

République Algérienne Démocratique et Populaire

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



جامعة عبد الحميد بن باديس  
مستغانم  
كلية علوم الطبيعة و الحياة

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE  
Mémoire de fin d'études

Présenté Par

DERDACHI Narimane - MAAZA Manel

Pour l'obtention du diplôme de

**MASTER EN BIOLOGIE**

Spécialité : Microbiologie appliquée

Thème

Etude de quelques aptitudes technologiques des bactéries  
lactiques du genre *Lactobacillus*

DEVANT LE JURY

<b>Président :</b>	M. CHERIGUENE Abderrahim	Professeur	U. Mostaganem
<b>Encadreur :</b>	M. DJIBAOUI Rachid	Professeur	U. Mostaganem
<b>Examineur :</b>	M. BEKADA Mohamed Ali	Professeur	U. Tissemsilt
<b>Co-encadreur :</b>	Mlle. Benkredda Fatima	Doctorante	U. Oran

*Année universitaire 2020-2021*

## **Remercîments**

*On adresse en premier lieu notre reconnaissance à notre DIEU tout puissant, de nous avoir permis d'en arriver là, car sans lui rien n'est possible.*

*Nous remercions vivement, notre encadreur le Professeur Monsieur « DJIBAOUI Rachid », pour avoir accepté de diriger et de guider notre travail ;*

*Grand merci à Melle. BENKREDDA Fatima pour l'aide et les précieux conseils qu'elle nous a prodigués.*

*Nos respects et nos chaleureux remerciements à Monsieur « CHERIGUENE Abderrahim », qui nous a fait l'honneur d'accepter de présider le jury d'évaluation de ce travail Merci pour sa disponibilité et son écoute.*

*Remerciements distingués à Monsieur BEKADA .M, qui nous a fait l'honneur d'accepter d'examiner et d'évaluer ce travail.*

*Nos plus sincères remerciements aux personnels de la laiterie littorale Mostaganem GIPLAIT, et au techniciens de laboratoire de microbiologie de l'Université Abdelhamid Ibn Badis Mostaganem pour leur aide et leur gentillesse durant notre période de stage.*

*Merci à tous nos camarades de la promotion de microbiologie appliquée 2020-2021.*

*Merci à toutes celles et ceux qui nous ont soutenues et aidés, de près ou de loin, dans l'élaboration de ce modeste travail.*

*Le plus grand merci à tous nos enseignants du département des sciences biologiques de l'université Abdelhamid Ibn Badis Mostaganem.*

## Dédicace

**A Maman et Papa** vos prières et vos bénédictions m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études. Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que vous méritez pour tous les sacrifices que vous n'avais cessé de me donner ;

**A Mon petit frère Saidou** qui occupe une place profonde dans mon cœur. Qu'Allah te protège et te prête la bonne santé et une longue vie ;

**A Ma chère tante Saloua** à qui je profite pour te dédier mon travail car tu as toujours été présente pour m'encourager et me soutenir dans les bons ainsi les durs moments tous le long de mon cursus universitaire ;

**A Ma chère tante Imene** à toi qui m'a toujours donnée amour et confiance surtout dans les moments de doutes ;

**A Mes Oncle Belkacem et Kamel** pour la confiance que vous me prodigués et qui m'a servi non seulement pour mes études sinon aussi pour la vie quotidienne ;

**A Mes Tantes Naima et Kheira** symbole de gentillesse et d'affection ;

**A Mes Oncle Fathi, Youcef, Mohamed et chafie**

**A mes grand parents paternel et maternel** qui mon toujours encouragé et soutenu durant toutes ma vie.

*A Mes camarades et âme sœurs Malika et Siham* qui ont supporté ma personne avec mes saut d'humeur et a qui non seulement je leur dédie mon travail sinon à qui je leur dis je vous aime ;

**A Riyadh et Fatima** Qui m'ont encouragé et soutenu.

*Tous mes amis(e) Houda, Merieme, Oussama, Ziad, Salah, Amine et Nadjib* je ne peux trouver les mots justes et sincères pour vous exprimer mon affection et mes pensées, vous êtes pour moi des frères et des amis sur qui j'ai pu compter durant ces années universitaires.

*Ma binôme Manel* avec qui j'ai partagé des moments difficiles et des moments agréables tous le long de ce travail.

**Narimane.**

## **Dédicace**

*Nous rendons grâce à Allah le tout puissant qui m'a donné la force et le courage d'avoir accomplir ce travail « hamdoalleh »*

*Dans la vie, en cas de réussite, on a tendance à attribuer le mérite à sois- même. Mais aujourd'hui et après tant d'effort **Je dédie cette réussite :***

*A **mes chers parents** qui m'ont soutenue et encouragée le long de mes études, avec leurs moyens matériels et morales, ainsi que leurs prières, de ma première année de l'enseignement primaire jusqu'à la rédaction de ces mots.*

*Je souhaite que vous restiez toujours près de moi et que DIEU vous protège et vous donne la bonne santé*

*Merci beaucoup **Papa** et **Mama** je vous aime beaucoup.*

*Lah ykhalikoum liya*

*C'est un moment de plaisir de dédier cet œuvre A **Mon chère frère Hichem** et **Mes chères sœurs Nermine** et **Abir** pour leur soutien moral et leurs conseils précieux tout au long de mes études.*

*Que dieu les protèges et leurs offre la Chance et le Bonheur.  
Merci pour leurs Amours et leurs Encouragements je vous aime.*

*A **Toute La Famille MAAZA** et **BENMAAROUF** et sans oublié la famille **BENSTAALI**.*

*Un Merci particulier a **Wafaa** qui n'a pas cessé de me conseiller, encourager et soutenir.*

*A Toute Mes Amies **Imene, Manel, Manel, Asma** et **Asmaa**. Qui m'ont encouragé et soutenu.*

*A Tout l'équipe et les travailleurs de Laiterie littoral Mostaganem **GIPLAIT** spécialement **Zoulikha, Hanaa** et **Djilali**.*

*Sans oublier Ma Binôme **Narimane** pour son soutien moral, sa patience et sa compréhension tout au long de ce projet.*

**Manel**

## ملخص

تعد بكتيريا حمض اللاكتيك جزءًا طبيعيًا من بيئتنا ونظامنا الغذائي ، وقد اكتسبت أهمية كبيرة من خلال وجودها في صناعة المواد الغذائية. في هذه الدراسة اخترنا 7 عزلات من جنس *Lactobacillus* من حليب البقر الطازج لدراسة قدراتها التكنولوجية. جمعت عينة الحليب من منطقة صيادة (مستغانم) وتم تنقية العزلات وتحديدتها مسبقا عن طريق الاختبارات المورفولوجية والفسولوجية والكيميائية الحيوية.

تشير نتائج بعض القدرات التكنولوجية إلى أن جميع السلالات تتمتع بقدرة جيدة على التخمير والتحلل للبروتين. سجلت السلالة N2 أكبر نشاط تخمير يقدر ب 125 درجة دورنيك. أظهرت هذه السلالات كفاءات أخرى وهي: إنتاج الدكستران، والنكهات وقوة تحليل الدهون والتي يمكن استغلالها في صناعة الألبان. من ناحية أخرى ، قمنا باختبار القدرة التثبيطية لعزلاتنا ضد ثلاث بكتيريا ممرضة *Staphylococcus aureus* و *Bacillus cereus* و *Proteus vulgaris*. بناءً على النتائج التي توصلنا إليها ، قامت عزلات *Lactobacillus* بتثبيط نوعين من البكتيريا مع مناطق تثبيط تتراوح من 4 مم إلى 19 مم. لذلك يمكن اعتبار حليب البقر كنظام بيئي يسمح بتنمية البكتيريا اللبنية ذات الأهمية التكنولوجية.

**الكلمات المفتاحية:** بكتيريا حمض اللاكتيك ، *Lactobacillus* ، حليب البقر ، المهارات التكنولوجية.

## Résumé

Les bactéries lactiques font naturellement partie de notre environnement et notre alimentation, elles ont acquis une grande importance par leur présence dans l'industrie alimentaire. Dans cette étude nous avons sélectionné 7 isolats du genre *Lactobacillus* à partir du lait cru de vache afin d'étudier leurs aptitudes technologiques. L'échantillon de lait a été collectés dans la région de Sayada (Mostaganem) et les isolats ont été purifiés et pré-identifiés par des tests morphologiques, physiologiques et biochimiques.

Les résultats d'estimation de quelques aptitudes technologiques indiquent que l'ensemble des souches présentent un bon pouvoir acidifiant et protéolytique. La souche 2N a enregistré la plus grande activité acidifiante avec 125°D. Ces souches ont montré d'autres aptitudes à savoir : pouvoir texturant, aromatisant et lipolytique qui peuvent être exploitées dans l'industrie laitière. D'une autre part nous avons testés le pouvoir antagoniste de nos isolats contre trois bactéries pathogènes *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* et *Proteus vulgaris*. D'après les résultats que nous avons obtenus, les isolats de *Lactobacillus* ont inhibés deux bactéries cibles avec des zones d'inhibition allant de 4mm à 19mm.

Donc le lait de vache peut être considéré comme un écosystème permettant le développement d'une microflore lactique à intérêt technologique.

**Mots clés** : Bactéries lactiques, *Lactobacillus*, lait de vache, aptitudes technologique.

## Abstract

Lactic acid bacteria are naturally part of our environment and our food, they have acquired great importance through their presence in the food industry. In this study we selected 7 isolates of the genus *Lactobacillus* from raw cow milk in order to study their technological abilities. The milk sample was collected in the Sayada region (Mostaganem) and the isolates were purified and pre-identified by morphological, physiological and biochemical tests.

The results of estimation of some technological abilities indicate that all the strains present a good acidifying and proteolytic activity. Strain 2N recorded the highest acidifying activity with 125°D. These strains have shown other abilities such as: texturizing, flavouring and lipolytic activity which can be exploited in the dairy industry. On the other hand, we tested the antagonistic activity of our isolates against three pathogenic bacteria *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* and *Proteus vulgaris*. According to the results we obtained, the *Lactobacillus* isolates inhibited two target bacteria with inhibition zones ranging from 4mm to 19mm.

Thus, cow's milk can be considered as an ecosystem allowing the development of a lactic microflora with technological interest.

**Key words:** Lactic bacteria, *Lactobacillus*, cow's milk, technological aptitude.

## Liste des figures

<b>Figure 01</b> : Arbre phylogénique des bactéries lactiques et comparaison avec les genres <i>Aerococcus</i> , <i>Bacillus</i> , <i>Listeria</i> et <i>Sataphylococcus</i> .....	12
<b>Figure 02</b> : Test du pouvoir acidifiant.....	27
<b>Figure 03</b> : Aspect des colonies sur gélose MRS, culture sur milieu MRS liquide.....	29
<b>Figure 04</b> : Observation microscopique des isolats après coloration de Gram (x1000) ....	29
<b>Figure 05</b> : Résultats du profile fermentaire.....	32
<b>Figure 06</b> : Aspect de colonies d'isolat lactique 2P sur gélose MSE .....	34
<b>Figure 07</b> : Production d'acétoine sur milieu Clark et Lubs .....	35
<b>Figure 08</b> : Hydrolyse de protéine par les isolats sur gélose MRS additionnée de 1% et 2% de lait écrémé.....	36
<b>Figure 09</b> : Activité lipolytique de l'isolat 3M.....	36
<b>Figure 10</b> : Activité antimicrobienne des isolats lactiques.....	38

## Liste des tableaux

<b>Tableau 01</b> : Composition moyenne du lait de différentes espèces .....	3
<b>Tableau 02</b> : Composition moyenne du lait entier .....	4
<b>Tableau 03</b> : Composition nutritionnelle moyenne du lait de vache.....	6
<b>Tableau 04</b> : Les différents genres de bactéries lactiques d'intérêt en microbiologie des aliments et leurs principales caractéristiques .....	9
<b>Tableau 05</b> : Rôle de quelques espèces de <i>Lactobacillus</i> utilisés en industrie.....	21
<b>Tableau 06</b> : Caractères morphologiques des bactéries lactiques isolés de lait cru de vache .....	30
<b>Tableau 07</b> : Résultats des tests de température .....	31
<b>Tableau 08</b> : Résultats du profile fermentaire.....	32
<b>Tableau 09</b> : Evolution d'acidité (en °D) des isolats testés au cours du temps .....	33
<b>Tableau 10</b> : Résultats du pouvoir antimicrobien .....	37

## Sommaire

ملخص

Résumé

Abstract

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

**Introduction** ..... 1

### Analyses bibliographiques

#### Chapitre I : Généralités sur le lait

1. Définition du lait.....	2
2. Propriétés physico-chimiques du lait .....	2
3. Composition du lait .....	3
4. Facteurs influençant la composition du lait .....	5
5. Qualité organoleptique du lait.....	5
5.1. La couleur .....	5
5.2. L'odeur.....	5
5.3. La saveur.....	5
5.4. La viscosité .....	5
6. Lait de vache .....	6
6.1. Caractéristiques de lait de vache .....	6

#### Chapitre II : Généralités sur les bactéries lactiques

1. Définition des bactéries lactiques.....	8
2. Habitats des bactéries lactiques .....	8
3. Caractéristiques des bactéries lactiques .....	9
4. Caractérisation génotypique des bactéries lactiques .....	10
5. Taxonomies et classification des bactéries lactiques .....	11
5.1. Le genre <i>Lactobacillus</i> .....	12
6. Exigences nutritionnelles des bactéries lactiques .....	13

6.1. Exigences en acides aminés.....	14
6.2. Exigence en vitamines .....	14
6.3. Exigence en bases azotés .....	14
6.4. Influence des cations.....	15
7. Facteurs influençant la croissance des bactéries lactiques .....	15
7.1. La température.....	15
7.2. Le pH .....	16

### **Chapitre III : Intérêt technologique des bactéries lactiques**

1. Les aptitudes technologiques des bactéries lactiques.....	17
1.1. Pouvoir acidifiant .....	17
1.2. Pouvoir protéolytique .....	18
1.3. Pouvoir lipolytique.....	18
1.4. Pouvoir texturant.....	19
1.5. Pouvoir aromatisants.....	19
1.6. Pouvoir antimicrobien.....	19
2. Intérêt des bactéries lactiques dans le domaine alimentaire .....	20
3. Intérêt des bactéries lactiques dans le domaine de la santé .....	21
4. Applications biotechnologiques des bactéries lactiques .....	22

#### **Matériel et méthodes**

1. Objectif de l'étude .....	23
2. Lieu de l'étude .....	23
3. Origine des souches.....	23
4. Analyses physico- chimiques du lait .....	23
4.1. Mesure de l'acidité titrable .....	23
5. Isolement et purification des bactéries lactiques .....	23
6. Conservation des bactéries .....	24
7. Pré-identification des isolats .....	24
7.1. Etude morphologique.....	24
7.1.1. Examen macroscopique.....	24
7.1.2. Examen microscopique.....	24
7.2. Etude biochimique .....	24

7.2.1. Recherche de catalase .....	24
7.2.2. Recherche du type fermentaire.....	24
7.2.3. Croissance en différentes concentrations de NaCl.....	25
7.2.4. Croissance en différentes températures .....	25
7.2.5. Croissance à pH 9.6 .....	25
7.2.6. Test de thermo-résistance .....	25
7.2.7. Fermentation des sucres.....	26
8. Evaluation des aptitudes technologiques.....	26
8.1. Pouvoir acidifiant .....	26
8.2. Pouvoir Texturant.....	27
8.3. Pouvoir aromatisant .....	27
8.4. Pouvoir protéolytique .....	28
8.5. Pouvoir lipolytique.....	28
8.6 Pouvoir antimicrobien.....	28
<b>Résultats et discussion</b> .....	29
<b>Conclusion</b> .....	39
<b>Références bibliographiques</b> .....	41
<b>Annexes</b>	

# **Introduction**

### Introduction

Les bactéries lactiques appartiennent à un groupe de bactéries bénéfiques, elles jouent un rôle essentiel dans la fermentation du lait et des matières premières animales et végétales (Mozzi *et al.*, 2010). Elles sont employées sous forme de ferments concentrés dans les industries de fermentation, dont l'une des plus importantes est l'industrie laitière (Bakhouché et Baoulahrouf, 2005). Leur capacité à fermenter les hydrates de carbone et, à un moindre degré, de dégrader les protéines et les lipides mène à la synthèse d'une large gamme de composés, tels que les acides organiques, les peptides, les composés antimicrobiens et aromatiques et les exo-polysaccharides. Ces métabolites peuvent contribuer aux caractéristiques organoleptiques, technologiques et nutritionnelles des aliments fermentés (Ganzele *et al.*, 2000 ; Delgado *et al.*, 2001 ; Taillez, 2001). L'isolement et la sélection des microorganismes de leurs milieux naturels sont parmi les méthodes les plus employées par les microbiologistes pour l'obtention de nouvelles souches performantes destinées à des fins industrielles (Béal *et al.*, 2008).

