

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE 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

N° ...../SNV/2017

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par

**GOUMIDI Souhila**

Pour l'obtention du diplôme de

**MASTER EN BIOLOGIE**

Spécialité: Exploitation des Ecosystèmes Microbiens Laitiers

THÈME

**Utilisation des souches lactiques  
thermophiles dans la lutte contre le mucor  
au niveau d'une transformation fromagère  
de type pâte molle**

Soutenu publiquement le 02/07/2017

DEVANT LE JURY

Président	M NEMMICHE Said	M C A Université Mostaganem
Encadreur	M HOMRANI Abdelkader	M C A Université Mostaganem
Examineur	Mme BELKACEMI	M C A Université Mostaganem
Co-encadreur	M DAHOU EL-AMINE	Doctorant A Université Mostaganem

*Thème réalisé au Laboratoire des sciences et techniques de production animale  
« LSTPA » Hassi-Mamèche Mostaganem*

2016 - 2017

## *Dédicace*

*À mon père adoré qui a été toujours à mes côtés.*

*À la plus belle créature que Dieu a créée sur terre,*

*À cette source de tendresse, de patience et de générosité,*

*À ma mère !*

*À tous mes frères et sœurs, ainsi que leurs enfants*

*À toute ma famille*

*À tous mes amis et collègues*

*À tous ceux qui, par un mot, m'ont donné la force de continuer*

*.....*



## *Remerciements*

*Avant tout nous remercions "Allah" tout puissant qui nous a donné le courage, la volonté et la force pour accomplir ce modeste travail. Merci de nous avoir éclairé le chemin de la réussite.*

*Mes reconnaissants remerciements à D. HOMRANI, en tant qu'encadreur, pour son aide et collaboration, sa compréhension et l'intérêt porté pour mon sujet.*

*J'adresse mes plus vifs remerciements à M DAHOU Abdelkader el-amine spécialiste en transformation fromagère, pour ses conseils scientifiques aide judicieux et son suivi durant la période de la réalisation de ce travail malgré ses charges professionnelles.*

*Je suis particulièrement reconnaissante à D. NEMMICHE d'avoir accepté de juger mon travail en tant que président ainsi que, D. BELKACEMI de bien vouloir évaluer et examiner ce mémoire.*

*Mes très spéciaux remerciements reviennent à ma famille et mes amies pour leurs encouragements et leur compréhension.*

*Finalement, je remercie tous ceux ou celles qui ont contribué de près ou de loin à l'accomplissement de ce mémoire.*

*A vous tous, un grand Merci.*

## Résumé

Le fromage est l'un des produits laitiers le plus consommé dans le monde, il a une place importante dans l'alimentation de presque toutes les sociétés. Le présent travail a pour but d'appliquer technologiquement des isolats de bactéries lactiques thermophiles dans la lutte contre un accident fongique « le mucor » au niveau d'une transformation fromagère de type pâte molle en utilisant des bactéries thermophiles « *Streptocoques* lactiques isolées et identifiées ».

Les résultats de l'évaluation des aptitudes technologiques indiquent que nos souches *Streptococcus thermophilus* présentent un bon pouvoir acidifiant, protéolytique, mais une texture filante moins ferme, et une activité anti-mucorale.

L'application de ces ferments thermophiles dans la technologie fromagère a révélé un bon rendement et une qualité organoleptique acceptable pour le fromage à pâtes molle type camembert stabilisé.

**Mots clés :** Bactéries lactiques, mucor, aptitudes technologiques, *S. thermophilus*, fromage, camembert.

## Abstract

Cheese is one of the most consumed dairy products in the world; it has an important place in the diet of almost all societies. The aim of this work is to apply technologically the isolates of thermophilus lactic bacteria in the control of a fungal accident "mucor" in a soft cheese type transformation using thermophilus bacteria "isolated and identified lactic streptococcus".

The results of the technological aptitude assessment indicate that our *Streptococcus thermophilus* strains exhibit good acidifying, proteolytic, but a less firm texture and anti-mucoral activity.

The application of these thermophilus ferments in the cheese technology revealed a good yield and an acceptable organoleptic quality for stabilized Camembert cheese type cheese.

**Key words:** Lactic bacteria, mucor, technological aptitudes, *S. thermophilus*, cheese, camembert.

## Liste des abréviations

- BL** : bactérie lactique
- cm, mm** : Centimètre, millimètre
- °C** : Degré Celsius
- °D** : Degré dornic
- EPS** : Exopolysaccharides
- g, mg** : Gramme, milligramme
- h, min, s** : heure, minute, seconde
- HR** : humidité relative
- j** : jour
- l, ml, µl** : Litre, millilitre, microlitre
- MSA** : Manitol Salt Agar.
- MRS** : de Man-Rogosa et Sharp
- OGA** : Gélose glucose à l'oxytétracyclique
- OMS** : Organisation Mondiale de la Santé
- PCA** : Plate Count Agar
- PH** : Potentiel d'Hydrogène
- PTS** : Phosphorylation et Transport du Sucre
- St:** *Streptococcus*
- sp.** : Espèce non précisée
- UFC**: Unité formant Colonie
- UHT** : Ultra Haute Température
- VP**: Voges- Proskauer
- V/V** : Volume par Volume.

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1</b> : Les différents genres de bactéries lactiques d'intérêt en microbiologie des aliments et leurs principales caractéristiques (Federighi M., 2005).....	9
<b>Tableau 02</b> : Rôle des ferments lactiques en fromagerie (Branger et al., 2007).....	25
<b>Tableau 03</b> : Les grandes transformations biochimiques au cours de l'affinage (Abdoune., 2003).....	32
<b>Tableau 04</b> : Morphologie comparée des principales espèces de Mucor. D'après Desfleur (Desfleurs M., 1980).....	40
<b>Tableau 05</b> : Evolution du pH et de l'acidité (en °D) des <i>Streptocoques</i> testés au cours du temps.....	73

## Liste des figures

<b>Figure 01</b> : Arbre phylogénétique des principaux genres de bactéries lactiques, incluant quelques genres aérobie et anaérobie facultatif de Firmicutes (Lahtinen et al, 2012)....	10
<b>Figure 02</b> : Transport du lactose et du galactose chez les bactéries lactiques (Guetarni, 2013).....	16
<b>Figure 03</b> : Système de protéolyse chez les Lactobacilles (Grattepanche, 2005).....	17
<b>Figure 04</b> : Fromage contaminé par du mucor. Les thalles longs, dressés en rangs serrés rappellent l'aspect du poil de chat.....	37
<b>Figure 05</b> : Vue microscopique d'un sporange de <i>Mucor mucédo</i> en train d'éclater. Libérant des milliers de spores.....	42
<b>Figure 06</b> : Diagramme de fabrication du fromage à pâte molle de type stabilisée.....	56
<b>Figure 07</b> : Dénombrement sur les dilutions $10^{-1}$ et $10^{-2}$ du lait UHT sur gélose PCA.....	57
<b>Figure 08</b> : Moulage avec un PH du caillé 6,10.....	59
<b>Figure 09</b> : 1 <sup>er</sup> retournement 30 min après moulage : PH du caillé 6,05 à température 38°C.....	59
<b>Figure 10</b> : 2 <sup>ème</sup> retournement 30 min après 1 <sup>er</sup> retournement : PH du caillé 5,98 à température 35°C.....	60
<b>Figure 11</b> : 3 <sup>ème</sup> retournement 30 min après 2 <sup>er</sup> retournement : PH du caillé 5,91 à température 31°C.....	60
<b>Figure 12</b> : 4 <sup>ème</sup> retournement 30 min après 3 <sup>er</sup> retournement : PH du caillé 5,87 à température 28°C.....	61
<b>Figure 13</b> : Démoulage du fromage (Jour J+1) PH : 4,92 température 17°C.....	61
<b>Figure 14</b> : Salage à Température saumure de 13°C ; Temps de salage 30 minutes.....	62

<b>Figure 15 :</b> Ressuyage à 14°C pendant 02 heures.....	62
<b>Figure 16:</b> Affinage à température 13°C avec une humidité relative à 90%.....	63
<b>Figure 17 :</b> Retournement du fromage : HR = 80% ; température = 12°C avec une ventilation arrêtée .....	63
<b>Figure 18 :</b> Retournement du fromage : HR = 90% ; température = 14°C.....	64
<b>Figure 19 :</b> Retournement du fromage : HR = 90% ; température = 13°C.....	64
<b>Figure 20 :</b> Sortie-conditionnement.....	65
<b>Figure 21:</b> Aspect des colonies des <i>streptocoques</i> obtenues après 24 h d'incubation à 42 °C sur milieu PCA Lait (étalement en surface des dilutions 10 <sup>-5</sup> et 10 <sup>-7</sup> .....	67
<b>Figure 22:</b> Aspect des colonies blanchâtres de <i>streptocoques</i> obtenues sur milieu PCA après l'incubation à 42°C/24h-48h.....	68
<b>Figure 23 :</b> Aspect microscopique des <i>streptocoques</i> après coloration de gram (microscope optique g×100).....	68
<b>Figure 24 :</b> Test de Sherman : absence de réduction du bleu de méthylène et aucune coagulation du lait .....	69
<b>Figure 25:</b> Test de type fermentaire de <i>Streptocoque</i> sur le milieu Gibson-Abdelmale .....	70
<b>Figure 26 :</b> Aspect des colonies de <i>microcoques</i> obtenues sur milieu Chapman après incubation à 20°C – 25°C pendant 5 à 7 jours.....	70
<b>Figure 27 :</b> Aspect des colonies des <i>brevibactériums</i> obtenues sur milieu Chapman (additionné avec l'amphotéricine β (Fungizone) suite à une incubation à 20°C – 25°C pendant 5 à 7 jours .....	71
<b>Figure 28 :</b> Aspect microscopique des <i>microcoques</i> après coloration de gram (microscope optique g×100).....	71

<b>Figure 29:</b> Aspect microscopique des <i>brevibacteriums</i> après Coloration de gram (microscope optique g×100).....	72
<b>Figure 30 :</b> Coagulation du lait écrémé sous l’action des ferments <i>S.thermophile</i> . Obtention d’un coagulum non ferme .....	74
<b>Figure 31 :</b> Activité protéolytique de la souche de <i>S.thermophile</i> sur milieu MRS au lait.....	75
<b>Figure 32:</b> Aspect de gel formé sur lait saccharosé. « Texture filant ».....	76
<b>Figure 33:</b> Aspect cultural du <i>Mucor mucedo</i> sur milieu OGA après incubation à 25°C/5j. Thalle blanc, gris.....	77
<b>Figure 34:</b> Aspect cultural du <i>Mucor racemosus</i> sur milieu OGA après incubation à 25°C/5j. Thalle blanc devenant brun gris en vieillissant.....	77
<b>Figure 35</b> Aspect cultural du <i>Penicillium candidum</i> .....	77
<b>Figure 36:</b> Aspect cultural du <i>Géotrichum candidum</i> .....	77
<b>Figure 37:</b> Pouvoir anti-mucorale de nos streptocoques avec un résultat positif (+) d’inhibition de développement.....	78
<b>Figure 38:</b> Aspect microscopique des <i>Géotrichum candidum</i> (microscope électronique g×400).....	79
<b>Figure 39:</b> Aspect microscopique de <i>Mucor mucedo</i> (Microscope électronique g×400).....	79
<b>Figure 40:</b> Aspect microscopique de <i>Penicillium candidum</i> (Microscope électronique g×400).....	80
<b>Figure 41:</b> Aspect des colonies jaunâtre de <i>S thermophile</i> présent dans le produit fini (camembert de type stabilisé) après étalement des dilutions 10 <sup>-1</sup> , 10 <sup>-2</sup> sur milieu PCA.....	80
<b>Figure 42 :</b> Aspect microscopique des <i>streptocoques</i> après coloration de gram (microscope optique g×100) forme cocci.....	81

## Table des matières

<i>Dédicace</i> .....	i
<i>Remerciements</i> .....	ii
Résumé.....	iii
Liste des abréviations.....	iv
Liste des tableaux.....	v
Liste des figures.....	vi
Introduction .....	2
Chapitre I : Bactéries lactiques.....	6
I. Généralités sur les bactéries lactiques.....	6
I.1. Définition et caractéristiques.....	6
I.2. Habitat et origine .....	6
I.3. Taxonomie des bactéries lactiques : .....	7
I.4. Caractéristiques des principaux genres des bactéries lactiques.....	10
I.5. Les voies du métabolisme des sucres chez les BL : .....	14
I.6. Activité protéolytique :.....	16
I.7. Domaine alimentaire.....	17
I-8-Domaine de la santé .....	20
Chapitre II : Application des bactéries lactiques en technologie fromagère .....	23
II.1. Généralités sur les fromages.....	23
II.2. Les différentes bactéries lactiques utilisées en fromagerie.....	23
II.3. Rôles et propriétés attendues des bactéries lactiques en fromagerie .....	24
II.4. Bactéries acidifiantes : .....	26
II.5. Les microflores d'affinage ou microflores de surface .....	26
II.6. Fabrication fromagère de type camembert.....	27
II.7. Microbiologie de fromage de type camembert.....	27
II.7.1. Microbiologie de l'affinage.....	28
II.8. Principaux problèmes de fromagerie .....	33
II.9. Qualité des fromages .....	33
II.10. Rendement fromager.....	34
Chapitre III : Principaux accidents fongiques en fromagerie pâte molle .....	36
III.1. Principaux accidents de fabrication .....	36
III.1.1. Accident du aux Mucor: accident dit du « poil de chat ».....	36
III.1.2. Accident du aux Penicillium: accident du « bleu ».....	38

III.1.3. Accidents dus à <i>Geotrichum candidum</i> : accident de la « graisse » et de la « peau de crapaud ».....	38
III.2. LES MUCORALES.....	39
III.2.1. Morphologie.....	39
III.2.2. Conditions de développement et de reproduction :.....	40
III.2.3. Les principaux vecteurs du mucor :.....	42
III.2.4. Les divers moyens de lutte contre le mucor .....	44
III.2.5. La prévention contre le mucor : la prévention se résume en 15 points à prendre en charge par le fromager.....	44
I. Matériel et Méthodes .....	48
I.1. Matériel .....	48
I.1.1. Matériel biologique .....	48
I.1.2. Milieux de culture .....	49
I.1.3. Appareillage .....	49
I.2. Méthodes .....	50
I.2.1. Revivification et Dénombrement des souches lactiques (streptocoques) .....	50
I.2.2. Identification des bactéries lactiques isolées.....	50
I.2.3. Etude de quelques aptitudes technologiques des ferments thermophiles.....	52
I.2.4. Conservation des isolats :.....	53
I.2.5. Contrôles des différents types de moisissures :.....	53
I.2.6. Eléments d'identification des moisissures .....	54
I.2.7. Fabrication du camembert de type stabilisé avec la culture thermophile .....	55
I.2.8. Contrôle physico-chimique du produit fini .....	65
I.2.9. Contrôle du produit fini « soit la viabilité du Streptocoque lactique à fin affinage »:...	65
II. Résultats et discussion .....	67
II.1. Etude morphologique .....	67
II.1.1 Critères macroscopiques.....	67
II.1.2 Critères microscopiques.....	68
II.2. Caractères physiologiques et biochimiques.....	69
II.2.1. Test de Sherman.....	69
II.2.2. Test de type fermentaire :.....	69
II.3. Culture des <i>brevibacterium</i> et microcoques sur milieu Chapman.....	70
II.3.1. Critères macroscopiques.....	70
II.3.2 Critères microscopiques.....	71
II.4. Aptitudes technologiques des ferments thermophiles .....	72

II.4.1. Pouvoir coagulant et acidifiant .....	72
II.4.2. Pouvoir protéolytique .....	74
II.4.3. Pouvoir épaississant .....	75
II.4.4. Pouvoir aromatisant.....	76
II.4.5. Critères macroscopiques des moisissures .....	77
II.4.6. Critères microscopiques des moisissures :.....	79
II.5. Dénombrement de <i>S thermophile</i> présent dans le produit fini :.....	80
II.6. Rendement fromager du camembert et qualité physico-chimique .....	81
Conclusion et perspectives.....	83
Références Bibliographiques.....	84
Annexes .....	98

# **Introduction**

## Introduction

Les microorganismes jouent un rôle fondamental dans le monde vivant, ils ont été les premières formes de vie sur la terre et sont capable de s'installer dans toutes les zones possible de la vie (**Hermieretet *al.*, 1992**), ils peuvent être responsables d'intoxication alimentaires mais permettent également de fabriquer de variétés d'aliments fermentés. Ces microorganismes soient le principal facteur de dégradation du lait, ils sont historiquement utilisés pour sa transformation et sa conservation (**Tormo., 2010**).

Les bactéries lactiques sont largement utilisées dans l'industrie alimentaire, en tant que starters dans les procédés de fermentations afin de répondre aux exigences de croissante des consommateurs en produits alimentaires moins traités et exempts de conservateurs chimiques. Leur apports bénéfiques consistent à l'amélioration de la qualité des produits fermentés en y développant certaines caractéristiques organoleptiques, sans altérer le goût ni l'odeur, et en augmentant leur durée de conservation (**Dortu et Thonart., 2009; Moraes et *al.*, 2010** ).

Les technologies laitières représentent toutefois le principal secteur d'application des bactéries lactiques. Dans la fabrication fromagère, elles jouent un rôle primordial dans les premières étapes de la transformation du lait, mais elles interviennent aussi, directement et indirectement, dans la phase d'affinage et dans la qualité sanitaire des produits. Leur action est liée principalement à deux aspects de leur métabolisme : la production d'acide lactique et l'activité protéolytique (**Desmazeaud., 1998**).

