

**République Algérienne Démocratique Et Populaire**



**Université Abd El Hamid Ibn Badis**



**Filière : Sciences Agronomique**

**spécialité : Biotechnologie alimentaire**

**Master II**

*Thème*

**Etude de l'effet antimicrobien des souches  
de leuconostoc contre des Bactéries lactiques  
et pathogènes**

**Présenté par :**

- \* BELAKRED Asma
- \* TAHIRINE Nadia

**Membres du jury**

- \* **President** Mme FASSIH Aicha
- \* **Examinatrice** Mme MAGHNIA Djamila

**Encadreur**

- \* Mme BENMAHDI Faiza

**Année universitaire: 2020/2021**

# Remerciements

*Au terme de ce travail :*

*Nous tenons tout d'abord à remercier sincèrement notre encadreur le Dr. BENMEHDI F qui a supervisé avec enthousiasme notre travail dans toutes ses étapes, pour tous ces conseils précieux, son écoute, son soutien et sa disponibilité à tout moment.*

*Nous remercions Le directeur de laboratoire vétérinaire Régional de Mostaganem (Hassi Mameche) de nous avoir ouvert leur porte.*

*Nous voulons également exprimer nos gratitudeux aux personnel du laboratoire de INMV de Mostaganem pour tout l'aide qu'ils ont pu nous procurer, pour leur sympathie ainsi que leur générosité.*

*Nos remerciements s'adressent aussi à tous les enseignants qui ont contribués à notre formation*

*Nous remercions également tous nos proches et nos collègues de la promotion 2020 /2021.*

# DÉDICACES

*A ma très chère mère Houria, pour ces  
encouragements, son aide et son soutien*

*A mon Père Rabeh, pour tous ces sacrifices et son aide*

*A mon mari, qui a été toujours présent, qui m'a encouragé  
et aidé, ainsi qu'à mes adorables enfants Mohamed  
Yasser et Lina que dieu les protèges.*

*A ma sœur, mes frères et mes belles sœurs.*

*A mes grands parents, mes beaux parents ainsi qu'à toute  
ma famille.*

*A mes chères amies Sabria et Nacera.*

**Belakred Asma**

Notre travail a porté sur plusieurs genres de bactéries lactiques, trois bactéries pathogènes et une souche de *Candida albicans*. Ces bactéries lactiques ont été testées entre elles et contre les souches pathogènes

Les leuconostocs s'interinhibent dans 85% des cas et ils ont inhibés les bactéries pathogènes dans 91% des cas. *Candida albicans* n'a été inhibée par aucune souche de *Leuconostoc*. Plusieurs inhibitions ont été observées sur milieu MRS, mais aucune sur milieu Mayeux.

La sensibilité des souches pathogènes aux antibiotiques est du même ordre que celle observée par les inhibitions dues aux bactéries lactiques.

Les leuconostocs ont un pouvoir inhibiteur plus grand sur les bactéries pathogènes comparées au lactocoque et aux entérocoques. Ces deux derniers genres ont montré un effet inhibiteur seulement contre *E.coli* et *Staphylococcus aureus*.

La méthode de diffusion en puits a permis d'observer des inhibitions contre les lactocoques et les bactéries pathogènes provoquées par les leuconostocs et les entérocoques. Les leuconostocs, les entérocoques et les lactocoques testés entre eux n'ont montré aucun effet inhibiteur .

Les résultats des effets inhibiteurs existant entre les bactéries lactiques permettent d'envisager la combinaison de souches leuconostocs et lactocoques pour l'élaboration de ferments mixtes.

**Les mots clés :** *Leuconostoc*, bactéries lactiques, bactéries pathogènes, pouvoir inhibiteur.

Our work focused on several genera of lactic acid bacteria, three pathogenic bacteria and a strain of *Candida albicans*. These lactic acid bacteria have been tested against each other and against pathogenic strains

*Leuconostoc* inhibits each other in 85% of cases and inhibited pathogenic bacteria in 91% of cases. *Candida albicans* was not inhibited by any strain of *Leuconostoc*. Several inhibitions were observed on MRS medium, but none on Mayeux medium.

that observed by The sensitivity of pathogenic strains to antibiotics is of the same order as inhibitions due to lactic acid bacteria.

*Leuconostocs* have a greater inhibitory power on pathogenic bacteria compared to lactococcus and enterococci. These last two genera showed an inhibitory effect only against *E.coli* and *Staphylococcus aureu*

The well diffusion method made it possible to observe inhibitions against lactococci and pathogenic bacteria caused by *leuconostocs* and enterococci. The *leuconostocs*, enterococci and lactococci tested against each other did not show any inhibitory effect.

The results of the inhibitory effects existing between lactic acid bacteria make it possible to consider the combination of *leuconostoc* and lactococcus strains for the development of mixed ferments.

**The key words:** *Leuconostoc*, lactic acid bacteria, pathogenic bacteria, inhibitory power.

من لمبيضات البيضاء

بكتيريا اللاكتيك ضد بعضها البعض وضد السلالات المسببة للأمراض.  
بكتيريا حمض اللاكتيك

يُثبَّت 91 لم يتم تثبيط *Candida albicans* *Leuconostoc* *Leuconostoc*  
بعضه البعض في 85% من الحالات ويثبَّت البكتيريا المسببة للأمراض في لوحات عدة مثبتات على وسط MRS  
ولكن لم يتم تثبيط أي *Mayeux*.

حساسية السلالات المسببة للأمراض للمضادات الحيوية هي من نفس الترتيب الذي لوحظ من خلال المثبطات  
بسبب بكتيريا حمض اللاكتيك .

يملك *Leuconostocs* قدرة تثبيط أكبر على البكتيريا المسببة للأمراض مقارنة بالمكورات اللبنية  
والمكورات المعوية. أظهر هذان الجنس الأخران تأثيرًا مثبتًا فقط ضد الإشريكية القولونية والمكورات العنقودية  
الذهبية.

جعلت طريقة الانتشار الجيد من الممكن ملاحظة المثبطات ضد المكورات اللبنية والبكتيريا المسببة للأمراض  
التي تسببها *Leuconostocs* والمكورات المعوية. *Leuconostocs* والمكورات المعوية والمكورات اللبنية ضد  
بعضها البعض لم يظهر أي تأثير مثبت.

نتائج التأثيرات المثبطة الموجودة بين بكتيريا حمض اللاكتيك تجعل من الممكن النظر في مزيج من سلالات  
*lactococcus leuconostoc* لتطوير الخميرة المختلطة.

:

*Leuconostoc* : بكتيريا حمض اللاكتيك ، البكتيريا المسببة للأمراض ، القوة

# Sommaire

Remerciements	
Dédicaces	
Résumé	
Sommaire	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Introduction générale	1
<b>Partie 1: partie bibliographique</b>	
1. Définition générale du lait	3
2. Les différents composants du lait	3
2.1 L'eau	3
2.2 Les glucides	4
2.3 Les protéines	4
2.4 Les Lipides	4
2.5 Les minéraux	4
2.6 Les Vitamines	4
2.7 Les nucléotides	4
3. La microflore du lait	5
3.1 La microflore indigène ou originelle	5
3.2 La microflore contaminante	5
✓ La microflore d'altération	5
✓ La microflore pathogène	5
4. Les bactéries lactiques	6
4.1 Notion générale	6
4.2 Propriétés générales	6
4.3 Origine des bactéries lactiques	8
4.4 Génétique des bactéries lactiques	8
4.5 Classification des bactéries lactiques	8
4.5.1. Classification classique	9
❖ Les caractères morphologiques	9
❖ Les caractères physiologiques et biochimiques	10
❖ Les caractères immunologiques	10
5. Exigences nutritionnelles des bactéries lactiques	10
5.1 Exigence en vitamines	11
5.2 Exigences en sources azotées	11

5.3 Influence des cations.....	11
6. L'intérêt des bactéries lactiques.....	11
6.1. L'aspect Médical.....	11
➤ les probiotiques.....	11
6.2. L'aspect technologique.....	13
7. Critères de sélection de souches pour l'élaboration des ferments.....	18
7. 1 Activité acidifiante.....	18
7. 2 Activité protéolytique.....	18
7.3 Pouvoir aromatisant et pouvoir gazeux.....	18
7.4 Résistance aux bactériophages.....	19
7.5 Activité bactériostatique.....	19
❖ production de bactériocines:.....	19
❖ Résistance aux antibiotiques : .....	19
8. Composés antimicrobiens produits par les bactéries lactiques.....	19
❖ Acides organiques :.....	20
❖ Acides gras :.....	22
❖ Peroxyde d'hydrogène :.....	22
❖ Dioxyde de carbone (CO <sub>2</sub> ) :.....	23
❖ Composants aromatiques :.....	24
❖ Diacétyl :.....	24
❖ Acétaldéhyde.....	25
❖ Reutéline :.....	25
9. Définition des interactions.....	25
• Interactions positives: synergie.....	26
• Interactions négatives : inhibition.....	26
❖ Les acides organiques :.....	26
❖ Le peroxyde d'hydrogène (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ) :.....	28
❖ Le dioxyde de carbone (CO <sub>2</sub> ) :.....	29
❖ Le diacétyl.....	29
❖ La reutéline.....	29

## Partie 2 : Matériel et méthodes

2.1 Les souches utilisées.....	31
2.1.1 Les souches lactiques.....	31
2.1.2 Les souches pathogènes ou d'altération .....	31
2.2 Les milieux de cultures.....	31
2.2.1 Milieux liquides .....	31
2.2.2 Milieux solides.....	31
2.3 Confirmation de la pureté et de l'identité des souches.....	32
2.3.1 Confirmation de la pureté des souches.....	32
2.3.2 Confirmation de l'identité des souches .....	32
2.3.2.1 Test macroscopique.....	32
2.3.2.2 Test microscopique.....	32
2.3.2.3 Test de la catalase .....	33
2.4 Conservation des souches .....	33
2.5 L'antibiogramme .....	34
2.6 Méthodes de mise en évidence des inhibitions bactériennes par la méthode de diffusion en puits.....	35
2.6.1 Pouvoir antibactérien entre les souches de Leuconostocs.....	35
2.6.2 Pouvoir antibactérien des entérocoques contre les lactocoques.....	36
2.6.3 Activité antibactérienne de quelques souches lactiques entre elles.....	36
2.6.4 Les inhibitions bactériennes de quelques souches lactiques contre les souches pathogènes.....	36
2.6.5 L'activité inhibitrice de quelques souches de Leuconostocs contre les entérocoques et un lactocoque.....	36
2.6.6 Pouvoir inhibiteur des entérocoques et d'un lactocoque contre quelques souches de Leuconostocs.....	37

## Partie 3 : Résultats et discussion

3.1 Vérification de la pureté des souches.....	39
3.1.1 Test macroscopique.....	39
3.1.2 Test microscopique.....	39
3.1.3 Test de la catalase.....	41
3.2 L'antibiogramme des souches pathogènes .....	42

3.3 Mise en évidence des inhibitions bactériennes par la méthode de diffusion en puits .....	45
3.3.1 Pouvoir antibactérien entre les souches de Leuconostocs .....	45
3.3.2 Pouvoir antibactérien des entérocoques et des lactocoques contre les lactocoques .....	46
3.3.3 Activité antibactérienne de quelques bactéries lactiques contre des leuconostocs et des lactocoques.....	48
3.3.4. Les inhibitions bactériennes de quelques souches lactiques contre les souches pathogènes .....	50
3.4.1.6 L'activité inhibitrice des bactéries lactiques entre elles.....	53
Conclusion.....	56

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1:</b> Composants de lait de différentes espèces .....	3
<b>Tableau 02:</b> Rôle de quelques espèces de <i>Lactobacillus</i> utilisées en industrie .....	13
<b>Tableau 03:</b> Critères technologiques de sélection des bactéries lactiques fournis par les fiches techniques .....	14
<b>Tableau 04:</b> Principales utilisations des bactéries lactiques en agroalimentaire .....	16
<b>Tableau 05:</b> Milieux sélectifs des souches pathogènes .....	32
<b>Tableau 06:</b> Les antibiotiques utilisés et leurs abréviations .....	34
<b>Tableau 07:</b> Aspect microscopiques des souches lactiques et leurs Gram .....	40
<b>Tableau 08:</b> Aspect microscopiques des souches pathogènes .....	41
<b>Tableau 09:</b> Résultats du test de la catalase des souches de leuconostocs .....	42
<b>Tableau 10:</b> Test de la catalase des souches pathogènes .....	42
<b>Tableau 11:</b> Le résultat de l'antibiogramme des souches pathogènes .....	44
<b>Tableau 12:</b> pouvoir antibactérien entre les souches de leuconostocs .....	45
<b>Tableau 13:</b> Activité inhibitrice des entérocoques et des lactocoques contre les lactocoques .....	47
<b>Tableau 14:</b> L'antagonisme de quelques souches lactiques entre elles .....	49
<b>Tableau 15:</b> les inhibitions de quelques souches lactiques contre des souches pathogènes .....	51
<b>Tableau 16:</b> Effet inhibiteur de quelques souches de leuconostocs contre les entérocoques et un lactoque .....	53
<b>Tableau 17:</b> Effet inhibiteur des entérocoques et un lactoque contre quelques souches de Leuconostocs .....	54

## Liste des figures

<b>Figure 01:</b> Différentes formes microscopique de bactéries lactiques .....	10
<b>Figure 02:</b> la forme de la disposition des cellules dune souche de Leuconostoc après la coloration de Gram.....	39
<b>Figure 03:</b> Aspect microscopique des souches pathogènes.....	41
<b>Figure 04:</b> l'antibiogramme de quelques souches pathogènes.....	43
<b>Figure 05:</b> Pouvoir antibactérien de entérocoques et des lactocoques contre les lactococques.....	47
<b>Figure 06:</b> Activité antibactérienne de quelques souches lactiques contre des leuconostocs et des lactocoques.....	48

# Introduction

### Introduction générale

Les bactéries lactiques sont utilisées depuis plusieurs siècles comme des agents protecteurs dans les aliments fermentés. Ces bactéries ont un rôle dans la préservation des aliments, la prévention d'empoisonnement, l'augmentation de la valeur nutritive et l'amélioration de la qualité organoleptique des aliments. Les espèces de bactéries lactiques sont présentes dans une grande variété d'aliments, le lait fermenté, les yaourts, les fromages et les produits carnés fermentés. Ainsi, différentes souches d'intérêt commercial ou scientifique y sont couramment isolées.

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; Driciet al., 2009 et Boumahira et al., 2011). Ces dernières années, l'intérêt de l'emploi de la bactériocine et ou tout autre BL productrice de substances inhibitrices pour des applications de bio-préservation a suscité beaucoup de recherches (Schillinger et Lücke, 1989; Budde et al., 2003; Jacobsen et al., 2003; Vermeiren et al., 2004; Guessas, 2007 et Saidi, 2007).

A l'intérieur d'équipes de recherche structurées et multidisciplinaires, les chercheurs s'intéressent particulièrement à la production de bactériocine, agents antimicrobiens naturels, et de polysaccharides exo-cellulaires par les bactéries lactiques. Ces derniers travaillent sur l'isolement et la caractérisation génétique et moléculaire des souches sur la production de bio-ingrédients alimentaires par fermentation de milieux laitiers et sur l'exploitation des souches en transformation laitière (Deegan et al., 2006). La production d'acides organiques et d'autres composés antimicrobiens, telles que les bactériocines, jouent un rôle majeur dans la conservation des produits laitiers fermentés et contribuent à l'inhibition des germes contaminants (Benhammouche, 2005; Guessas et al., 2006 et Saidi, 2007).

**Partie**  
**bibliographique**

### 1. Définition générale du lait

Le lait est un liquide physiologique complexe sécrété par les mammifères et destiné à l'alimentation du jeune animal naissant. L'origine de ses constituants est à la fois la synthèse réalisée au sein des cellules mammaires, à partir d'éléments sanguins tels que les acides gras et triglycérides, les protéines provenant d'acides aminés et le lactose provenant du glucose et de la filtration sélective de certains composants sanguins (sels minéraux). L'une des caractéristiques nutritionnelles majeures du lait est qu'il représente la source unique de nutriments qui doit satisfaire des besoins importants de croissance de l'organisme. L'intérêt provient de la qualité des ses protéines, de ses lipides et de ses vitamines, en particulier, sa richesse en calcium. La composition du lait varie beaucoup d'une espèce à l'autre et reflète les besoins nutritionnels spécifiques de chaque espèce. Il existe, cependant ; des similitudes dans la composition des laits d'une même espèce (Mahé, 1996).

### 2. Les différents composants du lait

La composition du lait varie d'une espèce animale à une autre le tableau 1 donne la composition chimique des différents mammifères.

**Tableau 1:** Composants de lait de différentes espèces (Alais, 1984 et Amiot *et al.*, 2002)

Eléments en g/l	Vache	Chèvre	Brebis	Chamelle
<b>Eau</b>	900-910	900	860	902
<b>Extrait sec total (EST)</b>	125-135	140	190	140
<b>Matières grasses</b>	35-45	45-50	70-75	46
<b>Matières protéiques</b>	30-36	35-40	55-60	36
<b>Caséines</b>	27-30	30-35	45-50	28
<b>Protéines solubles</b>	4-5	6-8	8-10	8
<b>Matières minérales</b>	7.5-8.2	8-10	10-12	7.2
<b>Lactose</b>	40-50	40-45	45-50	50

#### 2.1 L'eau

Elle forme une solution vraie avec les glucides, les minéraux, une solution colloïdale avec les protéines hydrophiles, une suspension colloïdale avec les micelles de caséines et une émulsion avec les matières grasses. Le lait de chèvre est constitué de 87% d'eau.

### 2.2 Les glucides

Le lactose est le glucide le plus important du lait, d'autres glucides peuvent provenir de l'hydrolyse du lactose (glucose, galactose). Certains glucides peuvent se combiner aux protéines, formant des glycoprotéines ou peuvent se trouver sous forme libre.

### 2.3 Les protéines

On les classe en deux catégories, d'après leur solubilité dans l'eau :

- les caséines:  
(-S1B, -S2A, -A2, K) qui sont en suspension colloïdale se regroupent sous forme de micelles.
- Les protéines de sérum:  
(bêta-lactoglobuline, alpha-lactalbumine) qui se retrouvent sous forme d'une solution colloïdale.

### 2.4 Les Lipides

Les lipides du lait se composent principalement de triglycérides, de phospholipides et forment une émulsion.

### 2.5 Les minéraux

Ils prennent la forme de sel, de base et d'acide mais les deux formes principales sont les sels ionisés solubles dans le sérum et les micelles. Les éléments basiques majeurs comme le calcium, le potassium, le magnésium et le sodium forment des sels avec les constituants acides que sont les protéines, les citrates, les phosphates et les chlorures, en outre le calcium, le magnésium, les citrates et les phosphates se trouvent sous forme colloïdale dans les micelles de caséines.

### 2.6 Les Vitamines

Elles sont réparties en deux classes : les vitamines hydrosolubles et les vitamines liposolubles (Amiotet al., 2002)

### 2.7 Les nucléotides

Indépendamment de l'espèce, la composition en nucléotides du lait dépend du stade de lactation, les concentrations les plus élevées sont dans le colostrum et maximales de deux jours après la mise bas. Le lait de chèvre se caractérise par la part prépondérante des dérivés d'uridine (Jaubert, 1996).

### 3. La microflore du lait

Les micro-organismes du lait sont répartis en deux grandes classes:

#### 3.1 La microflore indigène ou originelle

Ensemble des micro-organismes retrouvés dans le lait à la sortie du pis, ces microorganismes dépendent de l'alimentation, de la race et d'autres facteurs. Les genres dominants en sont principalement des micro-organismes mésophiles (*Micrococcus* sp., *Lactobacillus*, *Streptococcus* ou *Lactococcus* et les bactéries à Gram négatif) (Lamontagne et al., 2002).

#### 3.2 La microflore contaminante

Ensemble des micro-organismes ajoutés au 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, capable de provoquer des malaises chez les personnes qui consomment ces produits laitiers (Lamontagne et al., 2002).

##### ✓ La microflore d'altération:

Responsable de diverses dégradations du produit au niveau du goût, de l'arôme, de l'apparence ou de la texture. Par exemple, texture visqueuse à la surface du fromage, présence de longs filaments dans le lait, caillage du lait, production de mauvaises odeurs (souffrée, ammoniacale, fruitée et atypique) dues à certaines activités métaboliques telles que la protéolyse ou la lipolyse et gazéification du lait provoquant des trous involontaires ou des gonflements durant l'affinage du fromage. Tout ceci réduit la vie de tablette du produit laitier.

Les principaux micro-organismes d'altération sont: *Pseudomonas* sp., *Proteus* sp., coliformes, principalement *E. coli*, *Enterobacter*, les sporulés, tels que *Bacillus* sp., *Clostridium* et certaines levures et moisissures.

##### ✓ La microflore pathogène:

Sa présence dans le lait est due à l'animal, à l'environnement ou à l'homme. Les bactéries pathogènes sont responsables des affections liées à la santé des manipulateurs et des consommateurs.

On en retrouve deux genres:

##### • Les bactéries infectieuses:

Qui doivent être vivantes dans l'aliment lors de sa consommation pour agir. Une fois ingérées, elles dérèglent le système digestif. Apparaissent alors divers symptômes connus,

tels que la diarrhée, les vomissements, les maux de tête et même la mort, dans certains cas extrêmes.

Il s'agit de *Salmonellasp.*, *E. coli* 0157 :H7, *Listeria monocytogenes*, *Clostridium perfringens*, *Brucella* et *Campylobactersp.* (Lamontagneet al., 2002).

- **Les bactéries toxigènes:**

Qui produisent une toxine dans l'aliment et c'est cette toxine qui rend le consommateur malade. Il n'est donc pas suffisant de détruire la bactérie pour éviter l'incidence de la maladie. De plus certaines toxines sont très résistantes aux traitements thermiques, tels que la pasteurisation et même la stérilisation, dans certains cas. Il s'agit de *Staphylococussp.* et *Clostridium botulinum* (Lamontagneet al., 2002).

## 4. Les bactéries lactiques

### 4.1 Notion générale

Avant le vingtième siècle, le terme bactéries lactiques (Lactic acid bacteria) a été utilisé pour signifier les organismes du lait acidifié (Milk-souring organisms). Significativement, la première culture pure de ces bactéries était celle de *Bacterium lactis* (probablement *Lactococcus lactis*), obtenu par Lister (1873). Des progrès importants dans la classification de ces bactéries ont été apparus quand les similarités entre les bactéries du lait acidifié et les autres bactéries productrices d'acide lactique étaient reconnues (Axelsson, 2004).

Les bactéries lactiques sont généralement associées aux habitats riches en nutriments, comme divers produits alimentaires (lait, viande, boisson, végétaux), mais d'autres sont aussi membres de la flore normale de la bouche, l'intestin et le vagin des mammifères (Salminen, 2004 et Carina Audisio et al., 2010).

La monographie d'Orla-Jensen (1919) constitue la référence pour l'étude des bactéries lactiques. Or la Jensen utilise les caractéristiques suivantes comme base de classification: morphologie (cocci ou bâtonnets, formation tétrade), mode de fermentation du glucose (homo ou hétérofermentation), la croissance à certaines températures cardinales (ex: 10°C et 45°C), les types de sucres utilisés. Ces caractéristiques sont toujours très importantes dans la classification des bactéries lactiques (Stiles et Holzappel, 1997; Carret al., 2002 et Axelsson, 2004).