Parmi les bactéries lactiques *Lactobacillus* présente le genre le plus répandu. Cette bactérie ainsi que d'autres bactéries lactiques sont largement utilisés dans l'industrie laitière comme ferments acidifiants et comme producteur d'arôme.

Le but de cette présente étude est d'isoler, à partir du lait cru de vache, des bactéries lactiques du genre *Lactobacillus* pour étudier leurs aptitudes technologiques ainsi que leur pouvoir antagoniste contre des bactéries pathogènes.

Ce manuscrit est structuré en trois parties. La première partie est consacrée à une synthèse bibliographique articulée autour d'un premier chapitre sur le lait. Le deuxième chapitre donne une présentation sur les bactéries lactiques et le genre *Lactobacillus*, et le troisième sur les aptitudes technologiques des bactéries lactiques.

Dans la seconde partie du mémoire nous exposons le matériel et méthodes utilisés. La dernière partie est consacrée aux résultats et discussions suivi par une conclusion qui souligne les résultats marquant de ce travail et présente les perspectives de cette étude.

# Chapitre I

## 1. Définition du lait

Le lait est un liquide blanc, opaque, de saveur légèrement sucrée et caractérisé par un pH légèrement acide (6.6 à 6.8) (Yennek, 2010). Cet aliment complet et équilibré est sécrété par les glandes mammaires de la femme et par celles des mammifères femelles pour la nutrition des jeunes (Aboutayeb, 2009 ; Lot et Tahraoui, 2019). Le lait doit être recueilli proprement et ne doit pas contenir de colostrum (Debry, 2001).

Le lait cru est un lait qui n'a subi aucun traitement de conservation sauf la réfrigération à la ferme. La date limite de vente correspond au lendemain du jour de la traite. Le lait cru doit être porté à l'ébullition avant consommation (car il contient potentiellement des germes pathogènes). Il doit être conservé au réfrigérateur et consommé dans les 24h qui suivent (Fredot, 2006). Le lait doit être en outre collecté dans de bonnes conditions hygiéniques et présenter toutes les garanties sanitaires. Il peut être commercialisé en l'état mais le plus souvent après avoir subi des traitements de standardisation lipidique et d'épuration microbienne pour limiter les risques hygiéniques et assurer une plus longue conservation (Jeantel *et al.*, 2008).

Le lait du fait de sa qualité nutritionnelle, organoleptique et spécifique ; est recommandé à tous les âges correspondants aux besoins différents de l'Homme. Il est une source excellente en protéines ; mais apporte aussi de teneurs élevées en calcium (Vignola, 2002). Cet aliment complet occupe également une place prépondérante dans la ration alimentaire des Algériens et de ce fait, la filière lait connaît une croissance annuelle de 8 % (Silait, 2008).

## 2. Propriétés physico-chimiques du lait

Les propriétés physico-chimiques d'un lait cru dépendent de l'ensemble de ses constituants. Selon Vignola (2010), ces principales propriétés utilisées dans l'industrie laitière sont la masse volumique et la densité, le point de congélation, le point d'ébullition et l'acidité (Amiot *et al.*, 2002).

- La densité varie entre 1,028 et 1,035 à 15°C.
- L'acidité est de 15 à 17°D.
- Le point d'ébullition est à 100.5°C.

-Le point de congélation est de  $-0,530^{\circ}\text{C}$  à  $-0,575^{\circ}\text{C}$ . Un point de congélation supérieur à  $-0,530^{\circ}\text{C}$  est soupçonné par l'addition de l'eau.

- LepH varie entre 6,6 à 6,8 (Yennek, 2010).

### 3. Composition du lait

Composition interspécifique : les laits de mammifères ne sont pas identiques. Les laits des ruminants ont une valeur élevée en protéines et se distinguent aussi par une proportion importante d'acides gras à courte chaîne. Les laits de vache et de chèvre ont les compositions en lipides, protéines et lactose les mieux réparties (Sassi, 2019). Le lait de femme est moins riche en protéine que les laits de vache, de brebis, de chèvre et de chamelle (Cayot et Lorient, 1998). Le tableau 1 résume la composition moyenne des laits de différentes espèces de mammifères.

**Tableau 01 :** Composition moyenne du lait de différentes espèces (d'après Pereira 2014, Fayolle, 2015)

	Vache	Chèvre	Brebis	Femme
<b>Matières grasse(g /kg)</b>	36 à 37	32 à 38	73 à 79	38 à 40
<b>Protéines (g/kg)</b>	32 à 34	29 à 34	55 à 62	10 à 12
<b>Lactose (g / kg)</b>	46 à 48	41 à 43	44 à 49	60 à 70
<b>Matièresminérales (g /kg)</b>	7	9	8	2

Franworth et Mainville (2010) évoquent que le lait est reconnu depuis longtemps comme étant un aliment bon pour la santé. Source de calcium et de protéines, il peut être ajouté à notre régime sous plusieurs formes.

Le lait constitue une source nutritionnelle et énergétique importante. En effet, il contient des protéines de haute qualité et de matières grasses. En plus, il peut apporter une contribution significative aux besoins nutritionnels recommandés en calcium, magnésium, sélénium, riboflavine, vitamine B12 et acide pantothénique. L'eau constitue la composante majeur (98%) du lait qui se divise en plusieurs phases, à savoir ; une solution contenant les sucres, les protéines solubles, les minéraux et les vitamines hydrosolubles ; une solution colloïdale contenant les protéines, en particulier les caséines et une émulsion de matières grasses dans l'eau, le tableau 2 résume les différents constituants du lait qui rentrent dans la composition de ces phases (Alais *et al.*, 2008).

Selon Pougheon et Goursaud (2001) les principaux constituants du lait par ordre croissant sont les suivants :

- L'eau, très majoritaire,
- Les glucides principalement représentés par le lactose,
- Les lipides, essentiellement des triglycérides rassemblés en globules gras,
- Les sels minéraux à l'état ionique et moléculaire,
- Les protéines, caséines rassemblées en micelles, albumines et globulines solubles,
- Les éléments à l'état de trace mais au rôle biologique important, enzymes, vitamines et oligoéléments. La composition moyenne du lait entier est représentée dans le tableau 2, où Fredot (2006) rappelle que le lait est constitué de quatre phases :
- Une émulsion de matières grasses ou phase grasse constituée de globules grasses et de vitamines liposolubles (A, D).
- Une phase colloïdale qui est une suspension de caséines sous forme de micelle.
- Une phase aqueuse qui contient les constituants solubles du lait (protéines solubles, lactose, vitamines B et C, sels minéraux, azote non protéique).
- Une phase gazeuse composée d'O<sub>2</sub>, d'azote et de CO<sub>2</sub> dissous qui représentent environ 5 % du volume du lait.

**Tableau 02 :** Composition moyenne du lait entier (Fredot, 2006)

<b>Composants</b>	<b>Teneurs (g/100g)</b>
<b>Eau</b>	89,5
<b>Dérivés azotés</b>	3,44
<b>Protéines</b>	3,27
<b>Caséines</b>	2,71
<b>Protéines soluble</b>	0,56
<b>Azote nonprotéique</b>	0,17
<b>Matière grasse</b>	3,5
<b>Lipides neutre</b>	3,4
<b>Lipides complexes</b>	<0,05
<b>Composés liposolubles</b>	<0,05
<b>Glucides</b>	4,8
<b>Lactoses</b>	4,7
<b>Gaz dissous</b>	5% du volume de lait
<b>Extrait sec totale</b>	12,8 g

#### 4. Facteurs influençant la composition du lait

La composition du lait est variable elle dépend bien entendu du génotype de la femelle laitière (race, espèce) mais l'âge, la saison, le stade de lactation, l'alimentation sont des facteurs qui peuvent avoir des effets importants sur la composition du lait (Pougheon et Goursaud, 2001).

#### 5. Qualités organoleptiques du lait

Vierling (2003) rapporte que l'aspect, l'odeur, la saveur, la texture ne peuvent être précisés qu'en comparaison avec un lait frais.

**5.1. La couleur :** Le lait est de couleur blanche mat, qui est due en grande partie à la matière grasse, aux pigments de carotène (la vache transforme le B-carotène en vitamine A qui passe directement dans le lait (Fredot, 2005). Dans le lait, deux composants, les lipides sous forme de globules de matière grasse et les protéines sous forme de micelles de caséines diffractent la lumière. Ces agrégats dispersent les rayons lumineux sans les absorber et le rayonnement qu'ils renvoient, est identique en composition au rayonnement solaire, à savoir une lumière blanche (Reumont, 2009).

**5.2. L'odeur :** Selon Vierling (2003), l'odeur est une caractéristique du lait du fait de la matière grasse qu'il contient fixe des odeurs animales, elles sont liées à l'ambiance de la traite, à l'alimentation (les fourrages à base d'ensilage favorisent la flore butyrique, le lait prend alors une forte odeur). A la conservation (l'acidification du lait à l'aide de l'acide lactique lui donne une odeur aigrelette).

**5.3. La saveur :** La saveur du lait normal frais est agréable. Celle du lait acidifié est fraîche et un peu piquante. Les laits chauffés (pasteurisés, bouillis ou stérilisés) ont un goût légèrement différent de celui du lait cru.

**5.4. La viscosité:** Rheotest (2010) a montré que la viscosité du lait est une propriété complexe qui est particulièrement affectée par les particules colloïdes émulsifiées et dissoutes. La teneur en graisse et en caséine possède l'influence la plus importante sur la viscosité du lait. La viscosité dépend également de paramètres technologiques. La viscosité

est une caractéristique importante de la qualité du lait, étant donné qu'une relation intime existe entre les propriétés rhéologiques et la perception de la qualité par le consommateur.

## 6. Lait de vache

Le lait de vache est blanc, mat ou opalescent, il a une odeur très faible, une saveur douceâtre peu sucrée. Ce lait est le plus étudié et qui sert de référence. Les données sont des approximations quantitatives, qui varient en fonction d'une multiplicité de facteurs : race animale, alimentation et état de santé de l'animal, période de lactation, ainsi qu'au cours de la traite. Il reste que la composition exacte d'un échantillon de lait ne peut s'obtenir que par analyse (Roudaut et Lefrancq, 2005).

La production mondiale du lait de vache a enregistré une forte augmentation en 2011 (estimée à 2,4%), grâce à la bonne rentabilité des activités et à l'excellente qualité des fourrages et des pâturages dans beaucoup de grands pays producteurs (FAO, 2012).

### 6.1. Caractéristiques de lait de vache

Le lait de vache contient 3.2 à 3.5% de protéines réparties en deux fractions distinctes :

- Les caséines qui précipitent à pH 4.6, représentent 80% des protéines totales.
- Les protéines sériques solubles à pH 4.6, représentent 20% des protéines totales (Jeantet *et al.*, 2007).

**Tableau 03 :** Composition nutritionnelle moyenne du lait de vache (Alais *et al.*, 2008)

Composition	Concentrations (g/l)	Etat physique des composants
<b>Eau</b>	905	Eau libre (solvant) plus eau liée (3,7%)
<b>Glucide (lactose)</b>	49	Solution
<b>Lipide</b>		
<b>Matière grasse proprement dit</b>		
<b>Lécithine(phospholipides)</b>	0,5	Emulsion des globules gras (3 à 5 µm)
<b>Insaponification (stérol, carotène, tocophérol)</b>		
<b>Protéine</b>	34	Suspension micellaire
<b>Caséine</b>	27	Phosphocaséinate de Calcium (0,08 à 12 µm)
<b>Protéine soluble (globuline, albumine)</b>	2,5	Solution (colloïdale)
<b>Substances azotées non protéiques</b>	1,5	Solution (vraie)
<b>Sels</b>	9	Solution ou état colloïdale
<b>De l'acide citrique (en acide)</b>	2	
<b>De l'acide phosphorique (P<sub>2</sub>O<sub>3</sub>)</b>	2,6	
<b>Du chlorure de sodium (NaCl)</b>	1,6	
<b>Constituants divers (Vitamines, enzymes gaz dissous)</b>	Traces	
<b>Extrait sec total</b>	127	
<b>Extrait sec non gras</b>	92	

# Chapitre II

### 1. Définition des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques sont de très anciens micro-organismes, utilisés pour la fermentation des aliments depuis plus de 4000 ans, sans pour autant comprendre la base scientifique de leur utilisation (Drider et Prevost, 2009). Ce n'est qu'à la fin du 19<sup>ème</sup> siècle, époque des grandes découvertes de la microbiologie, que le groupe des bactéries lactiques ou bactéries de l'acide lactique a été défini par Orla-Jensen ; plus précisément en 1919. Ce dernier a réuni plusieurs genres caractérisés par leur capacité à fermenter les glucides en produisant de l'acide lactique (Tredez, 2008).

Les bactéries lactiques sont caractérisées par un métabolisme exclusivement fermentaire leur permettant, en utilisant des sucres fermentescibles tel que le glucose, de produire principalement de l'acide lactique mais aussi d'autres acides organiques (acide acétique, acide formique...) (Raynaud, 2006).

D'un point de vue nutritionnel, les bactéries lactiques se caractérisent par des exigences assez complexes, dont les acides aminés, les acides gras, les peptides, les vitamines, les glucides fermentescibles et les sels minéraux. Ces bactéries servent à de très nombreux procédés, aussi bien dans la transformation du lait, que dans la fermentation des végétaux, dans l'œnologie et dans la production des produits carnés fermentés (Guiraud, 1998). Cette importance et la rareté des risques sur la santé humaine ont conduit à la reconnaissance de leur statut GRAS (Generally Recognized As Safe) (Klaenhammer *et al.*, 2005).

### 2. Habitats des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques sont très fréquentes dans la nature. Elles sont généralement associées aux habitats riches en nutriments comme divers produits alimentaires (viande, boisson, végétaux), mais d'autres sont aussi membres du microbiote buccal, intestinal et vaginal (Salminen, 2004 ; Carina *et al.*, 2010). Elles constituent aussi la flore microbienne dominante responsable de la fermentation des céréales et des plantes fourragères ensilées (Carr *et al.*, 2002 ; Kotelnikova et Gelfand, 2002). Elles existent également en quantité considérable dans le lait et ses dérivés (lait fermenté, fromages ...), considérés comme habitats de la plupart des espèces lactiques (Holzapfel *et al.*, 2014). Les bactéries lactiques

sont présentes partout où il y a de fortes concentrations de glucides, de produits de dégradation des protéines, de vitamines et peu d'oxygène (Marteau, 2007).

### 3. Caractéristiques des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques sont des cocci, des cocobacilles ou des bâtonnets (bacilles) non sporulés à coloration de Gram positif (Corrieu et Luquet, 2008). La teneur en guanine et cytosine (G + C) de leur ADN est inférieure à 50% (à l'exception des bifidobactéries), elles sont capables de croître à des températures comprises entre 10°C et 45°C et à des pH allant de 4,0 à 9,5 (Galia, 2011). Elles sont généralement immobiles ne possédant ni catalase, ni nitrate réductase, ni cytochrome oxydase, leur type respiratoire est micro-aérophile ou anaérobie facultatif, elles ont des exigences nutritionnelles complexes en terme d'acides aminés, de peptides, de vitamines, de sels, d'acides gras et de sucres fermentescibles (Benazzouz, 2012).