Notre présente étude répond à la nécessité d'avoir une transformation fromagère de type pâte molle en utilisant des bactéries thermophiles « Streptocoques lactiques isolées et identifiées » avec l'intérêt d'apporter aux industriels l'approche scientifique en utilisant un microbiote lactique thermophile pour lutter contre un accident fongique des fromageries « le mucor »

Notre manuscrit est structuré en trois parties, la première est consacrée à une synthèse bibliographique articulée autour de trois chapitres, le premier présente le groupe des bactéries lactiques, leurs principales caractéristiques et leurs utilisations, les applications des bactéries lactiques en technologie fromagère sont détaillés dans le deuxième chapitre pour arriver au dernier chapitre qui traite dans principaux accidents fongiques en fromagerie pâte molle.

La seconde partie du manuscrit présente le matériel et les méthodes mis en œuvre dans le cadre de la réalisation de ce travail, où sont détaillés les procédés avec l'étude de quelques aptitudes technologiques des isolats thermophiles reconstitués, la constitution d'un levain à base des souches revivifiées. L'essai de fabrication d'un fromage pâte molle (camembert) en utilisant le levain à base des souches revivifiées et évaluation de son activité antifongique « contre le mucor » ensemencé préalablement sur le lait utilisé. Les résultats obtenus au cours de cette étude sont ensuite exposés dans la troisième partie et sont discutés.

Finalement, une conclusion générale permet de récapituler les principaux résultats de ce travail.

Partie I  
Synthèse  
Bibliographique

# **Chapitre I**

# **Bactéries lactiques**

## Chapitre I : Bactéries lactiques

### I. Généralités sur les bactéries lactiques

#### I.1. Définition et caractéristiques

Les bactéries lactiques sont des cellules procaryotes organotrophes formant un groupe hétérogène (**Badis *et al.*, 2005**). Elles peuvent avoir différentes formes: sphériques (coques/genre *Streptococcus* et *Lactococcus...*), en bâtonnets (bacilles/genres *Lactobacillus*) ou encore ovoïdes (*Leuconostoc* ssp.) (**Luquet et Corrieu, 2005; Galvez *et al.*, 2011**).

Ce sont des bactéries à Gram positif dont la teneur en guanine et cytosine (G+C) est inférieure à 50%.

Elles sont asporulantes, aéro-anaérobie facultatives ou micro-aérophiles, à métabolisme fermentaire strict, acido-tolérantes et capables de croître à des températures comprises entre 10°C et 45°C et à des pH allant de 4,0 à 4,5. Ces bactéries sont généralement immobiles et se caractérisent par la production d'acide lactique comme produit majeur du métabolisme (**Salminen *et al.*, 2004; König et Fröhlich., 2009 ; Pringsulaka *et al.*, 2011**).

Les bactéries lactiques ont des exigences nutritionnelles complexes pour les acides aminés, les peptides, les vitamines, les sels, les acides gras et les glucides fermentescibles (**Dellaglio *et al.*, 1994 ; Hogg., 2005**).

#### I.2. Habitat et origine

Les bactéries lactiques sont ubiquistes, elles ont pour habitat de nombreux milieux naturels. Elles se trouvent généralement associées à des aliments riches en sucres simples. Elles peuvent être isolées du lait, du fromage, de la viande et des végétaux (plantes et fruits) (**König et Fröhlich., 2009**).

Elles se développent avec la levure dans le vin, la bière et le pain. Quelques espèces colonisent le tube digestif de l'homme et des animaux (**Leveau et Bouix., 1993 ; Hassan et Frank., 2001**).

Certains espèces semblent adaptées à un environnement spécifique et ne semblent guère se retrouver ailleurs que dans leur habitat naturel. Grâce à leur souplesse d'adaptation physiologique, les bactéries lactiques peuvent coloniser des milieux très différents du point de vue physicochimique et biologique (**DE Roissard et Luquet., 1994**).

### I.3. Taxonomie des bactéries lactiques :

Décrites pour la première fois par Orla-Jensen au début du XXe siècle (1919), les bactéries lactiques constituent un groupe hétérogène, qui n'est pas clairement défini du point de vue taxonomique (**Lahtinem et al., 2012**).

La monographie d'Orla-Jensen (1919) a constitué la base de la classification actuelle des BL.

Les critères utilisés (morphologie cellulaire, types fermentaire, les températures de croissance et l'utilisation des sucres) sont toujours très importants pour la classification des BL, bien que l'avènement d'outils taxonomiques plus modernes, les méthodes biologiques en particulier moléculaires, ont considérablement augmenté le nombre de genres de BL à partir des quatre initialement reconnue par Orla-Jensen (*Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* et *Streptococcus*) (**Lahtinem et al., 2012**).

Une importante étape a été franchie en 1977 par Woese et Fox qui ont introduit la phylogénie moléculaire basée sur la séquence des ARN ribosomiques. Cette méthode a révolutionné la taxonomie des bactéries et la classification des BL a été profondément modifiée. D'autres méthodes génotypiques (basés sur les acides nucléiques) sont aussi utilisées en classification, comme le pourcentage en GC de l'ADN ou l'hybridation ADN:ADN. (**Salminen et al., 2004**).

Les réorganisations effectuées ont contribué à fusionner des espèces en une seule, ou identifier une espèce comme un nouveau genre (**Pot., 2008**).

L'ancien genre *Streptococcus* était divisé au début en trois groupes : *Enterococcus*, *Lactococcus* et *Streptococcus* sensu stricto, mais aujourd'hui, certaines bactéries lactiques qui étaient mobiles, ressemblant aux *Lactococcus*, ont formé un autre genre séparé ; c'est les *Vagococcus*. Les genres *Lactobacillus*, *Leuconostoc* et *Pediococcus* sont globalement restés inchangés, mais quelques bactéries lactiques, auparavant incluses dans le genre *Lactobacillus*, forment maintenant le genre *Carnobacterium* qui regroupe des lactobacilles atypiques isolés de différents produits carnés. De plus, des souches de l'ancienne espèce *Pediococcus halophilus* ont été incluses dans le genre *Tetragenococcus* du fait de leur insensibilité à la Vancomycine.

Quelques espèces de *Lactobacillus* et *Leuconostoc* ont formé un nouveau genre, les *Weissella*, en raison de leurs différences phylogénétiques avec les autres lactobacilles hétérofermentaires.

Les *Leuconostoc oenos*, les « *Leuconostoc* du vin », ont formé le genre *Oenococcus* (Axelsson., 2004).

Le genre *Bifidobacterium* est considéré comme appartenant aux bactéries lactiques (du fait de son effet probiotique sur l'organisme et son utilisation dans les aliments) mais il est phylogénétiquement sans rapport avec ces dernières (Vandamme et al., 1996 ; Gevers 2002 ; Patrignani et al., 2006).

Les bactéries lactiques peuvent être divisées arbitrairement du point de vue morphologique en bacilles (*Lactobacillus* et *Carnobacterium*) et coques (tous les autres genres). 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).

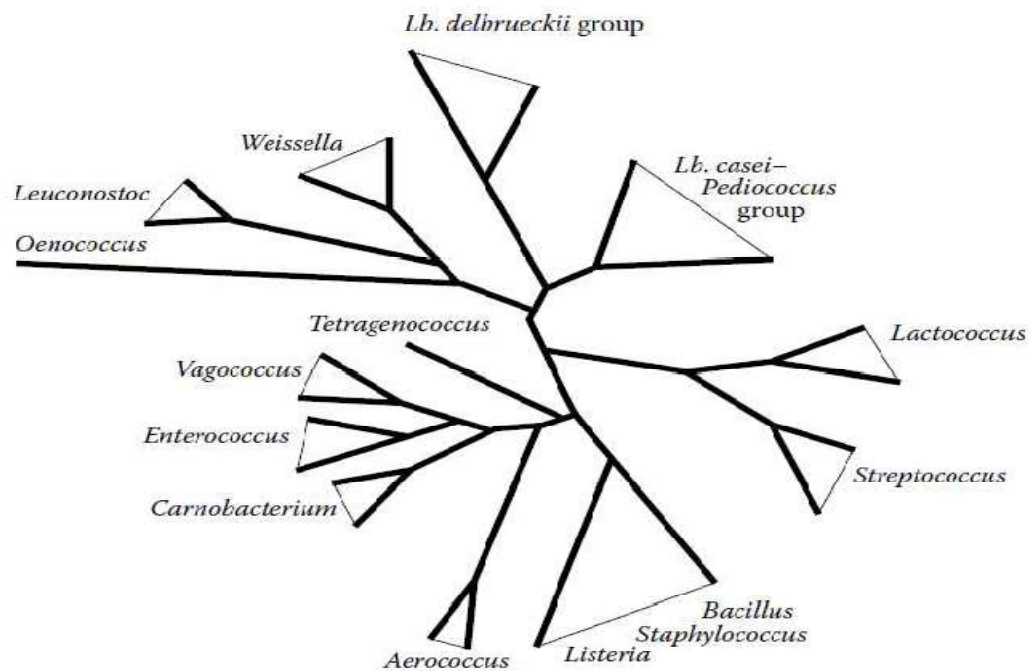
Selon la dernière édition de *Bergey's manual of systematic bacteriology* (2009), les bactéries lactiques sont classées dans le Phylum des **Firmicutes**, la Classe des **Bacilli** et l'Ordre des **Lactobacillales** renfermant trente cinq genres (*Aerococcus*, *Alloiococcus*, *Atopobium*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus* et *Weissella*,..... (Pot., 2008)) Répartis sur six familles. Parmi ces genres, seulement douze sont importants d'un point de vue biotechnologique (tab.1) (Fig.1) (Axelsson., 2004 ; Guiraud et al., 2003 ; Limsowtin et al., 2004).

D'autres genres, par exemple : *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 bactéries lactiques (Broadbent., 2001 ; Axelsson., 2004).

Les nombreux genres et espèces qui constituent ce groupe présentent une grande diversité de caractéristiques physiologiques. Cela se traduit par l'existence entre genres, espèces et au sein des espèces, de nombreuses souches possédant des propriétés technologiques différentes.

**Tableau 1** : Les différents genres de bactéries lactiques d'intérêt en microbiologie des aliments et leurs principales caractéristiques (Federighi M., 2005).

Genre	Morphologies	Morphologies Fermentation	Caractéristiques principales	Habitats principaux
<i>Lactobacillus</i>	Bacillus	Homofermentaire ou Hétérofermentaire	Thermophilus ou mésophiles	Homme, Produits laitiers, carnés, végétaux...
<i>Carnobacterium</i>	Bacillus	Hétérofermentaire	Psychotropes, peu acidotolérants	Produits carnés, poissons, produits laitiers
<i>Lactococcus</i>	Coques	Hétérofermentaire	Mésophiles, croissance à 10°C et non à 45°C	Produit laitiers, végétaux
<i>Streptococcus</i>	Coques	Homofermentaires	Thermophiles	Produit laitiers
<i>Enterococcus</i>	Coques	Homofermentaires	Mésophiles, croissance à 45°C et non à 10°C, thermorésistance	Intestin de l'homme et des animaux, produits laitiers
<i>Pediococcus</i>	Coques en tétrades	Homofermentaires	Mésophiles, halotolérants	Bière, produits végétaux, saucissons
<i>Tetragenococcus</i>	Coques en tétrades	Homofermentaires	Mésophiles, halophiles	Saumures
<i>Leuconostoc</i>	Coques	Hétérofermentaires	Mésophiles	Produits végétaux, produits laitiers
<i>Oenococcus</i>	Coques	Hétérofermentaires	Mésophiles	Vin
<i>Bifidobacterium</i>	Forme irrégulière	Acide acétique et lactique	Mésophiles	Intestin de l'homme et des animaux
<i>Vagococcus</i>	Coques mobiles	Homofermentaires	Mésophiles	Intestin de l'homme et des animaux, produits laitiers (Boudjema 2008)



**Figure 01** : Arbre phylogénétique des principaux genres de bactéries lactiques, incluant quelques genres aérobie et anaérobie facultatif de Firmicutes (Lahtinen et al., 2012).

## I.4. Caractéristiques des principaux genres des bactéries lactiques

### I.4.1. Le genre *Lactobacillus*

Le genre *Lactobacillus* est quantitativement le plus important des genres du groupe des bactéries lactiques. Il s'agit de bacilles longs et fins (parfois incurvés) souvent groupés en chaînes, immobiles, asporulés, catalase négative, se développent à un optimum de température situé entre 30 et 40°C. Les lactobacilles ont des exigences nutritionnelles très complexes en acides aminés, en vitamines, en acides gras, en nucléotides, en glucides et en minéraux (Khalid et Marth., 1990 ; Leclerc et al., 1994).

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

- **Groupe I** « *Thermobacterium* » : comprend les lactobacilles homofermentaires thermophiles qui se développent à 45°C mais pas à 15°C. Les espèces les plus fréquentes dans l'alimentation (lait, yaourt, fromage) sont *Lb. helveticus*, *Lb. delbrueckii*, *Lb. acidophilus*.
- **Groupe II** « *Streptobacterium* » : regroupe les lactobacilles homofermentaires mésophiles et peuvent être occasionnellement hétérofermentaires en fonction du substrat. Les espèces les plus fréquentes dans l'alimentation sont *Lb. casei*, *Lb. curvatus*, *Lb. sake* et *Lb. plantarum*.
- **Groupe III** « *Betabacterium* » : ce sont des lactobacilles hétérofermentaires. Il comporte les espèces *Lb. fermentum*, *Lb. brevis* et *Lb. sanfransisco*.

#### I.4.2. Le genre *Lactococcus*

Les lactocoques se présentent sous forme de coques en paires ou en chaînes de longueur variable. Ce sont des bactéries anaérobies facultatives homofermentaires ne produisant que de l'acide lactique L(+), seul *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* biovar. *diacetylactis* produit le diacétyl. Leur température optimale de croissance est proche de 30°C, capable à se développer à 10°C mais pas à 45°C. Quelques espèces produisent des exopolysaccharides et des bactériocines. Elles sont capables à se développer à 3% de bleu de méthylène et d'hydrolyser l'arginine (Tamime., 2002).

Elles se développent généralement à 4% de NaCl et à un pH proche de la neutralité, leur croissance s'arrêtant lorsque le pH du milieu atteint 4,5. Ce genre est un habitant typique des plantes, des animaux et de leurs produits (Zhang et Cai., 2014). Actuellement, le genre *Lactococcus* comprend cinq espèces, *Lactococcus lactis* est l'espèce la plus connue avec ses trois sous-espèces : *Lc. lactis* ssp. *lactis*, *Lc. lactis* ssp. *cremoris* et *Lc. lactis* ssp. *hordniae* (Pot et al., 1996 ; Pot., 2008).

Et Selon GUIRAUD (1998), le genre *Lactococcus* est représenté par les espèces suivantes : *Lc. Lactis* ssp. *cremoris*, *Lc. Lactis* ssp. *Lactis* et *Lc. diacetylactis*. La sous espèce *Streptococcus Lactis* ssp. *diacetylactis* est remplacée par la sous espèce *Lactococcus Lactis* ssp. *Lactis*.

Le lait est un habitat privilégié des lactocoques (Dellaglio et al., 1994 ; Corroler et al., 1999). *Lactococcus lactis* est l'espèce la plus étudiée et la plus fréquemment détectée dans les laits crus (Corroler et al., 1998 ; Dalmaso et al., 2008).

### I.4.3. Le genre *Streptococcus*

Ce genre est généralement divisé en trois groupes : pyogène (la plus part des espèces pathogènes et hémolytiques), oral (tel que *St. salivarius*, *St. bovis*) et les autres streptocoques (Scheilfer., 1987). Les cellules de ce genre sont immobiles, sphériques ou ovoïdes qui ont un diamètre inférieur à 2 µm avec une disposition en paires ou en chaînes longues.

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

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

*Streptococcus thermophilus* se différencie par son habitat (lait et produits laitiers) et son caractère non pathogène. La résistance à la température, la capacité de croître à 52°C et le nombre limité des hydrates de carbones permettent de distinguer les *St. thermophilus* de la plupart des autres streptocoques (Haddie., 1986 ; Pilet *et al.*, 2005).

### I.4.4. Le genre *Enterococcus*

Les *Enterococcus* représentent le groupe des entérocoques, ils sont composés de streptocoques fécaux (*Enterococcus faecalis* et *Enterococcus faecium*). Ce genre comprend des cellules ovoïdes isolées, en paires ou en courtes chaînes. Il se caractérise par sa tolérance à 6,5% de NaCl, au pH 9,6 et par la croissance à 10°C et 45°C avec une température optimale de croissance de 35°C à 37°C (Zhang et Cai., 2014). Les entérocoques peuvent être mobiles, homofermentaires, généralement différenciés par la fermentation de l'arabinose et le sorbitol (Tamime., 2002 ; Ho *et al.*, 2007).

### I.4.5. Les genres *Leuconostoc*, *Oenococcus* et *Weissella*

Les genres *Leuconostoc*, *Oenococcus* et *Weissella* ; bactéries lactiques typiques (BL). Ils ressemblent le plus étroitement au genre *Lactobacillus*. Ils sont Gram positif, catalase négative et anaérobie facultatif. Le genre *Weissella* regroupe deux types morphologiquement différents: les bacilles (anciennement les lactobacilles

hétérofermentaires "atypique") et les coques de forme ovoïde (*Leuconostocs*, *Oenococcus* et *Streptococcus* "typique") : *Weissella paramesenteroides* et *Weissella hellenica* (Bjorkroth et Holzapfel., 2003).

Les caractéristiques physiologiques tels que l'absence de l'arginine déiminase, et la production prédominante du D (-) - lactate à partir du glucose, sont partagées par toutes les espèces du genre *Leuconostoc* et *Oenococcus*, et seulement par les espèces de *Weissella* ayant une forme ovoïde (*W. paramesenteroides*, *W. hellenica* et *W. thailandensis*) (Hammes et Vogel., 1995).

