

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de L'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Université Abd-Elhamid Ibn Badis de Mostaganem

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie

Mémoire de Fin d'Etude

En Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

Option : Exploitation Des Ecosystèmes Microbiens Laitiers

**Caractéristiques phénotypiques et aptitudes
technologiques de bactéries lactiques isolées à partir
du lait de brebis**

Présenté par : MORSLI NOUR ELHOUDA

Soutenu le : 28/06/2016

Devant le jury :

<i>Mme L.BELKACEMI</i>	<i>Université de Mostaganem</i>	<i>présidente</i>
<i>Mme H.TAHALAITI</i>	<i>Université de Mostaganem</i>	<i>examinatrice</i>
<i>Mme F.DALACHE</i>	<i>Université de Mostaganem</i>	<i>Promotrice</i>
<i>Mme L.KETROUCI</i>	<i>Université de Mostaganem</i>	<i>Co encadreur</i>

Structure d'accueil : Laboratoire Des Sciences Et Techniques De Production Animales

Année Universitaire 2015/2016

Remerciements

Au terme de ce travail je tiens d'abord à remercier Mr Homrani responsable du Laboratoire de Science Et Technologie De Production Animal (LSTPA) qui a accepté de m'accueillir en stage au sein de son organisme. Je tiens ensuite à exprimer ma profonde gratitude et mes sincères remerciements à Mme Dalache fatiha qui a accepté d'encadrer mes travaux, et Melle Ketrouti leila, mon tuteur de stage, pour tout le temps qu'elles m'ont consacré, leur directives précieuses et pour la qualité de leur suivi durant toute la période de mon stage.

Je remercie aussi Mme Thahalayti d'avoir examiné mon travail, et Mme Belkacemi d'avoir accepté de présider les jurys de soutenance.

Je souhaite aussi remercier profondément mon mari Mr Medjbeur seddik pour tout le soutien inconditionnel, l'aide et l'orientation qu'il m'a apporté, sans oublier toutes les personnes qui, de près ou de loin, m'ont aidé à l'élaboration de ce mémoire.

SOMMAIRE

Nomenclatures des Abréviations.....	I
Nomenclatures des figures.....	II
Nomenclatures des tableaux.....	III
Résumé	
Summary	
ملخص	
Introduction	01
Chapitre 1 : Généralités sur le lait de brebis	
1.1. Définition légale du lait	03
1.2. Lait de brebis.....	03
1.2.1. Production du lait de brebis.....	03
1.2.2. Caractères généraux du lait de brebis	04
1.2.3. Composition du lait de brebis.....	05
1.2.3.1. Composition chimique et biochimique du lait de brebis.....	05
1.2.3.2. Propriétés physiques du lait de brebis	09
1.2.4. Produits laitiers dérivés du lait de brebis.....	10
Chapitres II : Les bactéries lactiques	
1.2. Les bactéries lactiques.....	11
1.2.1. Définitions et caractéristiques principales.....	11
1.2.2. Origine Habitat.....	11
1.2.3. Taxonomie et classification.....	12
1.2.4. Métabolisme des bactéries lactiques.....	15
1.2.4.1. Principales voies fermentaires des bactéries lactiques.....	15
1.2.4.2. Métabolisme du citrate.....	18
1.2.4.3. Ingénierie de la protéolyse.....	18

1.2.4.4. Ingénierie de la lipolyse.....	19
1.2.5. Propriétés technologique des bactéries lactiques.....	19
1.2.5.1. Aptitude acidifiante.....	19
1.2.5.2. Aptitude aromatisante.....	20
1.2.5.3. Aptitude texturante.....	21
1.2.6. Importance industrielle des bactéries lactiques.....	21

Chapitre III : Les Interactions Métaboliques

1.3. Interactions métaboliques.....	21
1.3.1 Classification des interactions.....	21
1.3.2. Les agents inhibiteurs produits par les bactéries lactiques.....	23
1.3.2.1. Les acides organiques	23
1.3.2.2. Le peroxyde d'hydrogène.....	23
1.3.2.3. La production de bactériocine.....	24

2. matériels et méthodes

2.1. Lieu de travail.....	25
2.2. Matériel biologique.....	25
2.2.1. Souches bactériennes.....	25
2.3. Milieux.....	26
2.4. Méthodes.....	26
2.4.1. Vérification de la pureté des isolats et de leur appartenance au groupe lactique.....	26
2.5. Etude physiologique et biochimique.....	27
2.5.1. Croissance dans des conditions hostiles.....	27
2.5.1.1. Test de croissances à pH 9,6 et pH 4.....	27
2.5.1.2. Croissance en présence de 6,5 % de NaCl.....	27
2.5.1.3. Croissance à 4 % de NaCl.....	27
2.5.1.4. Recherche du type fermentaire.....	28
2.5.1.5. Test de thermorésistante.....	28

2.5.1.6. Lait de Sherman.....	28
2.5.1.7. Croissance à différentes températures.....	28
2.6. Recherche de l`activité antibactérienne.....	29
2.6.1. Méthode de double couche (méthode de Fleming et <i>al</i> , 1975).....	29
2.6.2. Méthode de diffusion en puis.....	30
2.7. Mise en évidence de l`activité protéolytique des bactéries lactiques.....	31
2.8. Mise en évidence de l`activité lipolytique.....	32
2.9. Dosage de l`acidité.....	32
3. Résultats et discussion	
3.1. Confirmation de la pureté et l`appartenance des souches au groupe lactique.....	34
3.2. Type fermentaire.....	35
3.3. Test de croissance à températures 10°C et 45°C.....	36
3.4. Les conditions hostiles.....	37
3.4.1. Croissance en présence de 6,5% de NaCl.....	37
3.6. Test de thermorésistante.....	40
3.7. Lait de Sherman.....	40
3.8. Détection des bactéries inhibitrices.....	43
3.8.1. La méthode de Fleming et al (1975).....	44
3.8.2. Méthode de diffusion des puis.....	46
3.9. Activité protéolytique.....	47
3,10. Activité lipolytique.....	49
3.11. Pouvoir acidifiant.....	51
Conclusion.....	54
Annexes.....	55
Références.....	66

Nomenclature des abréviations

Symbole	Signification
BAL	Bactéries lactiques
°C	Degrés Celsius
°D	Degrés dornic
FIL	Fédération international des laits
FAO	Food and Agriculture Organization (Organisation des nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture)
I_μ	International unit
mm	millimètre
min	minute
Nacl	Chlorure de sodium
ND	Non déterminé
pH	Potentiel d'hydrogène
QSP	Quantite suffisante pour
S	Souche
ssp	Sous espèces
μL	Microlitre

Nomenclature des figures

Figure 1	Schéma de différenciation des principaux genres de bactéries lactiques	13
Figure 2	Métabolisme des voies homolactiques et hétérolactiques	17
Figure 3	Applications industrielles des bactéries lactiques.	20
Figure 4	Méthode de Fleming et al. (1975)	30
Figure 5	Méthode de diffusions en puits	31
Figure 6	Proportion de la forme cellulaire des sept échantillons de trois localités (BNF, BMA, BME).	34
Figure 7	Diagramme de la forme bacille et coque Des sept échantillons.	35
Figure 8	Exemple de résultats obtenus pour le type fermentaire	36
Figure 9	Résultats de test de croissance à 6,5% de NaCl	38
Figure 10	Resultas de test de differents pH 9,6 et 4,5	39
Figure 11	Test de lait de shermen	40
Figure 12	Représentation des genres identifiants	41
Figure 13	Interaction inhibitrice inter bactérienne (E.coli et S1) avec BNF1.1, BNF1.6, BNF2.7, BNF2.41, BNF3.8 ET BNF3.15	44
Figure 14	Interaction inhibitrice inter bactérienne (S1) avec BNF1.1, BNF1.6, BNF2.7, BNF2.41, BNF3.8 ET BNF3.15	46
Figure 15	Résultats de l'activité protéolytique par la méthode de Fleming	48
Figure 16	Activité lipolytique (tween 80 1%,3%)	49
Figure 17	Activité lipolytique (huile d'olive 1%,3%)	50
Figure 18	L'évaluation de l'acidité en fonction du temps	51
Figure 19	L'évolution du pH en fonction du temps	52

Nomenclature des tableaux

N° de tableau	Titre de tableau	Page
Tableau 1	Composition du lait de brebis	5
Tableau 2	Composition moyenne des constituants de base des différents laits	6
Tableau 3	Comparaison des vitamines et les minéraux du lait de brebis avec d'autres laits	8
Tableau 4	Pays d'origine de fabrication du fromage du lait de brebis	10
Tableau 5	Les souches de différentes régions	25
Tableau 6	Les souches pathogènes ou d'altération	25
Tableau 7	Souches inhibitrices utilisées pour l'effet inhibiteur	29
Tableau 8	Récapitulatif de résultats de type fermentaire	36
Tableau 9	Résultats de test de différentes températures (10 et 45 °C)	37
Tableau 10	Récapitulatif de la croissance en présence de 6,5% de NaCl par échantillon	38
Tableau 11	Récapitulatifs des souches de BNF, BMA et BME à un pH 9,6 et pH 4.	39
Tableau 12	Les souches étudiées pour leur effet inhibiteur	43
Tableau 13	Spectre d'activité antimicrobienne des souches lactiques par la méthode de Fleming (1975).	45
Tableau 14	Spectre d'activité antimicrobienne des souches lactiques par la méthode de Tagg et al (1978)	47
Tableau 15	Résultats obtenus de la protéolyse par les deux méthodes	48
Tableau 16	Résultats de l'activité lipolytique des souches testées	50
Tableau 17	Variation de l'acidité en fonction du temps	52
Tableau 18	Evaluation du pH en fonction du temps	53

ملخص

تتواجد البكتيريا اللبنية في النظم الايكولوجية المختلفة حيث يمكن من خلالها السيطرة على تحول الاغذية و حفظ خصائصها الحيوية و الصحية ، و قد تم اختيار 181 سلالة بكتيرية لبنية لتحديد خصائصها المورفولوجية، البيو كيميائية و الفيزيائية ، و التي من خلالها أمكننا استنباط 8 أجناس منها *Aerococcus* التي تتمثل في 24% و التي تمثل الأغلبية في هذه السلالة، *Enterococcus* ممثلة ب 12 % ، *Lactobacillus* 8% ، *Pediococcus* 7 % ، *Streptococcus* 4 % ، *Lactococcus* 5 % ، *Leuconostoc* 2% ، نسبة 38 % تبقي غير معرفة.

ثم قمنا بمعاينة لدى 6 سلالات بكتيرية (3 *Lactobacilles* ، 2 *Enterocoques* ، 1 *Lactocoque*) (الصفات الصناعية مثل القدرة الحامضية ، القدرة على هدم البروتين وكذلك القدرة على هدم الدهون الصناعية مثل Tween 80 و الطبيعية مثل زيت الزيتون . استجابة هذه الخصائص كانت متفاوتة من سلالة الى أخرى ، ثم قمنا بعد ذلك باختبار نشاط القدرة المضادة لهذه البكتيريا ضد بكتريا *Escherichia Coli* ، S 1 ، S2 . البكتيريا اللبنية قد اظهرت تأثير مثبط على البكتيريا الضارة .

كلمات مفتاحية: بكتيريا لبنية، تحديد خصائص، هدم البروتين، هدم الدهون، بكتيريا ضارة.

Résumé

Les bactéries lactiques sont présentes dans différents écosystèmes où elles peuvent contrôler la transformation des aliments et la préservation de leurs qualités organoleptiques, et hygiéniques (ou bio-conservation). 181 souches lactiques ont été identifiées par détermination de leurs caractères morphologiques, biochimiques, et physiologiques qui nous ont permis de distinguer 8 genres. Les *Aerococcus* qui dominent cette flore ont représenté par 24%, les *Enterococcus* ont été aussi présentés par 12% des genres, *Lactobacillus* par 8%, *Pediococcus* 7%, *Streptococcus* 4%, *Lactococcus* 5% et *Leuconostoc* 2%. Pour 38% d'isolats l'identité reste indéterminée.

Nous avons ensuite examiné chez six souches (3 lactobacilles, 2 Entérocoques et 1 Lactocoque) les caractéristiques d'intérêt technologique comme le pouvoir acidifiant, l'activité protéolytique, ainsi que l'activité lipolytique. Ces caractéristiques ont été exprimées différemment d'une souche à une autre. Ensuite, nous avons testé ces souches pour leur pouvoir antagoniste à l'encontre d'*Escherichia coli*, *S1* et *S1*. Les souches lactiques ont montré un effet inhibiteur sur les bactéries pathogènes.

Mot clé : bactérie lactiques, identification, protéolyse, lipolyse, bactéries pathogènes, antagoniste

Summary

Lactic acid bacteria are present in different ecosystems where they can control the transformation of food and the preservation of their organoleptic, and hygienic qualities (or bio-conservation). 181 lactic strains have been identified by the determination of their morphological, biochemical, and physiological criteria, which permit us to distinguish 5 kinds. The Aerococcus which dominate these floras are represented by 24%, the Enterococcus have also been presented by 12% of types. Lactobacillus by 8%, Pediococcus 7%, Streptococcus 4%, Lactococcus 5% and Leuconostoc 2%. For 38% of isolate's identity stay undetermined. Afterwards, We have examined among six strains (3 Lactobacillus, Enterococci, and 1 lactococcus) the criteria of technological interest such as the acidifying power, proteolytic activity together with lipolytic activity. These criteria have been expressed differently from one strain to another. Then, we have tested these strains for their antagonist power against Escherichia coli, Salmonella Enteritidis and Shigella Sonnei. The lactic strains showed an inhibitory effect on the pathogenic bacteria.

Key words: Lactic acid bacteria, identification, proteolysis, lipolysis, pathogenic bacteria, antagonist.

Introduction générale

Le lait est un produit intégral de la traite totale et ininterrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie, il ne doit pas contenir de colostrum. Son origine doit être précisée si ce n'est pas du lait de vache, en fait, ce dernier est le plus connu et le plus étudié, il est considéré comme une référence. Le lait de brebis diffère du lait de vache et des autres laits, il a toujours été considéré comme un lait ayant des caractéristiques spécifiques et dans certains cas comme étant un produit plus noble que les autres laits (**Luquet, 1985**).

En effet, plusieurs produits laitiers sont obtenus par fermentation et cela par ensemencement du lait cru ou stérilisé par des bactéries lactiques qui sont capables de bioconvertir ses différents éléments en nouvelles molécules dotant le lait de nouvelles propriétés organoleptiques, hygiéniques et même sanitaires.

Les bactéries lactiques sont des microorganismes très répandues dans la nature, on les trouve dans le sol, sur les végétaux, elles jouent un rôle important dans notre santé car elles constituent une fonction majeure de notre flore intestinale et tapissent les muqueuses nasales, et buccales, contribuant ainsi à nous protéger contre l'invasion des germes pathogènes. Elles sont utilisées depuis des siècles pour fermenter les aliments et ont largement présentées un grand intérêt biotechnologique. Considérées comme inoffensives pour l'homme, leur usage est fréquent dans le monde entier pour fabriquer des produits laitiers fermentés (fromage, yaourt...). La production d'acide lactique est essentielle à la fermentation de ces produits et leur confère une saveur typique.

Les bactéries lactiques appartiennent à un groupe de bactéries bénéfiques, elles sont utilisées en tant que telles (biotechnologiques empiriques) ou sous forme de ferment. Elles réalisent dans les aliments une acidification, une production d'arômes, et une production d'enzymes permettant d'améliorer la digestibilité des aliments et enfin une inhibition des micro-organismes qu'ils soient pathogènes ou d'altération. Cette dernière activité est due à la production de substance antagoniste telle que les acides organiques (acétique et lactique), le peroxyde d'hydrogène, le diacétyl et les bactériocines. Actuellement, les scientifiques exploitent les interactions microbiennes des bactéries lactiques pour réduire d'une façon considérable la présence des micro-organismes indésirables et nuisibles.

Dans notre étude, Nous avons réalisé un essai de pré-identification de bactéries lactiques isolées, à partir de lait de brebis, pendant des travaux ultérieurs. Cette pré-

Introduction générale

identification a porté sur un aspect physiologique, physico-chimique et biochimique. Puis nous avons complété notre travail par l'étude de quelques caractères technologiques comme les activités protéolytique et lipolytique. Nous avons finalisé notre travail par l'étude de l'effet inhibiteur de nos isolats lactiques sur des bactéries pathogènes et/ou d'altération.

Le lait occupe une place stratégique dans l'alimentation quotidienne de l'homme, de par ses composants nobles et sa richesse en vitamines. De nos jours, les besoins en lait sont de plus en plus importants vu que ce produit peut être consommé à l'état frais, pasteurisé, stérile ou transformé en produits dérivés.

1. Etude bibliographiques

1.1. Définition légale du lait

Le lait destiné à la consommation humaine est décrit comme étant le produit intégral de la traite totale et ininterrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie, et non surmenée, il doit être recueilli proprement et ne pas contenir de colostrum (Selon le Congrès International de la répression des fraudes, 1909).

La dénomination « lait » est réservée exclusivement au produit de la sécrétion mammaire normale obtenue par une ou plusieurs traites sans aucune addition ou soustraction. (D'après le règlement C.E.E N° 1898/87 du conseil du 2 Juillet 1987).

L'origine du lait doit être précisée si ce n'est pas du lait de vache. Ce dernier est le plus connu et le plus étudié, pour cela il est considéré comme une référence à laquelle nous comparons, le plus souvent, les autres laits. Le lait de brebis diffère du lait de vache et des autres laits (vache, chèvre) les plus habituellement connus par sa richesse globale en composants fromagères. (Luquet, 1985).

1.2. Lait de brebis

1.2.1. Production du lait de brebis

- **Au monde**

Dans le monde, le nombre de brebis soumises à la traite est difficile à estimer mais doit se situer au environ de 250 millions d'animaux (Dockes, 2012). Selon la **FIL (fédération internationale de laiterie)**, la production laitière mondiale du lait en 2013 dépasse les 10 millions de tonnes et marque une légère hausse par rapport à l'année précédente. La Grèce, l'Espagne et l'Italie sont les plus grands producteurs.

- **Algérie**

La production laitière en Algérie a été estimée par la FAO à 320 millions de litre en 2011 (Anonyme 4, 2012), cette importante quantité classe notre pays au premier rang en Afrique du nord, en deuxième (après la Somalie) dans le nord-africain et en Onzième rang à l'échelle mondiale.

1.2.2. Caractères généraux du lait de brebis

D'après Luquet (1985), le lait de brebis se distingue du lait de vache et de chèvre par des caractéristiques physiques et chimiques :

Le lait de brebis, à l'observation visuelle, est d'une couleur blanc nacré ou porcelaine, il présente une opacité blanche plus marquée que celle des laits de vache et de chèvre. Sa viscosité est plus élevée que celle du lait de vache, cette caractéristique est liée à sa richesse protéique et lipidique.

C'est un lait particulièrement riche en composants fromagers. Pour des quantités identiques, la préparation du fromage est deux fois plus avec du lait de brebis qu'avec du lait de vache.

L'acidité fonctionnelle du lait de brebis, exprimée en degré Dornic, se situe dans une fourchette de 18 à 22 degrés. Le lait de brebis comporte une odeur sui generis, caractéristique de l'animal qui le produit, cette odeur, dite odeur de suint, est relativement faible pour un lait récolté dans de bonnes conditions.

Il comporte une résistance particulièrement élevée à la prolifération bactérienne. Le lait de brebis étant deux fois plus minéralisé que le lait de vache, son pouvoir tampon est nettement plus élevé. Cette caractéristique présente donc un avantage certain à sa conservation. Mais elle peut devenir un inconvénient si on doit traiter ce lait à l'état frais. Il offre alors une résistance plus marquée à la fermentation lactique.

A la coagulation, il donne un caillé très ferme, beaucoup plus ferme que ne laisse supposer le rapport entre richesses fromagères des laits de vache et de brebis (rapport moyen : 1/2).

Les produits fromagers issus du lait de brebis comportent certaines spécificités d'aspect et de goût. La pâte de ces fromages est en général plus blanche. On note, par ailleurs, une relative

absence de gout amer. On attribue cette particularité aux taux plus faibles des caséines par rapport aux protéines totales.

1.2.3. Composition du lait de brebis

1.2.3.1. Composition chimique et biochimique du lait de brebis

Plusieurs auteurs ont donné des tableaux de composition du lait de brebis. Le tableau ci-dessous est un récapitulatif extrait d'un document FIL établi par RAMOS (1980) (Luquet, 1985).

Références	M.G %	M.A.T %	Caséines %	Lactose %	Cendres %	M.S.T %
Shalichev et Tanev (1967) Bulgaria	7,14	6,40	-	4,39	0,96	18,89
Dilanian (1969) Arminia	6,04	5,35	4,12	4,51	0,96	16,93
Jeness et Sloan (1970) USA	7,4	5,5	-	4,8	1,0	19,3
Chernev et al. (1971) Bulgarie	8,41	6,08	-	-	-	-
Kataoka et Nakae (1971) Japan	5,97	5,62	-	-	-	-
Eliya et al. (1972) Irak	5,25	-	-	-	-	16,18
Martinez et castro (1972) Spain	7,43	5,46	-	4,69	0,91	18,85
Kirichenko et povop (1974) Kazakhistan	7,36	5,46	-	-	1,01	17,58
Dozet et al. (1974) Yugoslavie	6,11	5,25	-	-	0,97	17,58
Misic, Petrovic (1976) Yugoslavia	6,11	5,25	-	-	0,90	-
Mahieu et le jaouen (1976) France	7,51	6,00	4,86	-	-	19,31
O`connor et fox (1977) Irland	-	6,14	4,41	-	-	-

Tableau 01 : Composition du lait de brebis (Luquet, 1985)

Le lait de brebis se singularise par des teneurs en lipides et protides en moyen deux fois plus élevées que celles rencontrées dans les laits des autres espèces laitières (humain, bovine, caprine, camelin..), lui conférant ainsi une très bonne valeur nutritionnelle. La composition du lait de brebis diffère d'un pays à un autre, cette différence est influencée d'ailleurs par la race, l'alimentation, l'exploitation et les conditions climatiques, elle est aussi différente d'un troupeau à l'autre et d'une période de lactation à l'autre.

