

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE ABDELHAMID IBN BADIS – MOSTAGANEM



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Domaine : S.N.V
Filière : Sciences Agronomiques
Spécialité : Production et Biotechnologie Animales

THESE
PRESENTEE POUR L'OBTENTION DU DIPLOME DE
DOCTORAT 3ème CYCLE LMD
Par

Mme KETROUCI Leyla

THEME

**Etude physico-chimique et microbiologique du lait de brebis collecté
dans différentes régions d'Algérie, détermination de la flore lactique
et des caractéristiques technologiques des bactéries lactiques**

Soutenu publiquement le : 29 /09 / 2021

Devant le jury :

M HOMRANI	Abdelkader	Président	Professeur	Univ. Mostaganem
Mme DALACHE	Fatiha	Directrice	Professeur	Univ. Mostaganem
M HASSAINE	Omar	Examineur	Professeur	Univ. Oran
M BEKADA	Ahmed Mohamed Ali	Examineur	Professeur	C.U. Tissemsilet
Mme TAHLAITI	HAFIDA	Examinatrice	M.C.A	Univ. Mostaganem

Laboratoire des Sciences et Techniques de Production Animales
Année universitaire 2020-2021

Remerciements

Je remercie Dieu le tout puissant, de m'avoir donné le courage, la force, la santé et la persistance pour mener à terme ce travail.

Je tiens à témoigner ma profonde gratitude à ma directrice de thèse, Professeur **DALACHE Fatiha**, pour la confiance qu'elle m'a accordée pour la réalisation de ce travail. Je tiens à la remercier pour sa grande rigueur scientifique, sa disponibilité, son soutien professionnel et ses précieux conseils avisés tout au long de l'élaboration de ce travail.

Les travaux présentés dans cette thèse ont été effectués au laboratoire des Sciences et Techniques de Production Animale université de Mostaganem à Hassi-Mamèche, Mostaganem dirigé par monsieur **HOMRANI Abdelkader**, Professeur à l'Université de Mostaganem, à qui j'exprime ma reconnaissance de m'avoir accueilli et mis à ma disposition tous les moyens nécessaires pour la réalisation de cette thèse. Je vous adresse pour la seconde fois mes vifs remerciements pour l'honneur que vous me faites en acceptant de présider ce jury.

Mes remerciements s'adressent aussi au monsieur **HASSAINE Omar**, Professeur à l'université d'Oran 1 d'avoir accepté d'examiner ce travail. Qu'il trouve ici l'expression de mes sentiments de respect.

Je remercie monsieur **BEKADA Ahmed Mohamed Ali**, Professeur à l'université de Tissemsilt de l'intérêt qu'il a porté à ce travail en acceptant d'être examinateur. Qu'il trouve ici l'expression de mon profond respect.

Mes vifs remerciements vont également à madame **TAHLAITI Hafida**, Maitre de conférences à l'université de Mostaganem qui a bien accepté d'examiner ce travail et de faire partie de ce jury.

J'adresse mes sincères remerciements à monsieur **BENABDELMOUMENE Djilali**, Maitre de conférences à l'université de Mostaganem. Je lui témoigne toute ma reconnaissance pour son aide précieuse dans le traitement statistique de mes résultats.

Je tiens à remercier particulièrement monsieur **BENMILOUD Djamel** et monsieur **DAHOU Amine**, Enseignants à l'université de Mostaganem ainsi que monsieur **BENREGUIEG Mokhtar** pour leur aide dans la collecte des échantillons de lait.

Tous mes remerciements d'adressent aux membres du Laboratoire LSTPA ainsi que monsieur **ABAIKI Ahmed**, **BENBOUZIANE Djilali** et **SOUANE Abdelkader**, responsables de laboratoire à l'université de Mostaganem.

Je n'oublie pas de remercier les doctorantes et les doctorants du laboratoire des sciences et techniques de productions animales de Hassi-Mamèche Mostaganem de la promotion 2014, **HOMRANI Mounia**, **MEGHOUFEL Naima**, **ZELMAT Nadia**, **BOUTARFA Asma**, **BENKRIZI Nawel**, **BELLABESS Mohammed**, **SEDDAOUI Ismail** et **SASSI El-hachemi**, avec qui j'ai partagé des moments inoubliables, parfois difficiles, mais le plus souvent agréables, merci à vous.

Finalement, je remercie tous ceux ou celles qui ont contribué de près ou de loin à l'accomplissement de cette thèse de doctorat et que je n'ai pu citer.

KETROUCI Leyla

A decorative border with a repeating floral motif surrounds the page. The border consists of small, stylized flowers and leaves arranged in a continuous line.

Dédicaces

A la mémoire de mon père que Dieu l'accueille dans son vaste paradis.

*A ma mère, Que ce travail soit pour toi le témoignage de mon infinie
reconnaissance pour ton aide précieuse et toutes ces années de compréhension,
que Dieu te donne la santé et longue vie.*

A mon frère Amine et mes chères sœurs Amel et Soumia.

Le travail mené dans cette thèse a fait l'objet de publication et communications internationales et nationales.

Publications internationales

- KETROUCI, Leyla., DALACHE., Fatiha. BENABDELMOUMENE., Djilali., DAHOU., Amine. And HOMRANI., Abdelkader. (2021). Technological Characterization of Lactic Acid Bacteria Isolated From Different Sheep's Milk. Asian Journal of Dairy and Food Research. 10.18805/ajdr. DR-230, April 2021.

Communications internationales

- KETROUCI. L ; DALACHE. F ; HOMRANI. A. Etude Comparative de la Composition Physicochimiques et Microbiologiques du Lait de Brebis Collecté dans l'Ouest Algérien. 2^{ème} Congrès International Biotechnologies au Service de la Société « Biotech 2017 ». **Fès, Maroc.** Du 22 au 25 Novembre 2017. Communication affichée.
- KETROUCI. L ; DALACHE. F ; HOMRANI. A. Caractérisation des Propriétés Nutritionnelles et Hygiéniques de Différents Echantillons de Laits de Brebis Collectés dans les Régions de Mostaganem et Naâma. 3^{ème} Congrès International CI-SAN 2017. **Constantine** le 30 Novembre 2017. Communication affichée.

Communications nationales

- KETROUCI. L ; DALACHE. F ; HOMRANI. A. Etude Comparative des Propriétés Physicochimiques et Microbiologiques de divers Echantillons de Lait de Brebis Collectés dans l'Ouest Algérien. VII Journées Scientifiques de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie. **Mostaganem** le 26 et 27 Avril 2017.
- KETROUCI. L ; DALACHE. F ; HOMRANI. A. Prospection et Dispersion du Cheptel Ovin dans l'Ouest Algérien, Réalisation de Prélèvement des Echantillons de Lait de Brebis. Deuxième Journée Scientifique et Technique : Apiculture et Valorisation des Produits de la Ruche. **Mostaganem** 21 Mai 2017.
- KETROUCI. L ; DALACHE. F ; DAHOU. A.E.A ; HOMRANI. A. Enquête sur l'Elevage des Petits Ruminants Ovins dans le Nord-Ouest de l'Algérie. La Première Conférence Nationale Virtuelle sur la Production Animale. **Mostaganem** 1^{ier} et 2 Juin 2021.
- KETROUCI. L ; DALACHE. F ; DAHOU.A.E.A ; HOMRANI. A. Caractérisation Technologique de Bactéries Lactiques Isolées à partir de Lait de Brebis Collecté dans le Nord-Ouest de l'Algérie. La Première Conférence Nationale Virtuelle sur la Production Animale. **Mostaganem** 1^{ier} et 2 Juin 2021. Communication orale.

Liste des tableaux

Titres de tableau	Page
Tableau 1 : Races ovines laitières dans le monde et leur production	04
Tableau 2 : Principaux pays producteurs de lait de brebis	05
Tableau 3 : Composition du lait de différentes espèces animales	12
Tableau 4 : Propriétés physiques de différentes espèces laitières	13
Tableau 5 : Pays d'origine de fabrication de fromages à base de lait de brebis	19
Tableau 6 : Distribution des échantillons collectés	48
Tableau 7 : Intervalle d'identification par MALDI-TOF	59
Tableau 8 : Résultats des paramètres physiques des échantillons de lait	64
Tableau 9 : Composition biochimique des laits de brebis collectés	68
Tableau 10 : Caractéristiques microbiologiques des échantillons de lait	75
Tableau 11 : Résultats des tests physiologiques et biochimiques réalisés pour l'identification des souches isolées	81
Tableau 12 : Identification des bactéries lactiques par MALDI-TOF	92
Tableau 13 : Résultats des activités technologiques des souches isolées	107

Liste des figures

Titres de figure	Page
Figure 1 : Evolution de la production mondiale des principaux laits depuis 1961 jusqu'à 2017 (en millions de tonnes).	06
Figure 2 : Effectif des cheptels en Algérie (MADR).	08
Figure 3 : Aires de répartition des races et localisation des types d'ovins en Algérie.	09
Figure 4 : Arbre phylogénétique montrant les principaux genres de bactéries lactiques	20
Figure 5 : Schéma de différenciation des principaux genres de bactéries lactiques	22
Figure 6 : Aspect d'un lactobacille en microscopie optique	23
Figure 7 : Aspect d'un entérocoque en microscopie optique	24
Figure 8 : Aspect d'un <i>Leuconostoc</i> en microscopie optique	25
Figure 9 : Aspect d'un lactocoque en microscopie optique	26
Figure 10 : Aspect d'un <i>Streptococcus</i> en microscopie optique	27
Figure 11 : Aspect d'un <i>Pediococcus</i> en microscopie optique	28
Figure 12 : Aspect d'un <i>Bifidobacterium</i> en microscopie optique	29
Figure 13 : Voies homofermentaire, hétérofermentaire et bifide de la dégradation du glucose	31
Figure 14 : Principales étapes du métabolisme du citrate par les bactéries lactiques	33
Figure 15 : Schéma récapitulatif des analyses réalisées	45
Figure 16 : Zone des prélèvements des échantillons de lait de brebis	46
Figure 17 : Codage des échantillons	48

Figure 18 : Paramètres physico-chimiques étudiés	49
Figure 19 : Flore de contamination recherchée dans les laits prélevés	51
Figure 20 : Incubation à 30°C et 37°C pendant 24 h à 48 h	53
Figure 21 : Etapes d'identification par spectrométrie de masse MALDI-TOF	59
Figure 22 : Activités technologiques étudiées par les bactéries lactiques	60
Figure 23 : Recherche des CT et CTT sur milieu VRBL	76
Figure 24 : Recherche de <i>S. aureus</i> sur milieu Chapman	77
Figure 25 : Recherche de <i>CSR</i> sur milieu Viande-foie	77
Figure 26 : Recherche des levures et moisissures sur milieu OGA	78
Figure 27 : Aspect macroscopique après purification	79
Figure 28 : Aspect microscopique après coloration de Gram	79
Figure 29 : Répartition des genres lactiques dans les échantillons des laits collectés	80
Figure 30 : Résultats des tests physiologiques et biochimiques réalisés	90
Figure 31 : Production des EPS par le genre <i>Leuconostoc</i>	94
Figure 32 : Résultats du test de production du diacétyle par les bactéries lactiques	96
Figure 33 : Résultats de l'activité protéolytique	98
Figure 34 : Résultats de l'activité lipolytique	100
Figure 35 : Pouvoir acidifiant et le potentiel d'hydrogène des 16 souches lactiques.	104
Figure 36 : Résultats de l'activité antagoniste contre <i>E.coli</i>	106

Liste des abréviations

ATCC: American Type Culture Collection

ATP: Adenosine try-phosphate

°C : degré Celsius

° D : Dornic

En : *Enterococcus*

EPS: Exopolysaccharides

ESD : Extrait Sec Dégraissé

EST : Extrait Sec Total

FAO: Food and Agriculture Organization

g : gramme

h : heure

Lb : *Lactobacillus*

Ln : *Leuconostoc*

MALDI : Matrix Assited Laser Desoprption Ionisation

MG : Matière Grasse

min : minute

ml : millilitre

MM : Matière Minérale

MRS : Man, Rogosa et Sharpe (Milieu de culture)

MSE : Mayeux, Sandine et Elliker (Milieu de culture)

ND : Non déterminé

N : normalité

NaCl : chlorure de Sodium

P : probabilité

PCA : plate Count Agar (Milieu de culture)

pH : Potentiel d'hydrogène

ssp : Sous espèces

T : température

UFC : unité formant colonies

μl : microlitre

v : Volume

Remerciement	
Dédicaces	
Productions scientifiques	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Liste des abréviations	
Résumé	
Abstract	
Résumé en arabe	

Sommaire

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

Partie bibliographique

Chapitre I : Situation du cheptel ovin dans le monde et en Algérie

1. Situation de l'élevage ovin et la production laitière dans le monde	4
2. Situation de l'élevage ovin en Algérie	7
3. Variétés de races ovines en Algérie	8
4. Système d'élevage ovin	10
4.1. Elevage extensif	10
4.2. Elevage intensif.....	10
4.3. Elevage semi-intensif.....	10

Chapitre II : Qualité nutritionnelle du lait de brebis

1. Composition du lait de différentes espèces.....	12
2. Caractéristiques physico-chimiques de lait de brebis	13
2.1. Paramètres physiques	13
2.1.1. Densité	14
2.1.2. Viscosité	14
2.1.3. Point cryoscopique.....	14
2.1.4. Acidité Dornic	14
2.1.5. pH- métrie	14
2.2. Paramètres biochimiques de lait de brebis	15
2.2.1. Protéines	15
2.2.2. Lipides	16
2.2.3. Lactose	16
2.2.4. Minéraux dans le lait de brebis	17
3. Caractéristiques technologiques du lait de brebis	17
4. Produits dérivés de lait de brebis	18

Chapitre III : Classification des bactéries lactiques

1. Présentation des bactéries lactiques	20
2. Origine et habitat	21
3. Taxonomie et classification des bactéries lactiques	22
3.1. Genre <i>Lactobacillus</i>	23
3.2. Genre <i>Enterococcus</i>	24
3.3. Genre <i>Leuconostoc</i> et <i>Oenococcus</i>	25
3.4. Genre <i>Lactococcus</i>	26
3.5. Genre <i>Streptococcus</i>	27
3.6. Genre <i>Pediococcus</i>	28
3.7. Genre <i>Bifidobacterium</i>	28
4. Métabolisme des bactéries lactiques	29
4.1. Principales voies fermentaires des bactéries lactiques	30
4.1.1. Voie homofermentaire	31
4.1.2. Voie hétérofermentaire	32
4.1.3. Voie bifide	32
4.2. Métabolisme de citrate	32

Chapitre IV : Propriétés technologiques des bactéries lactiques

1. Intérêt des bactéries lactiques dans l'industrie agro-alimentaire.....	34
1.1. Pouvoir acidifiant	34
1.2. Activité protéolytique.....	35
1.3. Activité lipolytique	37
1.4. Aptitude aromatisante.....	38
1.5. Pouvoir texturant	39
1.6. Pouvoir antimicrobien.....	40
1.6.1. Acides organiques.....	41
1.6.2. Peroxyde d'hydrogène.....	41
1.6.3. Bactériocine	42
1.6.4. Diacétyle	42
1.6.5. Reutéline	43
2. Intérêt de bactéries lactiques dans le domaine de la santé : probiotiques.....	43

Partie expérimentale

Matériels et méthodes

1. Présentation des régions et la période de prélèvements	46
1.1. Mascara.....	46
1.2. Mechria	47
1.3. Tiout (Naâma).....	47
2. Enquête préliminaire	47
3. Echantillonnage des laits de brebis	47
4. Analyses physicochimiques des laits de brebis	49
4.1. Mesure de pH	49
4.2. Détermination de l'acidité Dornic	49
4.3. Détermination des paramètres biochimiques	50

4.3.1.	Description de l'appareil Lactostar.....	50
4.3.2.	Principe de mesure	50
5.	Analyses microbiologiques des échantillons de laits	51
5.1.	Flore de contamination	51
5.1.1.	Dénombrement des coliformes totaux et fécaux	51
5.1.2.	Dénombrement des <i>Staphylococcus aureus</i>	52
5.1.3.	Recherche des <i>Clostridium sulfito-réducteurs</i>	52
5.1.4.	Recherche des levures et moisissures	53
5.2.	Dénombrement et isolement de la flore lactique.....	53
5.2.1.	Etude morphologique	54
5.2.2.	Coloration de Gram	54
5.2.3.	Test de catalase	54
5.2.4.	Conservations des souches	55
5.2.5.	Identification des isolats lactiques	55
5.2.5.1.	Identification phénotypique	55
a-	Croissance à différentes températures	55
b-	Test de thermorésistance	56
c-	Recherche de la production de gaz	56
d-	Croissances dans des conditions hostiles	56
e-	Croissance sur le lait de Sherman	56
f-	Hydrolyse de l'esculine	57
g-	Recherche de citratase	57
5.2.5.2.	Identification moléculaire	57
a-	Description de l'appareil	57
6.	Caractéristiques technologiques des bactéries lactiques isolées	60
6.1.	Production de diacétyle	60
6.2.	Production des exopolysaccharides	60
6.3.	Etude de l'activité lipolytique	61
6.4.	Etude de l'activité protéolytique	61
6.5.	Etude du pouvoir acidifiant	61
6.6.	Recherche de l'activité antimicrobienne	62
6.6.1.	Méthode de diffusion par touches	62
6.6.2.	Méthode de diffusion par puits	62
7.	Analyses statistiques	63

Résultats et discussion

Chapitre I : Propriétés physiques et nutritionnelles des laits de brebis

1.	Propriétés physico-chimiques des laits prélevés	64
1.1.	Evaluation des paramètres physiques	64
1.1.1.	Mesure du pH des laits de brebis prélevés	65
1.1.2.	Mesure de l'acidité titrable des laits de brebis	66
1.1.3.	Détermination de la densité des laits collectés	67
1.1.4.	Mesure du point de congélation.....	67
1.2.	Evaluation des paramètres biochimiques	68
1.2.1.	Teneur en matière grasse	69
1.2.2.	Taux protéique	70
1.2.3.	Teneur en lactose	71
1.2.4.	Teneur en minéraux	72
1.2.5.	Teneur en extrait sec total	73

Chapitre II : Caractéristiques microbiologiques des échantillons de laits de brebis

1. Dénombrement de la flore de contamination	75
1.1.Coliformes totaux et fécaux	76
1.2. <i>Staphylococcus aureus</i>	76
1.3. <i>Clostridium sulfuto-réducteurs</i>	77
1.4.Levures et moisissures	78
2. Détermination de la flore lactique	79
2.1.Critères morphologique.....	79
2.2.Indentification phénotypique	80
2.2.1. Genre <i>Enterococcus</i>	88
2.2.2. Genre <i>Lactobacillus</i>	89
2.2.3. Genre <i>Leuconostoc</i>	89
2.3.Indentification par MALDI-TOF.....	91

Chapitre III : Propriétés technologiques des bactéries lactiques

1. Production des exopolysaccharides	94
2. Production de composés aromatiques	95
3. Activité protéolytique	97
4. Activité lipolytique.....	99
5. Pouvoir acidifiant	101
6. Activité antimicrobienne.....	105

Conclusion et perspectives..... 114

Références bibliographiques 118

Annexes

Résumé

Notre étude a porté sur 7 échantillons, de lait de brebis, collectés dans les régions de Naâma, Mecheria et Mascara. Les résultats des analyses physico-chimiques étaient proches des normes retenues pour le lait de la même espèce. En revanche, une forte teneur en protéines et en matière grasse a été enregistrée dans les laits de Mecheria. L'évaluation de la qualité bactériologique des différents laits nous a permis de constater que ceux de Mascara sont fortement contaminés par rapport aux autres laits. 84 isolats lactiques purifiés et constitués en souche dont le genre *Enterococcus* était dominant avec une proportion de 71%, *Lactobacillus* 18% et *Leuconostoc* 11%.

Les bactéries lactiques ont ensuite été évaluées pour certaines activités technologiques. Parmi tous les isolats, seuls 10 ont produit des exopolysaccharides principalement du genre *Leuconostoc*. La production de diacétyl a été observée dans 69% des isolats. 79/84 isolats ont montré une activité protéolytique modérée. Pour le pouvoir lipolytique 56% et 60% des souches testées dégradent respectivement le tween 80 et l'huile d'olive. Deux souches d'*Enterococcus* ont montré la plus forte capacité d'acidification et une forte activité inhibitrice du genre *Enterococcus* a été observée contre les agents pathogènes testés principalement *E. coli*.

Mots clés : lait de brebis, bactéries lactiques, propriétés technologiques

Summary

Our study focused on 7 samples of sheep's milk collected in the regions of Naâma, Mecheria and Mascara. The results of the physico-chemical analyze were close to the standards adopted for milk of the same species. On the other hand, a high protein and fat content was recorded in Mecheria's milks. The assessment of the bacteriological quality of the various milks has shown us that those of Mascara are highly contaminated compared to other milks. 84 purified lactic isolates formed into a strain of which the *Enterococcus* genus was dominant with a proportion of 71%, *Lactobacillus* 18% and *Leuconostoc* 11%.

Lactic acid bacteria were then evaluated for certain technological activities. Of all the isolates, only 10 produced exopolysaccharides mainly of the genus *Leuconostoc*. Diacetyl production was observed in 69% of isolates. 79/84 isolates showed moderate proteolytic activity. For lipolytic power, 56% and 60% of the strains tested respectively degraded tween 80 and olive oil. Two strains of *Enterococcus* showed the strongest capacity for acidification and strong inhibitory activity of the enterococcus genus was observed against the pathogens tested mainly *E. coli*


Key words: sheep's milk, lactic acid bacteria, technological properties

ملخص

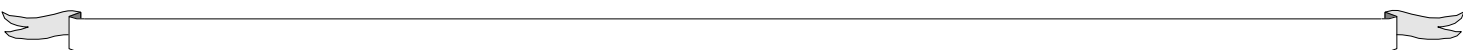
ركزت دراستنا على 7 عينات من حليب الأغنام تم جمعها من مناطق النعام، المشرية والمعسكر. كانت نتائج التحليلات الفيزيائية والكيميائية قريبة من المعايير المعتمدة للحليب من نفس النوع. من ناحية أخرى، تم تسجيل نسبة عالية من البروتين والدهن في عينات الحليب التي تم تجميعها من منطقة المشيرية. أظهر تقييم الجودة البكتريولوجية لمختلف أنواع العينات ان تلك المأخوذة من منطقة معسكر شديدة التلوث مقارنة بالعينات الأخرى.

تشكلت 84 عزلة من اللاكتيك المنقى في سلالة كان جنس *Enterococcus* هو السائد بنسبة 71٪ و18٪ *Lactobacillus* و11٪ *Leuconostoc*. ثم تم تقييم بكتيريا حمض اللاكتيك لبعض الأنشطة التكنولوجية. من بين جميع العزلات، أنتجت 11 فقط متعدد السكاريد الخارجية من جنس *Leuconostoc*. لوحظ إنتاج ثنائي الأستيل في 69٪ من العزلات. 84/79 عزلة أظهرت نشاط بروتيني معتدل. قوة التحلل الدهني، معظم السلالات المختبرة أظهرت نشاط دسمي سواء في وسط يحتوي اما على زيت الزيتون او Tween 80. أظهرت سلالتان من المكورات المعوية أقوى قدرة على التخمير ولوحظ نشاط مثبط قوي للجنس ضد مسببات الأمراض المختبرة بشكل رئيسي *E. coli*

الكلمات المفتاحية: حليب الخروف، بكتيريا حمض اللاكتيك، الخصائص التكنولوجية.



Introduction



Le lait est un aliment complet puisqu'il contient tous les composants essentiels sous une forme équilibrée, c'est un aliment hautement nutritif. Selon la **FAO (2019)**, la production mondiale de lait provenait essentiellement du lait de vache 81% suivi du lait de bufflonne 15% et d'autres types de laits (chèvre, brebis et chamelle) 4%, en 2018.

La consommation de lait a augmenté dans les pays en développement, mais elle a baissé dans le monde développé (**Mueholff et al., 2013**). La production de lait ovin et caprin est importante dans le bassin méditerranéen et au Moyen-Orient. En Algérie, l'évolution de l'élevage ovin a connu un taux de croissance particulier ces dernières années, passant de 16,7 millions de têtes en 2015 à plus de 17 millions en 2017 (**MADR**), ce qui peut être un avenir prometteur pour le secteur laitier dans l'industrie agro-alimentaire. La viande, la laine, le lait et les peaux sont les productions offertes par cette espèce, qui se basent en réalité sur 3 races principales : Ouled-Djellal, Rembi et Hamra.

Le lait de brebis a une valeur nutritionnelle haute et des concentrations élevées en protéines, graisses, minéraux et en vitamines, par rapport aux laits d'autres espèces domestiques (vaches et chèvres) (**Balthazar et al., 2017**).

Le lait est un produit très complexe, possédant naturellement de nombreux composants chimiques et physiques. Tous les laits contiennent le même type de constituants mais en quantité variable. Au sein d'une espèce donnée, les facteurs génétiques et des conditions environnementales comme le climat et le stade de lactation influencent la composition. Elle est également influencée par la race des animaux (**Claeys et al., 2014**).

Les caractéristiques physico-chimiques et nutritionnelles du lait de brebis peuvent être avantageuses pour la fabrication de produits contenant des ingrédients prébiotiques et / ou des bactéries probiotiques, qui sont des catégories majeures sur le marché des aliments fonctionnels (**Lordan et Zabetakis, 2017**).

Le lait qui est très intéressant sur le plan nutritionnel par ses composants moléculaires est aussi une source très importante de bactéries lactiques avec des propriétés probiotiques et technologiques intéressantes. Les aliments fonctionnels contenant des probiotiques font partie d'un nouveau marché qui recherche la satisfaction et l'acceptation des consommateurs, ils ont suscité l'intérêt de l'industrie alimentaire pour des raisons à la fois économiques et en raison de preuves scientifiques liées à leurs bienfaits pour la santé. Les consommateurs sont plus

conscients de la nutrition et de la qualité des aliments qu'ils consomment, ce qui augmente la demande d'aliments « sains » (**Ramos et al., 2017**).

Il y a quelques décennies que la recherche sur les bactéries lactiques fait l'objet de diverses études, d'un grand intérêt, car elles jouent un rôle fondamental dans l'amélioration de la qualité microbiologique et de la durée de conservation des produits laitiers fermentés.

Les bactéries lactiques constituent un groupe bactérien hautement phylogénétiquement hétérogène, ayant le statut GRAS (généralement reconnues comme sûres) car elles sont non pathogènes, adaptées aux processus technologiques et industriels, et ont la capacité de produire des substances antimicrobiennes (**Shehata et al., 2016**).

Les bactéries lactiques peuvent être trouvées dans un large éventail d'environnements naturels et sont considérées comme le microbiote dominant dans le lait et les produits laitiers (**Ayad et al., 2004**). Certaines caractéristiques des bactéries lactiques, telles que la production d'acide, le probiotique, la protéolyse et la lipolyse, ont contribué à leur utilisation comme souches starter ou d'affinage, et sont étudiées lors de la sélection de ces bactéries et de l'étude de leurs activités technologiques (**Mantzourani et al., 2019**).

Les souches indigènes de bactéries lactiques intéressent les chercheurs et les producteurs laitiers en raison de leur résistance inhérente aux phages, de leurs propriétés antimicrobiennes et de leur capacité à produire le goût et l'odeur typiques lors de la production de divers types de fromage. Aussi, l'implication générale que les normes d'hygiène actuelles de l'industrie laitière comme la pasteurisation et les procédés non thermiques tels que la microfiltration, la bactofugation prouvaient que le lait était d'excellente qualité microbiologique.

De plus, certaines espèces de bactéries lactiques, connues sous le nom de bactéries lactiques non starter, jouent également un rôle fondamental dans le développement de l'arôme et de la texture pendant le processus d'affinage des fromages, contribuant à leur qualité et à leur identité (**Kamimura et al., 2019 ; Cuffia et al., 2020**). Ces caractéristiques incluent leurs systèmes protéolytiques et lipolytiques et leur production d'exopolysaccharides (**Bintsis, 2018 ; Pereira et al., 2019**).

Les travaux présentés dans cette thèse ont été réalisés au niveau du Laboratoire des Sciences et Technique de Production Animale (LSTPA) de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université Abd-EL-Hamid Ibn Badis de Mostaganem. L'identification par MALDI-TOF a été réalisée au laboratoire de Microbiologie du Centre de Recherche Scientifique et Technique en Analyse Physico-chimique (CRAPC) de Tipaza (Alger, Algérie).

Notre étude s'inscrit dans la thématique de recherche de notre laboratoire (LSTPA). Pour ce faire ce travail vise à plusieurs objectifs :

- Analyse de la qualité physico-chimique du lait cru de brebis collecté dans les régions de Tiout (Naâma), Mecheria et Mascara,
- Evaluation de la qualité microbiologique des différents laits collectés.
- Isolement et identification de bactéries lactiques à partir des différents échantillons de lait.
- Evaluation de quelques aptitudes technologiques des bactéries lactiques isolées.
- Constitution d'un soucier de bactéries lactiques ayant une application dans la biotechnologie et dans l'industrie alimentaire.



Partie

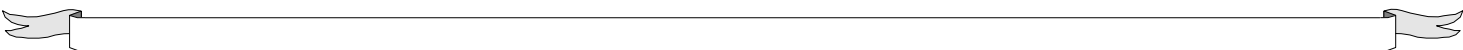
Bibliographique





Chapitre I

Situation du cheptel ovin dans le monde et en Algérie



1. Situation de l'élevage ovin et de la production laitière dans le monde

Selon la **FAO (2019)**, la production laitière mondiale est dominée par le lait de vache, soit 81% des quantités produites en 2018. Loin derrière, le lait de bufflonne avec 15% mais qui est peu prisé en Europe et essentiellement collecté dans les pays asiatiques (Inde, Pakistan, Chine). Vient ensuite les laits de chèvre 2%, brebis 1%, et autres mammifères 1%, comme la chamelle.

Le lait de brebis et de chèvre représente respectivement 36,5% et 63,5% de la production mondiale totale de lait de petits ruminants (**FAO, 2017**). Traditionnellement, toutes les races de moutons peuvent être traites, mais certaines races sont d'excellents producteurs de lait (Tableau 1). La période moyenne de lactation chez la brebis laitière varie de 180 à 240 jours alors que pour une race non laitière cette période est de 90 à 120 jours.

Tableau 1 : Races ovines laitières dans le monde et leur production (**FAO, 2017 ; Shinde et Naqvi, 2015**).

Population ovines mondiales	1202 millions
Brebis laitières	246 millions (21%)
Production de lait ovin dans le monde	10,42 millions de tonnes
Races ovines laitières bien connues	>200 litres/ lactation : <ul style="list-style-type: none">▪ Awassi et Assaf en Palestine,▪ Frise orientale en Allemagne,▪ Lacaune en France,▪ Sarde en Italie,▪ Chios en Grèce,▪ Manchega en Espagne.

Plus de la moitié de la population de moutons dans le monde est située dans les pays en développement ; les moutons sont plus nombreux que les chèvres dans les régions avec un climat plus froid. L'élevage ovin permet d'obtenir de nombreux produits tels que : le lait, la viande, la peau, la laine et le fumier mais la plupart des petits producteurs dans les pays en développement élèvent des moutons pour la viande ou la vente sur pieds sur les marchés locaux.

Chapitre I : Situation du cheptel ovin dans le monde et en Algérie

L'élevage ovin dans les pays en développement vise principalement à assurer la sécurité des moyens de subsistance, et non à des avantages commerciaux. Dans de nombreux pays en développement, la demande ainsi que l'offre visible de lait de brebis sont négligeables.

Dans les pays en développement, les brebis et les chèvres sont souvent gardées dans des environnements marginaux caractérisés par la rareté des pâturages et des conditions climatiques défavorables. La plupart des brebis laitières sont élevées dans la région méditerranéenne, et la plupart des races ovines laitières se trouvent dans cette région et dans le Proche-Orient.

La production de lait et la durée de la lactation des brebis laitières ne sont pas comparables à celles des vaches ou des chèvres laitières, mais la production de lait de brebis peut être accrue par la stimulation de la traite (par exemple, traite plusieurs fois par jour).

Les dix pays les mieux classés dans la production de lait de brebis sont énumérés dans le tableau 2.

Tableau 2 : Principaux pays producteurs de lait de brebis (FAO, 2017).

Classement	Pays	Production de lait de brebis (tonnes)
1	Chine	1 540000
2	Turquie	1101013
3	Grèce	705000
4	Syrie	684578
5	Roumanie	632582
6	Espagne	600568
7	Soudan	540000
8	Somalie	505000
9	Iran	470000
10	Italie	383837

Chapitre I : Situation du cheptel ovin dans le monde et en Algérie

Cependant, les fermes productrices de lait de brebis représentent une part importante des économies agraires dans de nombreux pays, en particulier ceux qui bordent la mer Méditerranée et au Moyen-Orient. Le premier producteur mondial de lait de brebis est la Chine (12,2%) et le premier producteur en Europe est la Grèce (8,7%), suivie de la Roumanie (7,2%). Le lait de brebis est également important au Proche-Orient et en Afrique du Nord, avec 7,5% de production, et un peu moins important en Afrique subsaharienne (5,6%) et en Asie de l'Est et du Sud-Est (3,9%). La production laitière des petits ruminants, y compris les moutons et les chèvres, a augmenté au fil des ans et est maintenant à la recherche de nouveaux marchés de consommation (Selvaggi et al., 2014).

Le lait de vache est le lait le plus produit dans le monde. Sa production mondiale a été multipliée par 2,2 entre 1961 et 2018, passant de 313,6 millions de tonnes à 683,2 millions de tonnes. En deuxième position, nous trouvons le lait de bufflonne, dont la production mondiale a été multipliée par 7,1 sur la même période, passant de 17,9 millions de tonnes à 127,3 millions de tonnes. Cette progression s'explique par le développement de la production laitière en Inde où le lait de bufflonne est très développé.

Le lait de chèvre et le lait de brebis ne représentent qu'une faible part de la production laitière mondiale mais sont néanmoins en progression. Leur production a été respectivement multipliée par 2,7 et 2,1 entre 1961 et 2018 (Figure 1).

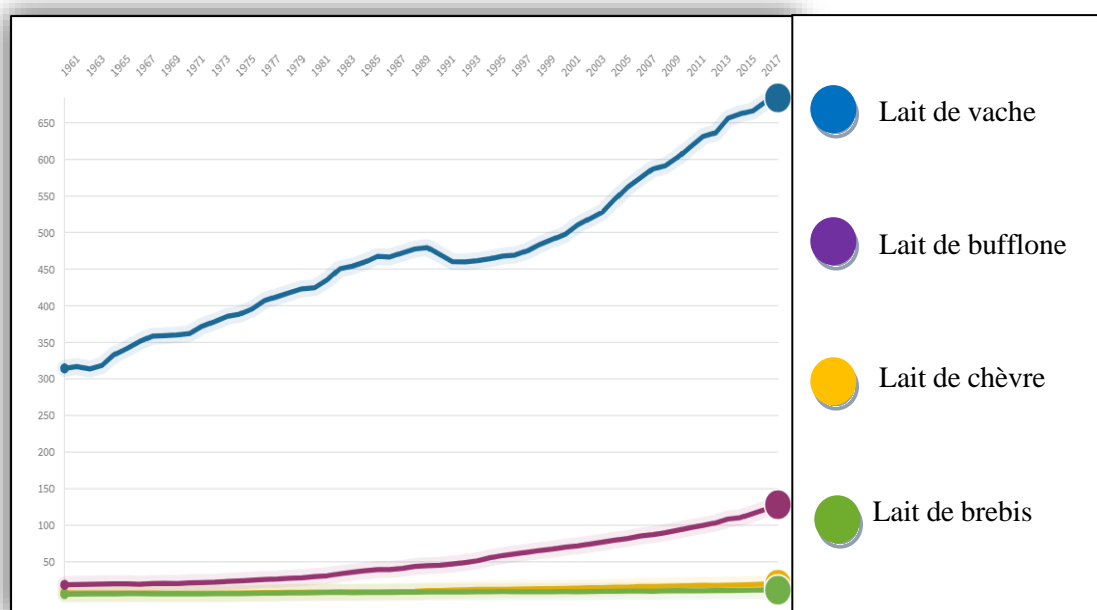


Figure 1 : Evolution de la production mondiale des principaux laits depuis 1961 jusqu'à 2017 (en millions de tonnes).

La qualité du lait de brebis est d'une importance capitale pour contrôler la qualité des produits laitiers (fromage, beurre et ghee) qui en sont issus. Dans le monde, la plupart du lait de brebis est transformée en fromage et en yaourt.

Dans les pays asiatiques et africains, le lait de brebis est transformé en beurre et en ghee. Le lait de brebis frais est rarement consommé en raison de sa teneur élevée en matières grasses et en matières solides totales. La production totale de fromage de brebis dans le monde est de 680,30 millions de kg et celle de beurre et de ghee de 63,25 millions de kg (FAO, 2016).

2. Situation de l'élevage ovin en Algérie

En Algérie, La filière élevage observe un rythme singulier de croissance depuis quelques années. En 2014, le cheptel national, tous types de ruminants confondus, dépasse le cap des 34 millions têtes, selon les statistiques du ministère de l'Agriculture et du développement rural.

Selon les statistiques du ministère de l'agriculture et du développement rural, les gros élevages pratiqués en Algérie concernent cinq principales espèces à savoir : les bovins, les ovins, les caprins, les camelins et les équins. Les effectifs totaux, toutes espèces confondues durant la décennie 2000 - 2009, étaient de l'ordre de 24,5 millions de têtes, cet effectif a augmenté pour atteindre 33.6 millions de têtes au cours de la période 2010 - 2017 soit un taux d'accroissement de 37%.

Durant la période 2010-2017, les effectifs ovins représentent 78% de l'effectif total ; soit 26,4 millions de têtes, vient en deuxième position, les effectifs caprins (14%) représentant 4.8 Millions de têtes, suivi par l'espèce bovine, qui avec 1,9 millions de têtes (dont 52% vaches laitières) pèse pour 6 % de l'effectif global. Les effectifs camelins et équins représentent respectivement 1% et 0.5 % des effectifs totaux (MADR) (Figure 2).

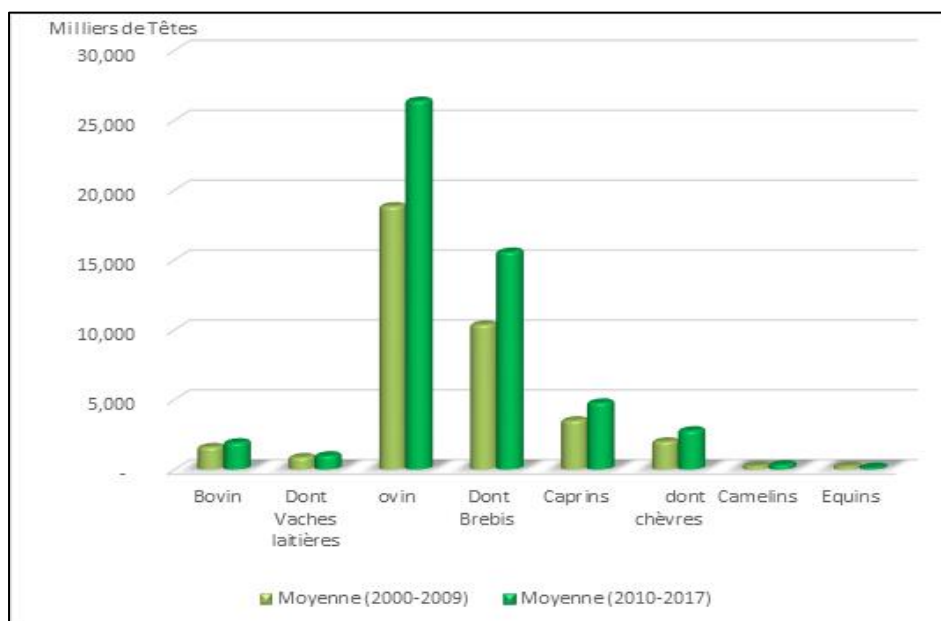


Figure 2 : Effectif des cheptels en Algérie (MADR).

Par type de cheptel, il est fait état de 26,88 millions têtes d’ovins, 4,9 millions têtes de caprins, 1,9 million têtes bovines ainsi que plus de 344 000 têtes camelines. L’élevage ovin représente ainsi près de 80% de l’effectif total du cheptel national. Aux termes de ce nouveau recensement, l’on relèvera une extension exceptionnelle de ce dernier, en l’occurrence le cheptel ovin, qui passe ainsi de 21 millions à plus de 26 millions têtes entre 2010 et 2014, soit une croissance qui avoisinerait 25%.

Avec 26 millions de têtes dont est composé le cheptel ovin, l’Algérie est classée au cinquième rang mondial en matière de production de la viande ovine, derrière la Chine 24%, l’Australie 8%, la Nouvelle Zélande 5% et le Soudan 4%. Des pays comme le Royaume Uni, l’Inde et la Turquie se positionnent à la même place que l’Algérie avec un taux de 3% chacun de la production mondiale de viande ovine, selon le bilan de **France AgriMer**.

