



DEPARTEMENT D'AGRONOMIE

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par

M^r BENMIMOUN MHAMED

Pour l'obtention du diplôme de

MASTER EN AGRONOMIE

Spécialité BIOTECHNOLOGIE ALIMENTAIRE

THÈME

**Facteurs favorables à l'isolement des Lactobacilles des
laits de vache, brebis et chèvre**

Soutenue publiquement le 04 /07 /2018

DEVANT LE JURY

Président	Mme. AIT CHABANE .O	MCB	U. Mostaganem
Encadreur	M. BENMILOUD.D	MA	U. Mostaganem
Examineur	M. BELABESS.M	MA	U. Mostaganem

Thème réalisé au Laboratoire de -microbiologie N°02 de la faculté SNV-U. Mostaganem

Année universitaire 2017 / 2018

Remerciements

Au début et avant tout, je remercie le dieu le tout puissant, de m'avoir donné le courage, la santé de finaliser ce travail.

Je dois l'aboutissement de ce mémoire a de nombreuses personnes.

Tout d'abord, je remercie mon encadreur **Mr Benmiloud Djamel**, maitre assistant a l'université Abdelhamid ibn Badis Mostaganem, pour l'honneur qu'il ma fait en dirigeant ce travail, je tiens à lui exprimer ma reconnaissance pour sa grande disponibilité et ses conseils tout au long de l'élaboration de ce modeste travail.

Je remercie **Mme Ait Chabane.O** Maitre de conférences à l'université Abdelhamid ibn Badis Mostaganem, pour l'honneur qu'il m'a fait en acceptant de présider le jury.

Je remercie également **Mr Belabess Mohamed** d'avoir accepté d'examiner ce travail.

Un remerciement spécial s'adresse au **Melle Bennama Rabeha** Maitre de conférences à l'université Abdelhamid ibn Badis Mostaganem, et **M^{elle} Lazreug hafida** ingénieure au laboratoire de microbiologie ; pour ses aides et ses conseils.

Dédicaces

Ce modeste document est dédié en marque de reconnaissance et profonde affection

A :

Le mémoire de mon père

Ma très chère mère qui m'a tant apportée

Ma femme qui m'a soutenu durant toute la durée de réalisation de ce travail

A mes très chères sœurs et frères

A tous mes collègues et mes amies

B. Mohamed

TABLE DES MATIERES

Liste des Abréviations	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
INTRODUCTION.....	01
PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE	
Chapitre I : LES BACTERIES LACTIQUES	
I. Généralités sur les bactéries lactiques	02
I.1./Habitat des bactéries lactiques	02
I.2. Taxonomie des bactéries lactiques	03
II. Ferments lactiques	06
II. 1. Définition et rôle des ferments lactiques	06
II.2. Composition des ferments lactiques.....	06
II.3.Critères de sélection de souches pour l'élaboration de ferments	09
III .Intérêt des bactéries lactiques	10
Chapitre II : Le LAIT	
I. Généralités.....	12
I.1. Caractères organoleptiques	12
I.2. Caractères physico-chimiques de différents laits	12
II. Composition du lait.....	14
II.1. Système enzymatiques naturels du lait.....	19
II.2.Substances antibactériennes du lait.....	20
III. Qualité bactériologique du lait.....	21
III.1.Influence de la nature du lait sur la croissance et l'activité des bactéries lactiques.....	22
Chapitre III : LES LACTOBACILLES	
I. Généralités	24
I.1. Subdivision du genre Lactobacillus	26
I. 2. Ecologie	26
II. Caractères physiologiques, biochimiques et moléculaire	27
III . Intérêts probiotiques	23

III.1.Intérêts nutritionnels	28
III.2.Intérêts thérapeutiques	28
III .2.2. Activité antimicrobienne.....	28
III .2.2. 1. Production de substances antimicrobiennes	28

Chapitre 4 : Variation de L'écosystème Microbien Laitier

I. Flux microbiens à la ferme.....	30
II. L'alimentation.....	32
III. La race.....	33
III.1. Les races bovines en Algérie	33
III.2. Les caprins en Algérie	34
III.2.1.Les principales races en Algérie.....	34
III.2.1.1. Population local	34
III.2.1.1. 1. Race arabe (Arbia).....	34
III.2.1.1.2. Race kabyle	34
III.2.1.1.3. Chèvre de M'zab.....	34
III.3. Les races ovines d'Algérie	35
III.3.1. Race Rumbi.....	35
III.3.1.1. Caractéristique de la race	35
IV. La traite	36
IV. 1 .La traite manuelle.....	36
IV.2. La salle de la traite	36
V.3. La machine à traite	37
V.4. Le réservoir trayon	37

PARTIE EXPERIMENTALE

Matériel et Méthodes

I. Matériel	38
1. 1. Lieu et période d'étude.....	38
1.2. Prélèvement des échantillons.....	38
II. Méthodes.....	39
II.1. Méthodes d'analyses	39
II.1.1. Les analyses physico- chimiques.....	39

II .1.1.1. Détermination de l'acidité titrable (Méthode Dornic).....	39
II.1.1.2. Mesure de pH.....	39
II.1.2 .Les analyses microbiologiques	40
II.1.2.1. Techniques d'isolement et de purification.....	40
II.1.2.1.1 .Techniques d'isolement.....	40
II.1.2.1.2 .Techniques de purification	40
II.1.2.2. Pré-identification des souches.....	42
II.1.2.2.1. L'aspect macroscopique.....	42
II.2.2.2. L'aspect microscopique.....	42

Résultats et Discussion

I. Paramètres physico-chimiques.....	44
I.1. Mesure de l'acidité titrable.....	44
I.2. Mesure de pH	44
II. Les analyses microbiologiques.....	44
II.1. Isolement et purification	44
II.2. Pré-identification des souches.....	44
II.2.1. L'examen macroscopique	44
II.2.2. L'examen microscopique.....	46
II .2.3. Test catalase.....	48
Discussion générale	49
Conclusion	51

Références bibliographiques

Annexes

Résumé

Liste des abréviations

ATP : Adénosine triphosphate.

°C : Degré Celsius.

°D : Degré Dornic.

g : gramme.

Kg : Kilogramme.

L : Litre.

Lb : Lactobacillus

g : microgramme.

cm : centimètre

mg : milligramme.

ml : millilitre.

nm : nanomètre.

% : Pourcent.

pH : Potentiel d'hydrogène.

Subsp : sous-espèce.

mn : minute

UV : Ultra-violet

hr : heures

Liste des tableaux

Tableau 1 : Quelques caractéristiques des principales espèces de bactéries lactiques.....	4
Tableau 2 : flore lactique mésophile.....	7
Tableau 3 : Propriétés des principales bactéries lactiques mésophiles.....	7
Tableau 4 : Flore thermophile.....	8
Tableau 5 : Les principales constantes physico-chimiques du lait des différentes espèces animales.....	13
Tableau 6 : Composition du lait de vache, de chèvre et de brebis.....	14
Tableau 7 : La composition moyenne en protéines en (g/litre) et leur distribution dans les laits de Vache, de chèvre et de brebis.....	16
Tableau 8 : Teneurs en vitamines des laits de diverses espèces animales (mg/litre).....	18
Tableau 9 : Teneurs en éléments minéraux des laits de vache, de chèvre et de brebis.....	19
Tableau 10 : Flore originelle du lait cru.....	21
Tableau 11 : principales espèces et sous espèces de lactobacilles utilisées en industries laitières.....	25
Tableau 12 : Exemples de bactériocines produites par Lactobacillus.....	29
Tableau 13 : Identité des échantillons étudiés.....	39
Tableau 14 : résultats de mesures de l'acidité et le pH de trois échantillons de laits analysés..	44
Tableau 15 : caractéristiques microscopiques des isolats de bactéries lactiques isolées à partir de lait de vache, chèvre et de brebis.....	46

Liste des figures

Figure 1 : Lactobacilles représentatifs. a) <i>L. bulgaricus</i> , contraste de phase (x600). b) <i>L. lactis</i> , coloration de Gram (x500). c) <i>L. acidophilus</i> (x1.000).....	24
Figure 2 : Flux microbiens dans les étables de production laitière.....	30
Figure 3: Transferts potentiels des principaux genres microbiens (bacilles et coques à gram positif, bacilles à Gram négatif identifiés dans le lait).....	31
Figure 4: Bovins importés en Algérie (a). Holstein, (b). Montbéliarde, (c). Tarentaise).....	33
Figure 5 : localisation de la région où les échantillons de lait sont provenus.....	38
Figure 6 : Diagramme d'isolement et de purification des lactobacilles.....	41
Figure 7 : Aspect macroscopique des isolats sur milieu MRS après 24h d'incubation à 37°C , (a) Vache, (b) Chèvre, (c) Brebis.....	45
Figure 8: Observation microscopiques (Objectif X100) des isolats de Lactobacilles après la coloration de gram.....	47
Figure 9 : Observation microscopiques (Objectif X100) des isolats lactiques après la coloration de Gram (a) <i>Entérocooccus</i> ; (b) <i>pediococcus</i> ; (c) <i>Streptococcus</i>	47
Figure 10 : Test de catalase.....	48

Introduction

L'importance des bactéries lactiques n'est plus à démontrer. Elles sont utilisées pour la fermentation d'un grand nombre de produits d'origine animale ou végétale. Leur utilisation dans de nombreux domaines et en particuliers dans l'industrie laitière a permis l'élaboration de divers produits en quantités de plus en plus considérables.

En Algérie, les besoins en ferments lactiques et la consommation des produits laitiers évoluent de pair et ils ne cessent de s'accroître. Désormais, l'industrie laitière a toujours recours à leur importation. Cependant, ils ne garantissent pas la typicité des produits laitiers locaux provoquant une perte des caractéristiques organoleptiques originelles des produits.

L'élaboration des ferments spécifiques à partir des micro-organismes locaux sélectionnés pour leurs aptitudes technologiques, permet de maîtriser les processus technologiques et d'établir un référentiel de base sur nos produits, en constituant en même temps, un élément de garantie et un but de lutte contre les bactériophages.

Les plus grandes recherches sur la microbiologie du lait tendent vers la connaissance approfondie des microorganismes du lait au niveau des élevages. Ce profil microbien est lié à plusieurs facteurs : les pratiques d'élevage, le climat, l'origine et la race animale.

La présente étude s'inscrit dans cet objectif et porte sur les bactéries du genre *Lactobacillus* isolées à partir des laits de vache, de chèvre et de brebis provenant de la région de l'ouest algérien afin de déceler les facteurs favorables au développement de ces espèces.

I. Généralités sur les bactéries lactiques

On appelle bactéries lactiques des microorganismes assez hétérogènes sur les plans morphologie et physiologie qui se caractérisent par une production de quantités importantes d'acide lactique résultant du métabolisme des glucides (**Desmazeaud, 1983**).

Ce sont des cocci ou des bâtonnets à Gram positive, immobiles, asporogènes, non pigmentées, anaérobies mais aérotolérantes, ne possédant ni catalase, ni nitrite réductase, ni cytochrome oxydase, à l'exception de quelques souches qui possèdent une pseudo catalase et peuvent apparaître catalases positives (**Deroissart, 1986 ; Guiraud, 1998**). Elles ne produisent pas d'indole, ni de sulfure d'hydrogène et ne liquéfient pas la gélatine, seulement quelques espèces sont faiblement caséolytiques. Aucune souche des bactéries lactiques ne peut produire des acides volatils de plus de deux atomes de carbones (**Deroissart et Luquet, 1994**).

Selon le mode de fermentation obligatoire ou préférentiel, on parle de bactéries homofermentaires (si l'acide lactique est pratiquement le seul produit formé) ou hétérofermentaire si d'autres produits sont aussi présent : acide lactique, éthanol, CO₂ (**Dellaglio, 1988**).

I.1. Habitat des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques ont été isolées de nombreux milieux naturels : végétaux (plantes et fruits) animaux et humains (cavité buccale et vaginale, fèces, laits,). Certaines espèces semblent adaptées à un environnement spécifique et ne sont guère trouvées ailleurs que dans leurs habitats naturels (**Deroissart, 1986**).

Les espèces du genre *Streptococcus* se rencontrent surtout chez l'homme, les animaux et les oiseaux. Elles sont pour la plupart saprophytes mais certaines ont un caractère pathogène (**Deroissart et Luquet, 1994**).

Les espèces du genre *Lactobacillus* se rencontrent plus couramment dans la nature associée aux plantes, aux animaux et à l'homme. Peu d'espèces ont un caractère pathogène. Les espèces du genre *Pediococcus* ne se retrouvent pratiquement que sur les plantes. Les bactéries lactiques sont souvent associées à d'autres microorganismes dans de nombreux produits de fermentation naturelle : laits et viandes fermentés, boissons alcoolisées à base de fruits, fourrages fermentés (ensilages) (**Desmazeaud, 1983**).

I.2. Taxonomie des bactéries lactiques

Onze genres bactériens figurent dans la catégorie des bactéries lactiques : *Aerococcus*, *Alloicoccus*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus* et *Vagococcus*. Les bactéries du genre *Bifidobacterium* ne sont pas considérées comme des bactéries lactiques typiques, mais leur usage se répand en industrie laitière (**Doleyres, 2003**).

Seuls les cinq genres *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc* et *Streptococcus* sont communément propagés dans les sales à ferments des industries laitières (**Champagne, 1998**).

La différenciation entre genres se fait généralement par l'examen microscopique et par le test de Fermentation de Gibsson et Abdel Malek.

La différenciation entre espèces repose d'abord sur la spécificité relative de leurs caractères physiologiques. Les tests les plus couramment appliqués sont l'aptitude à fermenter les sucres, les recherches de réductase et d'arginine dihydrolase, les déterminations des températures de croissance, de thermorésistance et de tolérance aux sels.

La différenciation entre biotypes ou souches d'une même espèce s'appuie sur un ensemble de caractères tels que les degrés de résistance aux inhibiteurs : bactériophages, antibiotiques, lacténines, agglutinines ainsi que les aptitudes acidifiantes, aromatisantes, protéolytiques et enfin gazogènes (**Buchanan et Gibbons, 1974**). (**tableau 1**) montre les principales différences entre les genres des bactéries lactiques.

II. Les ferments lactiques

II.1 Définition et rôle des ferments lactiques

Des bactéries lactiques sont aujourd'hui utilisées en industrie sous forme de ferments pour la fabrication de produits fermentés. Elles remplacent la flore acidifiante naturelle du lait détruit par thermisation ou pasteurisation et qui en se multipliant dans le lait et dans les fromages assurent deux fonctions essentielles :

- Abaisser le pH en transformant le lactose en acide lactique (homofermentation), ou en acide lactique, acide acétique et éthanol (hétérofermentation). Cette acidification intervient comme Facteur de la coagulation du lait et de la synérèse des caillés (**Accolas, 1980 ; Loones, 1994**).
- Contribuer aux caractères organoléptiques des fromages en libérant des systèmes enzymatiques qui participent aux principaux phénomènes de l'affinage des caillés (**Hermier *et al.*, 1992**).