Les principaux genres de bactéries lactiques sont répertoriés dans le tableau 1 :

**Tableau 04 :** Les différents genres de bactéries lactiques d'intérêt en microbiologie des aliments et leurs principales caractéristiques (Federighi, 2005).

Genre	Morphologie	Fermentation	Caractéristiques principales	Habitats principaux
<i>Lactobacillus</i>	Bacille	Homo-fermentaires et Hétérofermentaires	Thermophiles ou mésophiles	Homme, produits laitiers, carnés, végétaux
<i>Carnobacterium</i>	Bacilles	Hétérofermentaires	Psycrotrophes, peu acidotolérants	Produits carnés, poissons, produits laitiers
<i>Lactococcus</i>	Coque	Homofermentaires	Mésophiles croissance à 45 mais pas à 10°C, thermorésistants	Produits laitiers, végétaux
<i>Streptococcus thermophilus</i>	Coque	Homofermentaires	Thermophiles	Produits laitiers
<i>Enterococcus</i>	Coque	Homofermentaires	Mésophiles, halophiles	Intestin de l'homme et des animaux, Produits laitiers
<i>Pediococcus</i>	Coque en tétrade	Homofermentaires	Mésophiles, halophiles	Bière, produits végétaux, saucissons

<i>Tetragenococcus</i>	Coque en tétrade	Homofermentaires	Mésophiles	Saumures
<i>Leuconostoc</i>	Coque	Hétérofermentaires	Mésophiles	Produits végétaux, Produits laitiers.
<i>Oenococcus</i>	Coque	Hétérofermentaires	Mésophiles	Vin
<i>Bifidobacterium</i>	Forme irrégulière	Acide acétique et lactique	Mésophiles	Intestin de l'homme et des animaux

#### 4. Caractérisation génotypique des bactéries lactiques

De nombreuses techniques de génotypage peuvent être appliquées comme outils d'identification des espèces ou de différenciation des souches de bactéries lactiques au niveau clonal. Les principaux avantages de ces méthodes de typage basées sur l'ADN résident dans leur pouvoir de discrimination et dans leur applicabilité universelle. Des souches étroitement apparentées présentant des caractéristiques phénotypiques similaires peuvent désormais être distinguées de manière fiable par des techniques basées sur l'ADN, telles que l'ADN polymorphe amplifié de manière aléatoire (RAPD), le RFLP, la DGGE et la TGGE et l'analyse de restriction de l'ADNr amplifié (ARDRA) (Mohania *et al.*, 2008).

La classification moderne des bactéries lactiques est basée sur l'analyse des protéines et des acides nucléiques par la comparaison des molécules hautement conservées qui sont présentes chez tous les micro-organismes. Par conséquent, les gènes codant pour l'ARN ribosomal (ARNr), comprenant des domaines conservés et variables, sont choisis pour les études phylogénétiques (Holzapfel *et al.*, 2001). Le gène qui code pour l'ARNr 16S (*rrs*) possède l'ensemble des propriétés requises pour servir d'outil couvrant tous les niveaux taxonomiques, du règne à l'espèce et dans certains cas, à la sous espèce.

En se basant sur l'hybridation ADN-ADN et le séquençage du gène de l'ARNr 16S, la classification des bactéries lactiques a pu être affinée. Elle a permis de regrouper des espèces et d'en séparer d'autres en créant de nouveaux genres. La séparation du genre *Streptococcus* en : *Streptococcus sensu stricto*, *Lactococcus* et *Enterococcus*, le regroupement des espèces proches de *Lactobacillus* pour la création du genre *Carnobacterium*, ou celui des bactéries isolées du vin pour en créer le genre *Oenococcus* (précédemment classées dans le genre *Leuconostoc*) et l'apparition des genres

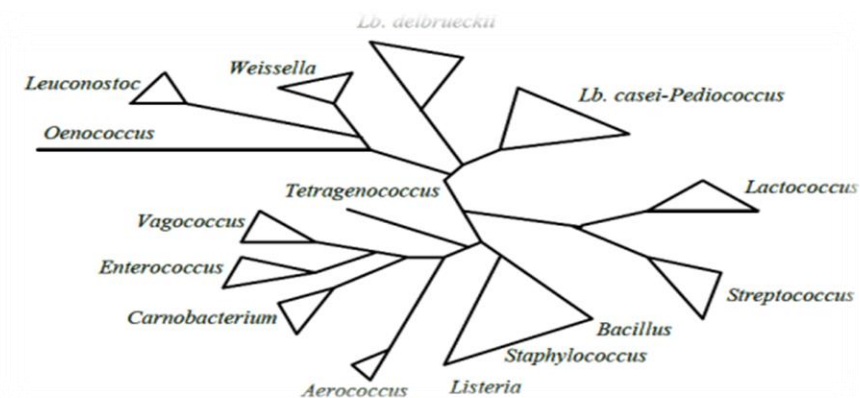
*Tetragenococcus* et *Aerococcus* à partir du genre *Pediococcus* ; formant ainsi des lignées phylogénétiques distinctes (Hammes et Hertel, 2006).

### 5. Taxonomies et classification des bactéries lactiques

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

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

Suivant la morphologie comme étant le critère descriptif de la classification des genres des bactéries lactiques, elles peuvent être divisées arbitrairement en bacilles (*Lactobacilles* et *Carnobacterium*) et coques (tous les autres genres) (Ho *et al.*, 2007). Le genre *Weissella* est le seul genre qui comporte à la fois des bacilles et des coques (Collins *et al.*, 1993 ; Ho *et al.*, 2007). Selon la dernière édition de *Bergey's manual of systematic bacteriology* (2009), les bactéries lactiques sont classées dans l'embranchement des *Firmicutes*, la classe des bacilli et l'ordre des lactobacillales, renfermant ainsi trente-cinq genres répartis sur six familles (Figure 01).



**Figure 01 :** Arbre phylogénétique des bactéries lactiques et comparaison avec les genres *Aerococcus*, *Bacillus*, *Listeria* et *Staphylococcus* d'après Axelsson (2004).

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

### 5.1. Le genre *Lactobacillus*

Le genre *Lactobacillus* a été créé par Beijerinck en 1901 (Corrieu et Luquet, 2008), il appartient au phylum des *Firmicutes*, la classe des *Bacilli*, et l'ordre *Lactobacillales*, il présente le genre plus grand et le plus hétérogène des bactéries lactiques incluant des espèces ayant des propriétés phénotypiques, biochimiques et physiologiques largement variées (Axelsson, 2004).

Les lactobacilles sont des bactéries à Gram positif, non sporulés, leur forme peut aller de bâtonnet long et fin, court au coccobacille, groupés en paires ou en chaînes, immobiles, catalase négatif (certains possèdent une pseudo-catalase), ils ont une teneur en guanineetcytosine (G+C) habituellement inférieure à 50%. Ils sont aéro-tolérants ou anaérobie, acidophiles, ils ont des besoins nutritionnels complexes comprenant des glucides, des acides aminés, des peptides, des esters d'acides gras, des sels, des dérivés d'acides

nucléiques et des vitamines) (Hammes et Vogel, 2012). Leur température de croissance optimale est souvent comprise entre 30 et 40°C bien que la température de croissance peut varier de 2 à 53°C; ils peuvent aussi se développer sur un intervalle de pH allant de 3 à 8 (Pot *et al.*, 2014).

Orla-Jensen en 1919 a subdivisé le genre de *Lactobacillus* en trois groupes selon la morphologie et la température de croissance en : *Thermobacterium*, *Streptobacterium* et *Betabacterium* (Guiraud, 2003).

- **Groupe I « *Thermobacterium* »** : comprend les lactobacilles homo-fermentaires obligatoires, thermophiles qui se développent à 45°C mais pas à 15°C. Fermentent le glucose et le gluconate sans production de CO<sub>2</sub>. Les espèces les plus fréquentes dans l'alimentation (Lait, yaourt, fromage) sont *Lactobacillus helveticus*, *L. jugurti*, *L. bulgaricus*, *L. lactis*, *L. acidophilus*, *L. leichamni*, *L. delbrueckii*, *L. kifirofaciens*, *L. mali*.
- **Groupe II « *Streptobacterium* »** : regroupe les lactobacilles homo-fermentaires mais qui peuvent être hétéro-fermentaires facultatives en fonction du substrat, mésophiles qui se développent à 15°C, le CO<sub>2</sub> est dégagé lors de la fermentation de gluconate et non produit lors de la fermentation du glucose. Il comporte les espèces *Lactobacillus casei*, *L. plantarum*, *L. curvatus*, *L. sake*, *L. acetotolerans*, *L. graminis* *L. rhamnosus*...
- **Groupe III « *Betabacterium* »** : rassemblant des lactobacilles hétéro-fermentaires. Le sous-groupe comporte les espèces *Lactobacillus fermentum*, *L. buchneri*, *L. brevis*, *L. viridiscens*, *L. kefir*, *L. fructivorans*, *L. hilgardii*, *L. sanfransisco* (Boullouf, 2016).

## 6. Exigences nutritionnelles des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques sont très exigeantes d'un point de vue nutritionnel. Plusieurs études ont montré leurs exigences en bases azotés, phosphatés et soufrés et en acides aminés et d'autres facteurs de croissances comme les vitamines et aussi des sels minéraux. Donc leur croissance nécessite des milieux de culture riches et complexes (Monnet *et al.*, 2008).

### 6.1. Exigences en acides aminés

Les bactéries lactiques exigent la fourniture exogène d'acides aminés pour leur croissance, car elles sont incapables d'en effectuer la synthèse à partir d'une source d'azote simple (Desmazeaud, 1992).

Les exigences nutritionnelles des bactéries lactiques ont été déterminées par leur aptitude à croître dans un milieu chimiquement défini (MCD). Ces besoins en acides aminés sont cependant variables d'une souche à une autre. D'une manière générale *Streptococcus thermophilus* est l'espèce la moins exigeante (6 acides aminés au maximum) alors que les lactobacilles sont auxotrophes pour un très grand nombre d'acides aminés (Monnet *et al.*, 2008).

### 6.2. Exigence en vitamines

Vis-à-vis des vitamines, toutes les espèces de lactobacilles présentent une exigence absolue pour le pantothenate de calcium (vitamine B5) de la riboflavine (vitamine B2) (sauf pour *Lactobacillus brevis* qui nécessite la thiamine-vitamine B1 et l'acide folique), de plus *L. lactis*, *L. bulgaricus* et *L. acidophiles* exigent la cobalamine (vitamine B12), *L. helveticus* exige la pyridoxine (vitamine B6), *L. acidophilus* l'acide folique, *L. casei* la pyridoxine et l'acide folique. Les lactocoques ont une exigence en niacine et en acide pantothénique. Les streptocoques thermophiles ont une exigence absolue en acide pantothénique et en riboflavine leur croissance est stimulée par la thiamine et la niacine la biotine et la pyridoxine (Luquet et Roissard, 1994).

### 6.3. Exigence en bases azotés

Les bases azotées peuvent être stimulantes pour la croissance des bactéries lactiques. De telles exigences proviennent de l'absence d'enzymes impliquées dans le métabolisme des pyrimidines et des purines (Monnet *et al.*, 2008).

Les streptocoques thermophiles présentent une exigence absolue pour les bases : adénine, guanine, uracile et xanthine tandis que les lactobacilles exigent la présence d'adénine, de cytidine, de désoxyguanosine, de guanine, de thymidine et d'uracile. En général, chez les lactobacilles, les exigences en bases azotées sont très variables selon les

souches ; l'addition de ces composés peut même, chez certaines souches, entraîner des phénomènes d'inhibition de la croissance (Desmazeaud, 1992).

#### 6.4. Influence des cations

Les bactéries lactiques ont un besoin en ion remarquable. En effet, les éléments minéraux jouent un rôle essentiel dans la croissance des bactéries lactiques et précisément dans les activités enzymatiques bactériennes. Certaines espèces telles que *Leuconostoc mesenteroides* ne peuvent pas croître en absence d'ions minéraux, ce qui indique l'exigence absolue pour ces éléments (Foucaud *et al.*, 1997).

Le magnésium est le principal cation divalent des cellules vivantes. C'est un activateur des différentes réactions métaboliques : division cellulaire, stabilisation des acides nucléiques ou hydrolyse peptidique. Cet ion est indispensable pour la croissance de *L. helveticus* (Desmazeaud, 1992).

Le manganèse est essentiel pour la croissance de quelques souches lactiques. En plus de son rôle de cofacteur de réactions enzymatiques, il permet chez certaines espèces de mieux tolérer l'oxygène par l'élimination de l'ion superoxyde. Le potassium est un cofacteur de nombreuses enzymes. Une concentration élevée de potassium est nécessaire pour la synthèse des protéines et la régulation du pH intracellulaire (Monnet *et al.*, 2008).

Les exigences en ions minéraux peuvent varier d'une espèce à autre.  $Mg^{2+}$ ,  $Mn^{2+}$ ,  $Na^+$ ,  $K^+$  et  $Cl^-$  ont été des composants essentiels dans le milieu de culture de *L. plantarum* (Wegkamp *et al.*, 2010). Tandis que  $Zn^{2+}$ ,  $Fe^{2+}$  et  $Mg^{2+}$  avait un effet significatif sur la croissance de *Lactococcus lactis* (Zhang *et al.*, 2009).

### 7. Facteurs influençant la croissance des bactéries lactiques

#### 7.1. La température

La température influence de façon importante le métabolisme des bactéries car elle intervient dans de nombreuses catalyses enzymatiques. Les bactéries lactiques regroupent des espèces mésophiles, dont la température optimale de croissance est proche de 30°C, et des espèces thermophiles, dont la température optimale est proche de 42°C. Le genre *Lactobacillus* comprend à la fois des espèces mésophiles (*L. rhamnosus*, *L. casei*, *L.*

*plantarum...*) et des espèces thermophiles (*L. delbrueckii*, *L. helveticus...*) (Monnet *et al.*, 2008).

La température optimale de croissance est généralement inférieure à la température optimale de production d'acide lactique (Béal *et al.*, 1989) mais, supérieure à la température préconisée pour la production de bactériocine (Lejeune *et al.*, 1998). Quand la température du milieu se situe en haut ou en bas de température requise pour la croissance optimale, l'activité microbienne est réduite et le microorganisme peut éventuellement se détruire (Rosso *et al.*, 1995).

## 7.2. Le pH

Le pH du milieu influence fortement la croissance des bactéries lactiques. Des changements même faibles du pH interne des bactéries lactiques de l'ordre du dixième d'unité peuvent avoir des influences importantes sur leurs activités métaboliques. L'aptitude des BL à réguler le pH intracellulaire est un élément physiologique important car lors de leur culture, elles acidifient le milieu ce qui entraîne une baisse de leurs taux de croissance, jusqu'à l'arrêt complet surtout pour celles qui ne sont pas aptes à maintenir un pH voisin de la neutralité (Canteri, 1997). Toutefois, pour les souches non protéolytiques (*Leuconostoc lactocoque* protéase moins), l'arrêt de la croissance est généralement dû à un manque de nutriments azotés (Monnet *et al.*, 2008). Lors de la fermentation, il importe de tenir compte de l'effet du pH de culture sur la viabilité et l'activité des bactéries. Le contrôle du pH au cours de la culture, permet d'une part de stabiliser le pH intracellulaire à une valeur supérieure à la valeur critique de la bactérie (Cachon *et al.*, 1998) et d'autre part, de maintenir l'acide lactique excrété par la cellule sous une forme dissociée afin de limiter l'inhibition créée par sa forme non dissociée (Amrane et Prigent, 1999 ; Béal *et al.*, 2008).

# Chapitre III

## 1. Les aptitudes technologiques des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques présentent des activités métaboliques très diversifiées et une capacité d'adaptation à différents environnements. Cette diversité leur donne un grand intérêt industriel d'où leur large spectre d'application dans de nombreux domaines alimentaires, pharmaceutiques, agricultures, vétérinaires ...etc. (Streit *et al.*, 2007).

### 1.1. Pouvoir acidifiant

On entend par pouvoir acidifiant la capacité d'une culture inoculée sur milieu standard (lait pasteurisé) de produire de plus ou moins grandes quantités d'acide lactique dans un intervalle de temps donné (Sozzi et Astruc, 1972).