En plus, la valeur nutritionnelle du lait de brebis est considérée comme la plus élevée par rapport aux autres laits. Il a été considéré comme un lait ayant des caractéristiques spécifiques le situant comme étant un produit noble par rapport aux autres laits. (Haenlein *et al*, 2007). Le tableau 2 montre bien que le lait de brebis est très particulier dans sa composition par rapport aux autres laits.

Composition	Brebis	Chèvre	Vache	Humain
Gras (%)	7,9	3,8	3,6	4,0
Extrait sec non gras (%)	12,0	8,9	9,0	8,9
Lactose	4,9	4,1	4,7	6,9
Protéines	6,2	3,4	3,2	1,2
Caséines	4,2	2,4	2,6	0,4
Albumine, globuline (%)	1,0	0,6	0,6	0,7
Azote non protéique (%)	0,8	0,4	0,2	0,5
Cendre	0,9	0,8	0,7	0,3
Calories/100 ml	105	70	69	68

Tableau 02 : Composition moyenne des constituants de base des différents laits (Haenlein et al, 2007).

- **Protéines**

Les protéines du lait sont des constituants essentiels et vitaux en raison de leur grande valeur nutritionnelle, de leurs propriétés biologiques et de leurs qualités techno fonctionnelles recherchées (Barlowska et al, 2011).

La teneur moyenne en protéines du lait de brebis est de (5,8 %), cette valeur varie selon l'espèce. Le lait de brebis contient environ 0,4% - 0,8 % N (Haenlein et al, 2007). La proportion des caséines du lait de brebis se situe entre 76 % à 83 % des protéines totales, il s'agit donc d'un facteur de référence analytique particulièrement représentatif de la valeur fromagère du lait de brebis. Les caséines (α 1- CN- α 2- CN, β - CN et κ -CN) sont les protéines majoritaires du lait de brebis. (Luquet, 1985 ; Haenlein et al, 2007).

- **Glucides**

Le principal glucide dans le lait de brebis est le lactose, il est synthétisé à partir du glucose dans la glande mammaire. Le lactose est un nutriment précieux car il favorise l'absorption intestinale du calcium, du magnésium et du phosphore et l'utilisation de la vitamine D, c'est un disaccharide constitué d'un glucose et d'une molécule de galactose (Haenlein et al, 2007). Le lactose n'a qu'une valeur alimentaire et technologique relative, il n'est donc pas gênant. Dans la pratique de la fromagerie, on se rend compte que le taux de lactose disponible dans le lait de brebis est suffisant pour assurer les fermentations lactiques (Luquet, 1985).

- **Lipide**

Le lait de brebis est réputé pour sa richesse en matière grasse. Cette dernière varie largement en fonction de plusieurs facteurs. Certains sont liés à l'alimentation (qualités et quantités de l'aliment), d'autres sont d'ordre non nutritionnel (génétiques, stade de lactation, saison) (Gargouri, 2005). La composition lipidique du lait de brebis présente des lipides simples, des lipides complexes et des composants liposolubles. Les triglycérides constituent la majeure partie lipidique (près de 98%) (Haenlein, 2007).

- **Minéraux et vitamines**

Selon Luquet (1985), la composition en vitamines du lait de brebis a été assez peu étudiée. Le tableau 3 rassemble les différents minéraux et vitamines du lait de brebis en comparaison avec d'autres laits (de chèvre, de vache et humain).

Constituants	Chèvre	Brebis	Vache	Humain
Minéraux				
Ca (mg)	134	193	122	33
P (mg)	121	158	119	43
Mg (mg)	16	18	12	4
K (mg)	181	136	152	55
Na (mg)	41	44	58	15
Cl (mg)	150	160	100	60
S (mg)	28	29	32	14
Fe (mg)	0,07	0,08	0,08	0,20
Cu (mg)	0,05	0,04	0,06	0,06
Mn (mg)	0,032	0,007	0,02	0,07
Zn (mg)	0,56	0,57	0,53	0,38
I (mg)	0,022	0,020	0,021	0,007
Se (µg)	1,33	1,00	0,96	1,52
Al (mg)	n.a	0,05-0,18	n.a	0,06

Vitamines				
Vitamine A(IU)	185	146	126	190
Vitamine D (IU)	2,3	0,18ug	2,0	1,4
Thiamine (mg)	0,068	0,08	0,045	0,017
Riboflavine (mg)	0,21	0,376	0,16	0,02
Niacine (mg)	0,27	0,416	0,08	0,17
Acide pantothénique (mg)	0,31	0,408	0,32	0,20
Vitamine B ₆ (mg)	0,046	0,08	0,042	0,011
Acide Folique (µg)	1,0	5,0	5,0	5,5
Biotine (µg)	1,5	0,93	2,0	0,4
Vitamine B ₁₂ (µg)	0,065	0,712	0,357	0,03
Vitamine C (mg)	1,29	4,16	0,94	5,00

Tableau 03 : Comparaison des vitamines et les minéraux du lait de brebis avec d'autres laits (Haeinlein, 2007)

1.2.3.2. propriétés physiques du lait de brebis

- **Le potentiel d'hydrogène**

Le pH global d'un lait frais varie d'une espèce à l'autre, pour le lait de brebis, le pH moyen se situe autour de 6,65 (Assenat, 1985). La mesure du pH renseigne beaucoup plus sur la stabilité du lait et celle de ses micelles (Mtheieux, 1998). Sur le plan hygiénique, le pH est considéré comme indicateur de la qualité du lait. (Pirisi et *al* 2007).

- **Point de congélation**

Le point de congélation est le paramètre le plus constant, il est utilisé pour détecter un éventuel mouillage du lait. Sa valeur moyenne est estimée pour le lait de brebis à - 0,57°C (Anonyme 7, 1998).

- **La densité**

La densité moyenne du lait de brebis à la température de 20 °C se situe à 1,036 (Assenat, 1985). Elle dépend étroitement de sa composition, particulièrement de sa richesse en matière sèche dégraissée. (Croguenne et *al*, 2008).

1.2.4. Produits laitiers dérivés du lait de brebis

Le lait de brebis est destiné pour une grande part à la fabrication des fromages typiques à longue conservation, de très bonne qualité et à grande réputation (Casu et Boyazooglu, 1990). Le tableau 4 illustre les pays les plus réputés dans la fabrication du fromage.

Pays	Fromages
France	Roquefort, abbaye de Belloc, Perail, Brocciu, Ossa-Iraty
Italie	Canestratopugliese, Fiore Sardo, Pecorino Romano
Angleterre	Friesla, Olde york
Espagne	Castellano, Idiazabal, Manchegoroncal, zamorano,
Libye	Al Zahra, jibnetgrus, al nassem

Tableau 4 : Pays d'origine de fabrication du fromage du lait de brebis

En dehors de la transformation fromagère et notamment dans le bassin méditerranéen, le lait de brebis est parfois consommé dans son état ou transformé soit en yaourt ou encore en beurre et crème traditionnelle, sinon il est destiné à la transformation industrielle. (Pandya et ghodke, 2007).

Décrites pour la première fois par Orla-Jensen au début du XXe siècle, les bactéries lactiques constituent un groupe hétérogène, qui n'est pas clairement défini du point de vue taxonomique. Elles rassemblent en effet un certain nombre de genres qui se caractérisent par la production, liée à un métabolisme exclusivement fermentaire.

1. Partie bibliographiques

1.2. Les bactéries lactiques

1.2.1. Définitions et caractéristiques principales

Les bactéries lactiques appelées aussi bactéries de l'acide lactique (BAL) constituent un groupe très hétérogène de micro-organismes partageant divers aspects morphologiques, métaboliques et physiologiques et dont la caractéristique fondamentale est la production de quantités appréciables d'acide lactique comme produit principal de leur métabolisme fermentaire (Marshall et Law, 1984 ;Axelsson, 1993).

Les BAL sont des cellules procaryotes, hétérotrophes et chimio-organotrophes. Elles sont Gram positives, généralement immobiles, asporulées, anaérobies mais aérotoles (microaérophiles). Elles sont dépourvues de nombreuses activités enzymatiques comme la catalase, la nitrate réductase et la cytochrome oxydase, aussi elles ne produisent pas d'indole ni acide sulfhydrique et certaines espèces hydrolysent la caséine. En raison de leur faible capacité biosynthétique, ces bactéries ont des exigences nutritionnelles complexes pour les acides aminés, les peptides, les vitamines, les sels, les acides gras et les glucides fermentescibles (Dellaglio et *al*, 1994).

1.2.2. Origine Habitat

Grace à leur souplesse d'adaptation physiologique, les bactéries lactiques peuvent coloniser des milieux très différents du point de vue physico-chimique et biologique. Dans différents écosystèmes, les BAL sont capables d'exercer des effets bénéfiques ou, plus rarement, d'engendrer des altérations biologiques.

La source originale des bactéries lactiques est constituée par les plantes vertes, et suite à des processus d'évolution et d'adaptation, ces bactéries ont colonisé d'autres environnements et se trouvent ainsi dans divers habitats, tant que ceux-ci réunissent les conditions adéquates pour satisfaire leurs besoins nutritifs (Fenton, 1987 ; Kelly et *al*, 1998 ; Carr et *al*, 2002). Pour cela, le lait, auquel les BAL peuvent accéder à travers le corps de l'animal, les excréments ou les végétaux, est devenu un habitat caractéristique des bactéries lactiques, et ainsi elles se trouvent associées à divers produits laitiers fermentés. (Dellaglio et *al*, 1994).

1.2.3. Taxonomie et classification

Depuis la description du *Bacterium lactis* (actuellement *Lactococcus lactis*), la taxonomie des bactéries lactiques est en évolution permanente. Le nombre de nouvelles espèces a augmenté énormément au cours de ces dix dernières années. Les réorganisations effectuées ont contribué à fusionner des espèces en une seule, ou identifier une espèce comme un nouveau genre (Pot, 2008).

La classification des bactéries lactiques peut se faire selon des critères phylogénétiques par l'utilisation des méthodes moléculaires. Cependant, la caractérisation phénotypique /biochimique classique demeure pratique dans l'identification préliminaire des microorganismes. Certaines caractéristiques phénotypiques sont utilisées pour identifier les espèces à l'intérieur des genres comme la capacité à : fermenter les hydrates de carbone, tolérer différentes concentrations en bile, produire des polysaccharides extracellulaires, exiger des facteurs de croissance, produire de l'acétoïne et synthétiser certaines enzymes. La composition en G+C de l'ADN, la composition en acides gras, la mobilité électrophorétique de la lactate déshydrogénase sont également d'autres critères qui peuvent être étudiés pour l'identification des espèces lactiques (Vandamme, 1996 ; Stiles et Holzopfel, 1997 ; Ho et al, 2007) (figure 1)

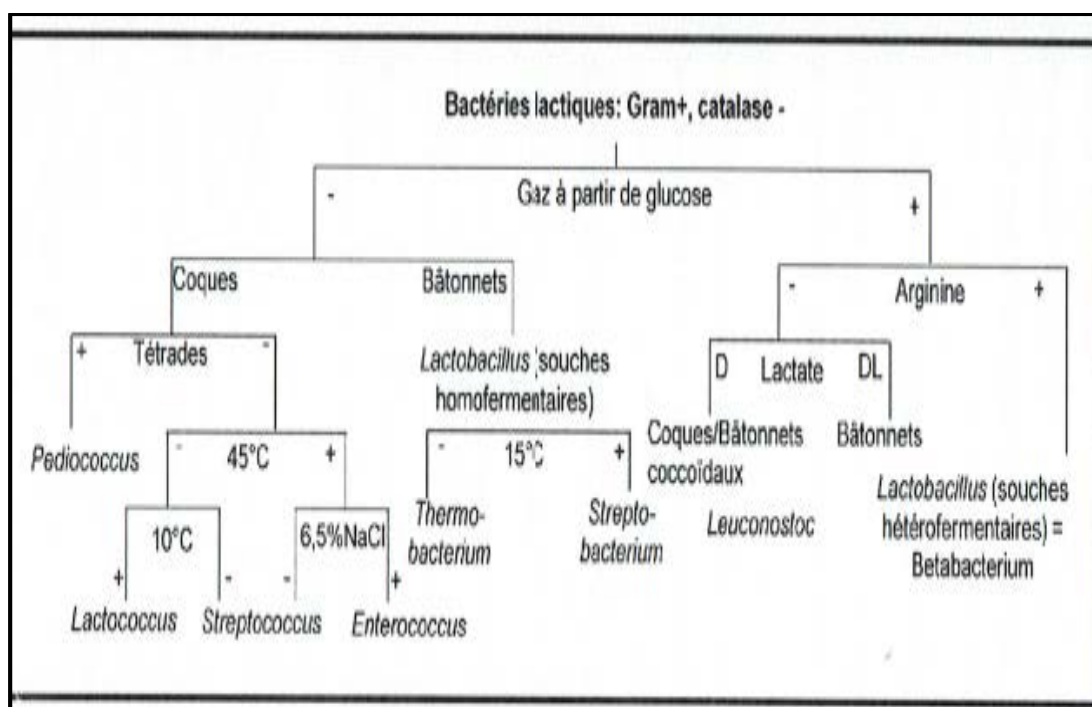


Figure 1 : Schéma de différenciation des principaux genres de bactéries lactiques (d'après Carr et al., 2002)

La morphologie est considérée comme la caractéristique clé pour décrire et classier les genres des bactéries lactiques. De ce fait, les bactéries lactiques peuvent être divisées arbitrairement en bacilles (*Lactobacillus* et *Carnobacterium*) et coques (tous les autres genres). Le genre *Weissella*, récemment décrit, est le seul genre qui comporte à la fois des bacilles et des coques (Collins et al, 1993 ; Ho et al., 2007).

A ce groupe de bactéries lactiques, appartient plusieurs genres comme *Aerococcus*, *Atopobium*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus* et *Weissella*. (Stiles et Holzapfel, 1997 ; Pot, 2008). Des genres nouveaux, par exemple *Alloiococcus*, *Dolosicoccus*, *Dolosigranulum*, *Eremococcus*, *Facklamia*, *Globicatella*, *Helococcus*, *Ignavigranum* et *Lactosphaera*, ont également été décrits, comportant des souches qui montrent des liens physiologiques et phylogénétiques avec les groupe des bactéries lactiques (Broadbent, 2001 ; Axelsson, 2004).

1.2.3.1. Le genre *Lactobacillus*

Lactobacillus est le genre principal de la famille des *Lactobacillaceae*, il contient de nombreuses espèces qui sont des agents de fermentation lactique intervenant dans de nombreuses industries ou qui sont rencontrées comme contaminants. Il s'agit de bacilles longs et fins (parfois incurvés) souvent groupés en chaînes, immobiles, sporulés, catalase négative, se développant à un optimum de température situé entre 30 et 40°C. Les lactobacilles ont des exigences nutritionnelles très complexes en acides aminés, en vitamines, en acides gras, en nucléotides, en glucides et en minéraux (Khalid et Marth, 1990 ; Leclerc et al., 1994).

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

:

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

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

Groupe III « *Betabacterium* » : ce sont des lactobacilles hétérofermentaires. Il comporte les espèces *Lb. fermentum*, *Lb. brevis* et *Lb. sanfransisco*

1.2.3.2. Genre Entérocoques

Ce genre regroupe des coques à Gram-positif ayant un faible contenu en G+C (< 50%), exempts de l'enzyme catalase, les cellules sont disposées en paires ou en chaînes courtes. Ils sont anaérobies facultatifs, chimio-organotrophes, ont un métabolisme exclusivement fermentaire. Pendant la croissance, les Entérocoques produisent l'acide lactique comme métabolite final (homofermentaire) et de très petites quantités d'acide acétique, d'acide formique et d'éthanol, mais sans production de gaz. Les Entérocoques jusqu'à une date récente, étaient classés dans le genre *Streptococcus*. La création de ce genre fut proposée par Thiercelin et Jouhaud en 1903 (Klein, 2003).

Bien que la classification des entérocoques, en suivant les schémas de la taxonomie classique, serait vague, puisqu'elle ne présente pas de caractéristiques phénotypiques évidentes permettant de les distinguer d'autres coques Gram-positifs exempts de catalase (Devriese et al., 1993), la majorité, des Entérocoques sont cependant facilement différenciables par leurs capacités de croître à 10 et à 45 °C, en présence de 6,5% de NaCl, à pH 9,6 et en présence de 40% de bile, 0,04% d'acide de sodium ou dans du lait avec 0,1% de bleu de méthylène, en plus de la survie au chauffage à 60°C pendant 30 minutes (Hardie et Whiley, 1997 ; Morrison et al., 1997). Généralement les Entérocoques sont différenciés par la fermentation de l'arabinose et le sorbitol (Tamime, 2002 ; Ho et al., 2007).

Diverses souches d'entérocoques sont employées comme probiotiques et beaucoup d'autres encore sont impliquées dans des fermentations naturelles, dans les produits laitiers, en particulier des fromages.

1.2.3.3. Genre Leuconostoc

Leuconostoc fut décrit pour la première fois en 1878 (Hucker et Pederson, 1957). Les cellules de Leuconostoc sont des coques en paires ou en chaînes comme les entérocoques mais cette bactérie est hétérofermentaire produisant de l'acide lactique, de l'éthanol et du CO₂. Les Leuconostocs sont mésophiles (optimum : 20-30°C) et sont caractérisés par la production, à partir du citrate du lait, de diacétyle et parfois aussi (cas de *Leuc. mesenteroïdes* ssp. *Cremoris*) d'acétate. Une autre caractéristique de certaines espèces de ce genre est l'hydrolyse de

l'esculine et la production de dextrans et de levanes extracellulaires en présence de saccharose (Novel, 1993).

Le développement des *Leuconostocs* entraîne souvent l'apparition d'une viscosité dans le milieu grâce à la production des exopolysaccharides. Les *Leuconostocs* principalement *Ln. mesenteroïdes ssp. cremoris* et *Ln. lactis* sont utilisés en association avec les Lactocoques dans l'industrie laitière pour produire en plus de l'acide lactique et le CO₂, des substances aromatiques telles que le diacétyle et l'acétoïne à partir des citrates du lait (Hassan et Frank, 2001 ; Guiraud, 2003 ; Ogier et al, 2008).

1.2.4.. Métabolisme des bactéries lactiques

1.2.4.1. Principales voies fermentaires des bactéries lactiques

La fermentation des sucres par les bactéries lactiques aboutie principalement à la production d'ATP et d'acide lactique. En technologie laitier la principale fonction des bactéries lactiques est de transformer le lactose du lait en acide lactique qui intervient à différents stades des fabrications laitières (participe à la coagulation du lait, provoque la déminéralisation et l'égouttage du caillé et agit sur le goût et sur la conservation des produits laitiers fermentés) (luquet, 1986).

Toute croissance nécessite la production d'énergie et les bactéries lactiques ne font pas exception à la règle. Hétérotrophes, elles tirent leur énergie de la fermentation de substrats carbonés. Les carbohydrates fermentés en acide lactique par les bactéries lactiques peuvent être des monosaccharides tels que des hexoses (glucose, galactose), des pentoses (xylose, ribose, arabinose), hexitols et pentitols (mannitol, sorbitol, xylitol) ou des disaccarides (lactose, saccharose, cellobiose, tréhalose). La fermentation des sucres s'effectue essentiellement en trois étapes (luquet, 1986):

- le transport du sucre à travers la membrane cellulaire ;
- le catabolisme du lactose selon une voie homofermentaire donnant lieu à l'acide lactique comme unique produit de dégradation du glucose ;
- formation et expulsion extracellulaire des métabolites terminaux.

Selon les genres ou espèces, les bactéries lactiques utilisent principalement l'une des deux voies majeures du métabolisme des sucres (figure 02). Il s'agit des voies homofermentaires et hétérofermentaires (voie des pentoses-phosphate).