3. Variétés de races ovines en Algérie

Avec un cheptel avoisinant les 26 millions de têtes, l’élevage ovin occupe une place importante en Algérie. Outre sa contribution de plus de 50 % dans la production nationale de viandes rouges et de 10 à 15% dans le produit intérieur brut agricole, l’élevage ovin joue un rôle socioculturel important. Il se pratique dans les différentes zones climatiques d’Algérie, depuis la côte méditerranéenne jusqu’aux oasis du Sahara.

Chapitre I : Situation du cheptel ovin dans le monde et en Algérie

Cette diversité pédoclimatique offre à l'Algérie une extraordinaire diversité de races ovines, avec huit races caractérisées par une rusticité remarquable, adaptée à leurs milieux respectifs (Figure 3) (Benyoucef et al., 2000).

- La race Ouled-Djellal (1) appelée la race Blanche, est considérée comme étant la plus importante race ovine algérienne. Avec plus de 63% de l'effectif national, son aire de distribution s'étale sur tout le nord algérien.
- La deuxième race en importance, avec 25% de l'effectif ovin national est la race Berbère (2). Elle est considérée comme la plus ancienne race algérienne et est élevée traditionnellement dans les massifs montagneux du Nord algérien.
- La Rembi (3), avec 11% du cheptel national, est considérée comme la plus lourde race ovine algérienne avec des poids avoisinant les 90 kg chez le bélier et 60 kg chez la brebis, elle est localisée exclusivement dans les régions de l'Ouarsenis et des Monts de Tiaret.
- Les races Barbarine (4), D'man (5), Hamra (6), Sidahou (7) et Tazegzawth (8) représentent moins de 1% du cheptel national et sont menacées de disparition et leur aire de distribution ne cesse de se rétrécir (Chellig, 1992).



Figure 3 : Aires de répartition des races et localisation des types d'ovins en Algérie.

4. Systèmes d'élevage ovins

4.1.Élevage extensif

Ce mode d'élevage est pratiqué dans les zones d'herbage, où les ovins sont souvent associés aux bovins. Les bâtiments sont très réduits (simples abris réservés aux périodes les plus froides et les plus humides). Les difficultés rencontrées dans ce type d'élevage sont de divers ordres (production d'herbe en été, parasitisme). L'amélioration des résultats technico-économiques repose sur une augmentation du chargement, c'est-à-dire du nombre de brebis entretenues par hectare, et sur une meilleure maîtrise de l'élevage des agneaux (**Craplet et Thibier, 1980**).

4.2.Élevage intensif

Ce système est répandu dans les régions avec culture importante qui impose par contre, un surcroît de travail de récolte, transport et distribution de fourrage, une alimentation des agneaux étant réalisée en grande partie avec des aliments secs (concentré, foin et paille) et de produits vétérinaires assurant un suivi sanitaire rigoureux (**Benyoucef et al., 2000**).

En Algérie, ce système d'élevage est rencontré particulièrement dans la région Nord et dans les plaines céréalières où les animaux utilisent aussi les pâturages. L'un des principaux objectifs de ce système est la production de jeunes animaux destinés au marché local et aux différentes manifestations religieuses (Aid-Adha, mois de Ramadan et fêtes de mariage).

4.3. Elevage semi-intensif

C'est le système d'élevage le plus répandu. En hiver, les troupeaux sont rentrés et nourris avec des fourrages conservés. Ce système d'élevage permet également des agnelages tout au long de l'année. Par ailleurs, les éleveurs qui disposent de parcours plus ou moins près de l'exploitation l'utilisent et font pâturer ces surfaces le plus souvent par des brebis non fécondées ou en période de lutte (**Craplet et Thibier, 1980**).

L'élevage ovin représente la spéculation agricole la plus importante en Algérie. Il contribue à 52 % de la production animale et représente 35% de la production agricole totale (**Benaïssa, 2001**). La viande, la laine, le lait et les peaux sont les productions offertes par cette espèce, qui se basent en réalité sur 3 races principales : Ouled-Djellal, Rembi et Hamra. Ces productions sont destinées à alimenter le marché national, ou à l'autoconsommation familiale

Chapitre I : Situation du cheptel ovine dans le monde et en Algérie

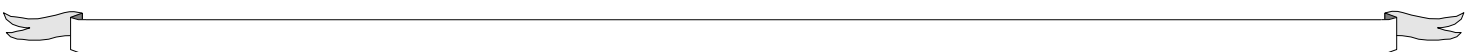
(**Khelifi, 1999**). Cet élevage représente ainsi une source de revenus pour de nombreuses familles à l'échelle de plus de la moitié du pays (**Mohammedi, 2006**).

En 2012, l'estimation de la production laitière ovine en Algérie était de 336 000 tonnes de lait (**FAOSTAT, 2014**) avec une moyenne de 400 g par brebis par jour pendant 4 à 5 mois de lactation. Elle est destinée exclusivement à l'allaitement des agneaux en zone steppique. La consommation humaine de lait de brebis dépend essentiellement de l'année (pluviométrie) et par conséquent de l'état des pâturages naturels.



Chapitre II

Qualité nutritionnelle du lait de brebis



1. Composition du lait de différentes espèces animales

Les compositions de lait de chèvre, de brebis, de chamelle, de buffle et de vache sont différentes. Elles varient selon le régime alimentaire, la race, les individus, la parité, la saison, l'alimentation, les conditions environnementales, la localité, le stade de lactation et l'état de santé du pis (Park, 2006).

Le lait est une sécrétion de la glande mammaire, dont les caractéristiques physiques et la composition varient selon les espèces. Il s'agit d'une émulsion complexe contenant des graisses, des protéines, du lactose, des minéraux, des enzymes, des hormones, des immunoglobulines et des vitamines. Les protéines sont principalement classées en protéines insolubles (caséines) et en protéines solubles (protéines de lactosérum) présentes dans le lactosérum (Selvaggi et al., 2014a).

Haenlein et Wendorff. (2006) ont rapporté que le lait de brebis est assez différent du lait de vache, car il est principalement produit par l'élevage saisonnier de brebis alors que les vaches se reproduisent toute l'année. Par conséquent, la saison de l'année est un facteur important qui détermine la composition du lait de brebis. Le tableau montre la composition de lait de vache, de brebis, et de chèvre.

Tableau 3 : Composition du lait de différentes espèces animales adapté par Selvaggi et al. (2014b) et Manca et al. (2016).

Paramètre	Lait de vache	Lait de chèvre	Lait de brebis
Humidité (g/100 g)	87,9 ± 0,5	87,6 ± 0,7	82,9 ± 1,4
Matières grasses (g/100 g)	3,3 ± 0,2	3,8 ± 0,1	5,9 ± 0,3
Minéraux (g/100 g)	0,7 ± 0,0	0,8 ± 0,1	0,9 ± 0,1
Lactose (g/100 g)	4,7 ± 0,4	4,1 ± 0,4	4,8 ± 0,4
Protéine (g/100 g)	3,4 ± 0,1	3,7 ± 0,1	5,5 ± 1,1
Caséine (g/100 g)	3,0 ± 0,1	2,4 ± 0,1	4,7 ± 0,5

La composition chimique du lait de brebis frais varie dans le temps et selon les animaux en fonction de plusieurs facteurs, tels que le stade de lactation, la parité, la saison, la température environnementale, l'efficacité de la lactation, l'âge et la nutrition des animaux, les facteurs génétiques (espèce et race) et les maladies de la mamelle (Tamime et al., 2011 ; Claeys et al., 2014). Les variations saisonnières affectent fortement la composition des acides gras en raison des changements dans la composition de fourrage des animaux nourris (Zlatanov et al., 2002 ; Revilla et al., 2017).

2. Caractéristiques physico-chimiques du lait de brebis

2.1. Paramètres physiques

Il existe des différences distinctes dans les caractéristiques physiques du lait de chèvre, de brebis et de vache. Le lait de brebis se distingue du lait de vache et de chèvre par une diversité dans les caractéristiques, les uns directement observables, les autres liés à ses particularités physiques et chimiques.

Parmi les caractéristiques physiques du lait de brebis, nous ferons état des suivantes : la densité, la viscosité, l'acidité, le point cryoscopique et le pH dans le tableau 4.

Tableau 4 : Propriétés physiques de différentes espèces laitières (Park, 2007).

Propriétés	Lait de brebis	Lait de chèvre	Lait de vache
Densité	1,034-1,038	1,027-1,035	1,023-1,039
Viscosité	2,86-3,93	1,8-1,9	2,0 - 2,2
Point de congélation (-°C)	-0,570-0,575	-0,540 -0,573	-0,530 -0,570
Acidité (en % d'acide lactique)	0,18-0,25	0,14-0,23	0,15- 0,18
pH	6,51-6,82	6,50- 6,80	6,65 - 6,71

2.1.1. Densité

La densité dépend généralement de la teneur en matière sèche et de celle de la matière grasse. La densité moyenne du lait de brebis, à la température de 20°C, se situe à 1,036. Les écarts maxima pour des laits de brebis de grands mélanges ont été observés dans la zone de Roquefort à 1,034 – 1,036. La densité varie avec la période de lactation : 1,035 – 1,038 au début de la période lorsque le lait est le moins riche, 1,036 – 1,038 pendant la période médiane et 1,034 – 1,035 en fin de périodes lorsque le lait est très riche en matière grasse (Park, 2007).

2.1.2. Viscosité

La viscosité élevée du lait de brebis est due aux différences de teneur totale en solides, qui ont un effet significatif sur la fermeté du lait caillé (Jumah et al., 2001). Une viscosité plus élevée peut également être attribuable à une capacité accrue de fixation de l'eau dans les protéines du lait. De plus, la teneur en graisse et en caséine possède une importante influence sur la viscosité du lait. La viscosité du lait de brebis reste plus élevée à celle de lait de vache et de chèvre (Tableau 4).

2.1.3. Point cryoscopique

Le point de congélation est mesuré pour déterminer la quantité d'eau ajoutée au lait susceptible d'affecter sa qualité. Le point de congélation du lait de brebis est inférieur à celui du lait de vache (Stancheva et al., 2009). Il s'agit d'une valeur assez constante. Dans la région de Roquefort ; et pour la race lacune, elle a été notée, se situant entre -0,570°C et -0,575°C.

2.1.4. Acidité Dornic

L'acidité Dornic d'un lait de brebis se situe entre 18 et 25°D (FAO, 2015). Elle est supérieure à celle du lait de vache estimée à 15 – 17°D (Croguennec et al., 2008). Pour l'ensemble des laits, elle varie en fonction de l'évolution de leur teneur en protéines du lait et aussi selon la saison (Debry, 2001).

2.1.5. pH-métrie

Selon le plan hygiénique, Pirisi et al., (2007) considèrent le pH du lait des petits ruminants comme l'un des indicateurs de la qualité du produit. Le pH global du lait de brebis varie d'une espèce à l'autre de 6,51 à 6,85 (Yabrir et al., 2013). Sa valeur moyenne est de

l'ordre de 6,65 de peu du pH moyen du lait bovin et caprin qui sont de 6,65 à 6,71 ; 6,50 à 6,80 respectivement (**Park et al., 2007**). Les mesures de l'acidité titrable et de pH-métrie sont des mesures statiques, qui donnent une information ponctuelle, à un instant donné.

2.2. Paramètres biochimiques du lait de brebis

Le lait de brebis diffère des autres laits les plus habituellement connus par sa richesse globale en composants fromagers (lipides et protéines). La composition du lait de brebis évolue assez fortement au cours de la période laitière. Cette évolution est d'ailleurs influencée par la race, l'alimentation, les conditions climatiques, la conduite de troupeau.

La valeur nutritionnelle du lait de brebis est supérieure à celle des laits de chèvre et de vache, avec des niveaux plus élevés de protéines, lipides, minéraux et vitamines essentielles à la santé humaine (**Kaminarides et al., 2007 ; Barłowska et al., 2011**).

2.2.1. Protéines du lait de brebis

Le lait de brebis contient presque deux fois plus de protéines que les laits de chèvre et de vache. Ces formes moléculaires de protéines et séquences d'acides aminés ont une qualité nutritionnelle importante (**Claeys et al., 2014**). Le lait de brebis a des teneurs plus élevées en sérine, alanine, histidine, valine et lysine, alors que les teneurs en cystine et glycine sont plus faibles. La valeur nutritionnelle élevée du lait de brebis est également liée à la teneur en proline, qui affecte la production d'hémoglobine (**Molik et al., 2012**).

La part protéique a un impact majeur sur la valeur nutritionnelle et technologique du lait. Les protéines du lait sont constituées de groupes hétérogènes en termes de composition et de propriétés et sont divisées en caséines - le groupe principal de protéines - et en fractions de protéines de lactosérum dans une moindre mesure. Le lait de brebis est riche en caséines (4,2 à 5,2 g / 100 g) et en protéines de lactosérum (1,02 à 1,3 g / 100 g) (**Dario et al., 2008 ; Selvaggi et al., 2014a**).

2.2.2. Lipides du lait de brebis

Le lait de brebis présente une composition lipidique avantageuse. La matière grasse du lait de brebis contient davantage d'acides gras à courte et à moyenne chaîne, mais moins d'acides gras à chaîne longue que le lait de vache, ce qui le rend donc plus facile à digérer.

Le lait de brebis et le lait de chèvre ont des concentrations élevées de globules gras, qui sont plus petits que ceux du lait de vache ; les diamètres moyens de ces globules sont respectivement d'environ 3,6 et 3,0 μm contre 4,0 μm (**Gantner et al., 2015 ; Balthazar et al., 2017**). De plus, l'agglutinine est absente du lait de brebis et de chèvre, offrant une meilleure digestibilité par rapport au lait de vache (**Park et al., 2007**). La taille et la dispersion des globules gras confèrent une plus grande consistance à ces laits, favorisant la congélation sans séparation de phase.

Ainsi qu'il a été déjà indiqué, la matière grasse est le constituant qui subit les plus grandes amplitudes de variation. La matière grasse des laits présente certaines constantes physiques et chimiques qui permettent de la caractériser. La couleur de la matière grasse du lait de brebis est nettement blanche. Cette particularité tient à la quasi-absence de carotène dans le lait de brebis car tout le β -carotène présent dans le lait est converti en rétinol, ce qui donne la couleur blanche de ce lait. Les glycérides représentent, en moyenne, 98 % des lipides totaux, c'est à peu près la même valeur que pour le lait de vache.

2.2.3. Lactose du lait brebis

Le lactose est le sucre spécifique du lait. Selon les valeurs rapportées par la bibliographie, ce glucide est l'un des constituants les plus stables et ne subit que de faibles variations, comparativement aux autres constituants majeurs. En effet, la valeur la plus faible (3,49%) a été enregistrée par **Maamouri et al. (2008)** en Tunisie par contre, la plus élevée (5,27%) est rapportée par **Kremer et al. (1996)** en Uruguay. L'amplitude de l'écart entre le maximum et le minimum est assez réduite (1,78%).

Les variations enregistrées à ce niveau sont liées à de multiples facteurs tels que les conditions climatiques, l'alimentation et la conduite du troupeau. Cependant, il existe des différences importantes dans la teneur en lactose entre le lait d'animaux pris individuellement, notons que la teneur en lactose du lait de brebis est soit inférieure ou égale à celle du lait de vache.

La teneur en lactose du lait de brebis est à peu près la même que celle du lait de vache. Cela rend en fait le lactose du lait de brebis moins en proportion des solides totaux que les solides totaux du lait de vache (22% à 27% contre 33% à 40%, respectivement) (**Ramos et Juarez, 2003**).

2.2.4. Minéraux dans le lait de brebis

Le lait de brebis est une riche source de minéraux. Les niveaux de calcium, de phosphore, de magnésium, de zinc, de manganèse et de cuivre sont plus élevés chez les brebis que dans le lait de vache, alors que l'inverse semble être le cas pour le potassium et le sodium (**Wijesinha-Bettoni et Burlingame, 2013**). Le calcium et le phosphore sont plus abondants dans le lait de brebis, éléments fondamentaux pour la croissance et le maintien des os, et essentiels pour les nouveau-nés (**Al-Wabel, 2008**).

La biodisponibilité de ces minéraux fait du lait de brebis une source précieuse de ces éléments. Le calcium présente une disponibilité importante pendant le processus de digestion du lait (**Gueguen et Pointillart, 2000**); par conséquent, la biodisponibilité du calcium dans le lait de brebis est fortement liée à des niveaux élevés de caséine (**Gaucheron, 2005**).

3. Caractéristiques sensorielles et technologiques du lait de brebis

Le lait de brebis a une saveur et un arôme doux et une texture crémeuse en raison de la présence de petits globules gras dispersés dans le lait, ce qui le rend plus facile à digérer (**Park et al., 2007**). Cette saveur se reflète dans les dérivés du lait de brebis, comme le beurre et le fromage (**Jooyandeh et Aberoumand, 2010**).

La lipase joue un rôle important dans la production de lait dans la glande mammaire. La lipase naturelle du lait de brebis catalyse et hydrolyse les triglycérides, entraînant la production d'acides gras, mais l'activité lipasique du lait de brebis est d'environ un dixième de celle du lait de vache. En outre, le lait de brebis a un taux élevé de triglycérides contenant des acides gras à chaîne moyenne par rapport aux acides gras à longue chaîne (**Chávarri et al., 1998**).

Les fromages de brebis traditionnels à base de présure d'agneau contiennent des lipases, y compris de l'estérase gastrique et des enzymes pré-gastriques, responsables de la libération d'acides gras à petite et moyenne chaîne dans la matrice alimentaire (**Jacob et al., 2011**). Ces composants sont importants dans le développement des profils de saveur de la

plupart des variétés de fromages, soit directement avec des acides gras spécifiques du lait ou indirectement avec des acides gras métabolisés par affinage des souches en esters, alcools et autres composés aromatiques (**Raynal-Ljutovac et al., 2008**).

Les protéines du lait de brebis sont principalement composées de caséine (résistante à la chaleur) et de protéines de lactosérum (sensibles à la chaleur), qui sont responsables de la texture et de la viscosité du yaourt et confèrent des propriétés uniques au lait de brebis. Ces caractéristiques permettent de convertir facilement le lait en fromage et en yaourt (**Tamime et al., 2011**). Avec la teneur élevée en solides du lait de brebis, le yaourt de brebis possède une résistance élevée au gel et présente une synérèse minimale par rapport aux yaourts de vache et de chèvre. En raison de l'acidité titrable et de la teneur en calcium plus élevées, le yaourt de brebis peut avoir tendance à avoir un corps et une texture légèrement granuleux (**Wendorff, 2005**).

4. Produits dérivés de lait de brebis

Le lait est un aliment nutritif précieux par conséquent c'est un produit très périssable qui a une durée de vie courte et qui doit être manipulé avec soin ou transformé directement après sa collecte. Il ne peut être stocké que quelques jours. Il est un excellent milieu de croissance pour les micro-organismes en particulier les bactéries pathogènes qui peuvent altérer le produit et causer des maladies chez les consommateurs. La transformation du lait permet de conserver ce produit pendant plusieurs jours, semaines ou mois et de réduire l'incidence des maladies d'origine alimentaire (**Albenzio et al., 2016**).

La durée de vie utile du lait peut être prolongée pendant plusieurs jours grâce à des techniques comme le refroidissement (qui est le facteur le plus susceptible d'influer sur la qualité du lait cru). La pasteurisation est un traitement thermique qui prolonge la durée de vie du lait et réduit le nombre de micro-organismes pathogènes à des niveaux qui ne représentent pas un risque important pour la santé. Le lait peut encore être traité davantage afin de le convertir en produits laitiers à forte valeur, concentrés et facilement transportables avec une durée de vie plus longue, tels que le beurre, le fromage et le ghee.

Le lait de brebis est principalement utilisé pour la production de fromages fins, de yaourts et de fromages de lactosérum (**Haenlein et Wendorff, 2006**). Les niveaux élevés de protéines, de matières grasses et de calcium par unité de caséine en font une excellente matrice pour la production de fromage (**Barłowska et al., 2011**). Même si la production de

lait de brebis est en plein essor, du point de vue de l'élevage, le lait de brebis n'a pas un rendement de production aussi élevé que le lait de vache et de chèvre en raison de la saisonnalité.

Ainsi, les fermes laitières de brebis de taille moyenne et petite congèlent le lait cru afin d'accumuler suffisamment de lait pour le transformer en produits laitiers (**Milani et Wendorff, 2011**). Le lait de brebis congelé à -27°C préserve la stabilité des protéines jusqu'à 12 mois de stockage. Cependant, pour maintenir la haute qualité du lait de brebis, il doit être rapidement congelé et conservé à des températures inférieures à -20°C (**Wendorff, 2001**).

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 5 illustre les pays les plus réputés dans la fabrication du fromage à base de lait de brebis.

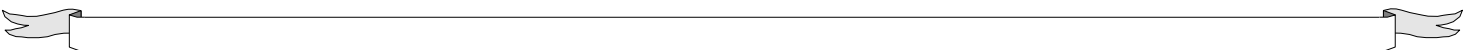
Tableau 5 : Pays d'origine de fabrication de fromages à base de lait de brebis

Pays	Fromages
France	Roquefort, Perail, Filetta, Brocciu, Osso-Iraty, briques de brebis, Fédou, Tricorne de Marans
Italie	Ricotta, Canestrato-Pugliese, Fiore-Sardo, Pecorino-Romano, Pecorino, Pecorino Sardo
Grèce	Fêta
Angleterre	Friesla, Olde-York
Portugal	Caslelo-Branco, Queijo de Azietão
Espagne	Idiazabal, Manchego-Rancal, Zamorano



Chapitre III

Classification des bactéries lactiques



Chapitre III : Classification des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques sont généralement reconnues comme étant saines avec leur statut "GRAS" « Generally Recognized As Safe » (Bourdichon et al., 2012). Elles ont toujours occupé une place importante parmi les auxiliaires de fermentation et de conservation alimentaire, que ce soit en tant que microflore naturelle ou comme culture ajoutée sous des conditions contrôlées (O'Sullivan et al., 2002 ; Streit et al., 2007). Elles sont parmi les plus importants groupes de micro-organismes utilisés dans la fermentation alimentaire sous forme de ferments lactiques commerciaux (Hikmate et al., 2012).

1. Présentations des bactéries lactiques

Les aliments fermentés avec des bactéries lactiques présentent une part importante de l'alimentation humaine. Ces bactéries jouent un rôle essentiel dans la conservation des aliments ce qui a entraîné un intérêt scientifique de leur étude au cours des quelques dernières décennies alors que le concept de bactéries lactiques a été mis au point au début des années 1900. La première culture pure de *Bacterium lactis*, maintenant connue sous le nom *Lactococcus lactis*, a été obtenue en 1873 par Lister (Fennema et al., 2004). La figure 4 montre les principaux genres de bactéries lactiques.

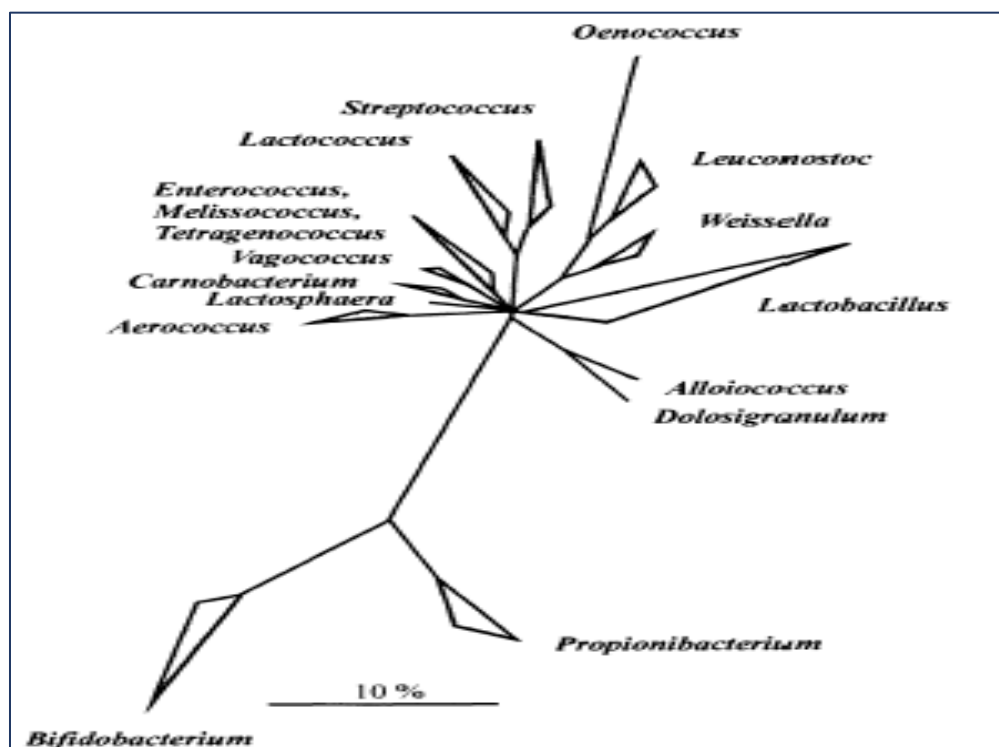


Figure 4 : Arbre phylogénétique montrant les principaux genres de bactéries lactiques (Holzapfel et al., 2001)

Chapitre III : Classification des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques sont des bacilles ou des coques à Gram positif, immobiles, non sporulées, aéro-anaérobies facultatifs ou anaérobies stricts et à catalase négative (**Sttanni et Moschetti, 2010**). Elles sont mésophiles mais elles sont capables de croître dans un intervalle de température allant de 5°C à 45°C. Le pH optimal de croissance varie de 5 à 9 mais elles tolèrent les milieux acides (pH 3,2) et alcalin (pH 9,6) (**DeGuchte et al., 2002**). En général ces bactéries ne possèdent ni nitrate réductase, ni cytochrome oxydase, elles sont protéolytiques, ne liquéfient pas la gélatine, et ne forment plus d'indole ni d'hydrogène sulfureux, ces bactéries sont également incapables de fermenter le glycérol (**Salminen et al., 2004 ; Zhang et Cai, 2014**).

L'énergie des bactéries lactiques est acquise par la phosphorylation du substrat au cours de la fermentation des sucres. Cette transformation génère une à deux molécules d'ATP en fonction de la voie métabolique homofermentaire ou hétérofermentaire (**Raimbault, 2005**). Les bactéries homolactiques strictes produisent uniquement de l'acide lactique en suivant la voie D'Embden-Meyerhof (glycolyse), alors que les bactéries hétérolactiques peuvent produire de l'acide acétique, de l'éthanol et du dioxyde de carbone en plus de l'acide lactique suivant la voie des pentoses phosphates (**Prescott et al., 2003**).

2. Origine et 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 (**De Roissard et Luquet, 1994**). Dans différents écosystèmes, les bactéries lactiques sont capables d'exercer des effets bénéfiques où, plus rarement, d'engendrer des altérations biologiques (**Ninane et al., 2009**).

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 (**Carr et al., 2002**). Pour cela, le lait, auquel les bactéries lactiques 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.

3. Taxonomie et classification des bactéries lactiques

Depuis la description du *Bacterium lactis* (*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, produire des polysaccharides extracellulaires, exiger des facteurs de croissance, produire de l'acétoïne et synthétiser certaines enzymes (Ho et al., 2007). La composition en G+C de l'ADN et la composition en acides gras sont également d'autres critères qui peuvent être étudiés pour l'identification des espèces lactiques (Figure 5).

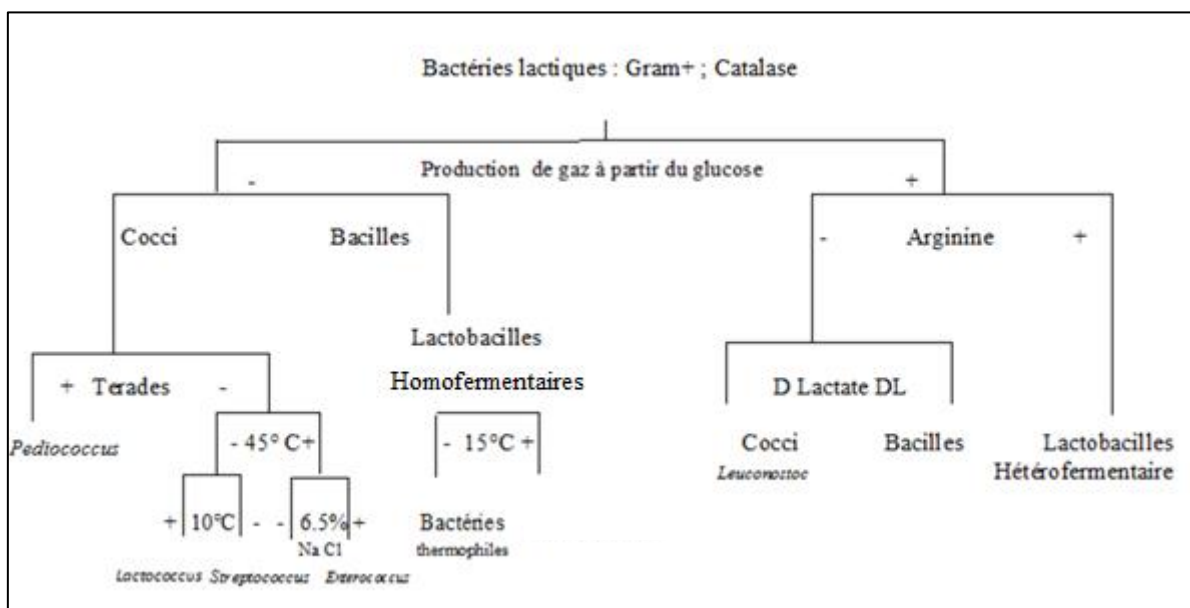


Figure 5 : Schéma de différenciation des principaux genres de bactéries lactiques (d'après Carr et al., 2002)

Chapitre III : Classification des bactéries lactiques

La morphologie est considérée comme la caractéristique clé pour décrire et classer les genres des bactéries lactiques. De ce fait, les bactéries lactiques peuvent être divisées arbitrairement en bacilles (*Lactobacillus*) 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 (Ho et al., 2007).

3.1. 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 (Figure 6). Elles sont immobiles, non sporulés, catalase négative, se développant généralement à un optimum de température situé entre 30°C 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 (Leclerc et al., 1994).

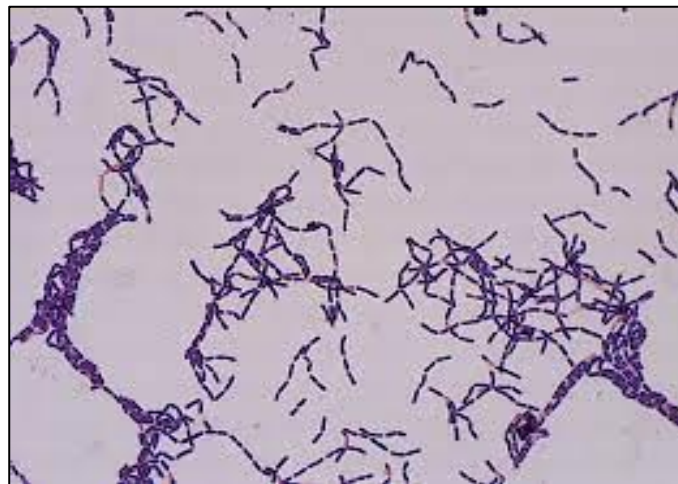


Figure 6 : Aspect d'un lactobacille en microscopie optique (X 1000)

Le genre *Lactobacillus* regroupe de nombreuses espèces dont l'hétérogénéité est illustrée par la variation du % G+C : 32 à 53%. La classification a été subdivisée par **Orla-Jensen (1919)** en trois groupes selon leur type fermentaire :

Chapitre III : Classification des bactéries lactiques

- **Groupe I « *Thermobacterium* »** : Comprend les lactobacilles homofermentaires obligatoires qui se développent à 45°C mais pas à 15°C. Ce groupe est constitué d'environ 25 espèces dont les espèces les plus fréquentes dans l'alimentation (lait et produits laitiers) sont *Lb. helveticus*, *Lb. delbrueckii* et *Lb. acidophilus*.
- **Groupe II « *Streptobacterium* »** : Regroupe les lactobacilles homofermentaires mésophiles et peuvent être occasionnellement hétérofermentaires en fonction du substrat. Il est constitué d'une vingtaine d'espèces dont *Lb. casei*, *Lb. curvatus*, *Lb. sake* et *Lb. plantarum* (Carr et al., 2012).
- **Groupe III « *Betabacterium* »** : Ce sont des lactobacilles hétérofermentaires obligatoires utilisant la voie des pentoses phosphates pour la fermentation des hexoses et des pentoses. Il comporte les espèces *Lb. fermentum*, *Lb. brevis*, *Lb. sanfransisco* et *Lb. kefir* (Carr et al., 2012).

3.2. Genre *Enterococcus*

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 (Figure 7). Elles sont anaérobies facultatifs, chimio-organotrophes, ont un métabolisme exclusivement fermentaire. Pendant la croissance, les entérocoques produisent l'acide lactique comme métabolite final 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* (Klein, 2003).

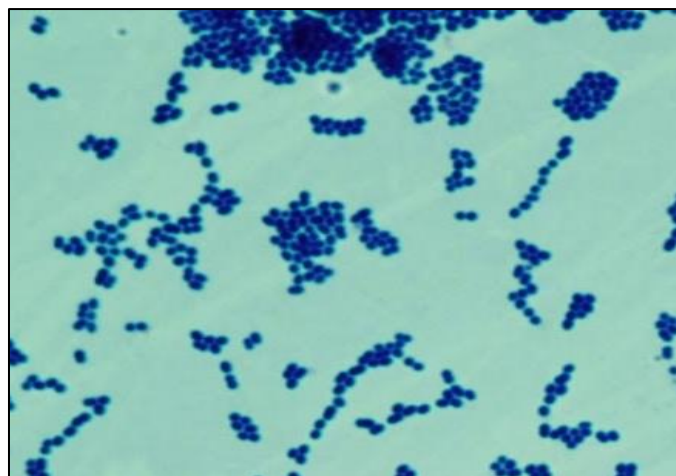


Figure 7 : Aspect d'un entérocoque en microscopie optique (X 1000)

Chapitre III : Classification des bactéries lactiques

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-positives exempts de catalase (**Devriese et al., 1993**). La majorité des entérocoques sont cependant facilement différenciables par leurs capacités de croître entre 10°C 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'azide 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**).

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.

3.3. Genres *Leuconostoc* et *Oenococcus*

Les genres *Leuconostoc* et *Oenococcus* ressemblent le plus étroitement au genre *Lactobacillus*. Ils sont Gram positifs, à catalase négative et anaérobie facultatifs et de forme ovoïde (**Holzapfel, 2003**). Les cellules de *Leuconostoc* sont des coques en paires ou en chaînes comme les entérocoques mais elles sont hétérofermentaires produisant de l'acide lactique, de l'éthanol et du CO₂ (Figure 8).

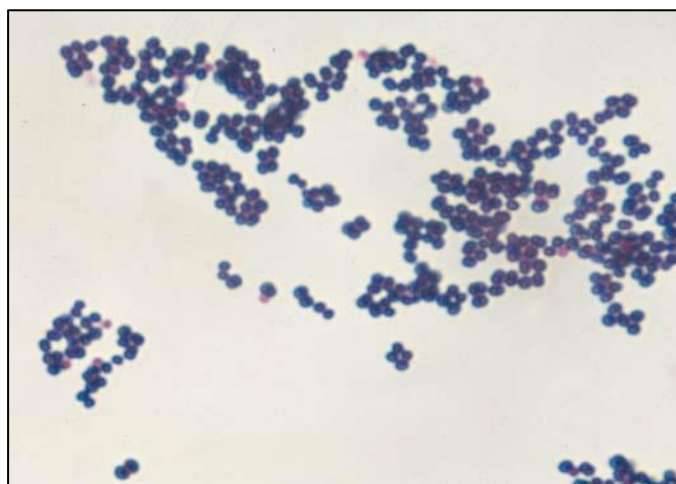


Figure 8 : Aspect d'un *Leuconostoc* en microscopie optique (X 1000)

Chapitre III : Classification des bactéries lactiques

Les *Leuconostoc* sont mésophiles (optimum : 20°C-30°C) et sont caractérisés par la production, à partir du citrate du lait, de diacétyle et parfois aussi (cas de *Ln. mesenteroides* 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 (Dror et al., 2018).

Les *Leuconostoc* sont également anaérobies facultatifs et exigeants du point de vue nutritionnel et leur croissance est toujours lente et leur développement entraîne souvent l'apparition d'une viscosité dans le milieu grâce à la production des exopolysaccharides (Guiraud, 2003). Principalement les espèces *Ln. mesenteroides* ssp. *cremoris* et *Ln. lactis* sont utilisées en association avec les lactocoques dans l'industrie laitière pour produire en plus de l'acide lactique et du CO₂, des substances aromatiques telles que le diacétyle et l'acétoïne à partir des citrates du lait (Ogier et al., 2008).

3.4. Genre *Lactococcus*

La première espèce de lactococcus décrite fut *Bacterium lactis*. Elle fut ensuite renommée lactococcus *lactis* par Schleifer et al. (1985). Le genre *lactococcus* comprend 7 espèces et 4 sous espèces (Euzéby, 2011). Les lactocoques se présentent sous forme de coques en paires ou en chaînes de longueur variable (Figure 9).

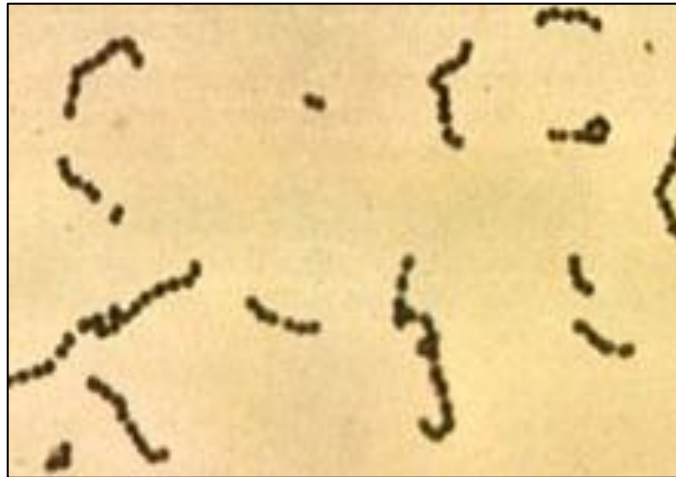


Figure 9 : Aspect d'un lactocoque en microscopie optique (X 1000)

Ce sont des bactéries anaérobies facultatives homofermentaires ne produisant que de l'acide lactique (Martin, 2006). Leur température optimale de croissance est proche de 30°C, capables de se développer à 10°C mais pas à 45°C.

Chapitre III : Classification des bactéries lactiques

Quelques espèces produisent des exopolysaccharides et des bactériocines. Elles sont capables de se développer à 3% de bleu de méthylène et d'hydrolyser l'arginine (Tamime, 2002). Elles se développent généralement à 4% de NaCl et à un pH proche de la neutralité, leur croissance s'arrêtant lorsque le pH du milieu atteint 4,5. Ce genre est un habitant typique des plantes, des animaux et de leurs produits (Zhang et Cai, 2014).

3.5. Genre *Streptococcus*

Les espèces de *Streptococcus* ont été parmi les premières bactéries à être reconnues par les microbiologistes en raison de leur implication dans un grand nombre de maladies humaines et animales. Les cellules de ce genre sont immobiles, sphériques ou ovoïdes, ont un diamètre inférieur à 2 μm avec une disposition en paires ou en chaînes longues (Figure 10).

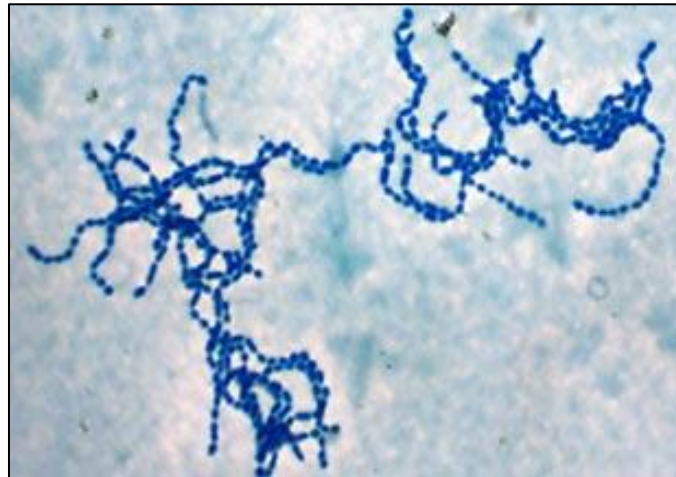


Figure 10 : Aspect d'un *Streptococcus* en microscopie optique (X 1000)

La fermentation des carbohydrates produit principalement de l'acide lactique mais il n'y a pas de production de gaz. Leur température optimale de croissance est 37°C. Elles sont incapables de se développer à 15°C et à pH 9,6. Beaucoup d'espèces sont commensales ou parasites de l'homme et des animaux et certaines sont hautement pathogènes.