La fonction acidifiante constitue la propriété métabolique la plus recherchée des bactéries lactiques utilisée dans les industries alimentaires. Afin de réaliser une caractérisation technologique des souches, il est utile de mesurer l'activité acidifiante. Ce pouvoir se manifeste par la production de l'acide lactique issu de la fermentation des hydrates de carbone au cours de la croissance bactérienne (Allouache et Smaoun, 2017).

*Lactococcus lactis* subsp. *Lactis* et *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* et un biovar de la sous-espèce *lactis*, nommé *diacety lactis*, sont les trois bactéries lactiques les plus fréquemment citées pour leurs aptitudes acidifiantes et leurs rôles majeurs dans la fermentation de certains aliments (Casalta *et al.*, 1995 ; Lafarge *et al.*, 2004).

La production d'acide lactique est une des principales fonctions des lactobacilles, car la quantité produite par ces derniers est supérieure à celles formée par les autres genres utilisés industriellement. Plusieurs espèces bactériennes appartenant au genre *Lactobacillus*, telles que *plantarum*, *delbrueckii*, *sakei*, *casei*, et *lactis*, ont été largement utilisées pour la production d'acide lactique (Beitel *et al.*, 2020).

Selon Béal *et al.*, (2008) les conséquences, d'ordre physico-chimique et microbiologique, de ce pouvoir acidifiant peuvent se résumer ainsi par :

- l'accumulation d'acide lactique participant à la saveur des aliments fermentés.
- l'abaissement progressif du pH des milieux de culture et des matrices alimentaires.

- la déstabilisation des micelles de caséines, la coagulation des laits et la participation à la synérèse. Du point de vue technologique, l'acidification participe aux propriétés rhéologiques (texture et saveur) du produit final.
- la limitation des risques de développement des flores pathogènes et d'altération dans les produits finaux ainsi au cours de la croissance (Dib, 2015; Boullouf, 2016)

### 1.2. Pouvoir protéolytique

La plupart des bactéries lactiques, possèdent un système protéolytique, capable d'hydrolyser les protéines en peptides et acides aminés. L'arsenal enzymatique lié à ce système de protéolyse est composé d'une protéase ancrée à la paroi capable de dégrader les lacto-protéines, d'un système de transport des peptides dégradés et des acides aminés, et d'un pool de peptidases intracellulaires indispensables à la dégradation des peptides internalisés (Galia, 2011).

L'activité protéolytique des bactéries lactiques joue un rôle important lors de l'opération d'affinage des différents types de fromages. Elle est à l'origine du goût typique, de la flaveur désirée et de la texture caractéristique du produit fini (Tchamba, 2007). Les lactobacilles présentent généralement une activité protéolytique plus prononcée que les lactocoques (Donkor *et al.*, 2007 ; Monnet *et al.*, 2008 ; Roudj *et al.*, 2009).

### 1.3. Pouvoir lipolytique

L'activité lipolytique des bactéries lactiques, contribue généralement à développer les qualités organoleptiques du produit (fromage) lors des étapes ultérieures de sa fabrication. Ceci est dû à la présence d'enzymes lipases qui génèrent des acides gras libres, précurseurs importants des réactions cataboliques qui produisent des composés volatiles contribuant à la flaveur du fromage. Dans l'industrie laitière, on exploite cette propriété lipolytique de façon contrôlée dans la production de certains fromages comme le Brie et le Saint-paulin, car une lipolyse trop poussée se traduira par une détérioration du goût (Dellali, 2012).

Les propriétés lipolytiques des bactéries lactiques sont généralement faibles et varient d'une espèce à une autre. En effet, il a été démontré que les *Lactobacillus* et

*Streptococcus thermophilus* présentent des activités lipolytiques faibles à comparer par les lactocoques qui eux sont considérés plus lipolytiques (Béal *et al.*,2008).

#### 1.4. Pouvoir texturant

La capacité des bactéries lactiques à synthétiser des exo-polysaccharides (EPS) joue un rôle important pour la consistance et la rhéologie des produits transformés (Welman et Maddox, 2003 ; Ruas Madiedo *et al.*,2002). Ces composés polymères sont généralement considérés comme des agents épaississants naturels en industrie alimentaire.

Les *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *Bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus* produisant des EPS sont utilisés en tant que starters fonctionnels dans la fabrication des yaourts, ceci afin d'améliorer la texture, et augmenter la viscosité des produits finis (Durlu-Özkayaf *et al.*,2007 ; Amatayakul *et al.*, 2006). L'utilisation des EPS produits par les souches *Lactococcus lactis* ssp. *Cremoris* est très prometteuse pour la structure et la viscosité des produits laitiers fermentés (Leroy et De Vuyst, 2004 ; Ho *et al.*, 2007).

#### 1.5. Pouvoir aromatisants

Les bactéries lactiques sont capables de produire de nombreux composés aromatiques (tels que : l'a-acétolactate, l'acétaldéhyde, le diacétyl, l'acétoïne et le 2,3-butanediol, l'éthanol, l'acétate, le formiate, ...etc.) principalement à partir du lactose, du citrate, des acides aminés et des matières grasses (Bourgeois et Larpent, 1996 ; Gerrit *et al.*, 2005 ; Cholet, 2006). Cette fonctionnalité particulièrement importante participe aux qualités organoleptiques des laits fermentés, fromages, crème et beurre, dont l'arôme principal est lié à cette activité microbienne (Allouache et Smaoun, 2017).

Les *Lactobacillus* (*L. helveticus*, *L. bulgaricus*) synthétisent de l'acétaldéhyde. La teneur en acétaldéhyde est à la fois fonction de son degré de synthèse et du rythme de sa dégradation (Vignola,2002).

Les *Leuconostoc* hétéro-fermentaires sont souvent associés aux lactocoques dans la production de composants aromatiques (éthanol, acide acétique, diacétyl et acétoïne) (Mahaut *et al.*,2000).

### 1.6. Pouvoir antimicrobien

Les bactéries lactiques produisent une variété de composés antimicrobiens qui sont utilisés dans la fermentation et la bio-conservation des aliments (Labioui *et al.*, 2005). Le pouvoir antagoniste est dû à la production de plusieurs métabolites, ces derniers sont capables d'inhiber le développement des microorganismes indésirables et/ou pathogènes sans pour autant modifier les propriétés organoleptiques du produit (Nguyet Thu, 2008).

Les acides organiques, comme l'acide lactique, l'acide acétique ou l'acide propionique, élaborés lors de la fermentation des glucides, peuvent inhiber des levures, des moisissures et des bactéries. Le peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) produit par les bactéries lactiques s'accumule dans l'environnement et peut inhiber certains microorganismes. Les bactéries lactiques hétéro-fermentaires synthétisent du dioxyde de carbone comme métabolite secondaire. Son accumulation dans le milieu extérieur crée une anaérobiose qui s'avère toxique pour certains microorganismes aérobies présents dans l'aliment. Le diacétyl peut inhiber la croissance des bactéries à Gram négatif, des levures et moisissures (Alakomi *et al.*, 2000 ; Ammor *et al.*, 2007).

### 2. Intérêt des bactéries lactiques dans le domaine alimentaire

Les bactéries lactiques permettent la conversion d'une grande variété de matières premières, conduisant ainsi à de nombreux produits : les laits fermentés, les fromages, les olives fermentés et certains vins (Axelsson, 2004 ; Streit *et al.*, 2007). Les souches de *Lactobacillus bulgaricus*, *Sterptococcus thermophilus* sont utilisées pour la production du yaourt, des fromages et des laits fermentés (Yateem *et al.*, 2008) (tableau 5).

L'utilisation des bactéries lactiques a pour but l'amélioration des caractéristiques organoleptiques des produits fermentés et par conséquent augmenter la durée de leur conservation sans pour autant utiliser de conservateurs chimiques, et ce grâce aux substances antimicrobiennes qu'elles produisent (Dortu et Thonart, 2009). Les souches utilisées en industrie alimentaire doivent répondre à certains critères : absence de pathogénicité ou activité toxique, capacité d'améliorer les caractéristiques organoleptiques, innocuité, facilité de culture, de conservation, et maintenance des propriétés désirables lors du stockage (Marth et Steele, 2001).

**Tableau 05 :** Rôle de quelques espèces de *Lactobacillus* utilisés en industrie (Lamontagne *et al.*, 2002).

Espèces	Emploi en industrie	Rôle
<i>Lb.bulgaricus</i>	Yaourt- Fromage (Mozzarella...)	Acidification en cours de production protéolyse en cours de maturation libération de galactose pour le brunissement production d'arômes et de polysaccharides (yoghourt).
<i>Lb.helveticus</i>	Fromages (Suisse, Mozzarella...)	Acidification en cours de production prévention de l'amertume (peptidase).
<i>Lb.Casei</i>	Yoghourt - Fromage (Cheddar...)	Un peu d'acidification en cours de production contribution au caractère probiotique.
<i>Lb.Acidophilus</i>	Yaourt - Lait acidophile	Acidification en cours de production contribution au caractère probiotique.
<i>Lb.Kefir</i>	Kéfir	Acidification en cours de production.

### 3. Intérêt des bactéries lactiques dans le domaine de la santé

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

Les bactéries les plus fréquemment utilisées comme probiotiques sont des *Lactobacillus* et des *Bifidobacterium* (Khan et Ansari,2007). Les bénéfices potentiels des probiotiques vont de la suppression de l'activité de certains pathogènes à l'amélioration de l'utilisation du lactose, de la réduction du cholestérol sanguin et du niveau de substances carcinogènes, l'inactivation de composés toxiques ainsi que la stimulation du système immunitaire ; donc ces micro-organismes sont bénéfiques pour la santé de l'hôte (Ninane *et al.*,2009).

Différentes études ont démontré le rôle préventif aussi bien que curatif des bactéries lactiques sur plusieurs types des diarrhées (Mkrtchyan *et al.*,2010). D'autres ont cité leur capacité de diminuer les allergies liées aux aliments grâce à leur activité protéolytique (Elghaish *et al.*,2011).

#### **4. Applications biotechnologiques des bactéries lactiques**

Les bactéries lactiques sont au service de la conservation (bio-préservation) des aliments. Elles agissent sur les textures et les saveurs qui se révèlent différentes de celles de l'aliment à son état originel (Tabak and Bensoltane, 2011).

Fréquemment associées et de manière positive à l'alimentation humaine, à travers la fermentation d'une grande variété de produit, elles sont présentes en tant que flore technologique dans les produits laitiers (yaourts, fromages), les produits carnés (charcuteries), les produits végétaux (choucroute, pickles, olives fermentées), les levains de panification et les boissons alcoolisées (vins, bières blanches, saké). Ayant la capacité de produire diverses molécules antimicrobiennes, ces bactéries peuvent être employées comme alternative biologique pour contrecarrer le phénomène de résistance de certains agents pathogènes (Mechai, 2017).

Plusieurs molécules produites aussi par ces bactéries, trouvent leur intérêt industriel et médical. Jouant un autre rôle de probiotiques, elles apportent beaucoup de bénéfices pour la santé en améliorant par exemple le transit gastro-intestinal, en prévenant des gastroentérites et des maladies inflammatoires de l'intestin (Mechai, 2017).

# **Matériel et méthodes**

### 1. Objectif de l'étude

Cette étude vise à isoler et à identifier des bactéries lactiques à partir de lait cru de vache et à l'étude de quelques aptitudes technologiques de ces bactéries. Ce travail montre aussi le pouvoir antagoniste de ces isolats vis-à-vis quelques souches pathogènes.

### 2. Lieu de l'étude

Cette étude a été réalisée conjointement, au sein de la Laiterie Littoral Mostaganem GIPLAIT, et au niveau du laboratoire de microbiologie de l'université Abd Al-Hamid Ibn Badis (Mostaganem).

### 3. Origine des souches

Les bactéries lactiques étudiées ont été isolées à partir du lait de vache collecté dans la région de Sayada (Mostaganem).

### 4. Analyses physico- chimiques du lait

#### 4.1 Mesure de l'acidité titrable

Il s'agit d'un titrage acido- lactique qui est neutralisé par une solution d'hydroxyde de sodium (NaOH). L'addition du NaOH est faite dans 10ml de lait jusqu'à l'apparition d'une coloration rose claire en présence de trois gouttes de phénolphtaléine comme indicateur coloré.

### 5. Isolement et purification des bactéries lactiques

L'isolement des lactobacilles a été réalisé sur gélose MRS (Man, Rogosa et Sharpe) avec un  $\text{pH} = 6.4 \pm 0.2$ . Nous avons additionné 1 ml de lait de vache à 9 ml d'eau physiologique (NaCl à raison de 0.9%), une série de dilutions décimales a été préparé ( $10^{-1}$  à  $10^{-6}$ ). Ensuite nous avonsensemencé 1 ml de chaque dilution en profondeur du milieu MRS. Après solidification les boîtes de Pétri sont incubées en anaérobiose à  $37^{\circ}\text{C}$  pendant 48h (De Man *et al.*, 1960).

La purification consiste à réaliser des repiquages successifs sur gélose et bouillon MRS, l'incubation est faite à  $37^{\circ}\text{C}$  pendant 24h, jusqu'à l'obtention des colonies pures. La pureté des souches est révélée par des colonies homogènes ayant le même aspect extérieur (couleur, taille et forme) (Guiraud, 2004).

## 6. Conservation des bactéries

Après purification, les isolats ont été ensemencés sur gélose MRS inclinée en tubes, ensuite incubés à 37°C pendant 48h. Les cultures en tubes ont été conservées à 4°C jusqu'à réactivation.

## 7. Pré-identification des isolats

### 7.1. Etude morphologique

**7.1.1. Examen macroscopique :** Cet examen nous a permis de déterminer l'aspect, la taille, la forme, et la couleur des colonies des cultures bactériennes obtenues sur gélose MRS(Hassaine,2013).

**7.1.2. Examen microscopique :** Nous avons effectué une observation après coloration de Gram qui nous a permis de connaître le type de Gram ainsi que la morphologie des cellules bactériennes (Denis *et al.*, 2011).

### 7.2 Etude biochimique

#### 7.2.1. Recherche de catalase

La catalase est une enzyme retrouvée chez la plupart des bactéries aérobies strictes et anaérobies facultatives. En effet, En présence d'oxygène moléculaire, certaines réactions métaboliques conduisent à la formation d'eau oxygénée qui est un composé cellulaire toxique, la catalase empêche l'accumulation de cette eau oxygénée en la décomposant en eau et en oxygène (Delarras, 2007).



Sur une lame en verre propre, nous avons déposé une goutte d'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, puis nous l'avons mis en contact avec une colonie isolée, prélevée directement du milieu avec une pipette pasteur boutonnée. La présence de l'enzyme catalase se traduit par la formation des bulles d'air (Delarras, 2007).

#### 7.2.2. Recherche du type fermentaire

Ce test permet de différencier entre les bactéries lactiques homo-fermentaires et hétéro-fermentaires. Il consiste à mettre en évidence la production du gaz (CO<sub>2</sub>) et de savoir ainsi le type fermentaire. Des cultures jeunes préalablement préparées sont ensemencées dans des tubes contenant du MRS liquide, avec une cloche de Durham stérile. Après incubation à 37°C pendant 24 à 48 heures, la présence ou l'absence de gaz dans la cloche indique le type

fermentaire (Hariri *et al.*, 2009). Les souches homo-fermentaires vont produire 90% d'acide lactique, et seulement 10% de CO<sub>2</sub>, par contre les souches hétéro-fermentaires vont produire en plus de l'acide lactique le CO<sub>2</sub>, a proportions égales (Carr *et al.*, 2002).

### **7.2.3. Croissance en différentes concentrations de NaCl**

La méthode consiste àensemencer des bouillons à 4% et 6,5% de NaCl par des cultures jeunes et incubation à 37°C pendant 24 heures (Hariri *et al.*, 2009 ; Guiraud, 2003). La croissance de ces bactéries se manifeste par un trouble du milieu en comparaison avec un tube témoin non ensemencé (Carr *et al.*, 2002 ; Axelsson, 2012).