### 4.2 Propriétés générales

D'une façon générale le groupe se compose de bactéries sous forme, de coques ou de bâtonnets à Gram positifs, non sporulant, et produisent l'acide lactique comme produit final

## Partie bibliographique

---

principal pendant la fermentation des carbohydrates (Kandler, 1983). Les BL sont, selon la voie qu'elles empruntent pour fermenter les hexoses, Homofermentaires ou hétéro fermentaires. La voie de la glycolyse (Embden-Meyerhof-Parnas), ayant pour produit final principal l'acide lactique ou la voie 6-phosphogluconate/ phosphokétolase (6-pg/pk) (Schleifer et Ludwig, 1995) Ayant pour résultat l'acide lactique, l'anhydride carbonique et l'éthanol (acideacétique).

Cependant, quelques espèces sont considérées comme hétéro fermentaires facultatifs. Concernant la fermentation des hexoses, ces espèces sont homofermentaires, mais dans certaines conditions (par exemple si la source disponible de carbone est un pentose), elles induisent la voie 6-pg/pk, ayant pour résultat la fermentation hétérolactique (Axelsson, 2004 et Jozala et al., 2005).

Les bactéries lactiques sont trouvées dans diverses niches écologiques, tel que le lait, ainsi que certaines nourritures, la bouche, les régions gastro-intestinales et urogénitales des humains et des animaux (Lopez-Diaz et al., 2000; Navarro et al., 2000; El Shafei et al., 2000 et Mathara et al., 2004). Elles constituent aussi la flore microbienne dominante responsable de la fermentation des céréales et des plantes fourragères ensilées (Carret et al., 2002 et Kotelnikova et Gelfand, 2002). Même si elles se développent dans une variété d'habitats, elles exigent des carbohydrates fermentescibles, des acides aminés, des acides gras, des sels et des vitamines pour leur croissance (Shihata et Shah, 2000; Björkroth et Holzapfel, 2003 et Hammes et Hertel, 2003).

Les souches sont généralement faiblement protéolytiques et lipolytiques et exigent des acides aminés, des purines, des pyrimidines et des vitamines pour leur croissance (Stamer, 1976; Cogan et Hill, 1993 et Jay, 1996).

Les bactéries lactiques utilisées dans les fermentations laitières peuvent être divisées en deux groupes sur la base de leur croissance optimale (Bissonnette et al., 2000). Les bactéries mésophiles avec une température optimum de croissance entre 20°C et 30°C et les thermophiles entre 30°C et 45°C.

Alors que la majorité de souches se développent à pH 4,0-4,5, certaines sont en activités à pH 9,6 et d'autres à pH 3,2 (Jozala et al., 2005). L'acide lactique produit peut être sous deux formes stéréoisomériques, L moins Fréquemment, D ou un mélange des deux (Who, 1974).

### 4.3 Origine des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques ont été isolées dans de nombreux milieux naturels végétaux, animaux et humains; certains espèces semblent adaptées à un environnement spécifique et ne semblent guère se retrouver ailleurs que dans leur habitat naturel. Grace à leur souplesse d'adaptation physiologique, les bactéries lactiques peuvent coloniser des milieux très différents du point de vue physico-chimique et biologique (de Roissard et Luquet, 1994).

Selon Desmazeaud (1992), les espèces du genre *Streptococcus*, *Lactococcus* et *Leuconostoc* rencontrent plutôt chez les hommes, ainsi que chez les animaux. Dans le domaine laitier, elles existent en quantité considérable, les espèces du genre *Lactobacillus* sont encore plus répandues dans la nature, par exemple, on les trouve sur les végétaux où elles assurent l'acidification de l'ensilage, on les trouve aussi dans l'intestin des animaux et de l'homme. Elles sont également isolées des cavités naturelles de l'organisme (cavités buccales et vaginales) (de Roissard et Luquet, 1995).

### 4.4 Génétique des bactéries lactiques

Le matériel génétique des bactéries lactiques est organisé en deux structures: le chromosome, long filament d'ADN très replié sur lui-même, et les plasmides, petites molécules circulaires d'ADN indépendantes du chromosome, pouvant se répliquer de façon autonome. Les plasmides peuvent être perdus spontanément par la bactérie dans les conditions de milieu défavorables (température élevée, privation nutritionnelles) ou éliminés par des traitements chimiques. Cette possibilité de perdre spontanément des plasmides explique l'instabilité des propriétés technologiques, due à l'apparition de variantes ayant perdu certains gènes et donc certaines fonctions métaboliques. Ainsi, la perte du plasmide codant pour la protéase de paroi rend les bactéries peu protéolytiques, et entraîne une croissance ralentie des germes et une acidification faible du lait.

D'autres caractères technologiques sont également codés par des gènes portés par des plasmides: la capacité à utiliser le lactose, le métabolisme de précurseurs d'arômes, la production de la niacine chez certaines souches, des résistances aux bactériophages (Stackebrandt et Teuber, 1988 et Kandler et Weiss, 1986).

### 4.5 Classification des bactéries lactiques

Le groupe des bactéries lactiques a été systématiquement étudié, ensuite plusieurs travaux dans ce domaine ont été repris par (Orla-Jensen, 1919; collinet al., 1987; collinet al., 1993; Davies et Law, 1984; Gilliland, 1995; Stiles et Hotzappel, 1997; Sneath et al., 1986; Leveau et

Bouix, 1983 et cité dans de Roissard et Luquet, 1994) dont le classement est complété par la classification moderne qui a permis de distinguer différents genres.

### 4.5.1 Classification classique

Orla-Jensen (1991), a proposé une classification fondée sur les caractères morphologique, biochimique et physiologique (Température de croissance, mode de fermentation du glucose et la forme de l'acide lactique produit). Il a travaillé sur le genre *Lactobacillus* avec sa structuration en Thermobactérium, Streptobactérium et Bétabactérium correspondant aux trois groupes actuels des Lactobacilles. Homofermentaires strictes, hétérofermentaires facultatifs et hétérofermentaires strictes. Les groupes des homofermentaires sont formés de trois sous-groupes:

- ✓ *Streptobacterium*.
- ✓ *Thermobacterium*.

Les groupes des hétérofermentaires sont formés également de trois sous groupes :

- ✓ *Bifidobacterium*.
- ✓ *Betabacterium*.
- ✓ *Betacoccus*. (Gournier Château et Larpent, 1994).

Selon Sneath et al., (1986), les bactéries lactiques sont regroupées suivant une taxonomie basée sur

#### ❖ Les caractères morphologiques:

##### ▪ La forme:

Des cellules microbiennes représentent souvent un caractère distinctif de l'espace et du genre bactériens (coques ou bâtonnets).

##### ▪ Le diamètre cellulaire:

Est un caractère plus stable que la longueur cellulaire.

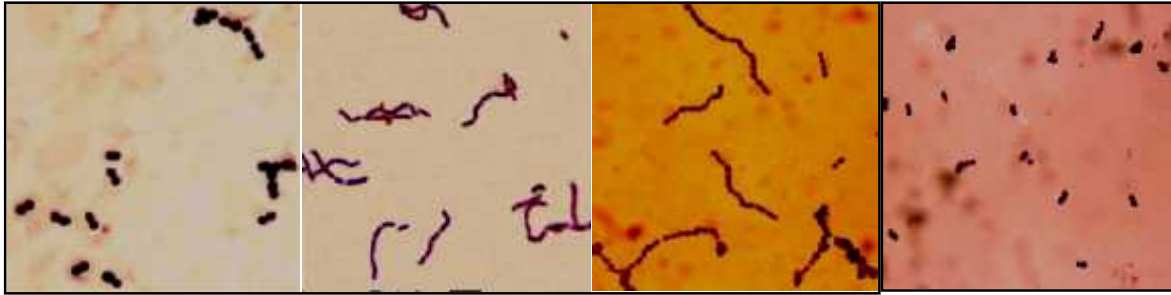
##### ▪ La mobilité:

Est une caractéristique rare chez les bactéries lactiques qui sont généralement non mobiles, sauf dans certains cas où elles possèdent des flagelles péritriches.

##### ▪ La sporulation:

Toutes les bactéries lactiques sont non sporulées.

- La présence d'inclusions cellulaires, corpuscules métachromatiques ou de vultine, est un caractère distinctif de certaines espèces du genre *Lactobacillus* homofermentaires strict.



**Figure 01:** Différentes formes microscopique de bactéries lactiques

De gauche - droite Diplocoques (*Leuconostoc* sp.), (*Lactobacillus* sp.), streptocoques et diplocoques (*Lactococcus lactis* sp.)

### ❖ Les caractères physiologiques et biochimiques:

La quantité et la configuration de l'acide lactique produit, la température de croissance minimale, optimale et maximale, la tolérance à l'oxygène et au chlorure de sodium, production de gaz et d'arome, la production d'ammoniaque à partir de l'arginine, la capacité d'hydrolyser l'esculine ou de résister aux sels biliaires et à différentes valeurs de pH (Luquet et de Roissard, 1994).

### ❖ Les caractères immunologiques:

La réaction immunologique se traduit par l'agglutination des cellules bactériennes ou par la précipitation à l'interface antigène-antisérum (de Roissard et Luquet, 1994).

La sérologie a été utilisée pour la classification et l'identification des Streptocoques, depuis que Lancefield (1933), propose les premiers groupements. Les groupes sérologiques comme le cas des streptocoques lactiques qui sont rangés dans le groupe sérologique N.d) Les caractères structuraux:

- L'analyse de ces composés cellulaires est entrain de devenir un instrument essentiel non seulement pour la classification mais aussi pour l'identification des bactéries.
- Les recherches chimio taxonomiques réalisées sur les bactéries ont contribué de façon fondamentales à expliquer les relations génétiques intra et inter spécifiques.

## 5. Exigences nutritionnelles des bactéries lactiques

Les bactéries lactique sont très exigeantes du point de vue nutritionnelle Elles requièrent plusieurs substrats complexes azotés, phosphatés et soufrés mais aussi des facteurs de croissances comme les vitamines et les cations (Desmazeaud, 1983).

### 5.1 Exigence en vitamines

Vis-à-vis des vitamines, toutes les espèces de lactobacilles présentent une exigence absolue pour le pantothénate de calcium (Vitamine B5) et la riboflavine (vitamine B5) (Sauf pour *Lb. revis* qui nécessite la thiamine -vitamine B1 et l'acide folique), de plus *Lb. lactis*, *Lb. bulgaricus* et *Lb. Acidophiles* exigent la cobalamine (vitamine B12), *Lb. Helverticus* exige lapyridoxine (Vitamine B6), *Lb. Acidophiles* l'acide folique, *Lb. casei* la pyridoxine et l'acidefolique.

Les lactocoques ont une exigence en niacine et en acide pantothénique Les streptocoques thermophiles ont une exigence absolue en acide pantothéniques et enriboflavine leur croissances est stimulées par la thiamine et la niacine la biotine et lapyridoxine (Luquet et de Roissard, 1994).

### 5.2 Exigences en sources azotées

Chez certaines souches des lactocoques, la production d'acide dans le lait peut être stimulée par le mélange, adénine, guanine, uracile et xanthine Dans les milieux synthétiques, les lactobacilles exigent la présence d'adénine, de cytosine, de désoxyguanosine, de guanine, de thymidine et d'uracile (Law et Kolstad, 1988).

### 5.3 Influence des cations

La supplémentation du lait avec 1 à 2,1 mM en ions  $Mg^{++}$  permet la stimulation de la croissance de ce *thermophiles* et *Lactococcus lactis* et un meilleur taux du servie, cet ion serait indispensable pour la croissance de *Lb. Helverticus* et essentiel pour celle de *Lb. Lactis* et *Lb. Delbrueckii*.

Le manganèse à lui aussi des effets biologiques importants chez les bactéries lactiques le manganèse est nécessaire à:

- La structure et fonctionnement des enzymes, dont l'ARN polymérase.
- La détoxication des cellules mises en présence de l'oxygène.
- Le potassium joue un rôle important dans la régulation du pH intracellulaire Cet ion est exigée pour la croissance de *Lb. helvertcus*, *En. faecalis* et *Lb. casei*.
- Le sodium, quant à lui, exerce un effet sélectif sur les différentes espèces de bactéries

## 6. L'intérêt des bactéries lactiques

### 6.1. L'aspect Médical

#### ➤ les probiotiques:

Ce sont Metchnikoff et Tissier qui ont été les premiers à avancer dans leurs travaux des propositions scientifiques au sujet de l'utilisation probiotique des bactéries (Lilly et Stillwell, 1965).

## Partie bibliographique

---

L'expression « probiotique » dérive de deux mots grecs ; « pro » et « bios » qui signifient en faveur de la vie, ce sont des préparations microbiennes vivantes utilisées comme additifs alimentaires et qui ont une action bénéfique sur l'hôte en améliorant la digestion et l'hygiène intestinale.

Chez les animaux d'élevage, ces produits favorisant le mécanisme biologique naturel peuvent être une bonne alternative à l'emploi des antibiotiques qui ont été longtemps utilisés pour améliorer les performances zootechniques et sanitaires de ces animaux mais dont l'une des conséquences néfastes a été l'apparition de l'antibiorésistance.

Chez l'homme, ces bactéries jouent un rôle inhibiteur contre les bactéries pathogènes et améliorent la digestion. L'effet bénéfique est dû à plusieurs mécanismes

- La production d'acides organiques (acide lactique, acétique), de peroxyde d'hydrogène, et de bactériocines limitent le développement des entérobactéries.
- Certaines souches ont la capacité de déconjuguer les sels biliaires qui sont alors plus inhibiteurs sur le développement des bactéries pathogènes que les formes conjuguées.
- Les souches peuvent inhiber l'implantation des germes pathogènes par compétition.
- pour l'adhésion aux cellules intestinales, ce qui permet une colonisation rapide et dirigée du tube digestif.
- Ces bactéries peuvent réduire l'absorption de substances toxiques (ammoniac, amines, indole) et peuvent ainsi diminuer les biotransformations des sels biliaires et des acides gras en produits toxiques.
- Les probiotiques peuvent également produire des métabolites susceptibles de neutraliser « in situ » certaines toxines bactériennes.
- Les probiotiques peuvent stimuler l'activité enzymatique de micro-organismes endogènes permettant ainsi une meilleure assimilation des aliments.
- Ils peuvent stimuler les cellules du système immunitaire et favoriser la production d'anticorps qui inhibent ainsi les bactéries pathogènes à la surface des muqueuses intestinales.
- Certaines souches peuvent posséder une activité anti-cancérogène dont les propriétés peuvent se répartir en deux catégories :
  - la prévention de l'initiation d'un cancer, soit en détruisant des substances Pré-cancérogènes présentes dans l'organisme, soit en inhibant les bactéries présentes dans le tractus digestif, productrices d'enzymes catalysant la conversion des substances cancérogènes.

- la suppression de cellules tumorales, soit directement, soit de façon Indirecte, en favorisant l'activité des macrophages qui sont impliqués dans la destruction des cellules tumorales.

- Les Lactobacilles excrètent la beta-galactosidase, souvent déficiente dans le tractus digestif de l'hôte et facilite donc la digestion du lactose (Larpent, 1997).

## **6.2. L'aspect technologique**

### **➤ Les levains**

- ✓ Acidification par production d'acide lactique.
- ✓ Texturation par libération d'exopolysaccharides (yaourts).
- ✓ Production d'arômes (acétaldéhyde) (fromages).
- ✓ Amélioration des propriétés digestives (Bifidobacterium) (Brangeret al.,2007).

Ils possèdent un pouvoir inhibiteur vis-à-vis des micro-organismes pathogènes ou d'altération (Larpent, 1997), Leur rôle dans la production des fromages est d'abord la fermentation du lactose en acide lactique et donc l'acidification du lait pour obtenir le caillé (à partir d'un pH inférieur à 4.6).

D'autre part, les espèces de *Lactobacillus* comme *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus thermophilus* sont pour la plupart, des espèces homofermentaires. Du fait de leur métabolisme particulièrement diversifié, elles participent de façon plus importante que les streptocoques lactiques à la production d'arômes. Leur rôle est essentiel au cours de l'affinage des fromages car leur concentration au cours de cette étape est forte par rapport à leur concentration dans le lait et le caillé (Leyral et Vierling, 2007).

**Tableau 02:** Rôle de quelques espèces de *Lactobacillus* utilisées en industrie (Lamontagne et al., 2002).

<b>Espèces</b>	<b>Emploi en industrie</b>	<b>Rôle</b>
<i>Lb. bulgaricus</i>	Yogourt – fromage (mozzarella...)	Acidification en cours de production protéolyse en cours de maturation libération du galactose pour le brunissement production d'arômes et de polysaccharides (yogourt).
<i>Lb. helveticus</i>	Fromages (suisse, mozzarella...)	Acidification en cours de production prévention de l'amertume (peptidase).
<i>Lb. casei</i>	Yogourt - fromage (cheddar...)	Un peu d'acidification en cours de production contribution au caractère probiotique.
<i>Lb. acidophilus</i>	Yogourt- lait acidophile	Acidification en cours de production contribution au caractère probiotique.
<i>Lb. kefir</i>	Kéfir	Acidification en cours de production

## Partie bibliographique

En industrie, on utilise les levains. Comme les bactéries doivent se multiplier et atteindre des populations de l'ordre de  $10^5$  à  $10^6$  cellules/ml pour déclencher le processus fermentaire désiré, on ajoute le levain, ce qui évite l'attente de la phase de multiplication et prévient le développement d'autres micro-organismes d'altération (Montel, 2005).

Ces levains sont généralement des cultures mixtes et non des cultures pures, à cause des bactériophages. Deux types de ferments sont disponibles :

- **Ferments mixtes :**

Mélanges non déterminés, provenant généralement de cultures repiquées de façon traditionnelle, moins sensibles aux phages mais plus difficiles à uniformiser.

- **Ferments définis:**

souches mélangées dans des proportions précises, il convient de connaître, outre les caractéristiques de chaque souche, les interactions positives (comme l'association *Streptococcus thermophilus/ Lb. Bulgaricus* dans le yogourt) et négatives pour cause d'antagonisme (Lamontagne et al., 2002).

**Tableau 03:** Critères technologiques de sélection des bactéries lactiques fournis par les fiches techniques (Lamontagne *et al.*, 2002).

<b>Propriétés de fermentation</b>	<b>Résistance/sensibilité</b>	<b>autres</b>
Dilution des sucres (homo /hétérofermentation)	Bactériophages	Nomenclature
Fermentation du citrate/production d'arômes	NaCl	Comportement symbiotique (cultures mixtes)
Production de gaz	Température (cuisson)	Coût
Vitesse d'acidification	Phosphates (milieux de culture)	Qualité microbiologique
Activité protéolytique et peptidolytique	pH inhibiteur (suracidification lors de l'entreposage du yogourt)	
Production de saccharides	Oxygène	
Production de bactériocines ou d'autres inhibiteurs de micro-organismes indésirables		
Acidité titrable ou pH indiquant la fin de la fermentation		

## Partie bibliographique

---

Les ferments lactiques du genre *Lactococcus* et *Leuconostoc* sont mésophiles (leur croissance optimale se situe entre 25°C et 45°C), un certain nombre de cultures (*Lactobacillus* de *lbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Lactobacillus helveticus*, *Streptococcus thermophilus* et *Bifidobacterium*) sont dites thermophiles car leur température optimale de croissance se situe entre 37°C et 47°C.

Connaître la caractéristique du comportement d'une culture selon la température est cruciale en technologie laitière. La température sert à contrôler les vitesses d'acidification et constitue un outil important dans la gestion de l'équilibre des flores (Lamontagne *et al.*, 2002).

Un inconvénient des bactéries lactiques, au niveau industriel, est d'ordre génétique ; à l'exception des *Streptocoques thermophiles*, elles possèdent des protéinases liées aux parois qui les rendent capables d'utiliser les oligopeptides et les protéines du lait. La température, le pH et la concentration en ions calcium interviennent pour réguler la liaison de la protéinase à la paroi cellulaire. Les gènes des protéinases ne sont pas situés sur le chromosome bactérien mais sur des petits fragments d'ADN ou plasmides, qui peuvent être perdus quand les cellules se divisent en cours de croissance, d'où une instabilité d'autant plus forte que d'autres caractères technologiques sont aussi codés par des gènes portés par des plasmides (hydrolyse du lactose, métabolisme du citrate...etc). Pour l'avenir, il faut stabiliser ces caractères d'acidification, de protéolyse ou de production de composés d'arômes par intégration dans le chromosome bactérien des gènes portés par les plasmides (Martinet et Houdebine, 1993).

En dépit des progrès récents en technologie et des concepts d'assurance-qualité, l'application des pratiques d'hygiène dans les ateliers de production de certains produits alimentaires en Afrique s'est montrée insuffisante pour assurer l'absence des bactéries d'altération et pathogènes dans le produit final.

Cette problématique a donc incité les chercheurs à développer de nouvelles technologies, notamment celles qui utilisent des agents biologiques pour réduire les contaminations. Les bactéries lactiques productrices de bactériocines représentent un modèle de choix pour réaliser cet objectif (Thonart *et al.*, 2009).

## Partie bibliographique

**Tableau 04:** Principales utilisations des bactéries lactiques en agroalimentaires (Caplice et Fitzgerald 1999 et Ross *et al.*, 2002).