Les *Leuconostoc* principalement *Ln. mesenteroides* ssp. *cremoris* et *Ln. lactis* sont utilisés en association avec les lactocoques dans l'industrie laitière pour produire en plus de l'acide lactique et le CO<sub>2</sub>, des substances aromatiques telles que le diacétyle et l'acétoïne à partir des citrates du lait (Hassan et Frank., 2001 ; Guiraud., 2003 ; Ogier *et al.*, 2008).

Récemment, l'espèce *Leuconostoc oenos* isolée du vin a été classée dans un nouveau genre, *Oenococcus oeni* et certaines espèces de lactobacilles hétérofermentaires ont été groupées avec *Leuconostoc paramesenteroides* dans le nouveau genre *Weissella* (Stiles et Holzapfel., 1997).

#### I.4.6. Le genre *Pediococcus*

Les *Pediococcus* sont des coques homofermentaires dont la particularité est le regroupement en tétrade. Ils sont mésophiles, le plus souvent incapable d'utiliser le lactose, et leur développement nécessite la présence de divers facteurs de croissance. Certaines espèces se distinguent par leur capacité à se développer à des teneurs en sels très élevées, comme *Pediococcus halophilus*, renommé *Tetragenococcus halophilus* et *Tetragenococcus muriaticus* qui tolère jusqu'à 18% de NaCl (Pilet *et al.*, 2005).

Les espèces de *Tetragenococcus* ont un rôle crucial dans la fabrication des produits alimentaires à concentration élevée en sel comme les sauces de soja, alors que les *pediocoques* sont parfois utilisés comme levains lactiques pour les charcuteries (Guiraud et Rosec., 2004 ; Tosukhowong *et al.*, 2005).

#### I.4.7. Le genre *Bifidobacterium*

Le genre *Bifidobacterium* est considéré comme faisant partie du groupe des bactéries lactiques grâce à la similarité de ses propriétés physiologiques et biochimiques et à sa présence dans le même habitat écologique, tel que le tube gastro-intestinal. Ces

microorganismes sont phylogénétiquement sans rapport avec ces dernières. Ils sont davantage liés au phylum *Actinobacteria* (anciennement *Actinomycètes*) des bactéries Gram positif dont l'ADN est à haut pourcentage de G +C. Les bifidobactéries se caractérisent par leur forme très irrégulière souvent en forme V mais pouvant être coccoïdes, la présence d'une enzyme, la fructose-6-phosphate phosphocétolase, celle-ci leur permet de fermenter les hexoses en produisant de l'acide acétique et de l'acide lactique. Leur température de croissance varie de 36°C à 43°C (Axelsson., 2004 ; Pilet *et al.*, 2005 ; Ho *et al.*, 2007).

#### I.4.8. Le genre *Vagococcus*

Les espèces du nouveau genre *Vagococcus* sont facilement confondues avec les lactocoques au niveau morphologique, mais ces deux genres sont clairement distincts par leur composition en acides gras. Certaines espèces de *Vagococcus* sont mobiles (Teixeira *et al.*, 1999). Les amorces d'oligonucléotides spécifiques à ce genre et ses espèces sont disponibles, ce qui rend l'identification des bactéries de ce genre fiable et réalisable (Ammor *et al.*, 2006).

### I.5. Les voies du métabolisme des sucres chez les BL :

#### I.5.1. Voie homofermentaire ou EMP :

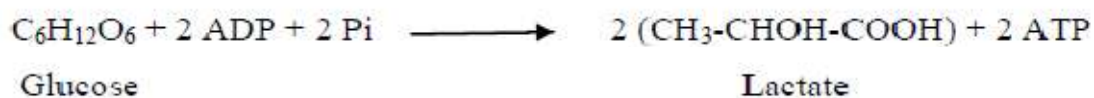
Toutes les bactéries lactiques à l'exception des genres : *Leuconstoc*, *Oenococcus*, *Weissella* et certaines espèces du genre *Lactobacillus*, entravent la voie de la glycolyse pour dégrader les hexoses (ex : glucose).

La fructose-1,6-bisphosphate aldolase (FBA), est une enzyme clé présente chez toutes les espèces homofermentaires et indispensable au fonctionnement de la voie EMP.

Après son transfert vers la cellule, le glucose subit une phosphorylation pour se transformer en fructose qui est à son tour phosphorylé en fructose 1-6 biphosphate (FBP) puis clivé en dihydroxyacétone phosphate (DHAP) et glycéraldéhyde phosphate (GAP). Ces deux derniers sont convertis en pyruvate.

Le pyruvate est dans une dernière étape réduit en acide lactique qui est le produit unique: c'est la fermentation homolactique (Mozzi *et al.*, 2010).

Cette voie conduit dans des conditions optimales de croissance à la production de deux molécules de lactate et deux molécules d'ATP par molécule de glucose consommée (Thompson et Gentry- Weeks., 1994).

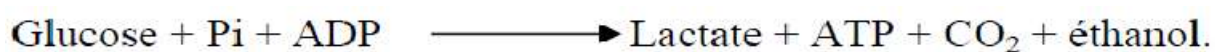


Dans les conditions défavorables telles la limitation du glucose, ces bactéries produisent également l'acide formique, l'acide acétique, l'éthanol et/ou le CO<sub>2</sub> par la voie de fermentation des acides mixtes (Mozzi et al., 2010).

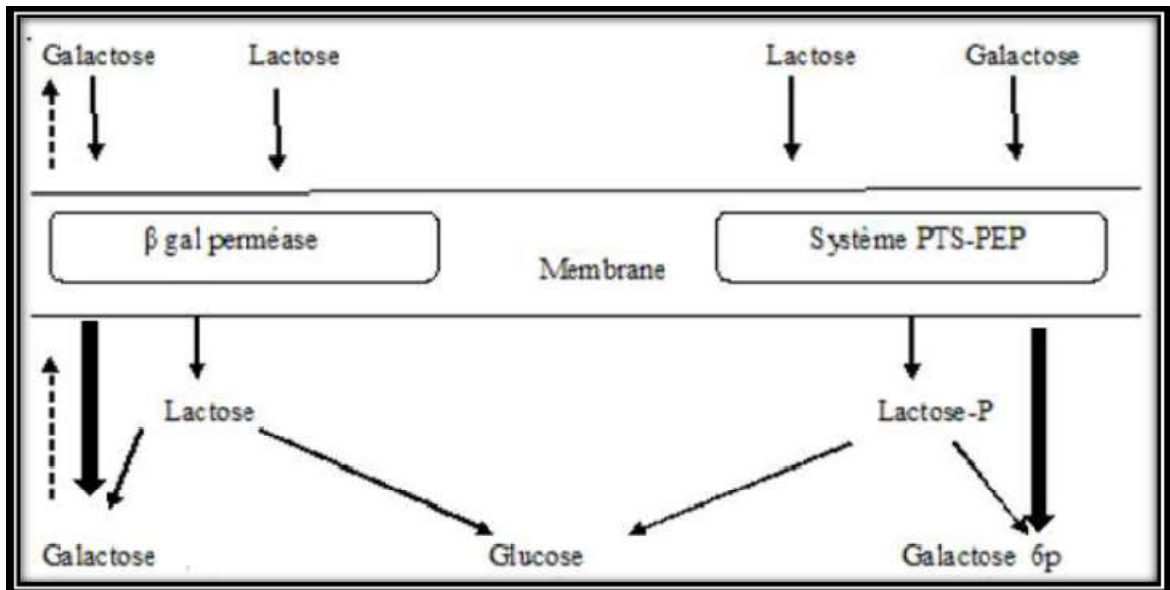
### I.5.2. Voie hétérofermentaire ou voie des pentoses phosphate :

Les principaux genres de bactéries lactiques présentant ce type de métabolisme sont les leuconostocs et certains lactobacilles. Ces microorganismes sont dépourvus d'une FBA, d'une triose-phosphate isomérase (TPI) ainsi que d'un système PTS fonctionnel. Dans ces conditions, le glucose est accumulé par l'intermédiaire d'un transport actif puis subit une phosphorylation intracellulaire par le biais d'une glucokinase (GLK) ATP-dépendante. Le glucose-6-phosphate emprunte ensuite la partie oxydative de la voie des pentoses-phosphate qui conduit à la formation de xylulose-5-phosphate. Le xylulose-5-phosphate est scindé en acétyl-phosphate et glycéraldéhyde-3-phosphate par la D-xylulose-5-phosphate phosphocétolase, enzyme spécifique à la voie hétérofermentaire. Enfin, l'acétyl-phosphate est converti en éthanol ou en acétate, et le GAP qui rejoint la glycolyse est métabolisé en acide lactique.

Le métabolisme hétérofermentaire est deux fois moins énergétique que le métabolisme homofermentaire puisqu'une mole de glucose conduit à la production d'une mole de lactate, d'éthanol, de CO<sub>2</sub> et d'un seul ATP (Raynaud., 2006).



Les hexoses autres que le glucose, tels que le mannose, le galactose et le fructose, sont fermentés par beaucoup de BL. Les sucres entrent dans les voies majeures au niveau de la glucose-6-phosphate ou fructose-6-phosphate après isomérisation et / ou phosphorylation. Une exception importante est le métabolisme du galactose par les BL, qui utilisent un système PTS à définir sur ou une perméase pour l'absorption de ce sucre (Fig.2) (Salminen et al., 2004 ; Salminen et al., 2012).



**Figure 02 :** Transport du lactose et du galactose chez les bactéries lactiques (Guetarni., 2013).

### I.6. Activité protéolytique :

Les bactéries lactiques ont des besoins nutritionnels complexes, et les quantités d'acides aminés ou de courts peptides trouvés dans le lait sont insuffisantes pour une croissance optimale. Des études plus précises ont permis de mettre en évidence des enzymes protéolytiques différentes quant à leur nature et leur localisation. Ces bactéries possèdent des protéases localisées à l'extérieur de la membrane plasmique, liées à la paroi et capables d'hydrolyser la caséine. Cette activité protéolytique est favorisée par les ions calcium et les pH acides. Il a été démontré que les Lactobacilles ont une activité protéolytique marquée (Fig.3) et produisent à partir des protéines complexes, des composés azotés de bas poids moléculaire. Ce qui explique la situation de *S.thermophilus* cultivée en association avec *Lb.bulgaricus* ou avec *Lb.helviticus* et confirmant l'absence de ces protéases extracellulaires chez la plupart des souches de *S.thermophilus*. De nombreuses protéases intracellulaires ont été caractérisées telles que les métallo-protéases chez *Lc.lactis* et *S.thermophilus*. De nombreuses protéases sont synthétisées par les bactéries lactiques.

Elles peuvent être des aminopeptidases, dipeptidases ou tripeptidases, situées au niveau de la membrane plasmique ou dans le cytoplasme (Hols et al., 2005 ; Atlan et al., 2008 ; Salminen et al., 2012).

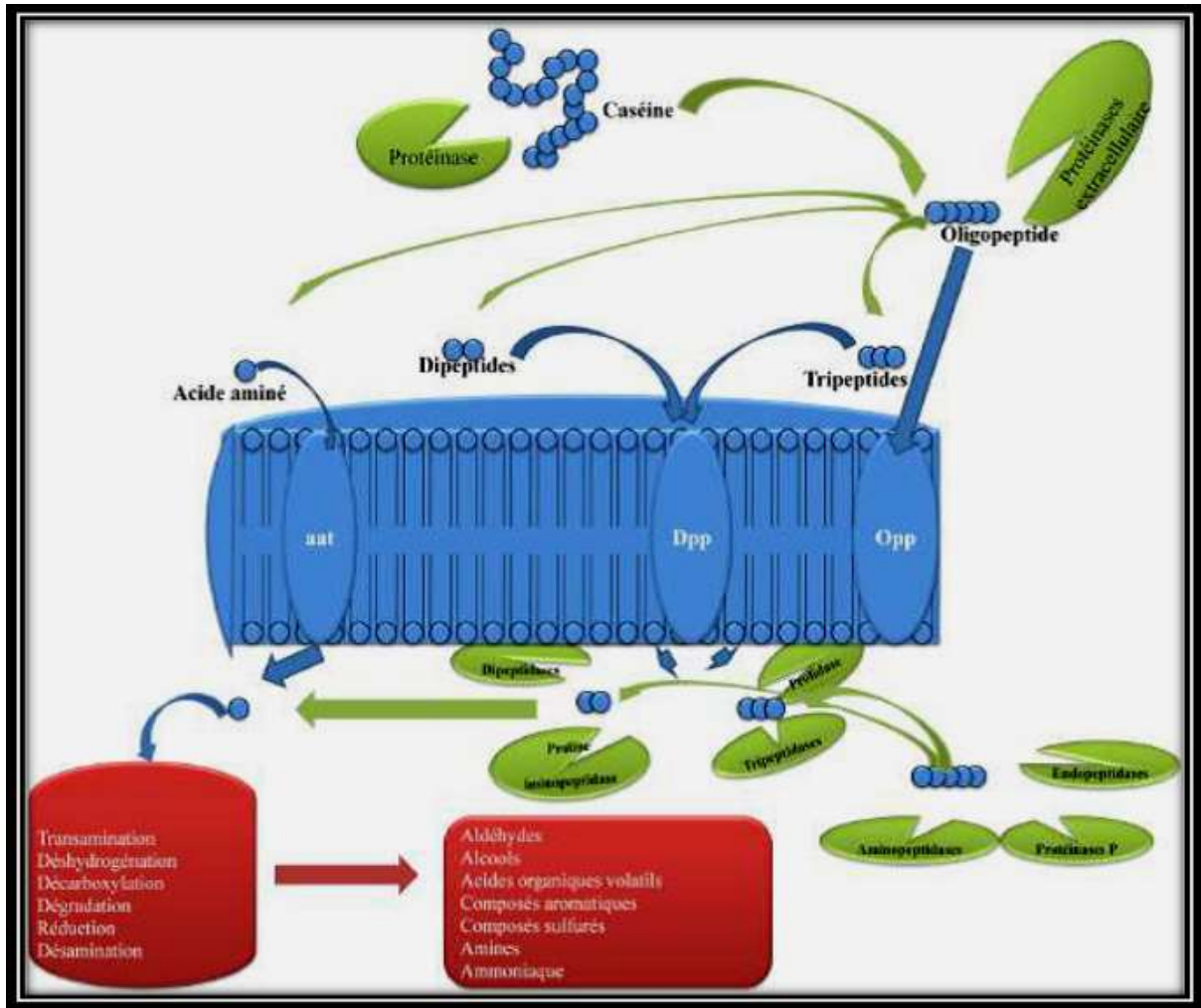


Figure 03 : Système de protéolyse chez les Lactobacilles (Grattepanche., 2005)

## I.7. Domaine alimentaire

### I.7.1. Pouvoir texturant

La capacité des bactéries lactiques à synthétiser des exopolysaccharides (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 *Lb. 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, éviter la synérèse et augmenter la viscosité des produits finis (Durlu-Özkaya *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 (Ruas-Madiedo *et al.*, 2005).

### I.7.2. Pouvoir aromatisant

Certaines bactéries lactiques sont capables de produire des composés d'arômes qui participent aux qualités organoleptiques des fromages. La plupart des composés d'arôme sont issus du métabolisme du citrate : l'acétoïne et le diacétyl sont les plus importants (Tamime., 1990). La production de diacétyl est généralement associée à la fermentation du citrate (Vignola., 2002). Les lactobacilles (*Lb. helveticus*, *Lb. 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 *Leuconostocs* hétéro-fermentaires sont souvent associés aux lactocoques dans la production de composants aromatiques (éthanol, acide acétique, diacétyl et acétoïne) (Mahaut *et al.*, 2000).

### I.7.3. Pouvoir acidifiant

La fonction acidifiante constitue la propriété métabolique la plus recherchée des bactéries lactiques utilisées dans les industries alimentaires. Elle se manifeste par la production de l'acide lactique à partir de la fermentation des hydrates de carbone au cours de la croissance bactérienne (Mäyrä-Mäkinen et Bigret., 2004 ; Monnet *et al.*, 2008).

Afin de réaliser une caractérisation technologique des souches, il est utile de mesurer l'activité acidifiante des bactéries en reproduisant l'évolution thermique du fromage (Chamba et Prost., 1989). Pour mesurer l'activité acidifiante des bactéries dans le lait, la destruction préalable de la flore contaminante est nécessaire (Chavarri *et al.*, 1983).

*L. lactis* subsp. *lactis*, ssp. *cremoris* et biovar. *diacetylactis*, sont les trois bactéries les plus fréquemment citées pour leurs rôles majeurs différents, respectivement pour l'aptitude acidifiante (Casalta *et al.*, 1995 ; Lafarge *et al.*, 2004).

### I.7.4. Pouvoir protéolytique

L'incapacité des bactéries lactiques à synthétiser les acides aminés nécessaires à la synthèse protéique nécessite un fonctionnement actif de leur système protéolytique dans les environnements où les protéines constituent la principale source d'azote (Law et Haandrikman., 1997).

Le système protéolytique des bactéries lactiques est composé de protéases associées à la paroi cellulaire, qui catalysent l'hydrolyse de protéines en peptides contenant de 7 à 16 résidus aminés, ces peptides sont ensuite dégradés par des endopeptidases ou

exopeptidases en unités transportables d'acides aminés et de petits peptides. Des études comparatives effectuées sur la protéolyse du cheddar fait avec ou sans ferments lactiques ont démontré l'importance de ces bactéries pour la libération de petits peptides et d'acides aminés libres durant la maturation fromagère (Lynch *et al.*, 1997; Lane et Fox, 1996; Farkye *et al.*, 1995). Les lactobacilles présentent généralement une activité protéolytique plus prononcée que les lactocoques (Donkor *et al.*, 2007 ; Monnet *et al.*, 2008 ; Roudj *et al.*, 2009).