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

3.6. Genre *Pediococcus*

Les *Pediococcus* sont des coques homofermentaires dont la particularité est le regroupement en tétrade (Figure 11). Elles sont mésophiles, le plus souvent incapable d'utiliser le lactose, et leur développement nécessite la présence de divers facteurs de croissance.

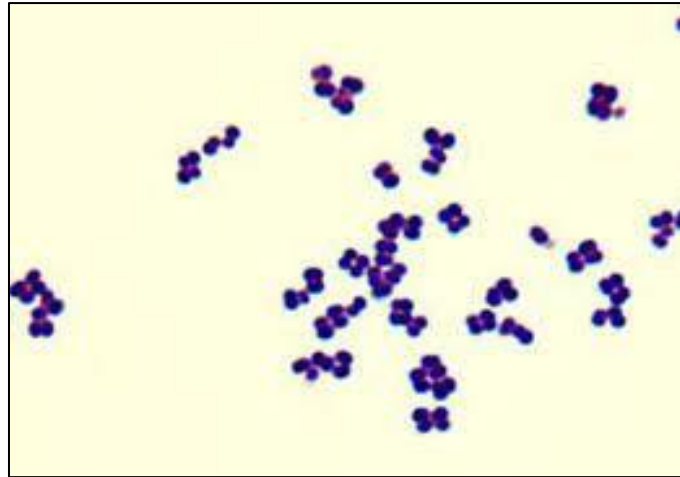


Figure 11 : Aspect d'un *Pediococcus* en microscopie optique (X 1000)

Certaines espèces se distinguent par leur capacité à se développer à des teneurs en sels très élevées, comme *Pediococcus halophilus*, renommé *Tetragenococcus halophilus* et *Tetragenococcus muriaticus* qui tolère jusqu'à 18% de NaCl (Pilet et al., 2005). Les espèces de *Tetragenococcus* ont un rôle crucial dans la fabrication des produits alimentaires à concentration élevée en sel comme les sauces de soja, alors que les *Pediococcus* sont parfois utilisés comme levains lactiques pour les charcuteries (Guiraud et Rosec, 2004 ; Tosukhowong et al., 2005).

3.7. Genre *Bifidobacterium*

Traditionnellement, le genre *Bifidobacterium* a été associé aux bactéries lactiques. Par la suite, il a été séparé en raison du contenu G+C supérieur à 50% et affecté au phylum des *Actinobacteria* (Leahy et al., 2005). Le genre *Bifidobacterium* est considéré comme faisant partie du groupe des bactéries lactiques grâce à la similarité de ses propriétés physiologiques et biochimiques et à sa présence dans le même habitat écologique, tel que le tube gastro-intestinal (Klein et al., 1998).

Chapitre III : Classification des bactéries lactiques

Elles ont généralement un pH optimal de croissance autour de 6,5 à 7 et une température de croissance comprise entre 37°C et 41°C. Elles ont la forme irrégulière d'un V ou une morphologie bifide en forme de Y (Figure 12).

Elles sont hétérofermentaires et dégradent les hexoses en produisant de l'acide lactique et l'acide acétique (Leahy et al., 2005).



Figure 12 : Aspect d'un *Bifidobacterium* en microscopie optique (X 1000)

4. Métabolisme des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques sont largement distribuées dans la nature et peuvent être isolées de plusieurs produits alimentaires d'origine animale et végétale, ainsi que du tractus gastro-intestinal humain.

La prédominance de ce groupe de bactéries par rapport aux autres est liée à leur métabolisme unique dans les processus de fermentation. Ce métabolisme implique la synthèse d'acides organiques (acides lactique, acétique et propionique) et la réduction du pH, la production de composés antimicrobiens (tels que les bactériocines, le peroxyde d'hydrogène, le diacétyle et le CO₂), conduisant à l'inhibition des micro-organismes indésirables dans les aliments, agissant en tant qu'agents bioconservateurs.

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 laitière 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 sucre selon une des voies de fermentation.
- 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. Il s'agit des voies homofermentaires et hétérofermentaires (Voir figure 13).

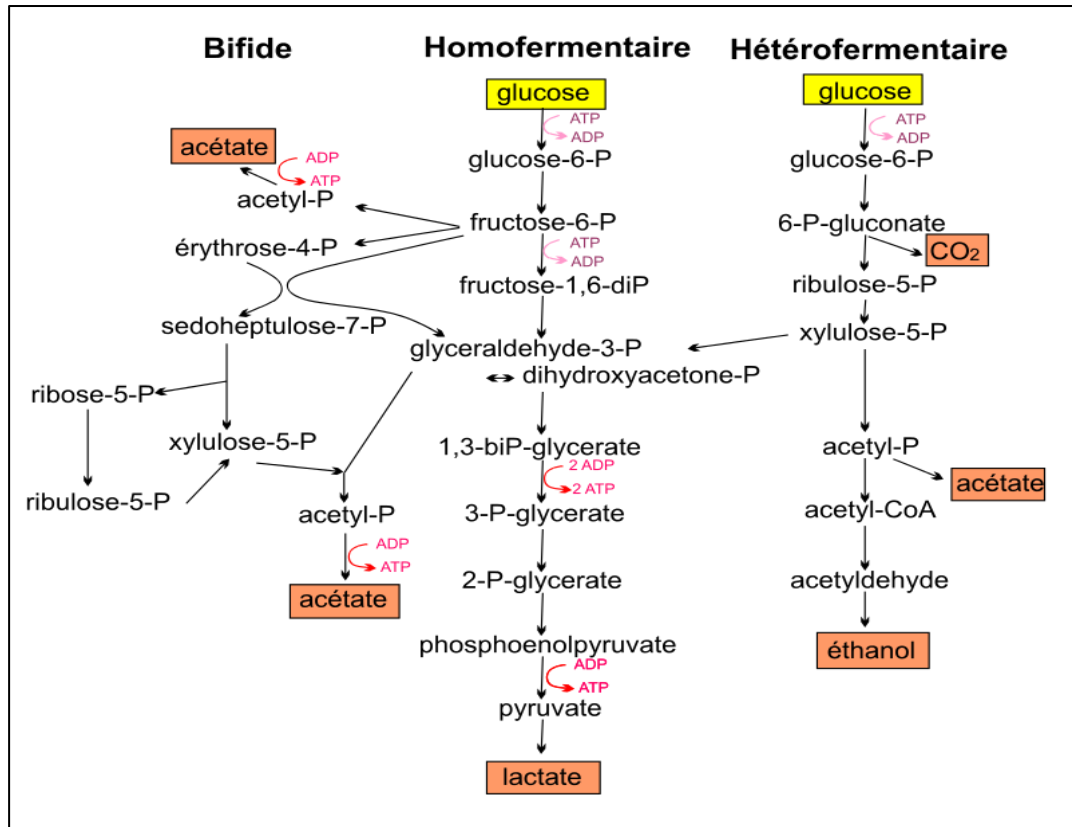


Figure 13 : Voies homofermentaire, hétérofermentaire et bifide de la dégradation du glucose

4.1.1. Voie homofermentaire ou EMP

Cette voie utilise la glycolyse (ou voie d'Embden-Meyerhof-Parnas) dans sa totalité, du glucose au pyruvate puis lactate. En condition optimale de croissance, cette voie produit deux molécules de lactate et deux molécules d'ATP par molécule de glucose consommée (Thompson et Gentry-Weeks., 1994). Pour être qualifiée d'homolactique, cette voie doit convertir au moins 90% du glucose consommé en lactate. La voie homofermentaire est généralement associée aux bactéries des genres *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Pediococcus* et *Lactobacillus*.

4.1.2. Voie hétérofermentaire ou voie des pentoses phosphate

Cette voie produit outre l'acide lactique, des quantités significatives de CO₂ et d'éthanol ou d'acétate. La dégradation d'une molécule de glucose conduit à la formation d'une molécule de lactate, une molécule d'éthanol (CH₃CH₂OH), d'un CO₂ et d'un ATP.

Une enzyme spécifique de cette voie (la D-xylulose-5-phosphate phosphocétolase) catalyse la dissociation du xylulose-5-phosphate en acétyl-P et glycéraldéhyde-3-phosphate.

Chapitre III : Classification des bactéries lactiques

L'acétyl-P est converti ensuite soit en éthanol soit en acétate selon les besoins en ATP ou NAD⁺. Le glycéraldéhyde-3-phosphate rejoint la glycolyse pour être converti en lactate (**Thompson et Gentry-Weeks, 1994**). En général, les sucres à 5 atomes de carbones (ou pentoses) ne peuvent être métabolisés que par cette voie. Certaines bactéries *Leuconostoc* et *Lactobacillus* empruntent cette voie.

Le métabolisme hétérofermentaire est deux fois moins énergétique que le métabolisme homofermentaire puisqu'une mole de glucose conduit à la production d'une mole de lactate, d'éthanol, de CO₂ et d'un seul ATP.

4.1.3. Voie bifide

Voie bifide (ou voie de la fructose-6-P phosphocétolase FPC) est la voie empruntée par les bactéries du genre *Bifidobacterium*. Pour une molécule d'hexose consommée, cette voie produit 1,5 molécule d'acétate et 2,5 molécules d'ATP.

4.2. Métabolisme de citrate

La principale activité biologique des bactéries lactiques est la conversion des sucres présents dans le lait, les fruits et légumes par fermentation en acide lactique comme principal produit final (**Al-Naseri et al., 2013**). Cependant, une petite proportion de bactéries lactiques a la capacité de fermenter d'autres composés non glucidiques tels que le citrate. La concentration du citrate dans le lait est faible (environ 1,7 mg/ml) comparativement au lactose environ (49 mg/ml) mais il constitue une substance clé dans l'élaboration des produits laitiers fermentés (Figure 14). C'est la formation de diacétyl qui est responsable de l'arôme de beurre et de l'ouverture des fromages affinés. Les produits du métabolisme du citrate agissent aussi comme inhibiteurs de la croissance des contaminants du lait (**Blaya et al., 2018 ; Luquet, 1986**).

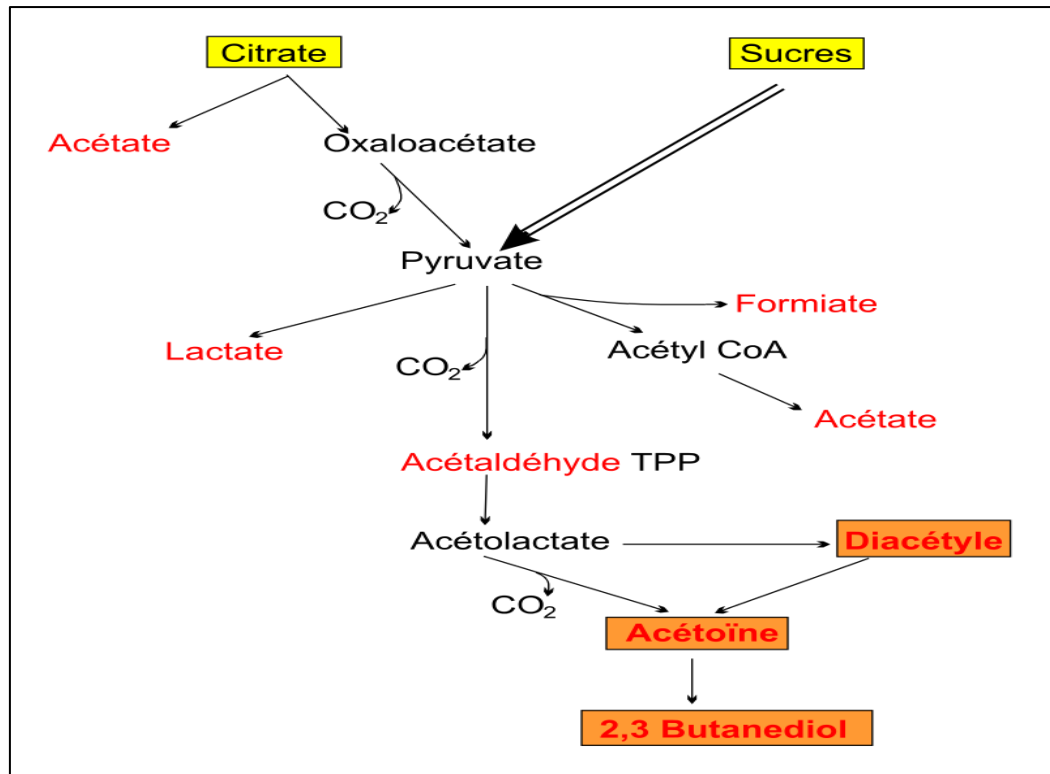


Figure 14 : Principales étapes du métabolisme du citrate par les bactéries lactiques (Drider et Prevost, 2009)

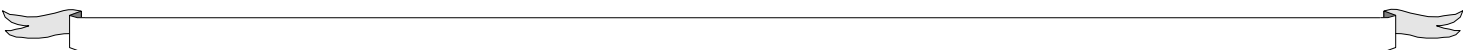
L'utilisation du citrate par les bactéries lactiques a un effet positif sur la qualité du produit laitier fini puisque le citrate peut être dégradé par différentes voies métaboliques donnant divers composés aromatiques, principalement le diacétyl, l'acétoïne et l'acétaldéhyde, responsables de l'arôme spécifique de beurre, de crème, de yaourt et de différents types de fromages (Voir figure 14). De plus, du CO_2 est produit pendant le métabolisme de citrate conduisant à la formation de petits trous dans les fromages de type néerlandais (Medina et al., 2001 ; Pretorius et al., 2019).

Parmi les espèces lactiques, *Lactococcus lactis ssp.lactis biovar diacetylactis* et plusieurs espèces de *Leuconostoc* sont les meilleures productrices d'arômes (Farahani et al., 2017). Cependant, d'autres bactéries lactiques peuvent produire divers composés qui contribuent à la formation de la saveur de certains produits laitiers (Cuffia et al., 2017).



Chapitre IV

Propriétés et intérêts technologiques des bactéries lactiques



Chapitre IV : Propriétés et intérêts technologiques des bactéries lactiques

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

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

1. Intérêt de bactéries lactiques dans l'industrie agro-alimentaire

1.1. Pouvoir acidifiant

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 (Monnet et al., 2008).

Les activités acidifiantes et coagulantes des souches bactériennes varient largement, avec des différences selon les genres. Les souches à acidification rapide sont cruciales au début de la fabrication des fromages car une diminution rapide du pH permet la coagulation du lait et la réduction du microbiote indésirable (Morandi et Brasca, 2012 ; Pisano et al., 2014). Cela se réfère principalement aux lactocoques et aux streptocoques, qui ont la capacité de convertir rapidement le lactose en L-lactate avec une diminution rapide de pH (Deplano et al., 2019), contrairement aux lactobacilles, connus pour métaboliser lentement le lactose (Carafa et al., 2015).

Chapitre IV : Propriétés et intérêts technologiques des bactéries lactiques

Lactococcus lactis ssp. *lactis*, ssp. *Cremoris* et biovar. *diacetylactis*, sont les trois bactéries les plus fréquemment citées pour leurs rôles majeurs d'acidification (Lafarge et al., 2004). En général, les bactéries lactiques non starter « NSLAB » sont caractérisées par une activité d'acidification lente à modérée ; une activité d'acidification élevée n'est pas favorable pour le NSLAB, car elle générerait des défauts sensoriels dans le fromage (Scatassa et al., 2015).

1.2. Activité protéolytique

La protéolyse est l'un des événements biochimiques majeurs du développement de la saveur qui se produit pendant la maturation de la plupart des fromages. Les enzymes protéolytiques des bactéries lactiques jouent un rôle important dans la dégradation de la caséine et des peptides, conduisant à la production d'acides aminés libres. Le catabolisme des acides aminés libres peut produire des composés aromatiques volatils, tels que des aldéhydes, des alcools, des composés soufrés et des esters (Andić et al., 2014 ; Martinez- Cuesta et al., 2001).

Dans les processus de la fermentation du lait, le système protéolytique de bactérie lactique joue un rôle clé car il permet à ces bactéries de se développer dans le lait, assurant ainsi une fermentation réussie. Les bactéries lactiques sont des microorganismes qui présentent beaucoup de carences nécessitant donc une source exogène d'acides aminés ou de peptides, fournis par la protéolyse de la caséine, la protéine la plus abondante dans le lait et la principale source d'acides aminés (Savijoki et al., 2006). Toutes les espèces de cultures de démarrage sont très exigeantes sur le plan nutritionnel, nécessitant de nombreux acides aminés et facteurs de croissance pour un développement adéquat (Mayra-Makinen et Bigret, 2004).

Bien que les bactéries lactiques ne soient pas considérées comme des bactéries fortement protéolytiques, leur système protéolytique est essentiel pour la croissance optimale dans du lait et contribue de manière significative au développement de la saveur des produits laitiers fermentés (Lopez-Kleine et Monnet, 2011). La protéolyse pourrait également

Chapitre IV : Propriétés et intérêts technologiques des bactéries lactiques

contribuer à prévenir les allergies fréquentes chez les enfants de moins de 3 ans en raison d'une mauvaise digestion des protéines du lait (**Pescuma et al., 2009**).

La protéolyse peut être modifiée dans les produits laitiers afin d'accélérer l'affinage des fromages et/ou d'en intensifier ou d'en modifier la saveur, mais également d'orienter la protéolyse dans des laits fermentés vers la production de peptides à activité biologique. Les bactéries lactiques ont une activité protéolytique relativement faible (**Sanz et al., 1999**). Cependant, certaines souches de *Lb. casei*, *Lb. plantarum*, *Lb. curvatus* et *Lb. sakei* ont contribué de manière significative à l'hydrolyse des protéines ainsi qu'à la décomposition ultérieure des peptides en acides aminés libres. Dans ce contexte, la libération d'acides aminés, attribuée aux précurseurs, est responsable de la saveur du produit fini.

La qualité du fromage est étroitement liée à l'activité protéolytique des bactéries présentes dans le fromage. Au cours de la fermentation du lait, les enzymes protéolytiques produites par différentes bactéries lactiques génèrent des peptides biologiquement actifs et des acides aminés, qui contribuent au développement de la saveur et de la texture du produit laitier (**Gobbetti et Minervini, 2014**).

Les acides aminés aromatiques (tels que la phénylalanine, la tyrosine et le tryptophane), les acides aminés à chaîne ramifiée (tels que la leucine, l'isoleucine et la valine) et la méthionine sont les principaux précurseurs des composés aromatiques du fromage (**Jakob et Piccinali, 2006**). En général, la conversion des acides aminés en composés aromatiques se produit par deux voies différentes. La première est déclenchée par des réactions d'élimination qui entraînent respectivement le phénol, l'indole et le méthanthiol provenant de la tyrosine, du tryptophane et de la méthionine. Le second passe par des intermédiaires α -cétoacides et est principalement initié par une réaction de transamination catalysée par des aminotransférases d'acides aminés. Les α -cétoacides résultants sont ensuite dégradés en aldéhydes, alcools, acides carboxyliques, hydroxyacides ou méthanthiol (**Sofia et al., 2005**).

La capacité des bactéries lactiques et d'autres micro-organismes du fromage à dégrader les acides aminés en composés aromatiques dépend fortement de la souche (**Yvon et**

Chapitre IV : Propriétés et intérêts technologiques des bactéries lactiques

Rijnen, 2001). Cependant, il est à noter qu'une activité protéolytique élevée n'est pas toujours la caractéristique la plus désirée pour une souche devant être utilisée dans une culture non-starter. En fait, une protéolyse excessive peut entraîner une production incontrôlée de peptides amers et d'autres composés indésirables ou même une hydrolyse excessive de la caséine, ce qui entraînerait un produit final trop mou (**Bonomo et Salzano, 2013**).

1.3. Activité lipolytique

Bien que les bactéries lactiques possèdent généralement une faible activité lipolytique, la concentration élevée de bactéries lactiques sur une période de maturation prolongée entraîne la génération de niveaux significatifs d'acides gras libres, qui sont des précurseurs de composés aromatiques volatils ; par conséquent, une faible activité lipolytique est considérée comme une caractéristique avantageuse importante pour la production de fromage (**Nieto-Arribas et al., 2010**). Une lipolyse excessive peut générer un goût amer et rance dans le fromage (**Monfredini et al., 2012**).

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

L'hydrolyse des triglycérides est la transformation biochimique principale du gras fromager pendant la maturation qui 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 à longues chaînes à partir des mono et diglycérides, alors que les esters permettent la libération des acides gras volatils. Les acides gras, dont la concentration augmente pendant l'affinage, seraient responsables en partie de la saveur typique des fromages à pâtes pressées cuites.

1.4. 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) 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 (**Gerrit et al., 2005 ; Cholet, 2006**).

Dans les produits alimentaires fermentés, tels que le fromage, des saveurs distinctes sont générées par la production microbienne de composés aromatiques. Par exemple, le diacétyl est un composant essentiel de nombreux produits laitiers et même à de faibles concentrations, il fournit une saveur typique et un arôme beurré de fromage (**Ferrari et al., 2016**). Le diacétyl dérivé du métabolisme du citrate, possède une activité inhibitrice contre les agents pathogènes d'origine alimentaire et n'est pas présent dans toutes les bactéries lactiques (**Thierry et al., 2015**).

En plus de son potentiel antimicrobien, le diacétyl (butane 2-3 dione) joue également un rôle clé dans le développement de saveurs aromatiques beurrées distinctives dans les aliments, se trouve naturellement dans les fromages, le beurre et les produits laitiers (**Li et al., 2009 ; Joković et al., 2014**). Ce composé est synthétisé par le métabolisme du citrate (par exemple, *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Lactococcus*) en utilisant le glucose, le lactose et d'autres sources de carbone comme substrats (**Rincon-Delgadillo et al., 2012**).

De plus, certaines espèces de bactéries lactiques, connues sous le nom de bactéries lactiques non starter, jouent également un rôle fondamental dans le développement de l'arôme et de la texture pendant le processus d'affinage des fromages, contribuant à leur qualité et à leur identité (**Kamimura et al., 2019b ; Cuffia et al., 2020**).

Chapitre IV : Propriétés et intérêts technologiques des bactéries lactiques

Compte tenu du fait que l'arôme alimentaire est un attribut important de l'acceptabilité alimentaire, de nombreuses industries et chercheurs ont recherché de nouvelles sources de bactéries lactiques capables de produire ces composés volatils et de les appliquer comme ingrédients de départ dans les produits laitiers (**Rincon-Delgadillo et al., 2012 ; Clark et Winter, 2015**).

1.5. Pouvoir texturant

Un autre aspect pertinent des bactéries lactiques est leur capacité à produire des exopolysaccharides (EPS) à partir de différentes sources de sucre, agissant comme émulsifiants, épaississants ou stabilisants, caractéristiques essentielles d'un point de vue industriel, en raison d'une amélioration de la texture et la rhéologie associée à ce phénotype (**Sanalibaba et Cakmak, 2016**).

Les bactéries lactiques produisent des polymères de sucre extracellulaires pendant la croissance bactérienne qui peuvent améliorer la texture et la viscosité du produit fini (**Fguiiri et al., 2016**). La capacité des bactéries lactiques à synthétiser des EPS joue un rôle important pour la consistance et la rhéologie des produits transformés.

Les *Lactobacillus 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 *Lactococcus 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**).

La capacité à générer des EPS est considérée comme une caractéristique importante des bactéries lactiques utilisées dans les produits laitiers, car les produits lisses et crémeux sont plus attrayants pour les consommateurs ; ainsi, la production des EPS est une caractéristique clé à prendre en compte pour la sélection du bactéries lactiques non starter « NSLAB » (**Franciosi et al., 2009**). De plus, les EPS contribuent à la capacité de rétention d'eau qui réduit le contenu calorifique du produit final (**Ferrari et al., 2016**).

Chapitre IV : Propriétés et intérêts technologiques des bactéries lactiques

Du point de vue de la santé, la production des EPS par les bactéries lactiques a fait l'objet d'une attention accrue en raison de ses propriétés immunogènes (**Domingos-Lopes et al., 2017**). Pour une production plus élevée des EPS, le milieu doit être complété par des quantités considérables d'une source de carbone (**Ferrari et al., 2016**). Les EPS produits par les bactéries lactiques et d'autres bactéries sont utilisés comme des viscosifiants, des stabilisants, des émulsifiants ou des gélifiants pour modifier les propriétés rhéologiques et les textures des produits (**Ruas-Madiedo et al., 2002 ; Ale-EC et al., 2016**).

1.6. Pouvoir antimicrobien

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 (exemple : 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 produits 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 produits 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.

Chapitre IV : Propriétés et intérêts technologiques des bactéries lactiques

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

1.6.1. 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 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**).

1.6.2. 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. La production de H₂O₂ par les bactéries lactiques peut empêcher la croissance d'agents pathogènes d'origine alimentaire et peut également être bénéfique pour la conservation des aliments. Il a été démontré que les bactéries lactiques qui produisent du H₂O₂ inhibent la croissance des microorganismes psychrotrophes et pathogènes aux températures de réfrigération. La plupart des espèces de lactobacilles sont capables de former du peroxyde d'hydrogène en oxydant le lactate (**Reis et al., 2012**).

Chapitre IV : Propriétés et intérêts technologiques des bactéries lactiques

L'effet bactéricide du peroxyde d'hydrogène a été attribué à son puissant effet oxydant sur la cellule bactérienne ; les groupes sulfhydrile des protéines cellulaires et des lipides membranaires peuvent être oxydés, De plus, certaines réactions produisant du peroxyde d'hydrogène piègent l'oxygène, créant ainsi un environnement anaérobie défavorable à certains organismes. Il a été suggéré que la production de peroxyde d'hydrogène est particulièrement importante pour la colonisation du tractus urogénital par les lactobacilles (**Ouwehand et Vesterlund, 2004**).

1.6.3. Bactériocines

Différentes définitions de bactériocines ont été données au cours du temps. Cependant, la définition qui reste la plus largement acceptée est celle de **Klaenhammer, (1988)** qui définit les bactériocines comme des protéines, ou complexes de protéines, avec une activité bactéricide contre des espèces proches de la souche productrice (**Dortu et Thonart, 2009**). Les bactériocines sont des peptides synthétisés par le ribosome avec une activité antimicrobienne produite par de nombreuses bactéries.

Les bactériocines inhibent la croissance d'autres bactéries, parfois d'espèces similaires ou étroitement apparentées. Il est bien connu que les bactéries lactiques produisent une variété de bactériocines (**Zhao et al., 2016**). 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.

1.6.4. Diacétyl

Le diacétyl a été identifié comme un arôme et une saveur du beurre. Il est synthétisé par différents genres de bactéries lactiques comme *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Lactobacillus* et *Pediococcus*. Le diacétyl $C_4H_6O_2$ a des propriétés antimicrobiennes qui sont dirigées contre les levures, les bactéries Gram négatives et les bactéries Gram positives non lactiques, ces dernières y sont néanmoins moins sensibles (**Ouwehand et Vesterlund, 2004**).

1.6.5. Reutéine

La reuterine est une substance antimicrobienne qui est produite comme métabolite intermédiaire pendant la fermentation anaérobie du glycérol par certaines espèces de *Lactobacillus* (Nes et al., 2011). La fermentation du glycérol se déroule en deux étapes. Le glycérol sera tout d'abord déshydraté par une glycérol-déshydratase pour former de la reutéine qui sera ensuite réduite en 1,3-propanediol par une oxydoréductase. Cette deuxième étape est inhibée en l'absence de glucose. La reutéine s'accumule alors dans le microorganisme producteur. A haute concentration, elle est excrétée dans le milieu. Sa toxicité contre la cellule productrice limite sa production, certaines espèces comme *Lactobacillus reuteriy* sont plus résistantes (Vollenweider, 2004).

2. Intérêt des bactéries lactiques dans le domaine de la santé : probiotiques

Les bactéries les plus fréquemment utilisées comme probiotiques sont des *Lactobacillus*, des *Bifidobacterium* (Khan et Ansari, 2007) et *Enterococcus* (Cependant, l'utilisation de ces derniers dépend de la législation en vigueur dans le pays). Les lactobacilles ont été incorporés dans des laits fermentés (Heller, 2001 ; Oliveira et al., 2001), des fromages et des glaces (Nayra et al., 2002). Les bénéfices potentiels des probiotiques vont de la suppression de l'activité de certains pathogènes à l'amélioration de l'utilisation du lactose, de la réduction du cholestérol sanguin et du niveau de substances carcinogènes, l'inactivation de composés toxiques ainsi que la stimulation du système immunitaire (Ninane et al., 2009).

Les probiotiques sont définis comme des micro-organismes vivants qui lorsqu'ils sont ingérés en quantité appropriée ont un effet bénéfique sur la santé de l'hôte (FAO, 2001) ils contiennent uniquement les microorganismes non pathogènes. De nombreux microorganismes sont considérés comme probiotiques, parmi eux des bactéries lactiques telles que *Bifidobacterium animalis*, *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacteriuml ongum*, *Latobacillus. acidophilus*, *Lactobacillus. bulgaricus*, *Lactobacillus. casei*, et *Streptococcus thermophilus* sont les premières souches bactériennes qui ont été utilisées pour la fabrication de yaourt (Makhloufi., 2012).

Chapitre IV : Propriétés et intérêts technologiques des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques forment actuellement un groupe d'organismes utilisés pour l'enrichissement de certains yaourts et laits (**Klaenhammer et al., 2007**). Cette utilisation est due aux effets nutritionnels et thérapeutiques de ces bactéries car elles enrichissent le milieu où elles se trouvent en vitamines (B et K), acides aminés, composés organiques (acide lactique et acétique), enzymes (lactase) et bactériocines responsables de l'inhibition des bactéries pathogènes (**Soomro et al., 2002**).

Différentes études ont démontré le rôle préventif aussi bien que curatif des bactéries lactiques sur plusieurs types de diarrhées (**Mkrtchyan et al., 2010**). D'autres ont cité leur capacité à diminuer les allergies liées aux aliments grâce à leur activité protéolytique (**El-Ghaish et al., 2011**). Cette dernière contribuera à la prévention des allergies observées chez les enfants de moins de 3 ans en raison de la mauvaise digestibilité des protéines du lait (**Gobbetti et Minervini, 2014**).

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



Partie

Expérimentale





Matériels

et

méthodes



Notre étude des laits de brebis collectés a été réalisée en trois grands volets

- L'étude physico-chimique des laits de brebis collectés.
- Description microbiologique de la flore des laits collectés.
- Isolement, identification et caractérisation technologique des bactéries lactiques isolées.

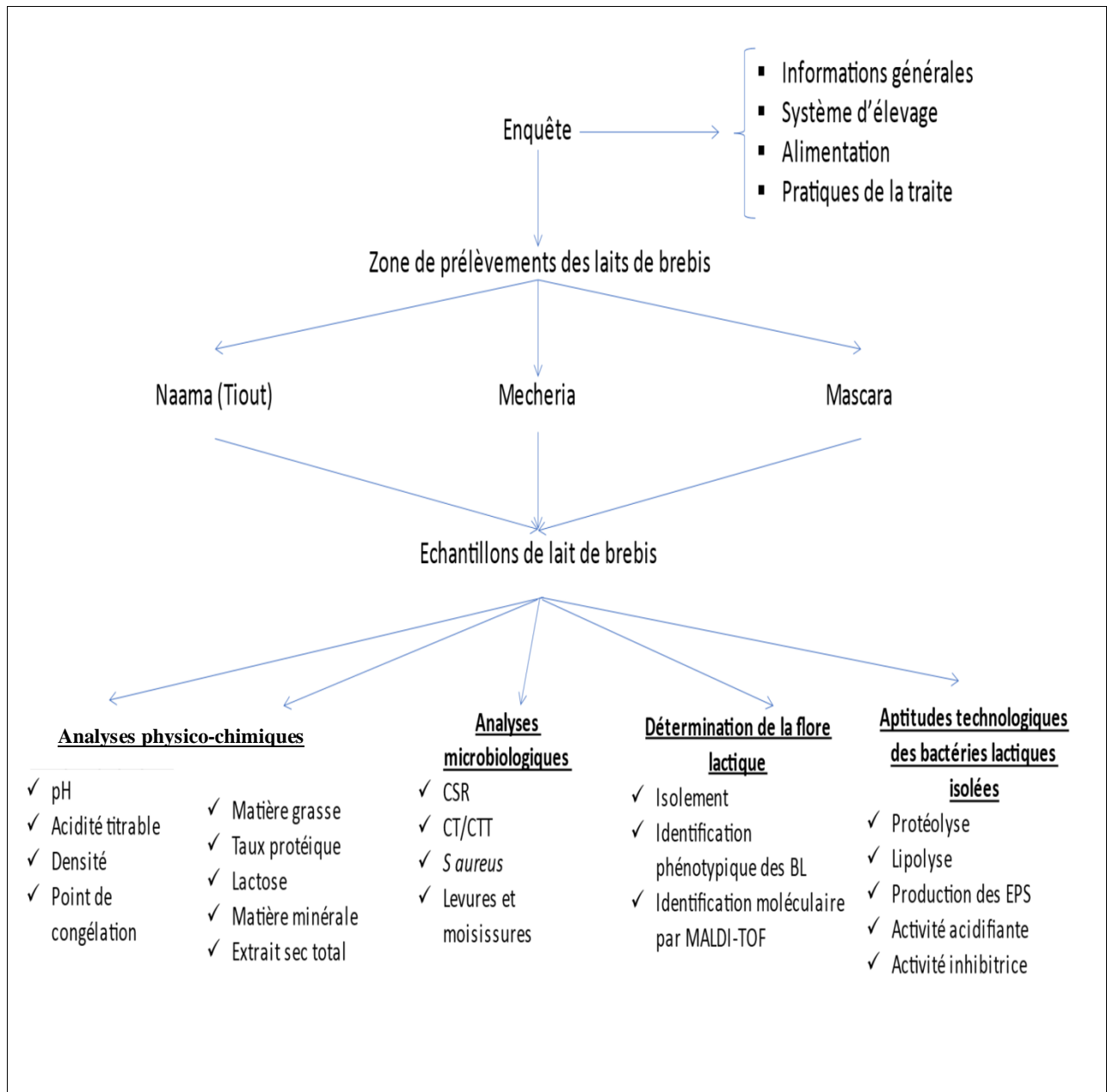


Figure 15 : Schéma récapitulatif des analyses réalisées

1. Présentation des régions et la période de prélèvements des échantillons

La présente étude a été menée sur le lait de brebis collecté dans trois différentes régions de l'ouest algérien, ce choix a été basé sur les caractéristiques climatiques, botaniques et géographiques de chaque région avec une diversité de races (Figure 16).

- Mascara (climat semi-aride)
- Mecheria à Naâma (climat semi-aride sec et froid)
- Tiout à Naâma (climat désertique sec et froid)

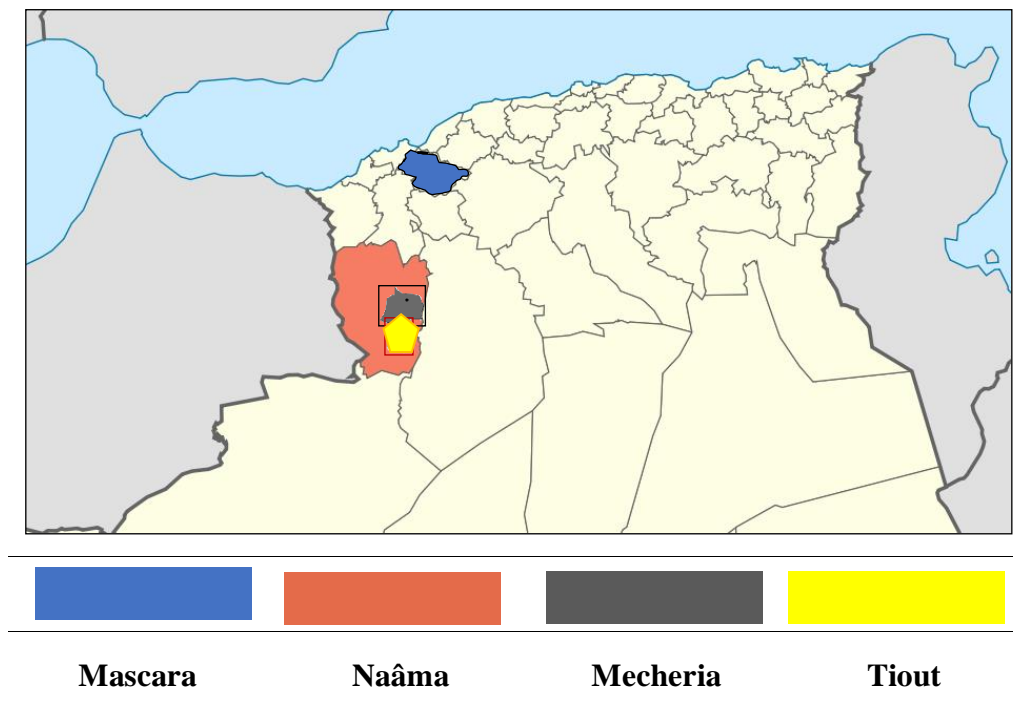


Figure 16 : Zone des prélèvements des échantillons de lait de brebis

1.1. Mascara

Mascara se situe au nord-ouest de l'Algérie 90 km au Sud-Est d'Oran. C'est une ville de moyenne altitude (32° 24' 00" Nord, 0° 00' 00" Est, altitude 570 m), caractérisée par un climat méditerranéen avec une tendance à la semi-aridité. La température moyenne à Mascara est de 17,2°C et les précipitations moyennes sont de 393,2 mm.

1.2. Mecheria

C'est une commune de la wilaya de Naâma en Algérie, située dans le nord-ouest algérien (33° 33' 00" Nord, 0° 17' 00" Ouest, altitude 891 m), elle est considérée comme l'un des carrefours qui relient le Sud algérien à l'Oranie. Mecheria possède un climat méditerranéen chaud et sec selon la classification de Koppen-Geiger. Sur l'année, la température moyenne est de 17.2 °C et les précipitations sont en moyenne de 269.3 mm.

1.3. Tiout

Tiout est une commune de la wilaya de Naâma en Algérie. Tiout se situe sur les Monts de Ksour de l'Atlas Saharien (32° 46' 16" Nord, 0° 25' 13" Ouest, altitude 1016 m) ce qui lui confère un microclimat avec une température moyenne de 19.2°C. Les précipitations sont en moyenne de 188.8 mm.

Les précipitations et les températures durant la période Avril 2015 - Mars 2016 sont présentées dans l'annexe 1.

2. Enquête préliminaire

Une prospection a été réalisée sur les différentes régions d'élevage d'espèces ovines (brebis) et à partir desquelles les prélèvements de lait de brebis ont été effectués.

Un questionnaire (Annexe2) a été mis au point et soumis aux éleveurs des différentes exploitations (fermes) dans le but d'avoir des informations sur :

- Taille moyenne des élevages.
- Race ou variétés ovines élevées.
- Age de la race.
- Durée de lactation.
- Périodicité de la traite.
- Mode d'élevage.
- Contrôle sanitaire et hygiénique des troupeaux.

3. Echantillonnage des laits crus

La collecte de lait cru de brebis a été réalisée selon les règles d'hygiène et d'asepsie recommandées en microbiologie. C'est-à-dire lavage, rinçage des pis des brebis à l'eau javellisée suivie d'une élimination des premiers jets. La traite était manuelle et les laits crus

ont été recueillis dans des flacons stériles étiquetés, immédiatement conservés à 4°C en utilisant une glacière électrique (pour assurer la conservation du lait), pendant leur acheminement au laboratoire pour les différentes analyses. Les échantillons (N=7) sont des laits crus entiers de petit mélange de quatre brebis (Tableau 6).