### **7.2.4. Croissance en différentes températures**

Chaque microorganisme a sa température optimale de croissance, notamment les bactéries lactiques dont on peut les deviser en deux groupes : les thermophiles et les mésophiles.

Ce test a pour but de différencier les souches (Fereidoun *et al.*, 2012). Il est effectué par ensemencement d'une culture pure et jeune (18 heures) dans un bouillon MRS incubée à 10°C pendant 7 à 10 jours et à 45°C pendant 24 à 48 heures. La turbidité des tubes ensemencés est comparée à un milieu de culture non ensemencé et incubé dans les mêmes conditions (Carr *et al.*, 2002 ; Badis *et al.*, 2004).

### **7.2.5. Croissance à pH 9.6**

Ce test permet de distinguer les souches qui se développent ou non en milieu basique. Le bouillon MRS est ajusté à pH 9.6 (hyperalcalin) et les tubes sont ensemencées puis incubés à 37°C pendant 24 à 48h (Guiraud, 2003). Le pH 9.6 est obtenu par l'addition d'une solution de NaOH. La croissance se manifeste par un trouble du bouillon MRS (Guiraud, 1998).

### **7.2.6. Test de thermo-résistance**

Des tubes contenant 10 ml de MRS liquide sont inoculés par les souches testées, ensuite les tubes sont déposés dans un bain marie à 60.5°C pendant 30 minutes suivi par un refroidissement, ensuite ils sont incubés à 37°C pendant 24 à 48h. Un résultat positif se traduit par un trouble (Rouissat et Bensoltane, 2006).

### 7.2.7 Fermentation des sucres

Les bactéries lactiques dégradent différemment les sources de carbone. L'étude de la fermentation des sucres est réalisée sur le bouillon MRS (sans glucose et extrait de viande), additionné de pourpre de bromocrésol comme indicateur de pH (MRS-BCP) (Badis *et al.*, 2004). Les sucres ont été ajoutés stérilement au milieu. Toutes les souches ont été testées pour la fermentation des sucres suivant : glucose, mannitol, lactose et saccharose. On ensemence le contenu des tubes avec les souches à tester et on les incube à 37°C pendant 24h à 48h.

Le virage de la couleur du milieu du violet au jaune indique la fermentation du sucre (Hariri *et al.*, 2009, Guetouache et Guessas, 2015).

## 8. Evaluation des aptitudes technologiques

### 8.1. Pouvoir acidifiant

L'un des critères technologiques les plus importants chez les bactéries lactiques, c'est leur cinétique de production de l'acide lactique (Hassain, 2013). Ce test est réalisé pour mettre en évidence la capacité d'une culture inoculée sur milieu standard (lait pasteurisé), à produire une grande quantité d'acide lactique (Larpen, 1997).

Des souches de culture jeune de 18h ont été ensemencées dans des flacons contenant du lait écrémé et incubé à 37°C.

Après incubation, à un intervalle du temps 2h, 6h et 24h ; 10ml du lait est prélevé puis titré par la soude Dornic (N/9) en présence de 5 gouttes de phénolphaléine, jusqu'au virage de la couleur au rose pâle persistant au moins 10 secondes (Larpen, 1997).

L'acidité est déterminée par la formule :

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

Où :

**V NaOH:** Volume de NaOH utilisé pour titrer l'acide lactique contenu dans les 10ml de lait.

L'acidité est exprimée en degré Dornic ou 1°D = 0.1g/l d'acide lactique.



**Figure 02 :** Test du pouvoir acidifiant

### **8.2. Pouvoir Texturant**

Les souches à tester ont été ensemencées sur gélose MSE déjà coulée et solidifiée, puis incubées à 37°C pendant 24 à 48h. La production des exo-polysaccharides se manifeste par l'apparition des colonies larges, visqueuses et gluantes (Hadeif, 2012).

### **8.3. Pouvoir aromatisant**

Ce test permet la distinction entre les ferments acidifiants et ceux aromatisants, qui est mise en évidence par la réaction de Voges Proskauer, celle-ci est basée sur la présence d'acétyl-méthyl-carbinol (AMC), connue sous le nom d'acétoïne qui se révèle par la réaction de Barri (Leveau *et al.*, 1991 ; Delarras, 2007). Les souches ont été ensemencées dans des tubes contenant le milieu Clark et Lubs et incubées à 37°C pendant 24h.

Dans un tube à essai, 2ml de cette culture sont transvasés, 3 gouttes de réactif VP1 et 3 gouttes de VP2, on agite soigneusement les tubes et on laisse au repos 5 à 10 min à température ambiante. La production d'acétoïne se traduit par l'apparition d'un anneau ou la diffusion de la couleur rouge à la surface du milieu. Un VP positif signifie que la souche possède une voie métabolique particulière pour la fermentation des hexoses, la voie butylène-glycolique (Zourari *et al.*, 1992 ; Guessas *et al.*, 2006).

### 8.4. Pouvoir protéolytique

L'activité protéolytique des bactéries lactiques est recherchée en milieu MRS gélosé additionné de lait écrémé à 1% et 2% selon la méthode de (Van Den Berg *et al.*, 1996).

Pour déterminer l'activité protéolytique des bactéries lactiques, la gélose du milieu protéolytique (Agar au lait écrémé) a été coulée, solidifiée et séchée. Ensuite les souches lactiques issues des pré-cultures de 18h, sontensemencées par touche à l'aide de l'écouvillon. Les boîtes sont incubées à 37°C pendant 24 à 48h. La protéolyse est révélée par l'apparition des zones claires autour des souches (Veuillemard, 1986).

### 8.5. Pouvoir lipolytique

L'activité est recherchée sur milieu MRS solide contenant une concentration de 1% de Tween 80 comme unique source lipidique. Les souches isolées ont étéensemencées par touche à partir des cultures jeunes. Après incubation à 37°C pendant 7 à 10 jours l'activité lipolytique se traduit par l'apparition d'un halo opaque autour de la colonie (Guiraud et Galzy, 1980).

### 8.6. Pouvoir antimicrobien

Ce test consiste à étudier l'antagonisme des bactéries lactiques vis-à-vis des souches référenciées, dans cette étude on a utilisé quatre souches pathogènes : *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Proteus vulgaris* et *Staphylococcus aureus*.

Cette méthode a été réalisée selon les étapes suivantes :

Des cultures jeunes de 18h ont été préparées, Ensuite les souches référenciées considérés comme pathogènes ont étéensemencées à l'aide d'un écouvillon sur milieu MH. Les souches isolées ont étéensemencées par touche à partir des cultures jeunes à l'aide d'un écouvillon et les boîtes sont incubées à 37°C pendant 24 à 48h. L'inhibition se révèle par la présence d'une zone transparente autour des souchesensemencées en touches. La lecture des résultats est réalisée par la mesure des diamètres des halos d'inhibitions (Fleming *et al.*, 1975).

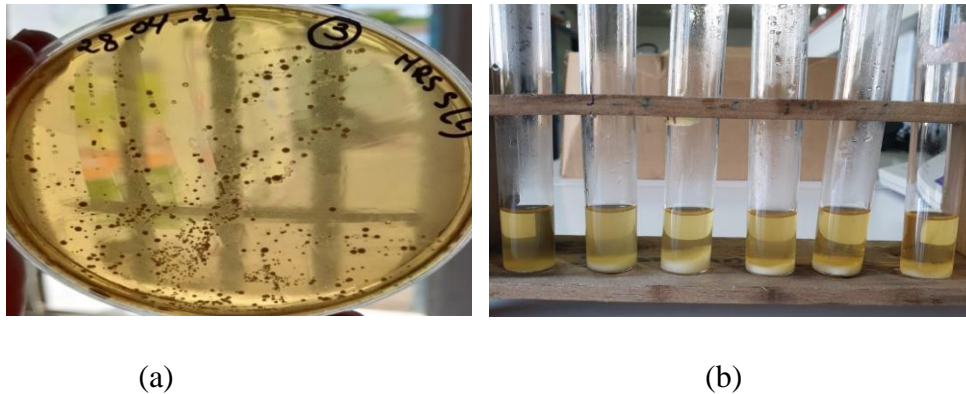
# **Résultats et discussion**

## 1. Pré-identification des bactéries lactiques isolées et purifiées

### 1.1. Etude morphologique

#### 1.1.1. Examen macroscopique

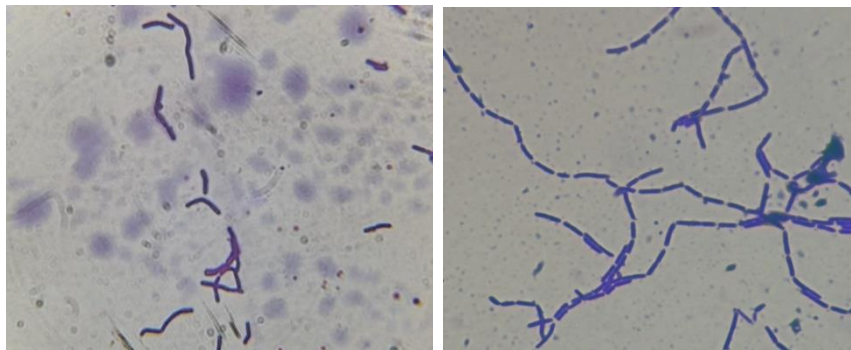
Les caractères morphologiques des colonies obtenues à 37°C sur gélose MRS, sont illustrés dans le tableau 6. Les résultats de l'examen macroscopique nous ont permis de révéler que les colonies des bactéries étudiées sont rondes de couleur blanchâtre et crémeuses (figure 03, a), ces caractères ressemblent à ceux trouvés par (Kihal, 1996 ; Carr *et al.*, 2002 ; Badis *et al.*, 2005) ainsi nos isolats dégagent une odeur particulière semblable à celle des laits fermentés due à la production d'acide lactique. La croissance en milieu liquide est caractérisée par l'apparition du trouble en bas du tube (figure 3, b).



**Figure 03 :** a) aspect des colonies sur gélose MRS, b) culture sur milieu MRS liquide

#### 1.1.2. Examen microscopique

La coloration de Gram a montré que les souches étudiées sont des bacilles à Gram positif (figure 04).



**Figures 04:** Observation microscopique des isolats après coloration de Gram (x100)

L'identification de genre repose sur la comparaison des divers caractères phénotypiques de la souche à étudier vis-à-vis de ceux d'une souche de référence (Van Den Berg *et al.*, 1993 ; Carr *et al.*, 2002 ; Parada *et al.*, 2007). Les résultats présentés dans le tableau 06, indiquent que les isolats obtenus dans cette étude sont des bâtonnets à Gram positif non sporulés, ce qui nous a orientés vers le genre *Lactobacillus*.

**Tableau 06 :** Caractères morphologiques des bactéries lactiques isolés de lait cru de vache

Les souches	Gram	La forme	Mode d'association
2M	+	Bâtonnets fins et longs	En chaînette
2P	+	Bâtonnets fins et longs	En chaînette
NM	+	Bâtonnets courts	En paire
1N	+	Bâtonnets courts	En paire
2N	+	Bâtonnets fins et longs	En chaînette
3M	+	Bâtonnets fins et longs	En chaînette
4M	+	Bâtonnets fins et longs	En chaînette

## 1.2 Etude biochimique

### 1.2.1. Test de catalase

On a observé l'absence de l'effervescence après l'ajout d'eau oxygéné ce qui indique que toutes les souches étudiées sont à catalase négative ces résultats ressemblent aux résultats de Carr *et al.*, (2002). Les *Lactobacillus* sont des bactéries à catalase négative.

### 1.2.2. Test du type fermentaire

La production de gaz (CO<sub>2</sub>) à partir du glucose a été recherchée pour nous permettre de différencier entre les isolats homo-fermentaires et hétéro-fermentaires. La présence de gaz dans la cloche de Durham indique un métabolisme hétéro-fermentaire (Kihal *et al.*, 1996). Aucune production de gaz n'a été observé chez les 7 souches isolées, donc toutes nos souches sont considérées comme homo-fermentaires, ces résultats sont on accord avec les résultats de (Hammes et Hertel, 2006).

### 1.2.3. Croissance en différentes concentrations de NaCl

L'observation de trouble sur bouillon MRS additionné de NaCl à différentes concentrations (4% et 6,5%) indique la croissance des souches bactériennes (Guiraud, 1998). D'après nos

résultats, les 7 souches testées ont poussée bien à la concertation de 4% de NaCl mais elles n'ont pas poussée à 6.5%.

#### 1.2.4. Croissance à différentes températures

Les résultats de ce test permettent de distinguer entre souches mésophiles qui poussent à 30°C et les souches thermophiles qui se développent à 45°C (Leveau *et al.*, 1991). La croissance des isolats a été testée à 10, 37 et 45°C.

Dans cette étude, toutes nos souches testées ont poussée à 10°C et à 37°C, et la plupart des souches ont poussée bien à 45°C après 24h d'incubation sauf les souches : 2M et 1N qui sont incapables de se développer à 45°C (type mésophiles).

**Tableau 07:** Résultats des tests de température

Souches	Culture à 10°C	Culture à 37°C	Culture à 45°C	
2M	+	+	-	Mésophile
2P	+	+	+	Thermophile
NM	+	+	+	Thermophile
1N	+	+	-	Mésophile
2N	+	+	+	Thermophile
3M	+	+	+	Thermophile
4M	+	+	+	Thermophile

#### 1.2.5. Test de thermo-résistance

Tous les isolats ont résisté à un traitement thermique au bain marie à 63,5°C pendant 30 minutes. Selon Tailliez (2004), la plupart des lactobacilles se multiplie dans une gamme de températures comprise entre 10°C et 45°C.

#### 1.2.6. Croissance à pH 9.6

La plupart des souches n'ont pas pu pousser sur bouillon MRS à pH= 9.6, seules les souches 4M et 2P sont capable de croitre à pH= 9.6.

#### 1.2.7. Fermentation des sucres

La détermination des genres et des espèces bactériennes réside essentiellement dans leur capacité à fermenter les sucres en acide lactique et autres acides organiques. D'après les résultats obtenus on a observé le virage de la couleur du milieu du violet au jaune pour les quatre (4) sucres (mannitol, glucose, lactose et saccharose) ce qui indique leur

fermentation. Ces résultats ressemblent aux résultats de (Hariri *et al.*, 2009, Guetouache et Guessas, 2015). Les résultats de ce test sont résumés dans le tableau 8 et la figure 5.



**Figure 05:**Résultats du profil fermentaire

**Tableau08:** Résultats du profil fermentaire

Souces	Sucres	Glucose	Mannitol	Lactose	Saccharose
2M		+	+	+	+
2P		+	+	+	+
NM		+	+	+	+
1N		+	+	+	+
2N		+	+	+	+
3M		+	+	+	+
4M		+	+	+	+

## 2. Aptitudes technologique des bactéries lactiques

### 2.1. Pouvoir acidifiant

La fonction acidifiante constitue la propriété métabolique la plus recherchée des bactéries lactiques capables de s'exploiter en industrie alimentaire car elle est considérée comme un critère primordial de sélection des souches à intérêt technologique (Luquet et Corrieu, 2005).

D'après les résultats obtenus dans le tableau 9, nous remarquons une évolution de l'acidité au cours de la croissance des souches testées sur le lait écrémé.

Toutes les souches étudiées ont un pouvoir acidifiant remarquable, elles produisent l'acide lactique progressivement en fonction du temps, cette acidité produite est accompagnée de la coagulation du lait.

Après 2h d'incubation à 37°C, les valeurs de l'acidité n'ont pas changée par rapport à la valeur initiale 17°D. Au bout de 24h d'incubation, on a observé que l'acidité a évolué pour toutes les souches testées et que les deux souches 2N et 3M sont les souches les plus acidifiantes avec une valeur qui varie entre 17 et 125 °D pour la souche 2N et de 17 à 112 °D pour la souche 3M. Tandis que la valeur la plus faible d'acidité est enregistrée pour la souche 2P (93 °D).