Selon JEANSON (2000), 2 types de protéases agissant sur les caséines (protéines impliquées dans la coagulation du lait) sont synthétisées :

- **Type I** : protéolyse de la caséine  $\beta$ ,
- **Type II** : protéolyse des caséines  $\beta$ ,  $\alpha_1$  et  $\kappa$ .

### I-7-5-Pouvoir lipolytique

Les activités lipolytiques des micro-organismes sont importantes pendant la maturation du fromage, elles contribuent généralement au développement de saveur (Ortiz DE Apodaca *et al.*, 1993).

Ordofiez et Ortiz de Apodaca (1977), ont observé que les lipases extracellulaires de plusieurs microcoques isolées du fromage étaient plus actives contre les acides gras à courte et longue chaîne estérifié aux triacylglycérols, et l'activité lipolytique intracellulaire était moins que celle extracellulaire.

Stadhouders et Mulder (1958), ont observé que certaines souches de microcoques ont hydrolysé la matière grasse du lait en crème dans les conditions du laboratoire, mais n'ont pas hydrolysé la graisse de fromage. Cependant, d'autres auteurs ont rapporté que l'utilisation des souches choisies de microcoques améliore la saveur du fromage (Reiter *et al.*, 1967; Schleifer et Kloos., 1975).

### I.7.6. Pouvoir antibactérien

Les bactéries lactiques constituent un moyen biologique efficace pour la préservation des qualités hygiéniques des aliments, du fait de leur aptitude inhibitrice vis-à-vis des microorganismes nuisibles (Caridi *et al.*, 2003). En effet, les bactéries lactiques produisent de nombreux métabolites aux propriétés antimicrobiennes, comme des acides organiques, du peroxyde d'hydrogène, du dioxyde de carbone, de la reutéline, du diacétyle et des bactériocines (Dortu et Thonart., 2009).

Le peroxyde d'hydrogène, produit en présence d'oxygène, s'accumule en l'absence de catalase ; son pouvoir oxydatif provoque l'oxydation des lipides et la libération des acides nucléiques (**Block., 1991**). Le dioxyde de carbone, formé au cours de la fermentation hétérolactique, crée un environnement anaérobie qui s'avère toxique pour certains microorganismes aérobies (**Eklund., 1984**). Les acides organiques, élaborés lors de la fermentation des glucides, peuvent inhiber des levures, des moisissures et des bactéries.

En diffusant à travers les couches lipidiques de la membrane bactérienne, ils provoquent un abaissement du pH interne par libération de protons, déstabilisant ainsi le fonctionnement de la cellule bactérienne (**Booth., 1985**).

Certaines souches de bactéries lactiques produisent des bactériocines à spectre d'action plus ou moins large comme la nisine et la lactostrepcine produites par *Lc. lactis*, la diplosine par *Lc. cremoris*, la plantaricine par *Lb. plantarum*, la mesentérocine et la leucocine produites par *Ln. mesenteroides* (**Piard et Desmazeaud., 1992 ; Piard et al., 1992 ; Vandenberg., 1993 ; Corbier et al., 2001**). La production de ces peptides biocides peut présenter un intérêt dans la lutte contre des bactéries à Gram positif d'altération ou pathogènes (**Edima., 2007**).

## I-8-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 lactobacilles ont été incorporés dans des laits fermentés (**Heller., 2001 ; Oliveira et al., 2001**), des fromages (**Gomes et Malcata., 1998 ; Nayra et al., 2002**) et des glaces (**Christiansen et al., 1996**).

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 de diarrhées (**Mkrtchyan *et al.*, 2010**). D'autres ont cité leur capacité de diminuer les allergies liées aux aliments grâce à leur activité protéolytique (**El-Ghaish *et al.*, 2011**).

**Uehara *et al.* (2006)** ont démontré la capacité des souches de *Lactobacillus crispatus*, utilisées sous forme de suppositoires pour empêcher la colonisation du vagin par les bactéries pathogènes et de prévenir ainsi les rechutes chez les femmes qui souffrent d'inflammations fréquentes et répétées de la vessie.

# **Chapitre II**

## **Application des bactéries lactiques en technologie fromagère**

---

## Chapitre II : Application des bactéries lactiques en technologie fromagère

### II.1. Généralités sur les fromages

Les fromages sont des formes de conservation et de report ancestrales de la matière utile du lait (protéines, matière grasse ainsi qu'une partie du calcium et phosphore), dont les qualités nutritionnelles et organoleptiques sont appréciées par l'homme dans tout le globe.

La définition « fromage » est réservée au produit fermenté ou non, affiné ou non, obtenu à partir des matières d'origines exclusivement laitières (lait, lait partiellement ou totalement écrémé, babeurre) utilisées seules ou en mélange et coagulées en tout ou en partie avant égouttage (**Bourgeois et Larpent., 1996 ; Jeantet et al., 2007**).

La diversité des procédés fromagers (types de lait, de coagulation, d'égouttage, cuisson, flore et type d'affinage) permet d'obtenir des produits présentant des caractéristiques texturales et gustatives très différentes. Il existe huit grandes familles de fromages : pâte fraîche, pâte molle, pâte persillée, pâte pressée, pâte dure, pâte filée, les fromages de lactosérum et, enfin, les fromages salés conservés en saumure (**St-Gelais et al., 2002**).

Dans cet écosystème, les bactéries lactiques jouent un rôle primordial, non seulement parce qu'elles interviennent dès les premières étapes de fabrication des fromages, mais aussi parce que leur action est déterminante sur les autres microorganismes et le fonctionnement du bioréacteur fromage (**Chamba., 2008**).

### II.2. Les différentes bactéries lactiques utilisées en fromagerie

Elles appartiennent principalement à trois genres : *Lactobacillus*, *Lactococcus* et *Streptococcus* qui se différencient, entre autre, par leur activité acidifiante. Les lactobacilles utilisés pour leur activité acidifiante sont thermophiles et appartiennent au groupe I : *Lb. delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, *Lb. delbrueckii* ssp. *lactis* et *Lb. helveticus*. Se développant assez difficilement au pH initial du lait, les lactobacilles thermophiles ne sont jamais utilisés seuls en fromagerie (**Hassan et Frank., 2001 ; Chamba., 2008**).

*Lactococcus lactis* est la seule lactocoque utilisée industriellement en fromagerie. Les deux sous-espèces *Lc. lactis* ssp. *lactis* et *Lc. lactis* ssp. *cremoris* se distinguent essentiellement par leur capacité acidifiante et leur sensibilité à la température. Le biovar. *Lc. lactis* ssp. *lactis* biovar. *diacetylactis* utilise le citrate, produit du diacétyle, de

l'acétoïne et du CO<sub>2</sub>. Les lactocoques sont utilisés dans la majorité des technologies fromagères où ils peuvent constituer le seul ensemencement en bactéries lactiques.

*Streptococcus thermophilus* est le seul streptocoque habituellement utilisé en fromagerie mais, toujours en association avec d'autres espèces. Il y'a quelques années, une nouvelle espèce *St. macedonicus* a été mise en évidence (**Chamba., 2008**).

D'emploi moins fréquent, les leuconostocs sont essentiellement utilisés pour leur production de composés aromatiques et de CO<sub>2</sub> utile pour assurer l'ouverture de certains fromages. Les lactobacilles hétérofermentaires facultatifs (groupe II) commencent à être utilisées comme ferment de fromagerie dont les principales espèces utilisables sont *Lb. casei*, *Lb. plantarum*, *Lb. Paracasei* et *Lb. rhamnosus*. Par ailleurs, certaines souches parmi ces espèces sont utilisées pour leurs propriétés probiotiques (**Gardinier et al., 1998 ; Chamba., 2008**).

### **II.3. Rôles et propriétés attendues des bactéries lactiques en fromagerie**

En fromagerie, l'objectif principal est d'atteindre les valeurs cibles en termes d'extrait sec, la gestion de l'égouttage est étroitement liée à l'acidification du produit au cours de sa fabrication. L'impact fermentaire sur la qualité des produits est donc très important. Les fournisseurs de ferments industriels proposent aujourd'hui des associations de ferments très spécifiques de façon à avoir la cinétique d'acidification souhaitée (**Branger et al., 2007**).

Les principales fonctions des bactéries lactiques en fromagerie sont résumées dans le tableau 02.

Tableau 02 : Rôle des ferments lactiques en fromagerie (Branger *et al.*, 2007).

Propriétés des ferments lactiques	Effets sur le produit
<b>Transformer les sucres en acide lactique</b>	<p>Abaissment du pH</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- conservation des produits</li> <li>- limitation du développement de bactéries nuisibles</li> <li>- modification de la micelle de caséine</li> </ul> <p>Solubilisation des minéraux liés à la caséine</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- action sur l'égouttage des caillés (teneur en eau)</li> <li>- action sur la texture des fromages</li> </ul> <p>Diminution de la concentration en lactose</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- production de lactate (action sur la saveur des fromages)</li> </ul>
<b>Transformer les sucres en CO<sub>2</sub></b>	<p>Libération de CO<sub>2</sub></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- ouverture utile en pâtes molles et pâtes persillées</li> <li>- ouverture nuisible en pâtes pressées</li> </ul>
<b>Transformer les citrates</b>	<p>Formation de diacétyl</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- recherché en fromages à pâte fraîche et molles</li> </ul>
<b>Transformer la caséine</b>	<p>Protéolyse pendant la maturation</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- activation de la croissance (peptides, acides aminés)</li> </ul> <p>Protéolyse pendant l'affinage</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- modification de la texture, couleur, saveur</li> </ul>
<b>Produire des polysaccharides</b>	<p>Épaississement du milieu pour les pâtes fraîches</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- augmentation de la viscosité par libération de polysaccharide pendant la fermentation lactique</li> </ul>

#### II.4. Bactéries acidifiantes :

L'acidification lactique est caractéristique du lait et des produits laitiers ; le processus se développe naturellement dans le lait cru sous l'influence des bactéries lactiques contaminant le lait et est exploité dans la fabrication des produits laitiers fermiers; Il intervient également par ensemencement dirigé dans les transformations industrielles.

La principale conséquence de l'acidification est un accroissement de la teneur en acide lactique du milieu consécutif à la fermentation du lactose. La quantité d'acide formé peut être mesurée facilement par titrimétrie en le neutralisant par de la soude; la concentration mesurée s'exprime en pourcentage d'acide lactique ou par rapport à des échelles structurées particulières comme l'échelle Dornic. Dans ce système, l'acidité du lait frais % est de 16°D, toute acidification ultérieure accroît cette valeur de un degré Dornic chaque fois que la teneur en acide lactique augmente de un décigramme par litre.

Lorsque le développement de l'acidification est suffisant, le milieu acquiert une protection vis-à-vis d'autres bactéries d'altération du lait dont les bactéries productrice de gaz et les bactéries protéolytiques. De ce fait, le principe de l'acidification est largement exploité dans les procédés de conservation des aliments et en particulier pour les fromages et les laits fermentés (**Lenoir J., 1963**).

#### II.5. Les microflores d'affinage ou microflores de surface

Les principaux microorganismes jouant un rôle connu dans l'affinage sont les bactéries lactiques, les bactéries propioniques, les levures, les moisissures. Les staphylocoques non pathogènes et les bactéries corynéformes aérobies. (**Tormo., 2010**).

Les bactéries propionique Ce sont des bactéries Gram +, fermentant les lactates pour donner de l'acide acétique et propionique, ainsi que du CO<sub>2</sub> (fermentation propionique) (**Fredot., 2005**). Ils participent à la formation du goût et de l'ouverture des fromages à pâte pressée cuite (**Ait Abdelouahab., 2001**).

Parmi les bactéries dominantes à la surface des fromages, on retrouve les bactéries à Gram positif, majoritairement, les groupes des staphylocoques et des corynebactéries. Leur importance relative dépend du type de fromages.

Les microflores de surface ont deux fonctions principales dans l'affinage :

1. Elles produisent des enzymes.  
Les lipases et les protéinases hydrolysent les matières grasses et les protéines.  
Les peptidases hydrolysent les petits peptides et les acides aminés,
2. Elles désacidifient la surface des fromages.

Ce sont principalement les levures et les moisissures qui ont cette fonction. En oxydant le lactate, du CO<sub>2</sub> est émis, celui-ci contribue à l'augmentation du pH qui passe de 4,8 à 5,8 voir plus (Tormo., 2010).

Les levures *Kluyveromyces*, *Geotrichumcandidum*, *Debaryomyces*, *Candida*, *Yarrowia*. Sont retrouvées de manière plus importante (en moyenne 100 fois plus) à la surface des fromages (à pâte molle notamment) qu'à l'intérieur.

Elles interviennent dans la désacidification de la pâte en début d'affinage, permettant ainsi l'implantation ultérieure d'une flore acido-sensible comme les bactéries coryneformes, et interviennent également dans la formation du goût) (Ait Abdelouahab., 2001 ; Hermier et al., 1992).

Les moisissures ont un rôle très actif dans l'affinage de certains fromages comme les pâtes persillées et les pâtes molles, il existe deux types : (Fredot., 2005).

1. **Moisissures superficielles** : elles sont responsables du feutrage blanc des camemberts, du brie...
2. **Moisissures internes** : elles sont responsables des veines bleues du fromage persillé et des moisissures internes des autres fromages (*penicillium roquerforti*, *p.camemberti*) (Fredot., 2005).

## II.6. Fabrication fromagère de type camembert

Le Camembert est un fromage à pâte molle, affiné en surface, principalement par des moisissures, conformément à la **Norme générale pour le fromage (CODEX STAN283-1978)**, qui se présente sous la forme d'un cylindre plat ou de morceaux dit cylindre. La pâte a une couleur allant du blanc cassé au jaune pâle et une texture molle (lorsqu'on appuie dessus avec le pouce) mais non friable, affinée de la surface au centre du fromage.

Les trous de gaz sont généralement absents, mais la présence de quelques ouvertures et fissures est acceptable. Une croûte molle, entièrement recouverte des moisissures blanches mais présentant parfois des taches de couleur rouge, brunâtre ou orange, se développe. Le fromage entier peut être coupé ou formé en morceaux avant ou après le développement des moisissures.

## II.7. Microbiologie de fromage de type camembert

Le fromage est souvent qualifié d'aliment – vivant -, car il abrite une diversité microbienne imposante toute. Au de sa fabrication et de son affinage, des microorganismes se partagent les nutriments disponibles, profitent des métabolites de certains ou meurent et permettent la croissance d'autres.

La flore microbienne du fromage varie entre autre selon l'espèce de vache laitières. Le pâturage où celle-ci se nourrissent, les traitements, physiques que le lait subit avant de devenir fromage et le type de ferment ajouté (**Champigny., 2011**).

### II.7.1. Microbiologie de l'affinage

Les flores responsables de l'affinage du fromage peuvent être déjà présents dans le ferment utilisé pour la fabrication, ajoutés spécifiquement au début de l'affinage et /ou présent naturellement dans le lait. Dans ce dernier cas, ils font partie de la flore secondaire. Par conséquent, l'utilisation de lait crus permet d'intégrer une plus grande variété de souches qui, lors de l'affinage, atteignent des populations de l'ordre de  $10^5$  à  $10^7$  UFC/g. Pour pallier en partie la diminution de la flore secondaire causée par un traitement thermique du lait, des bactéries constituent naturellement celle –ci peuvent être ajouté au ferment. Aussi, une autre façon d'intégrer des microorganismes et de les vaporiser à la surface des meules dans les salles de maturation (**Champigny., 2011**).

Finalemnt, la flore secondaire peut provenir de l'environnement de la fromagerie. Certaines chambres d'affinage de camembert contiennent naturellement des souches qui dominant la flore de surface des meules.

Les bactéries lactiques, les levures, les moisissures, les bactéries coryneformes, les *micrococacceae* et les propionibactérie sont les microorganismes les plus fréquemment retrouvé dans les microbiotes du Camembert .ils cohabitandonc au sein de la matrice fromagère et ils s'influencent l'un et l'autre dans leur métabolismes (**Abdoune., 2003**).

#### II.7.1.1. Les bactéries lactiques

Les ferments utilisés pour la fabrication de fromage comprennent principalement les genres des bactéries lactiques *lactococcus*, *leuconostoc* ,*streptocoques*,*lactobacillus* et *entéroccoccus*. Lors de la production, la croissance des bactéries du ferment, flore primaire, est principalement responsable de l'acidification du lait en métabolisant le lactose en acide lactique (lactate) (**Abdoune., 2003**).

Par la suite, alors de l'affinage, leur autolyse entraîne la libération d'enzymes essentielles. Les souches de *lactococcuslactissp.lactis*. C'est en partie pourquoi *lactococcus .lactis ssp. Cremoris* produit parfois plus rapidement un fromage de type Camembert ayant un goût prononcé que *lactococcus .lactissp.lactis*.

Ensuite, les bactéries lactiques de la flore secondaire participant à l'affinage du fromage sont principalement des *Lactobacillus casei* et *Lactococcus paracasei* sont donc les plus présents dans le Camembert, mais le genre *Pediococcus* et les *Lactobacillus* hétérofermentaire obligatoires *Lactobacillus brevis* et *Lactobacillus fermentum* en font aussi partie.

Contrairement aux bactéries de la flore primaire, les bactéries de la flore secondaire subissent une lyse lente au sein de la matrice fromagère et le rôle de ces métabolismes, lorsqu'elles sont vivantes, contribue à la saveur autrement que par leur lyse qui libère des lipases intracellulaires. Entre autre, ces bactéries libèrent les acides aminés des peptides et les catabolisent tout en demeurant vivantes (Champigny., 2011).