Tableau 6 : Distribution des échantillons collectés

Régions	Nombre d'échantillons	Période de prélèvements	Nombre total des échantillons
Mascara	2	02.04.2015	7
Tiout (Naâma)	3	21.05.2015	
Mecheria (Naâma)	2	02.01.2016	

Les échantillons de laits ont été codés de manière à préserver leur traçabilité voir figure 17

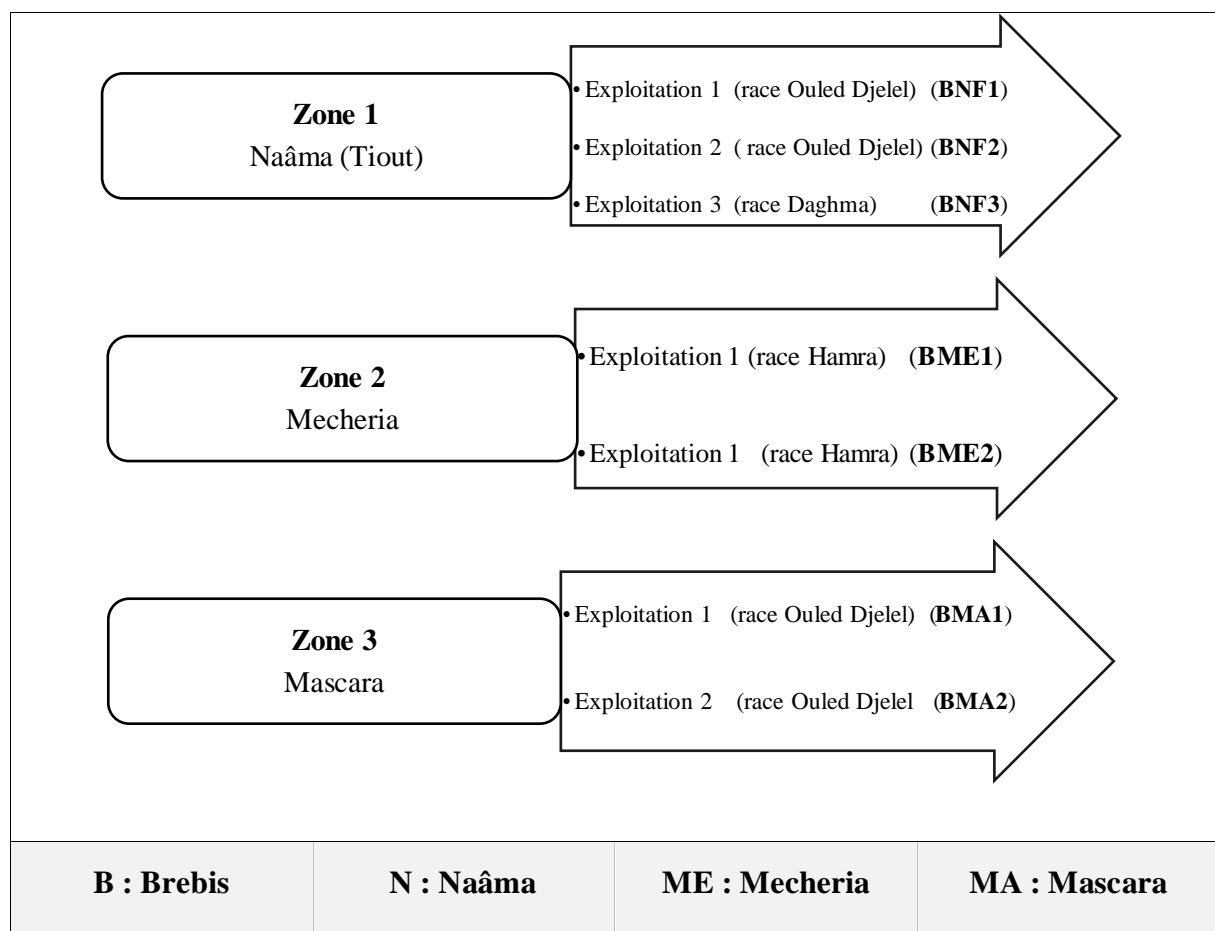


Figure 17 : Codage des échantillons

4. Analyses physico-chimiques des échantillons de lait de brebis

Des analyses ont été effectuées, sur les différents échantillons des laits de brebis collectés, afin de déterminer les principales propriétés physiques et chimiques ainsi que la valeur nutritionnelle. L'ensemble des paramètres analysés sont présentés en figure 18.

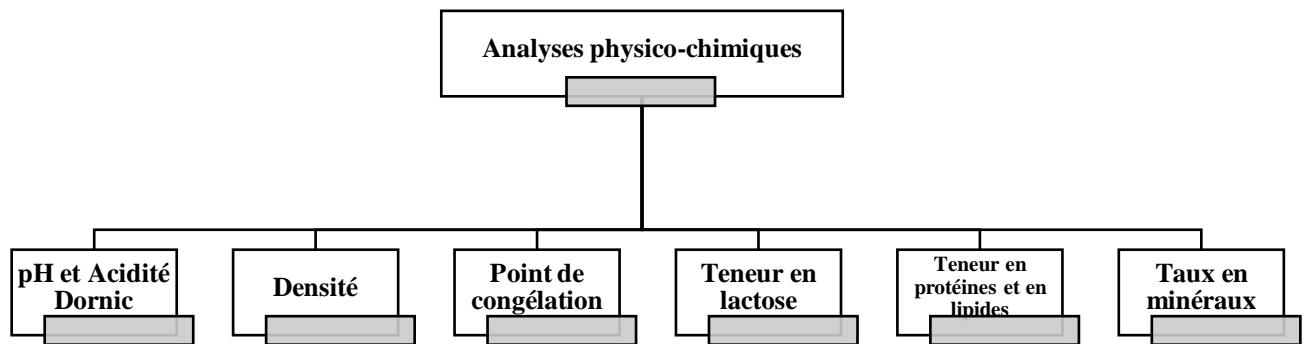


Figure 18 : Paramètres physico-chimiques étudiés

4.1. Mesure du pH

La valeur du pH a une importance exceptionnelle par l'abondance des indications quelle donne sur la richesse du lait de certains constituants sur l'état de fraîcheur ou sur sa stabilité. (Mathieu, 1998). Le pH des échantillons de lait a été mesuré, à l'aide d'un pH-mètre (type PHSJ-3F), par trempage dans un volume (30ml) de lait prélevé dans un bécher. L'opération est répétée 3 fois pour chaque échantillon et c'est la moyenne des mesures qui est prise en compte.

4.2. Détermination de l'acidité titrable

Des méthodes de titrage plutôt que des mesures de pH sont utilisées pour vérifier l'équilibre acido-basique, qui est généralement appelé acidité titrable du lait.

Pour quantifier le degré d'acidité d'un lait, on utilise un titrage acido-basique par la soude Dornic. La procédure comprend les étapes suivantes. Un volume de 10 ml de lait est

placé dans un bécher de 100 ml en présence de 0,1 ml de phénolphtaléine à 1% dans l'alcool à 95%, la soude Dornic (N/9) est rajoutée jusqu'au virage au rose.

La coloration rose doit persister au moins 10 secondes (**Guiraud, 1998**). La mesure de l'acidité est répétée trois fois pour chaque échantillon de lait.

L'acidité du lait est exprimée en degré Dornic. Un degré Dornic équivaut à une teneur de 0,1 g d'acide lactique par litre de lait.

4.3. Détermination des paramètres biochimiques des laits collectés

4.3.1. Description de l'appareil de mesure

Le Funke Gerber Lactostar (**Ref : 3510**) est un appareil d'analyse chimique du lait. Cet appareil comprend un système de nettoyage et de rinçage entièrement automatique et un étalonnage du point zéro pour des tests rapides et précis. Les dispositifs peuvent stocker 20 données d'étalonnage différentes. De nombreuses installations dans les instituts et laboratoires du monde entier attestent de la qualité, de la fiabilité et de la précision, exceptionnelles de cet appareil d'analyse chimique.

4.3.2. Principe de mesure

Lactostar contient 3 pompes, la pompe de mesure, la pompe de rinçage et la pompe de nettoyage, qui sont raccordées au canister correspondant. L'appareil mesure la matière grasse, les protéines, le lactose, la matière sèche, les minéraux et calcul le point de congélation et la densité du lait.

Un échantillon de lait de 20 ml à température ambiante est aspiré dans les cellules de mesure au moyen d'une pompe. La teneur en matière grasse ainsi que la matière sèche sont déterminées en utilisant la Red Box (mesure thermique). Les protéines, le lactose et les minéraux sont déterminés à l'aide d'une deuxième cellule de mesure (Blue Box) qui utilise quatre longueurs d'ondes différentes. La densité et le point de cryoscopie sont ensuite calculés sur la base des valeurs mesurées (estimation par algorithme de calcul).

5. Analyses microbiologiques des échantillons de lait prélevés

La flore totale contaminant le lait a été analysée comme présenté dans la figure suivante.

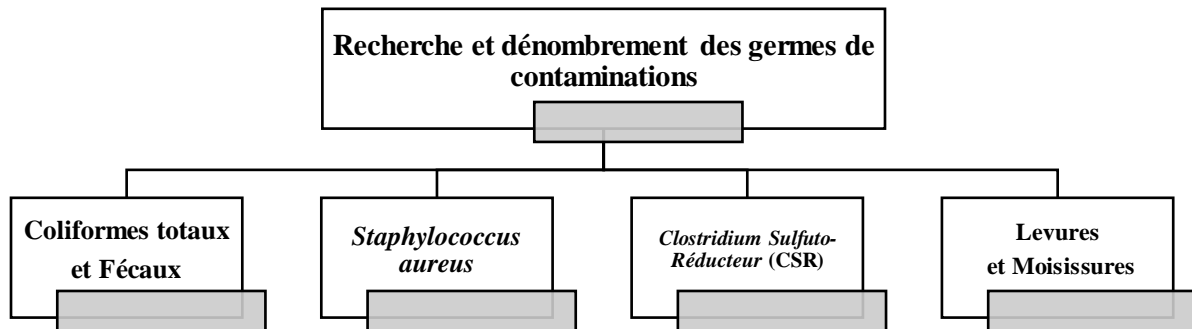


Figure 19 : Flore de contamination recherchée dans les laits prélevés

Des examens bactériologiques ont été réalisés sur les échantillons des laits collectés afin d'évaluer leur qualité sanitaire et hygiénique. Les échantillons ont étéensemencés sur des géloses sélectives pour le dénombrement des bactéries pathogènes.

Différentes dilutions avec une solution peptone sel ont été utilisés selon la nature de l'échantillon ; elles varient entre 10^{-1} jusqu'à 10^{-5} et à partir de chaque dilution, nous avonsensemencé trois boîtes de Pétri (AFNOR, 1996).

A la fin de l'incubation, les boîtes ont été retirées des incubateurs et les différentes colonies ont été dénombrées selon l'aspect macroscopique.

5.1. Flore de contamination

5.1.1. Dénombrement des coliformes totaux et fécaux

Les coliformes appartiennent à la famille des *Enterobacteriaceae*. Ils sont des bacilles à Gram négatif, oxydase négative, aéro-anaérobies facultatifs et incapables de sporuler (Bariz, 2009). Leur présence dans le lait est un indice de contamination fécale. Cet indice est mis à profit dans l'examen de la qualité sanitaire des produits car certaines espèces peuvent être responsables d'infections gastro-intestinales.

Les coliformes ont été recherchés et dénombrés sur milieu gélosé lactosé bilié au cristal violet (VRBL). À partir des dilutions décimales allant de 10^{-1} à 10^{-3} , 1 ml est ensemencé en masse, incubés à 37°C pour la recherche des coliformes totaux et 44°C pour la recherche des coliformes fécaux pendant 24 h à 48 h. Toutes les colonies rouges d'un diamètre de 0,5 mm minimum apparues sont considérées comme étant des coliformes (Mouffok, 2006).

5.1.2. Dénombrement des *Staphylococcus aureus*

Les staphylocoques appartiennent à la famille des Micrococcaceae, ce sont des Cocci à Gram positif, immobiles, non sporulés et aéro-anaérobie facultatives (Bariz, 2009).

Les *Staphylococcus aureus* (SA) ont été recherchés sur gélose Chapman (ensemencement en surface) incubées à 37°C pendant 24 à 48 h. Les *Staphylococcus aureus* donnent des colonies jaunâtres et provoquent le virage du milieu en jaune (Guiraud, 2003). La confirmation a été effectuée par coloration de Gram (+) et recherche de catalase (+).

5.1.3. Recherche des *Clostridium sulfito-réducteurs*

Les *Clostridium sulfito-réducteurs* sont des bactéries anaérobies sulfito-réductrices sous forme de bacilles, à Gram +, ne possédant pas de catalase et pouvant former des spores.

Pour leur dénombrement, un échantillon de 10 ml de lait est placé dans un tube stérile préalablement chauffé 10 mn à 80°C afin de détruire les formes végétatives et de garder uniquement les spores. Ensuite, à l'aide d'une pipette stérile, 1 ml de l'échantillon traité à la chaleur a été déposé en profondeur de la gélose viande-foie (VF) additionnée d'alun de fer et de sulfite de sodium.

L'inoculum a été mélangé doucement au milieu de culture, sans faire de bulles pour ne pas provoquer une oxygénation du milieu. Puis, les tubes ont été plongés dans l'eau froide afin que le mélange se solidifie. Après incubation à 37°C pendant 16 h, 24 h ou au plus tard 48 h, seules les colonies entourées d'un halo noir sont dénombrées (Mouffok, 2006).

5.1.4. Recherche des levures et des moisissures

Les levures et les moisissures se développent à des pH acides et à des températures avoisinant l'intervalle 20°C-25°C (Bariz, 2009).

Le dénombrement des levures et moisissures dans le lait et les produits laitiers est réalisé sur gélose glucosée de l'extrait de levure à l'oxytétracycline (OGA). Les boîtes ensemencées en surface ont été incubées à 25°C pendant 5 jours. Des lectures ont été réalisées tous les jours, par un dénombrement des colonies. Dans ce milieu seules les levures et les moisissures poussent.

Toutes les analyses effectuées précédemment ont été réalisées en triple.

5.2. Dénombrement et isolement de la flore lactique

Des dilutions décimales ont été réalisées en triple à l'aide d'une solution d'eau physiologique à 9 % à raison de 9 ml par tube, après homogénéisation, on étale 0,1 ml de chaque dilution sur les milieux de dénombrements (PCA lait, MRS et M17). Les boîtes sont ensuite incubées à 30°C et 37°C et 42°C pendant 24 h à 48 h.

Les boîtes contenant 30 à 300 colonies ont été retenues. On a repiqué au hasard quelques colonies bien isolées dans un nouveau milieu de culture solide (MRS et M17) et incubé à 30°C pendant 24 h (Voir figure 20).

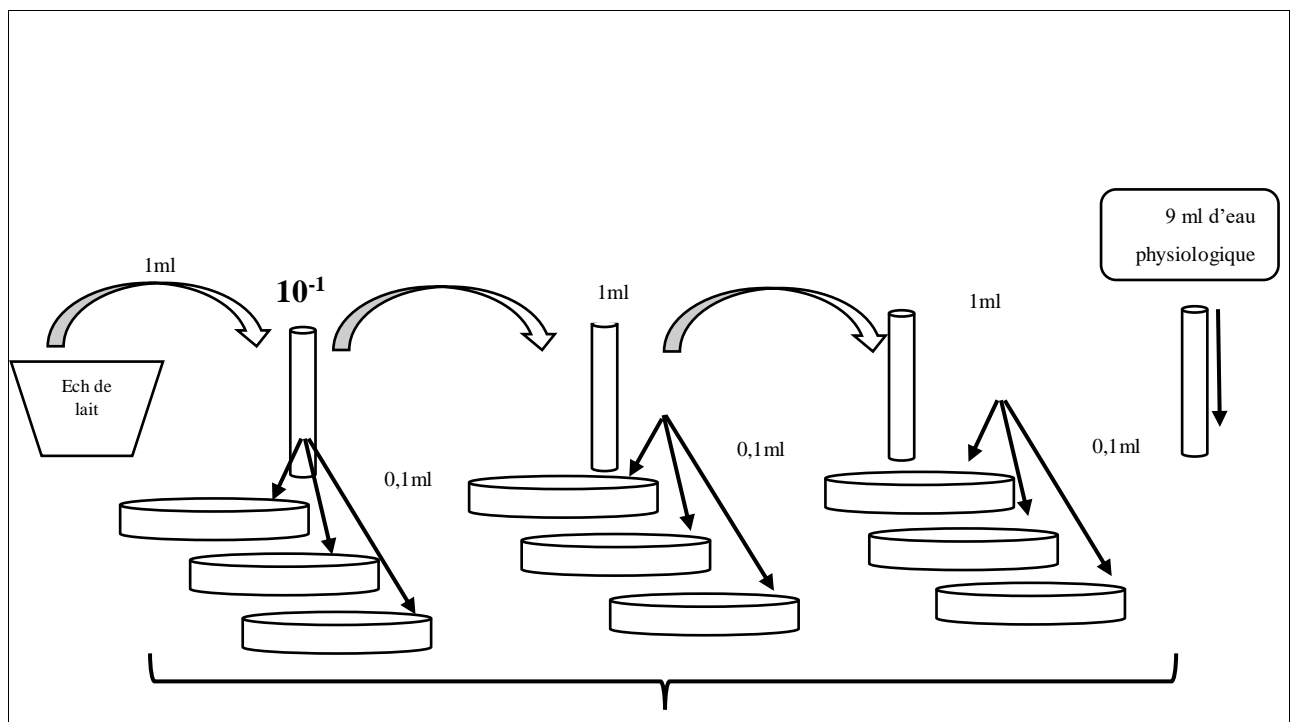


Figure 20 : Incubation à 30°C et 37°C pendant 24 h à 48 h

Les colonies obtenues sont examinées macroscopiquement et les bactéries sont caractérisées microscopiquement après coloration de Gram. Les isolats qui montrent les caractères présomptifs des bactéries lactiques sont purifiés par la méthode des quadrants sur milieu solide. Les colonies pures sont isolées pour la suite de l'étude.

5.2.1. Etude morphologique

L'étude morphologique est basée sur l'observation macroscopique et microscopique

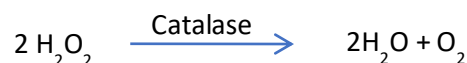
- a- **Observation macroscopique** : l'examen macroscopique permet de déterminer l'aspect des colonies (la couleur, la forme, l'aspect et la taille des colonies).
- b- **Observation microscopique** : la coloration de Gram est utilisée pour classer les bactéries selon leur Gram, leur morphologie et leur mode d'association.

5.2.2. Coloration de Gram

Un frottis fixé à la chaleur est coloré pendant une minute au violet de gentiane, puis traité pendant une minute par une solution de lugol ensuite il est rincé. On soumet alors le frottis coloré à une étape de décoloration en le traitant avec l'éthanol à 95%. Il s'agit de l'étape critique : la lame est maintenue inclinée et on fait couler le solvant sur le frottis pendant 2 à 3 secondes seulement jusqu'à ce que le colorant cesse de s'échapper librement du frottis. Celui-ci est alors immédiatement rincé à l'eau. On soumet ensuite le frottis à une contre coloration de 30 secondes à la fuchsine. Après un bref rinçage, on sèche le frottis au buvard et on l'examine à l'objectif à immersion (grossissement X 1000). Toutes les bactéries lactiques sont à Gram positif.

5.2.3. Test catalase

Pendant leur respiration aérobie certaines bactéries produisent du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) celui-ci est très toxique et certaines bactéries sont capables de le dégrader grâce aux enzymes qu'elles synthétisent et notamment la catalase. Cette enzyme est capable de décomposer l'eau oxygénée selon la réaction :



Ce test a pour but de différencier les bactéries lactiques (catalase -) des entérobactéries (catalase +). Une colonie est mise en suspension avec une ou deux gouttes de solution de peroxyde d'hydrogène (10 volumes) sur une lame. La réaction positive se traduit par un

dégagement immédiat de gaz (O₂) (**Bourgeois et al., 1980**). Les bactéries lactiques sont à catalase négative.

5.2.4. Conservation des souches

- **Conservation à courte durée :** La conservation des souches à courte durée a été effectuée à 4°C dans des tubes à essais en géloses inclinées à raison d'un repiquage toutes les quatre semaines.
- **Conservation longue durée :** pour des périodes de conservation plus prolongées, les souches sont gardées à -20°C dans un milieu liquide (bouillon MRS) supplémenté avec 30% (vol / vol) de glycérol comme cryoprotecteur.

5.2.5. Identification des isolats lactiques

L'identification des isolats lactiques est réalisée par des méthodes pasteuriennes (phénotypiques) et moléculaires (MALDI-TOF).

5.2.5.1. Identification phénotypique des isolats

Les colonies isolées sur les milieux de dénombrement peuvent être identifiées au moyen de méthodes phénotypiques (tests physiologiques et biochimiques).

a- Croissance à différentes températures

Ce test est réalisé pour les cocci et les bacilles, il permet de distinguer les bactéries lactiques mésophiles des bactéries lactiques thermophiles (**Leveau et al., 1991**). L'aptitude de la culture est testée à 10°C, 37°C et 45°C.

Ces températures permettent d'identifier les bactéries comme suit :

- 10°C pour les souches psychrotrophes.
- 37°C pour les lactobacilles et les *Leuconostoc* sur milieu MRS.
- 45°C les streptocoques et les entérocoques.

La croissance est appréciée par l'apparition d'un trouble après 24 h d'incubation à 37°C et 45°C et ceux à 10°C après 7 jours d'incubation (**Bekhouche, 2006, Mechai, 2009**).

b- Test de thermorésistante

Ce test permet de sélectionner des espèces thermorésistantes. Des tubes contenant 10 ml de MRS liquide sont inoculés par les souches isolées, ensuite les tubes sont déposés dans un bain marie à 63,5°C pendant 30 minutes, après refroidissement brusque, elles sont incubées à 30°C ± 1°C pendant 48 heures à 72 heures. Un résultat positif se traduit par un trouble. (Rouisset et al., 2006). Seules certaines bactéries lactiques sont thermorésistantes comme *S. thermophilus*, *En. faecalis*, *En. faecium* et *Lb. bulgaricus*.

c- Recherche de la production de gaz (type fermentaire)

Ce test permet de classer les bactéries en hétérofermentaires ou homofermentaires. Il est effectué dans un milieu dépourvu de citrate pour éviter la formation de CO₂ liée à ce métabolisme particulier mais en présence de glucose comme carbohydrate.

On ensemence abondamment un tube de 10 ml de bouillon MRS ou M17 dans lequel on introduit une cloche de Durham, le CO₂ dégagé par les bactéries hétérofermentaires s'accumule dans la cloche après incubation à 30°C pendant 24 h à 48 h (Coppet et al., 2006).

d- Croissance dans des conditions hostiles

Ce test est réalisé pour caractériser les lactocoques des entérocoques.

- **Halophilie** : Pour étudier l'halophilie des lactocoques, on cultive des souches pures sur milieu hypertonique (bouillon MRS) en présence de concentrations variables de NaCl (4 % et 6,5 %). Les souches sont incubées à 30°C pendant 48 h. On apprécie la croissance par l'apparition d'un trouble.
- **Croissance à pH 4,5 et 9,6** : Ce test est réalisé en inoculant un milieu liquide (bouillon MRS), dont le pH est porté à 9,6 et 4,5, par des souches pures. L'incubation est réalisée à 30°C pendant 24 h à 48 h et la croissance est appréciée par l'apparition d'un trouble (Bekhouche, 2006, Bourgeois et al., 1996).

e- Croissance sur le lait de Sherman

Des isolats en forme cocci sont ensemencés dans deux séries de tubes contenant 10 ml de lait écrémé additionnée à 1 ml de bleu de méthylène à 1% pour la première série, et à 1 ml de bleu de méthylène à 3% pour la deuxième série. Les tubes sont ensuite incubés à 30°C pendant 24 à 48 h (Bekhouche, 2006).

Le bleu de méthylène tire sa couleur grâce à l'oxygène, ce test porte toujours sur le système respiratoire des lactocoques, car vu que ce sont des micro-aérophiles, ils ne vont utiliser qu'une faible partie de l'oxygène présent dans le bleu de méthylène (3%) et de ce fait la couleur du lait (bleue) ne virera que légèrement vers le blanc et ce contrairement aux entérocoques (aérobies) qui utilisent tout l'oxygène du bleu de méthylène.

f- Hydrolyse de l'esculine

L'hydrolyse de l'esculine rompt la liaison glucosidique et libère du glucose et de l'esculitine qui donne une coloration noire en présence de citrate de fer ammoniacal.

- Répartir le bouillon d'esculine en tubes à essai à raison de 10ml par tube.
- Après ensemencement, incuber à 30°C pendant 48 à 72 heures.

Un résultat positif se traduit par un noircissement du milieu. Pour les bactéries à esculine négative le milieu reste inchangé mais il y'a croissance bactérienne.

g- Recherche de Citratase

Ce milieu ne contient qu'une seule source de carbone : le citrate. Seules les bactéries possédant une citrate perméase sont capables de se développer sur ce milieu. La pente du milieu est ensemencée selon une strie longitudinale au moyen d'une anse contenant une colonie et incubé à 30°C ± 1°C pendant 5 jours (**Bekhouche, 2006, Mechai, 2009**).

- Citrate positive : croissance avec alcalinisation du milieu (virage de l'indicateur au bleu).
- Citrate négative : pas de croissance (coloration verte, le milieu reste inchangé).

5.2.5.2. Identification moléculaire des isolats

L'identification moléculaire a été réalisée au niveau du laboratoire de microbiologie du Centre de Recherche Scientifique et Technique en Analyse Physico-chimique (CRAPC), Tipaza.

a- Description de l'appareillage

Le MALDI-TOF est un spectromètre de masse, couplant une source d'ionisation laser assistée par une matrice (MALDI= Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionisation) et un analyseur à temps de vol (Tof = Time-Of-Flight mass spectrometry) (**Seng et al., 2009**).

La principale fonction de la spectrométrie de masse MALDI TOF (Microflex, Bruker Daltonics, Bremen, Germany) en microbiologie, est l'identification des microorganismes par l'analyse de leurs protéines totales, elle permet de réaliser une identification en quelques

minutes et avec une haute précision, ces atouts majeurs sont la fiabilité des résultats, la rapidité et le faible coût de l'analyse (Seng et al., 2009).

Le protocole appliqué pour identifier les isolats lactiques est le suivant :

Sous un poste de protection microbiologique, pour chaque culture bactérienne de 24 h, une seule colonie était déposée sous forme d'un fin frottis d'environ 5 mm² à la surface de la plaque métallique servant de cible aux tirs du laser. Après séchage à l'air, 1 µl de matrice cyano-hydroxycinnamique était ajouté. Une seconde étape de séchage à l'air permet sa co-cristallisation avec l'échantillon bactérien.

➤ Insertion de la cible et lancement du MALDI-TOF

- La cible est ensuite introduite dans le spectromètre (Microflex, Bruker Daltonics, Bremen, Germany) et exposée sous vide aux tirs du laser. Le temps de vol des espèces ioniques et les spectres de masse ainsi obtenus étaient ensuite analysés grâce au logiciel Biotyper 2.0.
- Remplissage de la fiche du logiciel MALDI Biotyper Automation control.
- Lancement du spectromètre de Masse : Microflex.

Les étapes de l'identification par Maldi-TOF sont illustrées dans la figure 21.

➤ Interprétation des résultats de l'analyse spectrométrique

Le MALDI TOF identifie les micro-organismes en utilisant le logiciel Biotyper 2.0. La spectrométrie de masse permet de mesurer une unique empreinte moléculaire d'un organisme, plus précisément, le logiciel Biotyper MALDI mesure les protéines très abondantes qui se trouvent dans tous les micro-organismes.

Les motifs caractéristiques de ces protéines très abondantes sont utilisés pour identifier d'une manière fiable et précise un micro-organisme particulier, en faisant correspondre le modèle à une base de données étendue, ouverte, pour déterminer l'identité du micro-organisme jusqu'au niveau de l'espèce.

L'identification est correcte lorsque la valeur du score identifié par le MALDI TOF est ≥ 1.9 (Seng et al., 2009). Les intervalles d'identification sont illustrés dans le tableau 7.

Le MALDI-TOF Biotyper intègre une bibliothèque de référence comprenant des milliers de souches individuelles. La mise à jour de la base de données est réalisée chaque année en se référant au Centre National d'Information sur la Biotechnologie (NCBI).

Tableau 7 : Intervalle d'identification par MALDI-TOF

Intervalle	Description	Couleur	Symboles
2.300 - 3.000	Highly probable species identification	Verte	+++
2.000 - 2.299	Secure genus identification, probable species identification	Verte	++
1.700 - 1.999	Probable genus identification	Jaune	+
0.000 - 1.699	Not reliable identification	Rouge	-

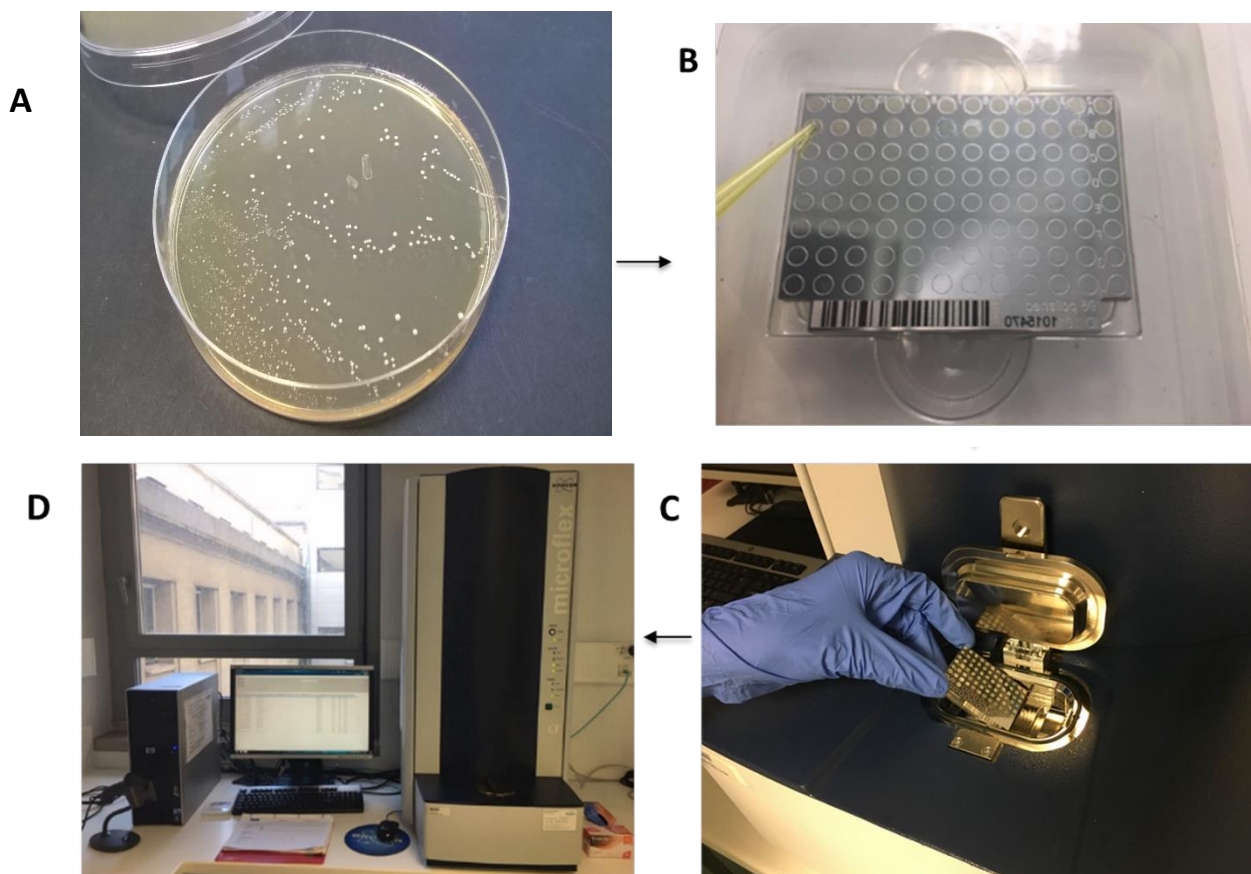


Figure 21 : Etapes d'identification par spectrométrie de masse MALDI-TOF

(A : culture jeune ; B : plaque métallique ; C : insertion de la cible ; D : lecture du résultat)

6. Caractéristiques technologiques des souches lactiques isolées

La caractérisation technologique des bactéries lactiques isolées est un préalable à leur application dans différents domaines comme l'industrie alimentaire dans la transformation des aliments ou la santé humaine (comme probiotiques). Les activités technologiques étudiées dans notre travail, sont résumées dans la figure ci-dessous.

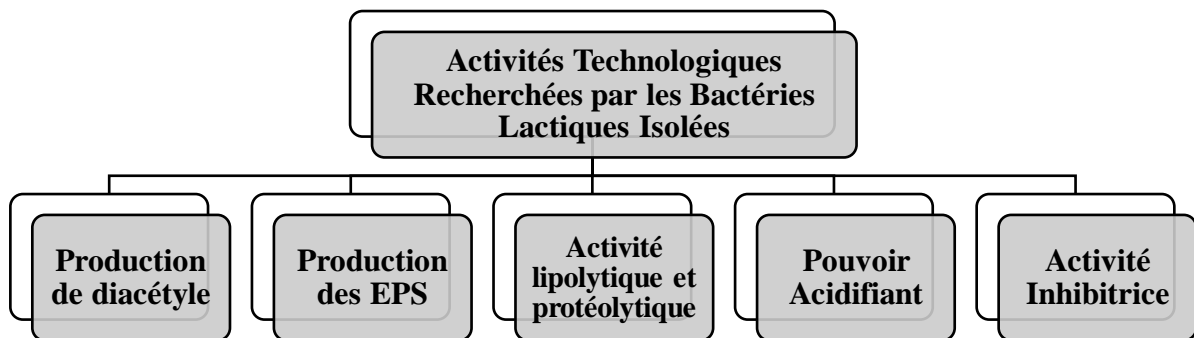


Figure 22 : Activités technologiques étudiées par les bactéries lactiques

6.1. Production de diacétyle

La recherche de l'acétoïne est testée par la réaction de Voges Proskauer (VP), basée sur le principe que l'acétoïne se transforme en diacétyle sous l'action de la soude en présence d'oxygène. Ce dernier se combine avec l' α -naphthol en formant un complexe rouge détectable. 1 ml de la culture réalisée dans le milieu Clark et Lubs est placé dans un nouveau tube et on lui ajoute 0,5 ml du réactif à l' α -naphthol (α -naphthol à 6% dans l'alcool à 95%) et 0,5 ml de soude à 16%. Les tubes sont laissés ouverts. Après 10 minutes, la présence d'acétoïne se traduit par une coloration rose en surface mais pouvant diffuser dans tout le milieu (**Ribeiro et al., 2014**).

6.2. Production des exopolysaccharides

La production d'EPS a été réalisée sur milieu MSE (Mayeux, Sandine et Elliker), sa forte concentration en saccharose (10%) permet la détection de ces produits. Les souches lactiques pré-cultivées sur gélose MRS ont été étalées dans des boîtes de Pétri contenant le milieu MSE et incubées à 30°C pendant 24 h. La production d'EPS a été évaluée en fonction de la présence de souches mucoïdes et est caractérisée par la formation de grandes colonies visqueuses et collantes (**Fguiri et al., 2016**).

6.3. Etude de l'activité lipolytique

L'activité lipolytique des souches a été déterminée sur milieu solide MRS (pH = 7) supplémenté avec différents substrats lipidiques (naturels et artificiels). L'activité lipolytique a été détectée sur MRS dépourvue de Tween 80 et complétée avec 3% d'huile d'olive comme unique source de lipides. Comme substrat artificiel nous avons utilisé du tween 80 à 3%. Les plaques ont été inoculées avec les cultures correspondantes en spots et incubées à 30°C pendant 72 h. L'activité lipolytique a été détectée par l'apparition d'une zone claire entourant la culture (**Hantsis-Zacharov et Halpern, 2007**).

6.4. Etude de l'activité protéolytique

La protéolyse est considérée comme étant l'évènement biochimique le plus important durant la maturation fromagère. L'activité protéolytique a été déterminée selon la procédure décrite par **de Almeida et al. (2015)**. Les isolats lactiques, issus d'une culture jeune, ont été ensemencés sur gélose MRS additionnée de 10% (m/v) de lait écrémé et incubés à 30°C pendant 24 h. L'activité protéolytique se manifeste par l'apparition d'une zone claire autour des colonies.

6.5. Etude du pouvoir acidifiant

La production d'acide lactique est l'une des principales fonctions désirées des bactéries lactiques. 16 souches sélectionnées ont été cultivées pendant une nuit dans un bouillon MRS à 30°C avant le test. Des tubes contenant 200 ml de lait écrémé (10%) ont été inoculés (1% v/v) avec des isolats et incubés à 30°C.

L'acidité titrable a été déterminée par la méthode titrimétrique telle que décrite par **Guiraud (1998)** et mesurée à 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12 et 24 h. 0,5 ml de phénolphtaléine à 1% (1 g de phénolphtaléine dans 100 ml d'alcool éthylique à 95 %) est ajouté à 10 ml d'échantillon de lait à analyser. Le titrage est réalisé par une solution de soude (N/9) jusqu'au premier changement de couleur permanent (30 secondes) au rose. L'évolution de l'acidité dans le milieu en fonction du temps a été mesurée directement par pH-mètre (**PHSJ-3F**) et en dosant la quantité d'acide lactique produite dans le lait par titrimétrie.

6.6. Recherche de l'activité inhibitrice

6.6.1. Méthode d'ensemencement par touches

Un échantillon de nos bactéries lactiques sélectionnées (souches inhibitrices) a été étudié pour son pouvoir inhibiteur, par la méthode d'ensemencement en touches sur milieu solide, contre deux bactéries pathogènes (souches indicatrices), notamment *Escherichia coli* (ATCC 25922) et *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853).

Les souches lactiques ont été cultivées dans un bouillon MRS à 30°C pendant 24 h puis ont été ensemencées en touches à la surface des milieux MRS ou BHI contenant 1% d'agar, pré-ensemencés avec l'une des bactéries indicatrices à 10⁸ UFC/ml, et incubé pendant 24 h à une température optimale pour les micro-organismes pathogènes c'est-à-dire à 37°C.

Un résultat positif s'exprime par la présence d'un halo d'inhibition, autour de la touche et dont on mesure la dimension du halo d'inhibition.

6.6.2. Méthode de diffusion en puits

L'activité inhibitrice de différentes souches lactiques contre les agents pathogènes a été déterminée, selon **Harris et al. (1989)**, par l'utilisation du test de diffusion en puits.

Les souches indicatrices : *Escherichia coli* (ATCC 25922) et *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) ont été cultivées dans de la Tryptone Soya Agar (TSA, Himedia) supplémentée avec 0,6 % d'extrait de levure à 37°C pendant 24 h. Chaque agent pathogène a été mis en suspension dans 4 ml d'eau stérile et normalisé à environ 10⁸ufc/ml, comparable à la turbidité standard 0,5 de Mc-Farland. 1 ml a été étalé à la surface de la gélose TSA solide puis laissé absorber. Ensuite, 70 µl de chaque surnageant des isolats lactiques obtenus après centrifugation (Sigma 4-16 KS N ° 136689) à 6000 tours/min pendant 10 min à 4°C en phase de croissance exponentielle ont été remplis dans des puits de 5 mm de diamètre creusés dans la gélose pré-ensemencé par les souches indicatrices.

Après diffusion des surnageants à 4 °C pendant 18 h, les boîtes de Pétri ont été incubées pendant 24 h à une température optimale pour les microorganismes indicateurs (37°C).

La sensibilité des pathogènes au surnageant des bactéries lactiques est exprimée par l'apparition d'une zone claire autour des puits. La lecture des résultats se fait par la mesure de la dimension du halo d'inhibition.

Toutes les activités technologiques ont été réalisées en triple à l'exception du pouvoir acidifiant qui a été effectué une seule fois.

7. Analyses statistiques

Les résultats obtenus ont été traités par une analyse de variance ANNOVA (version 6.4) à deux facteurs (effet de zone et effet d'exploitation) selon le test NEWMAN-KEULS. Les moyennes des variables ont été comparées et les différences étaient considérées comme significatives au seuil de probabilité $p < 0,05$.



Résultats

et

discussions





Chapitre I

Résultats des propriétés physico-chimiques des laits prélevés



1. Propriétés physico-chimiques des laits prélevés

Les paramètres physico-chimiques des laits de brebis collecté ont pour but de déterminer la qualité de ces derniers.

1.1. Evaluation des paramètres physico-chimiques

Du point de vue physique, le lait présente une hétérogénéité, puisque certains composants sont dominants sur le plan quantitatif, ce sont l'eau, la matière grasse, les protéines et le lactose. Les propriétés physiques comme la densité, le potentiel d'hydrogène et le point de congélation dépendent de l'ensemble des constituants (Mathieu, 1998).

Les paramètres physiques des échantillons de laits de brebis prélevés sont décrits dans le tableau ci-dessous.

Tableau 8 : Résultats des paramètres physico-chimiques des échantillons de lait de brebis prélevés

	Echantillons							Norme FAO
	BNF1	BNF2	BNF3	BMA1	BMA2	BME1	BME2	
pH	6,49 ±0,01	6,60 ±0,00	6,27 ±0,00	6,53 ±0,01	6,54 ±0,00	6,25 ±0,01	6,40 ±0,01	6,50 – 6,85
Acidité °D	25 ^a ±1,00	20,33 ^b ±0,57	26,33 ^a ±1,58	22,33 ^b ±0,57	21,66 ^b ±0,57	21,33 ^b ±1,15	18,66 ^c ±0,57	22°D -25°D
Densité	1,032 ^a ±0,20	1,032 ^a ±0,20	1,038 ^a ±0,29	1,030 ^b ±0,17	1,032 ^a ±0,15	1,038 ^a ±0,71	1,034 ^a ±0,82	1,034-1,038
Point de congélation n °C	- 0,584 ^a ±0,11	- 0,523 ^a ±0,30	- 0,470 ^b ±0,15	-0,527 ^a ±0,25	-0,548 ^a ±0,18	- 0,530± 0,14	- 0,535 ^a ± 0,10	-0,570°C

(Les groupes homogènes a, b, c, d sont des indicateurs de différences significatives à P <0,05) ; Ns : non significatif

1.1.1. Mesure du pH des laits de brebis prélevées

L'une des propriétés physiques les plus importantes du lait est son équilibre acido-basique. L'analyse statistique a montré que les facteurs régions et exploitations n'ont pas d'effet significatif ($P < 0,05$) sur la valeur du pH (Tableau 8).