**Tableau 09 :** Evolution d'acidité (en °D) des isolats testés au cours du temps

Acidité(°D)	T 0h	T 2h	T 6h	T 24h
<b>Souches</b>				
<b>2M</b>	17	17	20	95
<b>2P</b>	17	17	20	93
<b>NM</b>	17	17	20	102
<b>1N</b>	17	17	20	97
<b>2N</b>	17	17	20	125
<b>3M</b>	17	17	20	112
<b>4M</b>	17	17	20	106

Ces résultats révèlent une production d'acide lactique très prononcée chez nos souches, et sont en accord avec des résultats de plusieurs recherches qui démontrent une très importante acidification par les souches de bactéries lactiques Novel (1993) et Champagne *et al.*, (2000) ; Idoui *et al.*, (2009).

Le travail présenté par Hassain (2013) nous permet de classer nos souches dans la catégorie des bactéries fortement acidifiantes (acidité >79°D). Ce qui indique que les souches testées présentent une bonne activité acidifiante.

Dans ce travail, les différences des propriétés acidifiantes dépendent de la spécificité de chaque souche et des espèces comme été rapporté dans les études de Badis *et al* (2004) et Xanthopoulos *et al* (2001).

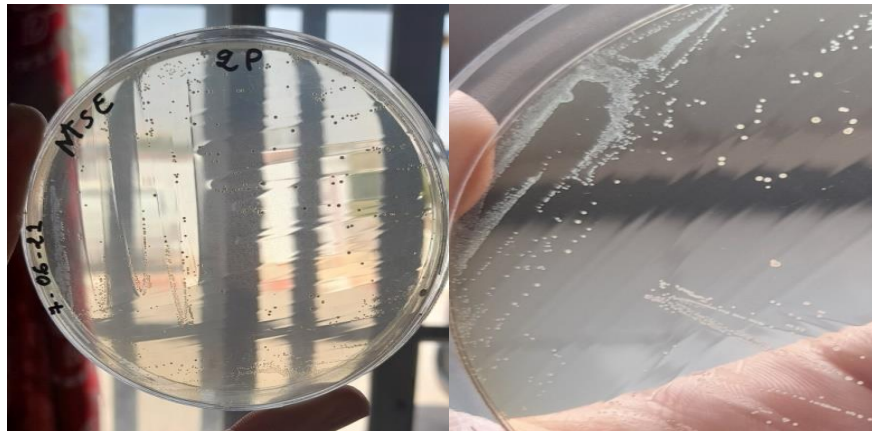
### 2.2. Pouvoir texturant

La production des exo-polysaccharides par les bactéries lactiques est un phénomène favorable dans de nombreux processus industriels alimentaire (walling *et al.*, 2001).

Nous avons observé la présence des colonies gluante et visqueuse pour certaines souches comme le montre la figure 06, ces résultats sont en accord avec les résultats de Carr *et al.*, 2002 ; Philippon *et al.*, 2008 ; Ghazi *et al.*, 2009) qui ont démontré que certaines souches sont capables de dégrader le saccharose et produire le dextrane qui se traduit par l'apparition des colonies visqueuses et gluantes.

Les autres souches ont démontré un pouvoir faible à nulle en production d'EPS vue que l'aspect large et gluant des colonies était absent. Ces observations rejoignent les travaux de Looijesteijn *et al.*, (2001) qui ont rapporté qu'au sein d'une même espèce de bactéries lactiques, les résultats peuvent être différents et ont pu identifier des souches productrices d'EPS (voire fortement) et d'autre souches non productrices (ou faible) sans que ce caractère n'engendre des disparités de croissance.

Broadbent *et al.*, (2003), ont rapportés que les souches lactiques produisant des EPS jouent un rôle crucial dans l'élaboration des produits laitiers.



**Figure 06:** Aspect de colonies d'isolat lactique 2P sur gélose MSE

### 2.3 Pouvoir aromatisant

Un nombre important d'articles dans la littérature explique la fonction des bactéries lactiques dans la production de saveur des produits laitiers, le développement d'arôme dans le lait résulte des activités métaboliques des bactéries lactiques. Elles sont capables de

produire de nombreux composés aromatiques à partir de différents substrats qui participent aux qualités organoleptiques des produits fermentés (Raynaud *et al.* 2003 ; Cholet, 2006).

Après l'ajout des 2 réactifs (VP1, VP2) on a observé l'apparition d'un anneau rouge dans la surface de quelques tubes figure 07 ce qui montre que les souches produisent des arômes (acétoïne).



**Figure 07:** Production d'acétoïne sur milieu Clark et Lubs

### 2.4. Pouvoir protéolytique

La protéolyse est l'un des processus biochimiques les plus importants impliqués dans la fabrication de beaucoup de produits laitiers fermentés. La capacité de produire des protéinases extracellulaires est une caractéristique très importante des bactéries lactiques. Ces enzymes hydrolysent les protéines du lait, en fournissant les acides aminés essentiels pour la croissance. Il est connu que le système protéolytique des bactéries lactiques dégrade les protéines et par conséquent, change la texture, le goût et les arômes des produits fermenté (El Ghaish *et al.*, 2011).



**Figure 08:** Hydrolyse de protéine par les isolats sur gélose MRS additionnée de 1% et 2% de lait écrémé

Certaines souches étudiées présentent une activité protéolytique traduite par l'apparition d'un halo clair autour des souches de lactobacilles testées. Ces résultats nous permettent de confirmer le caractère protéolytique des bactéries lactiques comme il a été rapporté par les travaux de (Shirai *et al.*, 2001 ; François *et al.*, 2007).

Ce caractère est essentiel pour les bactéries lactiques pour leur croissance dans le lait ainsi que pour le développement des propriétés organoleptiques des différents produits laitiers (Savoy et Hébert, 2001 ; Hassaine *et al.*, 2007).

### 2.5. Pouvoir lipolytique

Le pouvoir lipolytique a une grande importance dans le développement de la flaveur et la libération des acides gras. La présence d'une zone opaque autour des spots (figure 09) montre que les souches présentent une activité lipolytique, ces résultats sont presque identiques aux travaux de Mayers *et al.*, 1996, Xanthopoulos *et al.*, 2000. Selon De Roissart et Luquet (1994), les bactéries lactiques sont considérées comme moyennement lipolytiques.



**Figure 09 :** Activité lipolytique de l'isolat 3M.

### 2.6. Pouvoir antimicrobien

Les propriétés antimicrobiennes des bactéries lactiques sont dérivées de la concurrence pour les nutriments et la production d'un ou plusieurs métabolites antimicrobiens actifs tels que les acides organiques (principalement l'acide lactique et l'acide acétique), le peroxyde d'hydrogène et d'autres composants tels les bactériocines et les peptides antifongiques (Reis *et al.*, 2012) qui sont capables d'inhiber le développement des

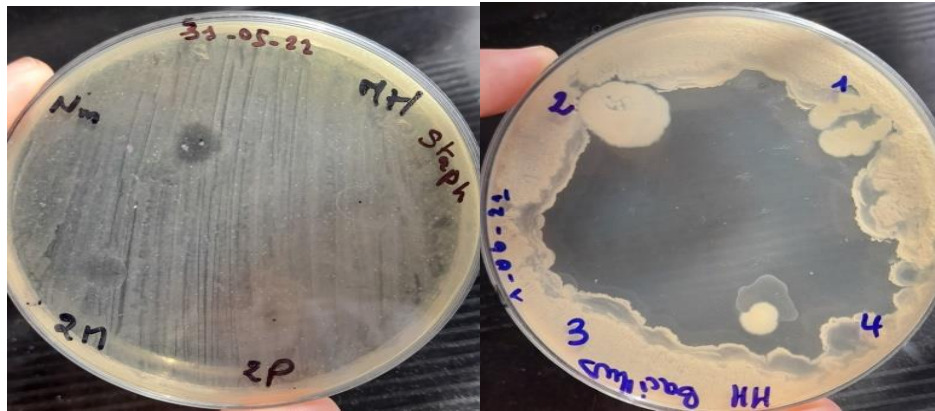
microorganismes indésirables et/ou pathogènes sans pour autant modifier les propriétés organoleptiques du produit (Nguyetthu, 2008).

Trois souches indicatrices à savoir *Bacillus cereus*, *Proteus vulgaris* et *Staphylococcus aureus* ont été utilisées pour l'évaluation de l'activité antibactérienne des isolats lactiques par la méthode de contacte directe décrite par (Hernandez *et al.*, 2005). L'inhibition se traduit par la formation d'un halo autour de la souche ensemencée par touche. L'inhibition est considérée comme positive si le diamètre de la zone est supérieur à 2mm (Thompson *et al.*, 1996).

D'après les résultats obtenus (figure 10), il s'avère que 3 souches lactiques possèdent une activité antibactérienne vis à vis de *Staphylococcus aureus* dont les diamètres des zones d'inhibition sont 18 mm pour l'isolat NM, 17 mm pour l'isolat 2M et 4 mm pour l'isolat 2P. Quatre isolats ont aussi exprimé une activité antibactérienne vis-à-vis *Bacillus cereus* dont l'inhibition la plus élevée est de 19 mm pour l'isolat 4M et pour les isolats NM, 2M et 2P entre 2 à 4 mm. On a noté l'absence des zones d'inhibitions autour de toutes les souches lactiques vis-à-vis *Proteus vulgaris*.

**Tableau 10 :** Résultats du pouvoir antimicrobien

Souches indicatrices Isolats lactiques	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Proteus vulgaris</i>	<i>Bacillus cereus</i>
2M	17 mm	0 mm	2 mm
2P	4 mm	0 mm	4 mm
NM	18 mm	0 mm	4 mm
1N	0 mm	0 mm	0 mm
2N	0 mm	0 mm	0 mm
3M	0 mm	0 mm	0 mm
4M	0 mm	0 mm	19 mm



**Figure 10:** Activité antimicrobienne des isolats lactiques

# Conclusion

## Conclusion

La connaissance de nouvelles souches de bactéries lactiques utilisées dans l'industrie agroalimentaire offre une nouvelle voie dans le domaine de la recherche scientifique en microbiologie appliquée dont le but de produire à l'avenir de nouveaux produits alimentaires concurrentiels sur le plan national et international.

La présente étude avait comme objectif d'isoler et de caractériser des bactéries lactiques du genre *Lactobacillus* isolés du lait de vache. Un total de 7 isolats a été utilisé dans ce travail.

L'identification des différents isolats a été basée sur l'étude des caractères morphologiques, physiologiques et biochimiques. L'évaluation de quelques aptitudes technologiques ainsi que l'effet antimicrobien vis-à-vis des bactéries pathogènes ont été réalisés.

D'après nos résultats, l'étude des aptitudes technologiques a montré que le genre *Lactobacillus* possède un pouvoir acidifiant remarquable avec un degré d'acidité qui varie entre 20°D à 125°D après 24h d'incubation à 37°C, cette acidité produite stimule la coagulation du lait et joue un rôle important dans la conservation des nombreux aliments.

Le pouvoir texturant et la production de dextrane des souches étudiées sur milieu MSE, ont été fortement présent chez quelques souches et faibles à absents chez d'autres.

Le pouvoir protéolytique a été présent chez certaines souches et l'activité lipolytique traduite par l'apparition d'un halo opaque sur milieu MRS additionné de 1% de Tween 80 a été présente chez tous les isolats.

Parmi les souches testées, ils existent celles qui sont caractérisées par leurs capacités à produire des composés aromatiques.

L'étude de l'activité antimicrobienne des isolats lactiques vis-à-vis de 3 souches pathogènes à savoir : *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* et *Proteus vulgaris* par la méthode de Fleming *et al.*, (1975) a montré que les isolats ont une activité inhibitrice remarquable et les diamètres des zones d'inhibition varient entre 2mm et 19mm.

Cependant, le travail effectué est insuffisant et pour confirmer ces résultats nous envisageons à faire :

- L'identification des isolats de *Lactobacillus* jusqu'au niveau de l'espèce.
- L'étude des aptitudes technologiques en utilisant des techniques plus approfondies.
- L'étude des propriétés probiotiques des souches isolées.

# **Références bibliographiques**

- Aboutayeb R, (2009). Technologie du lait et dérivés laitiers. <http://www.azaquar.com>. Consulté le 06/11/2015.
- Alais C, Linden G et Mielo L, (2008). Abrégé en biochimie alimentaire. Paris. Dunod. P260.
- Alakomi HL, Skytta E, Saarela M, Mattila-Sandholm T, Latva-Kala K and Helander, IM, (2000). Lactic acid permeabilizes gram-negative bacteria by disrupting the outer membrane. *App. Env. Microbiol.* Vol : 66(5) : 2001-2005.
- Allouache K et Smaoun O, (2017). Caractérisation de souches locales de bactéries lactiques isolées à partir de quelques produits laitiers artisanaux et mise au point d'un produit type « Raib ». Mémoire de Master. Option : Microbiologie Alimentaire et Santé. Université de Béjaia. P5.
- Amatayakul T, Halmos AL, Sherkat F and Shah NP, (2006). Physical characteristics of yoghurts made using exopolysaccharide-producing starter cultures and varying casein to whey protein ratios. *International Dairy Journal.* Vol : 16-40-51.
- Amiot J, Fournier S, Lebeuf Y, Paquin P et Simpson R, (2002). In Vignola CL, coord, Amiot J, Angers P, collab, sciences et technologie du lait. In : composition, propriétés physicochimiques, valeur nutritive, qualité technologique et techniques d'analyse du lait. Canada. Presses Internationales Polytechniques. P1-73.
- Ammor MS, and Mayo B, (2007). Selection criteria for lactic acid bacteria to be used as functional starter cultures in dry sausage production. *Meat. Science.* Vol: 76: 138-146.
- Amrane A and Prigent Y, (1999). Differentiation of pH and free lactic acid effects on the various growth production phases of *Lactobacillus helveticus*. *J Chem Technol Biotechnol.* Vol: 74: 33-40.
- Axelsson L, (2004). Classification and physiology. In: *Lactic acid bacteria: Microbiological and functional aspects* (Salminen S., Wright A.V. et Ouwehand A). 3e Ed. Marcel Dekker. Inc. New York. P1-19-66-85.
- Axelsson L and Von Wright A, (2012). *Lactic Acid Bacteria : An Introduction*. In: Lahtinen S, Ouwehand AC, Salminen S and Von Wright A, Eds, *Lactic Acid Bacteria: Microbiological and Functional Aspects*. 4th Edition. Taylor & Francis Group LLC, CRC Press, Boca Raton. P1-16.

- **Badis A, Guetarni D, Moussa-Boudjema B, Henni DE and Kihal M. (2004).** Identification and technological properties of lactic acid bacteria isolated from raw goat milk of four Algerian races. *Journal of food microbiology*. Vol: 21: 579-588.
- **Badis, A, Guetarni D, Moussa-Boudjema B, Henni DE, Tornadijo ME and Kihal M, (2004).** Identification of cultivable lactic acid bacteria isolated from Algerian raw goat's milk and evaluation of their technological properties. *Food Microbiology*. Vol: 21: 343-349.
- **Badis A, Laouabdia-Sellami N, Guetarni D, Kihal Met Ouzrout R, (2005).** Caractérisation phénotypique des bactéries lactiques isolées à partir de lait cru de chèvre de deux populations caprines locales « Arabia et Kabyle ». *Sciences et technologie*. Vol: 23: 30-37.
- **Bekhouche et Boulahrouf, (2005).** Etude quantitative et qualitative des bactéries lactiques de lait cru produits par des vaches locales appartenant à six stations d'élevage de Constantine. *Science technologique*. 23: 38-47.
- **Béal C, Louvet P and Corrieu G, (1989).** Influence of controlled pH and temperature on the growth and acidification of pure culture of *Streptococcus thermophilus* 404 and *Lactobacillus bulgaricus* 398. *Appl Microbiol Biotechnol*. Vol: 32: 148-154.
- **Béal C, Marin M, Fontaine E, Fonseca F et Obert JP, (2008).** Production et conservation des ferments lactiques et probiotiques. In : *Bactéries lactiques de la génétique aux ferments* (Carrieu G et Luquet FM). Tec & Doc. Lavoisier. Paris. P1-144-661-766.
- **Belarbi F, (2011).** Isolement et sélection des souches de bactéries lactiques productrices des métabolites antibactériennes. Mémoire de Magister. Université d'Oran-Essenia. Algérie. P69-84-97.
- **Benazzouz Dj, (2012).** Isolement et caractérisation des bactéries lactiques productrices d'arômes (diacétyle). Thèse de Magister. Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie, El Harrach, Alger. Vol: 130 P13-14-35-36.
- **Bjorkroth J and Holzapfel WH, (2006).** Genera *Leuconostoc*, *Oenococcus* and *Weissella* In: *The Prokaryotes*. Springer. Vol: 4: 273-286.