### II.7.1.2. Les levures

Les espèces de levures habituellement retrouvées dans les fromages de types Camembert sont *Debaryomyces hansenii*, *Geotrichum candidum*, *Kluyveromyces lactis*, *Kluveromyces lactis*, *Kluveromyces maxianus*, *Saccharomyces cerevisiae* et *Yarrowiaii polactica*

*Geotrichum candidum* est une espèce particulière car elle est dimorphique. C'est-à-dire qu'elle adopte des formes différentes dépendamment des souches. En effet, elle peut se répliquer en formant un mycélium comme le fait traditionnellement une levure. Sur le plan écologique et moléculaire *G. candidum* se comporte plutôt comme une levure (Tableau 03).

Les levures sont des microorganismes faisant surtout partie de la flore des fromages à croûte fleurie (ex. Camembert). Reconnues pour tolérer de bas PH, elles se développent lentement mais avec constance dans ces fromages. Selon les souches, les levures consomment le lactose, le lactate, et/ou le galactose. Certaines espèces comme *G. candidum* sont aérobies; celles-ci ne peuvent donc que se développer en surface. Les levures et les moisissures contribuent à la remontée de PH de la matrice fromagère en métabolisant le lactate en H<sub>2</sub>O et en CO<sub>2</sub>. Leur protéolyse participe aussi à cette remontée en libérant le groupement NH<sub>3</sub> des acides aminés

(Beresford et Williams., 2004).

Les métabolites produits par les levures contribuant à la maturation sont l'éthanol, l'acétaldéhyde et le CO<sub>2</sub>. De plus, certaines levures ne sont aptes à la protéolyse et à la lipolyse. Toutefois, les souches de levures responsables de l'affinage doivent être bien contrôlées. En effet, certaines souches de levures altèrent le produit en lui conférant des

saveurs fruitées ou amères parfois jugées indésirables en fonction de la concertation. Aussi une production trop élevée de dioxyde de carbone gazeux peut gâcher la texture d'un Camembert. Comme les souches ne sont pas toutes tolérantes au sel, salage du fromage permet entre autres de les sélectionner.

Enfin, l'implantation des levures à la surface d'un fromage précède souvent la venue d'un autre type de microorganisme qui est les moisissures. Les levures contribuent indirectement à leur croissance en hydrolysant les protéines et la matière grasse (**Beresford et Williams., 2004**).

### II.7.1.3. Les moisissures

Semblables aux levures pour ce qui est condition et des substrats de croissance, les moisissures sont cependant toutes des microorganismes aérobies obligatoires. Ainsi elles s'établissent surtout à la surface des fromages. Cependant toutes des microorganismes aérobies obligatoires. Ainsi, elles s'établissent surtout à la surface des fromages (**Champigny., 2011**).

Cependant, elles peuvent être présentes à la cour d'une meule s'il y a des cavités pour l'aérer. C'est le cas de *Penicilium Roqueforti*, responsable des régions bleues internes du Roquefort *Penicilium Roqueforti* est l'autre moisissure fréquemment utilisée en fromagerie, entre autres, pour la production de fromages à croûte fleurie de type Camembert Comparativement à *P. Roqueforti* qui se développe en trois ou quatre jours, *P. camemberti* se caractérise par sa faible vitesse de croissance. Son apparition à la surface d'un Camembert autour du sixième jour d'affinage est généralement précédée par le développement des levures. L'activité protéolytique et lipolytique des *Penicillium* influence beaucoup la maturation (**Tableau 03**).

Les acides aminés issus de leur protéolyse forment ultimement des cétones, des aldéhydes, des alcools aromatiques, des molécules soufrées de même que de l'ammoniac. Ils sont aussi lipolytiques. Par exemple, ils métabolisent des méthylcétones à partir des gras saturés. Ces phénomènes sont essentiels à l'apparition de composés aromatiques volatiles liés aux goûts caractéristiques du Camembert et du fromage bleu. Par contre, ces réactions ne doivent pas être trop poussées car elles peuvent provoquer des défauts dans certains fromages comme la production de styrène qui, lorsque présent dans une certaine quantité, lui confère une forte odeur de plastique.

Les levures et les moisissures sont donc les principaux responsables de la remontée du pH caractéristique de l'affinage d'un Camembert. La désacidification de la pâte

provoquée par la consommation du lactate et par la libération d'ammoniac ( $\text{NH}_3$ ) lors de la protéolyse modifie les actions enzymatiques et microbiologiques au sein de celle-ci. Ce phénomène peut être en lien avec la biocompatibilité possible des levures et moisissures avec des bactéries acido sensibles comme les microcoques, les corynebactéries et certaines bactéries lactiques (**Cerning et al., 1987**).

**Tableau 03 : Les grandes transformations biochimiques au cours de l'affinage (Abdoune., 2003)**

<b>Groupes microbiens</b>	<b>Origines</b>	<b>Fonctions</b>
<p><b>Bactéries</b></p> <p><i>Streptocoques</i></p> <p><i>Lactiques</i> <i>Streptococcus lactis</i> <i>Streptococcus cremoris</i> <i>Streptococcus lactis</i> <i>Diacetylactis</i></p> <p><i>Leuconostoc</i></p> <p><i>Lactobacilles</i> <i>Lactobacillus Plantarum</i> <i>Lactobacillus Casei</i></p> <p><i>Microcoques</i></p> <p><i>Bacteries</i></p> <p><i>Coryneformes</i></p> <p><i>Corynebacterium</i></p> <p><i>Brevibacterium</i></p>	<p>Levain lactique</p> <p>Lait, éventuellement levain</p> <p>Lait</p> <p>Lait, saumure, sel</p> <p>Lait éventuellement levain</p>	<p>Acidification</p> <p>Production de composants d'arôme</p> <p>Production de composants d'arôme</p> <p>Protéolyse, dégradation des acides aminés</p> <p>Protéolyse, dégradation des acides aminés</p>
<p><b>Levures</b></p> <p><i>Kluyveromyces</i> <i>Debaryomyces</i> <i>Saccharomyces</i></p>	<p>Lait, atmosphère des locaux, matériel de fromagerie, éventuellement levain</p>	<p>Production de composants d'arôme</p>
<p><b>Moisissures</b></p> <p><i>Penicillium Camemberti</i></p> <p><i>Geotrichumcandidum</i></p>	<p>Levain fongique</p> <p>Lait, atmosphère des locaux, matériel de fromagerie, Levain éventuellement</p>	<p>Désacidification Protéolyse, lipolyse production des composants d'arôme</p> <p>Protéolyse, lipolyse, Production de composants d'arôme</p>

## II.8. Principaux problèmes de fromagerie

La fabrication fromagère repose sur l'utilisation de deux ingrédients complexes et variables : le lait et les ferments. Quant à la présure, son efficacité diminue avec le temps ou dépend des paramètres du milieu. Ces trois facteurs sont à la base même des problèmes de fromagerie aux quels il faut ajouter la complexité, le nombre et la durée des étapes de fabrication (St-Gelais et al., 2002).

L'existence de bactériophages capables de tuer les bactéries lactiques constitue un problème important pour l'industrie fromagère. Le risque le plus élevé d'infection phagique se situe lors de la préparation des ferments, puis lors de l'ensemencement du lait de fromagerie avant la coagulation.

Quand les phages deviennent trop abondants dans les ateliers, ils perturbent la fermentation du lait, entraînant une désorganisation de la production. Dans les cas extrêmes, la fabrication peut même devenir impossible, rendant nécessaire un arrêt des fabrications pour une désinfection complète ce

qui entraîne des pertes économiques très significatives (Milesi et al., 2007).

## II.9. Qualité des fromages

La qualité des fromages dépend d'un grand nombre de facteurs, liés à la fois à la technologie de fabrication et aux caractéristiques chimiques et microbiologiques de la matière première mise en oeuvre (Coulon et al., 2005 ; Awad et al., 2007). Les composantes de la qualité sont multiples :

1. **Qualité hygiénique** : les matières premières et les aliments qui en sont issus doivent être dépourvus de microorganismes pathogènes, de toxines, de résidus chimiques ou de composants indésirables générés par les procédés.
2. **Qualité nutritionnelle** : la concentration relative et la nature des différents nutriments ne doivent si possible pas être trop éloignées des recommandations des nutritionnistes.
3. **Qualité sensorielle** : les qualités organoleptiques conditionnent l'appétence et le plaisir que procure la consommation du produit, elles intègrent la couleur, la texture, l'odeur, la saveur et l'arôme.

Ces différentes composantes qualitatives peuvent être appréhendées et évaluées par des méthodes biologiques (analyse microbiologique), physicochimiques (texture, composition) et par des méthodes sensorielles (saveur-arôme) (Jeantet et al., 2007).

**II.10. Rendement fromager**

Le Rendement fromager est une des données les plus importantes pour une fromagerie. En effet, la quantité de fromage généralement obtenue est faible par rapport à la quantité d'ingrédients mis en œuvre. Le rendement est évalué en établissant le rapport entre la quantité de fromage obtenue et la quantité de lait utilisée. Il est possible d'établir des rendements basés sur la récupération des composants laitiers, les protéines et la matière grasse. L'humidité finale du produit est le facteur principal du rendement fromager (égouttage), ainsi que la durée d'entreposage du lait (**St-Gelais et al., 2002**).

**Chapitre III**  
**Principaux accidents**  
**fongiques en**  
**fromagerie pâte**  
**molle**

---

## Chapitre III : Principaux accidents fongiques en fromagerie pâte molle

### III.1. Principaux accidents de fabrication

Les moisissures indésirables peuvent se développer à la surface et/ou au sein même des pâtes fromagères. Elles entraînent alors diverses altérations : défauts de présentation parfois accompagnés de modifications de texture, altérations des qualités organoleptiques (saveur, arôme)...

Nous allons maintenant détailler les accidents les plus fréquemment rencontrés.

#### III.1.1. Accident du aux *Mucor*: accident dit du « poil de chat »

Les fromages à pâte molle et croute fleurie type Camembert (lait de vache) ou type Sainte Maure (lait de chèvre) sont particulièrement sensibles aux contaminations par ces moisissures.

Ces accidents peuvent se présenter sous deux formes : une forme bénigne et une forme aigue (**Devoyod ; Nutr., 1988**). La forme bénigne se manifeste par l'apparition, à la surface des fromages, de quelques touffes duveteuses blanchâtres terminées par des petites boules noires. L'aspect des thalles, rigides, parallèles et serrés, rappelle les poils d'un chat d'où le nom donné à cette anomalie (**Moreau C., 1983**).

En général, cette forme ne dure que quelques jours et n'atteint qu'un nombre limité de fromages. Par contre, dans la forme aigue, des lots entiers de fromages doivent être déclassés voire éliminés car invendables. Leur surface est envahie de touffes grisâtres à noirâtres donnant au produit un aspect peu engageant, une odeur plus ou moins prononcée de moisi et un goût altéré (figure 05).

Les symptômes apparaissent, en général, au bout de 2 à 3 jours d'affinage, c'est-à-dire 4 à 5 jours après l'emprésurage, mais toujours avant le développement de la flore normale.

En effet, les thalles du *Mucor* sont souvent installés dès le moulage des caillés, avant même la pulvérisation superficielle des spores de *Penicillium*. Le problème du poil de chat est donc avant tout un problème de compétition entre ces deux espèces. Si le *Mucor* est installé le premier, il gêne la croissance de *Penicillium* ; il supporte mieux l'anaérobiose, ses spores germent plus vite à la température ambiante des hâloirs de la fromagerie (environ 12°C pour ce type de fabrication fromagère) et ses hyphes s'allongent et se ramifient rapidement. De plus, même si le fromage est bien recouvert par le *Penicillium*, le *Mucor* peut s'implanter au niveau de la surface de contact avec la claie, l'anaérobiose

partielle n'ayant pas d'incidence sur sa germination, contrairement à *P. camemberti* (LE MENS P ; I.T.O.V.I.C. Section caprine).

Finalement, les conditions dans les hâloirs conviennent souvent mieux au développement des *Mucor* que du *Penicillium camemberti* (Moreau C., 1983).

Sur le plan physico-chimique, les conditions favorables à l'apparition de cette altération sont (Bergere J.L. et Lenoir J., 1997)

:

- un pH au démoulage trop élevé :  $\text{pH} > 4,8$ ,
- une hygrométrie trop importante :  $> 85\%$  dans les salles de ressuyage,  $> 91\%$  dans les locaux d'affinage,
- un taux de sel trop faible ( $< 1\%$ ).



**Figure 04** : fromage contaminé par du mucor. Les thalles longs, dressés en rangs serrés rappellent l'aspect du poil de chat.

### III.1.1.1. Sources et conditions de contamination

Les *Mucor*, champignons saprophytes, sont particulièrement abondants sur les murs, plafonds, carrelages des salles de fabrication (Moreau C., 1983). La contamination est possible par les mains ou les bottes du personnel qui circule dans les différents locaux. Dans d'autres cas, c'est le matériel (étagères, claies, stores, ...) trop sommairement nettoyé qui permet de véhiculer des spores. Le bain de saumure peut être lui aussi contaminé par ces myxospores et devenir alors un véritable « diffuseur » de spores.

L'eau utilisée pour le nettoyage et le rinçage du matériel peut être aussi incriminée lors d'un accident de poil de chat. Des analyses ont, en effet, alors révélé une forte contamination de l'eau. Le degré de contamination était variable selon son origine (pluie > adduction > puit), et d'autant plus important que l'eau était stockée dans des bassins

intermédiaires.

L'eau d'adduction peut être contaminée lors de périodes où la chloration est insuffisante ou par une pollution des canalisations entre le point de chloration et le point d'utilisation.

Pour l'eau de source avec bassin de stockage, la contamination peut avoir lieu à la source mais le plus souvent dans les bassins à ciel ouvert, ou mal couverts. L'eau de pluie stockée en citerne peut être contaminée par l'intermédiaire des toitures souillées et des citernes non nettoyées (Boudra A., 1994).

En conclusion, deux caractéristiques peuvent définir les contaminations par les Mucor en technologie fromagère : la soudaineté et le caractère invasif et ceci aussi bien à l'échelle industrielle qu'artisanale ou même encore fermière. Dans ce dernier type de fabrication, le fromager ne domine pas complètement les facteurs ambiants. Les accidents dus au Mucor revêtiront alors un caractère saisonnier. On les rencontrera plus particulièrement au printemps ou en automne, c'est-à-dire lorsque l'atmosphère est enrichie en spores.

Compte tenu de la complexité physiologique des Mucor et de leur très grande capacité d'adaptation, il paraît impossible de définir une méthode générale de prévention. C'est un ensemble de facteurs qui entraîne ces accidents ; c'est donc un ensemble de moyens qu'il faudra mettre en œuvre pour les éviter.

### **III.1.2. Accident du aux *Penicillium*: accident du « bleu »**

Ce type d'accident touche tout particulièrement les fromages à pâte molle et croute fleurie ; il peut à l'occasion se rencontrer sur les fromages à pâte pressée.

L'accident du « bleu » peut être dû à plusieurs espèces de *Penicillium*; il existe ainsi des variations dans le délai d'apparition, la durée, la gravité et les aspects observés. D'une manière générale, cet accident se manifeste par l'apparition de taches bleu-verdâtres plus ou moins étendues, voire par l'envahissement total de la surface.

### **III.1.3. Accidents dus à *Geotrichum candidum* : accident de la « graisse » et de la « peau de crapaud »**

Utilisé comme levain fongique, il fait partie de la flore normale de nombreux fromages pâte molle ou à pâte pressée non cuite, chez lesquels il contribue d'améliorer les qualités organoleptiques et, pour certaines souches, de diminuer les risques de « poil de chat ». Mais si le développement de *G. candidum* est trop important, il provoque un

véritable accident qui touche surtout les fromages à pâte molle. Lorsqu'il est accompagné d'autres micro-organismes comme des levures, des microcoques et des micro-organismes intervenant dans la Morge (annexe 03), le caillé se recouvre très rapidement d'une couche gluante, grasseuse qui glisse sous les doigts et que les fromagers appellent « graisse ». Cette peau grasse empêche la flore désirée de s'implanter correctement, en l'occurrence le *Penicillium camemberti* (Boudra A., 1994).

La texture et les qualités organoleptiques du fromage sont altérées. Le développement exagéré du *G. candidum* seul, produit le défaut dit « grosse peau » ou « peau de crapaud ». La croûte du fromage est épaisse, très ridée, boursouflées, se décollant facilement car les enzymes puissantes du *Geotrichum* ont solubilisé la pâte (Desfleurs M et al., 1995).

### III.2. LES MUCORALES

Les Mucorales sont responsables de nombreux incidents en technologie fromagère. Les espèces impliquées le plus souvent sont (Desfleurs M., 1980):

- *Mucor Racemosus*
- *M. Plombeus*
- *M. Hiemalis*
- *M. Globosus*
- *M. Fuscus*
- *M. Mucedo*
- *Rhizopus stolonifer* = *R. nigricans*

Les *Rhizopus* comme les *Mucor* font partie de la famille des Mucoracées, dans l'ordre des Mucorales. Ce sont des Phycomycètes ou Siphomycètes car leurs hyphes ne sont pas cloisonnées mais unicellulaires ou siphonnées (voir annexes 03).

#### III.2.1. Morphologie

Les principales caractéristiques morphologiques de ces espèces sont regroupées dans le tableau 04 (Boudra A., 1994).