Selon la **FAO, (1995)**, le pH du lait ovin est compris entre 6,50 et 6,85. Le pH des laits de la région de Mascara rentre dans cette gamme soit 6,53 et 6,54 dans les laits BMA1 et BMA2 respectivement.

Pour les laits collectés dans la région de Mecheria, les valeurs enregistrées sont 6,25 dans BME1 contre 6,40 dans BME2.

En ce qui concerne les laits de la région de Naâma, Le lait BNF3 est plus acide par rapport aux deux autres laits BNF1 et BNF2 où le pH est de l'ordre de 6,27 contre 6,49 et 6,60 respectivement.

Les valeurs du pH étaient plus ou moins stables dans tous les échantillons de lait de brebis avec une valeur maximale de 6,60 enregistré dans le lait de BNF1 contre 6,25 dans le lait de BME1. Ces valeurs sont inférieures à celles des autres pays tels que la Tunisie (6,67 pour la race silico-sarde et 6,65 pour la race comisane, rapporté par **Rouissi et al. (2006)** et l'Italie où le pH rapporté est de 6,60 à 6,72 (**Pirisi et al., 2001**).

Comparativement aux laits d'autres espèces, le pH moyen des laits collectés ovins est légèrement acide par rapport aux laits camelin (6,51 à 6,69), bovin (6,67 à 6,83) et caprin (6,71) rapportés respectivement par **Alloui-Lombarkia et al. (2007)** ; **Gherman et al. (2007)** ; **Sraisi et al. (2004)** et **Agabriel et al. (2001)**.

Selon **Mathieu (1998)**, le pH du lait varie d'une espèce à l'autre et dépend, pour une espèce donnée, de la richesse de son lait en certains constituants, plus particulièrement en phosphates, citrates et caséines. Or il est connu que le lait de brebis est particulièrement riche en ces constituants par rapport à celui des autres ruminants (**Mathieu, 1998** et **Chilliard et Sauvart, 1987**).

1.1.2. Mesure de l'acidité titrable des laits de brebis collectés

Dans les méthodes traditionnelles, l'acidité titrable est utilisée comme indicateur de la qualité du lait, car il n'y a pas d'acide lactique dans le lait frais. L'acidité du lait est influencée par certains facteurs tels que les conditions hygiéniques et climatiques (température) ainsi que le stade de lactation (**Pavic et al., 2009**). Il faut cependant distinguer entre l'acidité naturelle, traduisant la richesse du lait en différents constituants de celle dite développée, due à la formation d'acide lactique (**Mathieu, 1998**). Les résultats de l'acidité sont rapportés dans le tableau 8.

L'acidité Dornic rapportée par la **FAO (1995)** est comprise entre 22°D et 25 °D pour le lait de brebis. Cette valeur reste supérieure par rapport à l'acidité Dornic du lait de vache (15 -17 D°) ou encore celle du lait de chèvre (14 – 18 °D).

Dans la présente étude, l'analyse statistique de l'acidité titrable a montré une différence significative ($P < 0,05$) entre les échantillons analysés.

Uniquement l'acidité titrable des laits BNF1 et BMA1 rentre dans la gamme rapportée par la FAO, $25^{\circ}\text{D} \pm 1,00$ et $22,33^{\circ}\text{D} \pm 0,57$ respectivement. L'acidité titrable la plus élevée a été constatée dans le lait BNF3 de la région de Naâma avec $26,33^{\circ}\text{D} \pm 0,57$. L'augmentation de l'acidité titrable indique une accumulation d'acide lactique provenant de la fermentation du lactose par des bactéries lactiques.

Des teneurs de l'ordre de 18,66 °D, 20,33°D, 21,33 °D et 21,66°D pour les laits BME1, BNF2, BME1 et BMA2 respectivement. Ces valeurs concordent avec les travaux avancés par **Mathieu (1998)** qui a montré que l'acidité d'un lait frais de brebis se situe entre 18 et 22°D. Nos résultats se rapprochent également de ceux évoqués par d'autres chercheurs, **A-Gasmi et al. (2013)** qui rapportent une acidité de l'ordre de 21,6°D pour le lait de brebis de race Comisana et 22,3°D pour la race Sicilo-sarde.

Selon **Walstra 2006**, une série de différents composants du lait sont responsable du niveau d'acidité du produit, y compris les sels minéraux et les protéines. Pour cette raison, les changements dans les concentrations de ces composants du lait affectent également le niveau de l'acidité titrable.

1.1.3. Détermination de la densité des laits collectés

La densité du lait dépend de l'alimentation de l'animal et elle ne dépend ni de l'âge ni de la race de l'animal. Elle dépend de la proportion d'éléments dissous ou en suspension et elle est liée à la richesse en matière sèche et grasse, donc un lait riche en matière grasse a une faible densité alors qu'un lait écrémé a une densité plus élevée (**Pirisi, 1994**). Le tableau 8 rapporte les résultats de la densité des laits.

Selon la **FAO (1995)**, la densité du lait de brebis est comprise entre 1,034 et 1,038. Pour les valeurs enregistrées dans nos échantillons de lait, uniquement, la densité des laits BME1, BME2 et BNF3 rentre dans l'intervalle rapporté par la **FAO** et se rapproche de celles trouvées par plusieurs auteurs pour le lait de brebis. **Rouissi et al. (2006)** ont rapportés des valeurs de 1,035 et 1,037 pour la race Sicilo-sarde et la race Comisane respectivement pour le lait de brebis en Tunisie. Aussi, **Martini et al. (2008)** qui ont enregistré une valeur de 1,030 pour le lait de brebis en Italie.

En ce qui concerne le reste des échantillons de laits, on a constaté une densité légèrement faible. $1,030 \pm 0,17$ pour BMA1, $1,031 \pm 0,20$ pour BNF1 et 1,032 pour BNF1 et BMA2. Certains laits comme BNF1, BNF2, BMA1 et BME2 dont la densité est légèrement faible peuvent être transformés en produits dérivés en vue de leur richesse en solides totaux et/ou en matière grasse.

1.1.4. Mesure du point de congélation des laits collectés

Le point de congélation dépend uniquement de la concentration des substances dissoutes. Plus cette concentration est élevée, plus le point de congélation est bas. Le point de congélation diminue avec la concentration du lait en nutriments. Il permet de mettre en évidence toute addition d'eau. La race, le stade de lactation et les teneurs en matière grasse et en protéine n'ont pas d'influence essentielle sur le point de congélation. En additionnant de l'eau, la concentration des substances dissoutes se réduit. Par conséquent, le point de congélation du lait augmente. Le point de congélation du lait de brebis est estimé à $-0,570^{\circ}\text{C}$ (**FAO, 1995**). Les résultats obtenus sont illustrés dans le tableau 8.

Le point de congélation était plus élevé pour le lait de BNF3 ($-0,470^{\circ}\text{C} \pm 0,15$) et plus faible pour le lait BNF1 ($-0,584^{\circ}\text{C} \pm 0,11$). Ces résultats ne corroborent pas avec la valeur donnée par la **FAO (1995)** et se trouvent légèrement inférieures à celles rapportées par

Chapitre I Résultats des propriétés physico-chimiques des laits prélevés

Gonzalo et al. (2005) (-0,575 à -0,571°C) pour le lait de brebis. Comparés aux laits d'autres espèces, il est déjà établi que le lait de brebis présente le point de congélation le plus bas.

1.2. Evaluation des paramètres biochimiques des laits de brebis collectés

La composition biochimique du lait de brebis frais varie dans le temps et selon les animaux en fonction de plusieurs facteurs, tels que le stade de lactation, la parité, la saison, la température environnementale, l'âge et la nutrition des animaux, les facteurs génétiques (espèce et race) et les maladies de la mamelle (**Tamime et al., 2011 ; Claeys et al., 2014**).

Le tableau 9 rapporte les caractéristiques descriptives des paramètres biochimiques des laits de brebis étudiés.

Tableau 9 : Composition biochimique des laits de brebis collectés (g / 100 g de lait)

	Echantillons							
	BNF1	BNF2	BNF3	BMA1	BMA2	BME1	BME2	Norme FAO
EST*	19,17 ^b ±0,12	19,19 ^b ±0,06	18,80 ^b ±0,08	18,92 ^b ±0,15	17,89 ^c ±0,03	16,87 ^c ±0,17	22,74 ^a ±0,09	-
ESD**	11,64 ^a ±0,09	11,97 ^a ±0,02	11,99 ^a ±0,04	10,95 ^b ±0,08	11,09 ^b ±0,10	9,74 ^c ±0,06	10,95 ^b ±0,04	-
MG***	7,53 ^c ±0,02	7,22 ^d ±0,02	6,90 ^c ±0,01	7,94 ^b ±0,18	6,80 ^c ±0,05	7,11 ^b ±0,19	11,79 ^a ±0,10	7,1 %
Taux protéique	4,27 ^d ±0,02	4,17 ^c ±0,07	4,62 ^c ±0,02	4,12 ^d ±0,03	4,23 ^d ±0,05	4,74 ^b ±0,03	5,45 ^a ±0,02	5,7 %
Lactose	6,25 ^a ±0,02	6,19 ^a ±0,02	6,83 ^a ±0,01	6,03 ^b ±0,09	5,97 ^b ±0,12	4,36 ^c ±0,02	4,90 ^c ±0,02	4,6 %
MM****	0,59 ^a ±0,21	0,39 ^c ±0,17	0,51 ^a ±0,15	0,43 ^b ±0,05	0,55 ^a ±0,17	0,50 ^a ±0,14	0,45 ^b ±0,09	0,9 %

(Les groupes homogènes a, b, c, d sont des indicateurs de différences significatives à P <0,05). *EST : extrait sec total ; **ESD : extrait sec dégraissé ; ***MG : matière grasse ; ****MM : minéraux.

1.2.1. Teneur en matière grasse

Parmi les constituants bioactifs du lait de brebis, les lipides. Ces derniers sont importants en raison de leur haute valeur nutritionnelle et de leur effet sur les paramètres physico-chimiques, sensorielles ainsi que sur les propriétés de fabrication des produits laitiers (**Park et al., 2007**).

La matière grasse du lait de brebis contient davantage d'acides gras à courte et à moyenne chaîne, mais moins d'acides gras à chaîne longue que le lait de vache, ce qui le rend donc plus facile à digérer (**Revilla et al., 2017**). Selon la **FAO (1995)**, la valeur de la matière grasse dans le lait de brebis est de l'ordre de 7,1 %.

L'analyse statistique des résultats a montré que le lait de l'exploitation 2 de la région de Mecheria BME2 est significativement plus riche en matière grasse ($11,79 \% \pm 0,10$) que les autres laits étudiés et reste largement supérieure à la valeur décrite par la **FAO (1995)** (Tableau 9). Cette forte teneur en matière grasse dans ce lait pourrait s'expliquer par le type de l'alimentation dans cette exploitation qui est basé principalement sur le pâturage (plantes herbacées : Helfa et armoise blanche) et le concentré (orge et foin) ou encore sur le stade de lactation au moment du prélèvement.

La teneur en matière grasse dans les échantillons BNF1, BNF2, BMA1 et BME1 était respectivement de $7,53 \% \pm 0,02$; $7,22 \% \pm 0,02$, $7,94 \% \pm 0,18$ et $7,11 \% \pm 0,19$. Ces teneurs s'insèrent dans la gamme rapportée par **Rouissi et al. (2006)** sur le taux de matière grasse de 7,49 % pour les ovins laitiers en Tunisie.

Des valeurs plus ou moins faibles en matière grasse ont été enregistrées dans BNF3 de la race Demane et BMA2 de la race Ouled-Djelel ($6,90 \% \pm 0,01$ et $6,80 \% \pm 0,05$ respectivement).

Les différences de la teneur en matière grasse enregistrées dans nos échantillons de laits peuvent être liées à plusieurs facteurs de variations tels que la race, l'âge de l'animal, le stade de lactation ou encore l'alimentation qui peut favoriser cette différence de matière grasse. L'origine géographique et les conditions environnementales peuvent également influencer la composition du lait de brebis.

Comparée aux autres espèces, la matière grasse du lait de brebis est nettement supérieure à celle du lait de vache (3,78 %) (**Park et al. 2007**), du lait de chèvre (4,1 – 4,5 %) (**Huebner, 2012**) ou encore du lait de chamelle (2,63 %) (**Khaskheli et al., 2005**).

Ils s'avèrent que le lait de brebis est riche en CLA. Derrière cette abréviation se cachent les acides linoléiques conjugués. Ceux-ci possèdent différentes propriétés positives pour la santé. On leur attribue des vertus positives par rapport au cancer, à l'artériosclérose, à l'hypertension et au système immunitaire. En outre, les CLA passent directement dans les muscles du corps. La matière grasse ne va pas nécessairement avoir des effets négatifs sur le poids (**Pintus et al., 2013**).

1.2.2. Taux protéique

La part protéique a un impact majeur sur la valeur nutritionnelle et technologique du lait. Entre autres, elle est considérée comme étant la matière utile du lait en technologie fromagère.

L'analyse de la fraction protéique des échantillons de lait étudiés révèle des valeurs qui varient entre $4,12 \% \pm 0,03$ et $5,45 \% \pm 0,02$ (Tableau 9). Ces valeurs restent inférieures à la valeur décrite par la **FAO (1995)** qui est de l'ordre de $5,7 \%$ pour le lait de brebis.

Le lait BNF3 de la race Demane est plus riche en matière protéique par rapport aux deux autres laits de la même région (Naâma), un taux de $4,62 \% \pm 0,02$ contre $4,27 \% \pm 0,02$; $4,17 \% \pm 0,07$ dans BNF1 (race Ouled-Djelel) et BNF2 (race Demane) respectivement.

Les teneurs enregistrées dans les laits BMA1 et BMA2 restent plus aux moins faibles ($4,12 \% \pm 0,03$ et $4,23 \% \pm 0,05$ respectivement).

Par contre, les deux laits (Race Hamra) de la région de Mechria restent les plus riches en protéines par rapport aux autres laits soit $5,45 \% \pm 0,02$ dans le lait BME2 et $4,74 \% \pm 0,03$ dans BME1. Ces valeurs sont proches de celles avancées par **Martini et al. (2008)** ($5,77 \%$) pour le lait d'espèces ovines en Italie. Le type de l'alimentation dans les deux exploitations de Mecheria qui est basé principalement sur le pâturage (plantes herbacées : Helfa et armoise blanche) et le concentré (orge et foin) constitue probablement un facteur de variation et offre à ce lait une meilleure aptitude fromagère. De même, **Pirisi et al. (2001)** ont prouvé que le lait produit par des brebis de race Sarde en Italie alimentées par le mélange foin, ensilage, concentré mélangé avec du pâturage est plus riche en matière protéique par rapport à celui produit par les brebis sur pâturage.

Les données relatives à l'étude de la composition de la fraction biochimique, notamment la forte teneur en protéines et en lipides, suggèrent que le lait BME2 de la race Hamra aurait, à priori, une meilleure aptitude fromagère par rapport aux autres laits vu sa richesse en lipides et en protéines.

D'après **Park et al. (2007)** et **Kouniba et al. (2007)**, le lait de brebis présente une composition protéique avantageuse par rapport au lait de vache et de chèvre (3,20 % et 4,29 % respectivement).

Selon **Claeys et al. (2014)**, le lait de brebis contient presque deux fois plus de protéines que les laits de chèvre et de vache. Ces formes moléculaires de protéines et séquences d'acides aminés ont une qualité nutritionnelle et un impact positif sur la digestibilité.

1.2.3. Teneur en lactose

Substrat de fermentation lactique, le sucre du lait, le lactose, est le principal glucide des laits de brebis, de chèvre et de vache. Il est synthétisé à partir du glucose dans les glandes mammaires avec la participation de la protéine du lait (lactalbumine) (**Larson et Smith, 1974**).

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 (**Campbell et Marshall, 1975**). Sa teneur dans le lait de brebis comme chez les autres ruminants est plus faible au début de la lactation dans le colostrum et vers la fin de la lactation, contrairement au comportement des graisses et des protéines contenues dans le lait (**Pulina et Bencini, 2004 ; Haenlein et Wendorff, 2006**).

L'analyse de variance du taux de lactose a montré une différence significative ($P < 0,05$) dans les différents échantillons étudiés. Selon la **FAO (1995)**, le taux du lactose dans le lait de brebis est de l'ordre de 4,6 %. Les teneurs en lactose des trois échantillons de la région de Naâma (BNF1, BNF2 et BNF3) ainsi que l'échantillon de l'exploitation 1 de Mascara (BMA1) dépassent les 6 %. La teneur en lactose dans le lait BMA2 est de l'ordre de 5,97 % \pm 0,12. Ces valeurs restent largement supérieures à la valeur décrite par la **FAO** et également supérieures par rapport aux valeurs rapportées par **Sinapsis (2007)** sur le lait de brebis en Grèce (5,18 -5,20 %) ou par les travaux révélés par **Rouissi et al. (2006)** (3,86 % pour le lait ovin en Tunisie).

Par contre, les échantillons de la région de Mecheria BME1 et BME2 présentent une faible teneur en lactose par rapport aux autres échantillons ($4,36 \% \pm 0,02$ et $4,90 \% \pm 0,02$ respectivement) mais elles rentrent dans la gamme rapportée par **Martini et al. (2008)** sur le lait de brebis en Italie ($4,50 \%$). Le lactose diminue également pendant la période de lactation (**Morand et al., 2007**).

D'un autre côté, on a enregistré un point de congélation le plus bas dans l'échantillon de BNF1 ($-0,584 \pm 0,11$) ce qui explique sa richesse en lactose et en minéraux.

Comparée aux autres espèces, le lactose du lait de brebis est nettement inférieur à celui du lait de vache ($4,83 \%$) (**Park et al., 2007**) et du lait de chèvre ($5,03 \%$) (**Kouniba et al., 2007**). Ces chiffres ne concordent pas avec les valeurs obtenues dans notre étude étant donné que nos échantillons de laits de brebis sont nettement riches en lactose.

1.2.4. Teneur en minéraux des laits de brebis collectés

Le lait représente une bonne source en calcium, en phosphore, en iode, en zinc et en magnésium. Le lait de brebis est riche en sels minéraux de ce type, en calcium en particulier. Le calcium et le phosphore sont plus abondants dans le lait de brebis, éléments fondamentaux pour la croissance et le maintien des os ce qui est essentiels pour les nouveau-nés (**Al-Wabel, 2008**).

La biodisponibilité de ces minéraux fait du lait de brebis une source précieuse de ces éléments. Le calcium lié à la caséine, à la fois sous forme organique et minérale, présente une disponibilité importante pendant le processus de digestion du lait (**Gueguen et Pointillart, 2000**); par conséquent, la biodisponibilité du calcium dans le lait de brebis est étroitement liée à des niveaux élevés de caséine (**Gaucheron, 2005**).

Il ressort de notre étude que la teneur en minéraux semble être stable dans tous les échantillons étudiés avec une valeur maximale enregistrée dans le lait BNF1 ($0,59 \% \pm 0,21$). La teneur en cendres dans les laits BNF3, BMA2 et BME1 est de l'ordre $0,51 \% \pm 0,15$; $0,55 \% \pm 0,17$ et $0,50 \% \pm 0,14$ respectivement. Ces valeurs sont supérieures à celles des laits de BMA1 et BNF2 ($0,43 \% \pm 0,05$ et $0,39 \% \pm 0,17$).

Les teneurs en minéraux de la présente étude restent inférieures à la valeur rapportée par la **FAO (1995)** qui est de l'ordre de 0,9 % et aussi inférieures à la teneur en minéraux des laits d'autres espèces (0,7 % et 0,8 % pour le lait de vache et chèvre respectivement) (**Park et al., 2007**).

Les concentrations de macro-minéraux peuvent ne pas varier beaucoup, mais elles varient en fonction de la race, le régime alimentaire, le stade de lactation et l'état de santé de la mamelle.

1.2.5. Teneur EST / ESD des laits de brebis prélevés

Les solides totaux représentent les composants qui restent après l'élimination complète de l'eau. Selon la **FAO (1995)**, l'extrait sec total du lait de brebis est de l'ordre de 18,3 %. Comme le montre le tableau 9, les laits BNF1 et BNF2 ont une teneur en matière sèche totale similaire où en note des valeurs de $19,17 \% \pm 0,12$ pour le lait BNF1 et $19,19 \% \pm 0,06$ pour le lait de BNF2. Ces valeurs s'insèrent dans la gamme rapportée par **Rouissi et al. (2006)** (19,11 pour le lait ovin en Tunisie)

Les laits BNF3, BMA1, BMA2, présentent des teneurs moyennes qui sont de l'ordre de $18,80 \% \pm 0,08$; $18,92 \% \pm 0,15$ et $17,89 \% \pm 0,03$ respectivement. Ces valeurs restent plus ou moins supérieures à celles rapportées par **Martini et al. (2008)** (17,57 % pour le lait de brebis en Italie).

Les teneurs en EST des échantillons décrits ci-dessus sont supérieures à la valeur rapportée par la **FAO (1995)**, ce qui signifie que ces laits sont riches en matières organiques notamment en lipides, en protéines et en lactose.

Le lait BME1 se distingue des autres laits par sa faible teneur en EST ($16,87\% \pm 0,17$). Cette valeur est confirmée par sa faible teneur en lactose ($4,36 \% \pm 0,02$).

En ce qui concerne le lait de BME2, sa teneur en matière sèche totale est nettement supérieure aux autres laits étudiés ($22,74 \% \pm 0,09$). Cette valeur est prouvée par sa forte teneur en lipides et en protéines ($11,79 \% \pm 0,10$ et $5,45 \% \pm 0,02$ respectivement). Elle reste également supérieure à la gamme rapportée par **Jaramillo et al. (2008)** (20,26 -21,21 % pour le lait ovin en Espagne).

Chapitre I Résultats des propriétés physico-chimiques des laits prélevés

L'alimentation correspond au principal facteur agissant sur la composition du lait des ruminants. L'origine géographique et les conditions environnementales peuvent également influencer la composition du lait. Comparé au lait de vache (12,8 %) et au lait de chèvre (13,4 %), le lait de brebis reste le plus riche en matière sèche totale.

Quant à l'extrait sec dégraissé (ESD), les valeurs de BME1 et BME2 sont estimées respectivement à 9,74 % \pm 0,06 et 10,75 % \pm 0,04. Ces valeurs obtenues confirment leurs richesses en matière grasse. La teneur en ESD dans les laits de la région de Naâma et de Mascara à l'exception de BMA1 dépasse les 11%. Cette valeur concorde avec les résultats obtenus par **Rouissi et al. (2006)** (11,51 % pour le lait ovin en Tunisie). La teneur en extrait sec total dans le lait de mascara BMA1 est plus ou moins inférieure que les autres laits étudiés (10,95 %).



Chapitre II

Caractéristiques microbiologiques des échantillons de lait de brebis



1. Dénombrement de la flore de contamination

L'évaluation de la qualité bactériologique du lait cru de brebis dans les régions de Naâma, Mecheria et Mascara a été menée afin d'évaluer les facteurs de risque de contamination du lait cru à la ferme.

Les résultats relatifs à l'identification et aux dénombrements de la flore microbienne des laits de brebis collectés sont indiqués dans le tableau ci-dessous.

Tableau 10 : Caractéristiques microbiologiques des échantillons de lait cru de brebis

Ech	BNF1	BNF2	BNF3	BMA1	BMA2	BME1	BME2	Norme JORA n°39
CT	4,96x10 ² ± 0,05	5,56x10 ² ± 0,11	3,56x10 ² ± 0,05	6,36x10 ² ± 0,32	1,58x10 ² ± 0,07	3,66x10 ² ± 0,06	2,56x10 ² ± 0,05	5x10 ² - 5x10 ³
CTT	1,86x10 ² ± 0,15	0,40x10 ² ± 0,00	2,06x10 ² ± 0,15	6,20x10 ² ± 1,31	0,93x10 ² ± 0,63	2,1x10 ² ± 0,17	2,00x10 ² ± 0,10	
S. aureus	00	1,8x10 ⁴ ± 0,20	2,93x10 ⁴ ± 0,11	1,09x10 ⁵ ± 1,65	1,06x10 ⁵ ± 0,70	2,13x10 ⁴ ± 0,23	1,80x10 ⁴ ± 1,30	1x10 ³
CSR	00	00	00	01	00	00	00	<50
Levures	0,69x10 ³ ± 0,01	00	0,9x10 ² ± 0,06	7,93x10 ³ ± 1,45	2,10x10 ³ ± 0,20	00	00	-

(Les groupes homogènes a, b, c, d sont des indicateurs de différences significatives à P <0,05)

CT : coliformes totaux

CCT : coliformes thermotolérants

S. aureus : *Staphylococcus aureus*

CSR : *Clostridium Sulfito-Réducteur*

1.1. Coliformes totaux et thermotolérants

Indicateurs de l'hygiène générale et d'une contamination fécale, les coliformes totaux et fécaux sont présents à des valeurs moyennes plutôt élevées $1,58 \times 10^2 \pm 0,07$ et $6,36 \times 10^2 \pm 0,32$ (germes /ml) pour les coliformes totaux et entre 40 et $6,30 \times 10^2 \pm 1,31$ (germes /ml) pour les germes thermotolérants par contre les chiffres obtenus ne dépassent pas la norme décrite dans le journal officiel (**JORA n°39**) (5×10^2 jusqu'à 5×10^3) (Figure 23).

Le lait de l'exploitation de Mascara est fortement contaminé par rapport aux autres laits, sa charge microbienne dépasse les 300 germes /ml en coliformes totaux et fécaux. La présence de bactéries coliformes n'indique pas nécessairement une contamination fécale directe du lait mais plus précisément un indice de mauvaises conditions d'hygiène et sanitaire au moment de la traite et pendant les manipulations ultérieures (**Yucel et Ulusoy, 2006**).

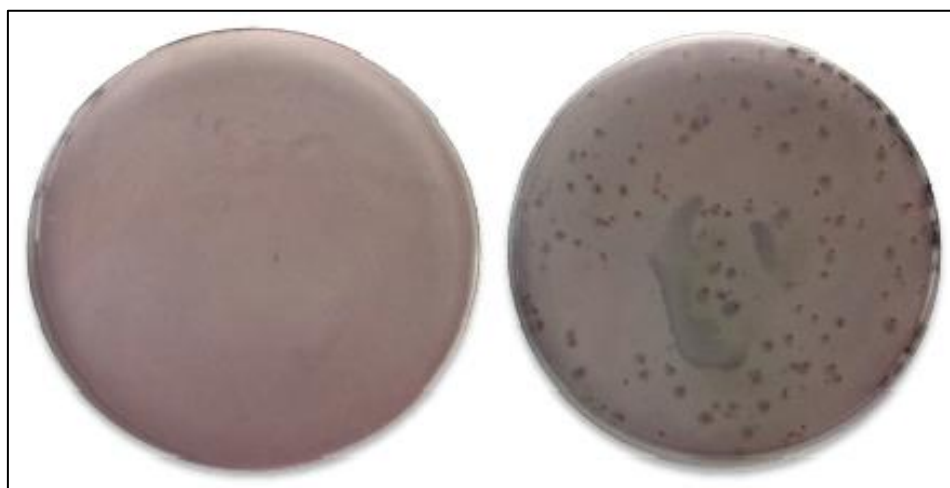


Figure 23 : Recherche des CT et CTT sur milieu VRBL

1.2. *Staphylococcus aureus*

Le résultat de la détection de *Staphylococcus aureus* dans notre étude montre la présence de ce germe dans tous les échantillons de lait examinés à l'exception du lait BNF1 (Figure 24).

La présence de ce pathogène constitue un risque pour la santé du consommateur et est responsable des intoxications alimentaires car les staphylocoques produisent une entérotoxine protéique causant l'intoxication alimentaire. Le lait BMA1 est le plus contaminé par *S. aureus* avec une charge microbienne de l'ordre de $1,09 \times 10^5 \pm 1,65$, une valeur qui dépasse largement la norme décrite dans le journal officiel (**JORA n° 39**) qui est de l'ordre 1×10^3 .

Sur les échantillons analysés, on observe une présence de ces germes, ce résultat montre la mauvaise conduite d'hygiène au moment du prélèvement ainsi qu'une altération de la santé de l'animale (la mamelle), car l'origine de la contamination est dû à la mamelle.

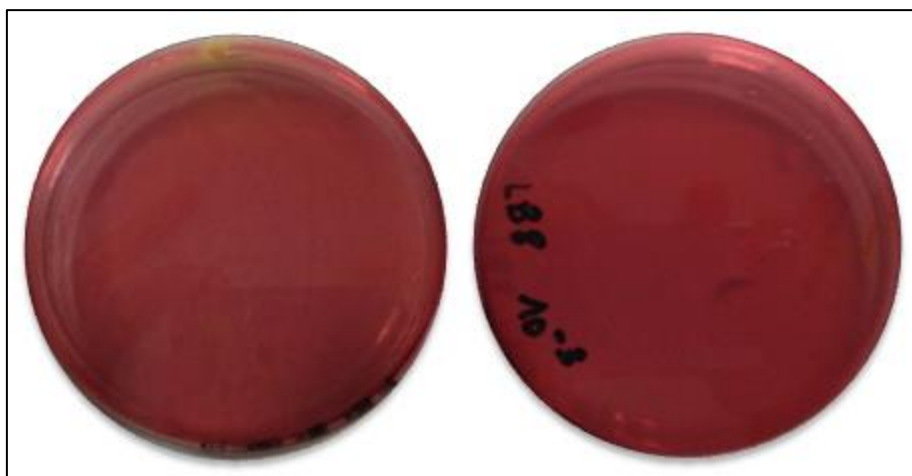


Figure 24 : Recherche de *S. aureus* sur milieu Chapman

1.3. *Clostridium sulfito-réducteurs*

Concernant le dénombrement des *Clostridium sulfito-réducteurs*, seul l'échantillon BMA1 présente une faible charge en clostrides (Figure 25). La valeur enregistrée reste négligeable par rapport à la norme du journal officiel (**JORA n°39**) qui est égale à 50 ufc/ml, et la norme établie par **Guiraud (1998)** (< 50 ufc/ml).



Figure 25 : Recherche de CSR sur milieu Viande-foie

A : résultat positif

B : Résultat négatif

1.4. Levures et moisissures

Les levures et les moisissures sont des champignons microscopiques se présentant respectivement sous forme unicellulaire et filamenteuse, qui peuvent provoquer des accidents de fabrication (altération de la texture et du goût dans le cas du fromage) lorsque leur nombre dans le produit dépasse un certain seuil.

Pour la flore fongique, les moisissures sont totalement absentes. Les levures sont présentes dans 4 échantillons de lait qui sont BNF1, BNF3, BMA1 et BMA2 (Figure 26).

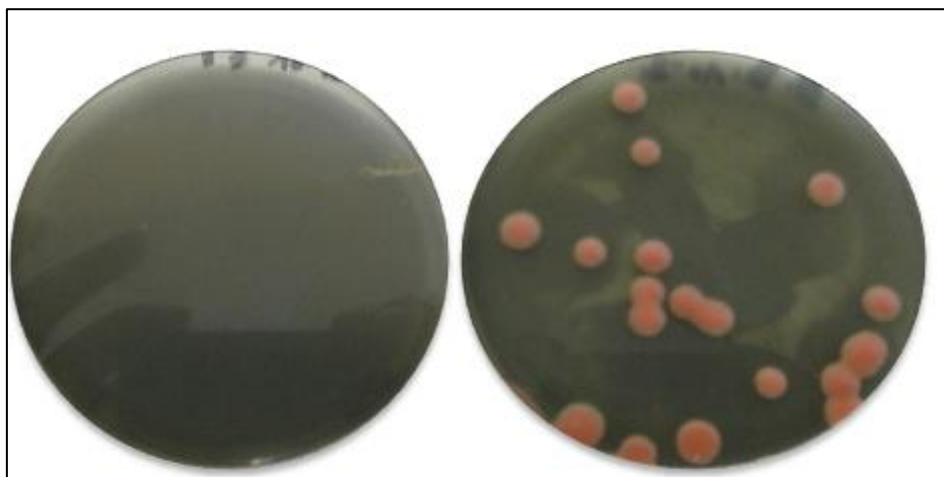


Figure 26 : Recherche des levures et moisissures sur milieu OGA

2. Détermination de la flore lactique

Dans ce travail, nous avons isolé 84 isolats à Gram positif et catalase négative. Ces souches ont été retenues pour subir la suite des tests de confirmation de leur appartenance aux différents genres lactiques.

2.1. Critères morphologiques

L'examen macroscopique nous a permis d'observer des petites colonies blanchâtres, lisses, bombées et à contour régulier (Figure 27). Concernant l'aspect microscopique, les souches isolées ont montré des formes bacilles et cocci après coloration de Gram (Figure 28). La purification des souches lactiques isolées a été réalisée par plusieurs repiquages successifs par des stries sur milieu MRS et M17.

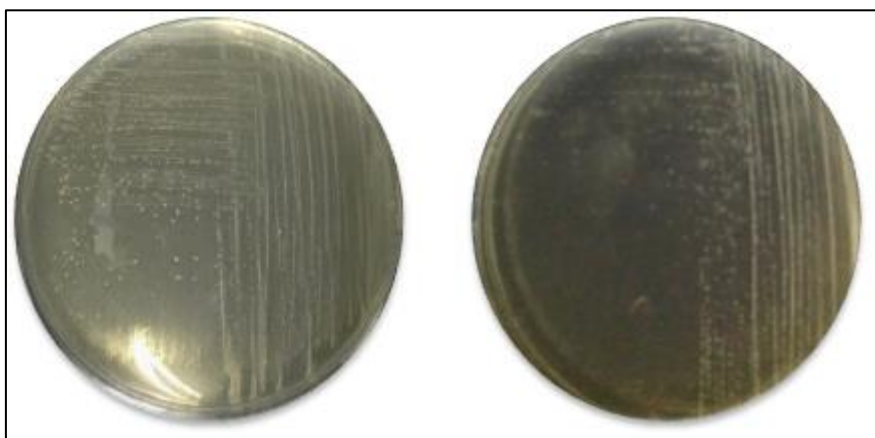


Figure 27 : Aspect macroscopique après purification

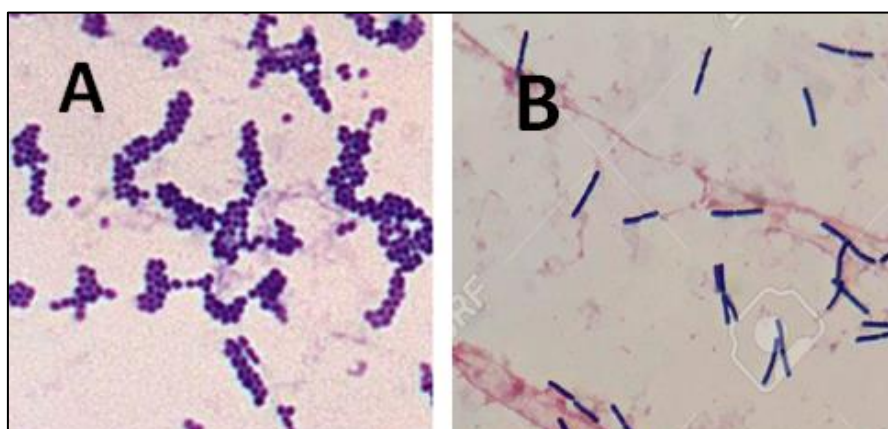


Figure 28 : Aspect microscopique après coloration de Gram

A : Cocci Gram +

B : Bacilles Gram +

2.2. Identification phénotypique (Tests physiologiques et biochimiques)

L'isolement sur milieu MRS et M17 nous a permis d'isoler 180 isolats et de mettre en évidence 84 isolats qui ont été rattachés à 3 groupes de bactéries lactiques.

Le genre *Enterococcus* était le groupe le plus fréquemment isolé avec une dominance de 71% (60/84) suivi du genre *Lactobacillus* avec 18% (15/84) et le genre *Leuconostoc* avec 11% (9/84). La répartition des genres est illustrée dans la figure 29.

D'après la répartition, on remarque que le lait BNF1 de l'exploitation 1 de Naâma présentait 10 des 15 isolats du genre *Lactobacillus*, alors que les laits de la région de Mascara BMA1 et BMA2 étaient les seuls à contenir le genre *Leuconostoc*. La plupart des bactéries du genre *Enterococcus* étaient isolées à partir des laits BNF2, BNF3, BME1 et BME2.