- Broadbent JR, (2001). Genetics of Lactic Acid Bacteria. In: Applied Dairy Microbiology (Marth EH et Steele JL). 2<sup>nd</sup> Ed. Marcel Dekker. Inc. New York. P243-300.
- Boullouf A, (2016). Etude du pouvoir technologique de quelques bactéries lactiques du fromage traditionnel "Bouhezza". Thèse de Magister. Université des Frères Mantouri. Constantine. Département de Technologie Alimentaire. P20-22-23-135.
- Bourgeois CM et Larpent JP, (1996). Microbiologie alimentaire : Aliments fermentés et fermentations alimentaires. Tec & Doc, Lavoisier. Paris. Vol: 432-704.
- Broadbent JR, McMahon DJ, Welker DL, Oberg CJ and Moineau S, (2003). Biochemistry, genetics and applications of exopolysaccharide production in *Streptococcus thermophilus*. Journal of Dairy Science. Vol: 86(2): 407-423.
- Cachon R, Antérieux P and Diviès C, (1998). The comparative behavior of *Lactobacillus lactis* in free and immobilized culture processes. J. Biotechnol. 63: 211-218.
- Carina Audisio M and Maria CA, (2010). Bactiocin-like substance produced by *Lactobacillus salivarius subsp. salivarius* CEL 1384 with anti-*Listeria* and anti-*Salmonella* effect. Res. J. Microbio. Vol: 5(7): 667-675.
- Carr FJ, Chill D and Maida N, (2002). The lactic acid bacteria: A literature survey. Crit. Rev. Microbiol. Vol: 28(4): 281-370.
- Casalta E, Vassal Y, Desmazeaud MJ and Casabianca F, 1995. Comparison of the acidifying activity of *Lactococcus lactis* isolated from Corsican goat milk and cheese. Food science and technology-lebensmittel-wissenschaft & technology. Vol: 28: 291-299.
- Cayot P et Lorient D, (1998). Structures et techno-fonctions des protéines du lait. Edition Tec et Doc Lavoisier. Paris.
- Champagne CP, Moineau S, Lange M, Gelin ASP et Audet P, (2000). Production de ferments lactiques dans l'industrie laitière. Fondation des Gouverneurs. P210.
- Cholet O, (2006). Etude de l'écosystème fromager par une approche biochimique et moléculaire. Institut National Agronomique Paris-Grignon. Ecole Doctorale ABIÉS. UMR de Génie et Microbiologie des Procédés Alimentaires INRA, INA.16.

- Collins MD, Samelis J, Metaxopoulos J and Wallbanks S, (1993). Taxonomic studies of some *Leuconostoc* like organisms from fermented sausages, description of a new genus *Weissella* for the *Leuconostoc* paramesenteroides group of species. *Journal of Applied Bacteriology*. 75(6), 595-603.
- Corrieu G, Luquet FM, (2008). Bactéries lactiques, de la génétique aux ferments. Collection « Sciences et Techniques Agroalimentaires ». 2<sup>ème</sup> éditions. P83.
- Debry G, (2001). Lait, nutrition et santé. Edition Tec et Doc Lavoisier. Paris.
- Delarras C, (2007). Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyse ou de contrôle sanitaire. Ed., Tec et Doc Lavoisier. Paris. P12-126-129-173-269-271.
- Dellali A, (2012). Activités lipolytiques chez les bactéries lactiques. Thèse de Magister en Biotechnologie. Université d'Oran. P22.
- Delgado A, Dulce B, Pedro F, Cidalia PJ et Figueiredo M, (2001). Antimicrobial activity of *L. plantorum*, isolated from a traditional lactic acid fermentation of table olives laits. Vol: 81: 203-215.
- De Man JC, Rogosa M and Sharpe ME, (1960). A medium for the cultivation of lactobacilli. *J. Appl. Bacteriol*. Vol: 23: 130-135.
- Denis F, Poly M, Martin C, Bingen E, Quentin R, (2011). Bactériologie Médicale : Techniques Usuelles. Elsevier Masson, France.
- De Roissart H et Luquet FM, (1994). Bactéries lactiques, I et II : Lorica (Chemin de Saint Georges). F38410. France.
- Desmazeaud M, (1992). Les bactéries lactiques in Hernier, J., Lenoir, J. et Webert, Les groupes microbiens d'intérêt laitier. Lavoisier. P9-57.
- Dib W, (2015). Caractéristique et rôle probiotique des bactéries lactiques isolées à partir du lait de chèvre : effet immuno-modulateur chez la souris Balb/c. Thèse de doctorat, Université d'Oran. P188.
- Donkor ON, Henriksson A, Vasiljevic T and Shaha NP, (2007). Proteolytic activity of dairy lactic acid bacteria and probiotics as determinant of growth and invitro angiotensin converting enzyme inhibitory activity in fermented milk. *Inra, edp sciences*. Vol: 86: 21-38.

- Dortu C and Thonart P, (2009). Les bactériocines des bactéries lactiques : caractéristiques et intérêts pour la bio-conservation des produits alimentaires. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* Vol: 13(1): 143-154.
- Drider DJ et Prévost H, (2009). Bactéries lactiques physiologie, métabolisme, génomique et applications industrielles. *Economic Anthropos.* P593.
- Durlu-Özkayaf, Aslim B and Taha Ozkaya M, (2007). Effect of exopolysaccharides (eps) produced by *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* strains to bacteriophage and nisin sensitivity of the bacteria. *Lwt -food science and technology.* Vol: 40: 564-568.
- El-Ghaish S, Ahmadova A, Hadji-Sfaxi I, El Mecherfi KE, Bazukyane I, Choiset Y, Rabesona H, Sitohy M, Popov YG, A. Kuliev A, Mozzi F, Chobert JM and Haertlé T, (2011). Potential use of lactic acid bacteria for reduction of allergenicity and for longer conservation of fermented foods. *Tre. Food Sci. Technol.* P1-8.
- FAO, (2012). Initiation des politiques en faveur des pauvres (PPLPI). Reumont P, (2009). Licencié Kinésithérapie, <http://www.medisport.be>. Consulté le 14/02/2016.
- Fayolle L, (2015). Le lactose, indicateur de déficit énergétique chez la vache laitière ? Thèse de doctorat : sciences vétérinaires. Lyon : Campus vétérinaire de Lyon. P141.
- Fereidoun M, Haleh H, and Hamideh A, (2012). Medical Biotechnology Trends and Achievements in Iran. Vol: 4(4): 200-205.
- Fleming HP, Etchells JL and Coslilow RN, (1975). Microbiological inhibition of isolate of *Pediococcus* from cucumber brine. *Appl. Environ. Microbiol.* Vol: 30: 1040-1042.
- Foucaud C, François A, et Richard J, (1997). Development of a chemically defined medium for the growth of *Leuconostoc mesenteroides*. *Applied and Environmental Microbiology.* Vol: 63(1): 301-304.
- François ZNN, Florance FA, Paul MF, Felicit et M EL Soda M, (2007). Biochemical properties of some thermophilic lactic acid bacteria strains from traditional fermented milk relevant to their technological performance as starters cultures. *Biotechnol.* Vol: 6(1): 14-21.

- Franworth E, Mainville I, (2010). Les produits laitiers fermentés et leur potentiel thérapeutique. Centre de recherche et de développement sur les aliments. Saint-Hyacinthe.
- Fredot E, (2005). Connaissance des aliments-bases alimentaires et nutritionnelles de la diététique. Tec et Doc. Lavoisier. P14-379.
- Fredot E, (2006). Connaissance des aliments-Bases alimentaires et nutritionnelles de la diététique. Tec et Doc. Lavoisier. Vol : 25: P397.
- Galia W, (2011). Caractérisation de la variabilité du système protéolytique de surface de la bactérie lactique *Streptococcus thermophilus*. Thèse de Doctorat. Institut Polytechnique de Lorraine. Département des Sciences Agronomiques.P16-32.
- Ganzele G, Michael, Alexndra Holtzel, Jens Walter, Gunther Jung, et Walter P, (2000). Characterization of Rentericyclin Producet by *Lactobacillus* Reuter Lth 2584. Appl and environ, Microbiol. Vol: 4325-4333.
- Gerrit S, Bart AS, Wim JME, (2005). Flavour formation by lactic acid bacteria and biochemical flavor profiling of cheese products. FEMS. Microbiol. Rev. Vol: 29: 591-610.
- Ghazi F, Hienni DE, Benmchernene Z and Kihal M, (2009). Phenotypic and Whole Cell Protein Analysis by SDS-PAGE for identification of Dominants Lactic Acid Bacteria Isolated from Algerian Raw Milk. World Journal of Dairy & Food Sciences. Vol: 4(1): 78-87.
- Guessas B, Hadadji M, Saidi N and Kihal M, (2006). Inhibition of *staphylococcus aureus* Growth by Lactic Acid Bacteria in Milk. Dirasat. Agruicultural Sci. Vol:32(3): 304-312.
- Guetouache M and Guessas B, (2015). Characterization and identification of lactic acid bacteria isolated from traditional cheese (Klila) prepared from cow's milk. African Journal of Microbiology Research. Avicenna Journal of Medical Biotechnology. Vol: 9(2): 71-77.
- Guiraud JP, (1998). Microbiologie alimentaire. Technique et Ingénierie. Série Agroalimentaire. 1 Ed. Dunod Paris. P136-144-652.
- Guiraud JP, (2003). Microbiologie alimentaire. Dunod paris. P91-92-292-651.

- Guiraud JP et Rosec JP, (2004). Pratique des normes en microbiologie alimentaire. Ed. AFNOR. P298.
- Guiraud JY et Galzy P, (1980). L'analyse microbiologique dans les industries alimentaires. Edition de l'usine. P39.
- Hadeff S, (2012). Evaluation des aptitudes technologiques et probiotiques des bactéries lactiques locales. Thèse de magister. Université Ouargla. P135
- Hammes WP and Hertel C, (2006). The Genera *Lactobacillus* and *Carnobacterium*. In book: Prokaryotes, 4: 320-403 Handbook. Inc. Publication. 261-347. P320-403.
- Hammes W P, Vogel RF, (2012). The genus *Lactobacillus*. In: The Genera of Lactic Acid Bacteria. Holzappel, W H N, Wood B J. (ed), Springer Science & Business Media. Vol(2): P19.
- Hariri A, Ouis N, Sahnouni F et Bouhadi D, (2009). Mise En Oeuvre De La Fermentation De Certains Ferments Lactiques Dans Des Milieu A Base Des Extraits De Caroube. Rev. Microbiol. Ind. San Et Environn. P37-55.
- Hassaine O, (2013). Caractéristiques d'intérêts technologiques de souches de bactéries lactiques isolées de lait camelin du sud algérien. Thèse de Doctorat en Biotechnologie. Université d'Oran-Essenia, Algérie. P57-102-180.
- Hassaine O, Zadi-Karam H et Karam NE, (2007). Technologically important properties of lactic acid bacteria isolated from raw milk of three breeds of Algerian dromedary (*Camelus dromedarius*). Afr. J. Biotechnol. Vol: 6(14): 1720-1727.
- Hernandez D, Cardell E and Zarate V, (2005). Antimicrobial activity of lactic acid bacteria isolated from Tenerife cheese: initial characterization of plantaricin TF711, a bacteriocin-like substance produced by *Lactobacillus plantarum* TF711. J. Appl. Microbiol. Vol: 99: 77-84.
- Ho TNT, Tuan NN, Deschamps A et Caubet R, (2007). Isolation and identification of lactic acid bacteria (LAB) of the Nem Chua fermented meat product of Vietnam. Int. Workshop on Food Safety and Processing Technology. Vol: 134-142.
- Holzappel WH, Wood BJB, (2014). Lactic Acid Bacteria, Biodiversity and taxonomy. Wiley Blackwell. P632.

- **Idoui T, Boudjerda J, Leghouchi E and Karam NE, (2009).** Lactic acid bacteria from “Sheep’s Dhan”, a traditional butter from sheep’s milk: Isolation, identification and major technological traits. *Gr. Y. Aceites*. Vol: 60(2): 177-183.
- **Jeantet R, Croguennec T, Mahaut M, Schuck P, et Brule G, (2008).** Les produits laitiers. 2<sup>ème</sup> édition. Tec et Doc. Lavoisier. P1-3-13-14-17-185.
- **Jeantet R, Croguennec T, Schuck P et Brule G, (2007).** Science des aliments : biochimie, microbiologie, procédés, produits. Paris. Lavoisier. P456-457.
- **Kandler O and Weiss N, (1986).** Regular, non-sporing Gram-positive rods. Genus *Lactobacillus*. In: *Bergey’s Manual of Systematic Bacteriology*. Vol(2). Edited by P.H.A. Sneath, N.S. Mair, M.E.Sharp, J.G. Holt.,The Williams & Wilkins Company, Baltimore MD, USA. P1208-1234.
- **Khan sh and Ansari FA, (2007).** Probiotics-The friendly bacteria with market potential in global market. *Pak. J. Pharm. Sci*. Vol: 20(1): 76-82.
- **Kihal M, Prevost H, Lhotte ME, Huang DQ and Divies C, (1996).** Instability of plasmid-encoded citrate premease in *Leuconostoc*. *J. Appl. Microbiol*. Vol: 22: 219-223.
- **Klaenhammer TR, Azcarate-Peril MA, Altermann E and Barrangou R, (2007).** The influence of dairy environment on gene expression and substrate utilization in lactic acid bacteria. *The Journal of Nutrition Effects of Probiotics and Prebiotics*. Vol: 137.
- **Klaenhammer TR, Barrangou R, Buck BL, Azcarate-Peril MA,Altermann E, (2005).** Genomic features of Lactic acid bacteria effecting bioprocessing and health. *FEMS Microbiology Reviews*. Vol: 29:393-409.
- **Kotelnikova EA and Gelfand MS, (2002).** Bacteriocin production by Gram-Positive Bacteria and the Mechanisms of transcriptional Regulation. *Russian J. Genetics*. Vol: 38(6):628-641. Translted from *Genetika*. Vol: 38(6): 758-772.
- **Labioui H, Elmoualdi L, El Yachioui M et Ouhssine M, (2005).** Sélection de souches des bactéries lactiques antibactériennes. *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*. Vol: 144: 237-250.
- **Lafarge V, Ogier JC, Girard V, Maladen V, Leveau JY, Gruss A and Delacroix-Buchet A, (2004).** Raw cow milk bacterial population shifts attributable to refrigeration. *Applied and environmental microbiology*. Vol: 70: 5644-5650.