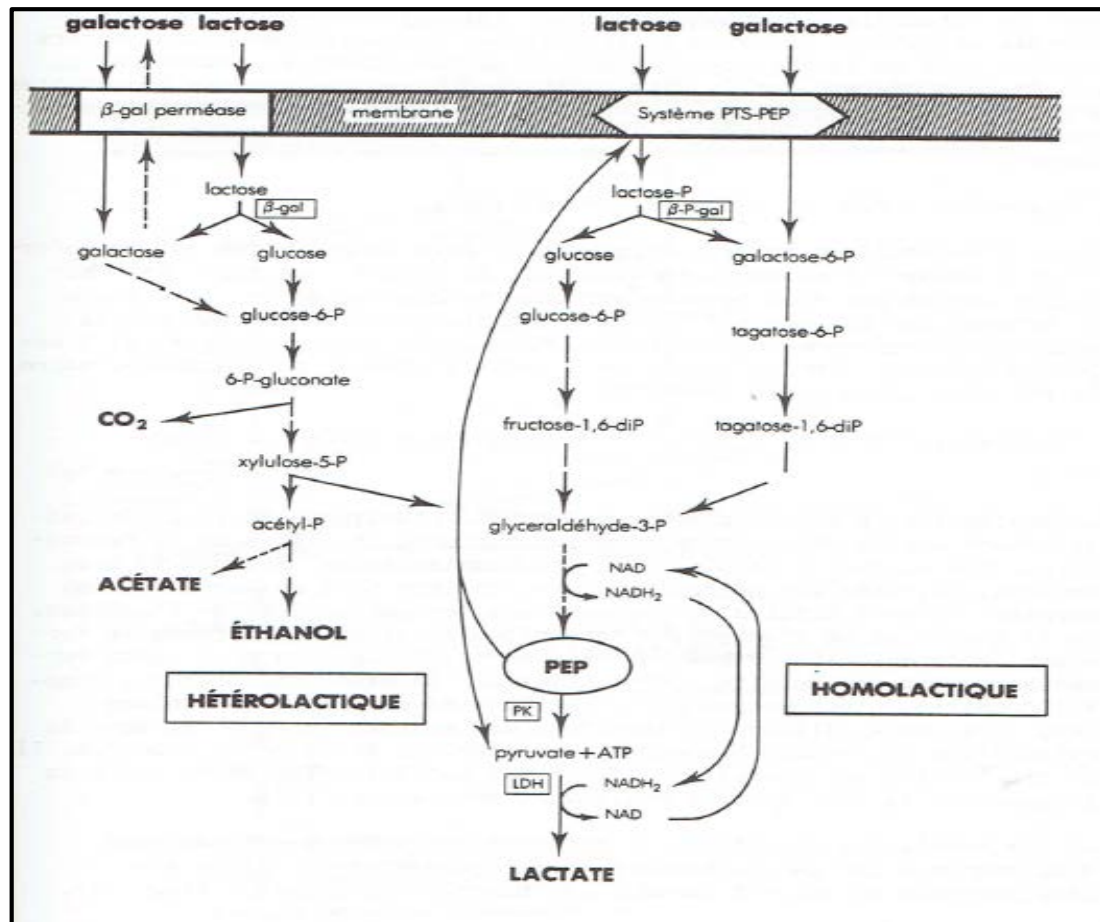


Figure 2 : Métabolisme des voies homolactique et hétérolactique

- **Voie homofermentaire ou EMP**

Les bactéries lactiques homofermentaires comprennent les espèces de Lactocoques, Pediocoques, ainsi que certains Lactobacilles. Cette voie conduit dans des conditions optimales de croissance à la production de deux molécules de lactate et deux molécules d'ATP par molécule de glucose consommée. (Thompson et Gentry-Weeks, 1994).

- **Voie hétérofermentaire ou voie des pentoses phosphate**

Les bactéries lactiques qui fermentent le glucose en produisant, en plus de l'acide lactique, de l'acétate, de l'éthanol et du CO₂ sont dites hétérofermentaires. Les groupes principaux de bactéries présentant ce type de métabolisme sont les Leuconostocs et certains Lactobacilles. (Thompson et Gentry Weeks, 1994).

1.2.4.2. Métabolisme du citrate

La concentration du citrate dans le lait est faible (environ 1,7 mg/ml) comparativement au lactose environ (49mg/ml). Mais il constitue une substance clef dans l'élaboration des produits laitiers fermentés. C'est la formation de diacétyl qui est responsable de l'arôme de beurre, de l'ouverture des fromages affinés. Les produits du métabolisme du citrate agissent aussi comme inhibiteurs de la croissance des contaminants du lait (Luquet, 1986).

1.2.4.3. Ingénierie de la protéolyse

Les études menées jusqu'à présent concernant l'ingénierie de la protéolyse chez les bactéries lactiques l'ont été dans le but, d'une part, de mieux comprendre la spécificité d'hydrolyse des peptidases et protéases et d'autre part, de moduler la protéolyse dans les produits laitiers. La protéolyse peut être modifiée dans les produits laitiers afin d'accélérer l'affinage des fromages et/ou d'en intensifier ou en modifier la saveur, mais également d'orienter la protéolyse dans des laits fermentés vers la production de peptides à activité biologique.

Durant les procédés de fabrication des produits laitiers fermentés, les bactéries lactiques en culture sont soumises à des variations diverses de leur environnement. Ces variations concernent tant les propriétés nutritionnelles (composition, richesse, carence) que les paramètres physiques et chimiques du milieu (température, salinité, pH, osmolarité et oxygénation). Pour se développer, les bactéries doivent donc être capables de s'adapter aux changements en ajustant leur métabolisme aux nouvelles conditions environnementales. Le lait est un milieu pauvre en acides aminés libres et riche en protéines, les caséines. Or, les bactéries lactiques sont auxotrophes pour de nombreux acides aminés. La croissance en milieu lait de ces bactéries est alors conditionnée par leur capacité à utiliser les caséines comme source d'acides aminés essentiels. Le système protéolytique en dégradant les caséines assure cette fonction. Les enzymes protéolytiques interviennent également dans des processus cellulaires cruciaux tels que le renouvellement des protéines et la dégradation des protéines non fonctionnelles ou de régulateurs. Ajuster un tel métabolisme en fonction des conditions du milieu apparaît indispensable pour une croissance optimale de la cellule (Corrieu et François, 2008).

Le métabolisme protéolytique a été principalement étudié chez *Lactococcus lactis*, espèce bactérienne considérée comme le modèle d'études des bactéries lactiques. Ces études

ont permis la caractérisation de ce système sur le plan biochimique qui est à l'origine de la mise en évidence du rôle crucial de ce processus lors de la croissance en lait, des Lactocoques. Un modèle en trois étapes de dégradation des caséines par le système protéolytique de *Lactococcus lactis* a été proposé par Kunji et al, 1996.

1.2.4.4. Ingénierie de la lipolyse

Les bactéries lactiques sont considérées comme faiblement lipolytiques. Cependant leur présence dans les fromages a des concentrations élevées pendant des périodes plus au moins importantes, peut les amener à libérer des quantités non négligeable d'acides gras libres (karam et al, 2012).

L'hydrolyse des triglycérides est la transformation biochimique principale du gras fromager pendant la maturation et conduit à la formation des acides gras libres, mono et diglycérides et probablement du glycérol (Siegumfeldt et al, 2000). Les lipases bactériennes catalysent en partie la production des acides gras a longues chaines à partir des mono et diglycerides, alors que les esters permettent la libération des acides gras volatils. Les acides gras, dont la concentration augmente pendant l'affinage, seraient responsable en partie de la flaveur typiques des fromages à pates pressées cuites.

L'augmentation de la concentration et de la disponibilité des substrats des estérases (alcool et acides gras) a permis d'améliorer la synthèse d'esters par plusieurs bactéries lactiques dans un système fromager modèle (Fenster, 2003; Holland et al, 2005). Ceci souligne l'importance des voies métaboliques conduisant à la production d'alcools et d'acides gras qui méritent elles aussi d'être optimisées.

1.2.5. Propriétés technologique des bactéries lactiques

1.2.5.1. Aptitude acidifiante

Vu l'importance de la fonction acidifiante chez les bactéries lactiques. La détermination de l'acidité en terme d'activité d'acidifiante occupe une place centrale. Plusieurs méthodes sont disponibles pour traduire l'activité acidifiante des bactéries lactiques. On distingue trois types principaux (Corrieu et François, 2008).

- Les méthodes ponctuelles statique, généralement simple et peu couteuse, qui reflète un niveau d'acidité à l' instant de la mesure (ou de l'échantillonnage) ;
- Les méthodes dynamiques qui permettre le suivi en temps réels du phénomène ;

- Les méthodes indirectes qui utilisent des mesures pouvant être reliées plus ou moins aisément à l'activité acidifiante.

La fonction acidifiante constitue la propriété métabolique la plus recherchée chez les bactéries lactiques utilisées dans les industries alimentaires. Elle se manifeste par la production de l'acide lactique à partir de la fermentation des hydrates de carbone au cours de la croissance bactérienne.

Les conséquences, d'ordre physico-chimique et microbiologique, peuvent se résumer ainsi par (Corrieu et François, 2008) :

- Accumulation d'acide lactique participant à la saveur des aliments fermentés ;
- Abaissement progressif du pH des milieux de culture et des matrices alimentaires ;
- Limitation des risques de développement des flores pathogènes et d'altération dans les produits finaux.
- Déstabilisation des micelles de caséines, coagulation des laits et participation à la synérèse. Pour un ferment donné, il s'agit de permettre une vitesse d'acidification élevée et/ou d'atteindre un niveau d'acidité finale prédéfinie. Le niveau d'acidité dépend des spécifications du produit, lesquelles vont conditionner le choix des souches.

1.2.5.2. Aptitude aromatisante

Les bactéries lactiques sont capables de produire de nombreux composés aromatiques (tels que : l' α -acétolactate, l'acétaldéhyde, le diacétyl, l'acétoïne et 2,3-butanediol, l'éthanol, l'acétate, le formiate, ...etc.) principalement à partir du lactose, du citrate, des acides aminés et des matières grasses. Cette fonctionnalité est particulièrement importante lors de l'élaboration des laits fermentés, des fromages frais, crèmes et beurre, dont l'arôme principal est lié à cette activité microbienne (Bourgeois et Larpent, 1996 ; Gerrit et al., 2005 ; Cholet, 2006)

1.2.5.3. Aptitude texturante

La capacité des bactéries lactiques à synthétiser des exopolysaccharides (EPS) joue un rôle important pour la consistance et la rhéologie des produits transformés. Les *Lb. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus* produisant des EPS sont utilisés dans la fabrication des yaourts, ceci afin d'améliorer la texture, éviter la synérèse et augmenter la viscosité des produits finis. L'utilisation des EPS produits par les souches *Lc. lactis* ssp.

cremoris est très prometteuse pour la structure et la viscosité des produits laitiers fermentés (Leroy et De Vuyst, 2004 ; Ho et al, 2007)

1.2.6. Importance industrielle des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques spécialement le genre *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Lleuconostoc*, *Pediococcus* et *streptococcus*, sont les composants fondamentaux des cultures initiatrices (starter) utilisées dans l'industrie alimentaires, cependant il existe d'autres champs d'application de ces microorganismes (Achemchem, 2014) (figure 3).

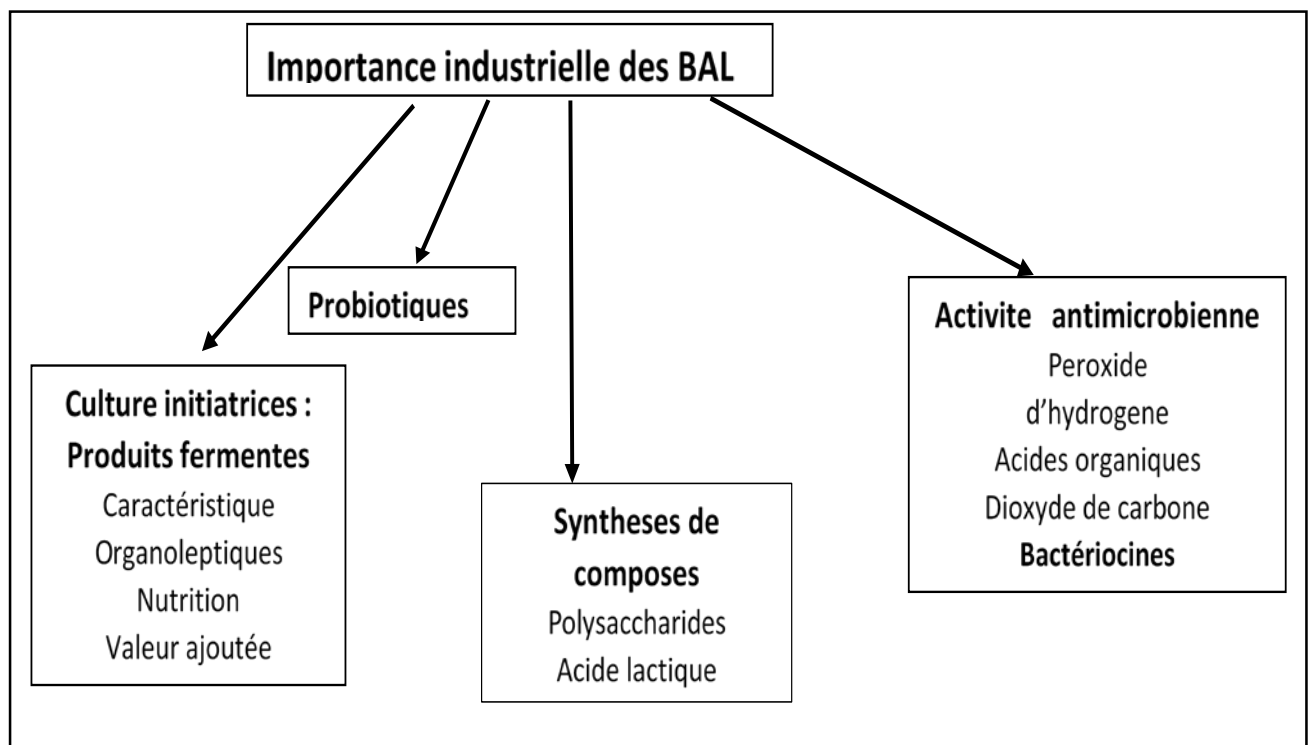


Figure 3: Applications industrielles des bactéries lactiques.

1.3. Interactions métaboliques

Lors de l'élaboration des produits issus de fermentations lactiques, quelle que soit l'application industrielle considérée, interviennent systématiquement deux ou plusieurs micro-organismes simultanément : il s'agit donc de cultures mixtes. Ces micro-organismes sont soit des bactéries lactiques (cas, par exemple, de la plupart des laits fermentés), soit d'autres bactéries, ou même des levures et des moisissures (par exemples dans les fromages). Ces cultures mixtes sont composées de la flore indigène du produit qu'elles transforment, dans le cas des fromages au lait cru, ou bien d'un mélange connu de souches bien déterminées ajoutées au lait, pour les fromagers issus de lait traité thermiquement.

Il convient donc de considérer les produit fermentés par fermentation lactique comme des écosystèmes, plus au moins complexes et plus ou moins bien maîtrisés, selon l'application considérée. Au sein de ces écosystèmes, la notion d'équilibre des populations est prépondérante. Il est possible de moduler à la fois le nombre d'espèces ou de souches de micro-organismes mises en œuvre, ainsi que le rapport entre les populations de ces souches, pour obtenir, au final, des produit d'une grande diversité, notamment en ce qui concerne les arômes et la texture. Le choix des souches et des associations doit tenir compte des propriétés de chaque souche mais aussi des capacités de chacune à interagir avec les autres, ce qui nécessite une bonne connaissance des interactions métaboliques.

1.3.1 Classification des interactions

Les interactions constituent un ensemble complexe de phénomènes biologiques hétérogènes dont la classification s'avère nécessaire. Leurs effets ont été observés bien avant que leurs mécanismes aient pu être expliqués.

Fredrickson, 1977 a classé les interactions selon deux approches :

- L'approche phénoménologique est fondée sur les effets observés : ceux-ci peuvent être positifs (favorable au micro-organisme), soit négatifs (défavorables au microorganisme).
- L'approche mécanistique fait appel à la connaissance des mécanismes biologiques et les regroupe en interactions directes (nécessitent un contact physique entre les bactéries) et indirectes (par l'intermédiaire d'une substance produite ou consommée par un des micro-organismes).

Lorsqu'un phénomène d'interaction se déroule entre deux ou plusieurs microorganismes, les cinétiques de croissance et de production, ainsi que les caractéristiques finales des produits peuvent être modifiées. Chez les bactéries lactiques, une interaction indirecte positive peut se traduire par une stimulation de la croissance et de l'activité métabolique, mais aussi de la production d'acide lactique ou de certaines molécules (composés d'arômes ou exopolysaccharides).

Chez les bactéries lactiques, se sont principalement des interactions indirectes, positives ou négatives qui ont été décrites jusqu'à présent (Corrieu et Froncoit, 2008). La notion de compétition décrit une interaction indirecte qui exerce un effet négatif sur les deux populations. Ce phénomène se déroule lorsque les deux micro-organismes utilisent une même substance qui disparaît donc plus rapidement du milieu de culture.

- L'amensalisme traduit une inhibition exercée par l'une des deux populations sur l'autre, par l'intermédiaire d'une substance non spécifique. C'est par exemple le cas de l'acide lactique chez les bactéries lactiques.
- Le terme antagonisme désigne une lutte réciproque des deux populations par la production de molécules inhibitrices, généralement spécifiques. Cela concerne principalement la production de bactériocines.
- Le commensalisme s'exprime par la stimulation d'un micro-organisme par l'autre. Les mécanismes révèlent soit de la production de substances nécessaires à la croissance de la population commensale, soit de la dégradation ou de l'utilisation de substances inhibitrices pour ces populations.
- Les notions de mutualisme et de proto-coopération sont utilisées pour définir les interactions indirectes qui ont un effet positif sur les deux populations, soit simultanément, soit successivement. Le mutualisme traduit la nécessité de cette interaction pour la croissance des populations alors que dans le cas de la proto-coopération, les partenaires peuvent se développer l'un sans l'autre.
- Enfin, le neutralisme est un phénomène au cours duquel les micro-organismes n'interagissent pas entre eux.

Les interactions indirectes faisant intervenir des composants présents dans les milieux de culture (substrats ou produits du métabolisme). Leur compréhension nécessite une bonne connaissance des phénomènes métaboliques qui interviennent lors de la croissance des bactéries. Chez les bactéries lactiques, la connaissance de ces phénomènes reste encore

fragmentaire. Seuls quelques modèles d'interactions, comme par exemple celui du yaourt, sont déjà bien documentés.

1.3.2. Les agents inhibiteurs produits par les bactéries lactiques

La production des antimicrobiens par les bactéries lactiques, est connue depuis longtemps. Les acides organiques, le peroxyde d'hydrogène et d'autres molécules antimicrobiennes sont les principaux agents inhibiteurs produits par ces microorganismes. Ces agents inhibiteurs diffèrent par leur cible mais aussi par leur nature et leur structure.

1.3.2.1. Les acides organiques

Ils sont produits par catabolisme des sources de carbone. L'acide lactique est le seul acide issu de la glycolyse par la voie homofermentaire, alors que la voie hétérofermentaire génère en plus de l'acide lactique, de l'acide acétique, ces acides traversent la membrane cytoplasmique et diminuent le pH du milieu intracellulaire, ce qui provoque l'inhibition des fonctions cellulaires. Plusieurs microorganismes d'altération des aliments sont connus pour leurs sensibilités au changement de pH intracellulaire. De plus, les bactéries lactiques semblent être compétitives en conditions acides, causant l'inhibition d'autres bactéries (Klaenhammer *et al.*, 1994). Cependant, si l'acidité du milieu dépasse les seuils acceptés par la souche, des cas d'auto-inhibitions peuvent être observés, en effet au cours de la fermentation d'une bactérie lactique, l'administration de glucose continue et provoque la production des acides organiques, par conséquent, une diminution progressive du pH du milieu et si celui-ci n'est pas contrôlé, la bactérie peut s'auto-inhiber (Grattepanche, 2005).

1.3.2.2. Le peroxyde d'hydrogène

Les bactéries lactiques ne possèdent pas généralement de catalase. L'accumulation de peroxyde d'hydrogène par l'action des oxydases, est une cause de l'activité antimicrobienne, en particulier des lactobacilles. Le H₂O₂ peut être auto-inhibiteur dans le cas, où l'activité peroxydasique n'est pas importante. (Price et Lee, 1970).

1.3.2.3. La production de bactériocine :

Klaenhammer (1988), suggère que 99% des bactéries peuvent produire au moins une bactériocine. Pour des raisons de sécurité alimentaire, plusieurs bactéries n'ont pas fait l'objet d'étude, pour la production de bactériocines.

Les bactériocines des bactéries lactiques sont les plus abordées dans la recherche. Ces substances protéiques, sont des toxines à spectre d'action moins large. (Riley et Wertz, 2002). Ces molécules constituent la deuxième cause de l'effet inhibiteur des bactéries lactiques, après celle causée par les acides organiques.

2.1. Lieu de travail

Les travaux présentés dans cette étude ont été effectués au niveau du laboratoire des Sciences et Technologie de Production Animal (LSTPA) de l'université Abd Elhamid Ibn Badis de Mostaganem.

2.2. Matériel biologique

2.2.1. Souches bactériennes

2.2.1.1. Bactéries lactiques

Les souches lactiques utilisées dans notre travail ont été isolées à partir du lait de brebis provenant de différentes régions d'Algérie (Naâma, Mascara et Méchria) (voir tableau 5).

Tableau 5: Les souches de différent régions

Régions	Nombre d'échantillon	Nombre d'isolats	
Mascara (BMA)	2	BMA1	48
		BMA2	22
Naâma (BNF)	3	BNF1	10
		BNF2	41
		BNF3	34
Méchria (BME)	2	BME1	16
		BME2	14

2.2.1.2. Bactéries pathogènes et/ou d'altération

Ces souches ont été utilisées comme indicatrices dans les tests de mise en évidence des effets inhibiteurs exercés par les bactéries lactiques (voir tableau 6).

Tableau 6 : Souches pathogènes ou d'altération

Souches indicatrices (ATCC)	Code
<i>Escherichia coli</i> (EC)	(EC)
S1	G+
S2	G+

ATCC: American Type Control Collection

2.3. Milieux

Le milieu MRS (Man, Rogosa et Sharpe 1960) est le milieu de culture utilisé pour toutes les souches lactiques. Il a été utilisé sous les formes liquide et solide (voir annexe1).

Le bouillon nutritif a été utilisé pour la revivification des bactéries pathogènes et/ou d'altération. Selon la même composition nous avons utilisé une préparation semi-solide (voir annexe 3).

Lors de la réalisation des différents tests d'identification des bactéries lactiques, plusieurs milieux ont été utilisés (voir annexe 2).