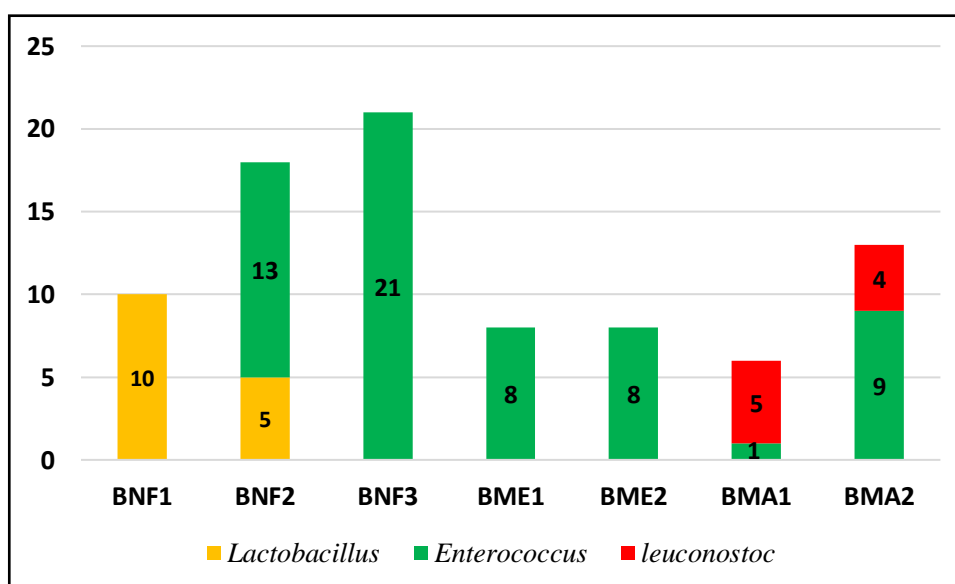


Figure 29 : Répartition des genres lactiques dans les échantillons des laits collectés

Les résultats des méthodes phénotypiques appliquées pour l'identification des souches sont regroupés dans le tableau 11 et les isolats ont été identifiés au stade du genre en se basant sur leurs caractéristiques physiologiques et biochimiques :

Tableau 11 : Résultats des tests physiologiques et biochimiques réalisés pour l'identification des souches isolées

Echantillon	Code	Forme	NaCl		pH		Thermorésistance 63,5 °C	Température		Type fermentaire	Test de Sherman		Esculine	Citrate	Identification
			4%	6,5%	9,6	4,5		10°C	45°C		1%	3%			
BNF1 (10)	BNF1.A1	B	+	+	+	+	-	+	+	-	ND		+	-	<i>Lactobacillus</i>
	BNF1.A2	B	+	+	+	+	-	+	+	-	ND		ND	ND	<i>Lb. paraplantarum</i>
	BNF1.A3	B	+	+	+	+	-	+	+	-	ND		ND	ND	<i>Lb plantarum</i>
	BNF1.A4	B	+	+	+	+	-	+	+	-	ND		ND	ND	<i>Lactobacillus</i>
	BNF1.A5	B	+	+	+	+	-	+	+	-	ND		ND	ND	<i>Lb. plantarum</i>
	BNF1.A6	B	+	+	+	+	-	+	+	-	ND		ND	ND	<i>Lactobacillus</i>
	BNF1.A7	B	+	+	+	+	-	+	+	-	ND		+	-	<i>Lb. plantarum</i>
	BNF1.A8	B	+	+	+	+	-	+	+	-	ND		+	-	<i>Lb. plantarum</i>
	BNF1.A9	B	+	+	+	+	-	+	+	-	ND		+	-	<i>Lactobacillus</i>
	BNF1.A10	B	+	+	+	+	-	+	+	-	ND		+	ND	<i>Lactobacillus</i>
BNF2 (18)	BNF2.A5	C	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	<i>Enterococcus</i>
	BNF2.A6	B	+	+	+	+	+	+	+	-	ND		+	-	<i>Lactobacillus</i>
	BNF2.A8	B	+	+	+	+	+	+	+	-	ND		+	ND	<i>Lactobacillus</i>
	BNF2.A9	C	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	<i>Enterococcus</i>
	BNF2.A10	B	+	+	+	+	+	+	+	-	ND		+	-	<i>Lactobacillus</i>
	BNF2.B1	C	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	<i>Enterococcus</i>

Chapitre II : Caractéristiques microbiologiques des échantillons de lait de brebis

BNF2.B3	C	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	<i>Enterococcus</i>
BNF2.B4	C	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	<i>Enterococcus</i>
BNF2.B5	C	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	<i>Enterococcus</i>
BNF2.C5	C	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	<i>Enterococcus</i>
BNF2.D1	B	+	+	+	+	+	+	+	-	ND		+	-	<i>Lactobacillus</i>
BNF2.D3	B	+	+	+	+	+	+	+	-	ND		+	-	<i>Lactobacillus</i>
BNF2.D5	C	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	<i>Enterococcus</i>
BNF2.D8	C	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	<i>Enterococcus</i>
BNF2.D9	C	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	<i>Enterococcus</i>
BNF2.F2	C	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	<i>Enterococcus</i>
BNF2.f1	C	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	<i>Enterococcus</i>
BNF2.f2	C	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	<i>Enterococcus</i>

Tableau 11 : Résultats des tests physiologiques et biochimiques réalisés pour l'identification des souches isolées

Echantillon	Code	Forme	NaCl		pH		Thermorésistance 63,5 °C	Température		Type fermentaire	Test de Sherman		Esculine	Citrate	Identification
			4%	6,5%	9,6	4,5		10°C	45°C		1%	3%			
BNF3 (21)	BNF3.A2	C	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	<i>Enterococcus</i>
	BNF3.A3	C	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	<i>Enterococcus</i>
	BNF3.A4	C	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	<i>Enterococcus</i>
	BNF3.B1	C	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	ND	<i>Enterococcus</i>
	BNF3.B2	C	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	<i>Enterococcus</i>
	BNF3.B5	C	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	<i>En. durans</i>
	BNF3.C2	C	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-	ND	<i>Enterococcus</i>
	BNF3.C3	C	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	<i>En. durans</i>
	BNF3.C4	C	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-	-	<i>Enterococcus</i>
	BNF3.C6	C	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	ND	<i>Enterococcus</i>
	BNF3.D4	C	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	ND	<i>En. durans</i>
	BNF3.D5	C	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	ND	<i>Enterococcus</i>
	BNF3.F1	C	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	<i>Enterococcus</i>
	BNF3.F2	C	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	<i>Enterococcus</i>
BNF3.F3	C	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	<i>Enterococcus</i>	
BNF3.F4	C	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	<i>Enterococcus</i>	

Chapitre II : Caractéristiques microbiologiques des échantillons de lait de brebis

	BNF3.F5	C	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	ND	<i>Enterococcus</i>
	BNF3.G1	C	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	ND	<i>Enterococcus</i>
	BNF3.G2	C	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	ND	<i>Enterococcus</i>
	BNF3.G3	C	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	ND	<i>En. durans</i>
	BNF3.G4	C	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	ND	<i>Enterococcus</i>

Tableau 11 : Résultats des tests physiologiques et biochimiques réalisés pour l'identification des souches isolées

Echantillon	Code	Forme	NaCl		pH		Thermorésistance 63,5 °C	Température		Type fermentaire	Test de Sherman		Esculine	Citrate	Identification
			4%	6,5%	9,6	4,5		10°C	45°C		1%	3%			
BME1 (8)	BME1.A2	C	+	+	+	-	+	-	+	-	+	+	+	+	<i>En. durans</i>
	BME1.A3	C	+	+	+	-	-	-	+	-	+	+	+	+	<i>Enterococcus</i>
	BME1.A3.1	C	+	+	+	-	-	-	+	-	+	+	+	+	<i>Enterococcus</i>
	BME1.B1	C	+	+	+	-	-	-	+	-	+	+	-	-	<i>En. durans</i>
	BME1.B5	C	+	+	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	<i>Enterococcus</i>
	BME1.B6	C	+	+	+	-	-	-	+	-	+	+	ND	-	<i>Enterococcus</i>
	BME1.E1	C	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	<i>Enterococcus</i>
	BME1.E2	C	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	<i>En. durans</i>
BME2 (8)	BME2.A1	C	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	<i>Enterococcus</i>
	BME2.A2	C	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	ND	-	<i>Enterococcus</i>
	BME2.A3	C	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	ND	-	<i>Enterococcus</i>
	BME2.A4	C	+	+	+	-	-	+	+	-	+	+	+	-	<i>Enterococcus</i>
	BME2.B2	C	+	+	+	-	-	+	+	-	+	-	+	-	<i>Enterococcus</i>
	BME2.C2	C	+	+	+	-	+	+	-	-	+	+	+	-	<i>Enterococcus</i>
	BME2.D1	C	+	+	+	-	-	+	-	-	+	-	+	+	<i>Enterococcus</i>
	BME2.D4	C	+	+	+	-	-	+	-	-	+	-	+	-	<i>Enterococcus</i>

Tableau 11 : Résultats des tests physiologiques et biochimiques réalisés pour l'identification des souches isolées

Echantillon	Code	Forme	NaCl		pH		Thermorésistance 63,5 °C	Température		Type fermentaire	Test de Sherman		Esculine	Citrate	Identification
			4%	6,5%	9,6	4,5		10°C	45°C		1%	3%			
BMA1 (6)	BMA1.A1	C	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	<i>En. durans</i>
	BMA1.A2	C	+	+	+	-	-	+	-	-	+	+	+	-	<i>Ln. mesenteroides ssp mesenteroides</i>
	BMA1.A5	C	+	+	+	-	-	+	-	-	+	+	ND	ND	<i>Ln. mesenteroides ssp dextranicum</i>
	BMA1.C9	C	+	+	+	-	-	+	-	-	+	+	ND	ND	<i>Leuconostoc</i>
	BMA1.E1	C	+	+	-	-	-	+	-	-	+	-	ND	ND	<i>Leuconostoc</i>
	BMA1.E3	C	+	+	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	<i>Leuconostoc</i>
BMA2 (13)	BMA2.A1	C	-	-	+	-	-	+	+	-	+	-	-	-	<i>Enterococcus</i>
	BMA2.A2	C	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	ND	ND	<i>En. durans</i>
	BMA2.A3	C	+	+	+	+	-	+	+	-	+	-	ND	ND	<i>Enterococcus</i>
	BMA2.B1	C	+	-	+	-	-	+	+	+	+	-	+	-	<i>Ln. mesenteroides ssp dextranicum</i>
	BMA2.B2	C	+	-	+	-	-	+	+	+	+	-	+	-	<i>Leuconostoc</i>
	BMA2.C3	C	+	-	+	-	-	+	+	-	+	+	+	-	<i>En. durans</i>
	BMA2.D1	C	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	ND	-	<i>Enterococcus</i>

Chapitre II : Caractéristiques microbiologiques des échantillons de lait de brebis

BMA2.D2	C	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	<i>Enterococcus</i>
BMA2.D3	C	+	+	+	-	-	+	+	-	+	+	-	-	<i>Enterococcus</i>
BMA2.D4	C	+	-	+	-	-	+	+	+	+	-	ND	ND	<i>Enterococcus</i>
BMA2.E1	C	+	+	+	-	-	+	+	-	+	-	+	-	<i>Leuconostoc</i>
BMA2.E3	C	-	-	+	-	-	+	+	-	+	-	ND	ND	<i>Ln. mesenteroides ssp dextranicum</i>
BMA2.F2	C	+	+	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	<i>En. durans</i>

+ : Résultat positif

- : Résultat négatif

ND : Non déterminé

2.2.1. Genre *Enterococcus*

Les résultats des tests physiologiques et biochimiques montrent que toutes les isolats appartenant au genre *Enterococcus* isolés à partir des échantillons de Naâma et Mecheria ont pu croître en présence de 4% et 6,5% de NaCl. On peut expliquer ce résultat par la richesse du biotope en sel dans ces deux zones, notons aussi un développement de végétation steppique halophile (*Atriplexhalimus* « Guetoff », *Stipa tenacissima* « Alfa », *Lygeum spartum* et *Peganum harmala*). Les espèces lactiques isolées donc sont habituées à un écosystème écologique halophile (pâturage des animaux). En revanche les souches isolées à partir des échantillons de lait de Mascara ne supportaient pas la salinité du milieu.

Également, la majorité des isolats ont poussé dans un milieu alcalin (pH 9,6), par contre on a noté une croissance chez seulement 16% (10/60) isolats dans un milieu à pH 4,5.

Après 24 h d'incubation dans un bouillon MRS, toutes les souches testées avaient une bonne croissance à 30°C et 37°C. Certaines souches appartenant au genre *Enterococcus* (BME1.E1, BME1.E2, BME2.A2 et BME2.A3) ont été identifiées comme étant des isolats appartenant à la flore mésophile car un résultat négatif a été enregistré à 10°C et à 45°C.

Concernant le test de la thermorésistance, toutes les souches isolées à partir des échantillons prélevés dans la région de Naâma (BNF2 et BNF3) étaient thermorésistantes par contre celles appartenant aux échantillons de lait de Mecheria (BME1 et BME2) et Mascara (BMA1 et BMA2) ont donné un résultat négatif sauf BME1.A2, BME2.A1, BME2.A2, BME2.C2 et BMA1.A1.

Toutes les souches testées sont homofermentaires à l'exception de BMA2.A2 ; BMA2.D1, BMA2.D2 et BMA2.D4 qui sont hétérofermentaires strictes.

Toutes les souches d'*Enterococcus* possèdent un résultat positif pour la croissance dans le lait de Sherman à 3% sauf BME1.E1, BME2.A3, BME2.B2, BME2.D1, BME2.D4 et BMA2.D4.

76 % (46/60) des isolats ont donné un résultat positif pour le test d'esculine ce qui confirme leur appartenance au genre *Enterococcus*. Pour le test de citrate, seulement 15% (9/60) possèdent l'enzyme citrate-perméase ce qui a engendré l'alcalinisation du milieu qui s'est exprimée par le changement de couleur du vert vers le bleu.

2.2.2. Genre *Lactobacillus*

Les résultats obtenus montrent que les isolats appartenant au genre *Lactobacillus* ont pu croître en présence de 4% et 6,5% de NaCl, ont également poussé dans un milieu alcalin (pH 9,6) et acide (pH 4,5) et toutes les souches testées sont homofermentaires.

Après 24 h d'incubation dans un bouillon MRS, toutes les souches testées avaient une bonne croissance à 10°C, 30°C, 37°C et 45°C.

Concernant le test de la thermorésistance, toutes les souches isolées à partir de l'échantillon BNF1 (10 isolats) ne supportaient pas la chaleur de 63,5°C pendant 30 mn par contre celles de l'échantillon BNF2 (5 isolats) étaient thermorésistantes.

Toutes les espèces *Lactobacillus* sont homofermentaires strictes et ont donné un résultat positif pour le test d'esculine. Par contre, aucune espèce ne possède l'enzyme citrate-perméase car le milieu est resté inchangé.

2.2.3. Genre *Leuconostoc*

Les isolats appartenant à ce groupe ont été déterminés comme *Leuconostoc* grâce à la production de dextrane sur milieu Mayeux.

Les résultats des tests montrent que tous les isolats ont pu croître en présence de 4% et 6,5% de NaCl à l'exception de BMA2.A1, BMA2.A2 et BMA2.E3. Seulement l'espèce BMA2.E1 a pu croître dans un milieu acide (pH 4,5) contrairement au milieu alcalin, un résultat positif a été enregistré chez la majorité des isolats (7/9).

Après 24 h d'incubation dans un bouillon MRS, toutes les souches testées avaient une bonne croissance 30°C, 37°C et 45°C par contre seulement 4 souches ont pu croître à 10°C et aucune croissance n'a été enregistrée pour le test de thermorésistance.

Sur l'ensemble des souches (9 espèces), seulement les isolats BMA2.B1 et BMA2.B2 sont hétérofermentaires. Aucune souche ne possède l'enzyme citrate-perméase et seulement 4 espèces ont donné un résultat positif pour le test d'esculine. La figure 30 montre le résultat des tests réalisés.

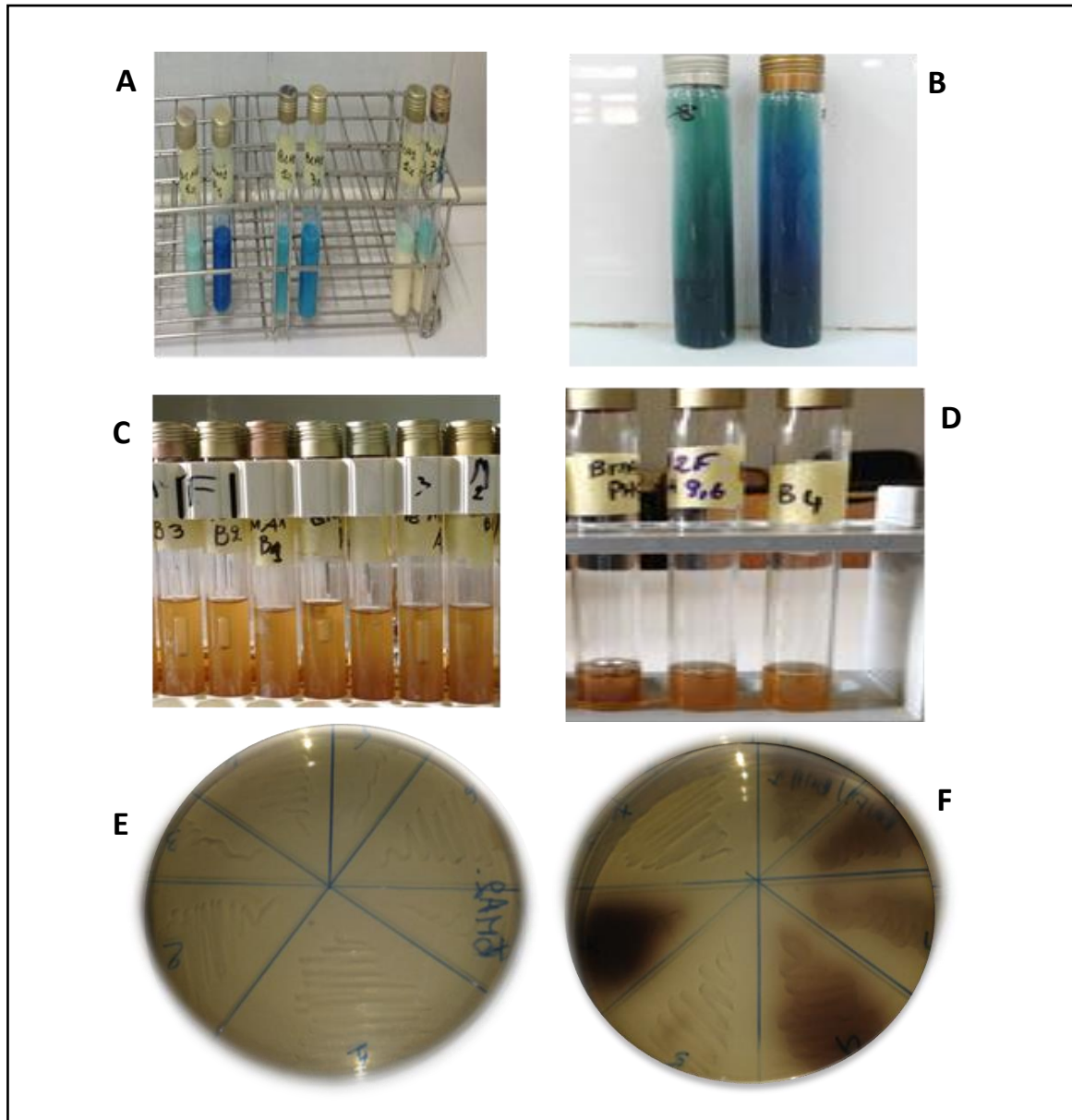


Figure 30 : Résultats des tests physiologiques et biochimiques réalisés

A : Test de lait de Sherman

C : Test de production de gaz

E : Test d'esculine avant incubation

B : Test de Simmons

D : Test de pH 9,6

F : Test d'esculine après incubation

2.3. Identification par MALDI-TOF

Dans le cadre de l'identification bactérienne, les protéines étudiées sont principalement des protéines ribosomales mais également d'autres protéines (**Ryzhov et Fenselau, 2001**). Le spectre du micro-organisme d'intérêt est comparé aux spectres de référence d'une base de données selon un algorithme statistique, ce qui permet son identification. Le résultat est accompagné d'un score de confiance qui permet d'apprécier la fiabilité de l'identification du micro-organisme.

Lorsque l'identification ne donne pas un score satisfaisant, il peut être nécessaire de réaliser une extraction protéique soit directement sur la plaque MALDI-TOF car l'absence du spectre signifie que les protéines cellulaires n'ont pas été libérées pour être ionisées.

Les spectres obtenus peuvent varier en fonction des conditions expérimentales et également parfois en fonction des sous-espèces ou des souches étudiées à l'intérieur d'une même espèce. Les conditions expérimentales influant sur la qualité des spectres sont le délai de culture, le milieu de culture utilisé, le type et la qualité du dépôt et/ou de l'extraction protéique et l'appareil MALDI-TOF utilisé (**Carbannelle et al., 2007 ; Walker et al., 2007**).

Nous avons étudié la précision et la faisabilité de la spectrométrie de masse (MALDI-TOF MS) pour l'identification des bactéries lactiques au niveau de l'espèce. Les souches qui ont été identifiées comme appartenant au genre *Enterococcus*, *Lactobacillus* et *Leuconostoc* ont donné les mêmes résultats par MALDI-TOF. Suite à cette identification par une méthode protéomique, des souches isolées, on peut résumer l'ensemble des résultats dans le tableau 12.

Tableau 12 : Identification des bactéries lactiques par MALDI-TOF

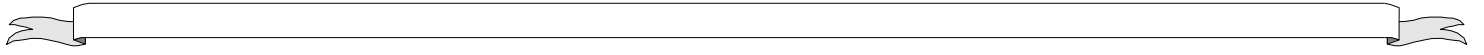
Souche	Identification	Score de confiance	Souche	Identification	Score de confiance
BNF1.A2	<i>Lb. paraplantarum</i>	1.714	BME1.A2	<i>En. durans</i>	1.830
BNF1.A3	<i>Lb. plantarum</i>	1.857	BME1.B1	<i>En. durans</i>	1.459
BNF1.A5	<i>Lb. plantarum</i>	1.831	BME1.B5	Aucun spectre trouvé	00
BNF1.A7	<i>Lb. plantarum</i>	1.841	BME1.E1	<i>En. durans</i>	1.938
BNF1.A8	<i>Lb. plantarum</i>	1.927	BME2.A2	Aucun spectre trouvé	00
BNF2.A6	Aucun spectre trouvé	00	BME2.D4	Aucun spectre trouvé	00
BNF2.A8	Aucun spectre trouvé	00	BMA1.A1	<i>En. durans</i>	2.018
BNF2.B1	Aucun spectre trouvé	00	BMA1.A2.	<i>Ln. mesenteroides ssp. mesenteroides</i>	1.718
BNF2.F2	Aucun spectre trouvé	00	BMA1.C9	Aucun spectre trouvé	00
BNF3.A4	Aucun spectre trouvé	00	BMA1.A5	<i>Ln. mesenteroides ssp. dextranicum</i>	1.778
BNF3.B1	Aucun spectre trouvé	00	BMA2.A2	<i>En. durans</i>	1.817
BNF3.B5	<i>En. durans</i>	1.742	BMA2.B1	<i>Ln. mesenteroides ssp. dextranicum</i>	1.717
BNF3.C3	<i>En. durans</i>	1.819	BMA2.C3	<i>En. durans</i>	1.821
BNF3.D4	<i>En. durans</i>	1.713	BMA2.E3	<i>Ln. mesenteroides ssp. dextranicum</i>	1.956
BNF3.G3	<i>En. durans</i>	1.918	BMA2.F2	<i>En. durans</i>	1.860

Au cours des dernières années la spectrométrie de masse (MALDI-TOF MS) a révolutionné l'identification systématique des bactéries. L'identification rapide et fiable à 92% des bactéries associées à des aliments, en particulier, l'identification de bactéries lactiques impliquée dans la production d'aliments fermentés est d'une importance cruciale pour la qualité du produit (Doan et al., 2012 ; Pavlovic et al., 2013). Les bactéries lactiques peuvent être identifiées en utilisant MALDI-TOF MS.

L'utilisation des entérocoques dans l'industrie alimentaire est de plus en plus controversée, car ils sont aussi considérés comme des marqueurs de contamination fécale et sont impliqués dans le développement des infections nosocomiales (Aguilar-Galvez et al., 2012). Cependant, une dominance du genre *Enterococcus* a été enregistrée, avec une confirmation d'identification par la technique MALDI-TOF. *En. durans*, *En. faecium* et *En. faecalis* sont les espèces les plus courantes d'entérocoques présentes dans les produits laitiers au lait cru (Golić et al., 2013 et Vidojevic et al., 2014).

Aussi, nous avons identifié les souches *Lb. plantarum* et *Lb. paraplantarum* isolées à partir d'un échantillon BNF1. Nos résultats corroborent avec les résultats obtenus par Patil et al. (2018) qui ont identifiés à partir du lait de brebis, les espèces *Lb. plantarum*, *Lb. rhamnosus* et *Lb. acidophilus* par la méthode de séquençage de l'ARNr 16S.

Les sous espèces *Ln. mesenteroides ssp. mesenteroides* et *Ln. mesenteroides ssp. dextranicum* ont été isolées à partir des échantillons BMA1 et BMA2. Les *Leuconostoc* sont un genre très important de bactéries lactiques pour le développement de propriétés organoleptiques souhaitables dans les produits laitiers finaux. Bien qu'ils aient une acidification et une activité protéolytique médiocres, ils produisent du diacétyle, de l'acétate et de l'éthanol contribuant à la saveur finale (Pederson et al., 2013).



Chapitre III

Propriétés technologiques des bactéries lactiques



1. Production des exopolysaccharides

La diversité des bactéries lactiques dans le lait et les produits laitiers est liée à plusieurs facteurs, tels que l'espèce, la race, le régime alimentaire et l'environnement du troupeau. Certaines bactéries lactiques produisent des polymères de sucre extracellulaires appelés EPS. Ces derniers participent dans l'amélioration de la texture et de la viscosité du produit fini, agissant comme émulsifiants, épaississants, stabilisants, caractéristiques essentielles dans l'industrie laitière (Fguiri et al., 2016).

Parmi les 84 souches isolées à partir des échantillons de laits de brebis, la production des exopolysaccharides a été observée chez seulement 11 souches isolées principalement à partir des deux échantillons de lait collectés dans la région de Mascara, BMA1 et BMA2 (Tableau 13). Toutes les souches appartenant au genre *Leuconostoc* et 2 souches appartenant au genre *Enterococcus* se sont avérées productrices des EPS dont les colonies étaient larges et gluantes.

Nos résultats corroborent avec ceux apportés par Maina et al. (2008), qui ont montré que plusieurs souches de *Leuconostoc* (*Ln. mesenteroides* et *Ln. citreum*) sont connues pour produire des exopolysaccharides, qui sont principalement des dextrans ce qui est le cas des trois espèces *Ln. mesenteroides ssp. dextranicum* (BMA1.A5, BMA2.B1 et BMA2.E2) (Figure 31).

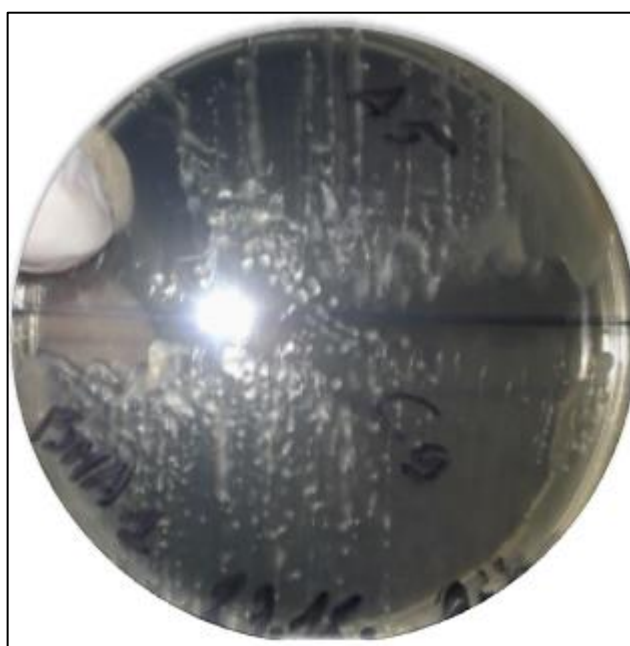


Figure 31 : Production des EPS par le genre *Leuconostoc*

Chapitre III : Propriétés technologiques des bactéries lactiques

Ces dernières années, les ESP produits par les bactéries lactiques attirent de plus en plus l'attention en raison de leur qualité alimentaire GRAS. La capacité de générer des EPS est considérée comme une caractéristique importante des bactéries lactiques utilisées dans les produits laitiers principalement les yaourts, car les produits lisses et crémeux sont plus attrayants pour les consommateurs ; ainsi, la production des EPS est une caractéristique clé à prendre en considération pour la sélection de bactéries lactiques non starter (**Franciosi et al., 2009**).

D'un point de vue sanitaire, la production des EPS par les bactéries lactiques a reçu une attention accrue en raison de ses propriétés immunogènes (**Domingos-Lopes et al., 2017**). En effet, l'adhérence au mucus intestinal humain et la formation de biofilms sont également médiés par les EPS produits par les bactéries lactiques et sont liées à l'abaissement du cholestérol, à l'immunomodulation et aux effets antitumorogènes (**Guidone et al., 2014**). Pour une production plus élevée des EPS, le milieu doit être supplémenté par des quantités considérables de source de carbone. Cependant la température et le pH peuvent affecter la production d'EPS (**Ferrari et al., 2016**).

2. Production de composés aromatiques (diacétyl)

L'une des caractéristiques les plus importantes des bactéries lactiques est leur capacité à synthétiser le diacétyl (butane 2,3-dione), responsable du développement des arômes dans les aliments fermentés, et d'autres molécules (par exemple, CO₂, aldéhyde, acide acétique ...) formées à partir de citrate par la voie pentose monophosphate chez les bactéries hétérofermentaires (certaines *Lactobacillus* et *Leuconostoc*).

Certaines bactéries lactiques sont capables de produire des composés d'arômes qui participent aux qualités organoleptiques des fromages. La plupart des composés d'arôme sont issus du métabolisme du citrate, l'acétoïne et le diacétyl sont les plus importants (**Georgalaki et al., 2002 ; François et al., 2007**).

Dans les produits alimentaires fermentés, tels que les fromages, des saveurs distinctes sont générées par la production microbienne de composés aromatiques. Par exemple, le diacétyl est un composant essentiel de nombreux produits laitiers, et même à de faibles concentrations, il fournit une saveur typique et un arôme de beurre (**Ferrari et al., 2016**). Le diacétyl, dérivé du métabolisme

Chapitre III : Propriétés technologiques des bactéries lactiques

du citrate, possède une activité inhibitrice contre les pathogènes d'origine alimentaire et n'est pas produit par tous les genres de bactéries lactiques (**Thierry et al., 2015**).

Dans notre étude, plus de la moitié des isolats 69 % (58/84) étaient capables de produire le diacétyl (Tableau 13). La production de diacétyl a été observée chez la plupart des *Lactobacillus* (11/15 souches soit 73 %). En accord avec nos résultats, **Nikolic et al., (2008)** ont également observé qu'une forte proportion de *Lactobacillus (paracasei)* isolés des fromages de chèvre ont la capacité de produire du diacétyl.

En ce qui concerne les souches *Enterococcus*, 75% (45/60) des isolats produisent le diacétyl. 3 isolats peuvent être considérés comme producteurs de diacétyl de haut niveau ; *Lb. plantarum* (BNF1.A8) et deux *Enterococcus* (BNF2.B3 et BNF3.B5) (Figure 32).

En revanche, les *Leuconostoc* examinés, étaient faiblement producteurs de diacétyl 22% (2/9). Ce résultat était en accord avec ceux de **Nieto et al. (2010)**, qui suggéraient que les *Leuconostoc* ont un faible pouvoir de production des arômes. De plus, **Garabal et al. (2008)** ont montré que les *Lactobacillus* facultativement hétérofermentaires produisent les plus grandes quantités de diacétyl-acétoïne dans le lait, tandis que les *Leuconostoc* produisent les plus faibles quantités de diacétyl-acétoïne dans le lait acidifié. Ceci corrobore les résultats obtenus dans notre étude.



Figure 32 : Résultats du test de production du diacétyl par les bactéries lactiques

3. Activité Protéolytique

La protéolyse est considérée comme étant l'évènement biochimique le plus important durant la maturation fromagère. La qualité du fromage est étroitement liée à l'activité protéolytique des bactéries présentes dans le fromage.

Pendant la fermentation du lait, des enzymes protéolytiques produites par diverses bactéries lactiques génèrent des peptides biologiquement actifs et des acides aminés, qui contribuent au développement de la saveur et la texture du produit laitier (**Andic et al., 2014 ; Martinez-Cuesta et al., 2001**).

L'activité protéolytique est également une caractéristique technologique importante chez les bactéries lactiques puisqu'elle leur confère la capacité de croître efficacement dans le lait. Bien que les bactéries lactiques ne soient pas considérées comme fortement protéolytiques, leur système protéolytique est essentiel pour leur croissance dans le lait et contribue de manière significative au développement de la saveur dans les produits laitiers fermentés (**Lopez-Kleine et Monnet, 2011**).

La protéolyse pourrait également contribuer à prévenir les allergies fréquentes chez les enfants de moins de 3 ans en raison d'une mauvaise digestion des protéines du lait, les caséines et la β -lactoglobuline sont le plus souvent en cause (**Pescuma et al., 2009**).

La souche est dite protéolytique si elle présente une zone de lyse de diamètre compris entre 5 et 15 mm. Les résultats ont montré que les isolats étudiés ont contribué de manière significative à l'hydrolyse des protéines présentes dans le milieu à l'exception des souches BNF1.A7, BNF1.A10, BNF2.B3, BNF2.C5 et BNF2.f1 (Tableau 13).

Les *Lactobacillus* ont révélé une activité protéolytique significative soit 13/15 positives. Nos résultats corroborent avec les données rapportées par **Badis et al., (2004) et Madrau et al. (2006)** qui ont montré que les *Lactobacillus* isolés du fromage traditionnel Pecorino Sardo et de lait de chèvre présentent une activité protéolytique importante.

En ce qui concerne le groupe *Enterococcus*, une activité protéolytique positive a été observée chez 55/60 souches lactiques et 100% des bactéries appartenant au genre *Leuconostoc* ont présenté une activité protéolytique positive (Figure 33).



Figure 33 : Résultats de l'activité protéolytique

Cependant, il est à noter qu'une activité protéolytique élevée n'est pas toujours la caractéristique la plus souhaitée pour une souche utilisée dans une culture non starter. En réalité, une protéolyse excessive peut entraîner une production incontrôlée de peptides amers et d'autres composés indésirables, ou même une hydrolyse excessive de la caséine, ce qui entraînerait l'obtention d'un produit trop mou (**Bonomo et Salzano, 2013**).

La plupart de nos souches ont montré une activité protéolytique, ceci est fortement lié à la composition primaire du lait. La quantité de protéine déjà présente dans les laits examinés a grandement favorisée cette activité, notant que le taux protéique des laits de brebis a été déterminé et sa teneur était comprise entre 4,12 et 5,45 %.

Les bactéries lactiques avec un pouvoir protéolytique élevé sont utilisées dans l'affinage des fromages à pâte dure par opposition aux fromages frais non affinés pour lesquels les cultures starter avec faible taux protéolytique sont favorisées. Les cultures starter à faible activité protéolytique sont de même utilisées pour affiner les fromages semi dures pendant 2 à 3 mois.

4. Activité lipolytique

Bien que les bactéries lactiques possèdent généralement une faible activité lipolytique, la forte concentration de bactéries lactiques sur une période de maturation peut entraîner la génération d'acides gras libres, qui sont des précurseurs de composés aromatiques ; par conséquent, une faible activité lipolytique est considérée comme un trait avantageux et important pour la production de fromage (**Nieto-Arribas et al., 2010**). Une lipolyse excessive peut générer un goût amer et rance dans le fromage (**Monfredini et al., 2012**).

Gobbetti et al. (2015) ont déclaré que, par rapport aux bactéries starter, les génomes de bactéries lactiques non starter possèdent un plus grand nombre de gènes lié au catabolisme des acides gras libres. Cette caractéristique est très recherchée pour la maturité de fromage.

Pour le présent travail, nous nous sommes intéressés à l'activité lipolytique chez les bactéries lactiques isolées à partir de lait de brebis sur un milieu contenant un substrat naturel d'une part (Huile d'olive) et d'autre part, sur un milieu contenant un substrat artificiel (Tween 80) (Tableau 13). Les souches qui dégradent le substrat lipidique sont entourées d'un halo transparent autour de la colonie (Figure 34).

Les résultats obtenus des souches testées varient d'un substrat à un autre. Les lactobacilles montrent une activité lipolytique significative en présence d'huile d'olive par rapport au Tween 80, en effet 9/15 des souches *Lactobacillus* dégradent l'huile d'olive. Sur le milieu additionné au Tween 80, seulement les deux espèces *Lb. plantarum* BNF1.A3 et BNF1.A7 présentent une activité lipolytique, ce résultat est similaire avec ceux rapportés par **Pérez et al. (2003)** et **Nieto-Arribas et al. (2010)** qui ont montré que les *Lactobacillus* isolés à partir de fromage de Tenerife et de fromage Manchego, ne présentent aucune activité lipolytique, les souches avaient été cultivées sur gélose à la tributyrine.

Chapitre III : Propriétés technologiques des bactéries lactiques

En ce qui concerne les isolats appartenant au genre *Enterococcus*, 35/60 ont présenté une activité lipolytique positive sur milieu additionné d'huile d'olive et 38/60 isolats sur milieu additionné de Tween 80. En effet, Les entérocoques sont décrits comme étant les principaux genres contribuant à la lipolyse dans les fromages (**Giraffa, 2003**).

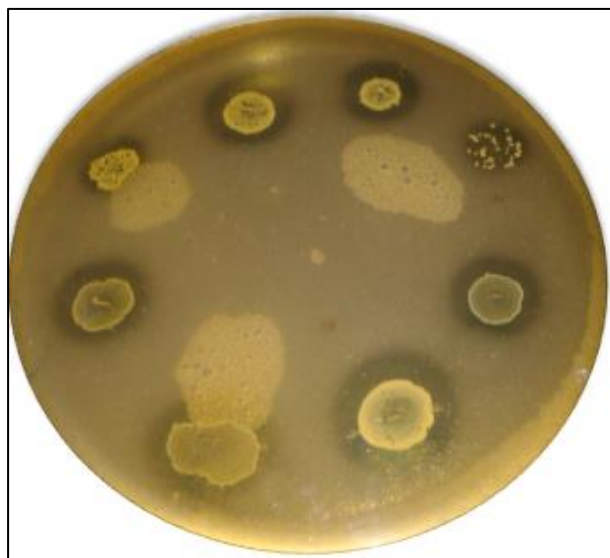


Figure 34 : Résultats de l'activité lipolytique

Contrairement aux genres bactériens cités précédemment, les *Leuconostoc* ne sont pas lipolytiques vis-à-vis de l'huile d'olive à 3%. Aucune activité lipolytique n'a été détectée autour des colonies à l'exception de la souche BMA2.E2 (*Ln. mesenteroides ssp. dextranicum*), ce qui montre leur inaptitude à dégrader l'huile d'olive. En revanche, ils dégradent parfaitement le Tween 80 à 3% puisque 7/9 des souches ont montré une activité lipolytique.

Les résultats obtenus à ce stade de l'étude nous permettent de conclure que l'activité lipolytique des souches testées dépend de la nature du substrat lipidique additionné au milieu MRS.

En général, les souches étudiées ont répondu presque de la même manière sur les deux substrats utilisés, que ce soit le substrat naturel (l'huile d'olive) ou synthétique (Tween 80). Ce résultat pourrait s'expliquer par le fait que les isolats sont habitués à une telle concentration de matière grasse, vue le taux de lipides dans les laits de brebis à partir desquels les bactéries lactiques ont été isolées et qui était compris entre 6,80 % et 11,49 %. Cependant seuls les entérocoques ont montré des résultats très proches dans le cas des deux sources lipidiques.

Chapitre III : Propriétés technologiques des bactéries lactiques

5. Pouvoir acidifiant

La production d'acide lactique est l'une des principales fonctions désirées chez les bactéries lactiques car cet acide organique permet de concentrer et de conserver la matière sèche du lait, en intervenant comme coagulant et aussi comme antimicrobien (**Schmidt et al., 1994**). L'acidité dans les produits laitiers est communément exprimée en degré Dornic ($1\text{ }^{\circ}\text{D} = 0,1\text{ g/l d'acide lactique}$).

Les résultats obtenus de la cinétique d'acidification des 16 souches étudiées (10 *Enterococcus*, 3 *Lactobacillus* et 3 *Leuconostoc*) révèlent une diversité en pouvoir acidifiant après 24 h de croissance bactérienne dans le lait accompagné d'un abaissement du pH du milieu. Voir figure 35.

En ce qui concerne le groupe d'*Enterococcus*, les souches ont montré la capacité d'acidification la plus élevée en développant une quantité d'acide lactique très importante après 24 h d'incubation. L'ensemble des souches testées donne des valeurs d'acidification entre 5.50 et 6.30 g d'acide lactique /l de lait, à l'exception de BNF3.G3, BME1.A2 et BME1.E2 qui se démarquent en produisant une quantité d'acide lactique qui dépasse 7.0 g d'acide lactique /l de lait. Un maximum d'acide lactique a été produit par l'espèce *En. durans* (BME2.D4) avec une quantité de 8.6 g d'acide lactique/l de lait. La souche BME2.C2 s'avère la plus faible avec un taux d'acidification qui ne dépasse pas les 4 g d'acide lactique/l de lait après 24 h d'incubation. En ce qui concerne la diminution de pH, les valeurs atteintes sont entre 5,78 et 5,01 après 24 h d'incubation.

La souche BME2.D4 (*Enterococcus*) qui a présenté l'activité d'acidification la plus élevée ne présentait pas d'activité protéolytique importante ; ce résultat a également été rapporté par d'autres études (**Nieto-Arribas et al., 2009 ; Fguiri et al., 2016**). Tous les résultats indiquent qu'il n'y avait pas de chevauchement entre les isolats avec l'activité acidifiante la plus forte et ceux avec l'activité protéolytique la plus élevée, notre résultat est similaire à d'autres études rapportées par **Nieto-Arribas et al. (2009) ; Durlu-Ozkaya et al. (2001)**.

Chapitre III : Propriétés technologiques des bactéries lactiques

La production d'acide lactique par les souches appartenant au genre *Lactobacillus* était faible sauf l'espèce *Lb. plantarum* (BNF1.A3) qui a présenté une activité acidifiante modérée soit 4,9 g d'acide lactique /l de lait après 24 h d'incubation par rapport aux souches BNF1.A5 (*Lb. plantarum*) et BNF2.A6 (*Lactobacillus*) où la quantité d'acide lactique produite était de 3,7 g d'acide lactique /l de lait et 3,5 g d'acide lactique / l de lait après 24 h d'incubation. Ce groupe de bactéries lactiques métabolisent lentement le lactose. En outre, **Ma et al. (2012)**, ont montré qu'aucune des souches de *Lactobacillus* isolées à partir de laits fermentés artisanaux chinois n'était caractérisée comme productrice d'acide rapide car ils n'ont pas abaissé le pH en dessous de 5,3 en 6 h, ce qui est le cas de nos souches où le pH ne descend pas en dessous de 6 après 12 h d'incubation et ne dépasse pas 5,88 après 24 h d'incubation.

Ainsi, il semble que la production d'acide lactique par les souches *Leuconostoc* était significativement la plus faible par rapport aux deux autres genres étudiés. La capacité d'acidification était de l'ordre de 3.4 g d'acide lactique /l de lait et 2.9 g d'acide lactique /l de lait pour BMA1.C9 (*Leuconostoc*) et BMA2.E2 (*Ln. mesenteroïdes ssp. dextranicum*) respectivement. La souche BMA1.E1(*Leuconostoc*) se démarque en produisant une quantité d'acide lactique plus élevée par rapport aux deux autres souches citées précédemment soit 5,6 g d'acide lactique /l de lait. En parallèle, les valeurs de pH atteintes avec ces souches oscillent entre 6,13 et 5,60 après 24 h d'incubation.

Dans les produits fermentés, la chute rapide du pH, qui est causée par l'activité des cultures de démarrage (starters) et d'appoint, conduit à une augmentation de l'acidité et de la consommation de lactose. Ce phénomène a un impact sur les caractéristiques microbiologiques des produits laitiers fermentés et la durée de conservation du produit. C'est pourquoi, dans les produits laitiers fermentés, la chute rapide du pH est cruciale. L'acidification rapide aide au drainage du lactosérum, inhibe la croissance de la plupart des agents pathogènes, et crée l'environnement biochimique nécessaire à l'activité des enzymes protéolytiques et lipolytiques pendant l'affinage, ce qui garantit le développement du profil aromatique typique du fromage (**Tilocca et al., 2020**).

Chapitre III : Propriétés technologiques des bactéries lactiques

Le pouvoir acidifiant des souches lactiques demeure l'une des propriétés métaboliques les plus recherchées vu son intérêt en technologie laitière. Il semble que toutes les souches *Lactobacillus* et *Leuconostoc* peuvent pousser dans le lait avec un faible taux d'acidification. Cela pourrait être un trait souhaitable pour une utilisation en tant que probiotiques ou cultures fonctionnelles, car après leur addition, ces souches n'acidifient pas davantage le produit. En conséquence, la production d'acide lactique donne aux bactéries lactiques un avantage concurrentiel, leur permettant de dominer la culture. L'acide lactique donne le goût amer du fromage frais et joue un rôle dans la formation du caillé.