- Lamontagne Michel Claud P, Champagne J, Reitz A, Sylvain M, Nancy G, Maryse L, Julie J et Ismail F, (2002). Microbiologie de lait. Science et technologie de lait. Ecole polytechnique de Montréal.
- Larpent JP, (1997). Microbiologie alimentaire. Tec &doc, Lavoisier. Paris. P10-72.
- Lejeune R, Callewaert R, Crabbé K et De Vuyst L, (1998). Modelling the growth and bacteriocin production by *Lactobacillus amylovorus* DCE 471 in batch cultivation. J Appl Microbiol. Vol: 84: 159-168.
- Leroy F and De Vuyst L, (2004). Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry. Tre. FoodSci. Technol. Vol: 15: 67-78.
- Leveau JY, Bouix M et De Roissart HB, (1991). La flore lactique : technique d'analyse et de contrôle dans les industries agroalimentaires. 2<sup>ème</sup> Ed, Tec & Doc. Lavoisier. Paris. Vol: 3: 2-40.P152-182.
- Looijesteijn PJ, Trapet L, Devries E, Abee T and Hugenholtz J, (2001). Physiological function of exopolysaccharides produced by *Lactococcus lactis*. Int J Food Microbiol. Vol: 64: 71-80.
- Lot M, Tahraoui K, (2019). Caractérisation de la qualité physico-chimique et microbiologique du lait pasteurisé conditionné « beni Tamou ». Université Blida. Algérie.
- Ludwig W, Schleifer KH, Whitman WB, (2009). Revised road map to the phylum *Firmicutes*. In Bergey's manual of systematic bacteriology. Springer, USA.
- Luquet FM et Corrieu G, (2005). Bactéries lactiques et probiotiques. Tec & Doc. Lavoisier, Paris. P3-37.
- Luquet FM et De Roissard H, (1994). Bactéries Lactiques.2Volumes. Lorica Uriage. P600
- Mahaut M, Jeantet R et Brule G, (2000). Initiation à la technologie fromagère. Tec & doc lavoisier. P194.
- Marteau P et Seksik P, (2004). Place des probiotiques dans la prévention et le traitement des diarrhées post-antibiotiques. Re. Fran. Lab. Vol: 73-76.
- Mayer RE, Bove W, Bryman A, Mars R and Tapangco L, (1996). When Less Is More: Meaningful Learning from Visual and Verbal Summaries of Science Textbook Lessons. Journal of Educational Psychology. Vol: 88(1): 64-73.

- Mechai A, (2017). Les Bactéries Lactiques. Diversité et Potentiels Biotechnologiques. P96.
- Mkrtchyan H, Gibbons S, Heidelberger S, Zloh M and limaki HK, (2010). Purification, characterization and identification of acidocin LCHV, an antimicrobial peptide produced by *Lactobacillus acidophilus* n.v. Er317/402 strain narine. Int. J. Antimicrobial Agents. Vol: 35: 255-260.
- Monnet C, Latrille E, Béal C et Corrieu G, (2008). Croissance et propriétés fonctionnelles des bactéries lactiques In Corrieu G et Luquet FM. Bactéries lactiques de la génétique aux ferments. Tec & Doc. Lavoisier. P511-593.
- Mozzi F, Raya RR, Vignolo GM, (2010). Biotechnology of lactic acid bacteria: Novel applications. Blackwell publishing, Singapore.
- Nguyet Thu HT, (2008). Etude de la flore lactique du Nem Chua, produit carné fermenté cru traditionnel du sud Vietnam et Maîtrise du processus de fermentation par ajout de souches lactiques sélectionnées spécifiques du produit. Thèse de Doctorat. Université de Bordeaux. France. P38-40.
- Ninane V, Mukandayambaje R et Berben G, (2009). Probiotiques, aliments fonctionnels et kéfir : le point sur la situation règlementaire en Belgique et sur les avancées scientifiques en matière d'évaluation des effets santé du kéfir. Biotechnol Agron Soc Environ. Vol: 13(3): 459-466.
- Novel G, (1993). Les bactéries lactiques in "Microbiologie industrielle" Les microorganismes d'intérêt industriel, Paris : Techniques et Documentation Lavoisier. P171-215.
- Parada JL, Caron CR, Bianchi PA, Ricardo Soccol M and Ricardo Soccol C, (2007). Bacteriocins from Lactic Acid Bacteria: Purification, Properties and use as Bio-preservatives. Brazilian Archives of Biology and Technology. Vol: 50(3): 521-542.
- Pereira PC, 2014. Milk composition and its role in human health Nutrition. Vol: 30: 619-627.
- Philippon A et Poyart C, (2008). Autres coques à Gram positif catalase négative d'intérêt médical : *Aerococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*. EMC Elsevier Masson SAS. Biologie clinique. 90-05-0120. 1-11.

- Pot B, (2008). The taxonomy of lactic acid bacteria. In : Bactéries lactiques de la génétique aux ferments (Corrieu G. et Luquet F.M.). Tec & Doc. Lavoisier. Paris.P1-106.
- Pot B, Felis GE and Bruyne KD, (2014). The genus *Lactobacillus*. In: Lactic Acid Bacteria; Biodiversity and Taxonomy. Holzapfel W H, Wood B J. (Ed). John Wiley & Sons. P249-353.
- Pougheon S, et Goursaud J, (2001). Le lait caractéristique physicochimique : In Debry G, Lait, nutrition et santé. Tec et Doc. Paris. P6(566).
- Raynaud S, (2006). Régulation métabolique et transcriptionnelle de l'autoacidification chez *Lactococcus lactis*. Thèse de Doctorat. Spécialité : Sciences Ecologiques, Vétérinaires, Agronomiques et Bioingénieries. Toulouse.826 P309.
- Raynaud S, Perrin R, Cocaign-Bousquet M and Loubière P, (2003). Metabolic and transcriptomic adaptation of *Lactococcus lactis* subsp.*lactis* biovar diacetylactis in response to auto acidification and temperature downshift in skim milk. App. Env. Microbiol. Vol: 71(12): 8016-8023.
- Reis JA, Paula AT, Casarotti SN and Penna ALB, (2012). Lactic Acid Bacteria Antimicrobial Compounds: Characteristics and Applications. Food Eng Rev. Vol: 4: 124-140.
- Rosso L, Lobry JR, Bajards and Flandrois JP, (1995). Convenient model to describe the combined effects of temperature and pH on microbial growth. Appl. Environ. Microbiol. Vol: 61: 610-6.
- Roudaut H et Lefrancq E, (2005). Alimentation théorique. Edition Sciences des Aliments.
- Roudj S, Belkheir K, Zadi-Karam H et Karam NE, (2009). Protéolyse et autolyse chez deux lactobacilles isolés de lait camelin du Sud/Ouest Algérien. European. J.Sci. Res. Vol: 34 (2): 218-227.
- Rouissat L and Bensoltane A, (2006). Physico-chemical, microbiological and biotechnological studies of lactic acid bacteria isolated from ewe's milk of Algerian tow breeds (Ouled Djellal and El Hamar). Egypt. J. App. Sci. Vol:21(2): 567-582.

- Ruas Madiedo P, Hugenholtz J and Zoon P, (2002). An overview of the functionality of exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria. *International dairy journal*. Vol: 12: 163-171.
- Salminen S, Ouwehand A and Von Wright A, (2004). *Lactic acid bacteria: Microbial and Functional Aspects*. 3<sup>rd</sup> ed. Marcel Dekker. New York. Vol: 375-395.
- Sassi M, (2019). Etude de la variation saisonnière des paramètres biochimiques et microbiologiques du lait cru de vache à la traite dans l'Ouest Algérien. Thèse de Doctorat. Université de Abdelhamid Ibn Badis. Mostaganem.
- Savoy de Giori G and Hébert M, (2001). Methods to determine proteolytic activity of lactic acid bacteria. *Methods in biotechnology. Food Microbiol. Protocols*. Humana Press. Totowa. Vol: 14: 197-202.
- Shirai K, Guerrero I, Huerta S, Saucedo G, Castillo AO, Gonzalez R et George M, (2001). Effect of initial glucose concentration and inoculation level of lactic acid bacteria in shrimp waste ensilation *Hall Enzyme and Microbial Technology*. P446-452.
- Soomro AH, Masud T and Anwaar K, (2002). Role of lactic acid bacteria (LAB) in food preservation and human health. *Pakistan Journal of Nutrition*. Vol: 1(1): 20-24.
- Sozzi T, Astruc R. Etude sur la préparation de ferments lactiques très actifs. *Le lait*, INRA Editions.1972,52 (517), P454-465.
- Stackebrandt E et Teuber M, (1988). Molecular Taxonomy and phylogenetic position of lactic acid bacteria. *Biochimie*. Vol: 70: 17-324.
- Stiles ME and Holzapfel WH, (1997). Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy. *Int. J. Food Microbiol*. Vol: 36: 1-29.
- Streit F, Corrieu G and Béal C, (2007). Acidification improves cryotolerance of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* cfl1. *J. Biotechnol*. Vol: 128: 659-667.
- Tabak S, Bensoltane A, (2011). L'activité Antagoniste des Bactéries Lactiques (*Streptococcus thermophilus*, *Bifidobacterium bifidum*, *Lactobacillus bulgaricus*) Vis-à-vis de la Souche *Helicobacter pylori* Responsable des Maladies Gastroduodénales, *Revue « Nature & Technology »*. n°6, Faculté des Sciences. Université d'Oran. P71.
- Tailliez P, (2001). Les bactéries lactiques, ces êtres vivants apparus il y a près de 3 milliards d'années. *Lait*. Vol: 81: 1-11.

- Tailliez P, (2004). Les lactobacilles : Propriétés, habitats, rôle physiologique et intérêt en santé humaine lactobacilli : properties, habitats, physiological rôle and importance in human health. Actualités microbiologiques. Vol: 6: 35-41.
- Tchamba CN, (2007). Caractérisation de la Flore Lactique des Laits Fermentés Artisanaux au Sénégal, Cas de la Zone de Niayes. Thèse de Doctorat. Université Cheikh Anta Diop de Dakar.P19.
- Thompson J et Genry-Weeks CR, (1994). Métabolisme des sucres par les bactéries lactiques. Dans : De Roissard Et Luquet, Bactérie lactique, Paris: Tec & Doc. Lavoisier.
- Thompson P M, McConnell BJ, Dominic JT, Mackay A, Hunter C and Racey PA, (1996). Comparative Distribution, Movements and Diet of Harbour and Grey Seals from Moray Firth, N. E. Scotland. Journal of Applied Ecology. Vol: 33: 1572-1584.
- Tredez M et Louise H, (2008). Méta- analyse des effets protecteurs des probiotiques sur la cancérogenèse colorectale chez les rongeurs. Thèse pour obtenir le grade de Docteur vétérinaire. Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE. P38-39.
- Vandamme P, Pot B, Gillis M, DeVos P, Kersters K and Swings J, (1996). Polyphasic taxonomy, a consensus approach to bacterial systematic. Microbiol. Rev. Vol: 60: 407.
- Van den Berg JC, Robijn GW, Janssen AC, Giuseppin MLF, Vreeker R, Kamerling JP, Vliegthart JFG, Ledebouer AM and Verrips CT, (1995). Production of a novel extracellular polysaccharide by *Lactobacillus sake* 0-1 and characterization of the polysaccharide. Appl. Environ. Microbiol. Vol: 61: 2840-2844.
- Van Den Berg JC, Smits A, Pot B, Zedeboer M, Kersters K, Verbakel JMA and Verrips CT, (1993). Isolation, screening and identification of lactic acid bacteria from traditional food fermentation process and culture collections. Food Biotechnol. Vol: 7: 189-205.
- Van den Berg MA, et al. (1996). The two acetyl-coenzyme A synthetases of *Saccharomyces cerevisiae* differ with respect to kinetic properties and transcriptional regulation. *J Biol Chem* 271(46): 28953-9
- Vierling E, (2003). Aliment et boisson- Filière et produit. 2<sup>ème</sup> édition. Doin éditeurs. Centre régionale de la documentation pédagogique d'aquitaine. P11-270.

- Vignola C, (2002). Science et Technologie du lait, Transformation du lait. Edition Presses Internationales Polytechnique. Canada. P 13-75-608.
- Vignola C, (2010). Science et technologie du lait : transformation du lait. Polytechnique. P.I. éd. Quebec.
- Vuilleumard JC, (1986). Microbiologie des aliments. Evolution de l'activité protéolytique des bactéries lactiques. Tec & Doc. Lavoisier. Paris. Vol: 3: 1-65.
- Walling EG, Indreau E et Lonvaud-Funel A, (2001). La biosynthèse d'exopolysaccharide par des souches de *Pediococcus damnosus* isolées du vin : mise au point de d'outils moléculaires de détection. INRA. 289-300.
- Wang CY, Lin PR, Ng CC, Shyu YT, (2010). Probiotic properties of *Lactobacillus strains* isolated from the feces of breast-fed infants and Taiwanese pickled cabbage. *Anaerobe*. Vol: 16: 578-585.
- Wegkamp A, Teusink B, De Vos WM and Smid EJ, (2010). Development of a minimal growth medium for *Lactobacillus plantarum*. *Letters in Applied Microbiology*. Vol: 50: 57-64.
- Welman AD and Maddox IS, (2003). Exopolysaccharides from lactic acid bacteria, perspectives and challenges. *Trends in biotechnology*. Vol: 21: 269-274.
- Xanthopoulos D, Petridis N and Tzanetakis, (2001). Characterization and Classification of *Streptococcus Thermophilus* and *Lactobacillus Delbruckii* Subsp. *bulgaricus* Strains Isolated from Traditional Greek Yogurts. *Journal of Food Science*. Vol: 1365-2621.
- Xanthopoulos V, Hatzicamari M, Adamidis T, Tasakalisou E, Tzanetakis N and Lipoulou-Tzanetaki E, (2000). Heterogeneity of *Lactobacillus plantarum* isolates from feta cheese throughout ripening. *J. App. Microbiol*. Vol: 88(6): 1056-1064.
- **Yennek, (2010)**. Effets des facteurs d'élevage sur la production et la qualité du lait de vaches en région montagneuses. Mémoire de Magistère en productions animales. Université Mouloud Mammeri. Tizi-Ouzou. Algérie. P84.
- Yateem AA, Balba MT, Al-Surrayai T, Al-Mutairi B and Al-Daher R, (2008). Isolation of acid lactic bacteria with probiotic potential from camel milk. *Int. J. Dairy Sci*. Vol: 3:194-199.

- Zhang G, Mills DA and Block DE, (2009). Development of chemically defined media supporting high-cell-density growth of Lactococci, Enterococci, and Streptococci. *Applied and environmental microbiology*. Vol: 75(4): 1080–1087.
- Zourari A, Accolas JP and Desmazeaud MJ, (1992). Metabolism and biochemical characteristics of yogurt bacteria. Review. *Lait*. Vol: 72: 1-34.

## Annexes

### Composition des milieux de culture (composants g/litre) :

<p><b>Gélose MRS</b> (de Man Rogosa et Sharpe, 1960) :</p> <p>Extrait de levure..... 5g            Extrait de viande..... 5g            Peptone..... 10 g            Acétate de sodium..... 5g            Citrate de sodium..... 2g            Glucose.....20g            KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>.....2g            MgSO<sub>4</sub>.....0.1g            MnSO<sub>4</sub>.....0.05g            Agar.....12g            Tween80..... 1 ml            Eau distillée..... 1000 ml            pH= 6.5±0.2 à 37°C</p>	<p style="text-align: center;"><b>MRS –Bouillon (pH = 6.2)</b></p> <p>Peptone..... 10g            Extrait de viande..... 8g            Extrait de levure..... 4g            Glucose..... 20g            Acétate de sodium trihydraté..... 5,0 g            Citrate d'ammonium..... 2,0 g            Tween 80..... 1,0 ml            Hydrogénophosphate de potassium..... 2,0 g            Sulfate de magnésium heptahydraté..... 0,2 g            Sulfate de manganèse tétrahydraté..... 0,05 g</p>
<p style="text-align: center;"><b>Clark et Lubs</b></p> <p>Peptone tryptique ou polypeptone....5-7g            Glucose..... 5 g            Phosphate dipotassique..... 5 g            Eau distillée..... 1000 ml            pH =7</p>	<p style="text-align: center;"><b>Milieu MSE</b></p> <p>Tryptone.....10g            Extrait de levure.....5g            Saccharose.....100g            Glucose.....5g            Citrate de sodium.....1g            Gélatine.....2,5g            AZohydrate de sodium 0,075g            Agar.....18g            Eau distillée.....1000ml</p>

<b>Milieu MRS- BCP</b>	<b>Milieu M.H</b>
Peptone ..... 10g	Extrait de levure .....3g
Extrait de levure ..... 5g	Hydrolysate acide de caséine .....17,5g
Glucose ..... 20g	Amidon .....1,5g
Acétate de sodium trihydraté..... 5,0g	Agar ..... 16g
Citrate d'ammonium .....2,0g	
Tween 80 .....1,0 ml	
Hydrogénophosphate de potassium..... 2,0g	
Sulfate de magnésium heptahydraté..... 0,2g	
Sulfate de manganèse tétrahydraté..... 0,05g	