2.4. Méthodes

2.4.1. Vérification de la pureté des isolats et de leur appartenance au groupe lactique

2.4.1.1. Vérification de la Pureté des souches

La pureté des souches a été vérifiée par des passages successifs et alternés entre bouillon et milieu solide, avec à chaque fois une incubation à 30 °C pendant 24h à 48h. Les cultures en milieu solide ont été effectuées après ensemencement en stries selon la méthode des quadrants.

2.4.1.2. Examen microscopique

Cet examen repose sur une observation au microscope optique après coloration de Gram.

Cette coloration permet de:

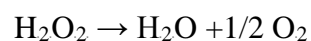
- Différencier les bactéries à Gram positif (violette) de celle à Gram négatif (rose).
- Distinguer leur morphologie (bâtonnets, coques) et leur mode de regroupement en diplocoques, en amas ou en chainettes.

Les bactéries lactiques sont à Gram positif.

2.4.1.2. Test de catalase

Le test de catalase sert à démontrer que certaines bactéries produisent du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) pendant leur respiration, ces bactéries sont capables de décomposer le peroxyde d'hydrogène grâce à l'enzyme catalase.

Pour mettre en évidence cette enzyme, une partie de la colonie testée est diluée dans une goutte d'eau oxygénée sur une lame stérile. Le dégagement de bulles de gaz indique la présence de la catalase selon la formule suivante :



Les bactéries à Gram positif et catalase négative sont considérées comme des bactéries lactiques.

Toutes les souches qui ont été vérifiées comme étant des lactiques seront soumises à des tests d'identification.

2.5. Etude physiologique et biochimique

Différents types de tests ont été effectués.

2.5.1. Croissance dans des conditions hostiles

2.5.1.1. Test de croissances à pH 9,6 et pH 4

Ce test est utilisé pour définir l'habilité des bactéries lactiques à croître dans un milieu alcalin (pH 9,6 et dans un milieu acide (pH 4) (Bekhouche et Boulahraf, 2005). Il est réalisé par un ensemencement des isolats dans deux milieux MRS liquide.

- MRS bouillon à un pH 9,6 ajusté par l'addition d'une solution de NaOH (1N)
- MRS bouillon à pH 4 ajusté par l'addition d'acide lactique () (1N)

La lecture des résultats consiste à observer s'il y a croissance ou pas des bactéries après 24h à 72h d'incubation à 30 °C.

Des cultures témoins ont été préparées dans du MRS à pH 6,5 toujours avec une incubation pendant 24h à 72h à 30 °C.

Ce test permet de distinguer les Entérocoques des Lactocoques

2.5.1.2. Croissance en présence de 6,5 % de NaCl

Ce test permet de savoir si les bactéries ont la capacité de croître dans un milieu hyper salé (6,5 % de NaCl). Les isolats ont été ensemencés dans des tubes de MRS additionné de 6,5% de NaCl et incubés à 30°C pendant 24 à 48 heures. Le témoin étant la culture en MRS sans NaCl.

Ce test permet de distinguer les Entérocoques des Lactocoques.

2.5.1.3. Croissance à 4 % de NaCl

Seules les bactéries qui n'ont pas pu croître à 6,5 % de NaCl, ont été ensemencées dans un milieu MRS à une concentration de 4 % de NaCl. L'incubation a été faite pendant 24 à 48 heures à 30 C. Le témoin étant une croissance dans du MRS sans NaCl.

Ce test permet de faire une distinction entre les Entérocoques des Lactocoques.

2.5.1.3. Recherche du type fermentaire

Ce test consiste à mettre en évidence la production de CO₂ qui est piégée dans une cloche de Durham en milieu MRS (Patil et Al, 2009). Il permet de différencier les isolats homolactiques des hétérolactiques. Après incubation à 30°C, les tubes sont observés dans un délai de 24 h jusqu' à 72 h. La lecture des résultats consiste à observer s'il y a production de gaz recueillis dans la cloche de Durham.

2.5.1.5. Test de thermorésistance

Après l'ensemencement des souches dans le milieu MRS liquide, la série de culture des souches a subi un chauffage à 63,5°C au bain-marie pendant 30 minutes puis incubé à 30°C pendant 24 heures (Zerain et Al, 2013). Des cultures non traitées à 63,5°C, sont utilisées comme témoin.

Ce test permet de distinguer des isolats thermophiles des mésophiles.

2.5.1.6. Lait de Sherman

Deux séries de tubes contenant 10 ml de lait écrémé stérile additionné pour la première de 0,1 % et la deuxième de 0,3 % de bleu de méthylène sont ensemencées et incubées à 30°C pendant 24 à 48 heures. Le bleu de méthylène tire sa couleur grâce à l'oxygène, ce test porte toujours sur le système respiratoire des bactéries lactiques, si elles sont micro-aérophiles elles ne vont utiliser qu'une faible quantité d'oxygène présent dans le bleu de méthylène et de fait, la couleur du lait (bleu) ne virera que légèrement vers le blanc et contrairement aux bactéries lactiques aérobies qui utilisent tout l'oxygène du bleu de méthylène (Larpen et Al, 1990).

Ce test ne peut être réalisé que sur des bactéries dont les cellules sont sous forme de coques. Ce test est permis de différencier les Enterocoques des Lactocoques

2.5.1.7. Croissance à différentes températures (10 °C et 45 °C) :

Ce test est réalisé pour les cocci et les bacilles, il permet de distinguer les souches thermophiles des mésophiles, il est réalisé en bouillon MRS. L'incubation est effectuée pendant 24 heures à 72 heures pour le test à 45°C et jusqu'à 7 jours pour le test à 10°C

2.6. Recherche de l'activité antibactérienne

Pour la recherche de l'activité inhibitrice deux méthodes ont été utilisées

- La méthode de Tagg et McGuiven (1971) dite méthode de diffusion en puits.
- La méthode de Fleming *et al.*, (1975)

De l'ensemble de nos bactéries lactiques, nous avons retenu 6 pour les tester comme inhibitrices (voir tableau 7).

Tableau 7 : Souches inhibitrices utilise pour de l'effet inhibiteur

Souches inhibitrices	
BNF1	BNF1.1
	BNF1.6
BNF2	BNF2.7
	BNF2.41
BNF3	BNF3.8
	BNF3.15

2.6.1. Méthode de double couche (méthode de Fleming *et al*, 1975)

Pour mettre en évidence l'effet inhibiteur des bactéries lactiques retenues pour ce test contre les bactéries pathogènes et/ou d'altération, les souches lactiques ont étéensemencées en touches (à l'aide d'un inoculateur multipoint stérile) à la surface d'un milieu MRS solide à partir d'une culture de 18 heures. Après 24 heures d'incubation à 30°C, de la gélose moelle pré-ensemencée par la souche indicatrice est coulée au-dessus de la première couche de gélose. Puis deuxième incubation à la température optimale de la souche indicatrice pendant 24h (figure 4)

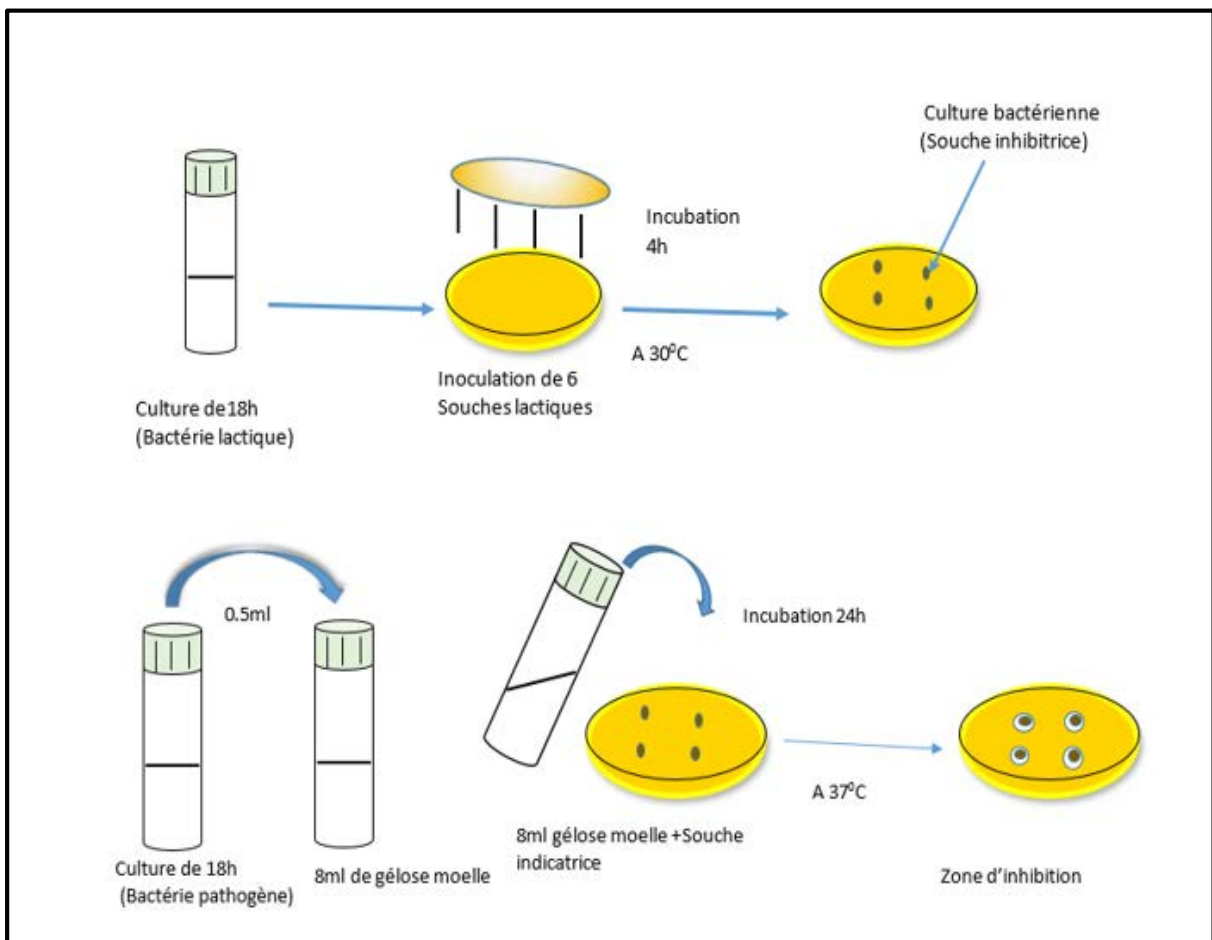


Figure 4 : méthode de Fleming et al. (1975)

2.6.2. Méthode de diffusion en puits

Cette méthode est réalisée comme suit :

- Les souches inhibitrices sont cultivées dans du milieu MRS liquide pendant 18 heures.
- Dans une boîte de Pétri, contenant une couche de milieu MRS solide, et une deuxième couche de gélose molle pré-ensemencée en masse par une des souches indicatrices, des puits sont réalisés à l'aide d'un emporte-pièce.
- La culture de la souche inhibitrice est centrifugée à 6000 tr/min pendant 10 minutes, le surnageant obtenu a été rempli dans les puits à l'aide d'une micropipette.

- Les boîtes sont mises au réfrigérateur à 4°C pendant une nuit puis sont incubées à la température optimale de la souche indicatrice pendant 24 h à 48 heures.
- Les puits entourés d'une zone claire d'inhibition de la souche indicatrice sont considérées comme positives (inhibitrices) (la figure 5) représente les étapes de réalisation de la méthode des puits.

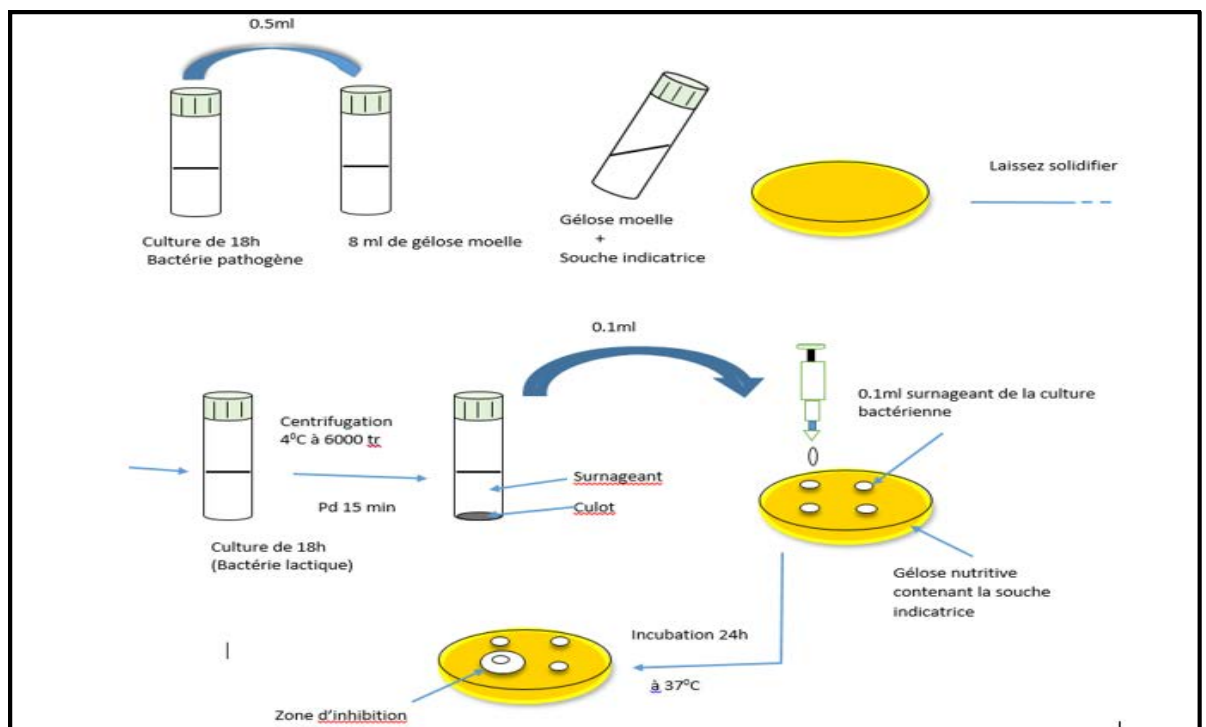


Figure 5 : méthode de diffusions en puits

2.7. Mise en évidence de l'activité protéolytique des bactéries lactiques

Cette étude a été réalisée selon deux méthodes. Par la première méthode nous avons recherché l'activité protéolytique en testant directement des cellules bactériennes par la deuxième seuls les surnageants de culture ont été testés. La deuxième technique permet de mettre en évidence l'activité protéolytique extracellulaire.

2.7.1. Mise en évidence de l'activité protéolytique par les cellules bactériennes

Dans ce cas les souches bactériennes à tester pour l'activité protéolytique ont été ensemencées en touches à la surface d'une gélose MRS additionnée de 2% de lait écrémé.

Après incubation à 30° C pendant 24 h, La lecture des résultats consiste à observer s'il y a ou pas des halos clairs autour des touches de bactéries.

2.7.2. Mise en évidence de l'activité protéolytique dans les surnageants de cultures

Dans ce cas des surnageants de culture de bactéries lactiques ont été testés. Pour cela de la gélose MRS additionnée de 2% de lait écrémé a été coulée en boîte de Petri, Après solidification des puits ont été creusés puis rempli par les surnageants de culture. La présence d'une activité exocellulaire s'exprimera par la formation de halos clairs autour des puits.

2.8. Mise en évidence de l'activité lipolytique

L'activité lipolytiques est recherchée en milieu MRS agar additionné de 1% et 3% de tween 80 pour la matière lipidique artificiels, ensuite 1% et 3% d'huile d'olive. Les bactéries lactiques sontensemencées d'une part par un multi-point sur la gélose. Et d'autre part des puits ont été creusés puis rempli par les surnageants de culture. La présence d'une activité exocellulaire s'exprimera par la formation de halos clairs autour des puits. L'activité lipolytique est indiquée par l'apparition d'un précipitât visible (karam et *al*, 2012)

2.9. Dosage de l'acidité

La mesure du pouvoir acidifiant consiste à suivre d'une part l'évolution du pH des différentes cultures en fonction du temps et d'autre part à doser simultanément l'acidité totale par la soude.

On commence par la préparation de lait écrémé dans des flacons à un volume de 100ml. Après stérilisation et refroidissement, chaque flacon estensemencé par une culture lactique (1ml/100ml). Après incubation à 30°C et à des temps d'incubation différents (1h, 2h, 4h, 6h, 8h, 12h, et 24h), 10ml de la culture en lait sont prélevé puis titrer par la soude Dornic (N/9) en présence de 4 gouttes de phénolphtaléine, jusqu'au virage de la couleur au rose pâle persistant au moins 10 secondes (Larpen, 1997).

L'acidité titrable du lait a été exprimée en degrés Dornic (°D) selon la formule : 1ml de NaOH correspond à 10 °D et un degré Dornic correspond à 0,1g d'acide lactique /l de lait.

L'acidité est déterminée par la formule :

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

Où V_{NaOH} est le volume de soude écoulé pour titrer 10 ml de lait, et $1^{\circ}\text{D}=0,1\text{g/l}$ de lactate.

La mesure du pH est faite directement par le pH-mètre. Le pH a été déterminé à chaque fois que le dosage de l'acide lactique a été effectué.

3. Résultats et discussion

3.1. Confirmation de la pureté et l'appartenance des souches au groupe lactique

La pureté des souches s'observe par la présence d'un seul type de cellule (coque, bacille) en observation microscopique.

La réaction négative au peroxyde d'hydrogène d'une souche, ainsi qu'un type Gram positif permettant de confirmer son appartenance au groupe lactique.

L'observation microscopique des 181 souches avait présenté une couleur violette (Gram positif), Cette étude a révélé deux formes de cellules (coque et bacille) ; les coques sont disposées en paires (diplocoque) ou en courte chaîne, constituent 93% de l'effectifs total par rapport aux bacilles qui représentent seulement 7% (figure 6), et qui sont disposés en courte chaîne.

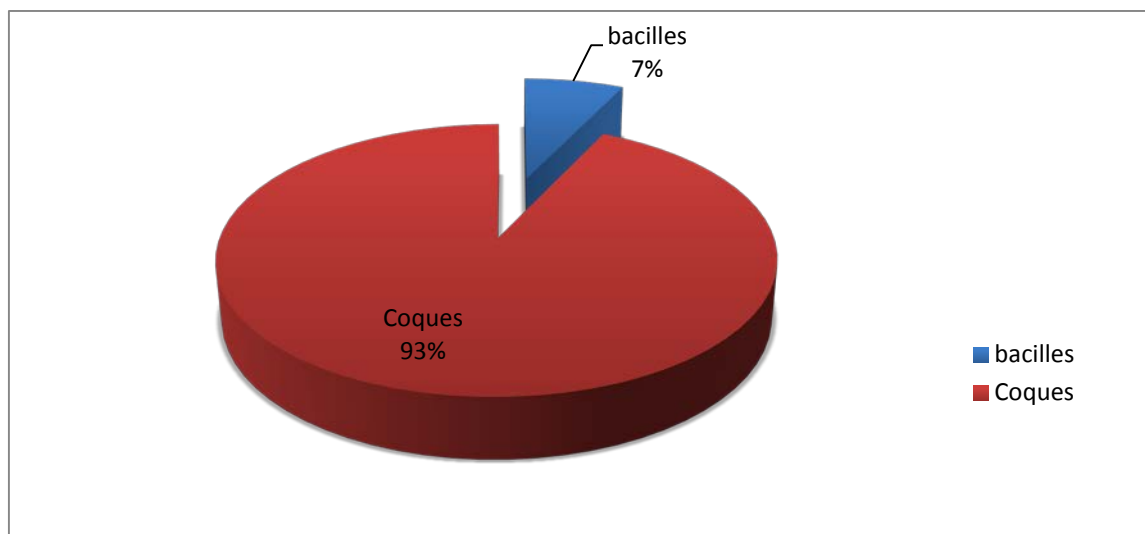


Figure 6 : Proportion de la forme cellulaire des sept échantillons de trois localités (BNF, BMA, BME).

Pour les échantillons d'isolat bactériens de BME et BMA, nous n'avons aucune bacille. Concernant les trois échantillons de BNF, seul un ne présente pas de bacilles (voir figure 7).

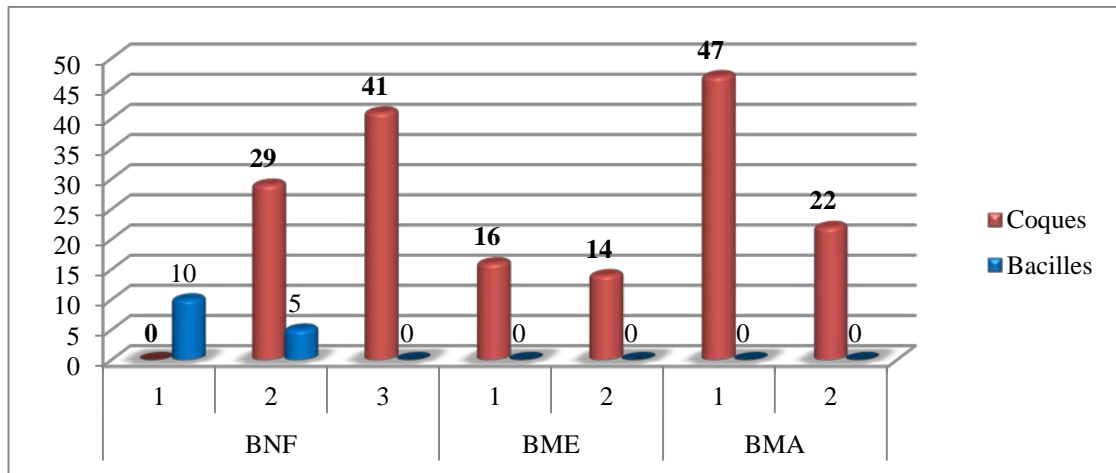


Figure 7 : Diagramme de la forme bacille et coque de sept échantillons.