La fonction acidifiante constitue la propriété métabolique la plus recherchée des 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 (Mäyrä-Mäkinen et Bigret, 2004 ; Monnet et al., 2008).

Chapitre III : Propriétés technologiques des bactéries lactiques

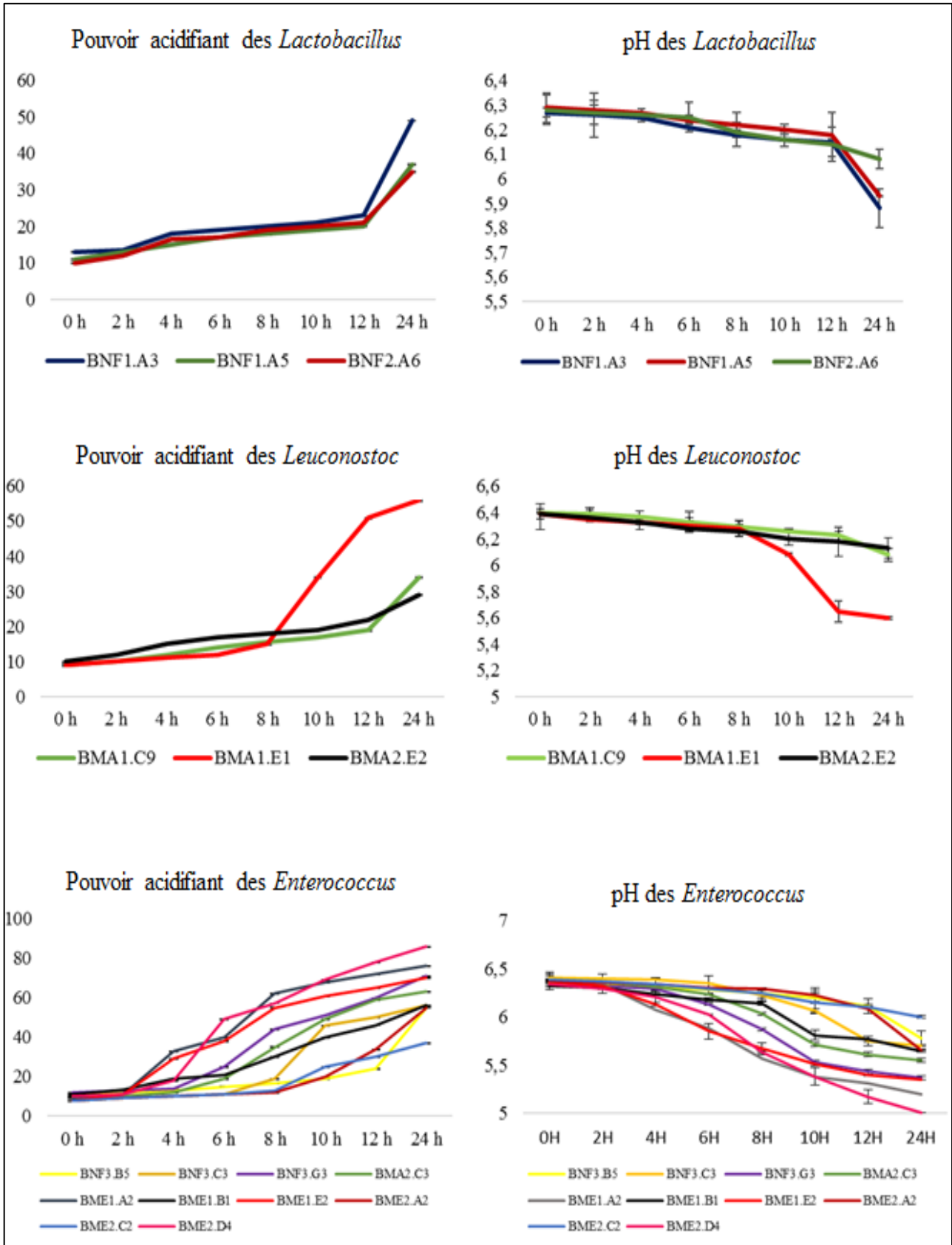


Figure 35 : Pouvoir acidifiant et le potentiel d'hydrogène des 16 souches lactiques.

Chapitre III : Propriétés technologiques des bactéries lactiques

6. Activité antimicrobienne

L'activité antimicrobienne, des bactéries lactiques isolées contre *E. coli* et *P. aeruginosa*, est présentée dans le tableau 13. La capacité des isolats à inhiber les bactéries indicatrices pathogènes variait selon l'isolat lactique et l'organisme indicateur. Les résultats indiquent que nos bactéries lactiques étaient capables de synthétiser des substances ayant une activité antimicrobienne.

L'ensemble des souches lactiques étudiées n'a pas présenté le même spectre d'action vis-à-vis des deux agents pathogènes testés. La majorité des souches sont actives contre *E. coli* par rapport à *P. aeruginosa*. L'inhibition est moins intense mais toujours significative ($P < 0.05$) contre *P. aeruginosa*. Les résultats montrent que l'activité antimicrobienne des bactéries lactiques contre les agents pathogènes est indépendante de l'espèce et de l'agent pathogène indicateur.

Des zones d'inhibition maximales ont été produites contre *E. coli* et *P. aeruginosa* par les souches lactiques allant d'un effet faible (1- 2 mm) de dimension du halo d'inhibition à modérée (2- 4 mm) jusqu'à élevée (>4 mm). Les isolats de lait de brebis ont montré une activité antagoniste faible à modérée contre *P. aeruginosa*. Concernant les genres *Lactobacillus* et *Enterococcus*, des souches se sont avérés avoir une activité antagoniste plus élevée contre les agents pathogènes, il s'agit des espèces *Lb. plantarum* et *En. durans*. L'effet inhibiteur est plus ou moins faible pour les souches *Leuconostoc*.

Concernant le genre *Lactobacillus*, tous les isolats lactiques ont montré une activité inhibitrice contre les deux agents pathogènes testés par contre aucun surnageant ne s'est montré inhibiteur sauf l'espèce *Lb. plantarum* qui a montré une inhibition modérée contre *E. coli* seulement.

L'effet inhibiteur chez les *Leuconostoc* a également été étudié dont on note que la plupart des isolats testés ont montré une capacité à inhiber les deux souches indicatrices pathogènes à l'exception des trois espèces *Ln. mesenteroides ssp. dextranicum* (BMA1.A5, BMA2.B1 et BMA2.E1) qui n'ont montré aucun effet inhibiteur contre *E. coli* et à *P. aeruginosa*

Chapitre III : Propriétés technologiques des bactéries lactiques

La plupart des souches appartenant au groupe *Enterococcus* ont montré leur effet inhibiteur contre les deux agents pathogènes. L'espèce *En. durans* a fortement inhibé *E.coli* avec une zone d'inhibition qui dépasse les 4 mm. Aucun surnageant n'a pu inhiber *P. aeruginosa* par contre 6 espèces d'*Enterococcus* ont inhibé *E. coli* (Figure 36).

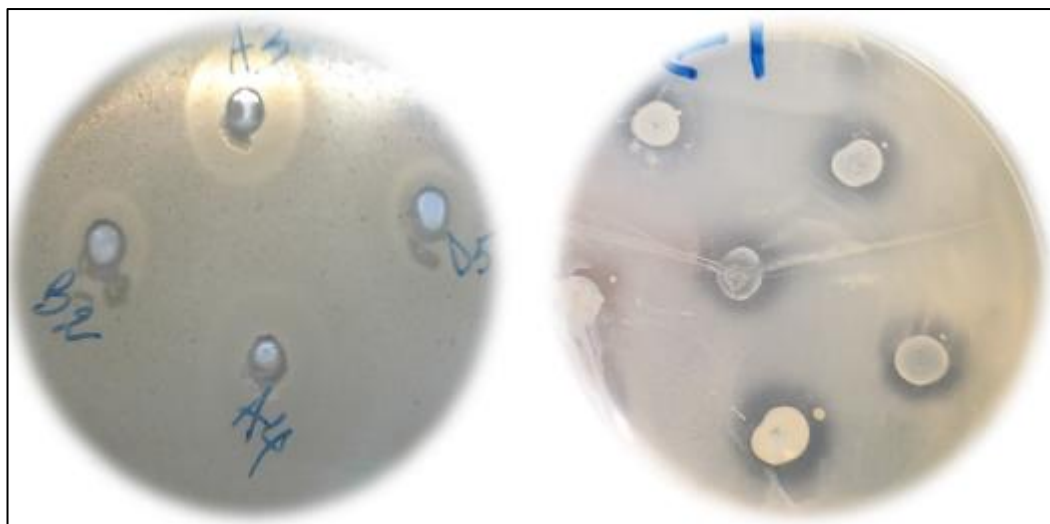


Figure 36 : Résultats de l'activité antagoniste contre *E.coli*

Les bactéries lactiques sont connues par la production d'une multitude de composés antimicrobiens : les acides organiques, les bactériocines, le diacétyl et le peroxyde d'hydrogène (Titiek, 1996 et Aslem, 2010). Ainsi, ces données démontrent que l'activité antagoniste montrée contre les agents pathogènes indicateurs permet l'application des bactéries lactiques étudiées comme bioconservateurs dans la production de produits laitiers, augmentant leur durée de conservation. L'activité antimicrobienne de ces bactéries lactiques était principalement due à la production d'un ou plusieurs métabolites actifs au cours de leur croissance, tels que les acides organiques, le peroxyde d'hydrogène et les bactériocines.

Chapitre III : Propriétés technologiques des souches isolées

Tableau 13 : Résultats des activités technologiques des souches isolées

Echantillon	Code	Production des EPS	Production de diacétyle	Activité lipolytique		Activité protéolytique	Inhibition				Identification
				Huile d'olive à 3%	Tween 80 à 3%		<i>E. coli</i>		<i>P. aeruginosa</i>		
							Culture	Surnageant	Culture	Surnageant	
BNF1 (10)	BNF1.A1	-	+	+	-	+	-	+	-	<i>Lactobacillus</i>	
	BNF1.A2	-	+	+	-	+	-	+	-	<i>Lb. paraplantarum</i>	
	BNF1.A3	-	+	+	+	+	+	+	-	<i>Lb. plantarum</i>	
	BNF1.A4	-	+	-	-	+	-	+	-	<i>Lactobacillus</i>	
	BNF1.A5	-	+	+	-	+	+	+	-	<i>Lb. plantarum</i>	
	BNF1.A6	-	+	-	-	+	-	+	-	<i>Lactobacillus</i>	
	BNF1.A7	-	+	-	+	-	+	+	-	<i>Lb. plantarum</i>	
	BNF1.A8	-	-	-	-	+	+	+	-	<i>Lb. plantarum</i>	
	BNF1.A9	-	-	+	-	+	-	+	-	<i>Lactobacillus</i>	
	BNF1.A10	-	+	+	-	-	+	-	+	-	<i>Lactobacillus</i>
BNF2 (18)	BNF2.A5	-	-	+	+	+	-	-	ND	<i>Enterococcus</i>	
	BNF2.A6	-	+	+	-	+	-	+	-	<i>Lactobacillus</i>	
	BNF2.A8	-	+	+	-	+	-	+	-	<i>Lactobacillus</i>	
	BNF2.A9	-	-	+	+	+	-	-	ND	<i>Enterococcus</i>	

Chapitre III : Propriétés technologiques des souches isolées

BNF2.A10	-	+	+	-	+	+	-	+	-	<i>Lactobacillus</i>
BNF2.B1	-	+	+	-	+	+	-	-	ND	<i>Enterococcus</i>
BNF2.B3	-	+	+	-	-	+	-	-	ND	<i>Enterococcus</i>
BNF2.B4	-	+	+	+	+	+	-	-	ND	<i>Enterococcus</i>
BNF2.B5	-	+	-	+	+	-	ND	-	ND	<i>Enterococcus</i>
BNF2.C5	-	+	+	+	-	+	-	-	ND	<i>Enterococcus</i>
BNF2.D1	-	-	-	-	+	+	-	+	-	<i>Lactobacillus</i>
BNF2.D3	-	-	-	-	+	+	-	+	-	<i>Lactobacillus</i>
BNF2.D5	-	+	-	+	+	+	++	-	ND	<i>Enterococcus</i>
BNF2.D8	-	+	-	+	+	+	-	-	ND	<i>Enterococcus</i>
BNF2.D9	-	+	-	+	+	-	ND	-	ND	<i>Enterococcus</i>
BNF2.F2	-	+	+	-	+	-	ND	-	ND	<i>Enterococcus</i>
BNF2.f1	-	-	+	+	-	+	-	-	ND	<i>Enterococcus</i>
BNF2.f2	-	-	+	-	+	+	-	-	ND	<i>Enterococcus</i>

Chapitre III : Propriétés technologiques des souches isolées

Tableau 13 : Résultats des activités technologiques des souches isolées

Echantillon	Code	Production des EPS	Production de diacétyle	Activité lipolytique		Activité protéolytique	Inhibition				Identification
				Huile d'olive à 3%	Tween 80 à 3%		<i>E. coli</i>		<i>P. aeruginosa</i>		
							Culture	Surnageant	Culture	Surnageant	
BNF3 (21)	BNF3.A2	-	+	+	+	+	-	+	-	<i>Enterococcus</i>	
	BNF3.A3	-	+	+	+	+	++	+	-	<i>Enterococcus</i>	
	BNF3.A4	-	+	-	+	+	++	+	-	<i>Enterococcus</i>	
	BNF3.B1	-	+	-	+	+	ND	-	ND	<i>Enterococcus</i>	
	BNF3.B2	-	-	-	+	+	ND	+	-	<i>Enterococcus</i>	
	BNF3.B5	-	-	+	-	+	-	+	-	<i>Enterococcus</i>	
	BNF3.C2	-	+	+	-	+	ND	-	ND	<i>Enterococcus</i>	
	BNF3.C3	-	+	+	-	+	-	+	-	<i>Enterococcus</i>	
	BNF3.C4	-	+	-	+	+	ND	+	-	<i>Enterococcus</i>	
	BNF3.C6	-	+	+	+	+	-	-	ND	<i>Enterococcus</i>	
	BNF3.D4	-	+	+	+	+	-	+	-	<i>Enterococcus</i>	
	BNF3.D5	-	+	+	-	+	-	-	ND	<i>Enterococcus</i>	
	BNF3.F1	-	+	+	+	+	-	-	ND	<i>Enterococcus</i>	
BNF3.F2	-	-	-	-	+	ND	+	-	<i>Enterococcus</i>		

Chapitre III : Propriétés technologiques des souches isolées

BNF3.F3	-	-	-	+	+	-	ND	+	-	<i>Enterococcus</i>
BNF3.F4	-	+	-	+	+	+	-	+	-	<i>Enterococcus</i>
BNF3.F5	-	+	+	-	+	+	-	+	-	<i>Enterococcus</i>
BNF3.G1	-	+	+	-	+	+	-	-	ND	<i>Enterococcus</i>
BNF3.G2	-	+	+	-	+	-	ND	+	-	<i>Enterococcus</i>
BNF3.G3	-	+	+	-	+	-	ND	-	ND	<i>Enterococcus</i>
BNF3.G4	-	+	+	+	+	+	-	-	ND	<i>Enterococcus</i>

Chapitre III : Propriétés technologiques des souches isolées

Tableau 13 : Résultats des activités technologiques des souches isolées

Echantillon	Code	Production des EPS	Production de diacétyle	Activité lipolytique		Activité protéolytique	Inhibition				Identification
				Huile d'olive à 3%	Tween 80 à 3%		<i>E. coli</i>		<i>P. aeruginosa</i>		
							Culture	Surnageant	Culture	Surnageant	
BME1 (8)	BME1.A2	-	+	+	+	+	+	-	ND	<i>En. durans</i>	
	BME1.A3	-	+	-	+	+	-	+	-	<i>Enterococcus</i>	
	BME1.A3.1	-	+	+	-	+	-	ND	-	ND	
	BME1.B1	-	-	-	+	+	-	-	ND	<i>En. durans</i>	
	BME1.B5	-	+	+	+	+	-	ND	+	-	<i>Enterococcus</i>
	BME1.B6	-	-	-	+	+	-	ND	-	ND	<i>Enterococcus</i>
	BME1.E1	-	+	-	-	+	+	-	-	ND	<i>Enterococcus</i>
	BME1.E2	-	-	+	-	+	+	-	-	ND	<i>En. durans</i>
BME2 (8)	BME2.A1	-	+	+	-	+	-	ND	-	ND	<i>Enterococcus</i>
	BME2.A2	-	+	+	-	+	-	ND	+	-	<i>Enterococcus</i>
	BME2.A3	-	+	+	-	+	-	ND	+	-	<i>Enterococcus</i>
	BME2.A4	-	-	-	-	+	-	ND	+	-	<i>Enterococcus</i>
	BME2.B2	-	+	-	+	+	++	++	-	ND	<i>Enterococcus</i>
	BME2.C2	-	+	-	+	+	-	ND	-	ND	<i>Enterococcus</i>
	BME2.D1	-	+	-	+	+	-	ND	-	ND	<i>En. durans</i>
	BME2.D4	-	+	-	-	+	+	++	-	ND	<i>Enterococcus</i>

Chapitre III : Propriétés technologiques des souches isolées

Tableau 13 : Résultats des activités technologiques des souches isolées

Echantillon	Code	Production des EPS	Production de diacétyle	Activité lipolytique		Activité protéolytique	Inhibition				Identification
				Huile d'olive à 3%	Tween 80 à 3%		<i>E. coli</i>		<i>P. aeruginosa</i>		
							Culture	Surnageant	Culture	Surnageant	
BMA1 (6)	BMA1.A1	-	-	+	+	+	-	+	-	<i>En. durans</i>	
	BMA1.A2	+	+	-	+	-	ND	-	ND	<i>Ln. mesenteroides ssp. mesenteroides</i>	
	BMA1.A5	+	-	-	+	-	ND	-	ND	<i>Ln. mesenteroides ssp. dextranicum</i>	
	BMA1.C9	+	-	-	+	+	-	+	-	<i>Leuconostoc</i>	
	BMA1.E1	+	-	-	-	+	+	-	+	-	<i>Leuconostoc</i>
	BMA1.E3	+	-	-	-	+	+	-	-	ND	<i>Leuconostoc</i>
BMA2 (13)	BMA2.A1	-	-	+	+	+	-	-	ND	<i>Enterococcus</i>	
	BMA2.A2	+	-	+	+	+	-	-	ND	<i>En. durans</i>	
	BMA2.A3	-	-	+	+	+	-	-	ND	<i>Enterococcus</i>	
	BMA2.B1	+	+	-	+	+	-	ND	-	ND	<i>Ln. mesenteroides ssp. dextranicum</i>
	BMA2.B2	+	-	-	+	+	-	ND	-	ND	<i>Leuconostoc</i>
	BMA2.C3	+	+	-	+	+	+	-	+	-	<i>En. durans</i>
BMA2.D1	-	+	-	+	+	-	ND	-	ND	<i>Enterococcus</i>	

Chapitre III : Propriétés technologiques des souches isolées

BMA2.D2	-	+	-	+	+	+	-	-	ND	<i>Enterococcus</i>
BMA2.D3	-	+	-	+	+	+	-	-	ND	<i>Enterococcus</i>
BMA2.D4	-	+	-	+	+	+	-	+	-	<i>Enterococcus</i>
BMA2.E1	+	+	-	+	+	+	-	+	-	<i>Leuconostoc</i>
BMA2.E2	+	-	+	+	+	+	-	-	ND	<i>Ln. mesenteroïdes</i> <i>ssp. dextranicum</i>
BMA2.F2	-	+	-	+	+	-	ND	-	ND	<i>En. durans</i>

+ : résultat positif

- : résultat négatif

ND : Non déterminé



Conclusion

et

perspectives



Actuellement, les consommateurs du monde entier espèrent que les aliments contenus dans leur alimentation présentent certains avantages pour la santé. Dans ce contexte, le lait de brebis et les produits à base de lait de brebis fermenté font désormais partie de la tendance actuelle de l'alimentation saine. Par conséquent, la recherche de nouvelles bactéries qui augmentent les caractéristiques sensorielles des produits laitiers de brebis est essentielle.

Les objectifs de cette thèse étaient d'étudier les paramètres physico-chimiques et microbiologiques de sept échantillons de lait de brebis collectés dans les régions de Mascara, Mechria et Tiout (Naâma). Trois volets ont été abordés, dans le premier nous sommes intéressés aux propriétés physico-chimiques de nos échantillons de lait. Dans le deuxième volet la flore microbienne a été déterminée par des méthodes microbiologiques. Enfin, dans le troisième volet la flore lactique a été isolée puis identifiée par des méthodes microbiologiques et pour certains isolats par une méthode protéomique. Cette dernière partie de notre travail a été finalisée par l'étude d'activités technologiques d'un échantillon de bactéries lactiques parmi celles qui ont été isolées puis identifiées.

Dans la première partie de notre travail, les résultats des paramètres physico-chimiques étaient proches des normes retenues pour le lait de la même espèce et elles sont de variation normale dépendante de plusieurs facteurs tels que : la race, la période de lactation, l'apport alimentaire, la saison, l'environnement et l'état de santé des brebis. En revanche, une forte teneur en protéines et en matières grasses a été enregistrée dans les laits BME1 et BME2 prélevés dans la région de Mecheria. Ces deux laits pourraient être de bons substrats pour une production fromagère si la production peut être maîtrisée à un niveau appréciable.

Dans la suite de notre travail, la qualité microbiologique a été aussi étudiée. La contamination du lait par les agents pathogènes comme *Staphylococcus aureus* était importante dénotant un manque de respect des bonnes pratiques et traduit certaines carences dans l'encadrement des éleveurs, le non-respect des mesures d'hygiène et des conditions d'élevage, en particulier celles liées à la propreté des animaux et leur environnement.

Le dénombrement bactériologique des bactéries pathogènes a montré que les laits BMA1 et BMA2 de la région de Mascara ont été fortement contaminés. Ceci pourrait réduire la qualité nutritive et les possibilités de transformation. En l'occurrence, la vulgarisation des

bonnes pratiques d'élevage tout en insistant sur les conditions d'hygiène des animaux et de leur environnement sera nécessaire.

Les laits de brebis peuvent abriter une riche source de diverses bactéries lactiques aux propriétés fonctionnelles intéressantes. Dans ce qui suit, les bactéries lactiques ont été isolées et identifiées avec succès afin de mieux connaître la population bactérienne indigène des laits de brebis collectés d'une part et d'évaluer leur potentiel technologique d'autre part. Un soucier de 84 bactéries lactiques a été élaboré. Dans sa composition le genre *Enterococcus* était le plus dominant avec 60 souches suivit du genre *Lactobacillus* 15 souches et *Leuconostoc* 9 souches.

L'identification phénotypique de ces isolats a été réalisée en utilisant des méthodes classiques de microbiologie et une confirmation par une identification moléculaire de quelques souches par la méthode MALDI-TOF a été effectuée. Les résultats d'identification obtenus par les différentes méthodes, ont aboutis à un résultat similaire, ce qui confirme la pertinence de la méthodologie suivie.

La dernière partie de la thèse a porté sur l'étude du potentiel technologique des bactéries lactiques isolées. Sur la base de cette caractérisation, 11 isolats ont présenté des capacités de production des exopolysaccharides principalement les souches BMA1.A5, BMA2.B1 et BMA2.E2 appartenant à l'espèce *Ln. mesenteroides ssp. detranicum*. La production de diacétyle a été observée chez 58 de bactéries lactiques appartenant aux 3 genres *Enterococcus*, *Lactobacillus* et *Leuconostoc*. La mise en évidence des activités protéolytiques et lipolytiques chez les 84 isolats lactiques a montré que la majorité des souches sont productrices de protéases et de lipases quel que soit le substrat lipidique utilisé soit naturel (l'huile d'olive) ou artificiel (le tween 80). Cependant, pour cette dernière activité, certaines souches ont montré des aptitudes différentes selon la source de lipides (l'huile d'olive ou le tween 80). Pour ce dernier résultat, il serait intéressant de déterminer les causes de cette différence de comportement.

Parmi les souches sélectionnées pour le pouvoir acidifiant, les isolats BNF3.G3, BME1.A2, BME1.E2 et BME2.D4 ont montré la capacité d'acidification la plus élevée en développant une quantité d'acide lactique très importante après 24 h d'incubation. Ces isolats pourraient être proposés dans la fabrication des fromages et des produits fermentés.

Un autre point très intéressant de nos résultats est la forte activité antimicrobienne des bactéries lactiques principalement les souches appartenant au genre *Enterococcus* qui ont montré un effet inhibiteur intéressant contre les agents pathogènes principalement *E. coli*.

Dans le cadre de l'étude réalisée, Certains travaux méritent d'être poursuivis dans le cadre des perspectives suivantes :

- ✓ Le lait de brebis est une excellente source de nutriments et est principalement utilisé pour la production de fromage en raison de sa teneur élevée en solides totaux, contribuant à un rendement élevé en fromage. Cependant, les bénéfices fonctionnels de cette matrice alimentaire restent inexplorés par l'industrie laitière en Algérie. Il serait intéressant de déterminer le potentiel des différentes races ovines sur le plan génétique, dans la production laitière en quantité et en qualité dans le but de mettre sur pied et de promouvoir une industrie de transformation laitière ovine (fromage, yaourt et autres desserts laitiers). Il serait aussi intéressant de définir un régime alimentaire ovin capable d'assurer les qualités d'un lait destiné à une production fromagère. Enfin définir des normes pour assurer la mise en place d'élevages sains pour une production laitière de bonne qualité nutritionnelle et microbiologique.

- ✓ Une forte variabilité de certains caractères technologiques pertinents a été observée. Parmi les isolats, des souches ont montré une activité protéolytique et lipolytique modérée, une production de diacétyle et d'exopolysaccharides. La détermination des paramètres physico-chimiques (température, pH...) permettrait de mieux cerner ces activités. En effet, certaines de ces caractéristiques technologiques pourraient être à la base de différentes applications comme par exemple dans la fabrication des produits laitiers fermentés notamment le fromage. Il serait aussi intéressant de compléter les travaux de cette thèse en étudiant les propriétés bénéfiques des bactéries lactiques isolées à partir de lait de brebis afin d'envisager une application probiotique.

- ✓ D'autres travaux de recherches sont nécessaires, pour mieux évaluer la capacité des isolats à inhiber d'autres agents pathogènes mais aussi déterminer la nature des agents responsables des inhibitions observées.
- ✓ Bien que plusieurs moyens d'identification bactérienne en utilisant des méthodes classiques restent toujours d'actualité, ils ne sont pas toujours déterminants. Pour cela une identification moléculaire des bactéries lactiques par le séquençage des gènes des ARN_r 16S dont l'intervalle de confiance est estimé à 98% est souhaitable car l'identification par MALDI-TOF reste sûre qu'à 92%. En effet les applications alimentaires imposent une identification rigoureuse.



Références

bibliographiques



- AFNOR. (1996).** Contrôle de la qualité des produits laitiers –Analyses physiques et chimiques, 3ème édition.
- AFNOR, (1986).** Fromages, détermination de la matière sèche (méthode par étuvage). NF V04 282, in : AFNOR (Ed.), Recueil de normes françaises. Laits et produits laitiers. Méthodes d'analyse, Paris La Défense. P 104–105.
- Agabriel C., Coulon J.B., Journal C., et De Rancourt B. (2001).** Composition chimique du lait et système de production dans les exploitations du Massif central. INRA Prod. Anim. 14 (2), 119 – 128.
- Aguilar-Galvez A., Dubois-Dauphin R., Destain J., Campos D., Thonart P., (2012).** Les Entérocoques : Avantages Et Inconvénients En Biotechnologie (Synthèse Bibliographique). *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.*, 16(1) : P. 67-76.
- Albenzio, M., Santillo, A., Avondo, M., Nudda, A., Chessa, S., Pirisi, A., Banni, S. (2016).** Nutritional properties of small ruminant food products and their role on human health. *Small Ruminant Res* 135:3–12.
- Al-Naseri, A., Bowman, J. P., Wilson, R., Nilsson, R. E., & Britz, M. L. (2013).** Impact of lactose starvation on the physiology of *Lactobacillus casei* GCRL163 in the presence or absence of Tween 80. *Journal of Proteome Research*, 12, 5313–5322.
- Ale EC, Perezlindo MJ, Pavo' n Y, Peralta GH, Costa S, Sabbag N, Bergamini C, Reinheimer JA, Binetti AG (2016):** Technological, rheological and sensory characterizations of a yogurt containing an exopolysaccharide extract from *Lactobacillus fermentum* Lf2, a new food additive. *Food Res Int*, 90 :259- 267.
- Alloui-Lombarkia O., Ghennam E-H., Bacha A. et Abededdain M. (2007).** Caractéristiques physico-chimiques et biochimiques du lait de chamelle et séparation de ses protéines par électrophorèse sur gel de polyacrylamide. *Ren. Rech. Ruminants* 14, pp108
- Al-Wabel, N.A., (2008).** Mineral contents of milk of cattle, camels, goats and sheep in the Central region of Saudi Arabia. *Asian J. Biochem.* 3, 373–375.
- Andic, S, Tunc, tu' rk Y, Boran G (2014):** Changes in Volatile Compounds of Cheese. Elsevier Inc.
- Aslam S. & Qazi J. I. (2010).** Isolation of acidophilic lactic acid bacteria antagonistic to microbial contaminants. *Pakistan. Jo. Zool*, 42(5), p : 567-573.
- Ayad, E. H. E., S. Nashat, N. El-Sadek, H. Metwaly, and M. El-Soda. (2004).** Selection of wild lactic acid bacteria isolated from traditional Egyptian dairy products according to production and technological criteria. *Food Microbiol.* 21:715–725.

- Badis A, Guetarni D, Boudjema BM, Henni DE, Kihal M (2004):** Identification and technological properties of lactic acid bacteria isolated from raw goat milk of four Algerian races. *Food Microbiol* 21:579-588.
- Balthazar CF, Silva HLA, Vieira AH, Neto RPC, Cappato LP, Coimbra PT, Moraes J, Andrade MM, Calado VMA, Granato D, Freitas MQ, Tavares MIB, Raices RSL, Silva MC, Cruz AG. (2017).** Assessing the effects of different prebiotic dietary oligosaccharides in sheep milk ice cream. *Food Res Int* 91:38–46.
- Balthazar, C. F and A. G. Cruz. (2018).** Nutritional and functional properties of sheep milk for beneficial dairy products development. *J Food Process Technol.* 9: 50.
- Bariz K. (2009).** *Etude De La Microflore Du Lait Fermenté Traditionnel (Ighi), Recherche De Souches De Bactéries Lactiques Productrices De Bactériocines.* Mémoire De Magister, Université Mouloud Maameri De Tizi Ouzou, 82.
- Barłowska, J., Sz wajkowska, M., Litwińczuk, Z., Król, J., (2011).** Nutritional value and technological suitability of milk from various animal species used for dairy production. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* 10, 291–302.
- Benaissa, R (2001).** Ministre délégué au développement rural. Rencontre avec les éleveurs de la steppe algérienne. *In Deghnouche 2011. Etude de certains paramètres zootechniques et du métabolisme énergétique de la brebis dans les Régions arides (Biskra).* Thèse doctorat (BATNA) 234 p.
- Benyoucef, M.T., Madani. T., Abbas, K. (2000).** Systèmes d'élevage et objectifs de sélection chez les ovins en situation semi-aride algérienne ». Ciheam-Options Méditerranéennes, INA, Alger, p101-109.
- Bintsis, T. (2018).** Lactic acid bacteria as starter cultures: An update in their metabolism and genetics. *AIMS Microbiol.* 4:665–684. <https://doi.org/10.3934/microbiol.2018.4.665>.
- Blaya, J., Barzideh, Z., & LaPointe, G. (2018).** Symposium review: Interaction of starter cultures and nonstarter lactic acid bacteria in the cheese environment. *Journal of Dairy Science*, 101, 3611–3629.
- Bonomo, M. G., and G. Salzano. (2013).** Genotypic and technological diversity of *Leuconostoc mesenteroides* and *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei* strains for use as adjunct starter cultures in Pecorino di Filiano cheese. *Int. J. Dairy Technol.* 66:402–409.

- Bourdichon, F., Berger, B., Casaregola, S., Farrokh, C., Frisvad, J. C., Gerds, M. L., ... Bech Hansen, E. (2012).** A safety assessment of microbial food cultures with history of use in fermented dairy products. *Bulletin of the International Dairy Federation*, 455, 2–12.
- Bourgeois C.M. et Larpent J.P (1980).** Microbiologie alimentaire. T.2. Aliments fermentés et fermentations alimentaires. Ed. Tec et Doc, Lavoisier (Paris), 523p
- Campbell J.R and Marshall R.T. (1975).** The Science of Providing Milk for Man. McGraw-Hill Book Co., New York, NY, p. 801.
- Carafa, I., T. Nardin, R. Larcher, R. Viola, K. Tuohy, and E. Franciosi. (2015).** Identification and characterization of wild lactobacilli and pediococci from spontaneously fermented mountain cheese. *Food Microbiol.* 48 :123–132.
- Carbonnelle E, Beretti JL, Cottyn S, Quesne G, Berche P, Nassif X, et al. (2007).** Rapid identification of staphylococci isolated in clinical microbiology laboratories by matrix-assisted laser desorption ionization-ionization-time of flight mass spectrometry. *J Clin Microbiol*; 45: 2156–61. <https://doi.org/10.1128/JCM.02405-06>.
- Carr, F., J., Chill, D., et Maida, N. (2002).** The lactic Acid Bacteria: A Literature Survey. *Critical Rev .Micribiol .*,28 :4,281-370.
- Casu S., Boyazoglu J., (1990).** La production ovine laitière méditerranéenne : régions de production, types de génétiques utilisés, système d'élevage et perspectives d'avenir. *Options Méditerranéennes*, 12 : 19-24.
- Chellig R.,(1992).** Les races ovines algériennes. Office des Publications Universitaires. 1 Place Centrale de Ben Aknoun (Alger).
- Chilliard Y. et Sauvant D. (1987).** La sécrétion des constituants du lait in le lait, matière première de l'industrie laitière. INRA-CEPIL. Paris. 13- 26.
- Cholet O., (2006).** Etude de l'écosystème fromager par une approche biochimique et moléculaire. *Institut National Agronomique Paris-Grignon. Ecole Doctorale ABIES.*
- Claeys, W L., Verraes, C., Cardoen, S., De Block, J., Huyghebaert, A., Raes, K., Dewettinck, K., Herman, L. (2014).** Consumption of raw or heated milk from different species: an evaluation of the nutritional and potential health benefits. *Food Contr* 42:188–201.
- Clark, S., and C. K. Winter. (2015).** Diacetyl in foods: A review of safety and sensory characteristics. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* 14:634–643. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12150>.

- CNAnRG, 2003.** Commission Nationale des ressources génétiques animales. Rapport national sur les ressources génétiques animales, Algérie.
- Craplet, C., Thibier, M., (1980).** Le mouton, vol. IV., fourth ed. Editions Vigots, Paris.
- Croguennec, T., Jeantet, R., Brule, G. (2008).** Fondements physicochimiques de la Technologie Laitière. Paris : Ed. Tec et Doc.
- Cuffia, F., C. V. Bergamini, E. R. Hynes, I. V. Wolf, and M. C. Perotti. (2020).** Evaluation of autochthonous cultures to improve the cheese flavor: A case study in hard cheese model. *Food Sci. Technol. Int.* 26:173–184. <https://doi.org/10.1177/1082013219881512>.
- Dario, C., Carnicella, D., Dario, M., Bufano, G. (2008).** Genetic polymorphism of β -lactoglobulin gene and effect on milk composition in Leccese sheep. *Small Ruminant Res* 74:270–3.
- De-Almeida WLG Junior, Ferrari TDS, Souza JV, Silva CDA, Costa MM, Dias FS (2015):** Characterization and evaluation of lactic acid bacteria isolated from goat milk. *Food Control*, 53:96- 103.
- Debry, G., (2001).** Lait, nutrition et santé. Editions Tec et Doc, Lavoisier, 566 p.
- De-Roissard H.B et Luquet M, (1994).** « Bactéries lactiques » In lait et produits laitiers : vache, brebis, chèvre. Tome 3. Ed. Tec et Doc. Lavoisier. Apria : 191-203.
- 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.
- Doan N.T., Van Hoorde K., Cnockaert M., De Brandt E., Aerts M., Le Thanh B., Vandamme P., (2012).** *Validation Of Maldi-Tof Ms For Rapid Classification And Identification Of Lactic Acid Bacteria , With A Focus On Isolates From Traditional Fermented Foods In Northern Vietnam.* *Lett Appl Microbiol.* , 55(5): P. 265-273.
- Domingos-Lopes, M. F., C. Stanton, P. R. Ross, M. L. Dapkevicius, and C. C. Silva. (2017).** Genetic diversity, safety and technological characterization of lactic acid bacteria isolated from artisanal Pico cheese. *Food Microbiol.* 63 :178–190.
- Dortu, C et Thonart, P (2009).** Les bacteriocines des bactéries lactiques : Caractéristiques et intérêts de la bioconservation des produits alimentaires. *Biotenol. Agron.Soc. Environ.* 13 : 143- 154.

Références bibliographiques

- Drider, D ; Prévost, H. (2009).** Bactéries lactiques : physiologie, métabolisme, génomique et applications industrielles Edition : Economica
- Dror, B., Savidor, A., Salam, B. B., Sela, N., Lampert, Y., Teper-Bamnlker, P., ... Eshela, D. (2018).** High levels of CO₂ induce spoilage by *Leuconostoc mesenteroides* by upregulating dextran synthesis genes. *Applied and Environmental Microbiology*, 85, e00473-18.
- Durlu-Ozkaya, F., Xanthopoulos, V., Tinail, N., & Litopoulou-Tzanetaki, E. (2001).** Technologically important properties of lactic acid bacteria from Beyaz cheese made from raw Ewe's milk. *Journal of Applied Microbiology*, 91, 861–870.
- El-Ghaish, S et al, (2011).** Potential use of lactic bacteria for reduction of allergenicity and for longer conservation of fermented foods. *Trends in Food Sci. Technol.* 22: 509-516. *Enterococcus. J Bacteriol.*189: 1189-1198.
- Euzéby J.P. (2011).** List of prokaryotic nemes with standing in nomenclatures, list of genera included in families. Up date : September 04, 2011.
- FAO. (1995).** Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine. Collection FAO : Alimentation et nutrition n°28
- FAO. (2015).** Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO), Le lait et les produits laitier. (2015).
- FAO. (2016).** **Food and Agriculture Organization of the United Nations.** FAO: DATA. Livestock Primary. Available from: <http://www.fao.org/faostat/en/data/> QL (accessed: 24-09-2019).
- FAO. (2017).** **Food and Agriculture Organization.** FAOSTAT Statistics Database. Accessed on 11/3/2019.
- FAO. (2019).** Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO), Le lait et les produits laitiers.
- FAO. FAOSTAT Database Collections.** Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2014). Available in: <http://faostat3.fao.org/faostat-gateway/go/to/home/E>. Accessed in: 5 April 2014.
- FAOSTAT. (2010).** Available at: <http://faostat3.fao.org/home/index.html#HOME>.
- Farahani, Z., Rasooli, I., & Owlia, P. (2017).** Isolation, identification and characterization of indigenous lactic acid bacteria for flavour improvement. *International Food Research Journal*, 24, 428–436.

- Fennema, O.F., Hui, Y.H., Karel, M., Walstra, P., Whitaker, J.R. (2004).** Lactic acid bacteria (Microbiological and Functional Aspects) In: Salminen S, von Wright A, editors. Food science and technology a series of monographs, textbooks, and reference books. New York: Marcel Dekker, Inc. 19-30
- Ferrari, I. da S., J. V. de Souza, C. L. Ramos, M. M. da Costa, R. F. Schwan, and F. S. Dias. (2016).** Selection of autochthonous lactic acid bacteria from goat dairies and their addition to evaluate the inhibition of *Salmonella typhi* in artisanal cheese. Food Microbiol. 60:29–38. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2016.06.014>
- Fguiri, I., M. Ziadi, M. Atigui, N. Ayeb, S. Arroum, M. Assadi, and T. Khorchani. (2016).** Isolation and characterisation of lactic acid bacteria strains from raw camel milk for potential use in the production of fermented Tunisian dairy products. Int. J. Dairy Technol. 69 :103–113.
- FIL, (Fédération Internationale du Lait) (1996).** Le lait et produits laitiers Préparation des échantillons et des dilutions en vue de l'examen microbiologique. Document 122C.
- France AgriMer :** Etablissement National des Produits de l'Agriculture et de la Mer.
- Franciosi, E., L. Settanni, A. Cavazza, and E. Poznanski. (2009).** Biodiversity and technological potential of wild lactic acid bacteria from raw cows' milk. Int. Dairy J. 19:3–11.
- François, Z.N., Nour El houda, Florance, F.A., Paul M.F., Félicite T.M and El soda M. (2007).** Biochemical properties of some thermophilic lactic acid bacteria strains from traditional fermented milk relevant to their technological performance as starters culture. *Biotechnology*. 6(1): 14-21.
- Gantner, V., Mijic, P., Baban, M., Zoran, S., Alka, T. (2015).** The overall and fat composition of milk of various species. *Mljekarstvo* 65 :223–31.
- Garabal, J. I., Rodriguez-Alonso, P., & Centeno, J. A. (2008).** Characterization of lactic acid bacteria isolated from raw cows' milk cheese currently produced in Galicia (NW Spain). *LWT - Food Science and Technology*, 41, 1452–1458.
- Gaucheron F. (2005).** The minerals of milk. *Reprod Nutr Dev* 45 :473–83.
- Georgalaki, M. D., Papadelli, M., Anastasiou, R., Kalantzopoulos, G., Aand Tsakalidou, E. (2002).** Purification and characterization of the X-prolyl-dipeptidyl aminopeptidase (PepX) from streptococcus macedonicus and cloning of the pep X gene. *Le lait*, 82, 657-671.