II.2. Composition des ferments lactiques

Selon leur température optimale de croissance, les bactéries lactiques sont divisées en groupe mésophiles et thermophiles (**Doleyres, 2003**).

- **Flore mésophile** : Cette flore mésophile englobe les lactocoques homofermentaires, les *leuconostocs* et certains lactobacilles (**tableau 2**). Les principales propriétés des bactéries de ce groupe mésophile sont consignées dans le **tableau 3**.

Tableau 2 : flore lactique mésophile.

Streptocoque homofermentaire		Streptocoques hétérofermentaire	
Désignation actuelle	Antérieure :	Désignation actuelle :	Antérieure :
<i>Lactococcus lactis ssp.lactis</i>	<i>Streptococcus lactis</i>	<i>Leuconostoc mesenteoides</i>	<i>Leuc. Cremoris</i>
<i>L. lactis ssp. cremoris</i>	<i>Sc. cremoris</i>	<i>ssp. Cremoris</i>	
<i>L. lactis ssp. diacetylactis</i>	<i>Sc. diacetylactis</i>	<i>Leuc. mesenteroides ssp. dextranicum</i>	<i>Leuc. Dextranicum</i>
		<i>Leuc. lactis</i>	<i>Leuc. Citovororum</i>

Source : Dupuy, (2004).

Tableau 3 : Propriétés des principales bactéries lactiques mésophiles

Espèces Propriétés	<i>Lactococcus lactis ssp.</i>			<i>Leuconostoc mesenteroides ssp</i>	
	<i>Lactis</i>	<i>crémoris</i>	<i>diacetylactis</i>	<i>cremoris</i>	<i>mesenteroides</i>
Fermentation lactique	Homofermentaire			Hétérofermentair	
Configuration du lactate	L+			D-	D-
Acidité produite	45 °SH			25°SH	
Vitesse d'acidification	Rapide			Lente	

Température de croissance	20 - 30°C	20-30°C
Fermentation du citrate	non	Oui
Pouvoir de protéolyse	Faible	

Source : Dupuy, (2004).

• Flore thermophile

La composition des levains naturels utilisés pour la fabrication de différents types de fromages est variable et non précise (Dupuy, 2004). Les levains sélectionnés sont, eux définis et contiennent plusieurs souches de *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus* utilisées en particuliers dans la fabrication de yaourt et de fromage à pâte cuites (Tableau 4)

Tableau 4 : Flore thermophile

Streptocoques et lactobacilles homofermentaires	Lactobacilles hétérofermentaires facultatifs	Lactobacilles hétérofermentaires Strictes
<i>Lb. delbrueckii ssp. Lactis</i>	<i>Lb. casei ssp. Casei</i>	<i>Lb. Fermentum</i>
<i>Lb. delbrueckii ssp. bulgaricus</i>	<i>Lb. rhamnosus</i>	
<i>Lb. helveticus</i>	<i>Lb. plantarum</i>	<i>Lb. Kefir</i>
<i>Sc. salivarius ssp. thermophilus</i>		

Source : Dupuy, (2004).

II.3. Critères de sélection de souches pour l'élaboration de ferments

Cette sélection s'effectue selon des critères technologiques, les principales fonctions des ferments étant la production d'acide, de gaz et d'arômes, la protéolyse, la lipolyse et l'inhibition de bactéries indésirables (**Stadhouders, 1974**). La caractérisation technologique se fait donc sur les critères suivants :

II.3.1. Activité acidifiante

L'acidification est le rôle principal des bactéries utilisées comme ferments. Celle-ci a différents buts :- La coagulation du lait (en facilitant l'action de l'enzyme de la présure) et l'augmentation de la synérèse du caillé ;

- La participation aux propriétés rhéologiques du produit final ;
- L'inhibition de la croissance des bactéries nuisibles (**Doleyres, 2003**).

II.3.2. Production de composants d'arômes et de gaz

Certaines bactéries lactiques sont capables de produire des composés d'arômes qui participent aux qualités organoleptiques des fromages. La plupart des composés d'arômes sont issus du métabolisme du citrate : l'acétoïne et le diacétyl sont les plus importants (**Doleyres, 2003**).

II.3.3. Activité protéolytique

Les bactéries lactiques possèdent des protéinases et des peptidases nécessaires à la dégradation des protéines du lait en peptides et acides aminés. Ceux-ci peuvent être transformés en alcools et en acides. Cette activité protéolytique intervient sur le rendement fromager, la texture et la saveur typique du fromage et par conséquent sur les caractéristiques du produit final (**Larpent, 1987**).

II.3.4. Résistance aux bactériophages

Les phages sont des parasites obligatoires. Ils constituent l'une des principales causes de perturbation de l'acidification du lait par les bactéries lactiques. Il est nécessaire que les bactéries lactiques composant les ferments ne soient pas toutes sensibles aux mêmes phages pour diminuer les risques d'accidents de fabrication. Un autre risque lié aux phages est la lysogénie. Une souche est dite lysogène lorsqu'elle héberge en son génome un phage tempéré inactif appelé prophage. Ainsi, la lysogénie, qui est un mécanisme fréquent (**Reyrolle et al, 1982**), est potentiellement dangereuse. Il est important d'examiner les souches de ce point de vue et de déceler celles qui sont lysogènes en provoquant artificiellement l'induction des prophages par rayonnement UV ou par la mitomycine C (**Aubert, 1998**).

II.3.5. Activité bactériostatique : production de bactériocines

Les bactériocines, telles que la nisine ou la pédiocine, sont des molécules de nature protéique dont l'action bactériostatique est spécifique de quelques espèces bactériennes (**Tagg et al, 1976**). Ces substances, élaborées par certaines bactéries lactiques, inhibent la croissance de différentes souches de bactéries pathogènes (*Listeria* et *Clostridium*), contribuant ainsi à la préservation de l'équilibre microbien et organoleptiques du fromage (**Hamon, 1964 ; Lachance, 2000**).

II.3.6. Résistance aux antibiotiques

La présence d'antibiotiques dans les laits (pénicilline, vancomycine, etc) peut être due au traitement des mammites. La plupart des bactéries y sont sensibles. Il n'est pas souhaitable de sélectionner, dans la composition des ferments, des souches résistantes aux antibiotiques, car ingérées par l'homme, elles sont susceptibles de transférer ces caractères aux autres bactéries du tube digestif. De plus, l'augmentation de l'ingestion d'antibiotiques par l'homme peut entraîner des risques d'allergie. Enfin, des bactéries résistantes aux antibiotiques peuvent avoir, en plus, perdu certaines de leurs caractéristiques originelles.

II.3.7. Production d'amines biogènes

Différentes souches de bactéries lactiques sont soupçonnées d'être à l'origine de la formation d'amines biogènes (**Gonzalez et al., 1998**) dans les fromages. Les systèmes enzymatiques de ces bactéries sont capables de décarboxyler des acides aminés (histidine, tyrosine, etc.) et de former des composés (histamine, tyramine, etc.) à l'origine d'allergie s'ils sont consommés en quantités importantes.

III. Intérêt des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques sont utilisées dans la fabrication de divers aliments fermentés, des boissons et des produits alimentaires (**Leroy et Devuyst, 2004**). En plus, certaines souches de bactéries lactiques, notamment les souches du genre, *Lactobacillus*, sont de plus en plus marquées comme étant des facteurs de promotion de la santé, c'est à dire des bactéries probiotiques (**Saxelin et al., 2005**), pendant que certaines souches de *Lactobacillus* produisent des peptides bioactifs qui ont un effet bénéfique sur la santé à partir des protéines du lait (**Korhonen et Pihlanto, 2003**). Une autre avenue prometteuse des bactéries lactiques est de les utiliser comme transporteurs des molécules qui ont une valeur thérapeutique (**Nouaille et al., 2003**).

Cependant, l'application la plus importante des bactéries lactiques est, sans doute, leur utilisation comme ferments dans la fabrication de divers produits laitiers fermentés. En particulier, *Streptococcus thermophilus*, *Lactococcus lactis*, *Lactobacillus helveticus* et *Lactobacillus delbruekii, subsp. Bulgaricus* sont largement utilisées dans les ferments laitiers et ont une importance économique majeure.

Tableau 1 : Quelques caractéristiques des principales espèces de bactéries lactiques

Genre	Principales espèces ou sous-espèces	Fermentation	Isomère de l'acide lactique	Température de croissance	Type respiratoire	Produits finaux de fermentation	Source
Lactococcus	<i>Lactis ssp. lactis</i> <i>Lactis ssp. cremoris</i> <i>Lactis ssp. lactis biovar</i> <i>Diacetylactis</i>	Homolactique	L (+)	10 – 40 °C 10 – 37°C 10 – 40°C	Anaérobie facultatif	Acide lactique	Leveau et al., (1991)
Streptococcus	<i>Thermophilus</i>	Homolactique	L (+)	40 – 45 °C		Acide lactique	
Leuconostoc	<i>Mesenterpides ssp.</i> <i>Cremoris</i> <i>Oenos</i>	Hétérolactique (O)	D (-)	10 – 37°C 12 – 37°C		Acide lactique, éthanol, acide acétique et CO ₂	
Pediococcus	<i>Pentosaceus</i> <i>Acidilactis</i>	Homolactique	DL	25 – 35°C 35 – 50°C	Microaérophile	Acide lactique	
Lactobacillus	<i>Delbrueckii ssp. bulgaricus</i> <i>Delbrueckii ssp. lactis</i> <i>Helveticus</i> <i>Acidophilus</i>	Hémolactique	D (-) D (-) DL DL	45 – 50 °C 45 – 50°C 45 – 50 °C 35 – 45°C		Acide lactique	

	<i>Casei ssp, casei</i> <i>Casei ssp. rhamnosus</i> <i>Plantarum</i> <i>Sake</i> <i>Curvatus</i> <i>Brevis</i>	Hétérolactique (F)	L (+) L (+) DL DL DL DL	15 – 40 °C 15 – 45°C 10 – 40°C 05 – 40 °C 05 – 40°C 15 – 40°C		Acide lactique, éthanol, acide acétique et CO ₂	
Bifidobacterium	<i>Bifidum</i> <i>Longum</i> <i>Infantis</i> <i>Breve</i> <i>Adolescentis</i>	Acétique et lactique	L (+)	37 – 41°C	Anaérobie	Acides acétiques, lactiques, formiques et succiniques. Ethanol	Scardovi, (1986)

O : Obligatoire

F : Facultatif

L : Lévozyre

D : Dextrozyre

I. Généralités

Le lait est défini lors du congrès international de la répression des fraudes « Genève, 1908 » : Le lait est le produit intégral de la traite totale et ininterrompue d'une femelle laitière, bien portante, bien nourris et non surmenée. Il doit être recueilli proprement et ne pas contenir de colostrum » (Debry, 2001).

I.1. Caractères organoleptiques

♦ **Couleur** : Le lait de vache est un fluide aqueux opaque de couleur blanche, plus ou moins jaunâtre selon la teneur en β - carotène de sa matière grasse (Lupien, 1995). Blanc mat, contrairement au lait de vache, le lait de chèvre ne contient pas de β - carotène, aussi le beurre de chèvre est de couleur blanche (Alais, 1984) ;

♦ **Odeur** : Selon Jaubert, (1997), le lait de chèvre a une odeur assez neutre, lorsqu'il est fraîchement trait ; parfois enfin de lactation, il a une odeur caprique tandis que le lait de vache a une odeur faible moins identifiable ;

♦ **Saveur** : Le lait de vache et de chèvre possèdent tous deux une saveur douce, agréable, particulière au lait. Ce pendant, le lait de chèvre fraîchement trait possède une saveur neutre, par contre, après stockage au froid, il requiert une saveur caractéristique qui s'avère un critère de sélection (Boyaval *et al.*, 1999).

♦ **Aspect** : Les laits de vache, de chèvre et de brebis sont d'aspect homogène, ne présentent pas de grumeaux (FAO, 1990).

I.2..Caractéristiques physicochimiques de différents laits

Le lait présente des caractéristiques liées à sa nature biologique à savoir : variabilité, hétérogénéité et altérabilité. Ce complexe aqueux possède des caractéristiques physico-chimiques plus ou moins stables, dépendant soit de l'ensemble des constituants comme la densité, soit des substances en solution, comme le point de congélation, ou encore des concentrations en ions, comme le pH (St-Gelais *et al.*, 1999). Les principales constantes physico-chimiques des différents types de laits sont présentées dans le **tableau 5**.

Tableau 5 : Les principales constantes physico-chimiques du lait des différentes espèces animales.

Constantes	Vache	Chèvre	Brebis
Energie (Kcal/litre)	705	600 - 750	1100
Densité du lait entier à 20°C	1,028 - 1,033	1,027 - 1,035	1,034 - 1,039
Point de congélation (°C)	-0,520- -0,550	-0,550- -0,583	-0,570
pH à 20°C	6,60 - 6,80	6,45 - 6,60	6,50 - 6,85
Acidité titrable (°D)	15-17	14 - 18	22 - 25
Tension superficielle du lait entier à 15°C (dyne/cm)	50	52	45 - 49
Conductivité électrique à 25 °C (siemens)	45×10^{-4}	$43 - 56 \times 10^{-4}$	38×10^{-4}
Indice de réfraction	1,45 - 1,46	1,35 - 1,46	2,86 - 3,93
Viscosité du lait entier à 20°C (centipoises)	2,0 - 2,2	1,8 -1,9	1,33-1,40

Source : **FAO, (1990)**.

Ce tableau fait apparaître qu'une ressemblance existe entre les laits de chèvre et de brebis ; ils sont donc très différents du lait humain (**FAO, 1990**).

La densité ou poids spécifique dépend de deux facteurs principaux qui sont la teneur en matière Sèche et celle de la matière grasse (**Lupien, 1995**). Il faut noter que l'addition d'eau diminue la densité. Ainsi, La densité du lait de brebis et celles des races de chèvre à laits gras est plus élevée que celle du lait de vache. La viscosité est inversement proportionnelle à la température.

La viscosité du lait de chèvre serait plus basse que celle du lait de vache et de brebis. L'acidité titrable d'un lait varie en fonction de l'évolution de la teneur en protéines du lait et varie selon certains auteurs selon la saison. Ainsi, la valeur de 16° D est celle d'un lait de chèvre acide contre 18° D pour un lait de vache (**Debry, 2001**).

II. Composition du lait

Le lait est une émulsion de matière grasse dans une solution aqueuse comprenant de nombreux éléments dont les uns sont à l'état dissous et les autres sous la forme colloïdale (**Vignola et al., 2002**). D'un point de vue quantitatif, le lait se compose d'éléments majeurs et d'éléments moins abondants, dont beaucoup sont non dosables. Comme composants majeurs : l'eau, la matière grasse, le lactose, les protéines et les matières salines. Et comme éléments mineurs : les vitamines, les oligo-éléments, les gaz dissous, la lécithine, les enzymes et les nucléotides. Certains d'entre eux jouent un rôle en raison de leur activité biologique. Cette composition varie selon différents facteurs liés à l'animal. Les principaux étant L'individualité, la race, l'âge et l'espèce, la période de lactation, la saison et enfin l'alimentation. Le **tableau 6** montre la composition en éléments des laits de vache, de chèvre et de brebis.