Produits	Pays	Microorganismes	Substrats
<b>Pain</b>			
Pain	International	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> , autres levures, et BL.	Blé, riz et autres céréales
San Francisco		<i>Lb. sanfrancisco</i>	Farine de blé
<b>Produits végétaux</b>			
Bongkrek	Indonésie	<i>Rhizopus</i> <i>Oligosporus</i> Noix	de coco
Gari	Afrique de l'ouest	<i>Corynebacterium manihot</i> , autres levures, et BL ( <i>Lb. plantarum</i> , <i>Streptococcus spp.</i> )	Racines de manioc
Idli	Sud de l'Inde	BL ( <i>Ln. mesenteroides</i> , <i>E. faecalis</i> ) <i>Torulopsis</i> , <i>Candida</i> , <i>Trichosporon pullulans</i>	Riz et black gram dhal
Kenkey	Ghana	Inconnu	Mais
Kimchi	Corée	BL	Choux, végétaux, noix
Mahewu	Afrique du sud	BL	Mais
Ogi	Nigeria	BL, <i>Cephalosporium</i> , <i>Fusarium</i> , <i>Aspergillus</i> , <i>Penicillium spp.</i> , <i>Saccharomyces cerevisiae</i> , <i>Candida mycoderma</i> , <i>C. valida</i> , ou <i>C. vini</i>	Mais
Sauce de soja	Japon, Chine, Philippines	<i>Aspergillus oryzae</i> ou <i>A. soyae</i> , <i>Lactobacillus</i> , <i>Zygosaccharomyces rouxii</i>	Soja et blé
Tempeh	Indonésie	<i>Rhizopus oligosporus</i> Soja	
Nan	Inde	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> , BL.	Farine
Olives	Méditerranée	<i>Ln. mesenteroides</i> , <i>Lb. plantarum</i> Olives vertes	
Choucroute	Europe	<i>Lc. lactis</i> , <i>Ln. mesenteroides</i> , <i>Lb. (brevis, plantarum, curvatus, sake)</i>	Choux
Sauce de soja		<i>Lactobacillus sp.</i> , <i>Aspergillus oryzae</i> et <i>Zygosaccharomyces rouxii</i>	Soja et blé
Légumes		<i>Enterococcus (mundtii, faecium)</i> , <i>Lactococcus (cremoris, lactis)</i> ,	Legumes
Pickles		<i>Pediococcus</i> , <i>Lb. plantarum</i> Concombres	
Bière		<i>Saccharomyces cerevisiae</i> , BL	Orge, houblon

## Partie bibliographique

Vin		<i>Oenococcus oenos</i>	Raisin
Sake		<i>Lb. sake, Lb. homohiochi,</i> <i>Ln. mesenteroides</i>	Riz
<b>Produits laitiers</b>			
Fromages	International <i>Lc. lac</i>	<i>tis, Sc. thermophilus, Lb. shermanii</i> et <i>Lb. bulgaricus, Propionibacterium shermanii, Penicillium spp.</i>	Lait de vache, chèvre ou brebis
Lait fermenté		<i>Lb. acidophilus</i>	Lait de vache
Cheddar		<i>Lc. (cremoris, lactis)</i> et <i>Leuconostoc</i>	Lait
Suisse		<i>Lb. (delbrueckii, bulgaricus, helveticus)</i>	Lait
Yoghurt	International <i>S. thermophilus</i>	<i>Lb. bulgaricus</i>	Lait
Kéfir		<i>Lactococcus</i> , levure, <i>Lb. kefir</i> (et autres)	Lait de vache, de jument ou de chèvre
<b>Produits carnés et de la pêche</b>			
Viandes et Saucisses fermentées	Europe (Sud et Centre, U.S.A.)	BL ( <i>Lactobacillus, Pediococcus</i> ), <i>Staphylococcus</i> , autres BL	Viandes de bœuf, porc et volailles
Poissons		<i>Lb. (plantarum, casei), Cb. (piscicola, et divergens)</i>	Poisson
Izushi	Asie <i>Ln. mesenteroides</i>	<i>Lb. plantarum</i>	Poisson, riz, légumes

Traditionnellement, les fermiers et les bergers ont fait le fromage à partir du lait cru de vaches, de chèvres ou de brebis sur une petite échelle, en utilisant les bactéries lactiques naturelles. Des cultures de ces bactéries ont été produites en incubant le lait ou petit lait à partir de la veille dans des conditions spécifiques. Aujourd'hui, cette manière traditionnelle de produire le fromage est toujours présente dans beaucoup de pays européens méditerranéens et méridionaux; ces fromages sont généralement appelés «artisanaux» (Coganet al., 1997).

Il n'est pas étonnant de découvrir que les produits fermentés traditionnels des pays subtropicaux hébergent principalement des bactéries thermophiles, tandis que les produits avec les bactéries mésophiles proviennent des pays européens nordiques (Wouters et al., 2002). Elles ont été traditionnellement employées en tant que biopréservateur des produits alimentaires. La biopréservation se rapporte à la durée de conservation prolongée et la sécurité augmentée des nourritures obtenues en employant la flore microbienne normale ou supplémentaire et leurs produits antimicrobiens.

L'utilisation des procédés de fermentation a augmenté durant ces dernières années et inclus maintenant beaucoup de types d'alimentation que ce soit pour les humains ou les animaux (Rosset al., 2002 et Schnürer et Magnusson, 2005).

### **7. Critères de sélection de souches pour l'élaboration des ferments**

Cette sélection s'effectue selon des critères technologiques, les principales fonctions des ferments étant la production d'acide de gaz et d'arome, la protéolyse, la lipolyse et l'inhibition de bactérie indésirables. La caractérisation technologique se fait donc sur les critères suivants :

#### **7.1 Activité acidifiante**

L'acidification et le rôle principal des bactéries utilisées comme ferments celle-ci a différents buts:

- La coagulation du lait (en facilitant l'action de l'enzyme de la présure) et l'augmentation de la synérèse du caillé.
- La participation aux propriétés rhéologiques du produit final.
- L'inhibition de la croissance des bactéries nuisibles (Larsen et Anon, 1989 et 1990).

#### **7.2 Activité protéolytique**

Les bactéries lactiques possèdent des protéinases, des peptidasesnécessaire à la dégradation des protéines du lait en peptides et acides aminés. Ceux- ci peuvent alors être transformés en alcools et en acides. Cette activité protéolytique intervient de ce fait sur le rendement fromager, la texture et la saveur typique du fromage et par conséquent sur les caractéristiques du produit final (Chahbalet al.,1991 et 1993).

Dans les fromages, l'activité des enzymes protéolytiques des bactéries lactiques est fondamentale car elle va participer à la formation du gout ou des aromes : la protéolyse due aux bactéries lactiques va surtout conduire à des peptides court et à des acides aminés libres Ces derniers sont des précurseurs pour de nombreux produits d'aromes. En effet, la méthionine peut conduire à des composés soufrés caractéristiques. Ceci après leur dégradationpar la flore d'affinage (Schirchet al., 1985 et Ott et al., 1997).

#### **7.3 Pouvoir aromatisant et pouvoir gazeux**

Certaines bactéries lactiques sont capables de produire des composés d'aromes qui participent aux qualités organoleptiques des fromages. La plupart des composés d'arome sont issus du métabolisme du citrate: l'acétoïne et le diacétyle sont les plus importants (Tamime, 1990).

### 7.4 Résistance aux bactériophages

Les phages, virus des bactéries, sont des parasites obligatoires. Ils constituent l'une des principales causes de perturbation de l'acidification du lait par les bactéries lactiques. Il est nécessaire que les bactéries lactiques composant les ferments ne soient pas toutes sensibles aux mêmes phages pour diminuer les risques d'accidents de fabrication.

### 7.5 Activité bactériostatique

#### ❖ production de bactériocines:

Les bactériocines, telles que la nisine ou la pédiocine, sont des molécules de nature protéique dont l'action bactériostatique est spécifique de quelques espèces bactériennes. Ces substances, élaborées par certaines bactéries, inhibent ainsi la croissance de différentes souches de bactéries pathogènes (*Listeria* et *Clostridium*), contribuant aussi à la préservation de l'équilibre microbien et organoleptique du fromage.

Les bactéries lactiques produisent des substances antimicrobiennes de nature protéique appelées bactériocines. Cette caractéristique est utilisée industriellement pour la destruction des bactéries indésirables et pathogènes dans la fabrication d'aliments comme la nisine produite par les lactocoques dirigée contre *Bacillus* et *Clostridium*, la plantaricine et la sakacine produites toutes les deux par les lactobacilles actives sur *E. coli*, *Listeria* et certaines levures (Neset *al.*, 1996).

#### ❖ Résistance aux antibiotiques :

La présence d'antibiotiques dans le lait (pénicilline, vancomycine...etc) peut être due au traitement des immunités. La plupart des bactéries y sont sensibles. Mais, de plus en plus on voit l'émergence de souches résistantes à ces antibiotiques, surtout dans le genre *Enterococcus*. Il n'est pas souhaitable de sélectionner, dans la composition des ferments, des souches résistantes aux antibiotiques, car, ingérées par l'homme, elles sont susceptibles de transférer ces caractères aux autres bactéries du tube digestif. De plus, l'augmentation de l'ingestion d'antibiotiques par l'homme peut entraîner des risques d'allergies.

Enfin, des bactéries résistantes aux antibiotiques peuvent avoir, en plus, perdu certaines de leurs caractéristiques originelles.

## 8. Composés antimicrobiens produits par les bactéries lactiques

Les bactéries lactiques produisent divers composés tels que les acides organiques, le diacétyle, le peroxyde d'hydrogène, le CO<sub>2</sub> et/ou les bactériocines pendant les fermentations lactiques (Talarico et Dobrogosz, 1989; Lindgren et Dobrogosz, 1990; Piard et Desmazeaud, 1991; Anderssen *et al.*, 1998; Sholeva *et al.*, 1998; Ouwehand, 1998;

Zhennai, 2000; Oyetayo *et al.*, 2003 et Deeganet *al.*, 2006).

Les composés antimicrobiens produits par les BL peuvent empêcher la croissance des bactéries pathogènes; contaminants possibles des produits fermentés (Smith et Palumbo, 1983; Andersson, 1986; Adams et Hall, 1988; Raccachet *al.*, 1989; Berryet *al.*, 1995; Cintas *et al.*, 1998; Gill et Halley, 2003 et Guessaset *al.*, 2006).

### ❖ Acides organiques :

L'acide lactique est le métabolite principal des BL causant la réduction du pH qui inhibe largement de microorganismes (Eklund, 1989 et Schnürer et Magnusson, 2005). La forme non dissociée et plus hydrophobe de l'acide se répand au-dessus de la membrane des cellules et se dissocie à l'intérieur de la cellule, libérant les ions  $H^+$  qui acidifient le cytoplasme (Piard et Desmazeaud, 1991). En plus de l'effet du pH, l'acide non dissocié fait chuter le gradient électrochimique de proton, entraînant la bactériolyse et finalement la mort des bactéries sensibles (Eklund, 1989).

Les BL hétérofermentaires produisent en plus, de l'acide acétique qui possède un plus haut pKa que l'acide lactique, ont donc une proportion plus élevée d'acide non dissocié à un certain pH semblable avec l'acide lactique. Les acides acétiques et propioniques agissent l'un sur l'autre sur les membranes de cellules pour neutraliser le gradient électrochimique de proton, mais l'effet de l'acide acétique et propioniques dépend souvent de la diminution du pH provoqué par l'acide lactique (Eklund, 1989).

L'acide propionique réduit la croissance fongique, particulièrement à un pH inférieur, et affecte les membranes fongiques aux valeurs de pH en dessous de 4,5. L'acide propionique et acétique empêchent également l'assimilation d'acide aminé (Freeseet *al.*, 1973 et Eklund, 1989).

L'acide lactique produit pendant la croissance des BL et l'acétate de sodium contenu dans le MRS (de Manet *al.*, 1960), peuvent avoir des effets antifongiques synergiques (Caboet *al.*, 2002).

De toute façon, les effets inhibiteurs des acides organiques tels que l'acide lactique, acétique et propionique continueront à compliquer des études sur des effets antimicrobiens des BL, à moins que d'autre purification et caractérisation rigoureuses des substances soit appliquée (Magnusson et Schnürer, 2001; Magnusson *et al.*, 2003 et Schnürer et Magnusson, 2005).

Les niveaux et les types d'acides organiques produits pendant les fermentations dépendent de l'espèce, de la composition du milieu et des conditions de croissance (Lindgren et Dobrogosz, 1990).

## Partie bibliographique

---

Le pH bas externe cause l'acidification du cytoplasme des cellules, alors que l'acide nondissocié étant lipophile, peut se répandre passivement à travers la membrane (Kashket, 1987).

L'acide non dissocié agit en effondrant le gradient électrochimique de proton, ou en changeant la perméabilité de la membrane des cellules (Smulders *et al.*, 1986 et Earnshaw, 1992).

L'effet inhibiteur spécifique des acides organiques est généralement attribué à leur forme dissociée et non dissociée. Cette forme pénètre librement dans la cellule où elle s'ionise ce qui provoque un abaissement du pH interne et le blocage de certains mécanismes de transport (Parente *et al.*, 1994). Dans le cas de l'acide lactique, les concentrations en acide non dissocié nécessaires pour provoquer une inhibition sont pour les levures, les *Enterobacteriaceae* et les *Micrococaceae* de l'ordre 1 mM; pour les moisissures de 3 mM; et pour les *Bacillaceae* de 4 mM (Baird-Parker, 1980 et Adams et Hall, 1988).

L'acide lactique est le métabolite principal de la fermentation des BL où il est en équilibre avec ses formes dissociée et non dissociées, et l'ampleur de la dissociation dépend du pH. A pH bas, une grande quantité d'acide lactique est sous la forme non dissociée, et elle est toxique à beaucoup de bactéries, champignons et levures (Podolak *et al.*, 1996).

Cependant, le comportement des différents micro-organismes vis-à-vis de l'acide lactique varient considérablement. L'acide lactique à pH 5,0, a un effet inhibiteur contre les bactéries sporulées mais il est inefficace contre les levures et les champignons (Woolford, 1975).

L'antagonisme est censé résulter de l'action des acides sur la membrane cytoplasmique bactérienne qui interfère l'entretien du potentiel de membrane et empêche le transport actif (Sheuet *et al.*, 1972; Eklund, 1989 et de Vuyst et Vandamme, 1994 a), et peut être négocié par l'acide dissocié et non dissocié (Cherrington *et al.*, 1991).

Les stéréoisomères de l'acide lactique diffèrent également dans l'activité antimicrobienne, l'acide lactique L étant plus inhibiteur que l'isomère D (Benthin et Villadsen, 1995).

Les bactéries hétérofermentaires produisent des quantités d'acide organique autre que l'acide lactique. Les leuconostocs, et les lactobacilles hétérofermentaires produisent autant d'acétate que de lactate (Kandler, 1983).

L'acide acétique est fortement inhibiteur pour les nombreux microorganismes et la

présence simultanée d'acide lactique pourrait avoir un léger effet de synergie. L'acide acétique également agit en synergie avec l'acide lactique; l'acide lactique diminue le pH du milieu, augmentant de ce fait la toxicité de l'acide acétique (Adams et Hall, 1988).

Les bactéries nocives et pathogènes ne peuvent pas se développer dans un environnement acide. Ainsi le pH minimum de croissance peut varier d'une bactérie à une autre. Dans les produits fermentés, la baisse du pH dépend de la concentration en substrat fermentescible. Elle est limitée par le pouvoir tampon du milieu et par le pH minimum toléré par les ferments.

Le pH atteint dans certains de ces produits (yaourt, pH:4; saucisson sec, pH 4,5 à 5,3) suffit à éliminer certains contaminants (Huanget al., 1986).

Les acides acétiques et propioniques produits par les BL par les voies hétérofermentaires, peuvent agir sur les membranes, et causent l'acidification intracellulaire et la dénaturation des protéines (Huanget al., 1986).

Ils ont un effet antimicrobien plus fort que l'acide lactique dus à leurs valeurs plus élevées de pKa (acide lactique 3,08, acide acétique 4,75, et acide propioniques 4,87), et un pourcentage plus élevé d'acides non dissociés à un pH donné (Earnshaw, 1992).

L'acide acétique est plus inhibiteur que l'acide lactique et l'acide citrique envers *Listeria monocytogenes* (Richardset al., 1995), et envers la croissance et la germination de *Bacillus cereus* (Wong et Chen, 1988).

### ❖ Acides gras :

Dans certaines conditions, quelques lactobacilles et lactocoques possédant des activités lipolytiques peuvent produire des quantités significatives d'acides gras, par exemple dans la fermentation du lait fermenté (Raoet al., 1984) et des saucisses sèches (Sanzet al., 1988).

L'activité antimicrobienne des acides gras a été identifiée pendant plusieurs années. Les acides gras insaturés présentent une activité contre les bactéries à Gram<sup>+</sup>, et l'activité antifongique des acides gras dépend de la composition, de la concentration, et du pH du milieu (Gould, 1991).

### ❖ Peroxyde d'hydrogène :

En général, les bactéries lactiques sont capables de transformer l'oxygène moléculaire (O<sub>2</sub>) en super oxyde excité (O<sub>2</sub>\*), en peroxyde (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) ou en eau (H<sub>2</sub>O). Ces réactions sont catalysées par des enzymes spécifiques généralement en présence d'un substrat à oxyder. Ces enzymes ont été trouvées chez des souches de *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc* et *Pediococcus* (Condon, 1987).

Le peroxyde d'hydrogène est produit par les BL en présence de l'oxygène sous l'action de la flavoprotéine oxydase du nicotinamide adénine hydroxyperoxydase dinucléotide (NADH).

L'effet antimicrobien de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> peut résulter de l'oxydation des groupes sulfhydryliques causant la dénaturation d'un certain nombre d'enzymes, et de la peroxydation des lipides de membrane; de ce fait provoque l'augmentation de la perméabilité de la membrane (Kong et Davison, 1980).

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> peut également agir comme précurseur pour la production de radicaux libres bactéricides tels que le superoxide (O<sub>2</sub><sup>-</sup>) et radicaux d'hydroxyle (OH) qui peuvent endommager l'ADN (Byczkowski et Gessner, 1988).

Dans le lait cru, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> active le système de lactoperoxydase produisant le hypothiocyanate (OSCN<sup>-</sup>, des oxyacides plus élevés (O<sub>2</sub>SCN<sup>-</sup> et O<sub>3</sub>SCN<sup>-</sup> et produits intermédiaires d'oxydation qui sont inhibiteurs à une gamme étendue de bactéries à Gram<sup>+</sup> et à Gram<sup>-</sup> (Reiter et Härnolv, 1984 et Conner, 1993). H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> peut s'accumuler et devenir inhibiteur pour quelques microorganismes (Condon, 1987). Cette accumulation résulte d'un déséquilibre entre les moyens de synthèse et de dégradation.

Le peroxyde d'hydrogène peut aussi activer le système lactoperoxydase avec la formation de l'hypothiocyanate et d'autres agents antimicrobiens (de Vuyst et Vandamme, 1994 b). L'ion hypothiocyanate est un très puissant antimicrobien qui agit aussi bien sur les bactéries à Gram<sup>+</sup> que sur les bactéries à Gram<sup>-</sup>.

La production de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> par *Lactobacillus* et *Lactococcus* inhibe la croissance de *Staphylococcus aureus*, de *Pseudomonas sp.* et de divers microorganismes psychrotrophes (Davidson *et al.*, 1983). L'inhibition est négociée par l'effet d'oxydation fort sur des lipides de membrane et des protéines cellulaires (Morris, 1976 et Lindgren et Dobrogosz, 1990).

Le peroxyde d'hydrogène peut également activer le système lactoperoxydase du lait frais avec la formation de l'hypothiocyanate et d'autres agents antimicrobiens (Reiter et Härnolv, 1984; Pruitt *et al.*, 1986 et Condon, 1987).

La quantité de peroxyde d'hydrogène produite par les bactéries lactiques dépend en grande partie de la souche et la disponibilité de l'oxygène (Helander *et al.*, 1997).

### ❖ Dioxyde de carbone (CO<sub>2</sub>) :

Il est principalement produit par les BL hétérofermentaires. Le mécanisme précis de son action antimicrobienne est toujours inconnu. Cependant, le CO<sub>2</sub> peut jouer un rôle antimicrobien en créant un environnement anaérobie, qui empêche les décarboxylations

enzymatiques, et l'accumulation de CO<sub>2</sub> dans le milieu peut causer un dysfonctionnement de la perméabilité (Eklund, 1984).

Le CO<sub>2</sub> peut aussi empêcher la croissance de beaucoup de microorganismes de détérioration, particulièrement les bactéries psychrotrophes à Gram<sup>-</sup> (Farber, 1991 et Hotchkisset *al.*, 1999). Le degré d'inhibition par le CO<sub>2</sub> varie considérablement selon les espèces. Un taux de CO<sub>2</sub> de 10% pourrait diminuer la population bactérienne de 50% (Wagner et Moberg, 1989), et entre 20 et 50%, il a une forte activité antifongique (Lindgren et Dobrogosz, 1990).

### ❖ Composants aromatiques :

Certaines bactéries lactiques sont capables de produire des composés d'arômes qui participent aux qualités organoleptiques des fromages. La plupart des composés d'arôme sont issus du métabolisme du citrate: l'acétoïne et le diacétyl sont les plus importants.

### ❖ Diacétyl :

Il est produit par des souches de *Lc. lactis* subsp. *lactis* biovar. *diacetylactis* par la fermentation du citrate (Lindgren et Dobrogosz, 1990 et Cogan et Hill, 1993). Il est responsable de l'arôme et de la saveur du beurre et de quelques autres produits laitiers fermentés. Les niveaux sensoriels acceptables du diacétyl sont de 2 à 7 µg/ml (Earnshaw, 1992).

Beaucoup de bactéries lactiques comprenant des souches de *Leuconostoc*, de *Lactococcus*, de *Pediococcus* et de *Lactobacillus* peuvent produire le diacétyl bien que la production soit réprimée par la fermentation des hexoses (Cogan, 1986). Son utilisation pratique en tant que conservateur est limitée.

Cependant, le diacétyl peut agir synergiquement avec d'autres facteurs antimicrobiens (Jay, 1992) et contribuer aux systèmes combinés de conservation en nourritures fermentées. Les bactéries à Gram<sup>-</sup> sont plus sensibles au diacétyl que les bactéries à Gram<sup>+</sup>; 200 µg/ml et 300 µg/ml respectivement (Jay, 1982). Une concentration de 344 µg/ml a empêché la croissance des souches de *Listeria*, *Salmonella*, *Yersinia* et *Escherichia coli*. L'effet antimicrobien du diacétyl a été connu depuis les années 30. Il empêche la croissance des bactéries à Gram<sup>-</sup> en affectant l'utilisation de l'arginine (Jay, 1986).

Le diacétyl a été démontré pour être un antimicrobien efficace contre un éventail de bactéries Gram négatives et Gram positives, bien que les bactéries lactiques soient généralement résistantes (Gill et Halley, 2003). Les quantités de

diacétyle produites par *Lc. Lactis* sub sp. *lactis* biovar. *diacetylacti* varient de 0,07 à 3,72 ppm (Burrowet *al.*, 1970).

### ❖ Acétaldéhyde

Chez *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, l'action d'une thréonine aldolase, clive la thréonine en acétaldéhyde et en glycine. L'acétaldéhyde à une concentration de 10 à 100 ppm empêche la croissance de *Staphylococcus aureus*, de *Salmonella typhimurium* et d'*E.coli* dans les produits laitiers (Piard et Desmazeaud, 1991).

Les quantités d'acétaldéhyde produites par les lactocoques oscillent entre 2,60 et 6,50 mg/ml (Bottazzi et Dellaglio, 1967). La contribution de l'acétaldéhyde à la biopréservation est mineure puisque le seuil de saveur est beaucoup inférieur aux niveaux qui sont considérés nécessaires à l'inhibition des microorganismes (Kulshrestha et Marth, 1974).

### ❖ Reutérine :

La reutérine est produite par *Lactobacillus reuteri*, une espèce hétérofermentaire dont la niche écologique est l'appareil gastro-intestinal des humains et des animaux (Axelsson *et al.*, 1989). La reutérine est formée pendant la croissance anaérobie de *Lb. reuteri* par l'action de la glycérol déshydratase (Fig. 7) qui catalyse la conversion du glycérol en reutérine (Talarico *et al.*, 1988). La reutérine est produite pendant la phase stationnaire de *Lactobacillus reuteri* dans un milieu contenant du glucose et du glycérol ou du glyceraldéhyde. Elle a été chimiquement identifiée pour être le 3-hydroxypropanal ( - hydroxypropionaldéhyde), un composé fortement soluble à pH neutre qui est en équilibre avec ses formes dimères monomériques et cycliques hydratées (Axelsson *et al.*, 1989, Talarico et Dobrogosz, 1989).

La reutérine montre un large spectre d'activité antimicrobienne contre certaines bactéries à Gram<sup>+</sup> et à Gram<sup>-</sup>. Les organismes de détérioration sensibles à la reutérine comprennent *Salmonella*, *Shigella*, *Clostridium*, *Staphylococcus*, *Listeria*, *Candida*, et *Trypanosoma* (Axelsson *et al.*, 1989).

## 9. Définition des interactions

Les produits laitiers, en général, comme le lait fermenté ou les fromages sont les supports d'écosystèmes dont la composition évolue avec le temps. Les facteurs de sélection qui gouvernent cette évolution sont générés par l'activité métabolique des micro-organismes eux-mêmes. Ceux-ci, à un instant donné, créent à la fois les conditions de leur déclin et celles favorisant l'installation d'autres groupes microbiens :

❖ par la production de substances inhibitrices ou au contraire celles de facteurs de croissance.