- Giraffa, G., (2003).** Functionality of enterococci in dairy products. *Int. J. Food Microbiol.* 88, 215e222.
- Gobbetti, M., M. De Angelis, R. Di Cagno, L. Mancini, and P. F. Fox. (2015).** Pros and cons for using non-starter lactic acid bacteria (NSLAB) as secondary/adjunct starters for cheese ripening. *Trends Food Sci. Technol.* 45:167–178.
- Gobbetti, M., Minervini, F., Rizzello, C.G., (2014).** Angiotensin I-converting enzyme inhibitory and antimicrobial bioactive peptides. *Int. J. Dairy Technol.* 57, 173–188.
- Gueguen L, Pointillart A. (2000).** The bioavailability of dietary calcium. *J Am Coll Nutr* 19:119S–136S.
- Guidone, A., T. Zotta, R. P. Ross, C. Stanton, M. C. Rea, E. Parente, and A. Ricciardi. (2014).** Functional properties of *Lactobacillus plantarum* strains: A multivariate screening study. *Lebensm. Wiss. Technol.* 56:69–76.
- Guiraud (2003).** Méthode d'analyse en microbiologie alimentaire. In : Microbiologie alimentaire. Paris, 12 p.
- Guiraud, J. (1998).** Microbiologie Alimentaire. Ed. Dunod, Paris.
- Grattepanche, F. (2005).** Etude d'un système de préfermentation en continu du lait par une culture mixte. Thèse de Doctorat. Université Laval. Canada.
- Gonzalo C., Blanco M.A., Beneitez E., Juarez M.T., Martinez A., Linage B. et Ariznabarreta A. (2005).** Qualité physico-chimique et hygiénique du lait de brebis chez les troupeaux du bassin de Castilla- Leon (Espagne). *Ren.Rech. Ruminants* 12, pp 401.
- Haenlein, G.F.W., Wendorff, W.L., (2006).** Sheep milk. In: Park, Y.W., Haenlein, G.F.W. (Eds.), *Handbook of Milk of Non-Bovine Mammals*. Blackwell Publishing, Ames, Iowa, USA, pp. 137–194.
- Haller D, Colbus H, Gañzle MG, Scherenbacher P, Bode C, Hammes WP. (2001).** Metabolic and functional properties of lactic acid bacteria in the gastro-intestinal ecosystem: a comparative in vitro study between bacteria of intestinal and fermented food origin. *Syst Appl Microbiol*, 24:218-226.
- Hantsis-Zacharov, E., Halpern, M., (2007).** Culturable psychrotrophic bacterial communities in raw milk and their proteolytic and lipolytic traits. *Appl. Environ. Microb.* 73, 7162e7168.

- Hardie J.M., Whiley R.A., (1997).** The genus *Streptococcus* In he Genera of Lcatic Acid Bacteria. B.J.B. Wood, and W. H. Holzapfel Eds., Vol 2., Aspen Publishers, Gaithersburg, MD.
- Harris, L. J., M. A. Daeschel, M. E. Stiles, and T. R. Klaenhammer. (1989).** Antimicrobial activity of lactic acid bacteria against *Listeria monocytogenes*. Food Biosci. 52:384–387. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-52.6.384>
- Hikmate, A., Benomar, N., Antonio, C., Calballero, N., Miguel, A.F.F., Pérez-Pulido, R.Gálvez, A. (2012).** Characterization of lactic acid bacteria from naturally-fermented Manzanilla Aloreña green table olives. *Food Microbiology*, 32 :308-316.
- Ho Thi Nguyet Thu, (2008).** Etude de la flore lactique du Nem Chua, produit carné fermenté cru traditionnel du sud du Vietnam et maîtrise du processus de fermentation lactique par ajout de souches lactiques sélectionnées spécifiques du produit. Thèse de Doctorat en Sciences des Aliments et Nutrition. Université Bordeaux 1 – France
- Ho, T.N.T., Tuan, N., Deschamps, A & Caubet, R. (2007).** Isolation and identification of lactic acid bacteria (LAB) of the New chua fermented meat product of Vietnam, *Int. Workshop on Food Safety and Processing Thechnology* .Pp :134-142.
- Holzapfel, W. H. (2003).** Appropriate starter culture technologies for small-scale fermentation in developing countries. *International Journal of Food Microbiology*, 75, 197e212.
- Jacob M, Jaros D, Rohm H. (2011).** Recent advances in milk clotting enzymes. *Int J Dairy Technol* 64 :14–33.
- Jakob E., Piccinali P. (2006).** L’amertume dans les fromages. *Agroxope. Liebefeldposieux*, 1-16.
- Joković, N., J. Rajković, K. Veljović, M. Tolina, and L. Topisirović. (2014).** Screening of lactic acid bacteria isolated from Serbian kajmak for use in starter cultures. *Biol. Nyssana* 5:37–46.
- Jooyandeh H, Aberoumand A. (2010).** Physico-chemical, nutritional, heat treatment effects and dairy products aspects of goat and sheep milks. *World App Sci J* 11:1316–22.
- Jumah, R.Y., Shaker, R.R., Abu-Jdayil, B., (2001).** Effect of milk source on the rheological properties of yogurt during the gelation process. *Int. J. Dairy Technol.* 54, 89–93.

- Kamimura, B., M. Magnani, W. A. Luciano, F. B. Campagnollo, T. C. Pimentel, V. O. Alvarenga, B. O. Pelegrino, A. G. Cruz, and A. S. Sant'Ana. (2019).** Brazilian artisanal cheeses: An overview of their characteristics, main types and regulatory aspects. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* 18:1636–22. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12486>.
- Kaminarides, S., Stamou, P., Massouras, T. (2007).** Comparison of the characteristics of set-type yoghurt made from ovine milk of different fat contents. *Int J Food Sci Tech* 42:1019–28.
- Karam N.F., Dellali A et Karam Z.H., (2012).** Activité lipolytique chez les bactéries lactiques. *Renc. Rech. Ruminants*, 19.
- Khaskheli, M., Arain, M.A., Chaudhry, S., Soomro, A.H. et Qureshi, T.A., (2005).** Physico-Chemical Quality of Camel Milk. *J. Agri. Soc. Sci.*, vol.1, N°2, 164-166.
- Khelifi, Y. (1999).** Les productions ovines et caprines dans les zones steppiques algériennes. In: Rubino R. (ed.), Morand-Fehr P. (ed.). *Systems of sheep and goat production: Organization of husbandry and role of extension services.* Zaragoza : CIHEAM. P : 245-247. (Options Méditerranéennes : Série A. Séminaires Méditerranéens; n. 38.
- Klaenhammer T. R. Fremanse, c et Hacher, Y (1994).** Activite antibacterienne des bacteries lactiques, de Roissirt et F.M Luquet, Lorica.
- Klein G., (2003).** Taxonomy, ecology and antibiotic resistance of enterococci from food and the gastro-intestinal tract. *Int. J. Food Microbiol.* 88: 123-131.
- 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.
- Kouniba A., Berrada M. et EL Marakchi A. (2007).** Etude comparative de la composition chimique du lait de chèvre de la race locale Marocaine et la race alpine et évaluation de leur aptitude fromagère. *Revue Méd. Vét.* 158. 03, 152-160. lactic acid bacteria. *Int.J.Food Microbiol.*41:103-125.
- Larson B.L and Smith V.R. (1974).** Lactation, vol. 4. Academic Press, New York, p. 1994.
- Leclerc, H., Gaillard, F.L. Et Simonet, M.,(1994).** Les grands groupes de bactéries. In : microbiologie générale : la bactérie et le monde microbien. Doin.Paris .445. Leeuwenhoek. J.70 :331-345.
- Leahy S.C Higgins D.G., Fitzgerald G.F and Van Sinderen, D (2005).** Getting better with bifidobacterial: a review. *J. Appl. Microbiol.*, 98: 1303-1335.

- Leroy, F. et De Vuyst, L., (2004).** Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry. *Trends Food Science and Technology*, 15:67–78.
- Leveau J.Y. et Bouix M., (1991).** Les levures. Dans : *Microbiologie industrielle, les micro-organismes d'intérêt industriel*. Eds. Tech in Food Science & Technology. Vol 15, 67-78.
- Li, X., A. Duerkop, and O. S. Wolfbeis. (2009).** A fluorescent probe for diacetyl detection. *J. Fluoresc.* 19 :601–606. <https://doi.org/10.1007/s10895-0080-0450-y>
- Lopez-Kleine, L., & Monnet, V. (2011).** *Lactic acid bacteria j proteolytic systems (2th ed.)*. France: Academic Press Published.
- Lordan, R., Zabetakis, I. (2017).** Invited review: The anti-inflammatory properties of dairy lipids. *J DairySci* (in press).
- Luquet F. M. (1985).** *Laits et produits laitiers - Vache, brebis, chèvre. Tome 1 : Les laits De la mamelle à la laiterie*. Tech. & Doc., Coll. STAA, Lavoisier, Paris.
- Ma, C., Zhang, L., Ma, D., Du, M., Han, X., Yi, H., Zhang, L., Feng, Z., Zhang, Y., Zhang, Y., & Song, W. (2012).** Technological characterization of Lactobacilli isolated from Chinese artisanal fermented milks. *International Journal of Dairy Technology*, 65 (1), 132–139.
- Mâamouri O., Rouissi H., (2008).** Effet de la nature de la source azotée sur les performances de production laitière (qualité et quantité) chez la race ovine Sicilo-Sarde au cours de phase d'allaitement. *Rencontres Recherches Ruminants*, 15 : 303.
- MADR** (Ministère de l'Agriculture, du Développement Rural et des Pêche. 2019. www.madrp.gov.dz
- Madrau, M. A., Mangia, N. P., Murgia, M. A., Sanna, M. G., Garau, G., Leccis, L., ... Deiana, P. (2006).** Employment of autochthonous microflora in Pecorino Sardo cheese manufacturing and evolution of physicochemical parameters during ripening. *International Dairy Journal*, 16, 876–885.
- Maina, N.H., Tenkanen, M., Maaheimo, H., Juvonen, R., Virkki, L., (2008).** NMR spectroscopic analysis of exopolysaccharides produced by *Leuconostoc. citreum* and *Weissella confusa*. *Carbohydr. Res.* 343, 1446e1455.

Références bibliographiques

- Makhloufi .K. M. (2011).** Caractérisation d'une bactériocine produite par une bactérie lactique *Leuconostoc pseudomesenteroides* isolée du boza. Thèse de doctorat de l'université pierre et marie curie. Spécialité : microbiologie, biochimie (école doctorale iviv)
- Manca, M.G., Serdino, J., Gaspa, G., Urgeghe, P., Ibba, I., Contu, M., Fresi, P., Macciotta, N.P.P., (2016).** Derivation of multivariate indices of milk composition, coagulation properties, and individual cheese yield in dairy sheep. *J Dairy Sci.* 99, 4547–4557. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-10589>
- Mantzourani, I., Chondrou, P., Bontsidis, C., Karolidou, K., Terpou, A., Alexopoulos, A., Bezirtzoglou, E., Galanis, A., & Plessas, S. (2019).** Assessment of the probiotic potential of lactic acid bacteria isolated from kefir grains: Evaluation of adhesion and antiproliferative properties in in vitro experimental systems. *Annals of Microbiology,* 69(7), 751–763
- Martin C., Morgavi D., Doreau M., Jouany J.P. (2006).** Comment réduire la production de méthane chez les ruminants ? *Fourrages,* 187, 283-300.
- Martin, B., Hurtaud, C., Graulet, B., Ferlay, A., Chilliard, Y., & Coulon, J. B. (2009).** Grass and the nutritional and organoleptic qualities of dairy products. *Fourrages,* 199, 291–310.
- Martinez, S., I. Franco, and J. Carballo. (2011).** Spanish goat and sheep milk cheeses. *Small Rumin. Res.* 101:41–54.
- Martinez-Cuesta MC, Palencia PF, Requena T, Pelaez C. (2001).** Enzymatic ability of *Lactobacillus casei subsp. casei* IFPL731 for flavour development in cheese. *Int Dairy J,* 11:577-585.
- Martini, M., Scolozzi, C., Cecchi, F., Mele, M., Salari, F. (2008).** Relationship between morphometric characteristics of milk fat globules and the cheese making aptitude of sheep's milk. *Small Ruminant Research,* 74, 194-201.

Mathieu, J. (1998). Initiation à la Physicochimie du Lait. Ed. Tec. et Doc. Lavoisier, Paris.

Mäyrä-Mäkinen A. et Bigret M., (2004). Industrial use and production of lactic acid bacteria. *In: Lactic acid bacteria: microbiology and functional aspects* (Salminen S., Wright A.V. et Ouwehand A.). 3e Ed., Marcel Dekker, Inc. New York. 73-102.

Medina de Figueroa, R., Oliver, G., & Benito de Cárdenas, I. L. (2001). Influence of temperature on flavour compound production from citrate by *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 7469. *Microbiological Research*, 155, 257–262.

Mohammedi., (2006) In Saidi M, Ayad A, Boulgaboul A et Benbarek H (2006). Etude prospective du parasitisme interne des ovins dans une région steppique : cas de la région de Ain D'hab, Algérie. *Méd. Vét.*, 2009, 153, 224-230

Molik E, Bonczar G, Misztal T, Zebrowska A, Zieba D. (2012). The effect of the photoperiod and exogenous melatonin on the protein content in sheep milk. *In: Hurley WL, editor. Milk protein.* 1st ed. Rijeka: Intech.

Monfredini, L., L. Settanni, E. Poznanski, A. Cavazza, and E. Franciosi. (2012). The spatial distribution of bacteria in Grana-cheese during ripening. *Syst. Appl. Microbiol.* 35 :54–63.

Monnet V., Latrille E., Béal C. et Corrieu G., (2008). Croissance et propriétés fonctionnelles des bactéries lactiques. *In : Bactéries lactiques de la génétique aux ferments* (Corrieu G. et Luquet F.M.). *Tec & Doc, Lavoisier.* Paris. 512-592.

Morand-Fehr P, Fedele V, Decandia M, Le Frileux Y (2007). Influence of farming and feeding systems on composition and quality of goat and sheep milk. *Small Ruminant Res*; 68:20-34.

Mouffok F., (2006). *Microbiologie Des Laits Et Produits Laitiers.* Institut Pasteur Microbiologie Des Laits Et Produits Laitiers, (Préparation D E S).

- Muehlhoff, E., Bennett A., McMahon D. (2013).** Milk and dairy products in human nutrition. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO).
- Nes, I. F., Diep, D. B., and Holo, H. (2011).** Bacteriocin diversity in *Streptococcus* and
- Nieto-Arribas, P., Poveda, J. M., Seseña, S., Palop, L., & Cabezas, L. (2009).** Technological characterization of *Lactobacillus* isolates from traditional Manchego cheese for potential use as adjunct starter cultures. *Food Control*, 20(12), 1092–1098.
- Nieto-Arribas, P., S. Sesena, J. M. Poveda, L. Palop, and L. Cabezas. (2010).** Genotypic and technological characterization of *Leuconostoc* isolates to be used as adjunct starters in Manchego cheese manufacture. *Food Microbiol.* 27: 85–93.
- Nikolic, M., A. Terzic-Vidojevic, B. Jovcic, J. Begovic, N. Golic, and L. Topisirovic. (2008).** Characterization of lactic acid bacteria isolated from Bukuljac, a homemade goat's milk cheese. *Int. J. Food Microbiol.* 122 :162–170.
- Ninane v.l. (2009).** Caractérisation du consortium microbien d'un grain de kéfir. Thèse de doctorat, faculté universitaire des sciences agronomiques de Gembloux, 197. Nutritional properties of small ruminant food products and their role on human health. *Small Rum. Res.* 135, 3–12. <https://doi.org/10.1016/j>
- Ogier, J.C., Casalta, E., FARROKH C. et Saihi, A., (2008).** Safety assessment of dairy microorganisms: The *Leuconostoc* genus. *Int. J. Food Microbiol.* 126: 286-290.
- Orla-Jensen S., (1919).** The Lactic Acid Bacteria Ed., Ed. Vol.: Mem. Acad. Roy. Sci. , Sect. Sci., 8 Sér., 5.
- O'Sullivan L. Ross R.P. et Hill C. (2002).** Potential of bacteriocin-producing lactic acid bacteria for improvements in food safety and quality. *Biochimie*, 84, pp.593-604.
- Ouwehand, A.C., Vesterlund, S. (2004).** Antimicrobial components from lactic acid bacteria. In: Salminen S., Ouwehand A., Von Wright A. (eds.). *Lactic Acid Bacteria: Microbial and Functional Aspects*, 3rd ed. Marcel Dekker, New York. 375–395.
- Park, Y W., Juarez, M., Ramos, M., Haenlein, GFW. (2007).** Physico-chemical characteristics of goat and sheep milk. *Small Ruminants Res* 68 :88–113.

- Paulina, G., Bencini, R., (2004).** Dairy Sheep Nutrition. Wallington: CABI Publications, UK, pp. 222.
- Pereira, G. V. D. M., D. P. D. C. Neto, A. C. D. O. Junqueira, S. G. Karp, L. A. J. Letti, A. I. M. Junior, and C. R. Soccol. (2019).** A review of selection criteria for starter culture development in the food fermentation industry. *Food Rev. Int.* 0:1–33. <https://doi.org/10.1080/87559129.2019.1630636>.
- Perez, G., E. Cardell, and V. Zarate. (2003).** Technological characterization of lactic acid bacteria from Tenerife cheese. *Int. J. Food Sci. Technol.* 38:537–546.
- Pescuma, M., H_ebert, E. M., Dalgarrondo, M., Haertl_e, T., Mozzi, F., Chobert, J.-M., et al. (2009).** Effect of exopolysaccharides on the hydrolysis of betalactoglobuline by *Lactobacillus acidophilus* CRL 636 in an in vitro gastric/ pancreatic system. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(12), 5571e5577.
- Pilet M-F., Magras Catherine et Michel Federighi, (2005).** Bactéries lactiques In bactériologies alimentaire « compendium d’hygiène des aliments » Federighi L. *Economica*, pp : 219-242.
- Pintus, S.; Murru, E.; Carta, G.; Cordeddu, L.; Batetta, B.; Accossu, S.; Pistis, D.; Uda, S.; Ghiani, M. E.; Mele, M.; Secchiari, P.; Almerighi, G.; Pintus, P. and Banni, S. (2013).** Sheep cheese naturally enriched in α -linolenic, conjugated linoleic and vaccenic acids improves the lipid profile and reduces anandamide in the plasma of hypercholesterolaemic subjects. *British Journal of Nutrition* 109 :1453-1462.
- Pirisi A., Piredda G., Scintu M.F. et Fois N. (2001).** Effect of feeding diets on quality characteristics of milk and cheese produced from Sarda dirty ewes. *Options Méditerranéennes : Série A. Séminaires Méditerranéens ; n° 46*, 115-119.
- Pirisi, A., Lauret, A., Dubeuf, J.P., (2007).** Basic and incentive payments for goat and sheep milk in relation to quality. *Small Rumin. Res.* 68, 167–178.

- Pisano, M. B., S. Viale, S. Conti, M. E. Fadda, M. Deplano, M. P. Melis, M. Deiana, and S. Cosentino. (2014).** Preliminary evaluation of probiotic properties of *Lactobacillus* strains isolated from Sardinian dairy products. *BioMed Res. Int.* 2014:286390. <https://doi.org/10.1155/2014/286390> . *Lactobacillus plantarum* strains: A multivariate screening study. *Lebensm. Wiss. Technol.* 56:69–76.
- 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., Harley, J., and Klein, D. (2003).** Le métabolisme : la libération et la conservation de l'énergie. In: Boeck, d., and Larcier (Eds). *Microbiologie*. Bruxelles, Belgium. pp 172-203.
- Pretorius, N., Engelbrecht, L., & Du Toit, M. (2019).** Influence of sugars and pH on the citrate metabolism of different lactic acid bacteria strains in a synthetic wine matrix. *Journal of Applied Microbiology*, 127, 1490–1500.
- Ramos LR, Santos JS, Daguer H, Valese AC, Cruz AG, Granato D. (2017).** Analytical optimization of a phenolic-rich herbal extract and
- Ramos, M., Juarez, M., (2003).** Sheep milk. In: Roginski, H., Fuquay, J.W., Fox, P.F. (Eds.), *Encyclopedia of Dairy Sciences*, vol. 4. Academic Press, Amsterdam, The Netherlands, pp. 2539–2545.
- Raynal-Ljutovac, K., Lagriffoul, G., Paccard, P., Guillet, I., Chilliard, Y. (2008).** Composition of goat and sheep milk products: an update. *Small Rum Res* 79:57–72.
- Reis, J. A., Paula, A. T., Casarotti, S. N., & Penna, A. L. B. (2012).** Lactic acid bacteria antimicrobial compounds: Characteristics and applications. *Food Engineering Reviews*, 4, 124–140.

- Requena, T., Pelaez, C., & Desmazeaud, M. J. (1991).** Characterization of lactococci and lactobacilli isolated from semi-hard goat's cheese. *Journal of Dairy Research*, 58, 137–145.
- Revilla I, Escuredo O, Gonz'alez-Mart'ın M I, Palacios C. (2017).** Fatty acids and fat-soluble vitamins in ewe's milk predicted by near infrared reflectance spectroscopy. Determination of seasonality. *Food Chem* 214:468-77.
- Riley, M.A., Wertz, J.E. (2002).** Bacteriocins: evolution, ecology and application. *Annu Rev Microbiol* 56: 117-137
- Rincon-Delgado, M. I., A. Lopez-Hernandez, I. Wijaya, and S. A. Rankin. (2012).** Diacetyl levels and volatile profiles of commercial starter distillates and selected dairy foods. *J. Dairy Sci.* 95:1128– 1139. <https://doi.org/10.3168/jds.2011-4834>.
- Rouissi H., Kamoun M., Rekik B., Tayachi L., Hammami S., Hammami M., (2006).** Etude de la qualité du lait des ovins laitiers en Tunisie. *Options Méditerranéennes*, 78 : 307-311.
- Ruas-Madiedo, P., Moreno, J. A., Salazar, N., Delgado, S., Mayo, B., Margolles, A., & Clara, G. (2007).** Screening of exopolysaccharide-producing *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains isolated from the human intestinal microbiota. *Applied and Environmental Microbiology*, 73(13), 4385–4388.
- Ryzhov V, Fenselau C. (2001).** Characterization of the protein subset desorbed by MALDI from whole bacterial cells. *Anal Chem*; 73:746–50. <https://doi.org/10.1021/ac0008791>.
- Salminen S., Gorbach S., Yuan- Kun L., Benno Y., (2004).** Human studies on probiotics: What is scientifically proven today? In *Lactic Acid Bacteria: microbiological and functional Aspects.* eds salimen S., von Wright A., Ouwerhand A.; *New York Dekker M.* pp: 515-530.
- Sanalibaba, P çakmak G.A (2016).** Exopolysaccharides Production by Lactic Acid Bacteria. *Appl Microbial*: 2: 1-5.

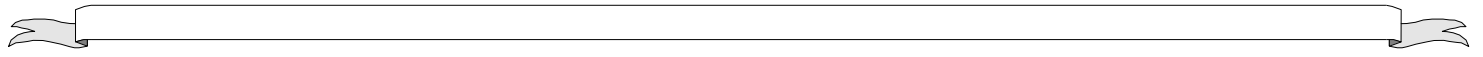
- Savijoki, K Ingmer, H & Varmanen, P. (2006).** Proteolytic systems of lactic acid bacteria. *Appl Microbiol Biotechnol* 71, 394-406.
- Scatassa, M. L., R. Gaglio, G. Macaluso, N. Francesca, W. Randazzo, C. Cardamone, A. Di Grigoli, G. Moschetti, and L. Settanni. 2015.** Transfer, composition and technological characterization of the lactic acid bacterial populations of the wooden vats used to produce traditional stretched cheeses. *Food Microbiol.* 52:31–41.
- Schleifer, K Kraus, J, Dvorac, C., Klipper-Baziz, R Collins, M & Fisher, W (1985).** Tranfert of *Streptococcus lactis* and related streptococcus to the genus *Lactococcus* gen nov. *syst Appl Microbio* 6, 183-195.
- Schmidt, J., Tourneur, C et Lenoir, J. (1994).** Fonctions et choix des bactéries lactiques en technologies laitières. In *Bactéries lactiques : aspects fondamentaux et technologiques*, pp. 37-54 Edited by H. De Roissart et F. Luquet. Paris, France: Loriga, Uriage.
- Selvaggi, M., Laudadio, V., Dario, C., Tufarelli, V. (2014).** Investigating the genetic polymorphism of sheep milk proteins: an useful tool for dairy production. *J Sci Food Agric* 94:3090–9.
- Seng P., Drancourt M., Gouriet F., La Scola B., Fournier P.E., Rolain J.M., Raoult D., (2009).** Ongoing Revolution In Bacteriology: Routine Identification Of Bacteria By Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization Time-Of-Flight Mass Spectrometry. *Clin Infect Dis.* 49(4): P. 543-551.
- Settanni, L. et Moschetti, G. (2010).** Non-starter lactic acid bacteria used to improve cheese quality and provide health benefits. *Food microbiology*, 27, 691–697.
- Shehata, M. G., S. A. El Sohaimy, M. A. El-Sahn, and M. M. Youssef. (2016).** Screening of isolated potential probiotic lactic acid bacteria for cholesterol lowering property and bile salt hydrolase activity. *Ann. Agric. Sci.* 61:65–75. <https://doi.org/10.1016/j.aogas.2016.03.001>.

- Shinde, A.K., Naqvi, S.M.K., (2015).** Prospects of dairy sheep farming in India: an overview. *Indian J. Small Rumin.* 21 (2), 180–195.
- Siegumfeldt. H, Rechinger. K.B and Jakobsen. M, (2000).** Dynamic changes of intracellular pH in individual lactic acid bacterium cells in response to a rapid drop in extracellular pH. *Appl Environ Microbiol*, 66: 2330-2335.
- Sinapsis E. (2007).** The effect of machine or hand milking on milk production, composition and SCC in mountainous Greck breed (Boutsico) ewes. *Small Ruminant Research* 69, 242-246.
- Sofia V., Silva F., Malcata X., (2005).** Caseins as source of bioactive peptides. *Int.Dairy J.* 1-15.
- Soomro, A.H., Masud, T et Anwaar, K. (2002).** Role of Lactic Acid Bacteria (LAB) in Food Preservation and Human Health- A Reiew. *Pakistan Journal of Nutrition* 1: 20-24.
- Srairi M.T., Hasni Alaoui I., Hamama A. et Faye B. (2004).** Qualité physico-chimique et contamination par les antibiotiques du lait de mélange en étables intensives au Maroc. *Ren. Rech. Ruminants* 11, pp115.
- Stancheva, N., Naydenova, N., Staikova, G. (2009).** Physicochemical composition, properties, and technological characteristics of sheep milk from the bulgarian dairy synthetic population, *Macedonian Journal of Animal Science*, 1, 73–76.
- Stiles M.E. and Holzapfel W.H., (1997).** Review article Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy. *Int. J. Food Microbiol.* 36 : 1-29.
- Streit, F., (2007).** Les Lactobacilles :propriétés ,habitats , rôle physiologique et intérêt en sante humaine ,Actualites microbiologiques . 35-41. supplementation in fermented milk containing sweet potato pulp. *Food Chem* 221:950–8.
- Tamime, A Y., Wszolek, M., Bozanic, R., Ozer, B. (2011).** Popular ovine and caprine fermented milks. *Small Ruminant Res* 101:2–16.

- Tamime, A.Y. (2002).** Microbiology of starter cultures. In: dairy microbiology handbook (robinson r.k). 3e ed., john wiley and sons, Inc., New York. 261-366
- Thierry, A., F. Valence, S.-M. Deutsch, S. Even, H. Falentin, Y. Le Loir, G. Jan, and V. Gagnaire. (2015).** Strain-to-strain differences within lactic and propionic acid bacteria species strongly impact the properties of cheese—A review. *Dairy Sci. Technol.* 95:895–918.
- Thompson J et Gentry -Weeks C.R, (1994).** Métabolisme des sucres par les bactéries lactiques In : Bactéries lactiques. Aspects fondamentaux et technologies. Volume 1. Chapitre I-6 : 239-290.Ed. De-Roissard H. et Luquet F. M. Loria : Uriage, France.
- Tilocca, B., Costanzo, N., Morittu, V. M., Spina, A. A., Soggiu, A., Britti, D., Roncada, P., & Piras, C. (2020).** Milk microbiota: Characterization methods and role in cheese production. *Journal of Proteomics*, 210, 103534. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2019.103534>.
- Titiek F. D., Endang S. R., Djoko W. & Slamet S. (1996).** Antimicrobial substance produced by *Lactobacillus* sp. TGR-2 isolated from Growol. *Indonesian.Food Nutr.Prog.*, 3(2), p : 29-34
- Tosukhowong A., Nakayama J., Mizunoe Y., Sugimoto S., Fukuda D. And Sonomoto K., (2005).** Reconstitution And Function Of *Tetragenococcus Halophile* Chaperonin 60 Tetradecamer. *J. Biosci. Bioengin.* 99: 30-37.
- Walker J, Fox AJ, Edwards-Jones V, Gordon DB. (2002).** Intact cell mass spectrometry (ICMS) used to type methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: media effects and inter-laboratory reproducibility. *J Microbiol Methods*; 48:117–26. [https://doi.org/10.1016/s0167-7012\(01\)00316-5](https://doi.org/10.1016/s0167-7012(01)00316-5).
- Walstra, P., Geurts, T. J., Noomen, A., Jellema, A., Van Boekel, M. A. J. S. (1999).** Principles of milk properties and processes. P. Walstra, T. J. Geurts, A. Noomen, A. Jellema, and M. A. J. S. Van Boekel, ed. Marcel Dekker, New York, NY. Butter. Pages 485–515 in Dairy Technology.

Références bibliographiques

- Wendorff WL. (2001).** Sheep milk and milk products: composition. In: Pond WG, Bell AW, editors. Encyclopedia of animal science. New York: Marcel Dekker.
- Wijesinha-Bettoni R, Burlingame B. (2013).** Milk and dairy product composition. In: Muehlhoff E, Bennett A, McMahon D, editors. Milk and dairy products in human nutrition. Rome, Italy: Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- Yabrir, B., Hakem A. (Ex Akam), Mati A. (2013).** Factors affecting milk composition of Algerian ewe reared in central steppe area (Algeria). *J. Anim. Sci.*, 2(8): 215-221.
- Yucel. N., Ulusoy. H. (2006).** *Food Control*, 17- 383.
- Yvon, M & Rijnen, L. (2001).** Cheese flavour formation by amino acid catabolism. *International Dairy Journal* 11, 198-201.
- Zhang, L., X. Li, H. Ren, L. Liu, L. Ma, M. Li, and W. Bi. (2014).** Impact of using exopolysaccharides (EPS)-producing strain on qualities of half-fat cheddar cheese. *Int. J. Food Prop.* 18:1546–1559. <https://doi.org/10.1080/10942912.2014.921198>.
- Zhou, I., Van Heel, A.J., Montaban-Lopez, M. et Kuipers, O.P. (2016).** Potentiating the activity of nisin against E.Coli. *Front Cell Dev Biol.* 4:1-9.
- Zlatanov S, Laskaridis K, Feist C, Sagredos A. (2002).** CLA content and fatty acid composition of Greek Feta and hard cheeses. *Food Chem* 78: 471–7.



Annexes



Annexe 1 : Données climatiques des zones étudiées

	Printemps 2015			Eté 2015			Automne 2015			Hiver 2016		
Mois	Mars	Avril	Mai	Juin	Juillet	Aout	Septembre	Octobre	Novembre	Décembre	Janvier	Février
Région												
Mascara												
T (°C)	11.6	18.1	21.6	23.5	29.9	28.8	23.3	19.6	13.4	12.2	11.8	11.9
Précipitations (mm)	6.0	-	4.3	10.7	-	-	10.0	8.1	10.3	-	9.5	6.9
Mecheria												
T (°C)	10.9	18.9	21.9	23.5	29.2	28.5	23.2	18.7	11.1	9.1	10.2	10.1
Précipitations (mm)	2	-	2.7	2.7	-	14.9	4.2	7.8	3.0	-	1.0	3.2
Tiout (Naâma)												
T (°C)	12.1	20.2	23.4	25.5	29.6	29.2	24.8	19.8	12.7	9.4	10.7	11.1
Précipitations (mm)	2.5	-	2.0	2.3	-	3.0	3.8	15.3	4.0	-	10.0	3.0

Annexe 2 : Résultats de l'enquête menée sur les différentes zones de prélèvement de lait

Questionnaire d'enquête	Zones de prélèvement						
	Naâma			Mecheria		Mascara	
	Exploitation 1	Exploitation 2	Exploitation 3	Exploitation 1	Exploitation 2	Exploitation 1	Exploitation 2
Race	Ouled-Djelel	Demane	Demane	Hamra (Daghma)	Hamra (Daghma)	Ouled-Djelel	Ouled-Djelel
Taille du troupeau	16	130	125	123	100	37	38
Alimentation	Fourrage sec, concentré (orge, son) Pâturage (prairie naturelle : luzerne, armoise et avoine) Paille	Fourrage sec, concentré (orge, son) Pâturage (prairie naturelle : luzerne, armoise et avoine) Paille	Fourrage sec, concentré (orge, son) Pâturage (prairie naturelle : luzerne, armoise et avoine) Paille	Concentré ONAB Orge broyé pâturage (Helfa et armoise) Foin sec	Concentré ONAB Orge broyé pâturage (Helfa et armoise) Foin sec	Fourrage sec, concentré (orge, son, maïs et soja) Pâturage (prairie naturelle) avoine et paille	Fourrage sec, concentré (orge, son, maïs et soja) Pâturage (prairie naturelle) avoine et paille
Conduite d'élevage	Extensif	Extensif	Extensif	Extensif	Extensif	Extensif	Extensif
Objectif de l'élevage	Viande	Viande	Viande	Viande /lait	Viande / lait	Viande	Viande
Hygiène du troupeau	Propre	Propre	Propre	Intermédiaire	Intermédiaire	Intermédiaire (manque d'entretien animaux et bergerie)	Sale (Hygiène négligée)
Nombre de tête en lactation	4	35	50	65	45	4	7
Durée de lactation	3 mois	3 à 4 mois	3 à 4 mois	3 mois	3 mois	3 mois	3 mois

Annexes

Périodicité de la traite	Occasionnellement	Occasionnellement	Occasionnellement	Quotidiennement	Quotidiennement	Jamais	Jamais
Technique de la traite	Manuelle	Manuelle	Manuelle	Manuelle	Manuelle	-	-
Destinée du lait produit	Autoconsommation	Autoconsommation	Autoconsommation	Autoconsommation	Autoconsommation	-	-



Annexe 2 : Fiche d'enquête

Fiche d'enquête « Eleveur »
Lieu-dit :
Commune
Daïra :
Ville :

A- informations générales

1- Profil de l'éleveur

- Eleveur propriétaire
- Berger
- Les deux

2- Niveau d'instruction de l'éleveur

- Aucun
- Primaire
- Moyen
- Lycien
- Universitaire

3- Taille du troupeau

- 100
- 100-300
- 300-1000 et plus

4- Age moyen des troupeaux

- 1-2 ans
- 3-4 ans
- 4-6 ans
- + 6 ans

5- Objectifs de l'élevage (par ordre)

- Viande
- Lait
- Autre

6- Mode d'élevage

- Intensif
- Extensif

B- Races ou variétés ovines élevées

- Une race
- Deux races
- Plusieurs

C- Bâtiments

1- Elevage

- Pâture
- Bâtiment
- Mixte

2- Hygiène du bâtiment

- Propre
- Intermédiaire
- Sale

D- Alimentation

- Nature et type de fourrage
- Nature de l'aliment concentré

E- La traite

1- Périodicité de la traite

- Quotidiennement
- Périodiquement
- Occasionnellement

2- Période de la traite

- Matin
- Soir

3- Technique de la traite

- Manuelle
- Automatique

4- Les premiers jets sont éliminés

- Oui
- Non

5- Le lait

✓ Quantité produite :

✓ Destinée du lait produit : * autoconsommation

* vendu

* transformé en produits dérivés

Annexe 3 : Compositions des milieux de culture utilisés

❖ Milieu MRS (Man, Rogasa et Sharpe) (pH 6,5)

- Peptone 10 g
 - Extrait de viande 10 g
 - Extrait de levure 5 g
 - Glucose 20 g
 - Tween 80..... 1 mL
 - Phosphate bipotassique 2 g
 - Acétate de sodium 5 g
 - Citrate d'ammonium 2 g
 - Sulfate de magnésium, 0,2 g
 - Sulfate de manganèse 0,5 g
 - Agar 15 g
 - Eau distillée qsp 1000 mL
- Le milieu est stérilisé à 121°C durant 15 min.

❖ Milieu M17 (pH 7,2)

- Peptone papainique de soja 5 g
 - Peptone pepsique de viande 2,5 g
 - Peptone tryptique de caséine 2,5 g
 - Extrait de viande 5 g
 - Extrait de levure 2,5 g
 - Glycérophosphate de sodium 19 g
 - Sulfate de magnésium, 7H₂O 0,25 g
 - Acide ascorbique 0,50 g
 - Agar-agar 15 g
 - Eau distillée qsq 950 mL
- Le milieu est stérilisé à 121°C durant 15 min.

❖ Milieu Mayeux (Mayeux, Sandine et Elliker)

- Tryptone.....10,0 g
- Gélatine.....2,5 g
- Extrait autolytique de levure.....5,0 g
- Saccharose100,0 g
- Glucose.....5,0 g
- Citrate de sodium.....1,0 g
- Azide de sodium75,0 mg
- Agar agar bactériologique.....15,0 g
- Eau distillée qsp 1000 mL
- pH du milieu prêt à l'emploi à 25°C : $6,9 \pm 0,2$.
- Le milieu est stérilisé à 121°C durant 15 min.

❖ Milieu Chapman

- Peptone10 g
- Extrait de bœuf1 g
- Chlorure de sodium75 g
- D-mannitol10 g
- Rouge de phénol25 mg
- Agar15 g
- Eau distillée qsp 1000 mL
- Le milieu est stérilisé à 121°C durant 15 min.

❖ Milieu Viande - Foie

- Peptone viande-foie30,00 g
- Sulfite de sodium2,50 g
- Glucose2,00 g
- Citrate ferrique ammoniacal0,50 g
- Amidon soluble 2,00 g
- Agar11,00 g
- Eau distillée qsp 1000 mL
- Le milieu est stérilisé à 121°C durant 15 min.

❖ **Milieu VRBL** (Milieu Lactosée Biliée au Cristal Violet et au Rouge Neutre)

- Peptone7 g
- Extrait de levure 3 g
- Lactose10 g
- Chlorure de sodium5 g
- Mélange sel biliaire1,5 g
- Cristal violet0,002 g
- Rouge neutre 0,03 g
- Agaa-agar15 g
- Eau distillée1 000 mL

- Le milieu est stérilisé à 121°C durant 15 min.

❖ **Milieu OGA** (Oxytetracycline-Glucose-Yeast Extract Agar)

- Extrait de levure5,00 g
- Glucose20,00 g
- Agar12,00 g

- pH final à 25°C : 7,0 ± 0,2
- Le milieu est stérilisé à 121°C durant 15 min.

❖ **Milieu TSA** (Tryptone -Soja-Agar)

- Tryptone15 g
- Peptone papainique de soja5 g
- Chlorure de sodium5 g
- Agar15 g

- pH final : 7,3 ± 0,2
- Le milieu est stérilisé à 121°C durant 15 min.

❖ Eau physiologique (pH 7)

- Chlorure de sodium 9 g
- Eau distillée qsp 1000 mL
- Le milieu est stérilisé à 121°C durant 15 min.

❖ Bouillon MRS (Man, Rogasa et Sharpe)

- Peptone 10 g
- Extrait de viande 10 g
- Extrait de levure 5 g
- Glucose 20 g
- Tween 80..... 1 mL
- Phosphate bipotassique 2 g
- Acétate de sodium 5 g
- Citrate d'ammonium 2 g
- Sulfate de magnésium, 0,2 g
- Sulfate de manganèse 0,5 g
- Eau distillée qsp 1000 mL
- Le milieu est stérilisé à 121°C durant 15 min.

❖ Lait écrémé (pH 7,0)

- Eau distillée qsp 100 mL
- Lait écrémé 10 g
- Le milieu est stérilisé à 121°C durant 15 min.