Tableau 6 : Composition du lait de vache, de chèvre et de brebis.

En g/Kg des différents laits	Extrait sec total	Matières grasses	Matières azotées	lactose	cendres
Lait de vache	125	37	33	47	8
Lait de chèvre	120	35	31	46	7 – 9
Lait de brebis	190	75	60	45	10

Source : (**Debry, 2001**).

II .Les éléments de composition des différents laits

◆ L'eau

Pondéralement, l'eau est le composant le plus important du lait, il représente environ les 9/10 du lait, les autres éléments constituent la matière sèche totale, qui est plus importante chez le lait de brebis que ceux de laits de vache et de chèvre (**Vignola et al., 2002**).

◆ La matière grasse

La matière grasse est présente dans le lait sous forme de globules gras émulsionnée dans la phase aqueuse et dont la dimension varie selon l'espèce, la race, et la période de lactation (**Vignola et al., 2002**). Dans les produits laitiers, les matières grasses jouent un rôle important, elles contribuent à la saveur et à la microstructure d'un fromage. Moins il y a de gras, plus la structure du fromage est ferme (**St-Gelais et al., 1999**). La matière grasse dont la quantité varie en fonction des conditions d'élevage, constitue l'un des éléments majeurs du lait. Ainsi, on note que le lait de brebis est nettement plus riche en lipides que le lait de vache et de chèvre (**Wolff et Fabien, 1998**).

En technologie, il est plus facile d'homogénéiser un lait quand les globules gras qu'il contient sont plus petits. La matière grasse du lait de chèvre et de brebis semble plus digestible que celle du lait de vache, du fait que la taille moyenne des globules du lait de chèvre, de brebis sont légèrement inférieures à celle du lait de vache, respectivement : 1,99, 1,99 et 3,53 μ (**Wolff et Fabien, 1998**). D'autre part, la richesse de la matière grasse en acides gras à chaînes courtes et moyennes en fait aussi une matière grasse très digestible. La distribution de ces divers constituants lipidiques est très similaire dans les laits de vache et de chèvre (**FAO, 1990**). En ce qui concerne les particularités, il y a lieu de noter dans le lait de chèvre la présence, plus importante que dans le lait de vache, des acides gras à courtes et moyennes chaînes (6 à 12 carbones), ces derniers représentent près de 20 % dans le lait de chèvre, alors que la matière grasse du lait de vache en contient de 10 à 20 % d'acides gras de cette catégorie (**FAO, 1990**).

La lipoprotéine- lipase du lait de vache est répartie pour environ 5 à 30 % dans la phase grasse, contre 48 % dans le lait de chèvre. Dans les micelles de caséine, la proportion de lipoprotéine- lipase semble être plus faible : 8 % contre 77 % chez la vache (**Vignola et al., 2002**).

◆ La matière azotée

Le lait comprend deux groupes de matières azotées : les protéines et les matières azotées non protéique ; respectivement 95 % et 5 % de l'azote minéral du lait de vache (**Vignola et al., 2002**).

La matière azotée ou taux protéique est la quantité de matière azotée totale exprimée en g/Kg ou litre de lait, obtenue en multipliant par la teneur en azote du lait (g/Kg ou litre de lait), déterminée par la méthode Kjeldahl. Les teneurs en protéines totales sont voisines dans les laits de vache et de chèvre. elles sont, en moyenne, plus élevées dans le lait de brebis (**tableau 7**).

Tableau 7 : La composition moyenne en protéines en (g/litre) et leur distribution dans les laits de Vache, de chèvre et de brebis. (Source : FAO, 1990).

Protéines	Vache	Chèvre	Brebis
α - lactalbumine	1,5 (45 %)	2,0 (25 %)	1,3 (10 %)
β - lactoglobuline	2,7 (25 %)	4,4 (55 %)	8,4 (67 %)
Albumine sérique	0,3 (5 %)	0,6 (7 %)	0,6 (5 %)
Immunoglobulines	0,7 (12 %)	0,5 (6 %)	2,3 (18 %)
Protéase – peptone	0,8 (13 %)	0,6 (7 %)	
Total des protéines solubles (100 %)	6,0 (100 %)	8,10 (100 %)	12,6 (100 %)
Caséine α_s	12,0 (46 %)	19,2 %	21,0 (47 %)
Caséine β	9,0 (36 %)	54,8 %	16,1 (36 %)
Caséine K	3,5 (13 %)	20,4 %	4,5 (10 %)
Caséine γ	1,5 (6 %)	18,3 %	3,0 (6 %)
Total des caséines (100 %)	26,0 (100 %)	26,0 (100 %)	44,6 (100 %)
Protides totaux	32,0	34,1	57,2

Le profil en acides aminés totaux du lait de chèvre est proche de celui du lait humain et les acides aminés essentiels s'y trouvent en excès relatif par rapport aux besoins du nourrisson (**Brûlé et al., 1997**). Par comparaison au lait de vache, les protéines du lait de chèvre contiennent proportionnellement moins de caséines et d'avantage d'azote non protéique qui peut être calculé en multipliant l'azote non protéique par 6,39 (**FAO, 1990**).

Le lait de chèvre présente proportionnellement deux fois moins de caséines α_s (1 – 2), et plus de caséines β et κ que le lait de vache. Ce qui explique l'apparition moins fréquente du goût d'amertume sur les fromages de chèvre. Comme chez la vache, la bêta -lactoglobuline constitue la protéine majeure du lactosérum du lait de chèvre. Les compositions aminées de la bêta lactoglobuline et l' α - lactalbumine sont plus élevées dans le lait de chèvre que dans le lait de vache. La richesse du lait de brebis en protéines sériques est surtout marquée par une teneur élevée de la bêta- lactoglobuline et des immunoglobulines (**Daviau et al., 2000**). Les laits de chèvre et de brebis coagulent plus vite et donnent des coagulums plus fermes que le lait de vache. C'est pourquoi ils sont très utilisés en fromagerie (**FAO, 1990**).

◆ Le lactose

Le lait doit sa saveur douce à la présence du lactose ou sucre du lait, $C_{12}H_{22}O_{11}$, diholoside formé d'une molécule de glucose et d'une molécule de galactose (Raynal et Remeuf, 2000).

Les bactéries lactiques produisent de l'acide lactique à partir du lactose, ce qui entraîne un abaissement du pH du lait indispensable pour obtenir soit la coagulation en fabrication des fromages frais, soit son acidification préalable avant coagulation enzymatique pour la fabrication des fromages affinés. Sa teneur varie en fonction de la lactation, et elle est presque identique pour le lait chèvre et de vache. Dissous dans la phase liquide, le lactose sera en grande partie entraîné par le sérum sous forme d'acide lactique au cours de l'égouttage du caillé.

◆ La fraction vitaminique

Le lait apporte un complément vitaminique important dans une ration alimentaire car il contient, en concentrations élevées, une grande variété de vitamines ou de provitamines, aussi bien liposolubles (A,D, E, K) qu'hydrosolubles (B, C) d'où son intérêt vitaminique (**FAO, 1990**). La teneur en vitamines des trois différents laits est donnée par **le tableau 8**.

La teneur en vitamines est fonction de plusieurs facteurs : l'alimentation, la race, la saison, l'état Physiologique de l'animal, le niveau de lactation et enfin la méthode d'analyse. Le lait de brebis est plus riche, dans presque toutes les vitamines, par rapport au lait de vache et de chèvre. Le lait de chèvre contient moins d'acide folique (vitamine B₉) et vitamine B₁₂ que le lait de vache mais est plus riche en vitamine PP. Une faible teneur en folate dans le lait de chèvre serait à l'origine des anémies mégaloblastiques observées chez des nourrissons ou des jeunes enfants principalement alimentés au lait de chèvre. En plus cette vitamine est une substance nécessaire à la croissance des *Leuconostoc* dans le lait (FAO, 1990).

Tableau 8 : Teneurs en vitamines des laits de diverses espèces animales (mg/litre).

Vitamines	Vache	Chèvre	Brebis
B ₁	0,42	0,41	0,85
B ₂	1,72	1,38	3,30
B ₆	0,48	0,60	0,75
B ₁₂	0,0045	0,0008	0,006
Acide nicotinique	0,92	3,28	4,28
Acide folique	0,053	0,006	0,006
C	18	4,20	47,0
A	0,37	0,24	0,83
β -carotène	0,21	< 0,10	0,02

Source : (FAO, 2002).

◆ Les éléments minéraux

Une vue d'ensemble de la composition minérale du lait de chèvre, de vache et de brebis est donnée dans le tableau 5. La fraction minérale, bien que mineure dans la composition du lait, joue un rôle essentiel d'un point de vue nutritionnel et technologique (**Vignola *et al.*, 2002**). Le lait de brebis est nettement plus riche en calcium et phosphore que les laits de vache et de chèvre. La teneur en chlorure dans le lait de chèvre est élevée et est à l'origine d'acidoses hyperchlorémiques observées chez les nourrissons exclusivement alimentés au lait de chèvre (**FAO, 1990**).

Tableau 9 : Teneurs en éléments minéraux des laits de vache, de chèvre et de brebis

Minéraux mg /litre	Vache	Chèvre	Brebis
Calcium	1250	1350	1900
Phosphore	950	1000	1500
Magnésium	120	180	160
Potassium	1500	1800	1250
Sodium	520	400	450
Fer	0,2 à 0,5	0,1	0,5 à 0,7
Chlore	1,00	2,20	1,21

Source : **FAO, (2002)**.

III . Systèmes enzymatiques naturels du lait

Dans les conditions normales, le lait contient une grande variété d'enzymes. Il y a plus de 100 ans, on mentionnera pour la première fois la présence de la lactoperoxydase, Probablement la première enzyme découverte dans le lait de vache par Arnold 1881 (**Debry, 2001**).

Depuis plus de 60 enzymes ont été répertoriées, mais toutes ne proviennent pas de cellules lactogènes ou des leucocytes et ne sont pas des constituants natifs. De nombreuses enzymes sont produites par les micro-organismes du lait. C'est la raison pour laquelle on distingue parfois entre :

- *Les enzymes natives dites encore naturelles ou intrinsèques.*
- *Les enzymes d'origine externe, celles des micro-organismes, ou extrinsèques*

IV. Substances antibactériennes du lait

De nombreuses expériences ont montré que le lait possède des propriétés bactéricides ou bactériostatiques vis à vis de nombreux micro-organismes de contamination : bactéries pathogènes, bactéries lactiques (**Bourgeois et al., 1996**). On distingue ainsi les systèmes d'inhibition suivants :

IV.1. Lactoperoxydase-thiocyanate

C'est une enzyme qui est présente dans tous les laits à une teneur moyenne de 30 mg/litre (**Gautier et al., 1999**). C'est l'une des substances responsables des propriétés antibactériennes du lait cru ; elle est à l'origine de la période bactériostatique, d'une durée de quelques heures, qui suit la traite. L'enzyme a été obtenu à l'état cristallisé. Il s'agit d'une porphyrine riche en fer. Son pH optimal d'action est de 6,8. Elle catalyse en présence d'eau oxygénée l'oxydation du thiocyanate, en donnant un système lactoperoxydase-H₂O₂- thiocyanate qui inhibe temporairement quelques Streptocoques et tue d'autres (**Le Graet et Brule, 1993**). De son côté, la lactoperoxydase est détruite par chauffage à 82 °C pendant 20 secondes. Il n'est pas rentable d'utiliser comme levain de fromagerie des souches de bactéries lactiques sensibles au système lactoperoxydase-H₂O₂-thiocyanate.

IV.2. Les agglutinines

Ces dernières appelées autrefois lacténines (L₁ et L₃) appartenant au groupe des immunoglobulines, sont des anticorps, synthétisés par les lymphocytes, qui pénètrent dans les cellules lactogènes pour finalement entrer dans la composition du lait, en réponse à la présence dans l'organisme d'antigènes en particulier de certains constituants microbiens. Elles sont capables d'agglomérer des spores et les bactéries qui leur sont sensibles voire de retenir leur amas dans les grappes de globules gras (**Debry, 2001**). L'effet inhibiteur des immunoglobulines sera donc plus prononcé dans le lait entier que le lait écrémé. Elles sont inactivées à 82 °C pendant 20 secondes.

IV.3. Le lysozyme

Le lysozyme est une glycohydrolase qui catalyse l'hydrolyse de peptidoglycane constituant la paroi des bactéries et ce faisant entraîne leur destruction. C'est une protéine basique stable à pH acide même à température relativement élevée (**Bergere, 1984**). Le lysozyme est important grâce à son rôle immunologique dans la conservation de la qualité d'un lait par ses propriétés bactériologiques (**St-Gelais et Savoie, 1993**).

V. Qualité bactériologique du lait

A la sortie de la mamelle, après une traite stérile, le lait possède une flore microbienne peu nombreuse (De 10^1 à 10^5 germes totaux par ml). C'est au cours des opérations de récolte et de conservation du lait à la ferme que cette flore peut s'accroître par multiplication et contamination de certains micro-organismes (**Juillard et al., 1987**). Les bactéries sont les espèces les plus importantes sur les plans technologique et hygiénique, un lait qui contient 10^7 germes totaux /ml est acidifié et difficile à travailler ; il est souhaitable qu'il n'abrite pas plus de 5×10^5 germes totaux /ml à l'arrivée à l'usine. On répartit les micro-organismes du lait, selon leur importance, en deux grandes classes : la flore indigène ou originelle et la flore contaminante (**Champagne et al., 2000**).

➤ Flore originelle

La flore originelle ou indigène des produits laitiers se définit comme l'ensemble des microorganismes retrouvés dans le lait à la sortie du pis. Ces micro-organismes, plus ou moins abondants, sont en relation étroite avec l'alimentation, la race et d'autres facteurs. La majorité des germes est constituée de souches banales, dont la présence, en quantité limitée,

N'est pas gênante et est même utile. Il s'agit essentiellement de germes saprophytes du pis et des canaux galactophores : *microcoques* mais aussi *Streptocoques lactiques* et *lactobacilles* (**Vignola et al., 2002**). La composition en microorganismes originels du lait avec leurs proportions relatives est donnée dans le **tableau 10**.

Tableau 10: Flore originelle du lait cru

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

Source : **Champagne et al., (2000).**

➤ **Flore contaminante** : La flore contaminante est l'ensemble des microorganismes ajoutés au lait, de la récolte jusqu'à la consommation (**Guiraud, 1998**). Elle peut se composer d'une :

◆ Flore d'altération

Qui causera des défauts sensoriels de goût, d'arôme et d'apparence ou de texture et réduira la durée de conservation des produits laitiers. Parfois, certains microorganismes nuisibles peuvent aussi être pathogènes. L'un n'exclut pas l'autre. Les principaux genres identifiés comme flore d'altération sont : *Pseudomonas sp.*, *Proteus sp.*, les coliformes, soit principalement les genres *Escherichia* et *Enterobacter*, les sporulés telles que *Bacillus sp.*, *Clostridium sp.*, et certaines levures et moisissures (**St-Gelais et al., 1999**).