**Tableau 04** : Morphologie comparée des principales espèces de Mucor. D'après Desfleuer (Desfleuers M., 1980).

	Mucor racemosus	Mucor plumbeus	Mucor hiemalis	Mucor globosus	Mucor fuscus	Mucor mucedo
<b>Colonie:</b>						
Couleur	blanc-gris, brun-jaunâtre	gris-bleu, presque noir	blanc grisâtre jaunâtre	brun-grisâtre, feutré	gris +/- foncé	blanc-jaunâtre, grisâtre
Hauteur (cm)	0.5-4 (souvent 1 cm)	0.2-1	1-2	1-2		1.5-2
<b>Sporange:</b>						
Forme	Globuleux hyalin à jaunâtre	Sec, épineux Gris	Hygroscopique Sphérique	Globuleux	Brun-grisâtre foncé	Hygroscopique
Couleur			jaune à gris-brun	Gris-brun Brun-noir		Gris (cristaux d'oxalate)
Dimensions (µm)	20-70	85-100	33-50-80	75-120		75-80
<b>Columelle:</b>						
Forme	Régulière, ovale ou sphérique incolore	épines ovale ou piriforme	Paroi lisse Sphérique ou ovale	Paroi lisse ovale ou piriforme	Denticulée parfois au sommet, piriforme	Sphérique cylindrique
Couleur		Brun-jaunâtre	Incolore			Contenu jaune
Dimensions (µm)	17-60 × 9-24	36-50 × 17-38	14-45-50	20-40 × 14-32	80-50	70-82-140 × 50-93
<b>Spores:</b>						
Forme	Lisses elliptiques	Aspérules, rondes	Lisses elliptiques	Lisses « enfumées »	Aspérules, globuleuses	Cylindriques ou elliptiques
Couleur	Jaune clair	Brunâtres	Incolores	Noirâtres	Brun-grisâtre pâle	
Dimensions (µm)	6-10 × 5-8	5 × 8.7	3-8 × 2-6	4-8	8-11	6-15 × 3-8
<b>Zygote</b>	+	+	+	+	-	+
<b>Chlamydospores</b>	Abondantes, lisses	+	-	+	Peu abondantes	+

### III.2.2. Conditions de développement et de reproduction :

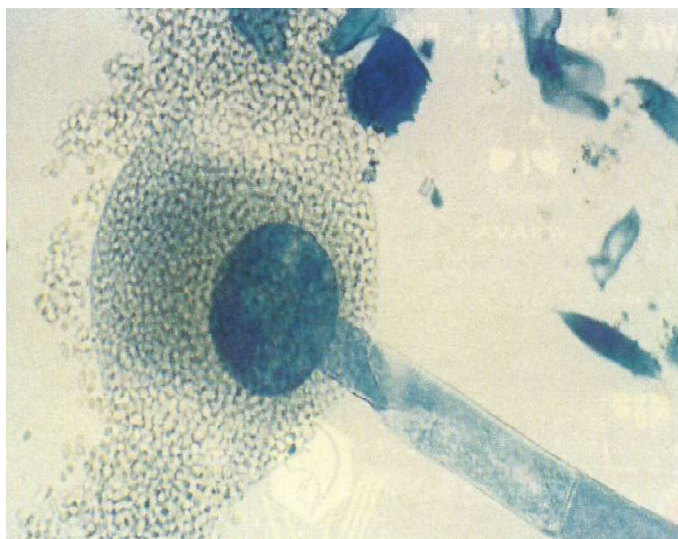
Les Mucor sont caractérisés par deux modes de reproduction différents selon les conditions : une reproduction asexuée et une reproduction sexuée (Devoyod J.J. ; Nutr., 1988).

La reproduction asexuée se fait par l'intermédiaire de sporanges ou sporocystes qui forment de petites boules noires à l'extrémité de filaments dressés. Elles se brisent facilement, libérant des milliers de spores (environ 30000) dont la paroi est facilement mouillable (figure 06). Une sorte de mucus semble les envelopper. On parle de myxospores (= spores humides) qui adhèrent facilement à n'importe quel support (mains,

habits, matériel, moules, claies,...). L'eau, les surfaces ruisselantes, les vapeurs humides favorisent leur dispersion (**Bergere J.L. et Lenoir J., 1997**).

Les spores de *Mucor* germent très rapidement et les filaments mycéliens qu'elles produisent croissent également très vite (5 à 10 fois plus vite que ceux des *Penicillium*). Mais pour cela, en plus d'une humidité élevée, il est nécessaire que les spores soient en contact direct avec le milieu nutritif. Ainsi pour les fromages à pâte molle et crotte fleurie, une couverture précoce et uniforme par leur flore normale évitera le développement de ce type de contaminant. Une fois implanté sur son support, le *Mucor* épuise rapidement les facteurs nutritifs nécessaires à son développement et différencie très tôt des sporanges. Le cycle continue.

Au cours de la reproduction sexuée, un œuf est formé par la conjugaison des extrémités de courts rameaux. Ce zygote, cellule ronde à paroi épaissie appelée aussi zygospore, demeure à l'état de vie ralentie. Cette forme de résistance, comme les chlamydo-spores, permet au *Mucor* de survivre à de mauvaises conditions, de résister à différents agents physiques ou chimiques tels que la dessiccation, la chaleur, les antiseptiques,... (**Devoyod; Nutr., 1988**). Certaines spores résistent même à la digestion des ruminants et se retrouvent dans les fèces, prêtes à germer dès que les conditions deviennent favorables, la germination commence. Le *Mucor* est donc une moisissure très répandue dont il est difficile de se débarrasser.



**Figure 05 :** vue microscopique d'un sporange de *Mucor mucédo* en train d'éclater. Libérant des milliers de spores

### **III.2.3. Les principaux vecteurs du mucor :**

#### **III.2.3.1. L'aire est le vecteur principal de la contamination des fromages par mucor :**

Le principal vecteur de ce mucor est l'air, et l'air humide. Chaque tache sur le fromage provient d'une ou plusieurs spores qui sont déposées par sédimentation. Une touffe de Mucor peut compter jusqu'à 400 000 spores qui vont rapidement se répandre dans les locaux de fromagerie et se multiplier à leur tour.

Ainsi on se retrouvera avec un air à l'intérieur de la fromagerie hyper chargé en spores et plus contaminé que l'air extérieur. Le taux de spores par mètre cube ( $m^3$ ) est plus élevé vers 11-12 H qu'en fin de journée (mouvement d'air et de personnes dans la fromagerie plus important la matinée). Après cette période intense du matin, vers 13 H le repos commence et les spores se déposent sur le sol et les fromages.

Les hâloirs contaminés sont des sources importantes : quand on ouvre la porte, l'air froid du hâloir va dans l'air chaud de l'endroit d'où l'on vient, d'où mélange et arrivage des spores dans l'air des fromages sensibles.

#### **III.2.3.2. Un lait contaminé peut entraîner l'accident sur les fromages :**

Des suivis sur le terrain, complétés par les essais en laboratoire, ont démontré qu'un lait contaminé en mucor (seuil minimum de 100 spores/litre) pouvait déclencher l'accident sur les fromages. Plus la concentration en spores du lait est importante, plus l'accident est précoce et grave.

---

### III.2.3.3. Les fromages jeunes sont les plus sensibles :

#### Il accroche bien sur les fromages frais

Ces filaments (genre de racines) consomment le sucre, l'azote et les minéraux du fromage et s'allongent dans toutes les directions.

Conditions optimales :

- beaucoup d'eau ;
- température : 20 - 25° C, mais pousse quand même à 6 - 8°C ;
- large gamme de pH de 3 à 8 ;
- tolère bien le sel (3 %).

Par conséquent, il pousse bien sur les fromages jeunes, en cours d'égouttage. Bien souvent, les fromages sont contaminés dès le moulage ou les premières 48 H après moulage.

Comme à cette période de la vie du fromage, peu d'autres moisissures ou levures sont implantées, le Mucor est tout à son aise pour envahir la surface.

### III.2.3.4. Un manque d'égouttage favorise l'accident :

Comme pour les différentes études réalisées sur les fromages à pâte molle, des humidités anormalement élevées des fromages jeunes entraînent une sensibilité accrue des fromages jeunes au mucor. Nous avons également pu mettre en évidence qu'un salage tardif ne ralentissait pas la pousse du mucor contrairement à certaines observations de terrain.

Cette première étude a permis d'apporter des éléments de connaissance supplémentaires sur les sources de contamination et les conditions de développement du mucor et de mettre au point des outils de détection d'une contamination. Au cours de cette étude, un élément nous est apparu important sur le développement du mucor : le phénomène de compétition microbienne et notamment la compétition entre le tandem levures – *Geotrichum* et mucor.

Il semblerait à travers nos observations et celles des techniciens de terrain, qu'un des moyens de lutte contre cet accident est une implantation massive et précoce des levures et du *Geotrichum candidum*. Une étude est prévue à ce sujet en 2001.

**H Tormo 3 L'égide n°24**

### III.2.4. Les divers moyens de lutte contre le mucor

Pour lutter contre ce mucor, il n'y a pas une solution miracle, mais un ensemble d'éléments à étudier et recadrer en fonction de l'importance des dégâts. Mais en premier lieu, il faut trouver la source de contamination et agir rapidement et efficacement, et implanter le plus rapidement une flore de surface concurrente : les levures et le *Géotrichum* sont nos alliés. Et puis c'est une vigilance de chaque jour, à chaque époque de l'année, car le poil de chat est résistant, ne fatigue et ne disparaît complètement jamais, alors soyons plus malin que lui (Sylvie Morge., 2005).

### III.2.5. La prévention contre le mucor :

La prévention se résume en 15 points à prendre en charge par le fromager

- ✓ Se débarrasser au plus vite des fromages contaminés.
- ✓ Traire en évitant les poussières, les chutes de faisceaux trayeurs, les entrées d'air dans la machine
- ✓ Fermer votre tank lors de son séchage ou stocker vos bidons renversés.
- ✓ Veiller à avoir une bonne acidification et un bon égouttage  
Attention lors des changements de ferments lactiques (ces sachets ne contiennent pas de moisissures de surface) donc palier à ce manque lors de l'utilisation de ferments du commerce.
- ✓ Avoir toujours un œil vigilant sur l'implantation des flores et leur multiplication sur le fromage : si dérive, appliquer le plan de lutte et de gestion des flores avant qu'il ne soit trop tard (ensemencer le lait et vaporiser les fromages avec des flores de surface)
- ✓ Pratiquer un ressuyage systématique pour favoriser l'implantation des bonnes flores.
- ✓ Surveiller vos mouvements dans la fromagerie. Ne pas aller d'un endroit contaminé à un endroit sain sans précaution (botte, blouse), car vous deviendrez le vecteur principal.
- ✓ Ne pas laisser entrer le (la) chevrier(ère) en tenue de chèvrerie : le sas d'entrée doit être une vraie barrière et vous devez absolument changer de vêtements de travail !!

- ✓ Ne pas laisser de lactosérum stagner par terre ou dans un seau dans la salle de fabrication : l'évacuer rapidement.
- ✓ Maintenir une température suffisante, proche de 20° C dans l'égouttage et ressuyage pour que le *Géotrichum* s'implante bien.
- ✓ Eviter la condensation sur les murs et plafonds.
- ✓ Exclure les jets d'eau à haute pression qui créent des nébulosités chargées en spores.
- ✓ Eviter d'installer ou de faire fonctionner des ventilateurs ou brasseurs d'air dans les pièces de fabrication.
- ✓ Aérer de façon régulière les salles de fabrication : créer un courant d'air efficace, faire fonctionner de façon continue la VMC.
- ✓ Si problème chronique de poil de chat, penser à faire installer par un frigoriste un circuit d'air en surpression au moulage-égouttage-ressuyage (**Sylvie Morge., 2005**).

# Partie II

## Etude expérimentale

# **Matériel et Méthodes**

## I. Matériel et Méthodes

L'intégralité de ce travail a été réalisée au Laboratoire des sciences et techniques de production animale Hassi-Mamèche Mostaganem, durant la période Mars - Avril de l'année 2017.

Le but de cette étude : Application technologique des isolats de bactéries lactiques thermophiles dans la lutte contre un accident fongique « le mucor » au niveau d'une transformation fromagère de type pâte molle en utilisant des bactéries thermophiles « Streptocoques lactiques isolées et identifiées » par le doctorant M DAHOU dans le cadre de sa thèse.

A l'intérêt d'apporter aux industriels l'approche scientifique en utilisant un microbiote lactique thermophile pour lutter contre un accident fongique des fromageries « le mucor ».

### I.1. Matériel

Pour la réalisation des différentes parties expérimentales, on s'est servi du matériel suivant:

#### I.1.1. Matériel biologique

##### I.1.1.1. Le lait :

07 litres de lait UHT entier.

Qualité physico-chimique du lait :

PH : 6,71

Acidité : 16°D

Matière grasse : 28g/L

Matière protéique : 27,5g/L

Lactose : 44g/L

##### I.1.1.2. Les souches indicatrices

Utilisées dans le cadre de cette étude isolats de bactéries thermophiles « Streptocoques lactiques », spores de mucor, ferment d'affinage microcoques et *brevibacterium*, *penicillium candidum*.

### I.1.1.3. Le levain industriel expérimental

Préparation du levain industriel ; après confirmation du dénombrement par culture bactérienne utilisée dépassant les  $10^6$  UFC /ml

En effet à partir des souches lactiques isolées, purifiées et identifiées par le doctorant M DAHOU du laboratoire des sciences et techniques de production animales et des cultures préparées , un mélange composé de 2% de *streptocoques* lactiques, 0,5% de *lactocoques*, 0,25% de *microcoques-brevibactérium* et 0,25% à part égale d'une culture fongique d'affinage composée de *Penicillium candidum*, de *Géotrichum candidum* et d'une culture mucorale, a étéensemencé dans le lait transformé.

Les cultures fongiques sont des souches de références soit :

*Mucor racemosus* ATCC 42647

*Mucor mucedo* ATCC 38693

*Penicillium candidum* ATCC 42293

*Géotrichum candidum* ATCC 34614

### I.1.2. Milieux de culture

- Les géloses : MRS, M17, OGA, poudre de lait 0%, Chapman, PCA,
- Les bouillons : MRS, M17

### II.1.3. Appareillage

L'appareillage utilisé est le suivant :

- Agitateur électrique ;
- Autoclave ;
- Bain Marie ;
- Balance analytique ;
- Etuves ;
- Micropipettes ;
- Microscope optique ;
- Microscope électronique ;
- pH mètre ;
- Réfrigérateur ;
- Vortex électrique.

## I.2. Méthodes

### I.2.1. Revivification et Dénombrement des souches lactiques (streptocoques)

#### a. revivification :

Les souches lactiques ont été décongelées à température ambiante pendant 30 min puis dans l'étuve à 37°C pendant 1 heure.

Après la réactivation du streptocoque, on a préparé une suspension d'environ 1ml de la souche Streptocoque dans 100ml de bouillon M17. Enfin on a incubé à 42°C/24h.

#### b. Dénombrement :

L'isolement est réalisé sur gélose nutritive Plate Count Agar au lait (PCA<sub>Lait</sub>) et M17.

Le milieu est étalé en surface avec 0,1ml des dilutions et incubé à 42°C pendant 24 h. Les dilutions utilisées sont  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$ ,  $10^{-7}$  pour le fromage (Guiraud., 1998).

### I.2.2. Identification des bactéries lactiques isolées

L'identification des souches a été réalisée par l'application des techniques classiques de microbiologie, basées sur la recherche d'un certain nombre de caractères morphologiques, physiologiques et biochimiques. Toutes les techniques d'identification ont été décrites par (Larpent., 1997 ; Idoui et Karam., 2008 ; et Gusils et *al.*, 2010) :

#### I.2.2.1. Examen microscopique

Après l'examen macroscopique des colonies sur gélose PCA<sub>Lait</sub>, et dans le but d'écartier tout ce qui ne peut pas être une bactérie lactique, les isolats ont été soumis à la coloration de Gram (annexe 02), celle-ci permet de différencier les bactéries à Gram positif de celles à Gram négatif, les bâtonnets et les coques après examen des cellules au microscope optique (x100).

### I.2.2.2. Tests physiologiques et biochimiques

#### a. Recherche de la catalase :

Le test consiste à verser une goutte de peroxyde d'hydrogène dilué au dixième, sur une lame de verre et d'y ajouter, à l'aide d'une pipette pasteur, une colonie développée sur gélose MRS s'il y a effervescence l'activité de l'enzyme catalase est positive (Cat+). Le contraire est négatif (Larpent J.P et Larpent G.M., 1990).

#### b. Test oxydase :

Ce test réaliser par prélèvement d'une colonie avec une pipette Pasteur et la déposer sur le disque + une goutte. Lecture de résultat instantané selon le colorant violet si le disque donne zone violet (oxydase +) et si le disque incolore (oxydase -).

#### c. Culture sur lait de Sherman :

Ce test indique l'aptitude des bactéries à pousser en présence de bleu de méthylène qui est bleu en milieu très oxydant, incolore en milieu réduit. Chaque culture à tester a étéensemencée dans le lait écrémé au bleu de méthylène à 0,1%.

Après une incubation à 37°C pendant 24h à 48h, on note les observations relatives à la réduction de bleu de méthylène et la coagulation du lait. Les streptocoques thermophiles sont sensibles à colorant de bleu de méthylène.

#### d. Recherche de type fermentaire :

Ce test permet de différencier les bactéries lactiques homo-fermentaires de celles hétéro-fermentaires. Il consiste à mettre en évidence la production de gaz (CO<sub>2</sub>). Pour se faire, le milieu Gibson-Abdelmalek préalablement fondu, refroidi et solidifier seraensemencé par les cultures bactériennes par piqure centrale, puis un bouchon de la gélose blanche stérile sera coulé en surface.

L'incubation est faite à 37°C pendant 7 jours. Le développement d'une bactérie homo-fermentaire ne provoque pas de discontinuité entre le milieu et le bouchon de la gélose blanche. Le gaz produit par un métabolisme hétéro-fermentaires pousse, au contraire, le bouchon de gélose vers le haut du tube (Larpent., 1997).