❖ par la modification de facteurs physico-chimiques, dont le pH. (Leyral et Vierling, 2007).

- **Interactions positives: synergie**

Le meilleur exemple en est l'effet coopératif entre deux espèces ; *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus delbrueckii* qui jouent un rôle dans l'élaboration du yaourt. Au début de la fermentation, c'est le Streptocoque qui se développe le plus rapidement et produit différents acides (acide pyruvique, acide formique, acide lactique), l'adénine et une très faible quantité de CO<sub>2</sub>. L'abaissement progressif du pH et la présence de ces substances vont petit à petit activer la croissance du Lactobacille qui est plus acidophile. Celui-ci a une activité protéolytique plus importante que celle du Streptocoque et la libération d'acides aminés (valine, histidine, glycine, acide glutamique, leucine, méthionine) et des peptides vont les stimuler. Malheureusement pour le Streptocoque, ces interactions positives ne durent pas très longtemps, dans la mesure où il est beaucoup plus sensible au pH que le Lactobacille, sa croissance va être progressivement inhibée par l'acidité du milieu (Brangeret *al.*, 2007).

- **Interactions négatives : inhibition**

L'un des avantages présentés par les bactéries lactiques est l'augmentation de la durée de conservation d'un produit alimentaire par la production de nombreux métabolites aux propriétés antimicrobiennes tels que les acides organiques, le peroxyde d'hydrogène, le dioxyde de carbone, la reuterine, le diacétyl et les bactériocines (Dortu et Thonart, 2009).

- ❖ **Les acides organiques :**

La production de l'acide lactique et de l'acide acétique et la diminution consécutive du pH sont de loin les plus importants facteurs d'inhibition (Adams et Moss, 2008).

Dans une étude menée par Jinet *et al.*, (1996), il est suggéré que l'inhibition de *Lactobacillus* à l'égard des souches pathogènes de *Salmonella* et de *Escherichia coli* est due à la production d'acides organiques par *Lactobacillus*.

Gudkow (1987) et Taylor, (2005) ont montré qu'*Escherichia coli* est inhibé par l'acide lactique à pH de 5.1.

L'inhibition de *E. coli* par *Lactobacillus* est due à un fort effet bactéricide de l'acide lactique à pH bas.

## Partie bibliographique

---

On admet que la première cause d'inhibition par l'acide lactique des bactéries lactiques est la réduction du pH qui inhibe la croissance de nombreuses bactéries, dont les organismes pathogènes Gram négatifs.

Fayol et Messaoudi (2005) ont observés une complète inhibition de la croissance de *Salmonella Typhimurium* cultivée en association avec différentes souches de *Lactobacillus* (*Lactobacillus johnsonii*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus casei*) qu'ils ont attribué à une diminution du pH. De plus on a observé une inhibition par le biais du pH de l'adhésion de *Salmonella* à l'intestin. Lehto et Salminen (1997) ont conclu que les effets anti-adhésion des lactobacilles sur *Salmonella Typhimurium* étaient dus principalement à la réduction du pH (Pelaez et Martin-Orue, 2009).

Bien que le pH soit le principal facteur d'inhibition, il a également été démontré que les basses valeurs du pH gouvernent l'activité des acides organiques car les formes indissociées sont plus bactéricides (Acheson, 1999).

Les travaux de Holtzapfelet *al.*(1998) ont montré que l'acide indissocié est aisément diffusé à travers la paroi cellulaire bactérienne, réduisant ainsi le niveau du pH intracellulaire et ralentissant les activités métaboliques des bactéries (Taylor, 2005).

On a observé que les acides faibles ont une activité anti-microbienne plus importante à pH bas qu'à pH neutre (Salminen *et al.*, 1998).

En effet, la force d'un acide dépend de son degré de dissociation. Quand le pH est égal au pKa d'un acide, la moitié de l'acide est dissocié, si le pH augmente, la dissociation augmente de même (Adams et Moss, 2008).

A cause de sa constante de dissociation plus élevée, l'acide acétique montre une inhibition plus forte que l'acide lactique à une concentration molaire et à une valeur de pH donnés (Taylor, 2005). La forte activité anti-microbiennes des acides acétique et propionique s'explique en partie par le pKa élevé, comparativement à l'acide lactique, respectivement 4,87, 4,75 et 3,08. A pH 4, par exemple, seulement 11% de l'acide lactique est indissocié contre 85% d'acide acétique et 92% d'acide propionique. En présence d'un mélange d'acides, l'acide lactique contribue principalement à la réduction du pH, alors que les acides propionique et acétique devenus indissociés jouent leur rôle antimicrobiens (Salminen *et al.*, 1998).

Les travaux de Bohatier (1999) sur les taux de croissance des bactéries en fonction de l'acide acétique ont montré qu'il était fortement inhibiteur, il existe une concentration critique d'acide acétique pour laquelle la croissance des bactéries s'arrête et le taux de décès de la culture augmente très vite. Celle-ci dépend de la composition du milieu, le pH

correspondant à cette concentration est compris entre 2,25 et 2,28.

Makraset *al.*, (2006) ont observés que l'activité anti-bactérienne de la souche de *Lactobacillus* contre *Salmonella* était due à l'effet de l'acide lactique et d'autres composants inhibiteurs, dont la proportion s'est élevée avec la diminution du pH (Pelaez et Martin-Orue, 2009).

Cependant, en plus de réduire le pH, l'acide lactique a le pouvoir de perméabiliser les membranes, de ce fait, il renforce l'activité des autres substances anti-microbiennes. (Salminen *et al.*, 1998).

Alakoniet *al.*, (2000) ont étudié l'effet de l'acide lactique sur la perméabilité de la membrane externe de *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella Typhimurium* in vitro et ont observés qu'il perméabilise la membrane externe des Gram négatifs et ainsi, agit comme amplificateur des effets d'autres substances anti-microbiennes (Pelaez et Martin-Orue, 2009).

### ❖ Le peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) :

En présence d'oxygène, les bactéries lactiques sont capables de produire du peroxyde d'hydrogène par l'action des oxydases, de flavoprotéines et du superoxyde dismutase. Comme les bactéries lactiques ne produisent pas de catalase à cause de l'absence d'une source hème, cela permet l'accumulation du peroxyde d'hydrogène, mais pas dans des quantités significatives, parce qu'il est quand même décomposé par des peroxydases et pseudocatalases. Son effet bactéricide a été attribué à son pouvoir oxydant (Salminen *et al.*, 1998).

En effet, Juven et Pierson (1996) ont démontrés son effet cytotoxique sur la cellule bactérienne qui génère des espèces hautement toxiques, telles que le radical hydroxyle qui est à la base de l'oxydation des biomolécules (Taylor, 2005).

De plus certaines réactions produisant H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> font disparaître l'oxygène, créant un environnement anaérobie non favorable à certains micro-organismes (Salminen *et al.*, 1998).

Le peroxyde d'hydrogène confère aux bactéries lactiques un avantage de compétition puisqu'il a été démontré qu'elles sont moins sensibles que d'autres bactéries à ses effets, mais l'effet inhibiteur du peroxyde d'hydrogène reste généralement faible (Adams et Moss, 2008). Le peroxyde d'hydrogène est une substance de préservation utilisée depuis longtemps pour le lait cru, dans des conditions où il peut être difficile de refroidir le lait rapidement. La concentration de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> requise est de 300 à 800 ppm (Guizani, 2007).

### ❖ Le dioxyde de carbone (CO<sub>2</sub>) :

Le dioxyde de carbone est formé principalement durant la fermentation des hexoses par le processus d'hétérofermentation. Sa formation crée un environnement anaérobie et lui-même a une activité anti-microbienne, le mécanisme de cette activité est mal connu, mais il a été suggéré que les décarboxylations enzymatiques étaient inhibées et que l'accumulation du dioxyde de carbone dans la bicouche lipidique causait un dysfonctionnement de la perméabilité membranaire (Salminen *et al.*, 1998).

### ❖ Le diacétyl (C<sub>4</sub>H<sub>6</sub>O<sub>2</sub>) :

Le diacétyl (2,3-butanédione) a été identifié par Van Niel *et al.*, composant aromatique du beurre, il est produit par les espèces et les souches du genre *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, de même que d'autres micro-organismes (Jay, 1982).

Le diacétyl a des propriétés anti-microbiennes qui sont dirigées contre les levures, les bactéries Gram négatives et les Gram positives non lactiques, ces dernières y sont néanmoins moins sensibles (El Ziney *et al.*, 1998).

Les concentrations nécessaires à l'obtention d'une inhibition sont de l'ordre de 100 ppm et supérieures à celles présentes dans le beurre et susceptibles de provoquer son arôme (2 à 7 ppm) (Caplice *et Fitzgerald*, 1999).

### ❖ La reutérine :

La reutérine est sécrétée spécifiquement par *Lactobacillus reuteri*, elle a un spectre très large d'activité anti-microbiennes (antibactérien, antifongique, antiviral) (Axelsson *et al.*, 1989). Il a été démontré qu'elle inhibait les sous-unités de liaison des substrats de la ribonucléotide-réductase et de ce fait, qu'elle interférait avec la synthèse de l'ADN (Salminen *et al.*, 1998).

La reutérine est produite comme métabolite intermédiaire pendant la fermentation anaérobie du glycérol (El Ziney *et al.*, 1998).

La reutérine s'accumule dans le microorganisme producteur à haute concentration, elle est excrétée dans le milieu. Sa toxicité contre la cellule productrice limite sa production, certaines espèces comme *Lactobacillus reuteri* y sont plus résistantes (Vollenweider, 2004)

# Matériel et méthodes

## 2. Matériels et méthodes

### 2.1 Les souches utilisées

Dans notre travail nous avons utilisé des bactéries lactiques et des bactéries pathogènes.

#### 2.1.1 Les souches lactiques

Les souches lactiques utilisées dans notre expérimentation sont des *Leuconostocs mesenteroides* procurées.

#### 2.1.2 Les souches pathogènes

Les souches pathogènes utilisées dans notre travail comme souches indicatrices, nous ont été procurées par le laboratoire d'analyses médicales de Che guevara. Les différents genres utilisés sont une bactérie à gram+ (*Staphylococcus aureus*), deux bactéries à gram- (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*) et une levure (*Candida albicans*).

### 2.2 Les milieux de cultures

Les milieux de cultures utilisés dans notre travail sont des milieux solides, semi-solides et liquides.

#### 2.2.1 Milieux liquides

Nous avons utilisés comme milieux de culture mais aussi pour les différents tests, les milieux sélectifs pour des bactéries lactiques.

- MRS à pH 6,5.
- M17 à pH 7,2.

#### 2.2.2 Milieux solides :

- milieu MRS à pH 6,5
- milieu MRS tamponnée à pH 7.
- Milieu M17 à pH 7,2.
- Le milieu Mayeux, sélectif pour les *Leuconostocs*.
- Les milieux de culture sélectifs pour chacune des souches pathogènes sont représentés dans le tableau suivant:

**Tableau 05:** Milieux sélectifs des souches pathogènes

La composition de tous les milieux est donnée en annexe 1.

Souche pathogène	Milieu sélectif
<i>Staphylococcus aureus</i>	Chapman
<i>Escherichia coli</i>	VRBG
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	King A
<i>Candida albicans</i>	Sabouraud

### 2.3 Confirmation de la pureté et de l'identité des souches

#### 2.3.1 Confirmation de la pureté des souches

Nos souches lactiques ont été ensemencées en stries, sur des boîtes de Pétri contenant du MRS ou du M17. L'incubation est réalisée à une température de 30°C pendant 24 à 48 heures selon les souches mises en culture (croissance lente ou rapide).

#### 2.3.2 Confirmation de l'identité des souches

A partir des cultures homogènes, plusieurs tests ont été réalisés.

##### 2.3.2.1 Test macroscopique

Ce test consiste à observer à l'œil nu, les colonies de nos bactéries lactiques sur boîtes de Pétri. Les colonies bactériennes doivent correspondre à certains critères de couleur, forme, taille et aspect. En effet les colonies des bactéries lactiques doivent répondre aux critères suivants : une couleur blanchâtre, translucide ou opaque, circulaire à contour régulier à diamètre entre 0,5mm à 1mm.

##### 2.3.2.2 Test microscopique

Il s'agit de faire une observation au microscope optique des bactéries lactiques et pathogènes et/ou d'altération, de déterminer par la suite la forme et la disposition des cellules bactériennes, ainsi que leur Gram.

La coloration de Gram mise au point en 1884, par un Médecin Danois du nom de Gram s'effectue en trois temps :

- Dans un premier temps, les frottis fixés sont colorés avec le violet de gentiane pendant deux minutes, élimination du colorant par rinçage à l'eau, puis la préparation est recouverte par une solution de lugol (mordançage) pendant une minute puis rinçage.

- Dans un deuxième temps, qualifié de temps de différenciation, les bactéries sont soumises à l'action de l'alcool pendant quelques secondes. Les bactéries se répartissent en deux catégories : celles qui conservent la coloration violette et qui sont les bactéries à Gram positif et celles qui sont décolorées et qui sont les bactéries à Gram négatif.
- Dans un troisième temps, afin de mieux visualiser les bactéries décolorées, on procède à un traitement par la fuchsine pendant une minute. Les bactéries à Gram positif apparaissent alors violettes et les bactéries à Gram négatif se recolorent en rose.

L'observation est réalisée avec une goutte d'huile à immersion objectif 100 (grossissement x1000).

Les bactéries lactiques sont à Gram positif et donc devront prendre la couleur violette.

### 2.3.2.3 Test de la catalase

La catalase est une enzyme qui dégrade l'eau oxygénée ( $H_2O_2$ ) en eau métabolique ( $H_2O$ ) et oxygène ( $O_2$ ). La recherche de la catalase se fait de la manière suivante :

Sur une lame propre, on pose une goutte d'eau oxygénée à 10V, sur laquelle on étale avec une anse, une colonie bactérienne lactique / pathogène ou d'altération, à partir d'une culture en milieu solide.

La production de l'enzyme par la bactérie se manifeste par une effervescence qui est due à la formation de bulles d'oxygène, qui confirme la dégradation de l'eau oxygénée selon la réaction suivante :



Les bactéries lactiques sont à catalase négative par contre les bactéries pathogènes et/ou d'altération sont à catalase négative.

## 2.4 Conservation des souches

Après avoir vérifié la pureté ainsi que l'identité des souches, nous les avons conservées. La conservation a été effectuée sur gélose inclinée en milieu MRS à 4°C pour les bactéries lactiques ainsi que pour les pathogènes et/ou d'altération.

Avant leurs utilisations nos souches sont activées sur bouillon MRS, puis incubées pendant 24 heures à 30°C pour les bactéries lactiques, et à 37°C pour les bactéries pathogènes et/ou d'altération.

## 2.5 L'antibiogramme

L'antibiogramme a pour but de déterminer le comportement de nos bactéries pathogènes vis-à-vis de certains antibiotiques.

Dans cette méthode, nous avons utilisé les souches pathogènes et/ou d'altération, et on a procédé comme suit :

- à l'aide d'une pipette pasteur, 0,5 ml d'une suspension bactérienne (cultivée à 37 °C pendant 24h) ont été déposés dans une boîte de Pétri vide.
- nous avons versé le milieu sélectif de chaque souche (en surfusion à 45°C), et on a réalisé des mouvements de rotation pour homogénéiser la suspension et le milieu de culture
- après solidification, à l'aide d'une pince stérile nous avons déposé les disques d'antibiotiques sur la surface de la gélose.
- L'incubation a été réalisée à 37°C pendant 48h.

Cette méthode a été réalisée pour les bactéries aérobie-anaérobies facultatives (*Staphylococcus aureus*, *E. coli*) et la levure *Candida albicans*.

Pour *Pseudomonas aeruginosa*, en raison de son mode respiratoire (aérobie strict), on a coulé les boîtes de pétri avec le milieu de culture sélectif, puis à l'aide d'un écouvillon et après solidification, on aensemencé la souche à la surface, puis on a déposé les antibiotiques sur la surface et incubé à 37°C pendant 48h.

La lecture des résultats a été effectuée par la mesure des zones d'inhibition produites autour des disques d'antibiotiques. Les antibiotiques utilisés sont cités dans le tableau suivant

**Tableau 06:** Les antibiotiques utilisés et leurs abréviations

Antibiotique	Abréviation	Antibiotique	Abréviation
Pénicilline	P	Oxaciline	OX
Chloramphénicol	C	Erythromycine	E
Rifampicine	RA	Acide nalidixique	NA
Ceftriaxine	CRO	Sulfamide	S
Norfloxacin	NOR	Thiophenicol	T
Doxycycline	DO		

## 2.6 Mise en évidence des inhibitions bactériennes par la méthode de diffusion en puits

### 2.6.1 Pouvoir antibactérien entre les souches de leuconostocs

Les souches de Leuconostocs testées en tant qu'inhibitrices par cette méthode sont : **A1, A4, A5, A6, A7, A8, B1, B3, B4, B5, B6, et B7.**

Et celles utilisées comme indicatrices sont : **A1, A4, A6, A8, B5 et B7.**

Cette méthode est basée sur la diffusion des substances inhibitrices à partir de puits creusés dans la gélose et remplis avec des cultures de bactéries ou des surnageants de culture. La gélose étantensemencée en masse par une souche indicatrice.

#### ■ Utilisation des surnageants de culture de bactéries lactiques

Les puits sont remplis avec des surnageants de cultures de souches supposées être inhibitrices.

Nous avons procédé comme suit :

- Préparation de cultures de 24 heures pour les souches indicatrices, et de 48 heures pour les souches inhibitrices à 30°C en MRS liquide.
- On aensemencé en masse 0,5 ml de la souche considérée comme indicatrice dans 15 ml d'une gélose molle MRS en surfusion à 45°C que nous avons ensuite coulé dans une boîte de Pétri.
- après solidification à température ambiante, on a creusé des puits d'environ 5 mm de diamètre, à l'aide d'une cloche de Durham.
- Les puits sont remplis avec des surnageants de cultures, obtenus par centrifugation de cultures bactériennes, à 7000 tr/min pendant 15 minutes.
- Les boîtes sont mises au froid à 4°C, pendant une nuit, puis mises à l'étuve à 30°C pendant 24 heures.

#### ■ Utilisation de cultures de bactéries lactiques

Dans ce cas les puits sont remplis avec les cultures de souches inhibitrices.

On a procédé comme suit :

- On a creusé des puits, à l'aide de cloches de Durham stériles, dans des boîtes de Pétri contenant de la gélose MRS molleensemencée en masse par une souche supposée être indicatrice.
- Ensuite nous avons rempli les puits avec les cultures de souches à tester, puis les boîtes ont été incubées à 30°C pendant 24 h.

- L'effet des souches inhibitrices se traduit par la formation de halos clairs autour des puits et donc la lecture des résultats est réalisée par mesure de la dimension de ces halos d'inhibition.

### 2.6.2 Pouvoir antibactérien des entérocoques contre les lactocoques

Dans ce cas nous avons testé les souches d'entérocoques et de lactocoques : **AD, AF, AB, AC et AE** pour leur pouvoir inhibiteur contre les deux souches de Lactocoques : **AB et AC**

Les étapes de la méthode sont décrites dans le test précédent, la souche indicatrice a étéensemencée en masse, et les puits ont été remplis avec les surnageants et les cultures des souches à tester.

Ce test a été réalisé sur du milieu MRS

### 2.6.3 Activité antibactérienne de quelques souches lactiques entre elles

Les souches testées en tant qu'inhibitrices par cette méthode sont : **A4, A8, B1, B4, B7, AD, AE et AF**, et les souches utilisées comme indicatrices sont: **A4, B3, B5, AB et H23''**.

Les puits ont été remplis avec des surnageants de culture ou des cultures de bactéries lactiques.

### 2.6.4 Les inhibitions bactériennes de quelques souches lactiques contre les souches pathogènes

Nous avons utilisé huit souches inhibitrices, dont cinq souches de *Leuconostocs* (**A4, A8, B1, B4, B7**), deux souches d'entérocoques (**AD, AF**) et une souche de lactocoque (**AE**) contre : *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Candida albicans*.

Ce test a été réalisé sur les milieux sélectifs de chacune des souches pathogènes.

### 2.6.5 L'activité inhibitrice de quelques souches de Leuconostocs contre les entérocoques et un lactocoque

On a testé le pouvoir inhibiteur des cinq souches de *Leuconostocs* contre les trois autres souches : **AD, AF et AE**.

La méthode est la même que celle décrite précédemment, nos souches indicatrices sontensemencées en masse, les puits sont remplis avec les surnageants ou les cultures des cinq souches de *leuconostocs*.

### **2.6.6 Pouvoir inhibiteur des entérocoques et d'un lactocoque contre quelques souches de Leuconostocs**

Dans ce test nous avons considéré les souches **AD**, **AE** et **AF** en tant qu'inhibitrices, et les leuconostocs : **A4**, **A8**, **B1**, **B4** et **B7** comme indicatrices.

# Résultats et discussion

### 3. Résultats et discussion

#### 3. 1 Vérification de la pureté des souches

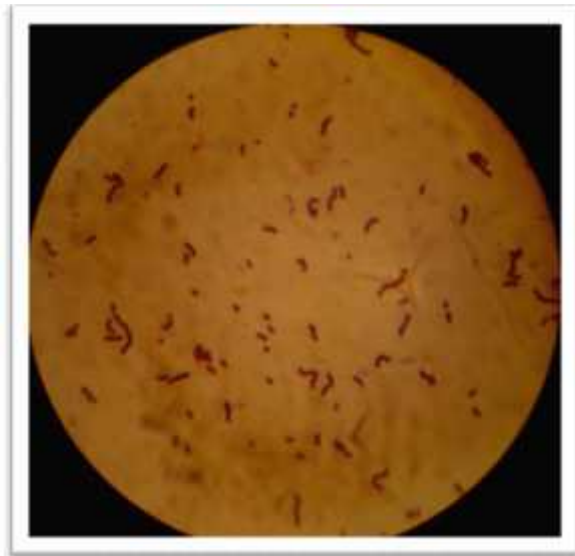
##### 3. 1.1 Test macroscopique

L'observation des cultures en milieu MRS solide révèle la présence de colonies opaques, lisses, blanchâtres et de petites tailles, sous forme circulaire à contour régulier.

##### 3. 1.2 Test microscopique

L'observation microscopique nous a permis d'observer la forme et la disposition des cellules bactériennes, ainsi que leur Gram.

Les résultats du test microscopique des souches de *Leuconostoc* sont regroupés dans le la figure 02 et le tableau 07 et des souches pathogènes sont représentées dans la figure03 et le tableau 08.



