article Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy. *Int J Food Microbiol* **36**: 1-29.
- Stiles, M.E., 1996.** Biopreservation by lactic acid bacteria. *Antonie Leeuwenhoek.* **70**: 331-345.
- Sharpe, M.E., 1979.** Lactic Acid Bacteria in the dairy industry. *J. Soc. Dairy Technol.* **32**: 9-17.
- Singleton, P. et Sainsbury, D., 1987.** Dictionary of Microbiology and Molecular Biology, 2nd ed., John Wiley et Sons, New York,
- Schleifer K.H., 1987.** Recent changes in the taxonomy of lactic acid bacteria. *FEMS Microbiol. Letters.* **46** : 201-203.
- Schillinger U. and Lücke K. (1990):** Lactic acid bacteria as protective cultures in meat products. *Fleischw.* **70**:1296-1299.
- Schillinger U. and Lucke F. K. (1986):** Lactic acid bacteria on vacuum-packaged meat and influence on shelf life. *Fleischwirtschaftung* **66**:1515-1520.
- Schleifer K.H. (1986):** Gram-positive cocci. In Bergy's Manual of Systematic Bacteriology, Vol. 2, 999-1002, Williams, Wilkins, Baltimore. **2**, pp: 999-1002.
- Schleifer K. H. (1987):** Recent changes In the taxonomy of Lactic acid bacteria. *Microbiol. Rel'* **4**:20 1-203
- SINGLETON, P. (1999).** Bacteriologie, 4ème Eds. Dunod, Paris, pp: 380- 415.
- Sharpe, M.E., 1962.** Taxonomy of The Lactobacilli. *Dairy Sci. Abstracts.* **24**: 109-118.



**TOUATI, 1990.** chimique d'un fromage artisanal algérien "la *klila*". Mémoire d'ingénieur, INATAA, Constantine, Algérie, 83 p.

**Tong J.L., Ran Z.H., Shen J., Zhang C.X. and Xiao S.D.. 2007.** Meta-analysis: the effect of supplementation with probiotics on eradication rates and adverse events during *Helicobacter pylori* eradication therapy. *Aliment Pharmacol Ther* 25:155-68.

**Tamime A. Y., Marshall, V. M. E., Robinson A. R. K. (1995):** Microbiological and technological aspects of milks fermented by bifidobacteria. *Journal of Dairy Research*, 62, 151–187.

**Tamime A.Y.. 2002.** Microbiology of starter cultures. In: Dairy microbiology handbook (Robinson R.K.). 3e Ed., John Wiley and Sons, Inc., New York. 261-366.

**Toureau V., Bagieu V. et Le Bastard A-M. (2004).** Une priorité pour la recherche :la qualité de nos aliments. Les recherches sur la qualité du fromage. INRA mission communication.

**Thompson J. et Gentry-Weeks C.R.. 1994.** Métabolisme des sucres par les bactéries lactiques. In : Bactéries lactiques (De Roissart H. et Luquet F.M.). *Lorica, Uriage*. 1 : 239-290.

**Tailliez P.. 2001 :** Mini-revue : les bactéries lactiques, ces êtres vivants apparus il y a près de 3 milliards d'années. *Lait*. 81 : 1–11.

**Thomas, T.D., 1973.** Agar medium for differentiation of *Streptococcus cremoris* from the other bacteria. *NZJ. Dairy. Sci. Technol.* 8: 70-71.

**Tourneur, C. (1972).** Aptitude à la protéolyse des lactobacilles présents dans les fromages et les lactosérums de fromage. *Lait* 52, 149-174

**Terzaghi B. E and Sandine W. E., 1975.,** "Improved Medium for Lactic Streptococci and Their bacteriophages," *Applied and Environmental Microbiology*, Vol. 29, No. 6. pp. 807-813.

**Tourneur, C. (1972).** Aptitude à la protéolyse des lactobacilles présents dans les fromages et les lactosérums de fromage. *Lait* 52, 149-174.



**Wolter R. (1988).** Alimentation de la vache laitière. 3<sup>ème</sup> édition. Editions France Agricole. Paris.

**Weber F. (1985).** Réfrigération du lait à la ferme et organisation des transports. Collection FAO Alimentation et nutrition n°47.

**WGO “World Gastroenterology Organisation”.. 2011.** Global Guidelines . Probiotiques et Prébiotiques.

**Waligora-Dupriet A.J., Rodriguez B. et Butel M.J.. 2011.** *Nutrithérapie* : Probiotiques et prévention de l’allergie : quel intérêt ?. *Phytothérapie* 9: 82–92.



**VEISSEYERE R., 1975** Technologie du lait : constitution, récolte, traitement et transformation du lait. 3<sup>ème</sup> Ed. –Paris : Ed la maison rustique, 714p.

**Vignola C. (2002).** Science et Technologie du Lait Transformation du Lait. Edition Presses Internationales Polytechnique, Canada. pp. 3-75.