### **e.Culture des *brevibacterium* et microcoques :**

Sur milieu Chapman additionné de 5mg/250ml d'amphotéricine  $\beta$  (Fungizone) pour empêcher la croissance des levures et des moisissures.

L'incubation à 20°C – 25°C pendant 5 à 7 jours.

Utilisation du milieu Chapman ou Manitol Salt Agar (MSA).

### **I.2.3. Etude de quelques aptitudes technologiques des ferments thermophiles**

#### **I.2.3.1. Pouvoir coagulant et acidifiant**

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

On commence par la préparation de lait écrémé à 10% dans des flacons de capacité 250ml. Après stérilisation et refroidissement à la température d'ensemencement, chaque flacon estensemencé par une culture lactique (V/ 100V). Après incubation à 42°C, à un intervalle du temps 2h, 6h et 24h; 10ml du lait est prélevé puis on mesure l'acidité et pH directement par le pH-mètre, en plongeant l'électrode dans le volume du lait. Le pH a été déterminé à chaque fois qu'on procède au dosage de l'acide lactique.

#### **I.2.3.2. Pouvoir protéolytique**

Pour déterminer l'activité protéolytique des bactéries lactiques, la gélose MRS additionnée de lait écrémé à 10% a été coulée, solidifiée et séchée puis des disques de papier Wattman stérile ont été déposés en surface de la gélose. Chaque disque reçoit un volume de 20  $\mu$ L d'une culture jeune. Après une incubation à 37° C pendant 24 h, la protéolyse est révélée par des zones claires autour des disques (Veuillemard., 1986).

### I.2.3.3. Pouvoir épaississant

Ce test a été réalisé par ensemencement du lait écrémé stérile reconstitué à 12% additionné de saccharose à 12%, par la culture du ferment (2V/ 10V). L'incubation a été faite à 37°C pendant 24h. Le levain lactique possède un pouvoir épaississant si le gel formé présente une certaine rhéologie visqueuse (**Bourgeois et Leveau., 1991**).

### I.2.3.4. Pouvoir aromatisant

La capacité des ferments mixtes à produire des composés aromatisants au cours de processus de fermentation peut être mise en évidence sur lait écrémé. Pour ce faire, chaque tube contenant du lait écrémé stérile a été ensemencé par un des ferments.

Après incubation pendant 24h et coagulation du lait, les réactifs de Vogues-Proskauer VPI et VPII ont été ajoutés et laissés reposer. La présence d'arôme est révélée par l'apparition d'un anneau rouge.

### I.2.4. Conservation des isolats :

La conservation des isolats purifiés est réalisée par ensemencement sur bouillon MRS. Après incubation à 42°C pendant 08 h. Les isolats sont conservés par (15% glycérol) à - 20°C.

### I.2.5. Contrôles des différents types de moisissures :

« *Mucor Racemosus* ; *Mucor Mucedo* ; *Penicillium Camesali Candidium* ; et *Penicillium Géotrichum Candidum.* », la gélose OGA + capsule (oxytetracycline) a été coulée, solidifiée et séchée puis étalée par 0,1ml de chaque souche. Enfin incubé à 25°C/5j.

#### I.2.5.1. le pouvoir anti-mucoral

Le pouvoir anti-mucoral (de nos streptocoques) on dispose les disques de Wattman sur la gélose OGA (Chaque disque reçoit un volume de 20µl d'une culture jeune (Streptocoque)) et mis à 4°C/1h et après incubé à 25°C/5j.

## I.2.6. Eléments d'identification des moisissures

### I.2.6.1. Etude macroscopique

L'observation est principalement faite in vitro

En culture in vitro les paramètres suivants sont à prendre en compte :

Le milieu de culture.

La température d'incubation.

La vitesse de croissance.

L'aspect général du thalle (mycélium aérien ou non, couleur, couleur du revers, formation de gouttelettes d'exsudats, ...).

La détection à l'œil nu d'éventuels organes de résistance ou de reproduction.

L'odeur du champignon peut être un élément d'identification très important mais, compte tenu du risque potentiel d'inhalation des spores et autres, il est strictement interdit de procéder à un examen olfactif des cultures.

Une observation sous la loupe binoculaire est fréquemment utile ; elle présente l'avantage de conserver en place les différents organes du champignon.

Tous ces éléments donnent des indications pour l'identification du champignon.

### I.2.6.2. Etude microscopique

La détermination des moisissures fait appel aux caractères morphologiques des hyphes et des structures de reproduction.

**Les hyphes :** couleur, présence ou non de cloisons, diamètre approximatif, structures particulières (corémies,...).

**Organes de reproduction (1 ou plusieurs types) :** localisation (partie aérienne, ...), couleur, taille et forme des organes de reproduction.

**Structure et disposition des spores :** couleur, forme, cloisons, ornementation, taille ...

Les études microscopiques sont faites à partir d'un échantillon monté entre lame et lamelle dans une goutte d'eau ou de colorant.

L'observation microscopique des moisissures ne requiert souvent aucune coloration. Mais une goutte de colorant mélangée au liquide de montage déposé sur la lame peut améliorer la qualité du contraste ou mettre en relief certains détails de la structure (ornementation des spores, cloisonnement des hyphes, etc.).

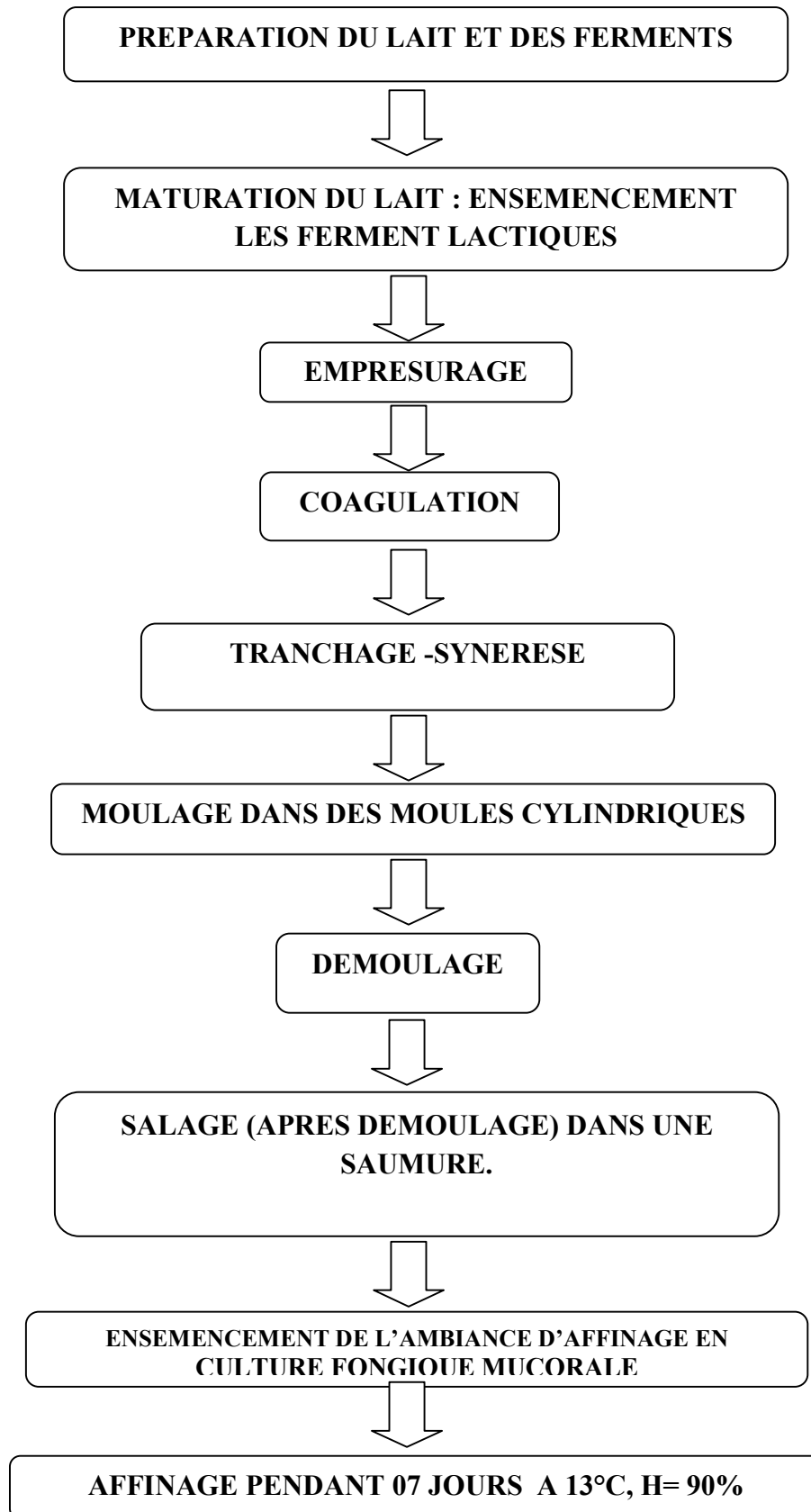
Bleu coton ou Bleu de méthyle au lactophénol (coloration des parois) : Lactophénol additionné de 0,5 % de bleu de méthyle (le bleu de méthyle est un bleu d'aniline acide).

Microscope électronique gx400

## **I.2.7. Fabrication du camembert de type stabilisé avec la culture thermophile**

### **I.2.7.1. Technologie de fabrication**

La méthode de fabrication du fromage pate molle de type stabilisé est présentée dans la figure 06.



**Figure 06 :** Diagramme de fabrication du fromage à pâte molle de type stabilisée

### I.2.7.2. Préparation du lait et des ferments:

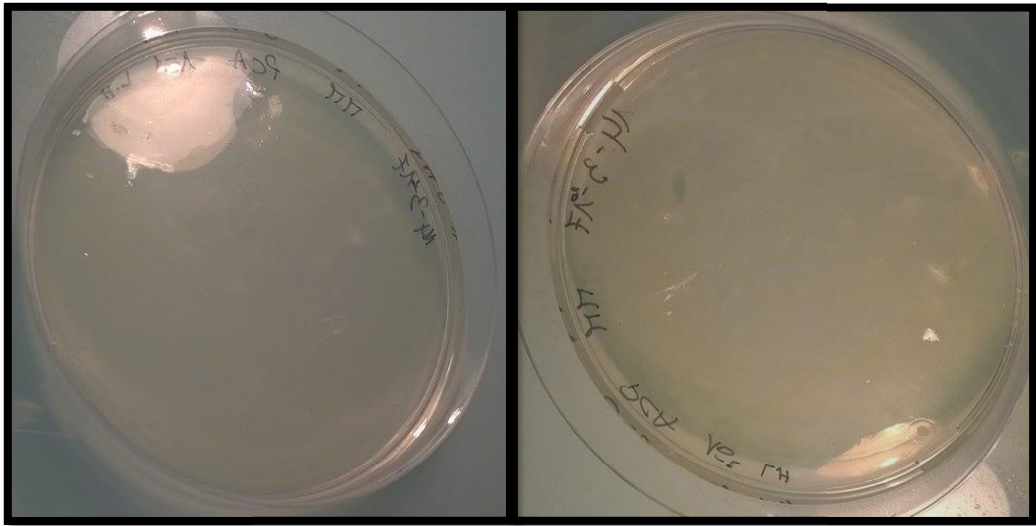
#### a. Contrôlé de la flore totale du lait UHT :

On prépare les dilutions décimales  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$  :

$10^{-1}$  : 1ml du lait UHT dans 9ml l'eau physiologie.

$10^{-2}$  : 1ml de  $10^{-1}$  dans 9ml l'eau physiologie.

Etalement sur gélose PCA. Incuber à  $37^{\circ}\text{C}/24\text{h}$



**Figure 07 :** Dénombrement sur les dilutions  $10^{-1}$  et  $10^{-2}$  du lait UHT sur gélose PCA

#### b. Préparation du lait :

07 litres lait entier UHT sontensemencés avec les ferments sélectionnés suivant le protocole défini ci-dessus

#### c. Préparation du levain :

Dans un flacon on met 10ml de lait UHT et 1ml de streptocoque.

#### **d. Préparation de saumure :**

Une quantité de 900g de sel dans 3L d'eau est pasteurisé à 85°C/15s et refroidie à 15°C.

#### **I.2.7.3. Maturation-coagulation du lait :**

Après avoir ramené le lait UHT à la température de 40°C, celui-ci a étéensemencé avec 2% *Streptocoques*, 0,5% *Lactocoques*, 0,25% *Microcoques-brevibacterium* et 0,25% mélange à part égale : *pénicillium candidum*, mélange mucor et *Géotrichum candidum*.

Température d'ensemencement du lait 40°C      température de la salle 20° à 22°C

Temps de prise : 12min

Passage du pH de 6,67 à 6,35

#### **I.2.7.4. Coagulation :**

La coagulation correspond à une déstabilisation des micelles de caséines qui flocculent puis se soudent pour former un gel emprisonnant des éléments solubles du lait. La coagulation peut se réaliser par l'acidification, par l'action d'un enzyme ou encore par l'action combinée des deux (Vignola., 2002). *S.thermophilus* acidifie rapidement le lait mais n'abaisse pas le pH au-dessous de 4,8 (Accolas et al., 1980 ; Pernoud et al., 2004)

#### **I.2.7.5. Egouttage:**

Après la formation d'un caillé (un gel plus ou moins friable) ce dernier a été découpé à l'aide d'un instrument propre et le lactosérum exsudé a été éliminé (Soutirage 40% de lactosérum). Le Tranchage-brassage a été effectué pendant environ 40 min.

### I.2.7.6. Moulage : pH du caillé 6,10

Le moulage du caillé a été réalisé dans des moules en plastiques poreux, et ensuite ces moules sont gardés quelques heures à température ambiante. Des retournements ont été effectués pour favoriser l'égouttage.



Figure 08 : Moulage, pH du caillé 6,10

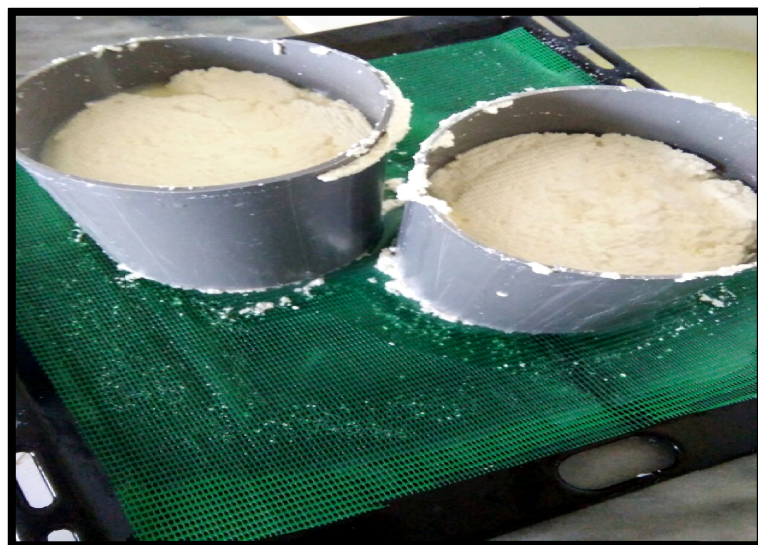
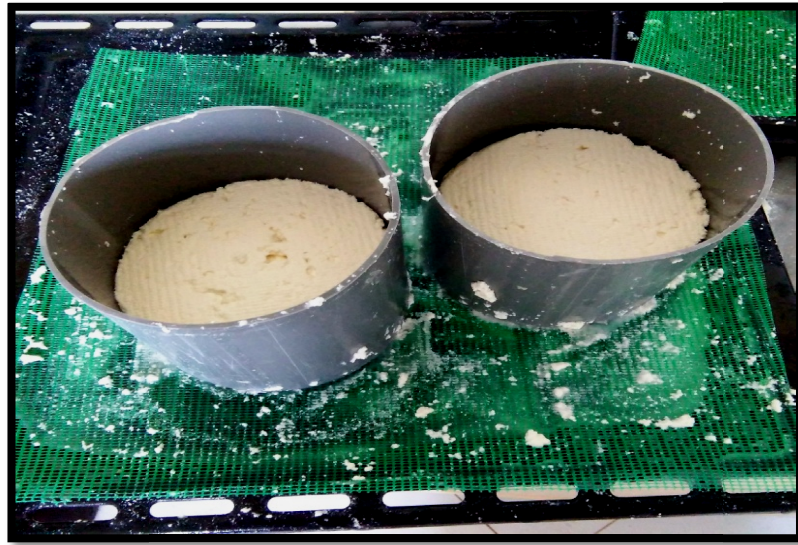


Figure 09 : 1<sup>er</sup> retournement 30 min après moulage : pH du caillé 6,05 à température 38°C



**Figure 10** : 2<sup>ème</sup> retournement 30 min après 1<sup>er</sup> retournement :  
pH du caillé 5,98 à température 35°C



**Figure 11** : 3<sup>ème</sup> retournement 30 min après 2<sup>er</sup> retournement :  
pH du caillé 5,91 à température 31°C



**Figure 12** :4<sup>ème</sup> retournement 30 min après 3<sup>er</sup> retournement :  
pH du caillé 5,87 à température 28°C

#### I.2.7.7. Démoulage



**Figure 13** : Démoulage du fromage (Jour J+1) pH : 4,92 à  
température 17°C.

**I.2.7.8. Salage :**

Salage a été réalisé dans une saumure à 280g/L de sel ensemencé avec du *Penicillium Candidum*.