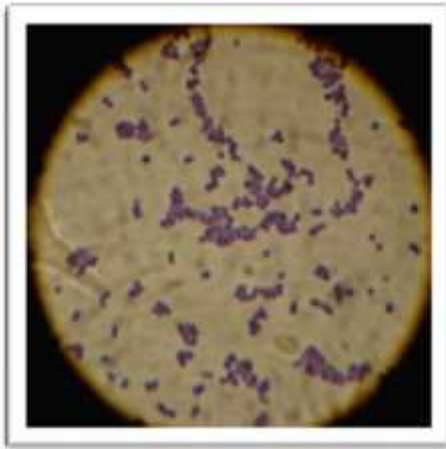
**Figure 02: La forme et la disposition des cellules d'une souche de *Leuconostoc* après la coloration de Gram**

**Tableau 07**  
**Aspect microscopique des souches lactiques et leur Gram**

Souches	Morphologie et mode d'association	Gram
<b>A1</b>	Cellules lenticulaires, longues chainettes	+
<b>A2</b>	Cellules lenticulaires, en paires ou en chainettes moyennes	+
<b>A3</b>	Cellules lenticulaires, courtes chainettes	+
<b>A4</b>	Cellules lenticulaires, chainettes moyennes	+
<b>A5</b>	Cellules lenticulaires, chainettes moyennes à courtes	+
<b>A6</b>	Cellules lenticulaires, chainettes moyennes	+
<b>A7</b>	Cellules lenticulaires, chainettes courtes	+
<b>A8</b>	Cellules lenticulaires, chainettes courtes moyennes	+
<b>B1</b>	Cellules lenticulaires, chainettes courtes	+
<b>B2</b>	Cellules lenticulaire.	+
<b>B3</b>	Cellules lenticulaires et bâtonnets, chainettes courtes	+
<b>B4</b>	Cellules lenticulaires, chainettes longues	+
<b>B5</b>	Cellules lenticulaires,	+
<b>B6</b>	Cellules lenticulaires, en paires ou en chainettes courtes	+
<b>B7</b>	Cellules lenticulaires, chainettes courtes à moyennes	+

**Tableau 08**  
Aspect microscopique des souches pathogènes

Souches	Morphologie et mode d'association	Gram
<i>Escherichia coli</i>	Bâtonnets, isolés	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	coques, en amas, isolées ou en petites chainettes	+
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Gros bâtonnets, isolés	-



*Staphylococcus aureus*



*Pseudomonas aeruginosa*

**Figure 03** : Aspect microscopique des souches pathogènes

### 3. 1.3 Test de la catalase

Les bactéries lactiques et notamment les *leuconostocs* ne possèdent pas d'activité catalasique. Les résultats qui concernent les souches de leuconostocs sont mentionnés dans le tableau 09 et ceux des souches pathogènes dans le tableau 10.

**Tableau 09**

Résultats du test de la catalase des souches de leuconostocs

Souches	Catalase
A1	-
A2	-
A3	-
A4	-
A5	-
A6	-
A7	-
A8	-
B1	-
B2	-
B3	-
B4	-
B5	-
B6	-
B7	-

**Tableau 10**

Test de la catalase des souches pathogènes

Souches	Catalase
<i>Escherichia coli</i>	+
<i>Staphylococcus aureus</i>	+
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	+

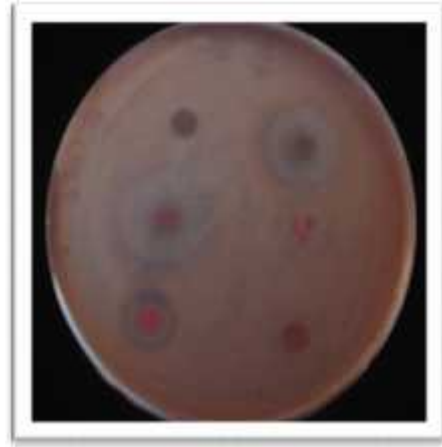
### 3.2 L'antibiogramme des souches pathogènes

Par ce test nous avons voulu connaître la réaction de nos souches pathogènes à divers antibiotiques.

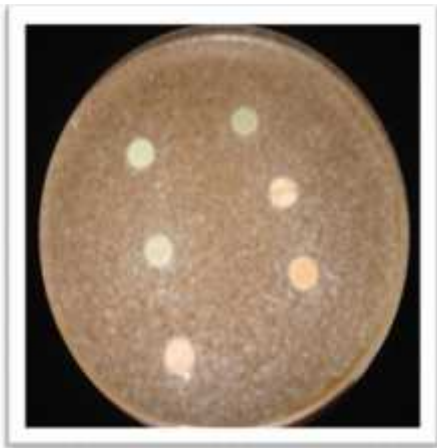
-Les résultats obtenus sont représentés dans la figure 04, et le tableau 11.



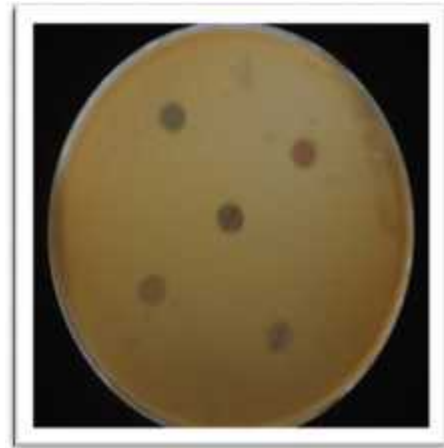
*Staphylococcus aureus*



*Pseudomonas aeruginosa*



*Candida albicans*



*E.coli*

**Figure 04 : L'antibiogramme de quelques souches pathogènes et/ou d'altération**

**Tableau 11**

**Le résultat de l'antibiogramme des souches pathogènes**

ATB souches	<i>E. coli</i>	<i>Staphylococcus Aureus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Candida albicans</i>
<b>P</b>	0	3,2	0	0
<b>C</b>	2,5	2,8	3	0
<b>RA</b>	1,5	3	2	0
<b>CRO</b>	2,5	2,4	nd	0
<b>NOR</b>	0	2	1,5	0
<b>DO</b>	0	2,2	1,7	0
<b>OX</b>	0	4	1,1	0
<b>E</b>	0	4	1,9	0
<b>NA</b>	0	0	1,1	0
<b>S</b>	0	0	0	0
<b>T</b>	0	Nd	nd	0

Les diamètres des halos d'inhibition sont exprimés en cm.

ATB : Antibiotique.

nd : non déterminé.

➤ Les bactéries pathogènes et/ou d'altération ont été plus ou moins inhibées par les antibiotiques testés par contre la levure *Candida albicans* n'a été inhibée par aucun.

➤ Parmi les bactéries *E. Coli* s'est avérée la plus résistante puisqu'elle n'a été inhibée que par trois antibiotiques des onze testés.

➤ Parmi tous les antibiotiques testés le chloramphénicol est celui qui a le plus fortement inhibé. Selon **Milhaud, 1985** de nombreuses bactéries *pathogènes* pour les animaux restent sensibles, malgré son utilisation à grande échelle.

Les diamètres des halos d'inhibitions les plus grands ont été observés dans le cas de l'oxacilline et de l'érythromycine testés contre *Staphylococcus aureus*.

### **3.3 Mise en évidence des inhibitions bactériennes par la méthode de diffusion en puits**

Les nombreuses méthodes décrites pour la détection de souches lactiques productrices de bactériocines sont basées sur le principe que ces substances protéiques peuvent diffuser dans un milieu de culture solide ou semi solide qu'on inocule préalablement avec une souche cible. Cette méthode à l'avantage de mettre en évidence seulement les inhibitions dues à la production d'agents comme l'acide lactique, le peroxyde d'hydrogène ou les bactériocines.

La production d'agents inhibiteurs est détectée par le pouvoir inhibiteur du surnageant ou de la culture du micro-organisme testé sur la croissance du germe cible

#### **3.3.1 Pouvoir antibactérien entre les souches de leuconostocs**

Dans cette méthode, nous avons voulu testé quelques souches de Leuconostocs entre elles pour leur pouvoir inhibiteur

\*Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau 12.

**Tableau 12**  
**Pouvoir antibactérien entre les souches de Leuconostocs**

<b>indicatrice inhibitrice</b>	<b>A1</b>	<b>A4</b>	<b>A6</b>	<b>A8</b>	<b>B5</b>	<b>B7</b>
<b>A1</b>	0	nd	nd	nd	0	nd
<b>A4</b>	0	0	0	0	0	0
<b>A5</b>	0	0	0	0	0	0
<b>A6</b>	0	0	0	0	0	0
<b>A7</b>	0	nd	nd	nd	0	nd
<b>A8</b>	0	0	0	0	0	0
<b>B1</b>	0	nd	nd	nd	0	nd
<b>B3</b>	0	0	0	0	0	0
<b>B4</b>	0	nd	nd	nd	0	nd
<b>B5</b>	0	nd	nd	nd	0	nd
<b>B6</b>	0	nd	nd	nd	0	nd
<b>B7</b>	0	0	0	0	0	0

Les dimensions des diamètres d'inhibition sont exprimées en cm.

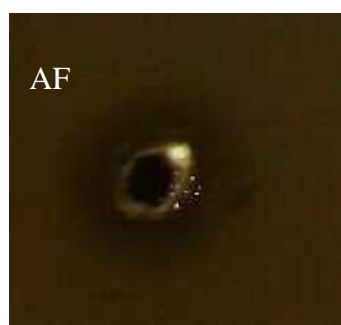
nd : non déterminé.

Par ce test, nous avons voulu étudier le comportement de quelques souches de *leuconostocs* contre les souches pathogènes.

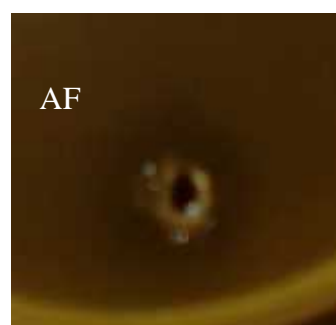
Aucune activité antibactérienne n'a été détectée par cette méthode avec les surnageants des 12 souches testées. Ce résultat peut être dû à la faible concentration de l'agent inhibiteur dans le surnageant ou à sa dégradation. Ce même résultat a été décrit par **Ammor *et al.*, (2005)**. La concentration des surnageants de culture et leur test permettra d'apporter plus de précisions.

### 3.3.2 Pouvoir antibactérien des entérocoques et des lactocoques contre les lactocoques

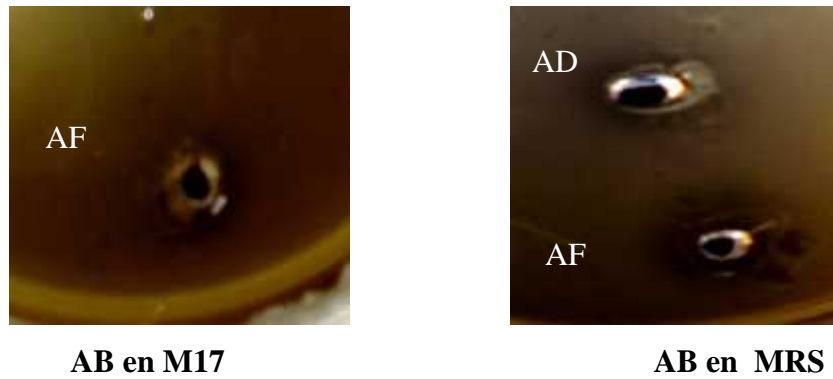
La figure suivante illustre le type de résultats obtenus. L'ensemble des résultats obtenus figure dans le tableau suivant.



**AC en M17**



**AC en MRS**



**Figure 05** : Pouvoir antibactérien des entérocoques et des lactocoques contre les lactocoques

**Tableau 13**

Activité inhibitrice des entérocoques et des lactocoques contre les lactocoques

Milieu utilisé Souches inhibitrices	Souches indicatrices			
	AB		AC	
	MRS	M17	MRS	M17
AD	1,2	0	0	0
AF	0	0	0	0
AF	1,3	1,2	1,4	1,2
AB	0	0	0	0
AC	0	0	0	0

Les dimensions des diamètres d'inhibition sont exprimées en cm

- ✦ La souche **AF** s'est révélée être la plus performante, elle a eu un effet inhibiteur contre les deux lactocoques testés et sur les deux milieux de cultures utilisés.
  - ✦ Les souches **AE**, **AB**, **AC** n'ont inhibées aucune souche, tandis que la souche **AD** a inhibée seulement la souche **AB** sur le milieu MRS.
- Il ya absence d'auto inhibition pour les deux souches.

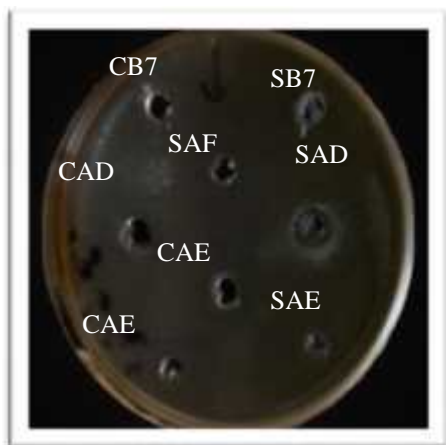
Les mêmes inhibitions ont été obtenues sur les deux milieux et avec des diamètres très similaires, à l'exception du halo d'inhibition de la souche **AD** contre la souche **AB** qui a été observé seulement sur le milieu MRS, mais n'a subi aucune inhibition sur le milieu M17.

En effet toutes les études des inhibitions chez les bactéries lactiques sont réalisées sur milieu MRS (**Labioui et al, 2005**), car l'inhibition est peut être provoquée par le tween 80, selon **Toutain-Kidd et al, (2009)** le polysorbate 80 (tween), est capable d'inhiber la formation de biofilm par *Pseudomonas aeruginosa* sur une variété de surfaces.

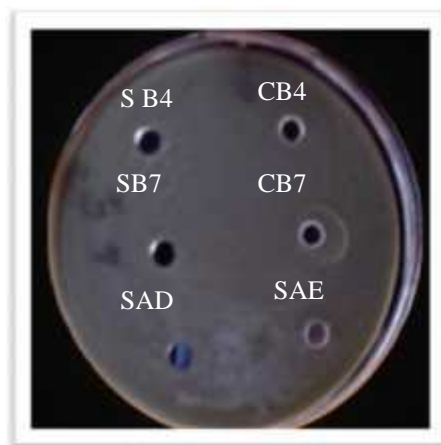
### 3.3.3 Activité antibactérienne de quelques souches lactiques contre des leuconostocs et des lactocoques

Dans ce cas nous avons testé les huit meilleures souches inhibitrices, contre les cinq meilleures souches indicatrices pour détecter leur pouvoir inhibiteur en testant leurs surnageants et leurs cultures.

-Les résultats obtenus sont regroupés dans le tableau 14, et leur aspect dans la figure 06.



La souche AB B2



La souche AC B2

**Figure 06** : Activité antibactérienne de quelques souches lactiques contre des leuconostocs et des lactocoques

**Tableau 14**  
L'antagonisme de quelques souches lactiques entre elles

indicatrices inhibitrices		A4	B3	B5	AB	AC
A4	S	0	0	0	1	1
	C	0	0	0	1	1
A8	S	0	0	0	1,1	0,9
	C	0	0	0	0,9	0,9
B1	S	0	0	0	1	0,9
	C	0	0	0	0,9	1
B4	S	0	0	0	1	0
	C	0	0	0	0,9	0
B7	S	0	0	0	1	0
	C	0	0	0	0,9	0,8
AD	S	0	0	nd	1,2	0
	C	0	0	nd	0	0
AE	S	0	0	nd	0	0
	C	0	0	nd	0	0
AF	S	0	0	nd	0	0
	C	0	0	nd	1,3	1,4

Les dimensions des diamètres d'inhibition sont exprimées en cm

nd : non déterminé.

C: culture.

S: surnageant.

Dans ce cas nous avons testés 40 combinaisons, on a eu 9 cas d'inhibition avec les surnageants des souches testées et 11 cas d'inhibition avec les cultures de nos souches.

- Les souches **A4**, **B3** et **B5** n'ont été inhibées par aucune souche.
- Les souches **AB** a été inhibée par les surnageants et les cultures des mêmes souches que la **AC** et qui sont: **A4**, **A8** et **B1**, en plus des souches **B4** et **B7**.
- La souche **AE** n'a inhibée aucune souche, le surnagent de la **AD** a inhibé seulement la souche **AB**, tandis que la culture de la souche **AF** a inhibé les souches **AB** et **AC**.

La souche **AF** testée contre **AB** et **AC** et la souche **B7** testée contre **AC** ont inhibé par les cultures mais pas par les surnageants. En effet la présence des cellules permet très probablement de maintenir les produits inhibiteurs à des concentrations suffisantes pour entraîner un effet bactéricide des souches indicatrices

### **3.3.4 Les inhibitions bactériennes de quelques souches lactiques contre les souches pathogènes**

La méthode de diffusion en puits est fondée sur la diffusion de la substance inhibitrice à partir des puits remplis de surnageants ou de cultures des souches lactiques à tester.

Dans ce test nous avons utilisé les milieux de cultures sélectifs pour chaque souche pathogène.

Les résultats obtenus sont représentés dans le tableau suivant:

**Tableau 15**  
Les inhibitions de quelques souches lactiques contre des souches pathogènes

indicatrices inhibitrices		<i>E. coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Candida albicans</i>
<b>A4</b>	C	2,4	1,2	1,1	0
	S	2,2	1	0	0
<b>A8</b>	C	2	0,9	1,2	0
	S	2,2	0,8	1,1	0
<b>B1</b>	C	0	1,1	1,2	0
	S	0	0,9	1,2	0
<b>B4</b>	C	1,8	0,9	1,2	0
	S	2,6	0,9	1,1	0
<b>B7</b>	C	0	1,1	1,1	0
	S	0	1,3	0	0
<b>AD</b>	C	0	0,8	1,3	0
	S	0	0,9	0	0
<b>AE</b>	C	0	1,2	1,2	0
	S	0	1,1	0,9	0
<b>AF</b>	C	0	1	1,1	0
	S	0	0,8	1	0

C : culture      S : surnageant

Les dimensions des diamètres d'inhibition sont exprimées en cm

De manière générale les différentes souches de leuconostocs testées, ont inhibées différemment les souches pathogènes, ces inhibitions sont peut être dues à la production de bactériocines. L'expression de l'effet inhibiteur des bactériocines est différente selon les souches indicatrices. Selon **Papathanasopoulos et al, (1997)** *Leuconostoc (L.) mesenteroides* TA33a produit trois bactériocines avec des spectres d'activité inhibitrice différente. La Leucocine C-TA33a a inhibé *Listeria* et d'autres bactéries lactiques, la Leucocine B-TA33a qui a une activité contre les souches de

*Leuconostoc* et de *Weissella*, et enfin la leucocine A-TA33a, qui a aussi inhibé *Listeria* et d'autres souches de bactéries lactiques.

*Candida albicans* n'a été inhibée ni par les cultures ni par les surnageants d'aucune souche, ce même résultat a été observé par **Mather et Babel (1959)**, dans le cas de *Geotrichum candidum* et de *Candida pseudotropicalis*.

Par contre *Pseudomonas aeruginosa* a été inhibée dans tous les cas de cultures ou de surnageants de cultures testés. La faible résistance de cette bactérie à l'acidité est très probablement le facteur principal dans les inhibitions observées, en effet cette bactérie ne résiste pas à des pH inférieurs à 5,6 (**Piard et Desmazeaud, 1991**). Les leuconostocs n'étant pas très acidifiants les inhibitions observées peuvent être aussi dues à la production de bactériocines. **Stankov et al, (2005)**, ont observés l'inhibition de *Pseudomonas aeruginosa* par une bactériocine produite par *Enterococcus faecium* ST311LD et *Leuconostoc mesenteroides* ssp. *mesenteroides* ST33LD.

La souche *Staphylococcus aureus* a été plus inhibée par rapport à *E.coli*, ces résultats montrent que les bactéries à Gram positifs sont généralement plus sensibles à l'effet bactéricide des bactéries lactiques (Gram +), ce même résultat a été décrit par plusieurs auteurs **Onda et al, (2003)**. Ces résultats sont plus spécifiques dans le cas des inhibitions par les bactériocines. En effet selon **Sejong et al., (2006)** la bactériocine produite par *Lactococcus* sp. HY 449 inhibe la croissance de *Staphylococcus aureus* ATCC 65389. Ce qui indique que dans certains cas les bactériocines peuvent inhiber des genres bactériens pas très proches de la souche productrice.

L'ensemble de nos résultats nous permet de dire que les inhibitions sont plus fréquentes contre *Staphylococcus aureus* que contre *E. coli* selon **Vignolo., et al (2000)**, les bactériocines sont surtout actives sur les pathogènes à Gram+ et agissent en formant des pores dans la membrane cytoplasmique qui entraînent des perturbations des fonctions cellulaires. Il a été décrit par **Svetoslav et al, 2004** que le surnageant extracellulaire d'une souche, classée comme *Leuconostoc mesenteroides* ssp. *ST99 dextranicum*, inhibe la croissance de *Bacillus subtilis*, *Enterococcus faecalis*, plusieurs *Lactobacillus* sp., *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris*, *Listeria innocua*, *Listeria monocytogenes*, *Pediococcus pentosaceus*, *Staphylococcus aureus* et *Streptococcus thermophilus*. *Clostridium* ssp,

## Résultats et discussion

*Carnobacterium* sp., *L. mesenteroides* et les bactéries à Gram négative ne sont pas inhibées.

Les souches **AD**, **AE** et **AF** ont été décrites comme étant bactériocinogènes par d'autres travaux, ceci peut expliquer l'absence d'inhibition dans le cas d'*E. coli*. Ces mêmes résultats ont été décrits par **Shahani et al, 1976** qui explique que la nature de la paroi des bactéries à G- empêche la pénétration de certains produits inhibiteurs abolissant ainsi l'effet inhibiteur sur les cellules.

### 3.3.5 Activité inhibitrice des bactéries lactiques entre elles

- **L'activité inhibitrice de quelques souches de leuconostocs contre les entérocoques et un lactocoque**

**Tableau 16**

**Effet inhibiteur de quelques souches de leuconostocs contre les entérocoques et un lactocoque**

indicatrices inhibitrices		AD	AE	AF
<b>A4</b>	<b>C</b>	0	0	0
	<b>S</b>	0	0	0
<b>A8</b>	<b>S</b>	0	0	0
	<b>C</b>	0	0	0
<b>B1</b>	<b>S</b>	0	0	0
	<b>C</b>	0	0	0
<b>B4</b>	<b>S</b>	0	0	0
	<b>C</b>	0	0	0
<b>B7</b>	<b>S</b>	0	0	0
	<b>C</b>	0	0	0

Les dimensions des diamètres d'inhibition sont exprimées en cm

C : culture.

S : surnageant.

- **Pouvoir inhibiteur des entérocoques et d'un lactocoque contre quelques souches de Leuconostocs**

-. Le tableau 17 résume les résultats obtenus

**Tableau 17**  
**Effet inhibiteur des entérocoques et un lactocoque contre quelques souches de leuconostocs**

Indicatrices		A4	A8	B1	B4	B7
Inhibitrices						
AD	C	0	0	0	0	Nd
	S	0	0	0	0	Nd
AE	C	0	0	0	0	Nd
	S	0	0	0	0	Nd
AF	C	0	0	0	0	Nd
	S	0	0	0	0	Nd

Les dimensions des diamètres d'inhibition sont exprimées en cm  
 nd : non déterminé. C : culture S : surnageant

Aucune inhibition n'a été observée. Aucune bactérie du genre *Leuconostoc* n'a inhibée les souches d'entérocoques ou le lactocoque. Les combinaisons inverses ont données les mêmes résultats.