Toutes les souches étudiées sont catalase négative et de Gram positif. Le tableau (annexe5) récapitule les observations microscopiques.

Les résultats d'identification de notre étude montrent une présence majoritaire de coques avec 93% par rapport aux bâtonnets qui ont été retrouvés à un faible pourcentage estimé à 7% (figure 6). Nos résultats rejoignent ceux de Bakhouch et Boulahrouf, les 181 souches sélectionnées ont montré que la totalité des souches sont à Gram positif, catalase négative.

3.2. Type fermentaire

Ce test consiste à détecter les souches homofermentaires (pas de dégagement gazeux) des souches hétérofermentaires (avec dégagement gazeux) dans un milieu contenant comme seule source de carbone le glucose. Un aspect des résultats obtenus est montré en figure 8.



Figure 8 : Exemple des résultats obtenus pour le type fermentaire.

Plus en détail les résultats sont représentés dans le tableau 8.

Tableau 8 : Récapitulatif des résultats de type fermentaire

	BNF			BME		BMA	
	1	2	3	1	2	1	2
homolactique	10	29	41	16	10	47	12
heterolactique	00	00	00	00	04	01	10

La totalité des lactobacilles sont homofermentaires (les 15 bacilles ne produisent pas de CO₂ à partir du glucose), tandis que pour les coques 151 sont homofermentaires, et le reste (15 isolats correspondent à l'échantillon BMA1) sont heterofermentaires.

3.3. Test de croissance à différentes températures 10⁰C et 45⁰C

Ce test est réalisé pour les bacilles et les coques, il permet de différencier les thermophiles des mésophiles.

Tableau 9 : Résultats de test de différentes températures (10 et 45 °C)

T °C LOTS		10 °C		45 °C	
		Positive	Négative	Positive	Négative
BNF	1	10	00	10	00
	2	34	00	34	00
	3	39	00	36	03
BME	1	02	14	10	04
	2	10	06	05	09
BMA	1	13	34	38	09
	2	22	00	22	00

Les souches de la BNF1, BNF2 et BNF3 ont révélé une croissance 10°C et 45°C. Tandis que pour les souches de BME1 et BME2 presque la moitié ont poussé dans les deux températures 10°C et 45°C. A propos du troisième échantillon BMA, la totalité des souches n'ont pas pu croître dans les deux températures, le tableau 9 illustre les résultats obtenus.

3.4. Les conditions hostiles

3.4.1. Croissance en présence de 6.5% de NaCl

Ce test permet de savoir si les bactéries ont la capacité de croître dans un milieu hyper-salé. Ce qui nous a permis de classer les Entérocoques.

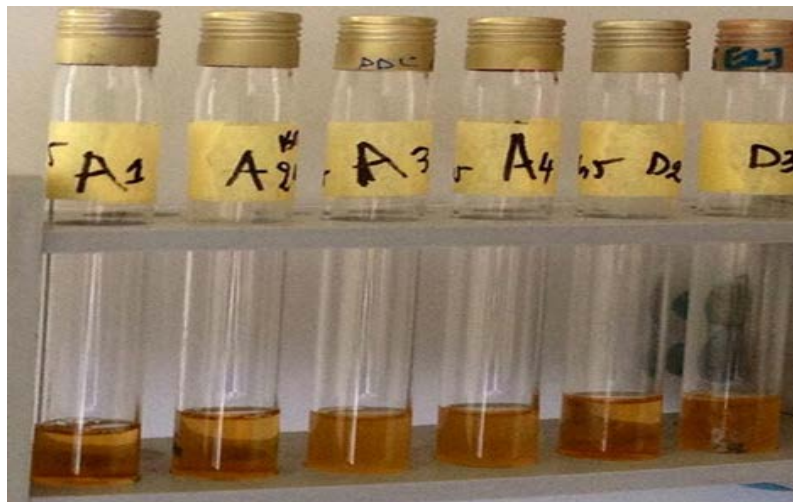


Figure 9 : Résultats de test de croissance à 6,5% de NaCl

Tableau 10 : Récapitulatif de croissance en présence de 6,5 de NaCl par échantillon

	BNF			BME		BMA	
	1	2	3	1	2	1	2
Tolérance à 6,5 % NaCl	10	34	41	16	14	43	09
Intolérance à 6,5% de NaCl	00	00	00	00	00	04	13

La totalité des souches étudiées (bacilles et coques) ont montré une tolérance à un milieu hypersalé de 6,5% de NaCl (figure 9) sauf pour les 16 souches de l'échantillon BMA 1 et BMA 2 qui n'ont pas pu pousser. Le tableau 10 récapitule les résultats obtenus.

Les 16 souches qui n'ont pas toléré une concentration de 6,5% de NaCl, ils ont poussé à 4 % de NaCl.

3.5.1. Test de croissance à pH 9,6 et 4,5

Ce test est réalisé pour définir l'habilité des bactéries lactiques de croître dans un milieu alcalin (pH 9,6) et un milieu acide (pH 4,5). La figure 10 illustre les résultats obtenus.

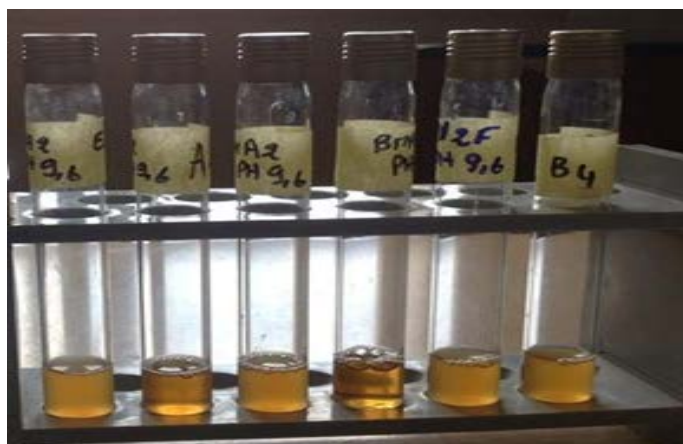


Figure 10 : Résultats de test de différents pH 9,6 et 4,5

Tableau 11 : Récapitulatif des souches de BNF, BMA et BME à pH 9,6 et pH 4.

pH LOTS	pH 9,6		pH 4	
	Positive	Négative	Positive	Négative
BNF	85	00	36	49
BME	30	00	2	28
BMA	40	29	8	58

la totalité des souches de BNF 1, BNF2, et BNF3 ont poussé à pH 9,6, par contre 42% des souches n'ont pas toléré un pH 4,5.

60 % des souches de BMA1, et BMA2 ont poussé à un pH de 9,6, 87 % de ces souches n'ont pas pu croître dans un de pH 4,5.

Pour le BME, la totalité des souches ont poussé à pH9,6 et 93 % n'ont pas pousser à PH 4,5. Le tableau 11 recapitule les résultats.

3.6. Test de thermoresistance

ce test est réalisé pour différencier les souches thermophiles des mésophiles.

70% de souches de BNF sont révélées comme étant des isolas qui résistent à une température de 63,5 °C et le reste (30%)ne résistent pas.

Pour le BMA1et BMA2, la majorite des souches 90% ont poussé, 10% seulement n'ont pas pu résister à 63,5°C.

90% des BME soit la majorité n'ont pas poussé, 10 % seulement ont réagit.

3.7. Lait de sherman

Ce test est destiné uniquement pour les coques, certaines sont capables de croître sur un lait de 0,1% et 0,3% de bleu de méthylène.



Figure 11 : Test de lait de shermen

Les résultats obtenus sur le lait de sherman (figure 11) ont révélé que la majorité des souches testées de BNF, BMA, et BME ont l'habilité de croître en présence de 0,1% de bleu de méthylène.

La totalité des souches de la BNF ont poussé en présence d'une concentration de 0,3% de bleu de méthylène. Alors que presque 50% des souches de BME et BMA ont toléré la même concentration.

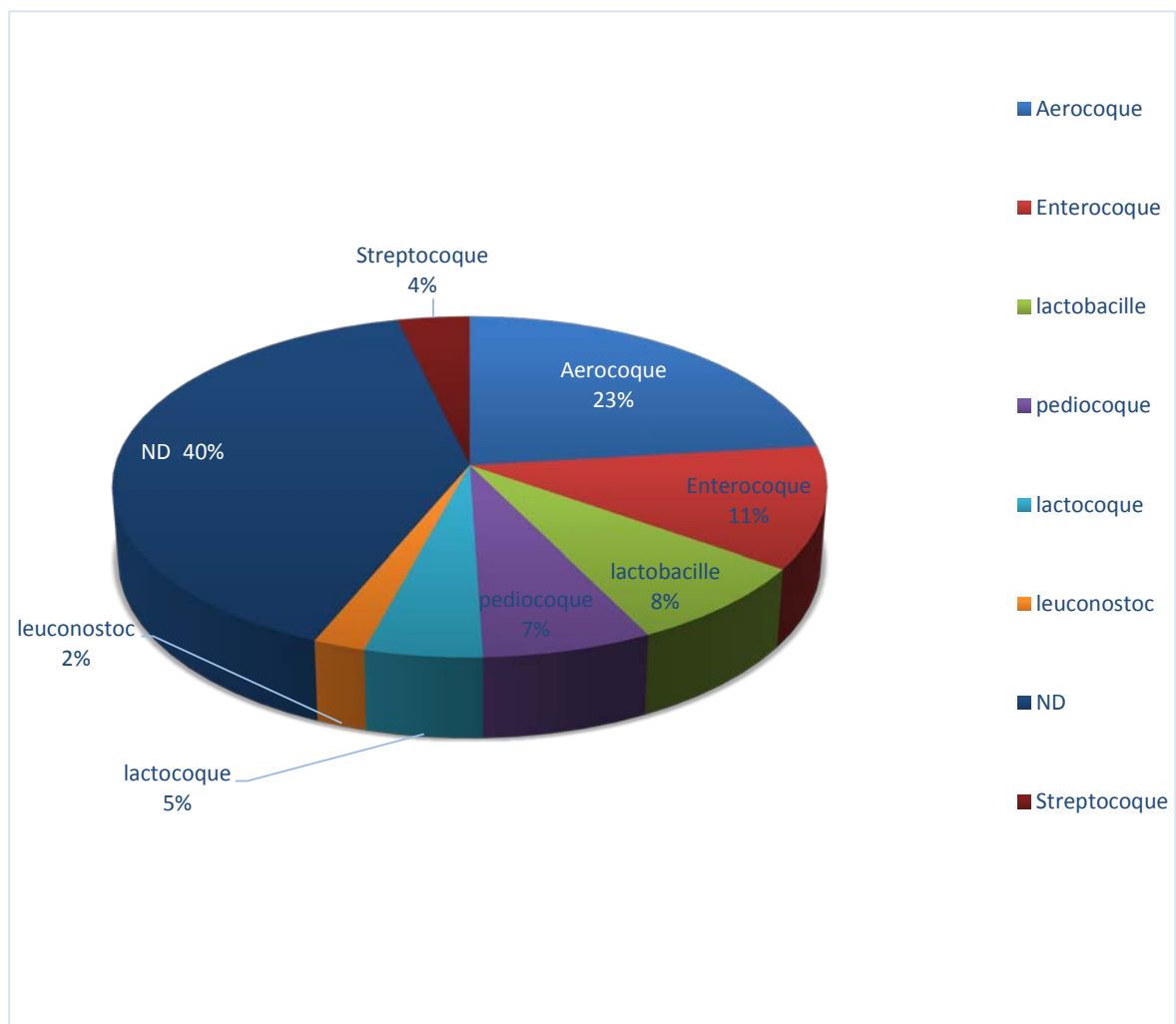


Figure 12 : Représentation des genres identifier

L'étude des caractères cultureux, biochimiques et physiologiques des 181 souches Sélectionnées et isolées à partir du lait de brebis nous a permis de mettre en évidence 8 genres différents (figure 12). Les plus fréquemment rencontrés semblent être des *Aerococcus* 44 sauf

qu'elles présentent un développement à 45 °C, les *Enterocoques* (22) selon la classification de Guiraud, 1998 et Axelsson., 2004, Ce genre concerne juste l'échantillon de BNF1 et BNF2. Ainsi, les 15 lactobacilles obtenus sont homofermentaire et peuvent appartenir au groupe Thermobacterium et aussi Streptobacterium. Parmi ces 8 genre, 13 semblent être des *Pediococcus* sauf qu'elles ne présentent pas le paramètre de pousser à 45°C. Nous avons déterminé 7 *Streptococcus* mais ces derniers ne poussent pas à pH 9,6. Selon la classification de Axelsson 2004, on a obtenus 4 *Leconostoc*, dont 2 entre eux ne tolèrent pas pH 9.6. On a déterminé en comparant avec la classification d'Axelsson, 2004, 9 semblent être des *Lactococcus*. Les résultats des tests réalisés pour les *Lactococcus* sont très variables ; de ce fait nous nous sommes basés seulement sur la thermorésistante, la production de gaz et l'intolérance à pH 4.5 qui sont les paramètres principaux des Lactocoques selon la classification de Guiraud 1998. Et enfin une grande partie des souches a répondu différemment, la raison pour laquelle, on n'a pas pu les classer dans les genres connus selon la classification d'Axelson 2004 et elle reste donc non déterminée.

La méthode d'identification phénotypique classique est laborieuse en matière de de temps (elle nécessite 2 à 10 jours pour obtenir des résultats). Cependant des études comparatives montrent que la performance de cette méthode est variable, avec une limite d'exactitude pour les résultats obtenus. Pour cela d'autres tests sont nécessaires tel que la fermentation des sucre, tests de l'esculine, tests de l'ADH, pour obtenir des résultats plus fiables et plus précise pour qu'on puisse déterminer les genres et même l'espèce.

Pour la suite de notre travail qui concerne l'étude des activités technologiques, nous avons retenu 6 isolats (6%), parmi les 105 isolats déterminés dont ils ont répondu différemment sur l'ensemble des tests réalisés, en fait, les souches BNF1.1 et BNF 1.6 sont des bacilles qui poussent à 6.5% et 4% de NaCl, à pH 9,6 et 4.5. Elles peuvent aussi croître à 10 et 45 °C, mais elles ne résistent pas à une température de 63,5°C, pour la BNF2.7 elle réagit pour tous les tests qu'on a réalisé sauf le type fermentaire. Concernant la souche BNF2.41, le résultat est positif pour tous les tests réalisés sauf le type fermentaire, même pour la souche BNF3.8 elle pousse aux deux concentrations de NaCl et pH 9,6, et résiste à 45°C et 63,5 °C, la BNF3.15 pousse à 6,5 et 4 % de NaCl, et tolère un pH de 9,6 et résiste même à températures de 10 °C et 63,5 °C. Pour Cela leur identification semble plus claire.

3.8. Détection des bactéries inhibitrices

Dans cette partie, on a réalisé des inhibitions entre bactéries, d'une part, par contact direct par la méthode de Fleming et *al* (1975), et d'autre part par une analyse de l'effet des surnageant de culture sur des bactéries indicatrices par la méthode de Tagg et *al* (1978). Les six isolats (voir tableau 12) ont été testés pour leur capacité à inhiber les bactéries pathogènes Gram négatif tel qu'*Escherichia coli* et Gram positif tel que *S1* et *S2*

Tableau 12 : Les souches étudiées pour leur effet inhibiteur

Souches inhibitrices		Morphologie	Densité Optique (600 nm)
BNF1	BNF1.1	Bacille	2.078
	BNF1.6	Bacille	2.190
BNF2	BNF2.7	Bacille	1.771
	BNF2.41	Coque	1.737
BNF3	BNF3.8	Coque	1.320
	BNF3.15	Coque	1.809

3.8.1. La méthode de Fleming et al (1975)

Elle permet de réaliser un screening des bactéries antagonistes, cette méthode dite directe, permet d'évaluer l'effet antagoniste des souches ensemencées en touche contre des souches ensemencées en masses (souches pathogènes indicatrices).

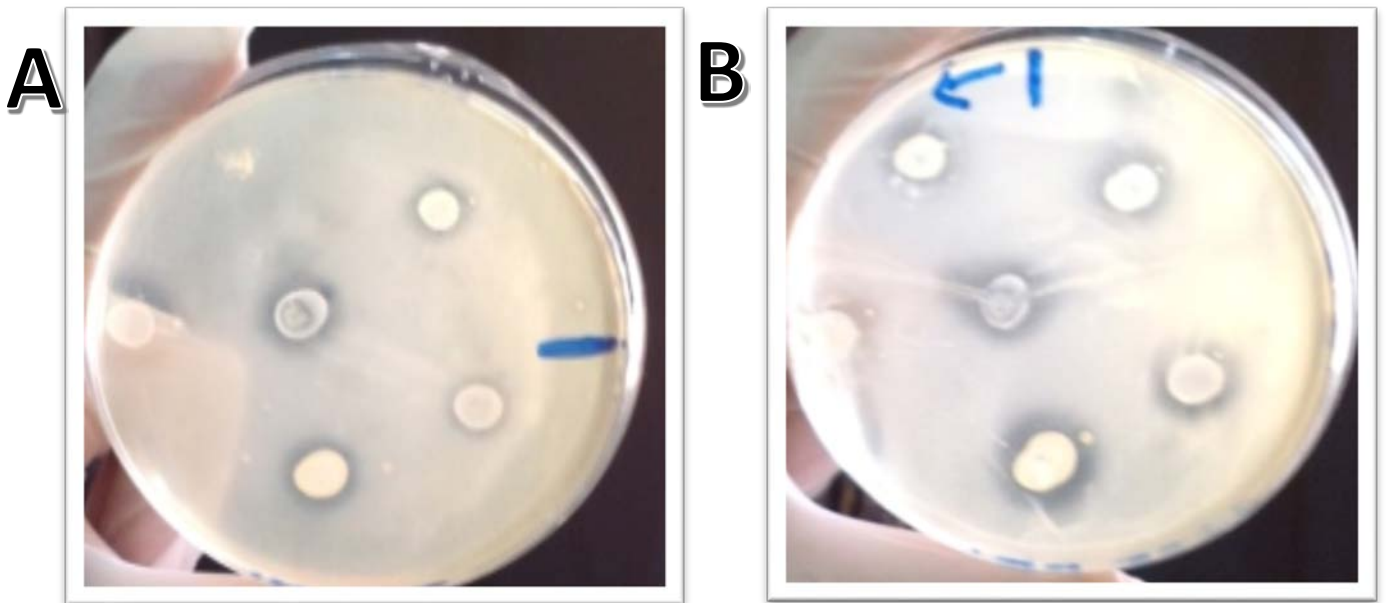


Figure 13: interaction inhibitrice inter bactérienne (E.coli et S1) avec BNF1.1, BNF1.6, BNF2.7, BNF2.41, BNF3.8 ET BNF3.15

Tableau 13 : Spectre d'activité antimicrobienne des souches lactiques par la méthode de Fleming (1975).

Souches indicatrice (mm) Souches inhibitrices (mm)	<i>E. colis</i>(2) (mm)	<i>S1</i> (mm)	<i>S2</i> (mm)
BNF1.1	–	14	3
BNF1.6	10	12	3
BNF2. 7	18	15	5
BNF2.41	14	15	5
BNF3.8	12	14	4
BNF3.15	10	12	2

Mesure du diamètre du halo d'inhibition en mm

Les résultats des interactions obtenus révèlent la présence d'une zone claire au tour des souches lactiques de nos collectionsensemencées en touches. Ces interactions sont représentées respectivement dans la figure 13 (A, B).

Le tableau 13 représente les résultats des interactions sur un milieu MRS solide, ce tableau montre que cinq souches utilisées avaient une activité inhibitrice contre les bactéries pathogènes (*E.coli*, *S1*, et *S2*), sauf une seule souche BNF1.1 qui n'a pas d'activité d'inhibition contre *E.coli*.

Les souches de BNF1.6 et BNF3.15 présentent un diamètre de (10 mm) contre *E.coli* et (12 mm) Figure 13 B contre *S2*.

Les souches de BNF1.1 et BNF3.8 présentent le même diamètre de 14 mm, pour BNF1.6 et BNF3.15 on a enregistré un diamètre de 12mm contre *S1*, pour BNF2.7 et BNF2.41, un diamètre de 15 mm contre *S1* a été constaté (Figure 14 B).

Les souches de BNF1.1 et BNF1.6 présentent le même diamètre 3 mm, pour les souches BNF2.7 et BNF2.41, on a noté un diamètre de 5mm contre la bactérie *S2*.

La méthode de Fleming et *al* (1975) permet d'évaluer quantitativement le pouvoir inhibiteur des souchesensemencées en touches (compétitrices) sur les souchesensemencées

en masse dans la gélose molle. Elle met en évidence les inhibitions dues à la production d'agent inhibiteurs mais aussi celles qui sont dues à la compétition vis à vie des nutriments aux contacts cellulaires.

3.8.2. Méthode de diffusion des puits

Les résultats des interactions de la méthode des puits sur milieu MRS solide, le tableau suivant montre que toutes les souches utilisées avait une activité inhibitrice contre les bactéries pathogènes (*E.coli*, S1, et S2), avec des zones d'inhibition plus faible que celle de la méthode précédente (méthode de Fleming 1975). Voir tableau 14.



Figure 14 : Interaction inhibitrice inter bactérienne (S1) avec BNF1.1, BNF1.6, BNF2.7, BNF2.41, BNF3.8 ET BNF3.15.