◆ Flore pathogène

Dont la présence dans le lait peut avoir trois sources : l'animal, l'environnement et l'homme (**Guiraud, 1998**). Capable de provoquer des maladies chez les personnes qui consomment ces produits laitiers contaminés. Il peut s'agir d'agents de mammites (*Streptocoques pyogènes*, *Corynebactéries pyogènes*, Staphylocoques) ou de germes d'infection générale qui peuvent passer dans le lait en l'absence d'anomalie du pis : *Brucella*, *Bacillus anthracis* et quelques virus (**Wattiau, 2000**).

VI. Influence de la nature du lait sur la croissance et l'activité des bactéries lactiques

Les laits de vache, de chèvre et de brebis ont des compositions différentes. Ceci a des conséquences sur leurs propriétés physico-chimiques et l'aptitude des bactéries lactiques à croître dans ces laits. Les études ont montré que les laits de brebis se distinguent des deux autres laits par une richesse supérieure en matières grasses, en caséine α_s et β et en minéraux (calcium et phosphore). Ses teneurs importantes en protéines et minéraux lui confèrent un pouvoir tampon élevé. Etant donné les exigences nutritionnelles des bactéries lactiques (**Desmazeaud, 1994**), ces différences entre les laits vont avoir des conséquences sur la croissance et l'activité (production de métabolites) de ces micro-organismes dans le lait. Ainsi, du fait de son activité immunologique et de son pouvoir tampon élevé, le lait de brebis possède, pendant les quelques heures après la traite, une résistance vis à vis d'éventuelles contaminations bactériennes (**FAO, 1990**). Les travaux de **Bassit et al., (1995)** ont par contre montré, que sur les laits stérilisés à basse température, *Lc. lactis ssp. lactis* se développe plus vite et produit d'avantage d'acide sur lait de brebis que sur lait de vache tandis que sur des laits pasteurisés *Lc. lactis ssp lactis* acidifie plusrapidement le lait de chèvre que le lait de brebis.

Enfin, plusieurs travaux comme ceux de **Champagne et Lange, (1992)** ont montré un développement des bactéries lactiques aussi important et une production d'acide lactique comparable sur laits de chèvre et de vache.

I. Généralités

Les bactéries du genre *Lactobacillus* ont des aspects variés allant des bacilles longs et fins au coccobacilles en passant par la forme bâtonnet court ou légèrement flexueux.ils sont Gram positif. non sporulés. fréquemment associés en chainettes et habituellement immobiles (**Figure 1**). Les lactobacilles se montrent généralement plus résistants au stress acide que les Lactocoques (**Siegmund et al.,2000**) cette différence pourrait s'expliquer par un pH optimale plus faible pour l'enzyme chargée de réguler le pH intracellulaire (translocation de protons par un ATPase) chez les lactobacilles (**Nannen et al . , 1991**). Le métabolisme chez *Lactobacillus* est hétéro-ou homofermentaire. Certains souches sont thermophiles. D'autres mésophiles (**tableau 11**).



Figure 1 : Lactobacilles représentatifs. a) *L. bulgaricus*, contraste de phase (x600). b) *L. lactis*, coloration de Gram (x500). c) *L. acidophilus* (x1.000) (**Guiraud, 2003**)

Tableau 11: principales espèces et sous espèces de lactobacilles utilisées en industries laitières.

Lb. : *Lactobacillus*. (kandler *et al.*, 1986)

Espèces	Fermentation du lactose	Croissance		
		A 15°C	A 45°C	
<i>Lb. helveticus</i>	Homofermentaire	-	+	Thermophile
<i>Lb. delbrueki</i> <i>subsp bulgaricus</i>		-	+	
<i>Lb. delbrueki subsp lactis</i>		-	+	
<i>Lb. acidophilus</i>		-	+	
<i>Lb. casei</i>		+	-	
<i>Lb. plantarum</i>		+	-	Mésophile
<i>Lb. kefir</i>	Hétérofermentaire	+	-	
<i>Lb. brevis</i>		+	-	
<i>Lb. fermentum</i>		-	+	Thermophile

I.1. Subdivision du genre *Lactobacillus*

Selon Kandler et Weiss, ce genre est subdivisé en trois groupes selon le type de fermentaire :

Groupe I : anciennement appelé *Thermobacterium*, il comprend les espèces homofermentaires obligatoires, c'est-à-dire produisant exclusivement de l'acide lactique à partir de glucose. Ils sont incapables de fermenter les pentoses et le gluconate et possèdent une fructose 1-6-disphosphate aldolase et une phosphofructokinase (Voir l'annexe). Ce groupe est constitué d'environ 25 espèces, la plupart thermophiles (croissance à 45°C) dont *Lb. delbrueckii*, *Lb. acidophilus* et *Lb. helveticus*. (Leveau et Bouix, 1993 ; Sutra *et al.*, 1998)

Groupe II : nommé auparavant *Streptobacterium*, ce sont des espèces hétérofermentaire facultatives, c'est-à-dire capables d'utiliser la voie hétérofermentaire dans certaines conditions comme une concentration en glucose limite. Les hexoses sont fermentés par la voie d'Embden-Meyerhof en acide lactique, mais les pentoses peuvent être dégradés en empruntant la voie hétérofermentaire avec production d'acide lactique et d'acide acétique par une phosphocétolase inductible. Ces bactéries ont une forte activité 1,6-diphosphate aldolase, une glucose -6- et une 6-P gluconate déshydrogénase. Ce groupe est constitué d'une vingtaine d'espèces dont *Lb. casei*, *Lb. curvatus*, *Lb. sake* et *Lb. plantarum*, majoritairement mésophiles. (Leveau et Bouix, 1993 ; Sutra *et al.*, 1998).

Groupe III : ce sont des *Betabacterium*, ils sont constitués des espèces hétérofermentaires obligatoires, c'est-à-dire utilisant la voie de pentoses phosphates pour la fermentation des hexoses et des pentoses (Voir l'annexe). Ils possèdent une forte activité glucose-6-gluconate déshydrogénase. C'est un groupe qui rassemble des espèces relativement hétérogènes, surtout mésophiles, comme *Lb. brevis*, *Lb. kefir* et *Lb. sanfransisco*. (Leveau et Bouix, 1993 ; Sutra *et al.*, 1998)

I. 2. Ecologie

Les lactobacilles représentent le groupe des bactéries lactiques le plus ubiquitaire qui colonise tous les habitats contenant des glucides fermentescibles, des produits d'hydrolyse des protéines, des vitamines, des facteurs de croissance et une basse tension d'oxygène. (De Roissart et Luquet, 1994). Ils sont naturellement présents dans une large variété de plantes et d'animaux, et se présentent comme contaminants de certains produits alimentaires (lait, viandes, céréales...etc).

De plus, certaines espèces et souches sont utilisées comme ferments ou adjuvants dans les produits alimentaires fermentés et leurs dérivés, notamment les produits laitiers (yaourt et fromage), végétaux fermentés (olives, choucroutes), viandes fermentés, levains du pain et d'autres denrées alimentaires à base de céréales. Quoiqu'ils soient moins nombreux que les bifidobactéries, les lactobacilles sont naturellement présents dans le tractus gastro-intestinal et le tractus urinaire de l'Homme et des animaux, où ils jouent un rôle dans la maintenance et l'amélioration de la santé. (Yuan Kun et Seppo, 2008).

II. Caractères physiologiques, biochimiques et moléculaires

Elles ont un large spectre de température de croissance : 2 à 53°C ; ce sont des acidophiles avec un pH optimal de 5,5 à 6,2. Elles sont catalase négative (certaines souches décomposent faiblement le H₂O₂ par une pseudo-catalase, anaérobies facultatives ou Micro-aérophiles, inaptes à réduire les nitrates et à hydrolyser la gélatine. (De Roissart et Luquet, 1994). Se sont des bactéries strictement fermentaires, soit homo fermentaire avec production d'au moins 85% d'acide lactique (de type : DL, L(+) ou D(-) à partir du glucose, ou hétéro fermentaire en produisant l'acide lactique, l'acide acétique et quelquefois du CO₂. (Marth et Steele, 2001).

Ils ont des besoins nutritionnels très complexes (carbohydrates, acides aminés, peptides, esters des acides gras, sel, acides nucléiques et vitamines). Le contenu de l'ADN en GC est généralement compris entre 32 et 51%. (Gomes et Malcata, 1999 ; Yuan Kun et Seppo, 2008).

III. Intérêts probiotiques

Plusieurs critères ont été utilisés pour la sélection de souches probiotiques, les plus employées sont la résistance aux conditions de tractus gastro-intestinal (le pH acide, la concentration élevée en sels biliaires), la capacité à le coloniser qui est en relation avec sa capacité d'adhésion à la muqueuse ainsi que son effet antagoniste, en produisant des substances antimicrobiennes ou en inhibant l'adhésion des espèces pathogènes. (Yuan Kun et Seppo, 2008).

III.1. Intérêts nutritionnels

Le yaourt est deux fois plus digeste que le lait avant fermentation et contient deux fois plus d'acides aminés libres. En plus il permet une bonne assimilation du calcium et une augmentation significative de la teneur en acides gras libres. (de Roissart *et al.*, 1994).

III.2. Intérêts thérapeutiques

III .2.1. Digestion de lactose

Des nombreux travaux ont montré que la lactase de certaines bactéries lactiques, participait in situ dans l'intestin à l'hydrolyse du lactose (étape de digestion partiellement prise en défaut chez de nombreux adultes qui peuvent alors souffrir de symptômes dits « d'intolérance » au lactose). Le lactose non digéré dans l'intestin grêle conduit à des flatulences, spasmes intestinaux et diarrhées osmotiques. (AFSSA, 2005). Le yaourt (c'est à dire souches *Lactobacillus delbruecklii* subsp. *bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus*) augmente la digestion du lactose dans l'intestin grêle, par comparaison à un lait standard. (Drouault et Corithier, 2001 ; AFSSA, 2005).

III .2.2. Activité antimicrobienne

III .2.2. 1. Production de substances antimicrobiennes

L'effet antagonisme des espèces de *Lactobacillus* peut être attribué à plusieurs facteurs tels que la production d'acide lactique, de H_2O_2 , CO_2 et bactériocines. L'étude menée par Reque et ces collaborateurs (2000) sur *Lb.fermentum* en testant son effet antagoniste vis-à-vis des souches *E.coli* et *S.aureus* indique que cette activité est due à l'effet du pH bas qui est engendré de la production d'acide lactique, alors que dans le cas de *S. typhi*, cette activité est due à la production des petites quantités de substances antimicrobiennes.

Tableau 12 : Exemples de bactériocines produites par *Lactobacillus*. (Luquet et Corrieu,2005).

Bactériocines	Souche productrice
Lactocine S	<i>Lactobacillus sakei</i> L45
Plantaricine C (perméabilisation)	<i>Lactobacillus plantarum</i> C
Sakacine P	<i>Lactobacillus sakei</i> LTH 674
Curvacine A	<i>Lactobacillus curvatus</i> LTH 1174
BavaricineMN (perméabilisation)	<i>Lactobacillus sakei</i> MN
Sakacine G	<i>Lactobacillus sakei</i> 2512
Lactocine 705 (α et β)	<i>Lactobacillus casei</i> CRL 705
Acidocine J1132	<i>Lactobacillus acidophilus</i> JCM 1132
ABP-118 (α et β)	<i>Lactobacillus salivarius</i> ssp <i>salivarius</i> UCC118
Gasséricine A	<i>Lactobacillus gasseri</i> LA39
Lactobine A	<i>Lactobacillus amylovorus</i> LMG P- 13139

I. Flux microbiens à la ferme

De multiples sources peuvent être à l'origine de l'ensemencement du lait, tels que l'environnement des animaux (eau, air, litière, alimentation), les animaux eux mêmes et leurs déjections, le matériel de traite et le trayeur. Ces sources peuvent influencer les équilibres microbiens des laits comme en témoignent les liens observés entre certaines pratiques de traite ou de conduites d'animaux et les caractéristiques microbiologiques des laits crus (Bouton *et al*, 2005 ; Verdier-Metz *et al*, 2009).

Sur la figure 2 sont représentées les sources potentielles de micro-organismes et leurs trajectoires possibles jusqu'au tank à lait.

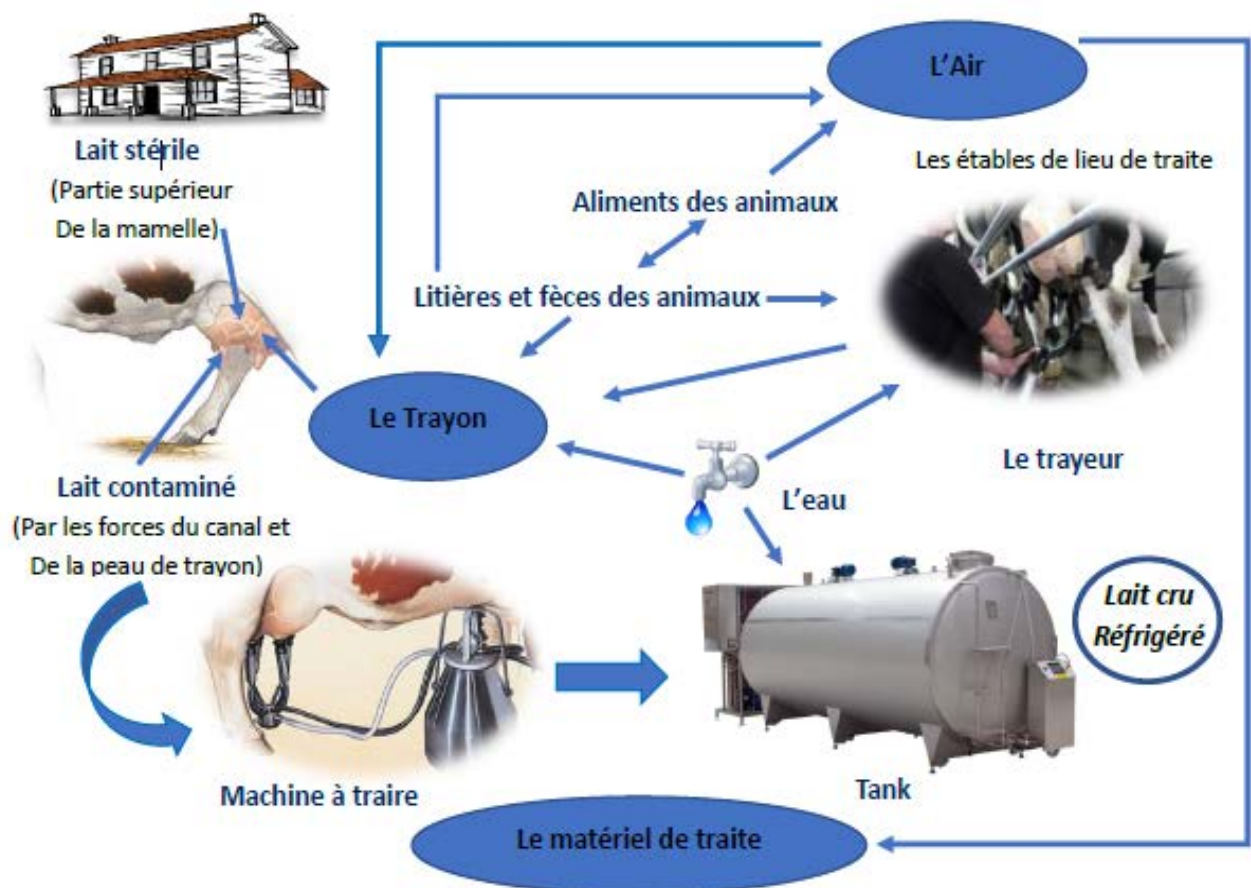


Figure 2 : Flux microbiens dans les étables de production laitière (Source : Auteur, 2017).