Ces résultats nous permettent d'envisager de réaliser des cultures mixtes entre les leuconostocs et les autres souches. Tous les ferments mixtes et qui contiennent des leuconostocs renferment aussi des lactocoques et dans certains cas des entérocoques. Le rôle des leuconostocs étant d'aromatiser l'aliment. (Drinan *et al*, 1976)

# Conclusion

## Conclusion

---

Notre travail nous a permis d'étudier l'effet inhibiteur de bactéries lactiques entre elles (des leuconostocs (15 souches), deux entérocoques et trois lactocoques) et contre quelques souches pathogènes

Pour cela nous avons utilisés la techniques de diffusion en puits :

Cette méthode de de diffusion en puit qui a permis d'observer des inhibitions seulement dans les cas où les indicatrices sont des lactocoques ou des souches pathogènes et/ou d'altération. Une concentration faible en produits inhibiteurs dans les surnageants de culture ou la dégradation de ces derniers semblent être les causes de ce résultat.

Par la méthode des puits, les leuconostocs n'ont montrés aucune inter-inhibition par contre les entérocoques ont eu un effet inhibiteur contre les indicatrices lactocoques par production de halos assez grands. Les lactocoques ont aussi été inhibés par les leuconostocs dans la plupart des cas .

*Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus* ont été plus ou moins inhibés par les cultures et les surnageants de culture de toutes les souches lactiques utilisées dans ce test. *E.coli* a été inhibée seulement par quelques leuconostocs et à chaque fois avec la culture et le surnageant de culture. Par contre *Candida albicans* a résisté dans tous les cas.

Par cette même méthode les leuconostocs n'ont eu aucun effet inhibiteur sur les entérocoques et le lactocoque ni par les cultures ni par les surnageants de culture, ce même résultat a été observé dans le cas ou le lactocoque et les entérocoques ont été testés contre les leuconostocs.

halos d'inhibition obtenus étaient aux alentours de 1cm, ce qui permet d'utiliser ces souches en combinaison dans les ferments. Les entérocoques et le lactocoque pour l'acidification et les leuconostocs pour la production d'aromes et de produits inhibiteurs, cette dernière activité pouvant être aussi assurée par les lactocoques. La meilleure combinaison pour une synergie des souches, est constatée entre la **A4** avec la **AF**.

# Références bibliographiques

- 
- **Abdelguerfi A. et Laouar M. 2003.**Espèces fourragères et pastorales, leurs utilisations au Maghreb (Algérie, Maroc, Tunisie). Editions FAO, 136p.
  - **Abee T., Klaenhammer T.R et Letellier L. 1994.** Kinetic studies of the action of lactacin F, a bacteriocin produced by *Lactobacillus johnsonii* that forms poration complexes in the cyto-plasmic membrane. *Appl. Environ. Microbiol.* 60:1006-13.
  - **Abriouel H.E., Valdivia A., Galvez et Maqueda M. 2001.** Influence of physico-chemical factors on the oligomerization and biological activity of bacteriocins AS-48. *Curr. Microbiol.* 42: 89-95.
  - **Acheson. 1999.**Independent inquiry into inequalities in health report. The Stationery Office.
  - London.
  - **Adams M.R. et Hall C.J. 1988.** Growth inhibition of food borne pathogens by lactic and acetic acids and their mixtures. *Int. J. Food Sci. Technol.* 23: 287-292.
  - **Adams. et Moss. 2008.**Antimicrobial effectiveness of spices: an approach for use in food conservation systems. *Braz. Arch. Biol. Technol.* 48 : 4.
  - **Aeschlimann A. et Von Stockar U. 1990.**The effect of yeast extract supplementation on the production of lactic acid from whey permeate by *Lactobacillus helveticus*. *Appl. Microbiol Biotechnol.* 32:398.
  - **Ahrné S., Nobaek S., Jeppsson B., Adlerberth I., Wold A. et Molin G. 1998.**The normal *Lactobacillus* flora of healthy human rectal and oral mucosa. *J. App. Microbiol.* 85:88-94.
  - **Alais C., 1984.**Science du lait, principes des techniques laitières. Ed. SEPAIC. Paris.
  - **Alakomi H.L., Skytta E., Saarela M., Mattila-Sandholm T., Latva-Kala K. et Helander I.M. 2000.**Lactic acid permeabilizes gram-negative bacteria by disrupting the outer membrane. *Appl. Environ. Microbiol.* 66, 2001–2005.
  - **Alexander F. 1929.**Deécouverte de la pénicilline. *British Journal of Experimental Pathology.*
  - **Alexandre D.P., Silva M.R., Souza M.R. et Santos V.L.M. 2002.**Artisanal Antimicrobial activity of lactic acid bacteria from undermined cheese against indicator microorganisms. *Arch. Bra. Med. Veter. Zoot.* 54: 424-428
  - **Amiali M.N., Lacroix C et Simard R.E. 1998.** High nisin Z production by *Lactococcus lactis* UL719 in whey permeate with aeration. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 14: 887-894.

- 
- **Amiot J et Lapointe-vignola C.2002.**Science et technologie du lait : transformation du lait.
  - **An Y., Adachi Y. et Ogawa Y. 2004.**Classification of lactic acid bacteria isolated from chigeeand mare milk collected in Inner Mongolia.*Ani. Science J.*75: 245–252.
  - **Ana Belen F., López-Díaz M.C., Álvarez-Martin P. et Mayo B. 2006.**Microbienne caractérisation de la traditionnelle espagnole à pâte persillée fromage de Cabrales:identification des dominantes des bactéries lactiques.*Eur. Res. Technol. Aliment.*223, 503- 508.
  - **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. et Kihal M. 2004 a.**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.
  - **Boumehira A.Z., Mami. A., Hamedi A. R., Henni J.E. et Kihal M. 2011.** Identification and Characterization of Functional and Technological *Lactobacillus plantarum* Strains Isolated from Raw Goat and Camel Milk Collected in Algeria.*J. Pure. Appl. Microbiol.* Vol. 5(2), p. 553-566.
  - **Bourel B., Hedouin V., Martin-Bouyer L., Becart A., Tournel G., Deveaux M. et Gosset D. 2001.**Effects of morphine in decomposing bodies on the development of *Lucilia sericata*(Diptera: Calliphoridae).*J. Forensic Sci.* 44: 354-358.
  - **Bourgeois C.M., Mescle J., Zucca J. et Larpent J.F. 1996.** Microbiologie alimentaire (tome 1)Lavoisier. Paris, P : 29-245.
  - **Bouziane T.,Elmajdoub T., Thonart P.H et Hamdi M. 2004.** Sélection de bactéries lactiques probiotiques d'origine animale.*Microbiol. Hyg. Alim.* Vol 16. n°46.
  - **Branger C., Zamfir O., Geoffroy S., Laurans G., Arlet G., Thien H.V., Gouriou S., Picard B et Denamur E. 2005.**Genetic background of *Escherichia coli* and extended-spectrum - Lactamase type.*Emerg. Infect. Dis.* 11(1):54-61.
  - **Bredholt S., Nesbakken T. et Holck A. 2001.** Industrial application of an antilisterial strain of *Lactobacillus sakeias* a protective culture and its effect on the sensory acceptability of cooked, sliced, vacuum-packaged meats.*Int.J.Food Microbiol.* 66: 191-196.

- 
- **Breukink E., van Kraaij C., van Dalen A., Demel R.A., Siezen R.J., de Kruijff B et Kuiper**
  - **O.P. 1998.** The orientation of nisin in membranes.*Biochemistry.* 36: 8153-8162.
  - **Carr F.J., Chill D. et Maida N. 2002.** The Lactic Acid Bacteria: A Literature Survey.*Crit. Rev. Microbiol.*,28: 4, 281-370.
  - **Chafai S. 2006:** Effet de l'addition des probiotiques dans les régimes alimentaires sur les performances zootechniques du poulet de chair, Mémoire de magister en sciences vétérinaires.*Université El-hadj-Lakhdar de Batna.*
  - **Chahbal M. 1991.** Antimicrobial activity of *Lactobacillus sake* isolated from meat.*Appl. Environ. Microbiol.* 55: 1901-1906.
  - **Chahbal M. 1993.** Isolation and characterization of acidocin A and cloning of the acteriocingene from *Lactobacillus acidophilus*.*Appl. Environ. Microbiol.* 61: 1061-1067.
  - **Chan W.C., Dodd H.M., Horn N., Maclean K., Lian L.Y., Bycroft B.W., Gasson M.J et Roberts G.C.K. 1996.** Structure-activity relationships in the peptide antibiotic nisin: role of dehydroalanine 5.*Appl. Environ. Microbiol.* 62: 2966-2969.
  - **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.
  - **Davies E.A., Bevis H.E et Delves-Broughton J. 1997.** The use of the bacteriocin, nisin, as a preservative in ricotta-type cheeses to control the food-borne pathogen *Listeria monocytogenes*.*Lett. Appl. Microbiol.* 24:343-6.
  - **Davies F.L. et Law B.A. 1984.** Advances in the Microbiology and Biochemistry of Cheese and Fermented Milk.*Elsevier. App. Sc. Publication.* New York, USA.
  - **De Man J.C., Rogosa M. et Sharpe M.E. 1960.** A medium for the cultivation of lactobacilli.*J. Appl. Bacteriol.* 23: 130-135.
  - **De Roissard H. et Luquet F.M. 1994.** Bactéries lactiques. 2 volumes, Lorica Uriage, 600 p. par volume.
  - **De Vos W.M., Kuipers O.P., van der Meer J.R et Siezen R.J. 1995.** Maturation pathway of nisin and other lantibiotics: post-translationally modified antimicrobial peptides exported by gram-positive bacteria.*Mol. Microbiol.* 17:427-37.
  - **De Vuyst L. et Vandamme E.J. 1994 a.** Antimicrobial potential of lactic acid bacteria. In de Vuyst L. et Vandamme E.J (ed). Bacteriocins of lactic acid bacteria:

- microbiology, genetics and applications. Blackie Academic et Professional, London, United Kingdom. p. 91–142
- **De Vuyst L. et Vandamme E.J. 1994 b.** Nisin, a lantibiotic produced by *Lactococcus lactis* subsplactis. In De Vuyst L. et Vandamme E.J (Eds.), Bacteriocins of lactic acid bacteria: microbiology, genetics and application. London and New York: Blackie. pp. 151–221.
  - **Bottazzi V. et Dellaglio F. 1967.** Acetaldehyde and diacétyle production by *Streptococcus thermophilus* and other lactic streptococi. *J. Dairy Res.* 34: 109-113.
  - **Boucher I., Émond É., Parrot M. et Moineau S. 2001.** DNA Sequence Analysis of Three *Lactococcus lactis* Plasmids Encoding Phage Resistance Mechanisms. *J. Dairy Sci.* 84: 1610- 1620.
  - **Boumehira A.Z., Mami. A., Hamedi A. R., Henni J.E. et Kihal M. 2011.** Identification and Characterization of Functional and Technological *Lactobacillus plantarum* Strains Isolated from Raw Goat and Camel Milk Collected in Algeria. *J. Pure. Appl. Microbiol.* Vol. 5(2), p. 553-566.
  - **Bourel B., Hedouin V., Martin-Bouyer L., Becart A., Tournel G., Deveaux M. et Gosset D. 2001.** Effects of morphine in decomposing bodies on the development of *Lucilia sericata* (Diptera: Calliphoridae). *J. Forensic Sci.* 44: 354-358.
  - **Bourgeois C.M., Mescle J., Zucca J. et Larpent J.F. 1996.** Microbiologie alimentaire (tome 1) Lavoisier. Paris, P : 29-245.
  - **Bouziane T., Elmajdoub T., Thonart P.H et Hamdi M. 2004.** Sélection de bactéries lactiques probiotiques d'origine animale. *Microbiol. Hyg. Alim.* Vol 16. n°46.
  - **Branger C., Zamfir O., Geoffroy S., Laurans G., Arlet G., Thien H.V., Gouriou S., Picard B et Denamur E. 2005.** Genetic background of *Escherichia coli* and extended-spectrum - Lactamase type. *Emerg. Infect. Dis.* 11(1):54-61.
  - **Bredholt S., Nesbakken T. et Holck A. 2001.** Industrial application of an antilisterial strain of *Lactobacillus sakeias* as a protective culture and its effect on the sensory acceptability of cooked, sliced, vacuum-packaged meats. *Int. J. Food Microbiol.* 66: 191-196.
  - **Breukink E., van Kraaij C., van Dalen A., Demel R.A., Siezen R.J., de Kruijff B et Kuiper**
  - **O.P. 1998.** The orientation of nisin in membranes. *Biochemistry.* 36: 8153-8162.

- 
- **Brillet A., Pilet M.F., Prevost H., Cardinal M. et Leroi F. 2005.** Effect of inoculation of *Carnobacterium divergens* V41, a biopreservative strain against *Listeria monocytogenes* risk, on the microbiological, chemical and sensory quality of cold-smoked salmon. *Int. J. Food Microbiol.* 104: 309-324.
  - **Budde B.B., Hornbaek T., Jacobsen T., Barkholt V. et Koch A.G. 2003.** *Leuconostoc carnosum* 4010 has the potential for use as a protective culture for vacuum-packed meats: culture isolation, bacteriocin identification, and meat application experiments. *Int. J. Food Microbiol.* 83: 171-184.
  - **Burrow C.D., Sandine W.E., Elliker P.R. et Speckman C. 1970.** Characterization of diacetyl-negative mutants of *Streptococcus diacetylactis*. *J. Dairy Sci.* 53: 121-125.
  - **Byczkowski J. et Gessner T., 1988.** Biological role of superoxide ion radical. *Int. J. Biochem.* 20: 569-580.
  - **Cabo M.L., Braber A.F. et Koenraad P. 2002.** Apparent antifungal activity of several lactic acid bacteria against *Penicillium discoloris* due to acetic acid in the medium. *J. Food Prot.*
  - **Callewaert R., De Vuyst L., Remedios M. et Moreno F. 2002.** Isolation of bacteriocins through expanded bed adsorption using a hydrophobic interaction medium. *Bioseparation.* 10(1-3):45-50.
  - **Caplice E. et Fitzgerald G.F. 1999.** Food fermentations: role of microorganisms in food production and preservation. *Int. J. Food Microbiol.* 50: 131-149.
  - **Carina Audisio M. et Maria C.A. 2010.** Bactiocin-like substance produced by *Lactobacillus salivarius* subsp. *Salivarius* CRL 1384 with anti-*Listeria* and anti-*salmonella* effect. *Res. J. Microbio.* 5 (7): 667-675.
  - **Carr F.J., Chill D. et Maida N. 2002.** The Lactic Acid Bacteria: A Literature Survey. *Crit. Rev. Microbiol.*, 28: 4, 281-370.
  - **Chafai S. 2006:** Effet de l'addition des probiotiques dans les régimes alimentaires sur les performances zootechniques du poulet de chair, Mémoire de magister en sciences vétérinaires. *Université El-hadj-Lakhdar de Batna.*
  - **Chahbal M. 1991.** Antimicrobial activity of *Lactobacillus sakei* isolated from meat. *Appl. Environ. Microbiol.* 55: 1901-1906.
  - **Chahbal M. 1993.** Isolation and characterization of acidocin A and cloning of the bacteriocin gene from *Lactobacillus acidophilus*. *Appl. Environ. Microbiol.* 61: 1061-1067.

- 
- **Chan W.C., Dodd H.M., Horn N., Maclean K., Lian L.Y., Bycroft B.W., Gasson M.J et Roberts G.C.K. 1996.** Structure-activity relationships in the peptide antibiotic nisin: role of dehydroalanine 5. *Appl. Environ. Microbiol.* 62: 2966-2969.
  - **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.
  - **Chekroune A., Ait Hammadouche N., Kihal M., Bensoltane A., Saidi D., Mazmase F et Kheroua O. 1998.** Hydrolytic activity of lactic acid bacteria on bovine lactoglobulin. effects on its immunological reactivity. *Microbiol. Aliment. Nutr.* 16: 211-220.
  - **Cherrington C.A., Hinton M., Mead G.C. et Chopra I. 1991.** Organic acids: chemistry, antibacterial activity and practical applications. *Adv. Microbiol. Phys.* 32: 87-108.
  - **Chilliard Y et Sauvant D. 1987.** La sécrétion des constituants du lait. In : INRA-CEPIL. Le lait, Matière première de l'industrie laitière. Paris. P13-26.
  - **Choisy C., Desmazeaud M., Gueguen M., Lenoir J., Schmidt J.L et Tourneur C. 1997.** Les phénomènes microbiens. In : Le fromage. Ed. Eck A, Gillis JC, Lavoisier *Tec & Doc, Paris, France.* Pp. 377-446.
  - **Chubb M., Morelli L. et Bottazzi V. 1985.** Drug Resistance Plasmids in *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus reuteri*. *Appl. Environ. Microbiol.* 43(1): 50-56.
  - **Cintas L.M., Casaus P., Holo H., Hernandez P.E., Nes I.F. et Havarstein L.S. 1998.**  
Enterocins L50A and L50B, two novel bacteriocins from *Enterococcus faecium* L50, are related to staphylococcal hemolysins. *J. Bacteriol.* 180: 1988-1994.
  - **Cintas L.M., Herranz C., Hernández P.E., Casaus M.P., Nes I.F. et Hernández P.E. 2001.**  
Bacteriocins of Lactic Acid Bacteria. *Food Sci. Technol. Int.* 7: 4, 281-305.
  - **Codex alimentarius. 2003.** Norme codex pour les laits fermentés. Adopté en 2003. Révision 2008, 2010. *Codex Stan 243.*
  - **Cogan M.T., Dowd O. et Mellerick D. 1981.** Effects of pH and sugar on acetoin production from citrate by *Leuconostoc lactis*. *Appl. Environ. Microbiol.* 41: 1-8.

- 
- **Cogan T.M. 1986.** The leuconostocs: Milk products. In: Gilliland, S.E. (Ed.), *Bacterial Starter Cultures for Foods*, CRC Press, Boca Raton, Florida, pp. 25-40.
  - **Cogan T.M. et Hill C. 1993.** Cheese starter cultures. In: Fox, P.F. (Ed.), *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*. Vol. 1, Second Edition, Chapman and Hall, London, pp. 193-255.
  - **Cogan T.M., Barbosa M., Beuvier E., Bianchi-Salvadori B., Cocconcelli P.S., Fernandes I., Gomez J., Gomez R., Kalantzopoulos G., Ledda A., Medina M., Rea M.C. et Rodriguez E. 1997.** Characterization of the lactic acid bacteria in artisanal dairy products. *J. Dairy Res.* 64: 409-421.
  - **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.
  - **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.
  - **Collins M.D., Samelis J., Metaxopoulos J. et Wallbanks S. 1993.** Taxonomic studies on some leuconostoc-like organisms from fermented sausages: description of a new genus *Weissella* for the *Leuconostoc paramesenteroides* group of species. *J. Appl. Bacteriol.* 75: 595-603.
  - **Çon A.H. et Gökalp H.Y. 2000.** Production of bacteriocin-like metabolites by lactic acid cultures isolated from sucuk samples. *Meat Sci.* 55: 1, 89-96.
  - **Condon S. 1987.** Responses of lactic acid bacteria to oxygen. *FEMS Microbiol. Rev.*, 46: 269-280.
  - **Conner D.E. 1993.** Naturally occurring compounds. In: *Antimicrobials in Foods*, 2nd edition. eds. Davidson, P.M. and Branen, A.L. pp. 441-468. Marcel Dekker Inc., New York.
  - **Corcy J.C. 1991.** La chèvre, Ed. La maison Rustique, Paris, P7-21.
  - **Corry S., Huang D.C. et Adams J.M. 2003.** The Bcl-2 family: roles in cell survival and oncogenesis. The walter and eliza hall. *Institute of medical res.* 22(53): 8590-607.

- 
- **Crittenden R., Bird A.R., Gopal P., Lee Y.K. et Playn M.J. 2005.** Probiotic research in Australia, New Zealand and the Asia-Pacific region. *Curr. Pharm. Design.* 11: 37-53.
  - **Crow V.L., Coolbear T., Holland R., Pritchard G.G. et Martley F.G. 1993.** Starters as finishers: starter properties relevant to cheese ripening. *Int. Dairy J.* 3: 423-460.
  - **Curk D. et MacPhail A. 1996.** Précision des mesures de vitesse de croissance des streptocoques lactiques dans le lait basées sur la méthode de dénombrement microbien par formation de colonies. Étude de référence avec *Lactococcus lactis*. *Lait.* 1989. **69**: 433-447.
  - **Davidson B.E., Kordias N., Dobos M et Hillier A.J. 1996.** Genomic organization of lactic acid bacteria. Antonie Van Leeuwenhoek, *Int. J. Gen. Mol. Microbiol.* 70: 161-183.
  - **Davies E.A., Bevis H.E et Delves-Broughton J. 1997.** The use of the bacteriocin, nisin, as a preservative in ricotta-type cheeses to control the food-borne pathogen *Listeria monocytogenes*. *Lett. Appl. Microbiol.* 24:343-6.
  - **Davies F.L. et Law B.A. 1984.** Advances in the Microbiology and Biochemistry of Cheese and Fermented Milk. *Elsevier. App. Sc. Publication.* New York, USA.
  - **De Man J.C., Rogosa M. et Sharpe M.E. 1960.** A medium for the cultivation of lactobacilli. *J. Appl. Bacteriol.* 23: 130-135.
  - **De Roissard H. et Luquet F.M. 1994.** Bactéries lactiques. 2 volumes, Lorica Uriage, 600 p. par volume.
  - **De Vos W.M., Kuipers O.P., van der Meer J.R et Siezen R.J. 1995.** Maturation pathway of nisin and other lantibiotics: post-translationally modified antimicrobial peptides exported by gram-positive bacteria. *Mol. Microbiol.* 17:427-37.
  - **De Vuyst L. et Vandamme E.J. 1994 a.** Antimicrobial potential of lactic acid bacteria. In de Vuyst L. et Vandamme E.J (ed). Bacteriocins of lactic acid bacteria: microbiology, genetics and applications. Blackie Academic et Professional, *London, United Kingdom.* p. 91–142
  - **De Vuyst L. et Vandamme E.J. 1994 b.** Nisin, a lantibiotic produced by *Lactococcus lactis subsp. lactis*. In De Vuyst L. et Vandamme E.J (Eds.), Bacteriocins of lactic acid bacteria: microbiology, genetics and application. *London and New York: Blackie.* pp. 151–221.

- 
- **De Vuyst Luc. et Leroy F. 2007.**Bacteriocins from Lactic Acid Bacteria: Production, Purification, and Food Applications.*J. Mol. Microbiol. Biotechnol.* 13:194–199.
  - **Deegan L.H., Cotter P.D., Hill C. et Ross P. 2006.** Bacteriocins: Biological tools for bio-preservation and shelf-life extension.*Int.Dairy J.* 16: 1058-1071.
  - **Demarigny Y., Beuvier E., Dasen A. et Duboz G. 1996.** Influence of raw milk microflora on the characteristics of Swiss-type cheese. Evolution of microflora during ripening and characterisation of facultatively heterofermentative lactobacilli.*Le Lait*, 76: 371-387.
  - **Desmazeaud M. 1983.**L'état des connaissances en matière de nutrition sur les bactéries lactiques. *LeLait.* 63,286-310.
  - **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.
  - **Desmazeaud M.J. et De Roissard H.1992.**Métabolisme général des bactéries lactiques, Bactérieslactiques, aspects fondamentaux et technologiques.*Ed. Lorica Uriage.* 1, 169-207.
  - **Devandra L.M. 1975-1980.**Valeur nutritionnelle du lait en alimentation humaine in intérêt nutritionnel et diététique du lait de chèvre.*INRA.* pp10-12-26.
  - **Devriese L.A. et Pot, B. 1995.** The genus *Enterococcus*. In The Genera of Lactic Acid Bacteria, Edited by Wood B.J.B. et Holzapfel W.H. London:*Blackie Academic et Professional.* pp. 327-367.
  - **Djadouni F. et Kihal M. 2012.**Antimicrobial Activity of Lactic Acid Bacteria and the Spectrum of their Biopeptides against Spoiling Germs in Foods.*Braz. Arch. Biol and Biotechnol.* 55. (3): 435-443.
  - **Dortu C. et Thonart P. 2009.**Les bactériocines des bactéries lactiques : caractéristiques et intérêts pour la bio-conservation des produits alimentaires.*Biotech. Agro. Société et Environnement.* 13 (1) : 1-5.