**Varnam A.H. et Sutherland P. (2001).** Milk and Milk Products: Technology, Chemistry, and Microbiology. Volume 1 Food products series. An Aspen Publication. New York. pp: 35-37.

**Vignola C. (2002).** Science et Technologie du Lait Transformation du Lait. Edition Presses Internationales Polytechnique, Canada. pp. 3-75.

**Vignola C. (2002).** Science et Technologie du Lait Transformation du Lait. Edition Presses Internationales Polytechnique, Canada. pp. 3-75.

**Veisseyre R. (1979).** Technologie du lait constitution, récolte, traitement et transformation du lait. 3<sup>ème</sup> édition. Edition la maison rustique, Paris.

**Vierling E.(2008).** Aliments et boissons filières et produits. 3<sup>ème</sup> édition Biosciences et techniques.Paris,pp :15-16.

**Vignola Carole L, 2002 :** Science et technologie du lait transformation du lait. Ecole Polytechnique de Montréal 2002.



**ZAIDI O., 2002.** Caractérisation du fromage traditionnel *bouhezza*; caractérisation physicochimique et microbiologique. Mémoire d'ingénieur INATAA. Constantine, Algérie. 51 p.



# Anneee

## Milieux de culture

### Milieu M17 (Terzaghi et Sandine, 1975)

Peptone tryptique de caséine	2,5 g
Peptone pepsique de viande	2,5 g
Peptone papainique de soja	5,0 g
Extrait de levure	2,5 g
Extrait de viande	5,5 g
<sup>2</sup> -glycérophosphate de sodium	19,0 g
Sulfate de magnésium	0,25 g
Acide ascorbique	0,5 g
Eau distillée	950 ml

pH = 7,2

Stérilisation à 120°C pendant 20 min.

### La gélose molle :

- ❖ MRS liquide 1000 ml
- ❖ Agar-Agar 7,5g

Stérilisation à 120 °C pendant 20min.

---

**Milieu MRS (man rogosa et sharp, 1960)**

Extrait de levure	5 g
Extrait de viande	10 g
Peptone	10 g
Acétate de sodium	5 g
Citrate de sodium	2 g
Glucose	20 g
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	2 g
MgSO <sub>4</sub>	0,25 g
MnSO <sub>4</sub>	0,05 g
Cystéine-HCl	0,5 g
Eau distillée	1000 ml

PH=6,8

**AUTOCLAVAGE : 120°C PENDANT 20 MINUTES**

**Milieu MRS BCP**

Extrait de levure	5 g
Extrait de viande	10 g
Peptone	10 g
Acétate de sodium	5 g
Citrate de sodium	2 g
Glucose	20 g
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	2 g
MgSO <sub>4</sub>	0,25 g
MnSO <sub>4</sub>	0,05 g
Pourpre de bromocrésol	0,025 mg
Eau distillée	1000 ml

PH=6,8

**AUTOCLAVAGE: 120°C PENDANT 20 MINUTES**

---

**Bouillon hypersalé :**

Extrait de viande    5g

Glucose                5g

Peptone                15g

NaCl                    40/65 g

Eau distillée         1l

Ph=7,2.

Autoclavage 120°C pendant 20 min

**Clark et Lubs :**

Peptone                        5g

Phosphate dipotassique    5g

Glucose                        5g

Eau distillée                 950ml

Ph=7,4.

Autoclavage 120°C pendant 20min

---

**Milieu de fermentation des sucres :**

Peptone 15 g

Rouge de chlorophenol 0,0005 g

Extrait de levure 5 g Gélose 1 g

Tween 80 1 mL

Eau distillée qsq 1000 mL

pH 6,4

Le milieu est réparti en tubes à essais, autoclavé à 115 °C pendant 10 min et avant emploi, 1 mL de la solution de sucre utilisée à la concentration finale 0,5 % est ajoutée.

**Réactif de Vogues Proskauer (VPI et VPII)**

**Vp1 : solution de soude NaOH à 16 % dans l'eau distillée**

**Vp2 : alpha-naphtol à 6 % dans l'alcool à 95 °**

---

Correspondance PH –Acidité Dornic	pH	Acidité °D
Norme F.I.L	6,75	16
FEDERATION INTERNATIONALE DU LAIT	6,65	17
AFNOR ,ISO, Et IDF/FIL	6,6	18
	6,55	19
FDV 04/35(juillet 2009)	6 ,45	20
	6,40	21
	6,35	22
	6,30	24
	6,28	25
	6,20	28
	6,15	30
	5,90	32
	5,75	35
	5,68	38
	5,65	40
	5,63	42
	5,60	45
	5,58	48
	5 ,54	50
	5,52	55
	5,48	60
	5,45	65
	5,40	70
	5,35	75
	5,10	80
	4,95	85
	4,90	90
	4,85	95
	4,80	100
	4,75	105
	4,70	110
	4,65	115
	4,60	120
	4,50	125
	4,45	130