Un choix judicieux des pratiques d'élevage et des conditions de production du lait ne permettrait-il pas alors de préserver les flores d'intérêt technologique naturellement présentes dans le lait ? Dans cette perspective, la connaissance des réservoirs de flores et des flux de microorganismes existants dans les étables et les salles de traite semble un préalable indispensable pour mieux appréhender l'influence des pratiques de production dans l'enrichissement des laits en flore d'intérêt technologique.

Ce chapitre fait le point sur les connaissances acquises récemment sur la composition microbienne, les réservoirs potentiels de flore (trayon, matériel de traite, air) et les pratiques influentes, ainsi que sur les origines possibles de ces micro-organismes en particulier d'intérêt laitier (litière, aliments du bétail).

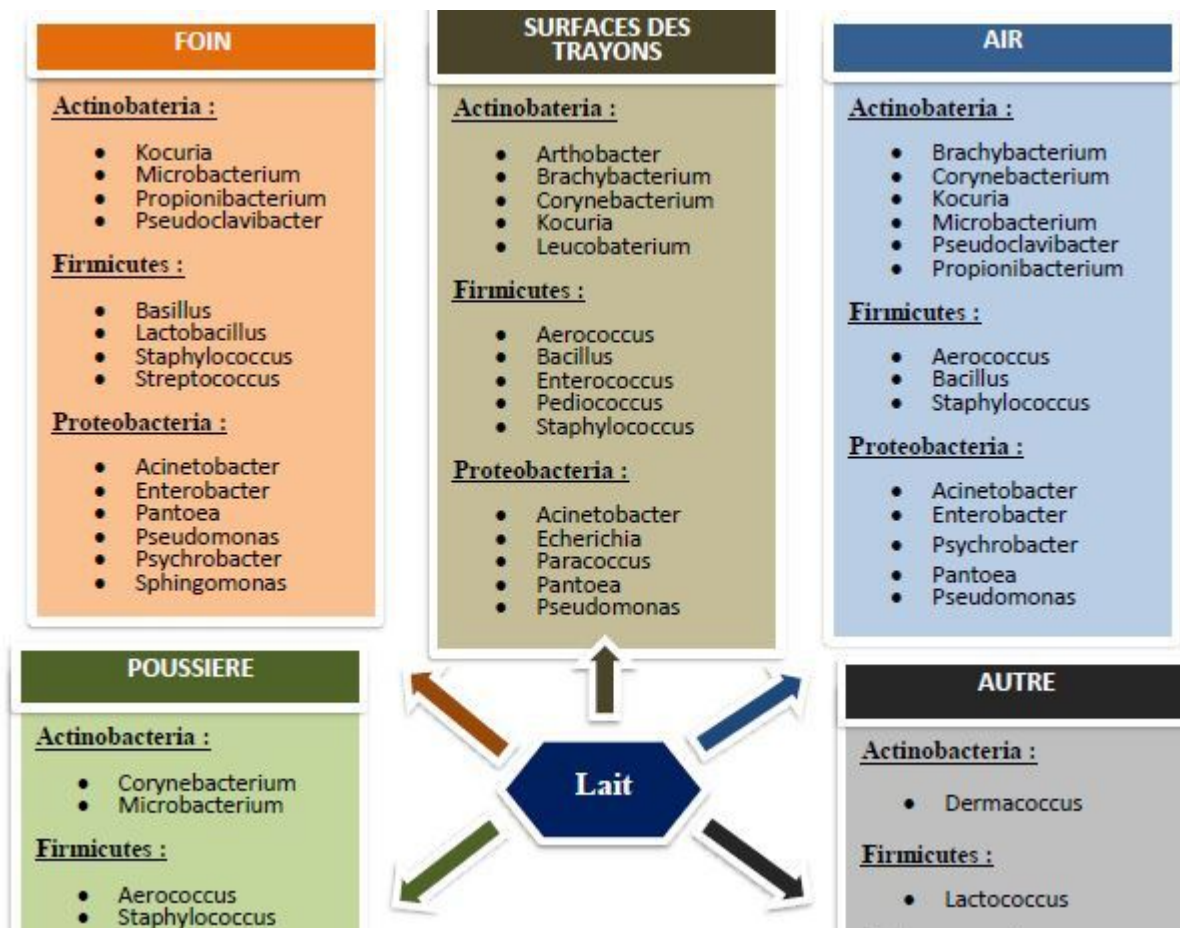


Figure 3 : Transferts potentiels des principaux genres microbiens (bacilles et coques à gram positif, bacilles à Gram négatif identifiés dans le lait)

(Source : Vacheyrou *et al.*, 2011 ; Verdier-Metz *et al.*, 2012 ; Masoud *et al.*, 2012 ; Quigley *et al.*, 2012).

II. L'alimentation

L'alimentation rationnelle des vaches et les animaux d'élevage destinées a la production laitières exerce une influence prépondérante tant sur la production quantitative que sur la Production qualitative du lait destiné à des utilisations industrielles. D'après SAVINI, l'alimentation avec l'ensilage fait augmenter l'acidité du lait et entraîne en plus des variations dans sa valeur cryoscopique ; laquelle est une des rares valeurs constantes de la composition du lait. Ceci démontrerait que l'équilibre physicochimique du lait subit des altérations et prouverait en même temps l'influence des aliments ci-haut nommés.

Selon LEROY, les plantes contenant des produits ou principes toxiques (des alcaloïdes surtout) telles que les renoncules, les colchiques, la ciguë, les prêles (celles-ci sont fréquentes dans les prairies humides), etc..., sont dangereuses pour la santé de l'animal et pour la qualité du lait. L'a recommandé alors de se méfier de la végétation poussant sur les levées de fossés et des prairies infestées de mauvaises herbes, et il préconise à cet effet, le drainage, "les hersages ainsi que le chaulage. Il recommande en plus d'éviter aux vaches l'ingestion d'aliments ayant subi la fermentation butyrique ou ne paraissant, pas dans un bon état de conservation.

BABCOCK, dans ses expériences, arrive aux conclusions suivantes : le blé d'Inde vert, la plupart des concentrés vendus dans le commerce ainsi que quelques foins (du groupe des pâturins du Canada ; du Kentucky et de Virginie) n'ont aucune mauvaise influence sur la saveur et l'arôme du lait. Par contre, il a énoncé les observations suivantes :

a) L'ingestion de 15 kg de luzerne verte par vache, une heure avant la traite, produit dans le lait une saveur très prononcée. Cette constatation a été confirmée par LUCAS et par WEAVER, KUHLMÀN et FOUTS.

b) Le navet donné à l'animal une heure avant la traite, produit des odeurs indésirables dans le lait.

c) L'ingestion d'oignon et autres plantes bulbeuses analogues se traduit, dès une minute après L'ingestion, par l'apparition du goût correspondant dans le lait ; ce goût est encore apparent après 4 heures et il ne disparaît que si la traite est faite sept heures après l'ingestion.

d) Un bidon de crème possédant une saveur d'oignon assez prononcée peut communiquer cette saveur à un, bassin entier de crème.

III. La race

III.1. Les races bovines en Algérie

Le bovin local est représenté essentiellement par la petite Brune de l'Atlas. Tandis que le bovin importé est représenté particulièrement par : **la Holstein, la Montbéliarde, la Brune des Alpes, la Limousine, et la Tarentaise**. Il existe même des produits de croisement entre bovin local et importé (Feliachi, 2003). Les races hautes productrices ou bovins laitiers modernes (BLM), sont des races d'importation à haut potentiel génétique d'origine européenne, l'introduction de ces races était depuis la colonisation du pays (Eddebbarh *et al.*, 1989), elles représentent 9% à 10% du total du cheptel national, soit 120000 à 130000 têtes, ce cheptel assure 40% de la production du Lait (Bencharif *et al.*, 2001).

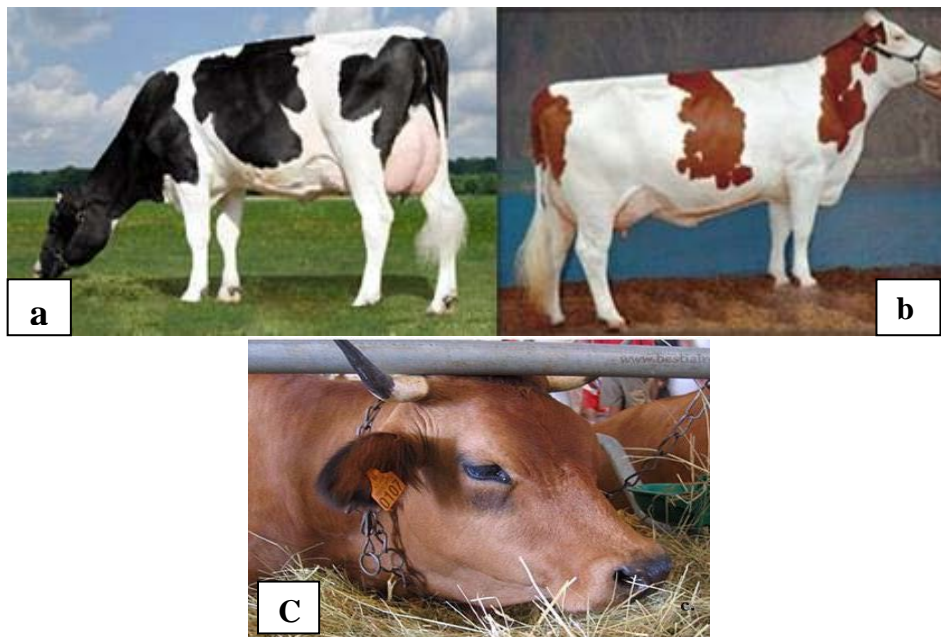


Figure 4: Bovins importés en Algérie (a). Holstein, b). Montbéliarde, C). Tarentaise).

(Source : Bencharif, 2001)

III.2. Les caprins en Algérie

III.2.1. Les principales races en Algérie

Le cheptel caprin Algérien est très hétérogène et composé d'animaux de population locale, et de population croisée.

III.2.1.1. Population local

Elle est représentée essentiellement par la race arabe, et kabyle, et chèvre de M'zab.

III.2.1.1. 1. Race arabe (Arbia)

C'est la race la plus dominante. Elle se localise dans les hauts plateaux, les zones steppiques et semi steppiques ; elle se caractérise par une taille basse de 50 – 70 cm, une tête pourvue de corne avec des longues oreilles et pendantes, sa robe est multicolore (noire, gris marron) à poils longs de 12 à 15 cm. La chèvre arabe a une production laitière moyenne de 1,5 litre par jour (FANTAZI ; 2005).

III.2.1.1.2. Race kabyle

C'est une chèvre autochtone qui peuple les massifs montagneux de Kabylie et des Aurès, elle est robuste, massive, de petite taille d'où son nom (naine de Kabylie), la tête est connue par ses longues oreilles et tombantes, la robe est à poils longs et couleur est variée, (noire blanche, ou brune). Sa production laitière est mauvaise ; elle est élevée généralement pour la production de viande qui est de qualité appréciable. (FANTAZI ; 2005).

III.2.1.1.3. Chèvre de M'Zab

Dénommée aussi «la chèvre rouge des oasis». Elle est originaire de Metlili ou Berriane, et se caractérise par un corps allongé, droit et rectiligne, la taille est de 68cm pour le mâle, et 65cm pour la femelle, avec des poids respectifs de 50kg et 35kg. La robe est de trois couleurs : le chamois qui domine, le brun et le noir, le poil est court (3-7cm) chez la majorité des individus, la tête est fine, porte des cornes rejetées en arrière lorsqu'elles existent, le chanfrein est convexe, les oreilles sont longues et tombantes (15cm) , la race MOZABITE est très intéressante du point de vue production laitière (2,56 Kg/j) (FANTAZI ; 2005).

III.3. Les races ovines d'Algérie

Les ovins représentent l'élevage traditionnel par excellence en Algérie. Ils ont toujours constitué l'unique revenu du tiers de la population de l'Algérie (CHELLIG, 1992). Tiaret est considérée comme l'une des régions agropastorales les plus importantes du pays, et en dépit de la disponibilité en grande quantité du cheptel ovin qui dépasse largement le million. (DSA, 2009). Il existe en Algérie deux types de races ; principales et secondaires. Les principales races sont représentées par Ouled-Djellal, Béni-Iguil et Rumbi. Les races secondaires sont représentées par D'men, Berbère à laine zoulai, Barbarine et Targui-Sidaou (CHELLIG, 1992).

III.3.1. Race Rumbi

La race Rumbi a été toujours désignée comme une race issue d'un croisement entre le Mouflon (Laroui) du Djbel amour et la race Ouled-Djellal, parce qu'elle a la conformation de la Ouled-Djellal et la couleur du Mouflon, elle a également des cornes énorme (CHELLIG, 1992). la race se localise principalement dans : Tiaret, Souguer, Aflou, Djebel Amour, Djebel Nador et Khenchla.

III.3.1.1. Caractéristique de la race :

La race Rumbi a les mêmes caractéristiques que la race Ouled Djellal sauf la couleur des membres et de la tête qui est fauve. La brebis atteint la puberté à l'âge de 12 mois, et leur première mise bas se fait à l'âge de 17 à 18 mois (CHELLIG, 1992).

Couleur : Pigmentée de brun mais la laine est blanche

Cornes : Spiralées, massives, les oreilles moyennes tombantes

Profil : Mince et moyen.

IV. La traite

La traite est effectuée avec une machine à traire qui peut prendre différentes formes selon les spécificités de la ferme (par les éleveurs en salle de traite ou avec une installation mobile en montagne, ou avec un robot automatique). Dans tous les cas, le lait est recueilli dans des conditions sanitaires strictes.