Tableau 14 : Spectre d'activité antimicrobienne des souches lactiques par la méthode de Tag et al (1978)

Souches indicatrice (mm) \ Souches inhibitrices	E. colis (mm)	S1 (mm)	S2 (mm)
BNF1.1	4	6	5
BNF1.6	5	5	4
BNF2.7	5	5	3
BNF2.41	5	3	3
BNF3.8	7	4	3
BNF3.15	7	5	2

Mesure du diamètre du halo d'inhibition en mm

Les souches BNF1.6 et BNF2.7 et BNF3.15 présentent le même diamètre d'inhibition situé entre de 5 mm contre S1 (Figure 14).

Les souches BNF2.7, BNF2.41 BNF3.8 ont montré le même diamètre d'inhibition (3 mm) contre la bactérie S2.

La deuxième méthode dite indirecte permet de mettre en évidence l'agent inhibiteur produit par les bactéries inhibitrice qui ne laisse pas pousser l'indicateur toute autour des puits par un système de diffusion.

En comparant les deux méthodes, on a constaté que la première (la méthode de Fleming 1975) est plus fiable que la méthode des puits.

3.9. Activité protéolytique

L'activité protéolytique se manifeste par l'apparition d'un halo clair autour des coloniesensemencées par les deux méthodes décrites dans la partie Matériel et méthodes.

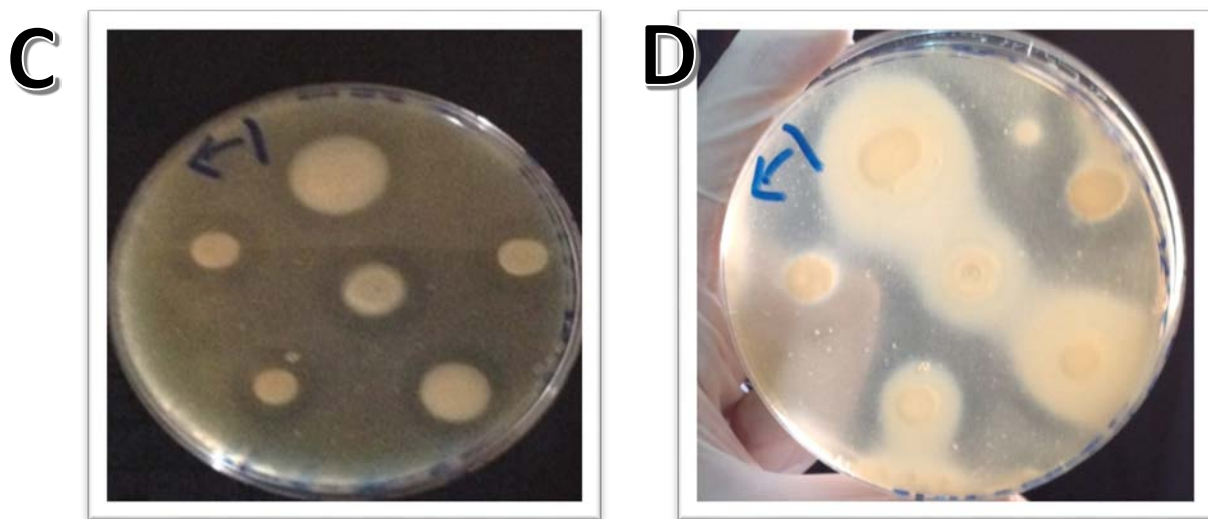


Figure 15 : Résultats de l'activité protéolytique par la méthode de Fleming.

Tableau 15 : Résultats obtenus de la protéolyse par les deux méthodes.

méthodes souches	Zone de halo (mm) méthode de touche	Zone de halo (mm) méthode de puis
BNF1.1	20	–
BNF1.6	12	–
BNF2.7	11	–
BNF2.41	17	–
BNF3.8	12	5
BNF3.15	19	–

Mesure du diamètre du halo d'inhibition.

On a constaté que toutes les souches testées ont exprimé une activité protéolytique de diamètre entre 11 à 20 mm.

Pour la deuxième méthode, une seule souche a exprimé une activité protéolytique avec un diamètre de zone de lyse de 5 mm figure 15 (C,D).

D'après les résultats obtenus, il apparaît que la souche BNF1.6 (*Lactobacillus*) est jugée la plus protéolytique avec un diamètre de 12 mm. Alors que les souches BNF2.7, , ETBNF3.8 sont les moins protéolytiques avec un diamètre de 11 et 12 mm voir tableau 15.

Ces résultats nous permettent de confirmer le caractère protéolytique des bactéries lactiques comme il a été rapporté par les travaux de Shirai *et al* (2001). Ces auteurs ont montré que les bactéries lactiques sont incapables de synthétiser plusieurs acides aminés, mais sont pourtant bien adaptées à un environnement riche en protéines et pauvre en acides aminés libres, comme le lait, grâce à un système protéolytique bactérien complexe.

Pour la méthode des puis, on a constaté une activité protéolytique de la souche BNF3.8 qui se manifeste exclusivement dans le milieu de culture. Cette activité due peut être à une substances protéiques extracellulaires par rapport à la BNF1,1, BNF1,6, BNF2.7, BNF2.41 et BNF3.15, ces souches ont peut-être une faible quantités des peptides exocellulaire ,ou carrément ils ont des peptides à l'intérieur de la bactérie ou sur la surface de leur parois.

3.10. Activité lipolytique

L'activité lipolytique a été entreprise afin de savoir si les souches lactiques participent à l'activité lipolytique. Les bactéries lactiques donnent des colonies autour desquelles apparaît une zone blanchâtre.

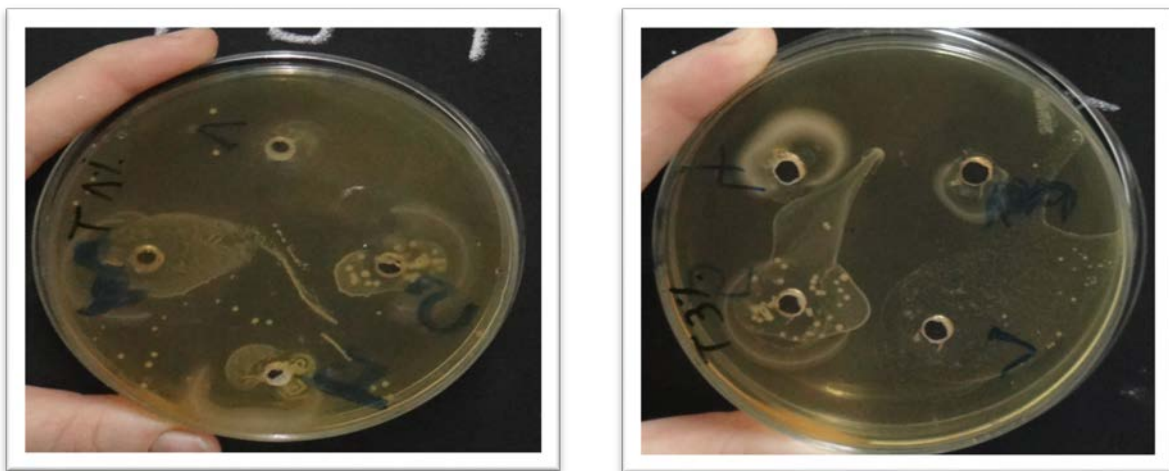


Figure 16 : Activité lipolytique (Tween 80 1%, 3%)

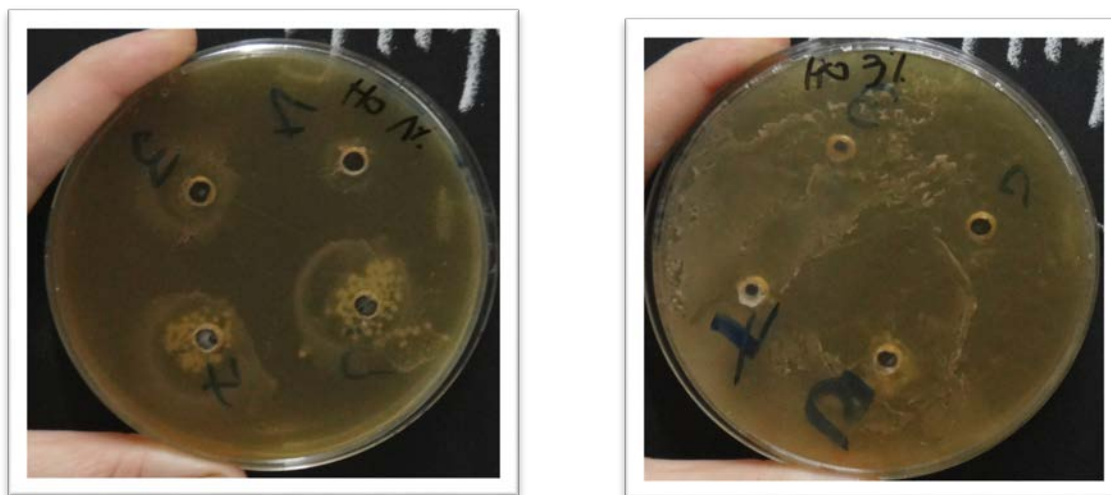


Figure 17 : Activité lipolytique (Huile d'olive 1%, 3%)

Tableau 16 : Résultats de l'activité lipolytique des souches testées

Souches	Source lipidique			
	Tween 80 (1%)	Tween 80 (3%)	Huile d'olive (1%)	Huile d'olive (3%)
BNF1.1	3	–	2	–
BNF2.7	12	7	10	--
BNF2.41	10	5	6	–
BNF3.15	10	5	12	–

Mesure du diamètre du halo d'inhibition exprimé en mm

Les résultats obtenus montrent que toutes les souches testées ont la capacité de dégrader la substance lipidique (tween 80 1%, et 3%) avec des diamètres différents (figure 16), sauf une seule souche qui n'a pas une activité lipolytique avec un milieu MRS additionné de tween 80 (3%). Tandis que les 4 souches ont révélé un effet lipolytique avec huile d'olive 1% (Figure 17) avec des diamètres variés entre 2mm et 12mm.

Les souches testées n'expriment pas d'activité lipolytique en présence d'huile d'olive à 3%. voir tableau 16.

Pour la méthode des touches on a obtenu des résultats négatifs même avec plusieurs essais.

La concentration du milieu en substrat lipidique (tween 80 et huile d'olive) permet une bonne activité lipolytique. Les souches lactiques dégradent les deux substances lipidiques (huile d'olive et tween 80) avec une préférence de tween 80 à 1%.

Ces résultats nous permettent de confirmer le caractère lipolytique des bactéries lactiques comme il a été rapporté par les travaux de Karam et *al* (2012). Ces auteurs ont montré l'expression d'une activité lipolytique extracellulaire chez les Lactobacilles Enterocoques et Lactocoques qui sont capables de dégrader les lipides retrouvés dans le milieu utilisé, grâce à un système lipolytique bactérien complexe.

3.11. Pouvoir acidifiant

L'activité acidifiante est l'une des principales fonctions des bactéries lactiques, elle demeure l'une de leurs propriétés métaboliques les plus recherchées vu son intérêt en technologie laitière.

La comparaison entre les résultats du pH et celui de l'acidité montre que le taux d'acidité augmente avec la diminution du pH. Les tableaux 17, 18 illustrent les résultats obtenus.

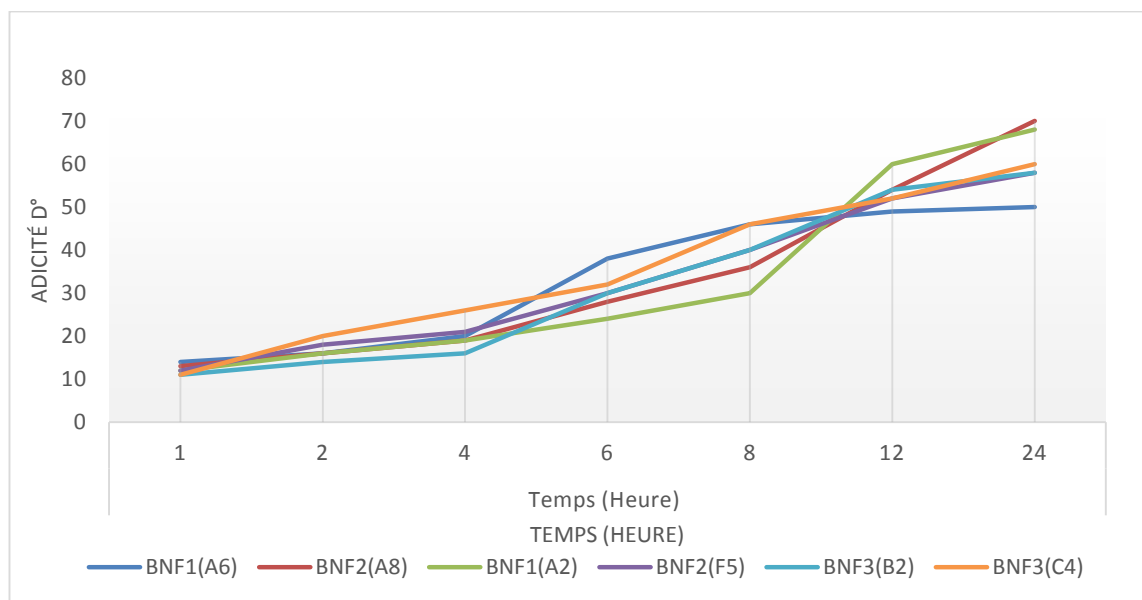


Figure 18 : Evolution de l'acidité en fonction du temps

Tableau 17 : Variation de l'acidité en fonction du temps

Temps (heures)	BNF1.6	BNF2.7	BNF1.1	BNF2.41	BNF3.8	BNF3.15
1	14	13	12	12	11	11
2	16	16	16	18	14	20
4	20	19	19	21	16	26
6	38	28	24	30	30	32
8	46	36	30	40	40	46
12	49	54	60	52	54	52
24	50	70	68	58	58	60

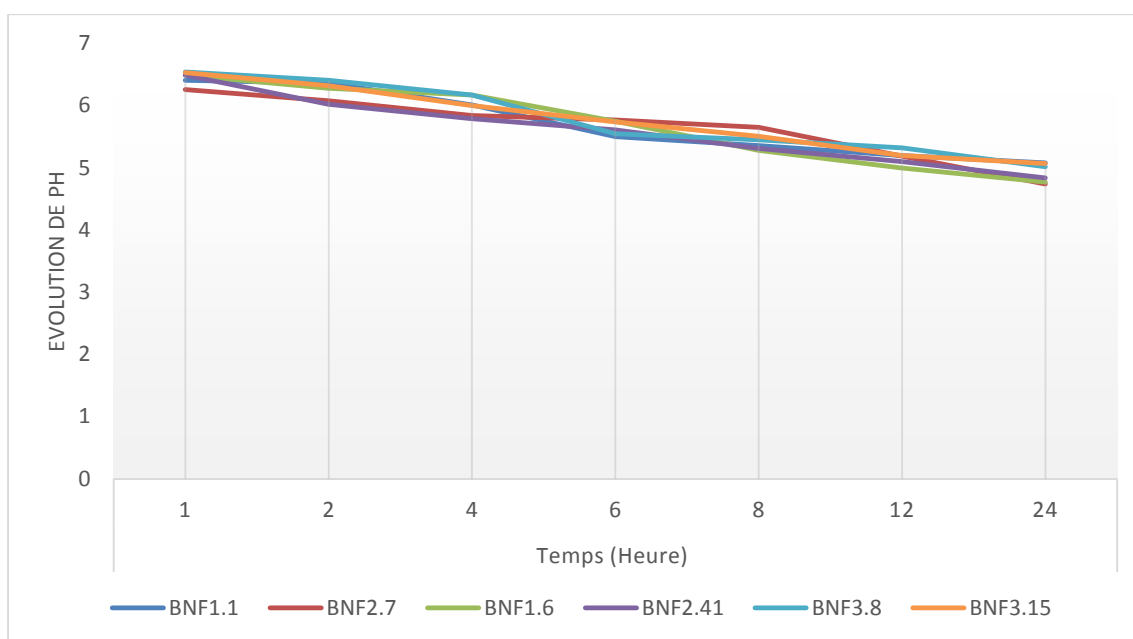


Figure 19 : Evolution du pH en fonction du temps

Tableau 18 : Evolution du pH en fonction du temps

Temps (heures)	BNF1.6	BNF2.7	BNF1.1	BNF2.41	BNF3.8	BNF3.15
1	6,41	6,26	6,49	6,49	6,54	6,53
2	6,36	6,08	6,28	6,02	6,41	6,32
4	6,01	5,84	6,17	5,79	6,17	6,00
6	5,50	5,77	5,75	6,61	5,55	5,74
8	5,36	5,65	5,28	5,31	5,45	5,51
12	5,20	5,19	5,00	5,10	5,32	5,20
24	5,08	4,75	4,77	4,84	5,02	5,07

Les souches BNF1.7 et BNF1.1 sont les plus acidifiantes (70⁰D et 68⁰D) figure 18 dont l'acidité Produite correspondre aux pH les plus bas (pH 4.75 et pH 4.77), la figure 19 représente les résultats obtenus.

Nos résultats rejoignent Les travaux de Cardamone *et al* (2011), qui a montré que les souches lactiques acidifient le lait jusqu'à des valeurs de pH entre 4,78 et 4,86 après 24 h d'incubation.

Les résultats obtenus, après 24 heures d'incubation, nous ont permis de classer les souches testées dans la catégorie des bactéries moyennement acidifiante (acidité varie entre 70⁰D et 50⁰D) avec une production progressive de l'acide lactique, accompagnée d'un abaissement du pH du milieu. Après 24h d'incubation, la quantité d'acide lactique produite se situe au voisinage de 70 °D chez les Lactobacilles. Les Entérocoques et encore plus, les Lactocoques donnent des valeurs d'acidification moyennes comprises entre 50⁰D et 60 °D. Ces résultats sont en accord avec de nombreuses études et rejoignent ceux des auteurs (Zadi-Karam, 1998; Mannu *et al.*,2000; Alonso-Calleja *et al.*,2002; Idoui *et al.*,2009).36

+

Conclusion

Depuis le début du siècle dernier, les producteurs et les utilisateurs de ferments lactiques ont très largement progressé dans l'usage maîtrisé des bactéries lactiques en industrie laitière. Leur importance industrielle et leur potentiel nutritionnel font de ces bactéries des agents très étudiés.

Dans cette optique, et dans un premier temps, notre travail a débuté par l'identification phénotypique des souches qui ont été isolées et purifiées auparavant en utilisant les méthodes classiques de la microbiologie.

Au cours de notre travail, nous avons identifié 44 *Aeococcus*, 22 *Entéroccoccus*, 15 *Lactobacilles*, 13 *Pediococcus*, 9 *Lactococcus*, 7 *Streptococcus* et 4 *Leuconostocs*. Pour 74 autres souches l'identification est restée ambiguë.

Notre étude s'est ensuite développée autour de six souches dans le but d'évaluer certaines caractéristiques d'intérêt technologique afin d'étudier leur potentiel pour un éventuel usage industriel. Dans cette partie nous nous sommes intéressés spécialement à leur activité acidifiante, protéolytique et lipolytique. Les résultats obtenus en premier lieu ont montré que ces activités d'intérêts technologiques sont exprimées d'une manière hétérogène.

Le test de l'antagoniste a montré l'effet inhibiteur de nos souches vis-à-vis des souches cibles, ce qui nous a permis de détecter plusieurs souches de bactéries lactiques capables d'inhiber *Escherichia coli*, S1 et S2.

Ces observations ouvrent des perspectives futures pour :

- Confirmer par d'autres tests biochimiques ainsi que par des techniques de génomique l'identité réelle et précise de nos isolats lactiques.
- Mener des études approfondies afin de caractériser les agents inhibiteurs produits par nos bactéries lactiques.

Annexe 1 :

Composition du milieu M.R.S (Man Rogosa et Sharpe, 1960) :

Extrait de viande.....	10g
Extrait de levure.....	5g
Acétate de sodium	5g
Phosphate bipotassique	2g
Citrate d'ammonium	2g
Sulfate de magnésium	0.25g
Sulfate de manganèse	0.05g
Glucose	20g
Tween 80	1ml
Agra	18g
Eau distillée QSP	1000ml

pH du milieu est ajusté à $6,5 \pm 0,2$ avec NaOH 0.1N

Autoclaver à 120°C pendant 20 minutes.

Tests biochimiques : conditions hostiles

- ✓ additionné de 6,5% NaCl
- ✓ MRS MRS additionné de 4% NaCl
- ✓ MRS ajusté à pH 4,5 avec l'acide lactique
- ✓ MRS ajusté à pH 9,6 NaOH 0.1N

Activités technologiques :

Pour la protéolyse :

- ✓ MRS additionné 2% de poudre du lait

Pour la lipolyse :

- ✓ MRS additionné de 1% de tween 80
- ✓ MRS additionné de 3% de tween 80
- ✓ MRS additionné de 1% d'huile d'olive
- ✓ MRS additionné de 3% d'huile d'olive

Annexe 2 :

Lait écrémé

Lait en poudre.....	100g
Eau distillée QSP.....	1000ml

Autoclaver à 100 °C pendant 10 minutes

Annexe 3 :

Bouillon nutritif:

Tryptone	10g
Extrait de viande	5g
Chlorure de sodium.....	5g
Eau distillée QSP.....	1000ml

pH du milieu 7,2 ±0,2

Pour la gélose moelle, on ajoute 9g d'agar

Autoclaver à 120 °C pendant 20 minutes

Annexe 4 :

Coloration de Gram

- 1- Déposer une goutte d'eau physiologique stérile sur une lame bien propre.
- 2- Prélever un échantillon de colonie et mélanger avec la goutte d'eau, strier et sécher par passage rapide sur la flamme d'un bec benzène.
- 3- Couvrir le frottis par du cristal violet et laisser agir pendant 60 secondes.
- 4- Éliminer le violet de gentiane en faisant couler sur la lame le lugol.
- 5- Recouvrir la lame de lugol et laisser agir pendant 30 secondes.
- 6- Rincer immédiatement le frottis avec de l'alcool. En tenant la lame verticalement ou bien en position très inclinée.
- 7- Laver avec l'eau distillée.
- 8- Couvrir avec de la fuschine pendant 15 à 20 secondes.
- 9- Laver avec l'eau distillée.
- 10- Déposer une goutte d'huile à immersion sur le frottis et observer au microscope à fort grossissement.