- 
- **Dougherty B.A., Hill C., Weidman J.F., Richardson D.R., Venter J.C. et Ross R.P. 1998.** Sequence and analysis of the 60 kb conjugative, bacteriocin producing plasmid pMRC01 from *Lactococcus lactis* DPC3147. *Mol. Microbiol.* 29: 1029-1038.
  - **Drici H., Gilbert C., Kihal M. et Atlan D. 2009.** Citrate-fermenting *Lactococcus lactis* strains isolated from dromedary's milk. Atypical citrate-fermenting *Lactococcus lactis* strains isolated from dromedary's milk. *J. App. Microbiol.* 108: 647-657.
  - **Driessen A.J.M., Van den Hooven H.W., Kuiper W., Van de Kamp M., Sahl H.G., Konings R.N.H. et Konings W.N. 1995:** Mechanistic studies of lantibiotic-induced permeabilization of phospholipid vesicles. *Biochem.* 34: 1606-1614.
  - **Earnshaw R.G. 1992.** The antimicrobial action of lactic acid bacteria: natural food preservation systems. In: *The Lactic Acid Bacteria in Health and Disease*. ed. Wood B.J.B. Elsevier *Appl. Sci.* London and New York. pp. 211-232.
  - **Eklund T. 1989.** Organic acids and esters. In: Gould, G.W. (Ed.), *Mechanisms of Action of Food Preservation Procedures*, Elsevier *Applied Science*, London, pp. 161-200.
  - **El Naggar M.H. 2004.** The 2002 Colloquium Address: The role of soil-structure interaction in foundation engineering. *Canad. Geotechnical J.* 41(3).p. 485-509.
  - **El Shafei H.A., Abdel-Sabour H., Ibrahim N. et Mostefa Y.A. 2000.** Isolation, screening and characterisation of the bacteriocin-producing Lactic and bacteria isolated from traditional fermented. *Food Microbiol. Res.* 154: 4, 321-331.
  - **El Soda M., Madkor S.A. et Tong P.S. 2000.** Adjunct Cultures: recent developments and potential significance to the cheese industry. *J. Dairy. Sci.* 83: 609-619.
  - **Fitzsimmons N.A., Cogan T.M., Condon S. et Beresford T. 1999.** Phenotypic and genotypic characterization of non-starter lactic acid bacteria in mature cheddar cheese. *Appl. Environ. Microbiol.* 65: 3418-3426.
  - **Flamand P.K., Kastner, C.L. et Fung, D. 1985.** Inhibition of *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli* O157:H7 on beef by application of organic acids. *J. Food Prot.* 59: 370-373.

- 
- **Flambard B., Richard J. et Juillard J. 1997.** Interaction between proteolytic strains of *Lactococcus lactis* influenced by different types of proteinase during growth in milk. *Appl. Environ. Microbiol.* 63: 2131-2135.
  - **Fleming H.P., Erchells J.L. et Caslilow R.N. 1975.** Microbiol inhibition on isolate
  - *Pediococcus* from cucumber bunc. *Appl. Environ. Microbiol.* 30: 1040-1042.
  - **Fox P.F. et Lane C.N. 2000.** Contribution of starter and added lactobacilli to proteolysis in Cheddar cheese during ripening. *Int. Dairy. J.* 5: 720-730.
  - **Freese E., Sheu C.W. et Galliers E. 1973.** Function of lipophilic acids as antimicrobial food additives. *Nature.* 241: 321-325.
  - **Grappin R., Jeunet R., Pillet R. et Toquin A. 1981.** A study of goat's milk contents of fat, protein and nitro-genous fractions. *Lait*, 61: 167-24.
  - **Grattepanche F., 2005.** Etude d'un système de préfermentation en continu du lait par une culture mixte immobilisée fonctionnelle, thèse Ph.D. Université Laval, Québec, PQ, Canada.
  - **Guarner F. et Schaafsman G.J. 1998.** Probiotics. *Int. J. Food Microbiol.* 39: 237-238.
  - **Gudkow A.V. 1987.** Starters as mean controlling contaminating organisms. *Milk- the vital force.* pp. 83-93.
  - **Gusils C., Cuzzo S., Sesma F. et Gonzalez S. 2002.** Examination of adhesive determinants in three species of *Lactobacillus* isolated from chicken. *Can. J. Microbiol.* 48: 34-42.
  - **Hammes W.P. et Hertel C. 2006.** The genera *Lactobacillus* and *Carnobacterium*. Chap. 1.2.10.
  - In prokaryotes. 4: 320-403.
  - **Hariharan H., Murphy G.A. et Kempf I. 2004.** *Campylobacter jejuni*: Public health hazards and potential control methods in poultry. *Vet. Med.* 49 (11): 441-446.
  - **Harris L.J., Flemming H.P., Klaenhammer T.R., Vederas J.C. et Stiles M.E. 1991.** Characterization of leucocin A-Val 187 and cloning of the bacteriocin gene from *Leuconostoc gelidium*. *J. Bacteriol.* 173: 7491-7500.
  - **Hasper H.E., Kruijff B. et Breukink E. 2004.** Assembly and stability of nisin-lipid II pores.
  - *Biochem.* 43: 11567-11575.

- 
- **Hata A., Moller H.S., Stensballe A., Lindmark-Mansson H. et Karlsson A.H. 2010.**Effect of minor milk proteins in chymosin separated whey and casein fractions on cheese yield as determined by proteomics and multivariate data analysis.*J. Dairy Sci.* 91: 3787-3797.
  - **Heillig L.F., D'Ambrosia R., Drake A.L et Dellavalle R.P. 2005.**Inhibitory Effect of Metabolites from Probiotics *Lactobacillus acidophilus* Strains on Growth of Pathogenic Bacteria.*J. Pharmacol. and Toxicol.* 6: 533-540.
  - **Helander I.M., Von Wright A., Mattila-Sandholm T.M. 1997.** Potential of lactic acid bacteria and novel antimicrobials against Gram-negative bacteria. *Trends. Food. Sci. Technol.* 8(5):146-50.
  - **Heleni S., Lefki P., Nikolaos T et Evanthia L.T. 2006.** Populations, types and biochemical activities of aerobic bacteria and lactic acid bacteria from the air of cheese factories.*Int. J. Dairy Technol.* vol. 59, no3, pp. 200-208.
  - **Heller Ana B. et Brosch Noah. 2001.** characterization of bacteriocin produced from *Lactobacillus plantarum*. *World J. Microbiol.* Vol. 2 (2), pp. 46-55.
  - **Herich R. et Levkut M., 2002.**Lactic acid bacteria, probiotics and immune system.*Vet. Med,* 47 (6) : 169-180.
  - **Hernandez L.H.H., Teshima S., Ishikawa M., Alam S., Koshio S. et Tanaka Y. 2005.**Dietary vitamin A requirements of juvenile Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*.*Aquacult. Nutr.* 11: 3-9.
  - **Hoover DG., Dishart K.J. et Hermes M.A. 1989.** Antagonistic effect of *Pediococcus* spp. against *Listeria monocytogenes*.*Food Biotechnol.* 3: 183-96.
  - **Hosono A., Yastuki K. et Tokita F. 1977.** Isolation and characterization of an inhibitory substance against *E. coli* produced by *Lactobacillus acidophilus*.*Milchwissenschaft.* 32: 727- 730.
  - **Hotchkiss J.H., Chen J.H. et Lawless H.T. 1999.** Combined effects of carbon dioxide addition and barrier films on microbial and sensory changes in pasteurized milk.*J.Dairy Sci.* 82: 690- 695.
  - **Huang L., Forsberg C.W. et Gibbins L.N. 1986.** Influence of external pH and fermentation products on *Clostridium acetobutylicum* intracellular pH and cellular distribution of fermented products.*Appl. Environ. Microbiol.* 51: 1230-1234.

- 
- **Hunter A. et Lawson A.W. 1984.**Continuous production of lactic acid from whey permeate by *Loctobacillus helveticus* in two chemostats in series.*Enzyme Microb. Technol.*12:926.
  - **Hurst A. 1981:** Nisin.*Adv. Appl. Microbiol.* 27: 85-123.
  - **Jay M.J. 1986.** Modern Food Microbiology,*Fermented Foods And Related Products Of Fermentation*,3<sup>th</sup> ed., Van Nostrand Reinhold Company, New York, New York. 239-255 and 362-406.
  - **Jay M.J. 1992.** Modern Microbiology, Van Nostrand Reinhold, 4th ed., New York. 371-409.
  - **Jay M.J. 1996.** Modern Food Microbiology, 5th Edition, Chapman and Hall, New York.
  - **Jeannes, R. 1980.**Composition and characteristics of goat milk: Review 1968-1979.*J. DairySci.* 63: 1605-1630.
  - **Jinet A., Champagne C.P, Girard F. et Morin N.1996.**Bacteriophage development in an immobilized lactic acid bacteria system.*Biotechnol. Lett.*10:463.
  - **Joerger M.C et Klaenhammer T.R. 1986.** Characterization and purification of helveticin J and evidence for a chromosomally determined bacteriocin produced by *Lactobacillus helveticus*  
481.*J. Bacteriol.*167:439-46.
  - **Joffin J.N. et Leyral G. 1996.** Microbiologie technique. Centre Régional de Documentation Pédagogique d'Aquitaine Bordeaux, France, pp. 219-223.
  - **Johnson J.L., Phelps C.F., Cummins C.S., London J. et Graser F. 1980.** Taxonomy of the  
*Acidophilus* Group.*Int. J. Syst. Bacteriol.* 30: 53-68.
  - **Jozala A.F., de Lencastre Novaes L.C., Cholewa O., Moraes D. et Penna T.C.V. 2005.**  
Increase of nisin production by *Lactococcus lactis* in different media.*Afr.J.Biotechnol.* 4: 3,262-265.
  - **Juillard V. et Richard J. 1991.** Indirect interaction in milk between proteolytic and isogenic non proteolytic strains of *Lactococcus lactis*. II. Effect of pre-culturing by a proteolytic strain.*Lait*, 71: 55-64.

- **Juillard V. et Richard J. 1994.** Mixed cultures in milk of a proteinase-positive and a proteinase-negative variant of *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*: influence of initial percentage of proteinase-positive cells on the growth parameters of each strain and on the rate of acidification. *Lait*. 74: 3-12.
- **Juven Benjamin J et Pierson Merle D. 1996.** Antibacterial Effects of Hydrogen Peroxide and Methods for Its Detection and Quantitation. *J. Food Protection*. Volume 59, Number 11, November. pp. 1233-1241(9).
- **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.
- **Kandler O. et Weiss N. 1986.** Genus *Lactobacillus*. In : Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, vol 2, 9<sup>ième</sup> ed. Ed. Sneath P.H.A., Mair N.S., Sharpe M.E., Holt J.G. Williams and Wilkins, Baltimore USA.
- **Karthikeyan V. et Santosh, S.W. 2009.** Isolation and partial characterization of bacteriocin produced from *Lactobacillus plantarum*. *Afr J Microbiol Res*. Vol. 3 (5), pp. 233-239.
- **Kashket E.R. 1987.** Bioenergetics of lactic acid bacteria: cytoplasmic pH and osmotolerance. *FEMS Microbiol. Rev.* 46: 233-244.
- **Kask K., Gustafsson H., Gunnarsson A et Kindahl H. 1999.** Induction of parturition with prostaglandin F as a possible model to study impaired reproductive performance in the dairy cow. *Ani. Reprod. Sci.* 59: 2000 129–139.
- acid bacteria, 1<sup>ères</sup> Journées sur la Recherche Cameline, 25 au 27 mai, ITAS, Ouargla.
- **Kihal M., Prevost H., Lhotte M.E., Huang D.Q. et Divies C. 1996.** Instability of plasmid- encoded citrate permease in *Leuconostoc*. *J. Appl. Microbiol.* 22: 219-223.
- **Klaenhammer T.R. 2000.** Probiotic bacteria : Today and tomorrow. *J. Nutr.* 130: 415-416.
- **Klaenhammer T.R., Fremaux C. et Hechard Y. 1993.** Activité antimicrobienne des bactéries lactiques. In : Bactéries lactiques, tome 1. De Roissart. Ed Lavoisier.

- 
- **Klaenhammer TR. 1988.** Bacteriocins of lactic acid bacteria.*Biochimie.* 70:337-49.
  - **Klaenhammer TR. 1993.** Genetics of bacteriocins produced by lactic acid bacteria.*FEMS Microbiol. Rev.* 12:39-85.
  - **Kleerebezem M. 2004.** Quorum sensing controls of lantibiotic production; nisin and subtilin autoregulate their own biosynthesis. *Peptides.* 25: 1405-1414.
  - **Kleerebezem M. et Ouadri L.E. 2001.** Peptide pheromone-dependent regulation of antimicrobial peptide production in Gram-positive bacteria: a case of multicellular behavior. *Peptides.* 22: 1579-1596.
  - **Klein G. 2001.** International Committee of Systematic Bacteriology. Subcommittee on the Taxonomy of *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* and Related Organisms. Minutes of the Meeting. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 51: 259-261.
  - **Klein G., Pack A., Bonaparte C. et Reuter G. 1998.** Taxonomy and physiology of probiotic lactic acid bacteria. *Int. J. Food Microbiol.* 41: 103-125.
  - **Klein, S. et Kush G. 2004.** Diffusion in -carrageenan/locust bean gum gel beads with or without entrapped growing lactic acid bacteria. *Biotechnol. Bioeng.* 38:1041.
  - **Kodama L.M. 1952.** Medium for the cultivation of lactobacilli. *J. Appl. Bacteriol.* 26: 75-86.
  - **Kong S. et Davison A.J. 1980.** The role of interactions between O<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>, OH<sup>-</sup> and O<sub>2</sub> in free radical damage to biological systems. *Arch. Biochem. Biophys.* 204: 13-29.
  - **Kotelnikova E.A. et Gelfand M.S. 2002.** Bacteriocin Production by Gram-Positive Bacteria and the Mechanisms of Transcriptional Regulation. *Russian J. Genetics.* 38: 6, 628-641.
  - Translated from *Genetika*, 38: 6, 758-772.
  - **Kulshrestha D.C. et Marth E.H. 1974.** Inhibition of bacteria by some volatile and non-volatile compounds associated with milk. I. *Escherichia coli*. *J. Milk Food Technol.* 37: 510-516.
  - **Laouabdia-Sellami N., Ouzrout R. et Guetarni D. 2007.** Study of the leucocytic formula of milk in the ewes of race ouled-djellal in the east of Algeria. *Afr. J. Agr. Res.* 2(10), pp. 505- 511.
  - **Larpent J.P. et larpent G.M. 1990.** Mémento technique de microbiologie 2<sup>ème</sup> Ed. Technique et documentaire Lavoisier, Paris, P: 417.
  - **Larpent S.P. 1997.** Microbiologie alimentaire. Techniques de laboratoire. *Ed. Tech et Doc*, Lavoisier, Paris.

- **Larsen A.G., Vogensen F.K et Josephsen J. 1993.** Antimicrobial activity of lactic acid bacteria isolated from sour doughs: purification and characterization of bavaricin A, a bacteriocin produced by *Lactobacillus bavaricus* MI401. *J Appl. Bacteriol.* 75: 113-22.
- **Larsen raúl F. et Añón maría C. 1989-1990.** Interaction of Antibiotics and Water Activity on *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus bulgaricus*. *J. Food Sci.* 54:4. p.922–924.
- **Law J. et Haandrikman A. 1997.** Proteolytic enzymes of lactic acid bacteria. *Int.Dairy J.* 7: 1- 11.
- **Law J. et Kolstad A. 1988.** Proteolysis in relation to normal and accelerated cheese ripening. *Appl. Sci.* 1: 365-365.
- **Le Mens P. 1985.** Le lait de chèvre : propriétés physico - chimiques, nutritionnelles et chimiques. In : Lait et produits laitiers, vache, chèvre, brebis, de la mamelle à la laiterie. Tome 2. Paris : *technique et documentation Lavoisier*. pp: 354-367.
- **Lehto E.M et Salminen S. 1997.** Adhesion of two *Lactobacillus* strains, one *Lactococcus* and one Propionibacterium strains to cultured human intestinal Caco-2 cell line. *Biosci.Microflora.* 16: 15-17.
- **Lenoir J; Veisseyre R et Choisy C. 1992.** Le lait réfrigéré, matière première de la fromagerie moderne. *Rev. Lait. franç.*, 322,453.
- **Leveau K. et Bouix M. 1983.** Milk Coagulation and the Development of Cheese Texture. In: *Advances in the Microbiology and Biochemistry of Cheese and Fermented Milk*, Davies, F.L. and B.A. Law (Eds.). *Elsevier Applied Science Publishers Ltd.*, New York, USA.
- **Lewis C.B., Kaiser A. et Montville T.J. 1991.** Inhibition of food-borne bacterial pathogens by bacteriocins from lactic acid bacteria isolated from meat. *Appl.Environ.Microbiol.* 57: 1683- 1688.
- **Leyral G et Vierling É. 2007.** Microbiologie et toxicologie des aliments : Hygiène et sécurité alimentaires. *Wolters Kluwer France*. p. 287.
- **Liinska EA, Bevis H.E et Delves-Broughton J. 1997.** The use of the bacteriocin, nisin, as a preservative in ricotta-type cheeses to control the food-borne pathogen *Listeria monocytogenes*. *Lett. Appl. Microbiol.* 24:343-6.
- **Lilly D.M. et Stillwell R.H. 1965.** Probiotics. Growth promoting factors produced by micro-organisms. *Science.* 147: 747-748.

- 
- **Lima E.T et Andreatti Filho R.L. 2005.**Bacteriocins: nomenclature, detection, mechanism of action and potential use in poultry production.*J. Food. Agri. Enviro.*3 (2): 62-66.
  - **Lindgren S et Clevstrom G. 1978.** Antibacterial activity of lactic acid bacteria. 2. Activity in vegetable silages, Indonesian fermented foods and starter cultures.*Swed. J. Agric. Res*8:67-73.
  - **Liu W. et Hansen J.N. 1993.**The antimicrobial effect of a structural variant of subtilin against outgrowing *Bacillus cereus* T spores and vegetative cells occurs by different mechanisms. *Appl. Environ. Microbiol.* 59: 648-651.
  - **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.
  - **Lopez-Diaz T.M., Alonso C., Roman C., Garcia-Lopez M.L. et Moreno B. 2000.** Lactic acid bacteria isolated from a hand-made blue cheese. *Food Microbiol.* 17: 23-32.
  - **Luchansky J.B. 1999.** Overview on applications for bacteriocin producing lactic acid bacteria and their bacteriocins. *Antonie van Leeuwenhoek.* 76: 335-348.
  - **Mahé S., Messing B., Thuillier F. et Tomé D. 1991.** Digestion of bovine milk proteins in patients with a high jejunostomy. *Am. J. Clin. Nutr.* 54. p: 534-538.
  - **Makras L., Falony G., Van der Meulen R et De Vuyst L. 2006.** Production of organic acids from fermentation of mannitol, fructooligosaccharides and inulin by a cholesterol removing *Lactobacillus acidophilus* strain' by M.T. Liong and N.P. J. *Appl. Microbiol.* 99: 783-793.
  - **Maldonado A., Ruiz-Barba J.L. et Jiménez-Díaz R. 2003.** Purification and Genetic Characterization of Plantaricin NC8, a Novel Coculture-Inducible Two-Peptide Bacteriocin from *Lactobacillus plantarum* NC8. *Appl. Environ. Microbiol.* 69: 1, 383-389.
  - **Malinen E. 2002.** Molecular methods for detection of probiotics in intestinal microbiota and evaluation of *Lactobacillus brevis* as a potential probiotic dietary adjunct. University of Helsinki.
  - **Mami A., Boumehira A.Z., Hamedi A.R., Henni J.E. et Kihal M. 2012.** Screening of autochthonous *Lactobacillus* species from Algerian raw goats' milk for the production of bacteriocin-like compounds against *Staphylococcus aureus*. *Afr. J. Biotechnol.* 11(20), pp.4595-4607.

- 
- **Mami A., Henni J.E. et Kihal M. 2008.**Antimicrobial Activity of *Lactobacillus* Species Isolated from Algerian Raw Goat's Milk Against *Staphylococcus aureus*. *World J. Dairy and Food Sci.* 3 (2): 39-49.
  - **Marilley L. et Casey M.G. 2004.**Flavours of cheese products: metabolic pathways, analytical tools and identification of producing strains. *Int. J. Food. Microbiol.* 90: 139-159.
  - **Marroki A. 2010.** Caractérisation phénotypique et génotypique des souches de *Lactobacillus* isolées du lait cru de chèvre et étude de leurs propriétés technologiques. Thèse de doctorat. Département de biologie, Faculté des sciences. Université d'Oran.
  - **Marteau P. 2001.**Safety aspects of probiotic products. *Scand. J. Nutr.* 45: 8-12.
  - **Martinet J. et Houdebine L.M. 1993.**Biologie de la lactation, *INSERM/INRA*, Paris, 587p.
  - **Masle I. et Morgan F. 2001.**Aptitude du lait de chèvre à l'acidification par les ferments lactiques : facteurs de variation liés à la composition du lait. 81 : 561-569.
  - **Mataragas M., Metaxopoulos J., Galiotou M. et Drosinos E.H. 2003.** Influence of pH and temperature on growth and bacteriocin production by *Leuconostoc mesenteroides* L124 and *Lactobacillus curvatus* L442. *Meat Sci.* 64: 265-271.
  - **Mathara J.M., Schillinger U., Kutima P.M., Mbugua S.K. et Holzapfel W.H. 2004.** Isolation, identification and characterisation of the dominant microorganisms of *kule naoto*: the Maasai traditional fermented milk in Kenya. *Int. J. Food Microbiol.* 94: 3, 269-278.
  - **Mathur S. et Singh R. 2004.**Antibiotic resistance in food lactic acid bacteria a review. *International J. Food Microbiol.* 105: 281– 295.
  - **Mayeux J., Sandine W. et Elliker P. 1962.** A selective medium for detecting *Leuconostoc* organisms in mixed strain starter cultures. *J. Dairy. Sci.* 45: 655-656.
  - **Mayra-Makinen A. et Bigret M. 1998.** Industrial use and production of lactic acid bacteria. In: Salminen S., Wright A. (Eds.), *Lactic Acid Bacteria Microbiology and Functional Aspects*. Marcel Dekker, Inc., New York. pp. 73-102.
  - **Mc Auliffe O., Ross R.P et Hill C. 2001.** Lantibiotics: structure, biosynthesis and mode of action. *FEMS Microbiol. Rev.* 25: 285-308.