IV. 1 .La traite manuelle

La traite manuelle existe depuis des milliers d'années. elle se pratique partout, dans le désert, la campagne ou la montagne. . Habituellement, les vaches sont traites tôt le matin et de nouveau en fin d'après midi Le lait est tiré dans des seaux puis versé dans des cuves pour faire du fromage ou pour être consommé rapidement .La traite à la main d'un animal demande de l'expérience pour être efficace :

- 1-On prend place sur un tabouret sur le côté de l'animal et on place un récipient entre ses jambes
- 2-On saisit un trayon et on le presse doucement avec un déplacement vers le bas à l'aide du pouce et l'index, ce qui en fait sortir le lait. Dans le cas de la vache, une main tire un trayon pendant que l'autre relâche le voisin selon un **rythme** assez rapide. des personnes expérimentées peuvent, pour des chèvres, tirer un litre à la minute.

IV.2. La salle de la traite

C'est l'installation la plus répandue, ce système permet de traite assez rapidement des grands troupeaux en limitant la pénibilité du travail. Ce local servant exclusivement à la traite, est nettoyé après cette opération ainsi les conditions sont favorable à la production d'un lait de qualité. (*Levesque, 2004*). Lorsqu'on on parle de salle de traite, il faut considérer l'ensemble du bloc traite c'est ta dire l'aire d'attente ; l'endroit où sont rassemblée l'animal juste avant d'être traités, la salle de traite, l'endroit où se réalise l'opération de traite, et la laitière ; l'endroit où se conserve temporairement le lait avant le ramassage. (*Isabelle et al., 2002*).

V.3. La machine à traite

La machine à traite peut à traite peut jouer un rôle décisif dans l'apparition ou la dissémination des mammites au sein du troupeau , Lors de la traite mécanique, on imite ce que fait le veau pendant la tétée. Il aspire le lait en pressant le trayon. La pression n'est pas continue, elle est intermittente puisque le veau doit avaler chaque gorgée de lait entre 40 et 60 ml. La machine à traite est conçue sur le principe de l'alternance d'une très courte phase de pression sur le trayon suivie d'une autre très courte phase de dépression avec aspiration du lait. (**Federici *et al.*, 2002**).

V.4. Le réservoir trayon

De nombreuses données sur la charge microbienne présente en surface de trayons (**Desmaures *et al.*, 1997 ; Joandel, 2007 ; Michel *et al.*, 2006**) ont montré qu'il existe une large variété microbienne présente en surface des trayons, et que les flores d'intérêt fromager sont largement dominantes dans la population globale. Les flores qui la composent sont majoritairement des flores qui peuvent être qualifiées de flore d'intérêt fromager, telles les flores acidifiantes mésophiles, les flores de surfaces (microcoques et corynébactéries), les entérocoques, les flores intervenant en affichage (lactobacilles hétéro fermentaires facultatifs ou bactéries propioniques) (**Joandel, 2007**).

I. Matériel

1. 1. Lieu et période d'étude

La réalisation de cette étude a été faite au niveau de laboratoire de microbiologie d'université Abd Al-Hamid Ibn Badis (Mostaganem). Pendant une durée de deux mois allant du 05 avril jusqu'au 03 juin 2018.

1.2. Prélèvement des échantillons

Les échantillons de lait cru de vache, chèvre et brebis ont été prélevés à partir d'une ferme d'élevage se situant à la ville de Jdiouia de la région de Relizane le 08/04/2018 dans des conditions aseptiques. Le prélèvement de lait a été fait le matin au moment de la traite manuelle. Après lavage à l'eau savonneuse, rinçage à l'eau javellisée et séchage du pis, Le lait a été recueilli dans des flacons en verre de 250 ml stérile après avoir éliminer la première dizaine de jets, conservé à 4°C et acheminé directement au laboratoire pour analyse. Les échantillons ont été soigneusement étiquetés (espèce, race, lieu, date de prélèvement.....), La date, origine animale et le lieu de prélèvement sont indiqués dans le (Tableau 13) (figure 5) .



Figure 5 : localisation de la région où les échantillons de lait sont provenus (Google maps, 2018)

Tableau 13 : Identité des échantillons étudiés

	Date	Lieu	Race
Vache	08/04/2018	Jdiouia (Relizane)	Holstein
Chèvre	08/04/2018	/	Locale
Brebis	08/04/2018	/	Rumbi

II. Méthodes

II.1. Méthodes d'analyses

II.1.1. Les analyse physico- chimiques

II .1.1.1. Détermination de l'acidité titrable (Méthode Dornic)

L'acidité est titrée de façon précise à l'aide de la soude Dornic (N/9). On introduit 10ml de lait dans un bécher de 100 ml en présence de 0.1ml de phénol phtaléine à 1 % dans l'alcool à 95%. La soude Dornic (N/9) est versée de la burette jusqu'au virage au rose pale. La coloration rose doit persister au moins 10 secondes (**Guiraud ,1998**).

II.1.1.2. Mesure de pH

La valeur du pH a une importance exceptionnelle par l'abondance des indications qu'elle donne sur la richesse du lait en certains de ces constituants, sur son état de fraîcheur ou sur sa stabilité (**Mathieu, 1998**).

II.1.2 .Les analyses microbiologiques

II.1.2.1. Techniques d'isolement et de purification

II.1.2.1.1 .Techniques d'isolement

Une série de dilutions décimales dans l'eau physiologique stérile jusqu'à 10^{-5} est réalisée à partir de l'échantillon que l'on aura homogénéisé par au moins 10 secondes d'agitation. . L'isolement a été réalisé sur gélose MRS préalablement coulée et solidifiée dans des boites de Pétri, en portant quelques gouttes des dilutions à la surface du milieu suivi d'un étalement. Seules les dilutions 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , sont retenues etensemencées en profondeur sur boites (1ml). L'incubation est faite à 37°C et 45°C pendant 24h à 48h. (Nehal *et al.*, 2007). (Figure 6).

II.1.2.1.2 .Techniques de purification

La purification consiste à effectuer des repiquages successifs sur bouillon MRS jusqu'à L'obtention de colonies pures bien distinctes et homogènes. la purification des souches sur milieu gélosé se fait par la méthode des stries.

La pureté des souches est confirmée par prélèvement de colonies représentatives du genre lactobacilles, après chaque repiquage, par observation microscopique après qu'on ait effectué pour chaque échantillon analysé la coloration de Gram et le test de la catalase. (Nehal, 2007).

Il n'y a que les bactéries Gram positif et catalase négative qui sont retenues et conservées pour la suite de l'étude.

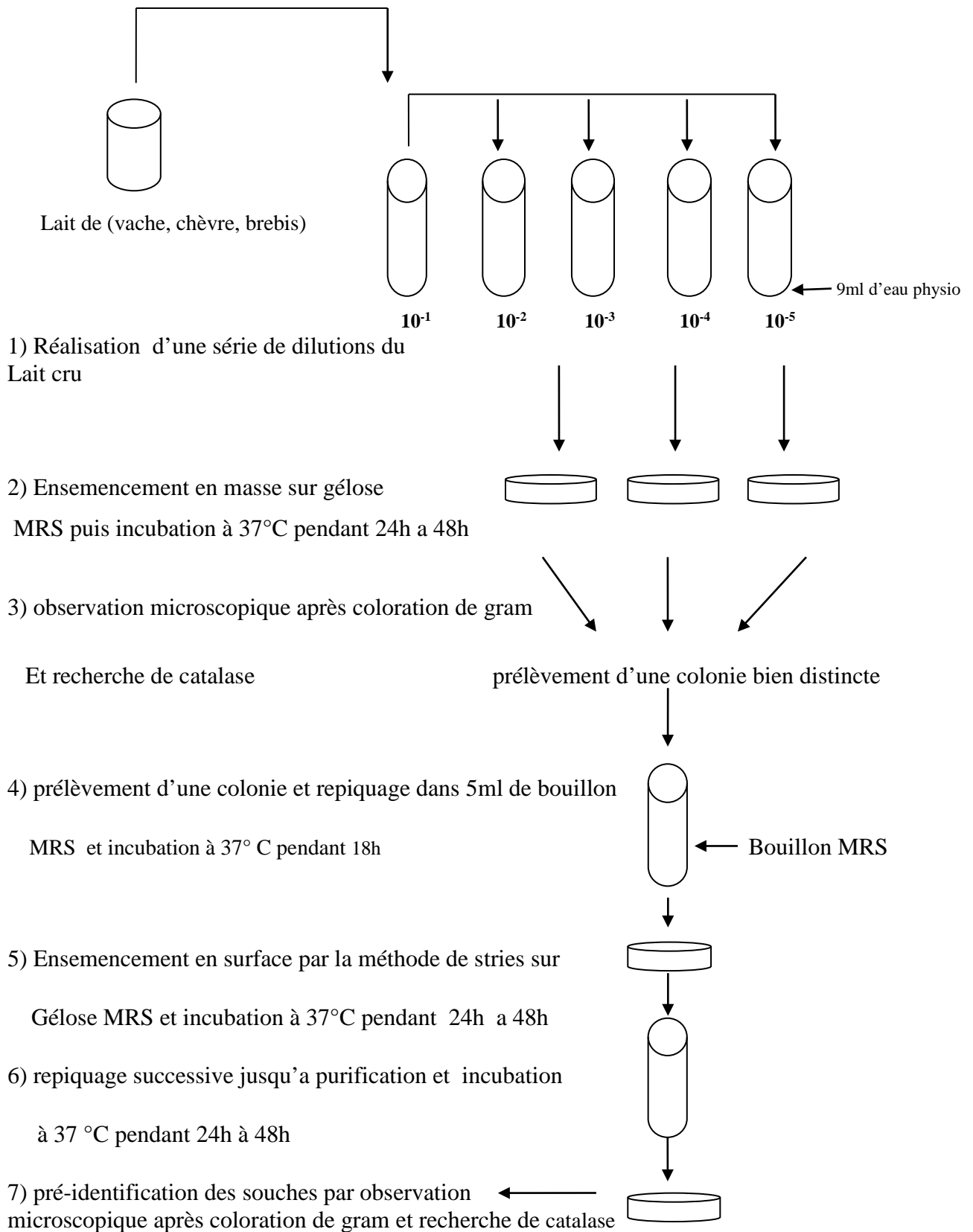


Figure 6 : Diagramme d'isolement et de purification des lactobacilles

II.1.2.2. Pré-identification des souches

II.1.2.2.1. L'aspect macroscopique

- **Examen macroscopique** : ce test est basé sur l'observation visuelle de la culture des isolats sur milieu MRS solide et liquide ; pour caractériser la taille, la forme et la couleur des colonies sur milieu MRS solide (**Badis et al, 2005**). Et le trouble dans le milieu liquide. L'étude macroscopique nous a permis de noter le diamètre, la pigmentation et l'aspect des colonies. (**Hassaine.O, 2013**).
- **Test à catalase** : Ce test microbiologique constitue un test clé dans l'identification des bactéries lactiques. Le test a été appliqué sur toutes les colonies apparues après l'isolement. Ce test consiste à déposer sur une lame une goutte d'eau oxygénée et à dissocier directement un peu de la culture prélevée sur milieu solide.

Lecture : si la souche examinée possède une catalase, un dégagement de bulles gazeuses est observé et le contraire indique l'absence de l'enzyme (**Marchal et al., 1991**).

II.2.2.2. L'aspect microscopique

- **La coloration de Gram**

La coloration de Gram est une coloration classique en microbiologie. Elle permet de distinguer deux (2) types de bactéries, les bactéries en Gram négatifs (G-) et les bactéries en Gram positives (G+). Celles-ci diffèrent de part de la composition de leur paroi, notamment par l'épaisseur du peptidoglycane, ou la présence d'une membrane externe. (**Larpent et al., 1990**).

- La première étape de la coloration consiste à réaliser une suspension en eau physiologique à partir d'une culture jeune (sur un milieu solide) et prélever un aliquote de suspension à l'anse de platine (ou à la pipette stérile) puis on étale sur 1 à 2 cm par un mouvement circulaire en partant du centre de la lame.
- La seconde étape nécessite le séchage et la fixation par la chaleur (pour tuer les bactéries, fixer leur structure cytologique, et les faire adhérer à la lame).
- La troisième étape nécessite quelques gouttes de violet de gentiane sur un frotti fixé pendant une minute, après rinçage, on ajoute de Lugol (solution aqueuse d'iode et d'iodure de potassium) pendant 30 secondes ;

- La quatrième étape, à savoir le bain d'alcool 90°, (ne va traverser que la paroi de certaines bactéries « les Gram – », et décolorer leur cytoplasme). Puis on rince avec de l'eau distillée.
- En fin, quelques gouttes de fuchsine de Ziehl sont versées sur la lame qu'on laisse agir une minute. La lame est lavée à l'eau distillée. Après séchage, on passe à l'observation microscopique.
Cette étape sert à colorer les bactéries (Gram-) qui se sont décolorées lors du traitement précédant, de ce fait les bactéries Gram⁻ seront colorées en rose et le Gram⁺ en violet.

I. Paramètres physico-chimiques

I.1. Mesure de l'acidité titrable

Les échantillons de laits analysés dans cette étude V, C, B (vache, chèvre, brebis), donnent une acidité titrable qui est respectivement de (16°D, 12°D, 18°D) pour les 3 échantillons. L'augmentation de l'acidité est un indicateur de la qualité de conservation du lait (Cassinello et Pereira, 2001)

I.2. Mesure de pH

Les valeurs recueillies lors de cette mesure donnent une moyenne de pH des échantillons de laits cru de vache, de chèvre et de brebis (V, C, B) qui sont respectivement de 6.5 ; 6.5 et 6.6.

Tableau 14 : résultats de mesures de l'acidité et le pH de trois échantillons de laits analysés.

Echantillons	Acidité (D°)	pH
V	16	6.5
C	12	6.5
B	18	6.6

II. Les analyses microbiologiques

II.1. Isolement et purification

À partir de trois échantillons de lait de vache, de chèvre et de brebis, 24 souches ont pu être isolées et qui sont révélées positives à la coloration de Gram et test catalase négative.

II.2. Pré-identification des souches

II.2.1. L'examen macroscopique

L'aspect macroscopique, permet de décrire les colonies obtenues sur milieu solide MRS à pH = 5.4 après incubation, les comparant ainsi aux critères relatifs aux colonies des bactéries lactiques (contour, taille, pigmentation, aspect...) (Ana Belen Florez *et al.*, 2006).

Concernant nos isolats testés, nous avons constaté sur milieu solide des colonies de petite taille d'environ 1 à 2 mm de diamètre, de forme circulaire, et de couleur blanchâtre (**Figure 7**). Par contre, l'observation macroscopique en milieu liquide nous a permis d'observer un trouble assez dense comparativement au témoin, ce qui indique une croissance bactérienne au fond du tube.