Les cellules Gram + absorbent la couleur du cristal du violet et demeurent bleues violettes en apparence, contrairement aux cellules Gram – qui apparaissent distinctement rosâtres.

Annexe 5 :

Tableau : Tests physiologiques et biochimiques des isolats obtenus à partir de lait de brebis

BNF1/BNF2/BNF3 : échantillons prélevés de la région de Naâma

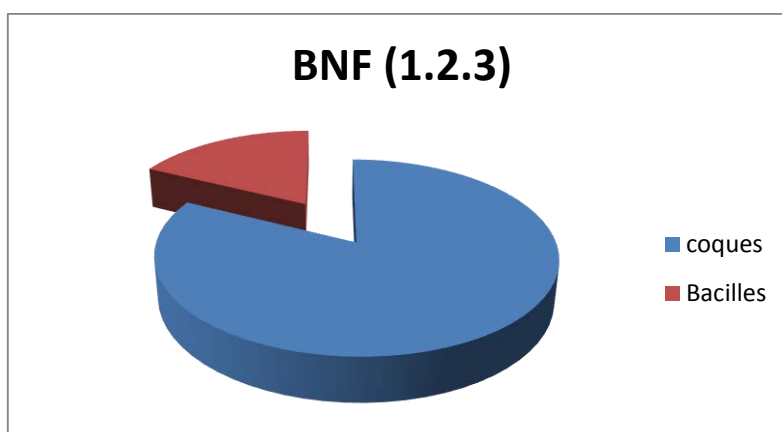
Souch e	Catalas e	Gram	Morpho logie	Na Cl 6,5 %	Na Cl 4%	P H 9, 6	PH 4,5	Thermo résistan ce 63,5 °c	10 ⁰ C	45 ⁰ C	Type ferment aire	Lait de Sherma n	
												01 %	03 %
BNF1 .1	-	+B	Bacille	+	+	+	+	-	+	+	-	ND	
BNF1 .2	-	+ B	Bacille	+	+	+	+	-	+	+	-		
BNF1 .3	-	+ B	Bacille	+	+	+	+	-	+	+	-		
BNF1 .4	-	+ B	Bacille	+	+	+	+	-	+	+	-		
BNF1 .5	-	+ B	Bacille	+	+	+	+	-	+	+	-		
BNF1 .6	-	+ B	Bacille	+	+	+	+	-	+	+	-		
BNF1 .7	-	+ B	Bacille	+	+	+	+	-	+	+	-		
BNF1 .8	-	+ B	Bacille	+	+	+	+	-	+	+	-		
BNF1 .9	-	+ B	Bacille	+	+	+	+	±	+	+	-		
BNF1 .10	-	+ B	Bacille	+	+	+	+	-	+	+	-		
BNF2 .1	-	+ C	Coque	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+
BNF2 .2	-	+ C	Coque	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+
BNF2 .3	-	+ C	Coque	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+
BNF2 .4	-	+ C	Coque	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+
BNF2 .5	-	+ B	Bacille	+	+	+	+	+	+	+	-	ND	
BNF2 .6	-	+ C	Coque	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+
BNF2 .7	-	+ B	Bacille	+	+	+	+	+	+	+	-	ND	
BNF2 .8	-	+ C	Coque	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+
BNF2 .9	-	+ B	Bacille	+	+	+	-	+	+	+	-	ND	
BNF2 .10	-	+ C	Coque	+	+	+	-	+	+	+	-	+	
BNF2 .11	-	+ C	Coque	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+
BNF2 .12	-	+ C	Coque	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+

BNF2 .13	-	+ C	Coque	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+
BNF2 .14	-	+ C	Coque	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+
BNF2 .15	-	+ C	Coque	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+
BNF2 .16	-	+ C	Coque	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+
BNF2 .17	-	+ C	Coque	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+
BNF2 .18	-	+ C	Coque	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+
BNF2 .19	-	+ C	Coque	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+
BNF2 .20	-	+ C	Coque	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+
BNF2 .21	-	+ C	Coque	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+
BNF2 .22	-	+ C	Coque	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+
BNF2 .23	-	+ C	Coque	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+
BNF2 .24	-	+ B	Bacille	+	+	+	+	+	+	+	-	ND	
BNF2 .25	-	+ C	Coque	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+
BNF2 .26	-	+ B	Bacille	+	+	+	+	+	+	+	-	ND	
BNF2 .27	-	+ C	Coque	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+
BNF2 .28	-	+ C	Coque	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+
BNF2 .29	-	+ C	Coque	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+
BNF2 .30	-	+ C	Coque	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+
BNF2 .31	-	+ C	Coque	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+
BNF2 .32	-	+ C	Coque	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+
BNF2 .33	-	+ C	Coque	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+
BNF2 .34	-	+ C	Coque	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+
BNF2 .35	-	+ C	Coque	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+
BNF2 .36	-	+ C	Coque	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+
BNF2 .37	-	+ C	Coque	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+
BNF2 .38	-	+ C	Coque	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+
BNF2 .39	-	+ C	Coque	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+
BNF2 .40	-	+ C	Coque	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+

BNF2 .41	-	+C	Coque	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+
BNF3 .1	-	+C	Coque	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+
BNF3 .2	-	+C	Coque	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+
BNF3 .3	-	+C	Coque	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+
BNF3 .4	-	+C	Coque	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+
BNF3 .5	-	+C	Coque	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+
BNF3 .6	-	+C	Coque	+	+	+	-	+	+	-	-	+	+
BNF3 .7	-	+C	Coque	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+
BNF3 .8	-	+C	Coque	+	+	+	-	+	-	+	-	+	+
BNF3 .9	-	+C	Coque	+	+	+	-	+	-	+	-	+	+
BNF3 .10	-	+C	Coque	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+
BNF3 .11	-	+C	Coque	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+
BNF3 .12	-	+C	Coque	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+
BNF3 .13	-	+C	Coque	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+
BNF3 .14	-	+C	Coque	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+
BNF3 .15	-	+C	Coque	+	+	+	-	+	+	-	-	+	+
BNF3 .16	-	+C	Coque	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+
BNF3 .17	-	+C	Coque	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+
BNF3 .18	-	+C	Coque	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+
BNF3 .19	-	+C	Coque	+	+	+	-	ND	-	+	-	+	+
BNF3 .20	-	+C	Coque	+	+	+	-	ND	+	+	-	+	+
BNF3 .21	-	+C	Coque	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+
BNF3 .22	-	+C	Coque	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+
BNF3 .23	-	+C	Coque	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+
BNF3 .24	-	+C	Coque	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+
BNF3 .25	-	+C	Coque	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+
BNF3 .26	-	+C	Coque	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+
BNF3 .27	-	+C	Coque	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+

BNF3 .28	-	+ C	Coque	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+
BNF3 .29	-	+ C	Coque	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+
BNF3 .30	-	+ C	Coque	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+
BNF3 .31	-	+ C	Coque	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+
BNF3 .32	-	+ C	Coque	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+
BNF3 .33	-	+ C	Coque	+	+	+	-	+	-	+	-	+	+
BNF3 .34	-	+ C	Coque	+	+	+	-	+	-	+	-	+	+

Morphologie	Coques	Bacilles
	70	15
Total	85	

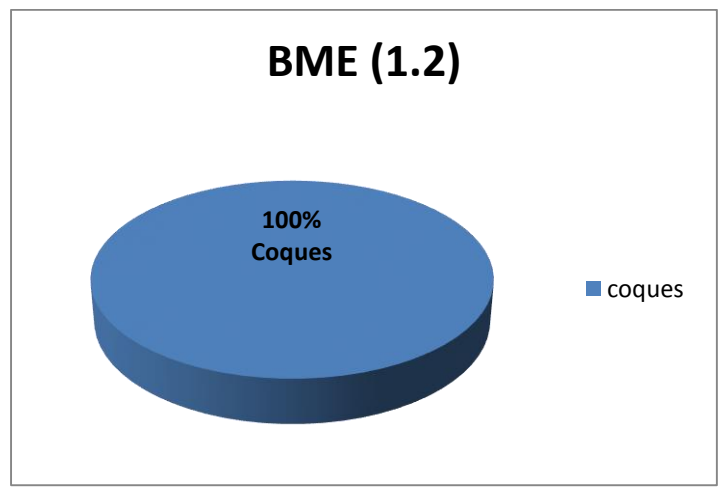


BME 1/2 : échantillons prélevés de la région de Méchria

Souche	Catalase	Gram	Morphologie	Nac l 6.5	Nac l 4.	Ph 9.5	Ph 4.5	T 63.5	10° C	45° C	Type fermentaire	Lait de sharmen	
												0,1 %	0,3 %
BME 1.1	-	+ C	Coque	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+
BME 1.2	-	+ C	Coque	+	+	+	-	+	-	+	-	+	+
BME 1.3	-	+ C	Coque	+	+	+	-	-	-	+	-	+	+
BME 1.4	-	+ C	Coque	+	+	+	-	-	-	+	-	+	+
BME 1.5	-	+ C	Coque	+	+	+	-	+	-	+	-	+	+
BME 1.6	-	+ C	Coque	+	+	+	-	-	-	+	-	+	-
BME 1.7	-	+ C	Coque	+	+	+	-	-	-	+	-	+	+
BME 1.8	-	+ C	Coque	+	+	+	-	±	+	+	-	+	+
BME 1.9	-	+ C	Coque	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-
BME 1.10	-	+ C	Coque	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+
BME 1.11	-	+ C	Coque	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-
BME 1.12	-	+ C	Coque	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-
BME 1.13	-	+ C	Coque	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-
BME 1.14	-	+ C	Coque	+	+	+	-	-	-	+	-	+	+
BME 1.15	-	+ C	Coque	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+
BME 1.16	-	+ C	Coque	+	+	+	-	+	-	+	-	-	-
BME 2.1	-	+ C	Coque	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-
BME 2.2	-	+ C	Coque	+	+	+	-	+	-	-	-	+	-
BME 2.3	-	+ C	Coque	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
BME 2.4	-	+ C	Coque	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-
BME 2.5	-	+ C	Coque	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-
BME 2.6	-	+ C	Coque	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+
BME 2.7	-	+ C	Coque	+	+	+	-	±	+	-	-	+	-
BME 2.8	-	+ C	Coque	+	+	+	-	-	-	+	-	+	+

BME 2.9	-	+ C	Coque	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-
BME 2.10	-	+ C	Coque	+	+	+	-	-	+	-	+	+	+
BME 2.11	-	+ C	Coque	+	+	+	-	-	+	-	+	+	-
BME 2.12	-	+ C	Coque	+	+	+	-	-	+	-	-	+	+
BME 2.13	-	+ C	Coque	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+
BME 2.14	-	+ C	Coque	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+

Morphologie	Coques	Bacilles
	30	00
Total	30	



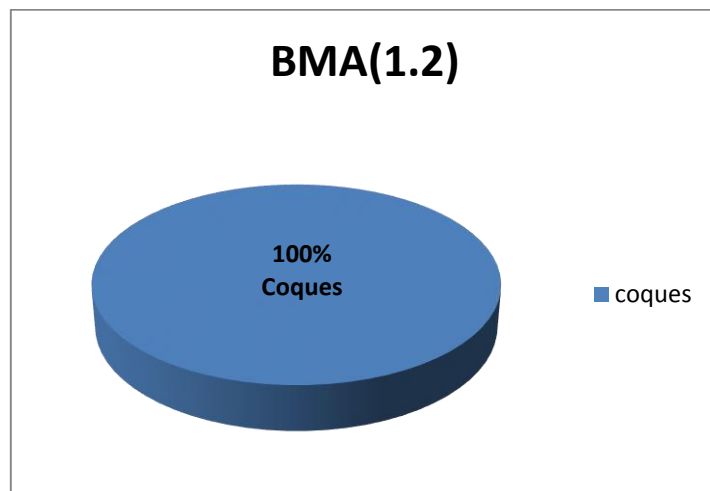
BMA1/BMA2 : échantillons prélevés de la région de Mascara

Souche	Catalase	Gram	Morphologie	Nacl 6.5	Nacl 4	Ph 9.5	Ph 4.5	T 63.5	10°C	45°C	Type fermentaire	Lait de Sherme n	
												0,1 %	0,3 %
BMA 1.1	-	+ C	Coque	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+
BMA 1.2	-	+ C	Coque	+	+	+	-	-	-	+	-	+	+
BMA 1.3	-	+ C	Coque	+	+	+	-	-	-	+	-	+	+
BMA 1.4	-	+ C	Coque	+	+	+	-	-	-	+	-	+	+
BMA 1.5	-	+ C	Coque	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+
BMA 1.6	-	+ C	Coque	+	+	+	-	-	-	+	-	+	-
BMA 1.7	-	+ C	Coque	+	+	+	-	-	-	+	-	+	+
BMA 1.8	-	+ C	Coque	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+
BMA 1.9	-	+ C	Coque	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-
BMA 1.10	-	+ C	Coque	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+
BMA 1.11	-	+ C	Coque	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-
BMA 1.12	-	+ C	Coque	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-
BMA 1.13	-	+ C	Coque	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-
BMA 1.14	-	+ C	Coque	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+
BMA 1.15	-	+ C	Coque	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+
BMA 1.16	-	+ C	Coque	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-
BMA 1.17	-	+ C	Coque	+	+	+	-	-	+	+	-	+	-
BMA 1.18	-	+ C	Coque	+	+	+	-	+	-	-	-	+	-
BMA 1.19	-	+ C	Coque	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
BMA 1.20	-	+ C	Coque	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+
BMA 1.21	-	+ C	Coque	+	+	+	-	-	-	+	-	+	+
BMA 1.22	-	+ C	Coque	+	+	+	-	+	-	+	-	+	+
BMA 1.23	-	+ C	Coque	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+
BMA 1.24	-	+ C	Coque	+	+	-	-	+	-	+	-	+	+
BMA 1.25	-	+ C	Coque	+	+	-	-	-	-	+	-	+	-
BMA 1.26	-	+ C	Coque	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+
BMA 1.27	-	+ C	Coque	-	+	-	-	-	+	+	-	+	+

BMA 1.28	-	+ C	Coque	+	+	-	-	ND	-	-	-	+	-
BMA 1.29	-	+ C	Coque	+	+	-	-	+	-	-	-	+	+
BMA 1.30						-		+					
BMA 1.31	-	+ C	Coque	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-
BMA 1.32	-	+ C	Coque	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-
BMA 1.33						-		-					
BMA 1.34	-	+ C	Coque	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-
BMA 1.35	-	+ C	Coque	+	+	+	-	-	-	+	-	+	+
BMA 1.36	-	+ C	Coque	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+
BMA 1.37						-							
BMA 1.38	-	+ C	Coque	+	+	+	-	+	-	+	-	-	-
BMA 1.39	-	+ C	Coque	+	+	-	-	+	+	+	-	+	-
BMA 1.40	-	+ C	Coque	-	+	+	-	+	-	-	-	+	-
BMA 1.41	-	+ C	Coque	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-
BMA 1.42	-	+ C	Coque	-	+	+	-	+	+	+	-	+	-
BMA 1.43	-	+ C	Coque	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-
BMA 1.44	-	+ C	Coque	-	+	+	+	-	+	+	-	+	+
BMA 1.45	-	+ C	Coque	+	+	+	-	±	+	-	-	+	-
BMA 1.46	-	+ C	Coque	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+
BMA 1.47	-	+ C	Coque	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-
BMA 2.1	-	+C	Coque	-	-	+	-	-	+	+	-	+	-
BMA 2.2	-	+C	Coque	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+
BMA 2.3	-	+C	Coque	+	+	+	+	-	+	+	-	+	-
BMA 2.4	-	+C	Coque	+	+	+	+	-	+	+	-	+	-
BMA 2.5	-	+C	Coque	-	+	+	-	-	+	+	+	+	-
BMA 2.6	-	+C	Coque	-	+	+	-	-	+	+	+	+	-
BMA 2.7	-	+C	Coque	-	+	-	-	-	+	+	+	+	-
BMA 2.8	-	+C	Coque	-	+		-	-	+	+	+	+	-
BMA 2.9	-	+C	Coque	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+
BMA 2.10	-	+C	Coque	+	+	+	-	-	+	+	-	+	+
BMA 2.11	-	+C	Coque	-	+	-	-	-	+	+	+	+	+

BMA 2.12	-	+C	Coque	-	+	-	-	-	+	+	+	+	+
BMA 2.13	-	+C	Coque	+	+	+	-	-	+	+	-	+	+
BMA 2.14	-	+C	Coque	-	+	+	-	-	+	+	+	+	-
BMA 2.15	-	+C	Coque	+	+	+	+	-	+	+	-	+	-
BMA 2.16	-	+C	Coque	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+
BMA 2.17	-	+C	Coque	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+
BMA 2.18	-	+C	Coque	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+
BMA 2.19	-	+C	Coque	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+
BMA 2.20	-	+C	Coque	+	+	+	-	-	+	+	-	+	+
BMA 2.21	-	+C	Coque	-	+	-	-	-	+	+	-	+	+
BMA 2.22	-	+C	Coque	+	+	-	-	-	+	+	-	+	+

Morphologie	Coques	Bacilles
	69	00
Total	69	



Références Bibliographiques

A

- Achemchem F. (2000). Isolement et caractérisation de bactéries lactiques bacteriocinogenes à partir du fromage de chèvre du nord du Maroc. Mémoire du diplôme des études supérieures approfondies. Université Abdelmalek Essaadi, Tetouane, Maroc.
- Ammor, S., Rachman, C., Chaillou, S., Pre´vost, H., Dousset, X.,Zagorec, M., Dufour, E., Chevallier, I.,(2004). Phenotypic and genotypic identification of lactic acid bacteria isolated from a small_scale facility producing traditional dry sausages.Food Microbiol. 05-11.
- Assenat L. (1985). Le lait de brebis ., composition et propriete J in (lait et produits laitiers. Les laits de la chamelle à la laiterie. Editions Tec et Doc, Lavoisier, Paris.
- Axelsson, L. T.(1993). Lactic acid Bacteria: Classification and Physiology. P.164.in: Salminen S.,Von, Wright A, Ed. in Lactic acid Bacteria,Marcel Dekker, Inc; New York, Etats- Unis.
- Axelsson, L. (1998). Lactic acid Bacteria: Classification and Physiology in Lactic acid Bacteria, Microbiology and Functionnal Aspects . Salminen S., Von, Wright A, Ed. Marcel Dekker,New York. 1-72.
- Axelsson Lars, (2004). Lactic Acid Bacteria: Classification and Physiology In Lactic Acid Bacteria Microbiological and Functional Aspects. Salminen S., Wright A.v., Ouwehand A. 3e Ed., Marcel Dekker, pp: 1-66

B

- Badis ; A Laouabdia-Sellami N, D. Guetarni, M. Kihal R. Ouzrou, (2005). Caracterisation phenotypique des bacteries lactiques isolees a partir de lait cru de chevre de deux populations caprines locales "arabia et kabyle".Sciences & Technologie C – N°23, Université Mentouri Constantine, Algérie p 31.
- Balarbi F, (2011). Isolement et sélection des souches de bactéries lactiques productrices des métabolites antibactériennes. En vue de l’obtention du diplôme de magister, Option : Microbiologie Alimentaire et Industrielle Intitulée. Université d’ORAN Es Senia Faculté des Sciences,(2010-2011).
- Bekhouche. F et Boulahrouf. A (2005) Etudes quantitative et qualitative des bactéries lactiques de lait cru produits par des vaches locales appartenant a six stations d’élevage de Constantine Sciences & Technologie C – N°23, juin (2005),pp 38-39 .

Références Bibliographiques

- Benech R., (2002). Impact de l'ajout de nisine Z sur les caractéristiques microbiologiques, rhéologique et organoleptiques d'un fromage de type Cheddar: Approche immunologique et microscopique. Thèse de doctorat, Université Laval, Québec, Canada.
- benefits of dairy starter cultures. *Int. Dairy Journal*. 8: 195-205.
- Bensoltane.A, Chougrani.F et Cheriguene.A(2009). Physico-chemical and rheological properties of yoghurt manufactured with ewe's milk and skim milk African Journal of Biotechnology Vol. 8 (9), pp. 1938-1942, Available online at <http://www.academicjournals.org/AJB>. ISSN 1684-5315 © 2009 Academic Journals.
- Björkroth K.J., Geisen R., Schillinger U., Weiss N, De Vos P., Holzapfel W.H., Korkeala H.J. And Vandamme P.(2000): Characterization of *Leuconostoc gasicomitatum* sp. nov., associated with spoiled raw tomato-marinated broiler meat strips packaged under modified-atmosphere conditions. *Appl. Environ. Microbiol.*, 66, 3764-3772.
- Booth J.R (1985) regulation of cytoplasmic pH in bacteria. *Microbiological reviews* 49 ,359_364 .
- Broadbent J. R., McMahon D.J., Oberg C.J., Walker D.L. 2001. Use of exopolysaccharide-producing cultures to improve the functionality of low fat cheese. *Int. Dairy J.* 11: 433-439.
- C.M.B.K. Muyanja, J.A. Narvhus, J. Treimo, T. Langsrud (2003). Isolation characterisation and identification of lactic acid bacteria from bushera: A Ugandan traditional fermented beverage, *International Journal of Food Microbiology* 80 (2003) 201– 210, www.elsevier.com/locate/ijfoodmicro.