- 
- **Meghrous J., Lacroix C. et Simard R.E. 1999.**The effects on vegetative cells and spores of the three bacteriocins from lactic acid bacteria.*Food Microbiol.*16: 105-114.
  - **Mijacovic S., Van Zeijl H.W et Nanver. L.K. 2001.** Electrical detection and simulation of stress in silicon nitride spacer technology.*J. Mater. Sci. Mater. Electron.*12 339–41.
  - **Montville T.J. et Bruno M.E.C. 1994.** Evidence that dissipation of proton motive force is a common mechanism of action for bacteriocins and other antimicrobial proteins.*Int. J. Food Microbiol.*24: 53-74.
  - **Moreno I., Lerayer A.L.S. et de Freitas Leitão M.F. 1999.** Detection and characterization of bacteriocin-producing *Lactococcus lactis* strains.*Rev. Microbiol.* 30: 2-19,
  - **Morris J.G. 1976.**Oxygen and the obligate anaerobe.*J. Appl. Bacteriol.* 40: 229-244.
  - **Mota-Meira M., LaPointe G., Lacroix C. et Lavoie M.C. 2000.** MICs of mutacin BNY266, nisin A, vancomycin, and oxacillin against bacterid pathogens.*Antimicrob. Agents Chemother.* 44: 1, 24-29.
  - **Mulders. J.W.M., Boerrigter I.J., Rollema H.S., Siezen R.J. et de Vos W.M. 1991.** Identification and characterization of the lantibiotic nisin Z, a natural nisin variant.*Eur. J. Biochem.* 201: 581-584.
  - **Muriana P.M et Klaenhammer T.R. 1991.**Purification and partial characterization of lacticin F, a bacteriocin produced by *Lactobacillus acidophilus* 11088.*Appl. Environ. Microbiol.*  
57(1):114–121.
  - **Nauciel C et Vildé J.L. 2005.**Bactériologie médicale: Abrégés Connaissances et pratique.  
*Elsevier Masson.* Paris. pp : 257.
  - **Navarro L., Zarazaga M., Saenz J., Ruiz-Larrea F. et Torres C. 2000.**Bacteriocin production by lactic acid bacteria isolated from Rioja red wines.*J. Appl. Microbiol.* 88: 44- 51.
  - **Nedjraoui D. 2002.**Les ressources pastorales en Algérie.
  - **Nes I.F et Holo H. 2000.** Class II antimicrobial peptides from lactic acid bacteria.*Biopolymers* 55:50-61.
  - **Nes I.F., Diep D.B., Håvarstein L.S., Brurberg M.B., Eijsink V.G.H. et Holo H. 1996.**

- 
- Biosynthesis of bacteriocins in lactic acid bacteria. *Antonie Leeuwenhoek*. 70: 113-128.
  - **Nettles C.G. et Barefoot S.F. 1993.** Biochemical and genetic characteristics of bacteriocins of food-associated lactic acid bacteria. *J. Food Prot.* 56: 338-356.
  - **Neves A.R., Ramos A., Nunes M.C., Kleerebezem M., Hugenholtz J., de Vos WAL, Almeida J. et Santos. 1999.** In vivo nuclear magnetic resonance studies of glycolytic kinetics in *Lactococcus lactis*. *Biotechnology and Bioengineering*. 64:200-212.
  - **Noonpakdee W., Santivarangkna C., Jumriangrit P., Sonomoto K. et Panyim S. 2003.** Isolation of nisin-producing *Lactococcus lactis* WNC 20 strain from nham, a traditional Thai fermented sausage. *Int. J. Food Microbiol.* 81: 137– 145.
  - **Ott R., Vije T., Ten Brink B., Mont B. et Konings W.N. 1997.** Energy metabolism in *Streptococcus cremoris* during lactose starvation. *Archives of Microbiol.* 141:348-352.
  - **Ouwehand A.C. 1998.** Antimicrobial components from lactic acid bacteria. In: Salminen, S. and Von Wright A. (Ed.), lactic acid bacteria: Microbiology and functional aspects, 2nd edition (edited by). *Marcel Dekker Inc*, New York. 139-159.
  - **Ouwehand A.C. et Vesterlund S. 2004.** 11 Antimicrobial components from lactic acid bacteria. In: Salminen S., Ouwehand A., Von Wright A. (eds.). Lactic Acid Bacteria: Microbial and Functional Aspects, 3rd ed. *Marcel Dekker, New York*. 375– 395.
  - **Oyetayo V.O., Adetuyi F.C. et Akinyosoye F.A. 2003.** Safety and protective effect of *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus casei* used as probiotic agent in vivo. *Afr. J. Biotech.* 2: 448-452.
  - **Park E., Agee B.A., Gall B., Vogt J., Run G., Williams J., Lieb L. et Werner S.B. 1985.** Listeriosis outbreak associated with Mexican-style cheese-California. *Morbidity Mortality Weekly Report*. 34:357.
  - **Park E.Y., Anh P.N. et Okuda N. 1994.** Bioconversion of waste office paper to L (+) lactic acid by the filamentous fungus *Rhizopus oryzae*. *Bioresource Technol.* 93 : 77-83.
  - **Park E.Y., Kosakai Y. et Okabe M. 1986.** Efficient production of L(+) lactic acid using mycelial cotton-like floes of *Rhizopus oryzae* in an air-lift bioreactor. *Biotechnol. Prog.* 14: 699-704.

- 
- **Peláez S.M. et Martín O. 2009.** Bacteriocin production and sensitivity. *Folia Microbiol.* 49:172–174.
  - **Perrin P., de Franco T., Jallet M., Fouque C., F., Morgeaux S., Tordo N. et Colle J.H. 1996.** Characterization of intestinal lactobacilli as putative probiotic candidates. *J. App Microbiol.* 94 : 403-412.
  - **Piard J.C. et Desmazeand M., 1991.** Inhibiting factors produced by lactic and bacteria part L.oxygen metabolites and catabolism end-products. *Lait.* 71: 525-541.
  - **Piard J.C., Delorme F., Giraffa G., Commissaire J. et Desmazeaud M.J. 1990.** Evidence for a bacteriocin produced by *Lactococcus lactis* CNRZ 481. *Neth. Milk Dairy J.* 44: 143-158.
  - **Podolak P.K., Zayas J.F., Kastner C.L. et Fung D.Y.C. 1996.** Inhibition of *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli* O157:H7 on beef by application of organic acids. *J. Food Prot.* 59: 370-373.
  - **Prescott C.E., Hope G.D. et Blevins L.L. 2003.** Identification of newly isolated lactobacilli from stomach mucus of lamb. *Acta Facultatis Pharmaceuticae Universitatis Comeniana.* 55:64-72.
  - **Prioult G. 2003 :** Effet des probiotiques sur l'induction et le maintien de la tolérance orale à la  $\beta$ -lactoglobuline chez la souris et étude de leurs mécanismes d'action .Thèse Ph.D. Faculté des sciences de l'agriculture et de l'alimentation. Université Laval, Québec, PQ, Canada.
  - **Pritchard G.G. et Coolbear T. 1993.** The physiology and biochemistry of the proteolytic system in lactic acid bacteria. *FEMS Microbiol. Rev.* 12: 179-206.
  - **Pruitt K.M., Tenovuo J., Mansson-Rahemtulla B., Harrington P. et Baldone D.C. 1986.** Is thiocyanate peroxidation at equilibrium in vivo? *Biochim. Biophys. Acta.* 870: 385-391.
  - **Psono L., Kotzamanides C., Andrighetto C., Lombardi A., Tzanetakis N., Litopoulou- Tzanetaki E. 2006.** Genotypic and phenotypic heterogeneity in *Enterococcus* isolated from Batzos, a raw goat milk cheese. *Int. J. Food Microbiol.* 109: 109-120.
  - and cytotoxic properties. *Afr. J. Pharmacy and Pharmacol.* 4(12) : p. 895-902.
  - **Ramet J.P. 1993.** The Technology of Cheese from Camel Milk (*Camelus dromedarius*). *FAO Booklet Production and Animal Health*, Rome, Italy. p:118.

- 
- **Rampal M., Ouwehand A.C. et Vesterlund S. 2000.**Antimicrobial components from lactic acid bacteria.*Appl Environ Microbiol.* 57(1):114-121.
  - **Rao D.R., Reddy A.V., Pulusani S.R. et Cornwell P.E. 1984.** Biosynthesis and utilisation of folic acid and vitamin B<sub>12</sub> by lactic cultures in skim milk.*J.Dairy Sci.* 67: 1169-1174.
  - **Rauch P.J.G., Beerthuyzen M.M. et de Vos W.M. 1994.** Distribution and evolution of nisinsucrose elements in *Lactococcus lactis*.*Appl. Environ. Microbiol.* 60: 1798-1804.
  - **Reeves PR. 1972.** The Bacteriocins. New York:Springer-Verlag. 142 p.
  - **Reisinger P., Seidel H., Tscheche H. et Hammes W.P., 1980.** The effect of nisin on murein synthesis.*Arch. Microbiol.* 127: 187-193.
  - **Reiter B. et Härnqvist B.G. 1984.** Lactoperoxidase antibacterial systems: natural occurrence, biological functions and practical applications.*J.Food Prot.* 47: 724-732.
  - **Richards R.M.E., Xing D.K.L. et King T.P. 1995.** Activity of *o*-aminobenzoic acid compared with other organic acids against selected bacteria.*J.Appl.Bacteriol.* 78: 209-215.
  - **Riley M.A. et Wertz J.E. 2002.** Bacteriocin diversity: ecological and evolutionary perspectives.  
*Biochimie.* 84: 357-364.
  - **Rodriguez E., Calzada J., Arquès J.L., Rodrigues J.M., Nunez M. et Medina M. 2005.**  
Antimicrobial activity of Pediocin-producing *Lactococcus lactis* on *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* O157:H7 in cheese.*Int. Dairy J.* 15: 51-57.
  - **Roissard et Luquet. 1985.** Les bactéries lactiques édition Lavoisier, volume 1, Luquet F. M, lait et produits laitiers, *Tec et Doc*, édition Lavoisier, Paris, p362-400-402.
  - **Rollema H.S., Kuipers O.P., Both P., de Vos W.M. et Siezen R.J. 1995:** Improvement of solubility and stability of the antimicrobial peptide nisin by protein engineering.*Appl. Environ. Microbiol.* 61: 2873-2878.
  - **Rose N.L., Sporns P et Mc Mullen L.M. 1999.** Detection of bacteriocins by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry.*Appl. Environ. Microbiol.* 65: 2238-2242.
  - **Ross A.G.P., Bartley P.B., Sleight A.C., Olds G.R., Li Y.S., Williams G.M. et**

**Mc Manus**

- **D.P. 2002.**Schistosomiasis. *N. Engl. J. Med.* 346: 1212-1220.
- **Ryan M.P., Rea M.C., Hill C et Ross R.P. 1996.**An application in cheddar cheese manufacture for a strain of *Lactococcus lactis* producing a novel broad-spectrum bacteriocin, lacticin 3147. *Appl. Environ. Microbiol.* 62: 612-619.
- **Saidi N., Guessas B., Bensalah F., Badis A., Hadadji M., Henni D.E., Prevost H. et Kihal M. 2002.** Caractérisation des bactéries lactiques isolées du lait de chèvre des régions arides. *J. Alg. Reg. Arides.* 1: 1-11.
- **Saidi N., Hadadji. et Guessas B. 2011.** Screening of Bacteriocin-Producing Lactic Acid Bacteria Isolated from West Algerian Goat's Milk. *Global J. Biotechnol. Bioch.* 6 (3): 154-16.
- **Saidi Noureddine. 2007.** La microflore lactique du lait cru de chèvre local : études, microbiologique, biochimique et génétique des bactéries lactiques d'intérêt bio-préservateur Thèse de Doctorat. Université d'Oran. 216 pp.
- **Salminen S., Bouley M.C., Boutron-Rualt M.C., Cummings J., Franck A., Gibson G., Isolauri E., Moreau M.C., Roberfroid M. et Rowland I. 1998.** Functional food science and gastrointestinal physiology and function. *Brit. J. Nutr. Suppl.* 1: 147-171.
- **Salminen S., Ouwehand A. et von Wright A. 2004.** Lactic Acid Bacteria: Microbial and Functional Aspects, 3rd ed. *Marcel Dekker.* New York. 375-395.
- **Sanz B., Selgas D., Parejo I. et Ordóñez J.A. 1988.** Characteristics of lactobacilli isolated from dry fermented sausages. *Int. J. Food Microbiol.* 6: 199-205.
- **Schillinger U. et Lücke F.K. 1987.** Identification of Lactobacilli from meat and meat products. *J. Food Microbiol.* 4: 199-208.
- **Schillinger U. et Lücke K. 1989.** Antimicrobial activity of *Lactobacillus sakei* isolated from meat. *Appl. Environ. Microbiol.* 55: 1901-1906.
- **Schillinger U., Geisen R. et Holzapfel W.H. 1996.** Potential of antagonistic microorganisms and bacteriocins for the biological preservation of foods. *Trends Food Sci. Technol.* 7: 158- 64.
- **Schirch V., Hopkins S., Villar E. et Angelaccio S. 1985.** Serine hydroxymethyltransferase from *Escherichia coli*: purification and properties; *J. Bacteriol.* 163: 1-7.

- 
- **Schleifer K.H. et Kilpper-Balz R. 1987.** Molecular and chemotaxonomic approaches to the classification of streptococci, enterococci and lactococci: a review.*Syst.Appl.Microbiol.* 10: 1-19.
  - **Schved F., Lalazar A., Lindner P. et Juven B.J. 1994.** Interaction of the bacteriocin produced by *Pediococcus acidilactici* SJ-1 with the cell envelope of *Lactobacillus* spp.*Lett.Appl. Microbiol.* 19: 281-283.
  - **Schved, F.M., Lalazar, A., Henis, Y. et Juven B.J. 1993.** Purification, partial characterization and plasmid-linkage of pediocin S J- 1, a bacteriocin produced by *Pediococcus acidilactici*. *J.Appl. Bacteriol.* 74: 1, 67-77.
  - **Seifu L., Souza A.M.L., Lopes R.V., Nunes A.C et Nicoli R.J. 2007.** Comparison of antagonistic ability against enteropathogens by G+ and G- anaerobic dominant components of human fecal microbiota.*Folia Microbiol.* 51: 141-145.
  - **Selmer-Olsen E. et Sorhaug T. 1998.** Comparative studies of the growth of *Lactobacillus plantarum* in whey supplemented with autolysate from brewery yeast biomass or commercial yeast extract.*Milchwissenschaft.* 53: 7. p: 367-370.
  - **Sharpe M.E. 1962.** Taxonomy of the Lactobacilli.*Dairy Sci.Abracts.* 24: 109-118.
  - **Sheu C.W., Konings W.N. et Freese E. 1972.** Effects of acetate and other short-chain fatty acids on sugars and amino acid uptake of *Bacillus subtilis*.*J.Bacteriol.* 111: 525-530.
  - **Shihata A. et Shah N.P. 2000.** Proteolytic profiles of yogurt and probiotic bacteria.*Int.Dairy J.* 10: 401-408.
  - **Sholeva Z., Stefanova S. et Chipeva V. 1998.** Screening of antimicrobial activities among Bulgarian *lactobacilli* strains.*J.Culture Collections.* 2: 15-20.
  - **Siegmund H., Rechner K.B. et Jakobsen M. 2000.** Dynamic changes of intracellular pH in individual lactic acid bacterium cells in response to a rapid drop in extracellular pH.*Appl. Environ. Microbiol.* 66: 2330-2335.
  - **Smith J.L. et Palumbo S.A. 1983.** Use of starter cultures in meats.*J.Food Prot.* 46: 11, 997- 1006.

- 
- **Smith L. et Palumbo M. 1983.** De Bacterias Lacticas: Novel approaches for the development of lactic acid bacteria resistant to phages. Aniverario. *Technologia Lactea Latinoamericana*. 7.
  - **Smulders F.J.M., Barendsen P., Van logtestijn J.G., Mossel D.A.A. et Van Der Marel G.M. 1986.** Review: Lactic acid: considerations in favor of its acceptance as a meat decontaminant. *J. Food Technol.* 21: 419-436.
  - **Sneath P.H.A., Mair N.S., Sharpe M.E. et Holt J.G. 1986.** Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, vol. 2. Baltimore: Williams & Wilkins.
  - **Sneath S. 1973.** Numerical Taxonomy Freeman and Company. San Francisco. 230-234.
  - **Somers S.T. et Taylor M. 1987.** Inhibitory efficacy of nisin and bacteriocins from *Lactobacillus* isolates against food spoilage and pathogenic organisms in model and food systems. *Food. Microbiol.* 22: 449-454.
  - **Sownd T., Nunes A.C et Hill C. 2005.** Bacteriocins: modes of action and potentials in food preservation and control of food poisoning. *Food Microbiol.* 2:150-162.
  - **Spelhaug S.R et Harlander S.K. 1989.** Inhibition of foodborne bacterial pathogens by bacteriocins from *Lactococcus lactis* and *Pediococcus pentosaceus*. *J. Food Prot.* 52:856-62.
  - **Stackebrandt E. et Goebel B.M. 1994.** Taxonomic note: A place for DNA-DNA reassociation and 16S rRNA sequence analysis in the present species definition in bacteriology. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 44: 846-849.
  - **Stackebrandt E. et Teuber M. 1988.** Molecular taxonomy and phylogenetic position of lactic acid bacteria. *Biochimie.* 70: 317-324.
  - **Stamer J.R. 1976.** Lactic Acid Bacteria, Defigueiredo M.P. and Splittstoesser D.F., Eds., *Food Microbiology; Public Health and Spoilage Aspects*, AVI Publishing Co. Inc., Westport, Connecticut. 404-426.
  - **Strompfová V. et Lauková A. 2004.** Antibiotic Resistance of Lactic Acid Bacteria from Canine Faeces. *Bull. Vet. Inst. Pulawy.* 48: 215-218.
  - **Suvarna V. et Boby V.U. 2005.** Probiotics in human health: A current assessment. *Current. Sci.* 88, 10, 11.

- **Tamime A.Y. 1990.**Microbiology of starter cultures. In: Robinson, R. K. (Ed), Dairy Microbiology, vol. 2. *Elsevier, London*. pp. 131- 201.
- **Taylor M.J., Bandi C. et Hoerauf A. 2005.** Wolbachia bacterial endosymbionts of filarial nematodes. *Adv in Parasitol*. 60: 245-284.
- **Teuber M. et Lembke J. 1983.** The bacteriophages of lactic acid bacteria with emphasis on genetic aspects of group N lactic streptococci. *J. Microbiol. Serol*. 49: 283-295.
- **Thomas T.D. 1973.** Agar medium for differentiation of *Streptococcus cremoris* from the other bacteria. *NZJ. Dairy. Sci. Technol*. 8: 70-71.
- **Thompson J. et Torchia., D.A. 1984.** Use of <sup>31</sup>P nuclear magnetic resonance spectroscopy and <sup>14</sup>C fluorography in studies of glycolysis and regulation of pyruvate kinase in *Streptococcus lactis*. *J. Bacteriol*. 158: 791–800.
- **Thonart P. et Hiligsmann S. 2009.** Identification of newly isolated lactobacilli from stomach mucus of lamb. *Acta Facultatis Pharmaceuticae Universitatis Comenianae*. 55: 64-72.
- **Todorov S.D. et Dicks L.M.T. 2005.** Production of bacteriocin ST33LD, produced by *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides*, as recorded in the presence of different medium components. *World J. Microbiol. Biotechnol*. 21: 1585-1590.
- **Todorov S.D., van Reenen C.A et Dicks L.M. 2004.** Optimization of bacteriocin production by *Lactobacillus plantarum* ST13BR, a strain isolated from barley beer. *J. Gen. Appl. Microbiol*. 50: 149-157.
- **Topisirovic L., Milan k., Djordje f., Natasa G., Ivana S et Jelena L. 2006.** Potential of lactic acid bacteria isolated from specific natural niches in food production and preservation. *Int. J. Food Microbiol*. 112: 230-235
- **Vassiliadou K., Monolkidis D. et Tsigoida A. 1991.** Somatic cell count in relation to infection status of goat udder. *J. Dairy Res*. 159: 21-28.
- **Vermeiren L., Devlieghere F. et Debevere J. 2004.** Evaluation of meat born lactic acid bacteria as protective cultures for the biopreservation of cooked meat products. *Int. J. Food Microbiol*. 96: 149-164.
- **Vescovo K., Javorský P., Nemcová R., Kopečný J. et Boda K. 1982.** Occurrence of conjugative amylolytic activity in rumen *Lactobacilli*. Elsevier. 144, Issue 1. p : 53–57.
- **Vollenweider L., Zarazaga M., Saenz J., Ruiz-Larrea F. et Torres C. 2000.** Bacteriocin production by lactic acid bacteria isolated from Rioja red wines. *J. Appl. Microbiol*. 21: 305-314.

- 
- **Who 1974.** Toxicological evaluation of some food additives including anticaking agents, antimicrobials, antioxidants, emulsifiers and thickening agents. *WHO Food Additives*. 5: 461-465.
  - **Wilson A.R., Sigeo D. et Epton H.A.S. 2005.** Anti-bacterial activity of *Lactobacillus plantarum* strain SK1 against *Listeria monocytogenes* due to lactic acid production. *J. Appl. Microbiol.* 99: 1516-1522.
  - **Winkowski. K et Ludescher R.D. 1995.** Models and Mechanisms for Bacteriocin Action and Application. *Int Dairy J.* 5: 797-814.
  - **Wong H.C. et Chen Y.L. 1988.** Effects of lactic acid bacteria and organic acids on growth and germination of *Bacillus cereus*. *Appl. Environ. Microbiol.* 54: 2179-2184.
  - **Woolford M.K. 1975.** Microbiological screening of food preservatives, cold sterilants and specific antimicrobial agents as potential silage additives. *J. Sci. Food Agric.* 26: 229-237.
  - **Wouters J.T.M., Ayad E.H.E., Hugenholtz J. et Smit G. 2002.** Microbes from raw milk for fermented dairy products. *Int. J.* 12: 91-109.
  - **xanthopoulos V., Litopoulou-Tzanetaki E et Tzanetakis N. 1997.** In vitro study of *Lactobacillus* species strains on bile tolerance and cholesterol removal, in *Lactic Acid Bacteria – Lactic 97*. Caen, Presses Universitaires de Caen. France.
  - **Yang G Z., 2000.** Antimicrobial compounds and extracellular polysaccharides produced by lactic acid bacteria: structure and properties. Academic Dissertation. Faculty of Agriculture and Forestry of the University of Helsinki, Department of Food Technology, University of Helsinki 24:227-38. MS 200205
  - **Yu W., Gillies K., Kondo J.K., Broadbent J.R. et Mc Kay L.L. 1996.** Loss of plasmid-mediated oligopeptide transport system in Lactococci: another reason for slow milk coagulation. *Plasmid*, 35: 145-155.
  - **Zhennai Y. 2000.** Antimicrobial compounds and Extracellular polysaccharides produced by lactic acid bacteria: structures and properties. Academic Dissertation. *Department of Food Technology*, University of Helsinki. 61p.

- **Zhou J.S., Pillidge C.G., Gopal P. K. et Gill H.S. 2005.** Antibiotic susceptibility profiles of new probiotic *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains. *Inter. J. Food Microbiol.* 98 : 211- 217.
- **Zottola E.A., Yezzi T.L., Ajao D.B. et Roberts R.F. 1994.** Utilization of cheddar cheese containing nisin as an antimicrobial agent in other foods. *Int. J. Food Microbiol.* 24: 227-38. MS 20020567.