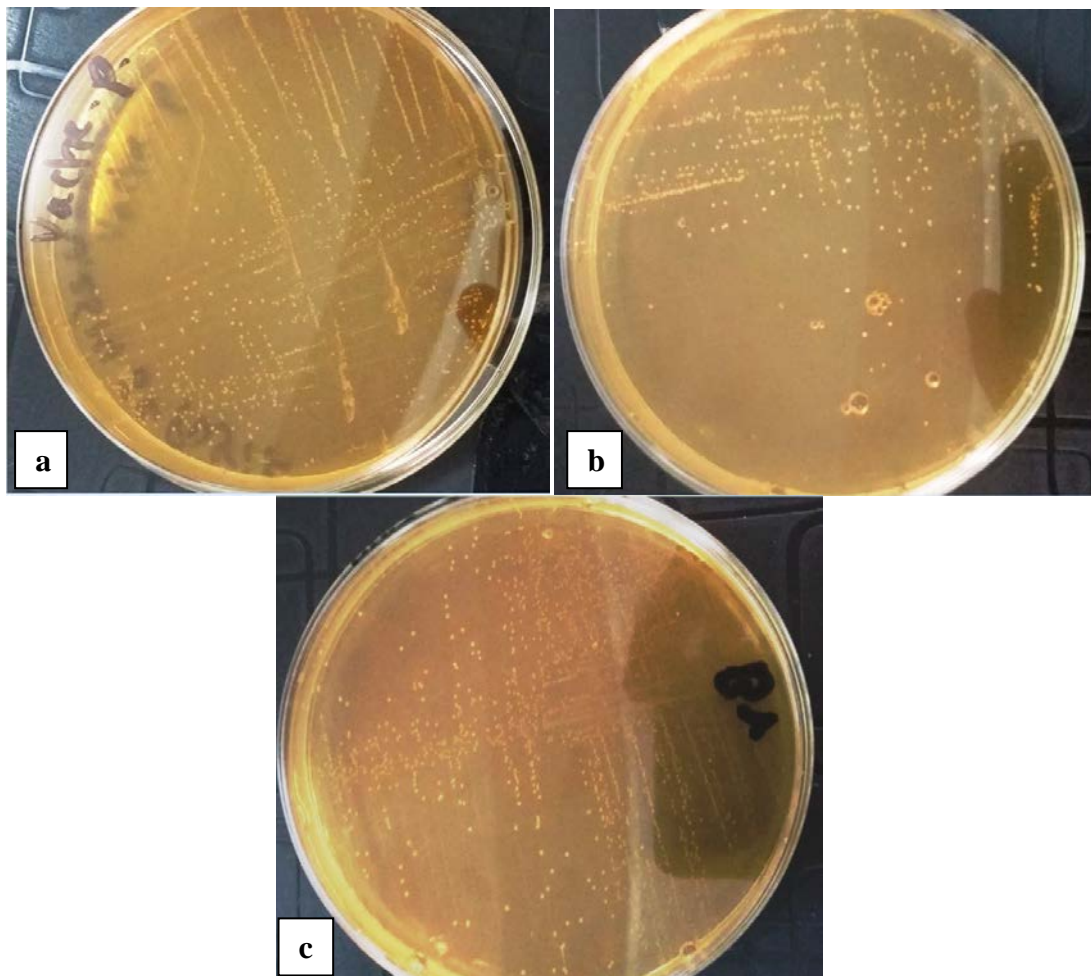


Figure 7 : Aspect macroscopique des isolats sur milieu MRS après 24h d'incubation à 37°C
,(a) Vache, (b) Chèvre, (c) Brebis

II.2.2. L'examen microscopique

L'examen microscopique des souches testées après la coloration de Gram a révélée que nos souches sont Gram positif et qui se présentent sous deux formes : Coques et Bacilles. Le mode d'association varie d'un isolat à l'autre, les différentes formes observées sont décrites comme suit :

- Des coques disposées en amas, en chaînes, et en paires.
- Des bacilles disposés en chaînes et en paires.

Tableau 15 : caractéristiques microscopiques des isolats de bactéries lactiques isolées à partir de lait de vache, chèvre et de brebis

Echantillon	Souche	Gram	Forme	Mode d'association
Lait de vache	V1	+	Coque	En chaîne et en diplo
	V2	+	Coque	Isolées
	V3	+	Coque	En chaîne
	V4	+	Coque	En chaîne
	V5	+	Coque	Isolées et en chaîne
	V6	+	Coque	En chaîne
	V7	+	Coque	En chaîne
	V8	+	Coque	En chaîne
Lait de chèvre	C1	+	Bacille	En chaîne et en diplo
	C2	+	Bacille	En chaîne et en diplo
	C3	+	Bacille	En chaîne
	C4	+	Coque	diplocoques
	C5	+	Bacille	En chaîne
	C6	+	Coque	En chaîne
	C7	+	Coque	En chaîne
	C8	+	Coque	Isolées
Lait de brebis	B1	+	Bacille	Isolées
	B2	+	Bacille	Isolées
	B3	+	Coque	En chaîne et en diplo
	B4	+	Coque	Isolées+diplocoques
	B5	+	Coque	Diplocoques
	B6	+	Coque	Diplocoques
	B7	+	Coque	Diplocoques
	B8	+	Coque	Diplocoques

Les observations microscopiques nous ont permises d'observer différentes formes à savoir une dominance des coques présentant divers modes d'association et une rareté de la forme bacilles. Les formes observées caractérisent en général les différents genres des bactéries lactiques. (**Figure 8 et 9**)

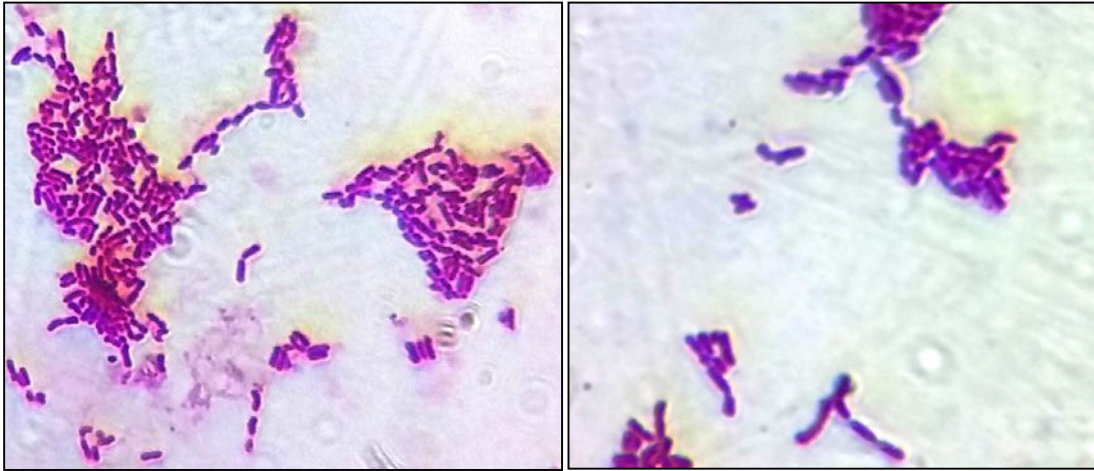


Figure 8: Observation microscopiques (Objectif X100) des isolats de Lactobacilles après la coloration de gram

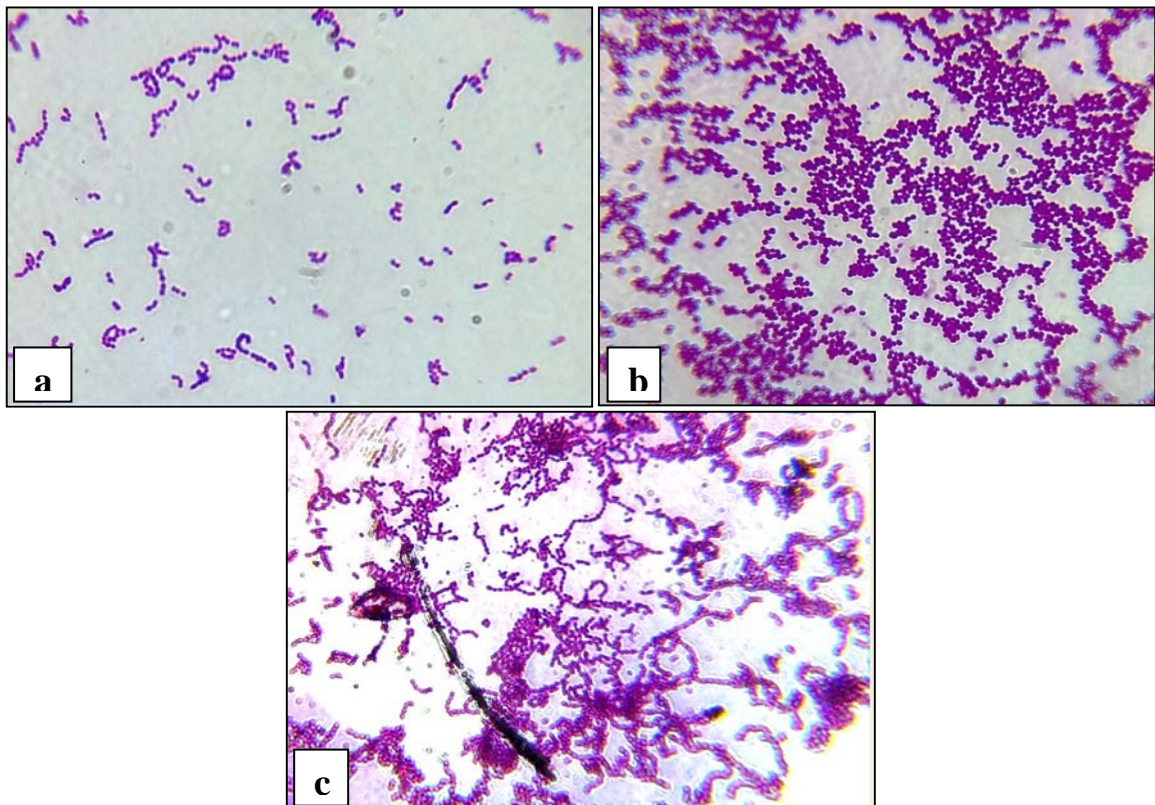


Figure 9 : Observation microscopiques (Objectif X100) des isolats lactiques après la coloration de Gram (a) *Entérocooccus* ; (b) *pediococcus* ; (c) *Streptococcus*

II .2.3. Test catalase

Conforment aux bactéries lactiques, toutes les souches examinées ne possèdent pas la catalase (absence de bulles gazeuses) (**figure 10**).

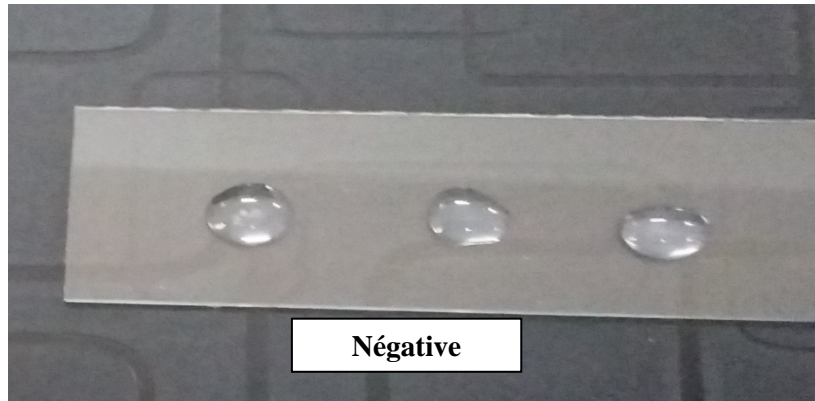


Figure 10 : Test de catalase

Discussion générale

- Vingt-quatre souches de bactéries lactiques ont été isolées du lait cru de vache, de chèvre et de brebis. Elles ont été cultivées et isolées sur milieu MRS, du fait des exigences nutritionnelles des bactéries lactiques, les milieux de culture doivent être très riches en sucres, en matières azotées et surtout en facteurs de croissance (**Pilet M-F et al., 2005**).
- L'étude des principaux caractères macroscopiques et microscopiques des souches ont montré une diversité de genres et d'espèces isolées à partir du lait cru de vache, de chèvre et de brebis.
- Les souches étudiées sont catalase négative car on n'a pas obtenu des bulles gazeuses après le dépôt de l'eau oxygénée sur la colonie cible, qui est conforme aux résultats trouvés par (**Carr et al., 2002**), ce qui nous oriente à déduire que nos souches isolées sont des bactéries lactiques.
- Les résultats d'identification de cette étude montrent une présence majoritaire de coques avec 75% par rapport aux bacilles qui ont été retrouvés à de faibles pourcentages 25%. Le même type de résultat est apporté par **Franciosi et al., (2009)**; **Cheriguene A. (2008)** ; **Bekhouche F. Boulahrouf A. (2005)** et **Kacem M. et al., (2002)** ; **Sahlellou S. (2017)** .
- D'après l'observation macroscopique faite sur la souche de *Lactobacillus* développée sur milieu MRS (**Man et al., 1960**), nous avons constaté des colonies irrégulières, érodées, de couleur blanchâtres et de 1 à 3 mm de diamètre, et l'observation sous microscope après coloration de Gram, indique qu'il s'agit de bacilles apparents Gram positif (**Klein et al., 1998** ; **Axelsson, 2004** ; **Hammes et Hertel, 2006** ; **Tabasco et al., 2007**).
- L'aspect macroscopique des coques développés sur le même milieu a montré qu'ils sont de petites colonies à contour régulier, de couleur blanchâtres, lisses et légèrement bombées. Microscopiquement, ils sont des Gram positif, de forme cocci sphérique, associés en paires, groupés en chaînettes plus ou moins longues (**Teuber M. et Geis A., 2006**).
- Les observations microscopiques nous ont permis d'observer différentes formes à savoir une dominance des coques présentant divers modes d'association et une rareté de la forme bacilles. Les formes observées caractérisent en général les différents genres des bactéries lactiques. Par ailleurs, on a constaté durant la réalisation de ce travail :
 - Une dominance totale des coques présentant dans le lait de vache ;
 - Présence de bacilles à de faibles pourcentages dans le lait de chèvre et de brebis.

- La répartition des souches révèle une variation de distribution temporelle et géographique due à une multitude de facteurs. Parmi ces derniers, le type d'alimentation, les microclimats des régions de prélèvements, les pratiques d'élevage, ...
- La pratique de la traite au niveau des étables peut aussi enrichir le lait par divers genres et espèces de bactéries lactiques avec des proportions variables, ces résultats s'interfèrent avec ceux de **bouton *et al* (2007)** qui confirme que le matériel et la traite dans les étables sont des réservoirs potentiels en bactéries lactiques.