C

- Caplice. E et Fitzgerald .G(1999) : Food fermentations : role of microorganisms in food production and preservation. *International journal of food microbiology* 50 :131_149.
- Carr Frank J., Chill Don, and Maida Nino, 2002. The Lactic Acid Bacteria: A Literature Survey. *Critical Reviews in Microbiology*, 28(4): 281–370.
- Casu. Bayazoogli. J. (1999). La production ovine laitière méditerranéenne: région de productions, type génétique utilisé système d'élevage et perspectives d'avenir. Ciheam-option.

Références Bibliographiques

- Chapman, H.R. and Sharpe, M.E. (1981). Microbiology of cheese. In: Dairy Microbiology, Robinson R.K., Eds., Vol. 2, The microbiology of milk products, Applied Sciences Publishers LTD, London, pp: 157-243.
- Cholet O., 2006. Etude de l'écosystème fromager par une approche biochimique et moléculaire. *Institut National Agronomique Paris-Grignon. Ecole Doctorale ABIES.*
-
- Collins Y. F., Mc Sweeney P. L. H. Et Wilkinson M. G., (2003). Evidence of a relationship between autolysis of starter bacteria and lipolysis in Cheddar cheese during ripening. *Journal of Dairy Research*, 70: 105-113.
- Collins M.D., Samelis J., Metaxopoulos J., 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.
- Croguenne et T., Jentet R. et Brule G. (2008). Fondements physiologiques de la technologie laitière. Ed. Tec et Doc. Paris

D

- Daeschel, M.A (1989). Antimicrobial substances from lactic acid bacteria for use in food preservations. *Food tech.* 43: 164-167.
 - Daly, C., Fitzgerald, G. F., O'Connor, L., Davis, R. (1998). Technological and health
 - De Roissart H. 1986. Bactéries lactiques In Ecosystème microbien d'un atelier fermier de salaison identification et propriétés des bactéries lactiques. Thèse de doctorat. Université de Rennes-France.
 - De Roissart, H. (1994), Bactéries lactiques: aspects fondamentaux et technologiques. Lorica, Uriage. 1220 pp.
 - Dellaglio, F., Sarra, P.G. and Vescovo, M. (1981). DNA-DNA homology of *Pediococcus* strains isolated from some Italian cheeses. *Zentralbl. Bakteriologie, Mikrobiol. Hyg., 1 Abt. Orig. C2*, pp: 278-281.
- Department of Food Sciences-College of Agriculture-Tikrit University (2013). Identification of *Lactococcus lactis subsp lactis* from fermented dairy products samples. p 154
- Dellaglio F., de Roissard H., Torriani S., Curk M.C., Janssens D. 1994. Caractéristiques générales des bactéries lactiques. P. 25-116. In : De Roissard H., Luquet F.M. (ed) *bactéries lactiques*. Vol I. Lorica : Uriage, Paris, France.

Références Bibliographiques

- Deroissart H.B., Et Luquet M., (1994). «Bactéries lactiques». Vol I. Ed.Lorica. 605 p.
- Desmazeaud M. 1992. Les bactéries lactiques. P. 9-60. In : Hermier J., Lenoir J., Weber F (ed) *Les groupes microbiens d'intérêt laitier*. Technique et documentation, Lavoisier, Paris, France.
- Desmazeaud, M. (1996). Les bactéries lactiques dans : L'alimentation humaine : utilisation et innocuité. Cahiers Agricultures, 5, pp: 331-343.
- Devriese L.A., Pot B., Collins M.D. 1993. Phenotypic identification of the genus *Enterococcus* and differentiation of phylogenetically distinct enterococcal species and species groups. *J. Appl. Bacteriol.* 75: 399-408.
- Dockes.A, Anne Mottet, Delphine Neumeister,Fabie Champion, Gilles Lagriffoul , Emmanuel Morin, Christophe Perrot (2012). *Bergers demain brebis laitières, les perspectives de la production de lait de brebis en France et ses concurrents autour de la méditerranée*, Institut de L'élevage.
- Drider D., Bekal S. Et Prévost H., (2004). Genetic organization and expression of citrate permease in lactic acid bacteria. *Genetic Molecular Research*, 3: 273-281.

E

- Ennahar, S., Cai, Y. & Fujita, Y., (2003). Phylogenetic diversity of lactic acid bacteria associated with paddy rice silage as determined by 16S ribosomal DNA analysis. *Application Environment Microbiology*, 69: 444-451.

F

- Francois M. Luquet, *Laits et produit laitiers. Vache. Brebis. Chevre*, 2^{eme} editions Lavoisier.
- Francois M. Luquet, *Laits et produit laitiers. Vache. Brebis. Chevre*, collection sciences et technologie agro-alimentaires, éditions technique et documentation Lavoisier, 1986 ISSN : 0243-5624.
- Francoit Z.N ;Nour El Houda Florance F.A ;Paul M.F ;Félicite T.M And El Sodam (2007) :Biochemical properties of some thermophilic lactic acid bacteria strain from traditional fermented milk relevant to their technological performance as starter cultures.*Biotechnology* 6(1) :14-21.
- Fenton M.P. 1987. An investigation into the sources of lactic acid bacteria in Grass silage. *J. Appl. Bacteriol.* 62: 181-188.

Références Bibliographiques

G

- Garneau. S; Martin .N I Et Vederas . Jc .(2002). tout bacteriocins produced by lactic acid bacteria .Biochimie.84.p577_592.
- Georgalaki .M.D ;Papadelli M ;Anastasiou R ;Kalantzopoulos G ;ET Tsakalidou E .(2002). Purification and characterization of the X- prolyl-dipeptidyl aminopeptidase (pepX) From *Sterptococcus macedonicus* And cloning of the pepX gene .Le lait ,82 , 657-671.
- G. Corrieu, F.M. Luquet,, (2008). Bactéries lactiques de la génétique aux ferments, éditions TEC & DOC. Lavoisier, 2008 ISBN : 2-7430-1016-4 ISSN : 0243-5624
- Grattepanche F., (2005). Étude d'un système de préfermentation en continu du lait par une culture mixte immobilisée fonctionnelle *Thèse de Doctorat*. Université Laval. Quebec : 134p.
- Guessas, B Guetouache, M (2005). Characterization and identification of lactic acid bacteria isolated from traditional cheese (Klila) prepared from cow's milk African Journal of Microbiology Researc, ISSN 1996-0808, <http://www.academicjournals.org/AJMR>.
- GUIRAD J P (2003) :Microbiologie alimentaire .Technique d'analyses microbiologique.Ed Dunod,Paris 651p .
- Guiraud J.P. (1998). Microbiologie alimentaire. Edition DUNOD.

H

- Hadadji M, Guessas B, Adjoudj F, and Kihal M, (2012). Isolation and Identification of Lactic Acid Bacteria from Dhan, a Traditional Butter and Their Major Technological Traits, World Applied Sciences Journal 17 (4): 480-488, ISSN 1818-4952.p 481.
- Hardie J.M., Whiley R.A. 1997. Classification and overview of the genera streptococcus. J Appl. Microbiol. Symposium supplement 83: IS-IIS.
- Hugenholtz J. (2003). Effects of cultivation conditions on folate production by lactic acid bacteria. Applied and Environmental Microbiology, 69, 452–458.
- Hugenholtz J., (1993). Citrate metabolism in lactic acid bacteria. FEMS Microbiology ,12:165-178.
- Hugenholtz, J., Sybesma, W., Groot, M. N., Wisselink, W., Ladero, V., Burgess, K., van Sinderen, D., Piard, J.C., Eggink, G.J., Smid, E., Savoy, G., Sesma, F., Jansen, T., Hols, P., Kleerebezem, M. (2002). Metabolic engineering of lactic

Références Bibliographiques

acid bacteria for the production of nutraceuticals. *Antonie Van Leeuwenhoek*. 82: 217-235.

J

- Jones, D. (1978). Composition and differentiation of genus *Streptococcus*. In: *Streptococci*. Skinner, F. A., Quesnel, L. B., Eds. Academic Press, London, pp: 149
- Keenan T.W., Lindsay R.C., (1966). Removal of green flavor from ripened butter cultures. *J. Dairy sci.*, 49, 1563-1565.

K

- Kashet E.R (1987). Biomergetics of lactic and bacteria cytoplasmique ph and osmotolerance. *FEMS microbiol, Rev.*46: 233-244.
- Kandler O., Weiss N. 1986. Regular, non-sporing gram-positive rods. P. 1208-1234. In: Sneath P.H.A (ed.) *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Williams & Wilkins. Baltimore, MD, Etats-Unis.
- Karem N.E, Dellalia, Zadi. Karem, 2012, activite lipolytique chez les bacteries lactiques, lipolytic activity from lactic bacteria, reaserch ruminants, 2012.
- Kelly W.J., Davey G.P., Ward L.J. 1998. Characterization of lactococci isolated from minimally processed fresh and vegetables. *Int. J. Food Microbiol.* 45: 85-92.
- Khalid N.M. Et Marth E.H., 1990. Lactobacilli, their enzymes and role. In: Ripening and spoilageof cheese. *Rev. Dairy Sci.* **73** : 158-167.
- Kihal M, (1996). Etude de la production du dioxyde de carbone par *Leuconostoc mesenteroides*, éléments d'application en technologie fromagère type fromage bleu. Thèse de Doctorat d'Etat. Université d'Oran Algérie.
- Klaenhammer T. R. (1988). Bacteriocins of lactic acid bacteria. *Biochimie* 70:337-349.
- Klaenhammer T. R. Fremanse, c et Hacher, Y (1994). Activite antibacterienne des bacteries lactiques, de Roissirt et F.M Luquet, Lorica.
- Klein G., Pack A., Bonaparte C., Reuter G., (1998). Taxonomy and physiology of probiotic lactic acid bacteria International. *Journal of Food Microbiology* ., 41: 103-125.
- Klein G., 2003. Taxonomy, ecology and antibiotic resistance of enterococci from food and the gastro-intestinal tract. *Int. J. Food Microbiol.* 88: 123-131.
-

Références Bibliographiques

L

- Lacroix, M. & Millette, M.,(2011). Antimicrobial activity of bacteriocin-producing lactic acid bacteria.
- Lane. C.N and Fox. P.F,(1996) : Contribution of starter and added lactobacilli to proteolysis in Cheddar cheese during ripening. *Int Dairy, J* 6: 715-728.
- Larpent, J.P., Larpent, G.M., (1990). *Mémento technique de microbiologie*. 2ème édition.Lavoisier Tec et Doc. Paris. PP 417.
- Leclercq R. 1997. Enterococci acquire new kinds of resistance. *Clin. Infect. Dis.* 24: (suppl, I), S80-S84.
- Lister, J. (1978). On lactic fermentation and its bearing on pathology. *Trans Path. Soc.* 29:425-67.

M

- Mahantesh M Palit, T A nand and KVRamana (2010). Isolation and characterization of acid bacteria from curd and cucumber, *Indian journal of biotechnology* vol 9. [E – mail: dfrlmysore@sancharnet.in](mailto:dfrlmysore@sancharnet.in).
- Mahi, M (2010). Etude Technologique Des Bactéries Lactiques isolées à Partir Du Lait De Brebis, En vue de l’Obtention du Diplôme de Magister Option : Microbiologie Alimentaire. Université d’Es-Senia Oran. Faculté des Sciences (2009/2010)
- Marshall V.M.E., Law B.A. 1984. The physiology and growth of dairy lactic acid bacteria. P. 153-186. In: De Davies F.L., Law B.A. (ed) *advances in the microbiology and biochemistry of cheese and fermented Milk*. Elsevier Applied Sciences Publishers.
- Mathieu J. (1998), *Initiation à la physicochimie du lait*. Guides Technologiques des IAA. Edition Lavoisier Tec et Doc, Paris.
- Melchiorson C. R., Jokumsen K. V., Villadsen J., Israelsen H. Et Arnau J., (2002). The level of pyruvate-formate lyase controls the shift from homolactic to mixed-acid product formation. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 58: 338-344.
- Mierau, I. et M. Kleerebezem. (2005). 10 years of the nisin-controlled gene expression system (NICE) in *Lactococcus lactis*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 68:705-17.
- Mills, S., O. E. McAuliffe, A. Coffey, G. F. Fitzgerald et R. P. Ross.(2006). Plasmids of lactococci - genetic accessories or genetic necessities? *FEMS Microbiol. Rev.* 30:243-73.

Références Bibliographiques

N

- Nashnush;H et Meunier-Goddik .L (2006). Sheep Milk Cheese. <http://extension.oregonstate.edu/catalog>.
- Nes, L.F et Holo. H 2000. Classe 2 antimicrobial peptides from lactic acid bacteria biopolymerase 55 : 50-61.
- Novel G., (1993). Les bactéries lactiques In Microbiologie industrielle : les microorganismes d'intérêt industriel. Leveau J-Y., Bouix M. Tec & Doc, Lavoisier, pp : 170-374 of *Dairy Science*, 87: 3225-3234.

O

- Ogier J.C., Son O., Gruss A., Tailliez P., Delacroix-buchet A. 2002. Identification of the Bacterial microflora in Dairy Products by Temporal Temperature Gradient Gel Electrophoresis. *Appl. Environ. Microbiol.* 68: 3691-3701.
- Omar Hassan. 2013. Caractéristiques d'intérêt technologiques de souches de bactéries lactiques isolées de lait camelin de sud Algérien, thèse de doctorat, université d'Oran.
- Orla Jensen S.A., (1919). The lactic acid bacteria. *Men. Acad. Roy. Sci. Let. Copenhagen, Sect. Sci.*, 5: 81-196.

P

- Pandy A. J and Ghodke K.M. (2007). Goat and sheep milk products other than cheeses and yaourt, *small Ruminant research*, 68, 199- 06.
- Parente, E. et T. M. Cogan. (2004). Starter cultures: general aspects. *Dans: Cheese: chemistry, physics and microbiology*, 3rd edition, P. O. Fox (ed.). Elsevier, Oxford, United Kingdom.
- Pawlowska A.M, Zannini E, Coffey A et Arendt E.K., (2012), "Green Preservatives" : Combating Fungi in the Food and Feed Industry by Applying Antifungal Lactic Acid Bacteria, In: H.Jeyakumar, *Advances in Food and Nutrition Research*, Elsevier, 244 pp.
- Pikul J Lasik.A, Danków. R, Cais-Sokolińska. P, (2011). The fermentation dynamics of sheep milk with increased proportion of whey proteins, *Acta Sci. Pol., Technol. Aliment.* 10 (2), 155-163,ISSN 1889-9594 (online), www.food.actapol.net. p 156.
- Pirisi A., Lauret A and Dabenf J.P. (2007) basic and incentive payments for goat and sheep milk in relation to quality *Small Ruminant Research*, 68 : 167-178.

Références Bibliographiques

- Pot B. (2008). The taxonomy of lactic acid bacteria. In Bactéries lactiques, de la génétique aux ferments. Ed. Corrieu, G. et Luquet, F.-M. Tec & Doc. Lavoisier, Paris. pp1-152.
- Prescott L. M., Harley J. P., Klein D. A., (1999). Microbiology, 4th edn. New York: R. Stiles M.E. Et Holzapel W.H. 1997. Review article Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy. *Int. J. Food Microbiol.* 36: 1-29.
- Rammelsberg M., Müller E. & Radler F. (1990). Caseicin 80: purification and characterization of a new bacteriocin from *Lactobacillus casei*. *Archives of Microbiology* 154:249-252.
- Ringo, E. & Gatesoupe, J., (1998). Lactic acid bacteria in fish: a review. *Aquaculture*, 160 : 177-203.

S

- Sánchez B., Bressdier P., Chaignepain S., Schmitter J.M., & Urdaci M.C.(2009). Identification of surface associated proteins in the probiotic bacterium *Lactobacillus rhamnosus* GG. *International Dairy Journal* 19:85-88.
- Schaafsma .G (1996) : State of the art concerning probiotic strains in milk product IDF Nutrnews :5 ;4_23.
- Schleifer, K. H., J. Kraus, C. Dvorak, R. Kilpperbalz, M. D. Collins et W. Fischer. (1985). Transfer of *Streptococcus lactis* and related streptococci to the genus *Lactococcus* gen. nov. *Syst. Appl. Microbiol.* 6:183-95.
- Siegumfeldt. H, Rechanger. K.B and Jakobsen. M,(2000) : Dynamic changes of intracellular pH in individual lactic acid bacterium cells in response to a rapid drop in extracellular pH. *Appl Environ Microbiol*, 66: 2330-2335.
- Siezen, R. J., B. Renckens, I. van Swam, S. Peters, R. van Kranenburg, M. Kleerebezem et W. M. de Vos. (2005). Complete sequences of four plasmids of *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* SK11 reveal extensive adaptation to the dairy environment. *Appl. Environ. Microbiol.* 71:8371-82.
- Stackebrandt, E., Frederiksen, W., Garrity, G.M., Grimont, P.A., Kampfer, P., Maiden, M.C., Nesme, X., Rossello-Mora, R., Swings, J., Truper, H.G., Vauterin, L., Ward, A.C. et Whitman, W.B., (2002). Report of the Ad Hoc Committee for the Re Evaluation of the species definition in bacteriology. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 52: 1043-1047.

Références Bibliographiques

- Stile M ; E,Holzapfel W.H,(1997),Lactic acid bacteria of food and their current taxonomy,International Journal of Food Microbiology,36 , 1-29. *Streptococcus diacetylactis* metabolism. Appl. Microbiol. Biotechnol.40 : 399-401.
- Suhigara, T.F. (1985). The Lactobacilli and Streptococci: bakery products. In: Bacterial Starter Cultures for Foods. Gilliland S.E. Eds. CRC Press Boca Raton. Florida, 9,pp: 120-125.

T

Tabak. S, Bensoltane.A , (2011). L'activité antagoniste des bactéries lactiques (*Streptococcus thermophilus*, *Bifidobacterium bifidum* et *Lactobacillus bulgaricus*) vis-à-vis de la souche *Helicobacter pylori* responsable des maladies gastroduodénales, Nature & Technologie, biologi4000@hotmail.fr.

technologie laitière. Le Lait, 1988, 68 (3), 249-280.

- Tamine A.Y., **2002**. Microbiology of starter cultures. In: Dairy microbiology handbook (Robinson R.K.). 3e Ed., John Wiley and Sons, Inc., New York. 261-366.
- Teuber, M.(1995). The genus *Lactococcus*. Dans: The genera of lactic acid bacteria, B. J. B. Wood et W. H. Holzapfel (ed.). Springer, Blackie, London.
- Todorov, S.D et Dicks, L.M.T (2005). Lactobacillus plantarim isolated from molass produces bacterocines actives against gram negative bacteria, Elsevier. Enzyme and microbiol technologie 36: 318-326.
- Thompson J., Gentry-Weeks C.R., 1994. Métabolisme des sucres par les bactéries lactiques. In :Bactéries lactiques (De Roissart H. et Luquet F.M.). *Lorica, Uriage*. **1** : 239-290.
- Tungjaroenchai W, White C. H, Holmes W. E. Et Drake M. A., (2004).Influence of adjunct cultures on volatile free fatty acids in reduced-fat Edam cheese. *Journal*

V

- Vandamme P., Pot B., Gillis M., de Vos P., Kersters K. & Swings, J. (1996). Polyphasic taxonomy, a consensus approach to bacterial systematics. Microbiol Rev 60:407-438.

Références Bibliographiques

W

- Walsh B. et Cogan T.M., (1973). Diacetyl, acetoin and acetaldehyde production by mixed-species lactic starter cultures. Appl. Microbiol., 26, 820-825. WCB/McGraw-Hill.

Y

- Y.W. Park, M. Juarez, M. Ramosc, G.F.W. Haenlein (2007). Physico-chemical characteristics of goat and sheep milk. Small Rumin Res, Science Direct. Small Ruminant Research 68 (2007) 88–113.
- Yabrir Benalia, 2012, le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine bulletin de la FAO, étude de la qualité du lait de brebis collecte dans la région de Djelfa (thèse de doctorat en biochimie)
- Yanagida.F, Yi-sheng C, Hui-chung W, (2010). Isolation and characteristics of lactic acid bacteria isolated from ripe mulberries in taiwan, Brazilian Journal of Microbiology 41: 916-921, ISSN 1517-8382. yisheng@mail.mcu.edu.tw .

Z

- Zadi-Karam H, Kalbaza K., N-E. Karam. (2011). Identification et caractéristiques technologiques de 18 souches de *Leuconostoc* isolées de lait de chamelle de Béchar. Identification and technological characteristics of 18 *Leuconostoc* strains isolated of camel milk from Bechar. Renc. Rech. Ruminants.
- Zahia benmouna. 2012. Bactériocines des bactéries lactiques études biochimiques et génétiques, thèse de magistère en biotechnologie.
- Zarour K, Benmechernene Z, Hadadji M, B. Moussa-Boudjemaa M, HENNIJ et Kiha I M(2013). Caractérisation microbiologique et technologique des espèces de, *Leuconostoc mesenteroides* isolées du lait cru de chèvre et de chamelle d'Algérie. kihalm@gmail.com
- Zarour K, (2010). Contribution à l'étude microbiologique et technologique des espèces de *leuconostoc mesenteroides* isolées de différents écosystèmes. En vue de l'Obtention du Diplôme de Magister Option : Contrôle et hygiène microbiologique, Spécialité : Microbiologie fondamentale et appliquée. Université d'Es-Senia Oran. Faculté des Sciences (2010).