Conclusion

Dans le but d'obtenir des bactéries lactiques à haut potentiel technologique exploitable, la démarche exige un isolement, effectué dans notre cas, à partir des laits de vache, de chèvre et de brebis prélevées à partir de la zone de Jdiouia de la région de Relizane, L'isolement s'est effectué sur milieu MRS .dans un second temps, nous avons procédé à l'identification des souches isolées, par application d'un certain nombre de tests microbiologiques. Qui a abouti à la collection de 24 souches, Après identification, seuls 06 souches ce sont révélées des bacilles et 18 souches des coques, qui sont répartis comme suit :

- 100% coques dans le lait de vache.
- 50% bacilles et 50% coques dans le lait de chèvre.
- 25% bacilles et 75% coques dans le lait de brebis.

Nous pouvons conclure que l'intensité d'élevage, la race, l'origine animale, le climat (qui influe sur la diversité du couvert végétal) et les pratiques d'élevage (traite manuelle ou mécanique, régime Alimentaires, pâturage naturel) influent considérablement sur la répartition des souches isolées. la connaissance de l'influence de ces facteurs peut diriger les axes de recherche (l'isolement des Souches) ainsi que l'implantation des unités productrices du lait et ses dérivés.

Nous espérons dans les études qui viennent une caractérisation complète des laits de prélèvements (caractérisation physicochimiques, microbiologiques et détermination des fractions protéiques), une enquête d'élevage qui nous permettra de connaître les causes de répartitions des souches en fonction des saisons et les endroits de prélèvements et enfin en augmentant le nombre d'échantillonnage pour avoir des résultats plus significatifs et concluants.

Références bibliographiques

Références Bibliographiques

- ACCOLAS J. P., (1980). Les levains lactiques thermophiles, propriétés et comportement en technologie laitière. Le lait 50 :375-393 p
- ALAIS C., (1984). Sciences du lait : principes des techniques laitières, 4^{ème} Edition, Paris,814 p.
- AUBERT C., (1998). Caractérisation microbiologique du fromage type VENACO : un fromage de corse à pâte molle. Rapport de stage de 2^{ème} année d'Ecole d'Ingénieur.
- AXELSSON,LT ; 2004. Lactic acid bacteria : classification and physiologie. In lactic acid bacteria- Microbiology and fuctional aspects. Edited by S. Salminen , A.v.wright et A .Marcel dekkar, Inc .1-66
- BASSIT N., COCHET N., LEBEAUT J. M., (1993). Influence of water activity on *Streptococcus diacetylactis* metabolism. Appl. Microbiol. Biotechnol.40 : 399-401.
- BOURGEOIS C. M., MESCLE J. F et ZOUCCA., (1996). Microbiologie Alimentaire : Aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments. Techniq ues et Documentation Lavoisier. Paris.
- Bouton, Y., Tessier, L., Guyot, P., Beuvier, E. 2005. Renc.Rech. Ruminants 12, 403.
- BOYAVAL P., DEBORDE C., CORRE C., BLANCO C. et BEGUE E., (1999). Le lait, 79 p.
- BUCHNAN R. E et GIBBSONS N. E., (1974). Bergey's Manuel of determination bacteriology. 8^{ème} Edition. 15-26.
- BOUIX M. et LEVEAU J. Y., (1993). Microbiologie industrielle. Les microorganismes d'intérêt industriel. Ed. TEC et DOC- Lavoisier.
- Carr FJ, Chill D, Maida N (2002) The lactic acid bacteria : A littérature survey. Crit. Rev. Microbiol., 28 :4,281-370.
- CHAMPAGNE C. P., LANGE M., (1992). Caractéristiques et emploi de cultures lactiques en industries laitières.
- CHAMPAGNE C. P., (1998). Production de ferments lactiques dans l'industrie laitière. Edition Maloine, Paris.
- DAVIAU C., FAMELART M.H., PIERRE A., GOUDEDRANCHE H. et MAUBOIS J.L., (2000). Rennet coagulation of skin milk and curd drainage: Effect of pH, casein concentration, ionic strength and heat treatment. Lait, 80 (4) : 397 – 415.
- DEBRY G., (2001). Lait, nutrition et santé. Techniques et Documentation Lavoisier. Paris, 544 p.

- DELLAGLIO F., (1988). Starters for fermented milks, section 3: thermophiles starters in « fermented milks, sciences and technology ». Bulletin Fil, 227 : 27-33.
- DEROISSART H. B., (1986). Les bactéries lactiques : lait et produits laitiers vaches, brebis, chèvres. Ed. Arria.
- DESMAZEAUD M., (1983). L'état des connaissances en matière de nutrition des bactéries lactiques. Rev. Le lait, 63. : 267- 316.
- DESMAZEAUD M. J., (1994). Le lait milieu de culture. Dans : H. DEROISSART et F. M.
- DOLEYRES Y., (2003). Production en continu de ferments lactiques probiotiques par la technologie des cellules immobilisées. Thèse de doctorat, Université Laval, Québec, Canada.
- Drouault S. et corthier G. ; 2001. Effets des bacteries lactiques ingérées avec des laits fermentés sur la santé .vet . Res . ; 32 ;101-117.
- DUPUY C. P., (2004). Accidents alimentaires d'origine bactérienne liés à la consommation de laits et produits laitiers. Thèse de doctorat vétérinaire, Université Claude Bernard, Lyon.
- FAO, (1990). Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine. Collection FAO/ Alimentation et nutrition, 23 p.
- FAO, (2002). Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine. Chapitre 5 : laits fermentés. Collection FAO/ Alimentation et nutrition, 28
- GAUTIER M., ROUALT a., HERVE C., Sommer P., LERET V., Jan G., FRASLIN J M., PECOT F. et COSTE A., (1999). Le lait, 79 : 93 – 104.
- GELAIS D., A. M. et TURCOT S. M., (1999). Composition du lait de chèvre et aptitude à la transformation. Agriculture et Agro-Alimentaire, Canada, 1-33.
- GUIRAUD J. P., (1998). Microbiologie alimentaire. Ed. DUNOD, Paris.
- GONZALEZ D. L., CUESTA P. et RODRIGUEZ A., (1998). Biogenic amine production by wild lactococcal and leuconostoc strains. The Society for Applied Microbiology. pp 272-274.
- HAMON .Y, (1964). Les bactériocines. Ann. Ist. Pasteur. 107 (supp 5): 18.
- HERMIER J., LEVOIR R J. et WEBER F., (1992). Les groupes microbiens d'intérêt laitiers.Ed Cepil. PP 42-59.
- JAUBERT G., (1997). Flavour of goat farm bulk milk. Cha opt Medite, 93 p.
- Kandler ,O., et Weiss, N ; 1986. Genus Lactobacillus Beijerinck 190. In bergey's manual of systematic bacteriology pp. 1209- 1234. Edited by P.H.A .

- KORHONEN H., PIHLANTO A., (2003). Food-derived bioactive peptides-opportunities for designing future foods. *Curr pharm Des* 9 : 1297 – 1308.
- LACHANCE M, (2000) : Purification et caractérisation d'une bactériocine produite par *Lc. lactis* MJC15. Thèse de grade de maître des sciences (M.sc).
- LARPENT J. P., (1987). Microorganismes intervenant dans la fabrication e t la maturation des fromages. Leur rôle sur les propriétés organoleptiques. I.A.A. Juin, 535-546.
- LARPENT J. P et LARPENT G.M.1990. Memento technique de microbiologie 2eme ED .techniques et documentataire lavoisier, Paris , P .417
- LEROY F., DEVUYST L., (2004). Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry. *Trends Food Sci Technol* 15:67 – 78.
- LEVEAU J. Y., BOUIX M., DEROISSART H., (1991). La flore lactique. In : Techniques d'analyse et de contrôle dans les industries agroalimentaires. Vol. 2. Ed. Tech. Et Doc. Lavoisier et APRIA, Paris, 77 – 115.
- Le GRAET Y. et BRULE G., (1993). Effect of pH and ionic strength on distribution of mineral salts in milk. *Le lait*, 60 p.
- LOONES A., (1994). Les laits par les bactéries lactiques. *Bactéries lactiques*. Ed Larica, 2 : 137-145.
- LUCAS S., RAYROLLE J., (1989). Etude d'un lot de ferments lactiques mésophiles, équilibre de la flore au cours de la première étape de fabrication de levains. *Le lait*. 69 : 121 –130.
- LUQUET Eds. (1994). *Bactéries lactiques : Aspects fondamentaux et technologiques*, Vol 2, pp 25- 36.
- MICHEL V., HAUWRY A. et CHAMBA J-F. (2006). Flore microbienne des laits crus : diversité et influence des conditions de production. pp.67 – 72.
- NAMEN .N.L AND HUNTKINS. R.W , 1991 : proton translocating Adenosine triphosphatase activity in lactic acid bacteria 74 :747-751
- NOUAILLE S., RIBEIRO L. A., MIYOSHI A., PONTES D., Le LOIR Y., OLIVIERA S. C., LANGELLA P., AZEVEDO V., (2003). Heterologous protein production and delivery systems for *Lactococcus lactis*. *Genet Mol Res* 2: 102 – 111.
- QUIGLEY, L., O'Sullivan, O., Beresford, T.P., Tom, P., Ross,R.P., Fitzgerald, G.F., Cotter, P. D. 2012 *Appl. Environ.Microbiol.* 78, 5717-23.
- RAYNAL K et REMEUF F., (2000). Effect of storage of 4 degrees °C on the psychochemical and renniting properties of milk: a comparison of caprine, ovine and bovine milks. *Journal Dairy Res*, 67 (2): 199-207.

- Reque . EF, Pandey. A, Franco . S.G And soccol. C.R, 2000.isolation, identification and physiological study of *Lactobacillus fermentum* lbp. Microbiol . Vol. 31, N° 4
- REYROLLE J., CHOPIN M. C., LETELLIERT., NOVEL G., (1982). LYSOGENIC strains of lactic acid *Streptococci* and lytic spectra of their temperate bacteriophages. Appl. Environ. Microbiol. 43 : 349 – 356.
- Roissart H, Luquet FM (1994). Méthodes d'Identification des Bactéries Lactiques. In : « Bactéries Lactiques ; Aspects fondamentaux et technologiques ». Vol 2. Coquand éd., Grenoble. France. pp. 141-167.
- SCARDOVI V., (1986): Genus *Bifidobacterium*. Dans Bergey's manuel of systematic bacteriology. 9ème Edition. Vol. Sneath PHA, Mair NS, Sharp ME, Holt JG (Ed). Williams and Wilkins. Publ. Baltimore: 1418 – 1434.
- SIEGUMFELDT . H, RECHINGER .KB AND JAKOBSON .M, 2000 Appl Environ Microbiol, 66 :2330-2335.
- Site web1 : [HTTPS://P.fr.wikipedia.org/wiki/traite_du_betail#cite_ref-1](https://P.fr.wikipedia.org/wiki/traite_du_betail#cite_ref-1)
- Site web2: [HTTPS://AGRONOMIE.INFO/FR/RACES-OVINES-ALGERIE](https://AGRONOMIE.INFO/FR/RACES-OVINES-ALGERIE)
- ST- GELAIT D D. et SAVOIE L., (1993). Coagulation of milk enriched with low mineral retentate powders. Milchwissenschaft, 48 (11) : 603 – 606.
- Sutra L, Federighi M, Jouve JL (1998). Bactéries lactiques. In: « *Manuel de bactériologie alimentaire* ». Polytechnica éd., Paris. France. pp. 235-260.
- TAGG J. R. HAJNA AMS et WARM. PNIKER L. W, (1976): Bacteriocins of Gram positive bacteria. Bacteriological Reviews. ZZ (3): 178 – 180.
- Vacheyrou, M., Normand, A.C, Guyot, P., Cassagne, C.,Piarroux, R., Bouton, Y. 2011. Int J Food Microbiol 146, 253–262.
- Verdier-Metz, I., Michel, V., Delbes, C., Montel, M.C., 2009.Food Microbiol.26, 305-310.
- VIGNOLA C. L., MICHEL J. C., PAQUIN P., MOINNEAU M., POULIOT M et SIMPSON R., (2002). Sciences et technologie du lait : Transformation du lait. Techniques et Documentation Lavoisier. 600 p.
- WATTIAU M. A., (2000). Mammites : La maladie et sa transmission. Inst : Babcock, L'université de Wisconsin.
- WOLFF R. L. et FABIEN R. J., (1998). Utilisation de l'isopropanol pour l'extract ion de la matière grasse de produits laitiers et pour l'estérification sub- séquente des acides gras.

Annexe

I. Milieux de cultures

MRS solide (De Man, Rogosa and Sharpe, 1960)

Extrait de levure	5 g
Extrait de viande	10 g
Peptone	10 g
Acétate de sodium	5 g
Citrate de sodium	2 g
Glucose	20 g
KH ₂ PO ₄	2 g
MgSO ₄	0,25 g
MnSO ₄	0,05g
Agar	15g

Eau distillée 1000 ml

pH = **6.2+/-0.2**

Autoclavage 120°C, 20 min

BOUILLON MRS

Extrait de levure	5 g
Extrait de viande	10 g
Peptone	10 g
Acétate de sodium	5 g
Citrate de sodium	2 g
Glucose	20 g
KH ₂ PO ₄	2 g
MgSO ₄	0,25 g
MnSO ₄	0,05 g

Eau distillée 1000 ml

pH = **6.2+/-0.2**

Autoclavage 120°C, 20 min

II. Appareillage

Etuve bactériologique.

Bain marie.

Réfrigérateur.

Autoclave

Vortex.

Balance de précision

Balance électrique.

Microscope optique.

Agitateur muni d'une plaque chauffante.

Autres matériels

Bec-benzène.

Boîtes de Pétri.

Tubes à essai.

Lames.

Lamelles.

Anse de platine.

Pipettes Pasteur.

Portoirs.

Flacons stériles

Glacière.

Résumé

Vingt-quatre isolats lactiques ont été obtenus à partir des laits de vache, de chèvre, et de brebis issu de la région de Jdiouia wilaya de Relizane ; afin de déceler les facteurs favorables au développement de certaines souches de bactéries lactiques. L'identification a été effectuée par de nombreux tests microbiologiques qui ont mené à la détermination des genres et des espèces différentes. Les résultats de cette étude montrent une présence majoritaire des bactéries lactiques sous forme de cocci avec (75%) de l'effectif total par rapport aux bacilles qui ont été retrouvées à des faibles pourcentages (25%). Cette distribution est influencée par une combinaison de plusieurs facteurs : les pratiques d'élevage, le climat, l'origine et la race animale.

Mots clés : Bactéries lactiques – facteurs favorables – lait de vache- lait de chèvre- lait de brebis.

Abstract

Twenty four lactic isolates were obtained from ewe and goat, cow's milks from area of the province of Relizane ; to studies a favorites factors to the developement of some stocks of lactic bacteria. The identification was made by many microbiological tests that led to the determination of the differant species and genera.. Data obtained showed predominance of cocci among lactic isolates (75%) while lactic rods represented only (25%) . This distribution is influenced by a combination of several factors: practices of breeding, climate, the origin and the animal race.

Key words: lactic bacteria - favorites factors - cow's milk - goat's milk- ewe's milk