**Figure 14:** Salage température saumure 13°C ; temps de salage 30 minutes

**I.2.7.9. Ressuyage :**

Sur une claie d'affinage inclinée le fromage est maintenu à 14°C pendant 02 heures pour le ressuyer



**Figure 15 :** Ressuyage à 14°C pendant 02 heures, HR=90%

**I.2.7.10. Affinage :**

Entrée étuve d'affinage : température 13°C humidité relative 90%

Pulvérisation des fromages avec mélange *Penicillium candidum* et un de mélange mucor



**Figure 16 :** Affinage à température 13°C avec une humidité relative à 90%

**I.2.7.11. Suivi du développement fongique au cours de l'affinage :**

Jour J+4 :



**Figure 17 :** 1<sup>er</sup> Retournement du fromage : HR = 80%; température = 12°C avec une ventilation arrêtée

Jour J+6 :



Figure 18: 2<sup>ème</sup> Retournement du fromage : HR = 90% ; température = 14°C

Jour J+8 :



Figure 19 : 3<sup>ème</sup> Retournement du fromage : HR = 90% ; température = 13°C

Jour J+9 :



Figure 20 : Sortie-conditionnement.

### I.2.8. Contrôle physico-chimique du produit fini

Cette analyse a comporté la mesure du pH et de l'acidité titrable, la détermination de la matière sèche, et celle de la matière grasse, pour avoir le G/S

#### I.2.8. 1. Détermination du pH et de l'acidité titrable

Les mesures de pH et de l'acidité titrable renseignent sur le niveau de production de l'acide lactique par les microorganismes lors de la préparation des laits fermentés et des fromages (Neville et Jensen, 1995). La quantité d'acide lactique produite dépend, d'une part, du type de la bactérie utilisée et d'autre part de la quantité de lactose disponible (St-Gelais *et al.*, 2002).

Le pH est mesuré à l'aide d'un pH-mètre. L'électrode du pH mètre est placée dans une suspension de fromage à 10 % (poids/volume) dans l'eau bidistillée (Lenoir., 1962). Acidité est exprimée en degré Dornic (°D).

### I.2.9. Contrôle du produit fini « soit la viabilité du Streptocoque lactique à fin affinage »:

On prend 1g du camembert dans 9ml d'eau physiologique broyé dans un stomacher à partir de cette solution mère ; on établit les dilutions décimales  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ , à partir de ces dilutions 0,1  $\mu$ l a été étalé sur milieu PCA (additionne de 5mg/250ml d'amphotéricine $\beta$  (Fungizone). Les boites de pétri ont été incubé à 37°C pendant 48 heures.

# **Résultats & Discussion**

## II. Résultats et discussion

### II.1. Etude morphologique

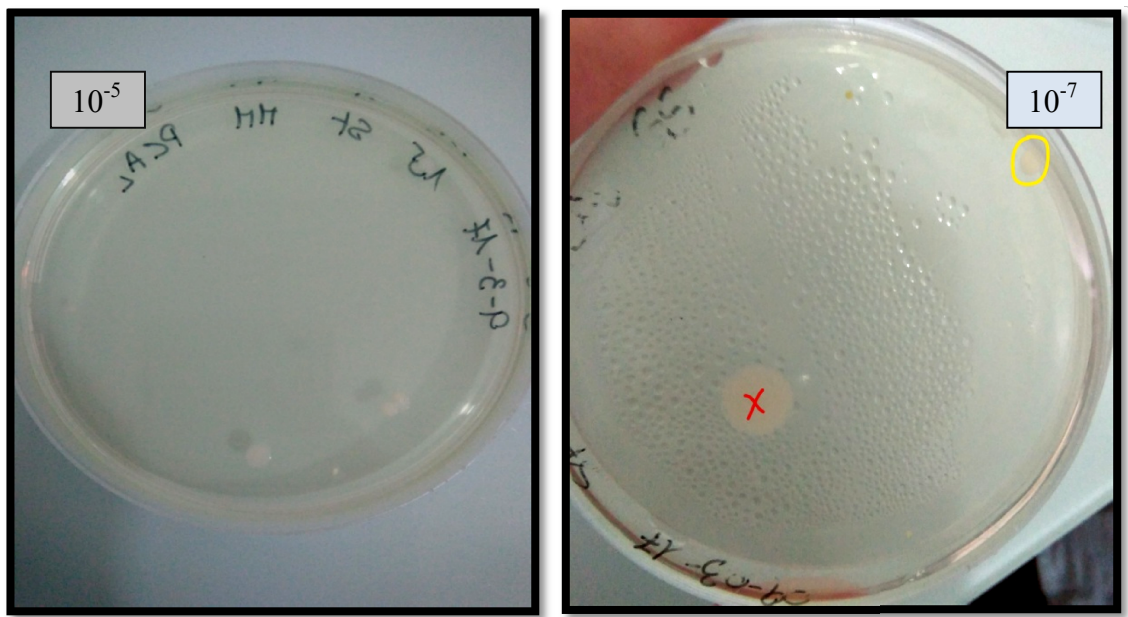
Dans un premier temps, des tests sur les caractères morphologiques, physiologiques et biochimiques des souches utilisées ont été effectués.

#### II.1.1 Critères macroscopiques

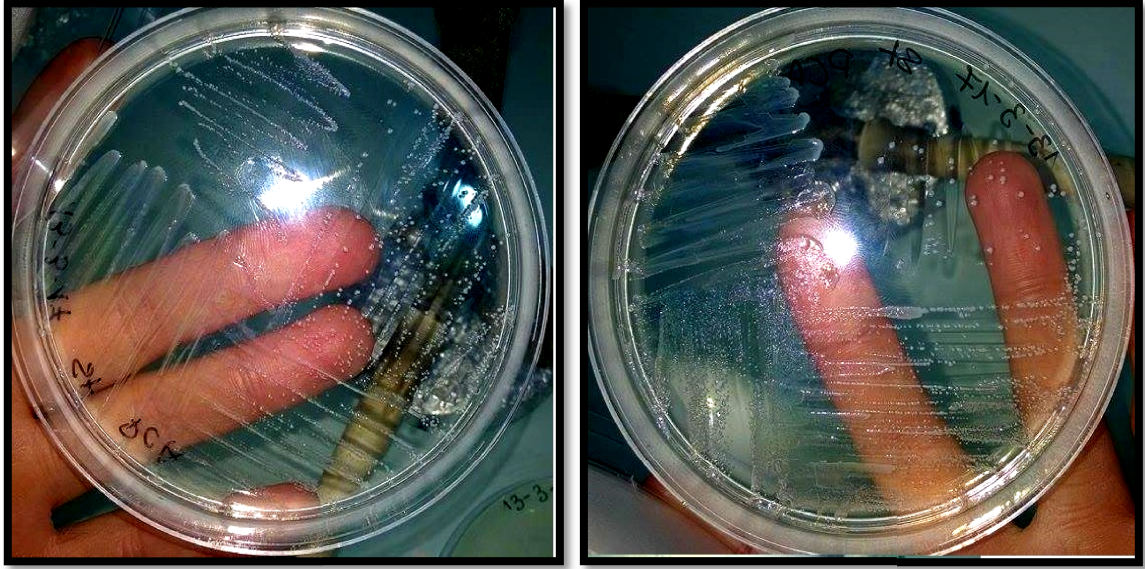
L'observation macroscopique du développement des bactéries lactiques dans le milieu M17 liquide, apparaissent sous forme de trouble concentré au fond du tube.

Sur milieux PCA<sub>Lait</sub> solide, les isolats ont donné des colonies circulaires, blanchâtres et lisses (**Figure 21**).

Le dénombrement des streptocoques lactiques sur le milieu PCA<sub>Lait</sub> a montré une charge de  $10^7$  UFC/ml.



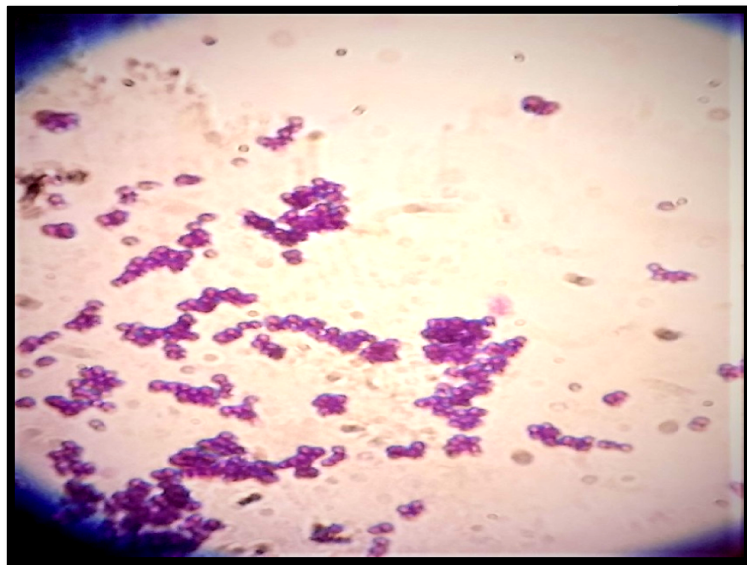
**Figure 21:** Aspect des colonies des *streptocoques* obtenues après 24 h d'incubation à 42 °C sur milieu PCA<sub>Lait</sub> (étalement en surface des dilutions  $10^{-5}$  et  $10^{-7}$ )



**Figure 22:** Aspect des colonies blanchâtres de *streptocoques* obtenues sur milieu PCA après l'incubation à 42°C/24h-48h.

### II.1.2 Critères microscopiques

L'observation microscopique a montré que les *streptocoques thermophiles* sont Gram-positif et catalase-négatif se présentent en forme de coques disposées en grappes et en chaînettes plus ou moins longues (**Figure 23**).



**Figure 23:** Aspect microscopique des *streptocoques* après coloration de gram (microscope optique g×100)

## II.2. Caractères physiologiques et biochimiques

L'analyse de ces résultats a montré que l'isolat est à gram positif et catalase négative ce qui est caractéristique des bactéries lactiques.

### II.2.1. Test de Sherman

Les *streptocoques thermophiles* sont sensibles au colorant du bleu de méthylène, présentant aucune réduction de ce colorant et aucune coagulation du lait.

---



**Figure 24 :** Test de Sherman : absence de réduction du bleu de méthylène et aucune coagulation du lait.

### II.2.2. Test de type fermentaire :

Les résultats de type fermentaire montrent que la bactérie *Streptocoque* ne produit de dégagement carbonique ( $\text{CO}_2$ ). Aucune discontinuité entre le milieu et le bouchon de la gélose blanche. Les *streptocoques* sont considérés ainsi comme homo-fermentaires.

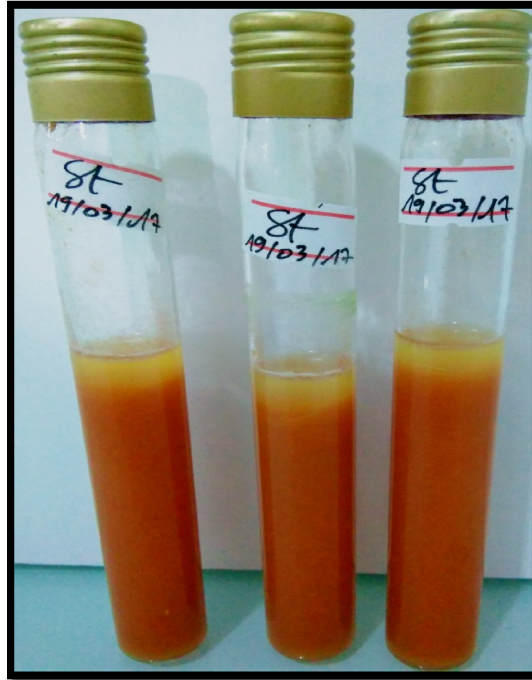


Figure 25 : Test de type fermentaire de *Streptocoque* sur le milieu Gibson-Abdelmalek.

### II.3. Culture des *brevibacterium* et microcoques sur milieu Chapman

#### II.3.1. Critères macroscopiques

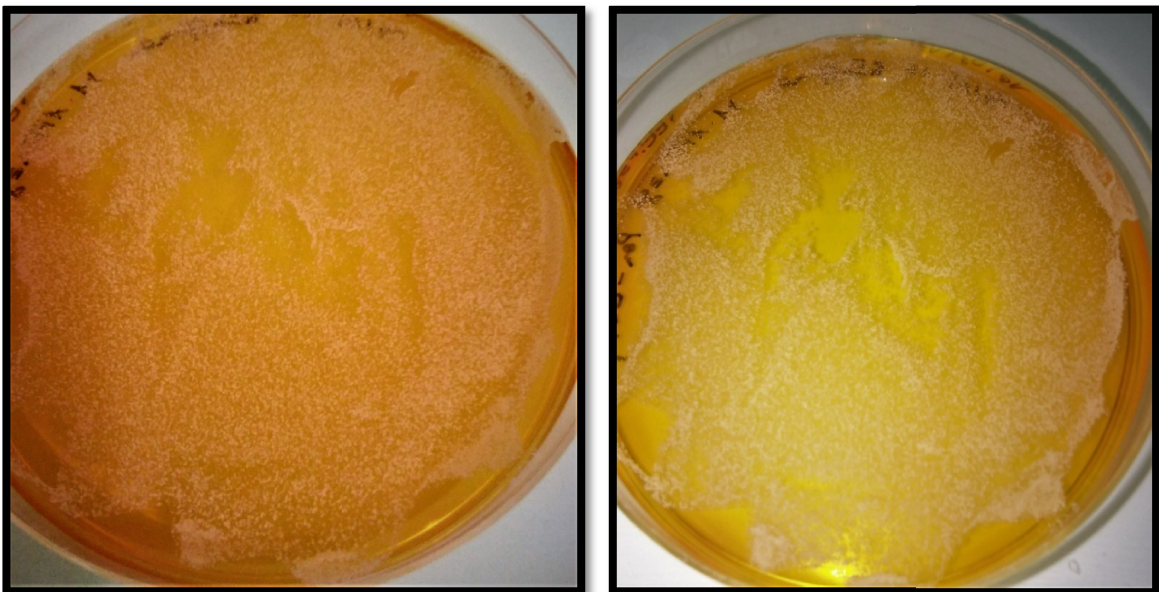


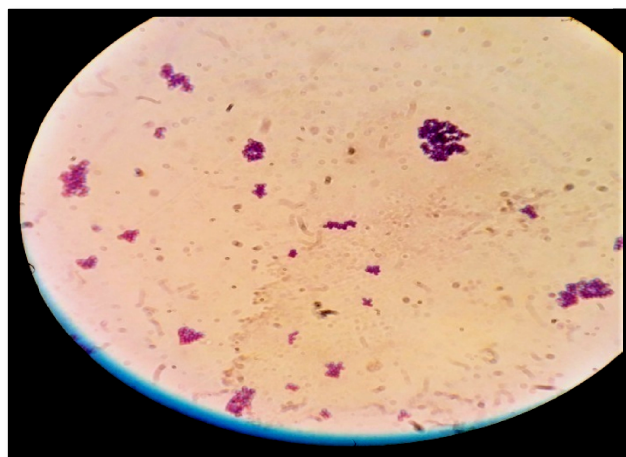
Figure 26: Aspect des colonies de *microcoque* obtenues sur milieu Chapman après incubation à 20°C – 25°C pendant 5 à 7 jours.



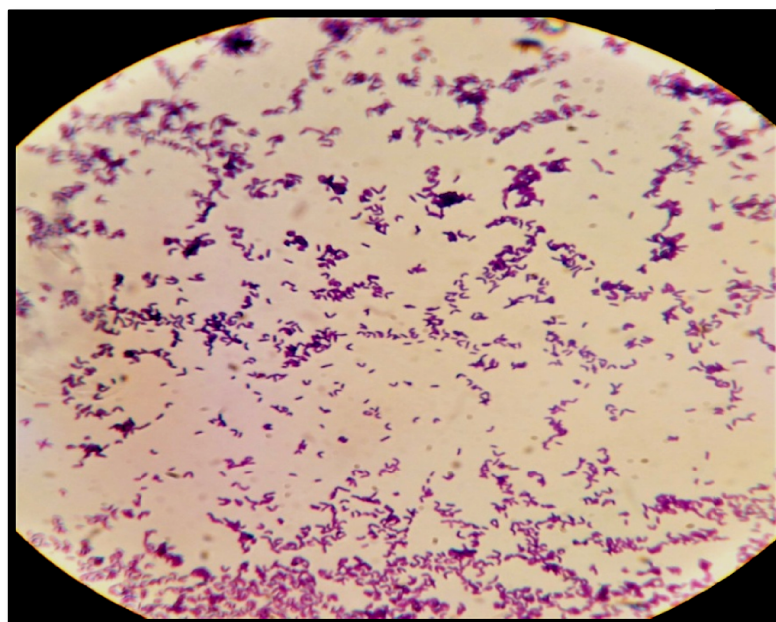
**Figure 27 :** Aspect des colonies des *brevibacteriums* obtenues sur milieu Chapman (additionné avec l'amphotéricine  $\beta$  (Fungizone) suite à une incubation à 20°C – 25°C pendant 5 à 7 jours.

### II.3.2 Critères microscopiques

L'observation microscopique a montré que les *microcoques* sont des Gram positif, catalase positive avec une oxydase négative.



**Figure 28:** Aspect microscopique des *microcoques* après coloration de gram (microscope optique g $\times$ 100)



**Figure 29** : Aspect microscopique des *brevibacteriums* après Coloration de gram (microscope optique g×100).

## **II.4. Aptitudes technologiques des ferments thermophiles**

Les bactéries lactiques sont traditionnellement utilisées comme levains "naturels" ou "sélectionnés" dans la fabrication des fromages et la fermentation des produits laitiers à cause de leurs fonctions de préservation et leur contribution aux propriétés organoleptiques (Gulahmadov *et al.*, 2006).

### **II.4.1. Pouvoir coagulant et acidifiant**

La plupart des producteurs fermiers utilisent la flore lactique naturelle pour provoquer l'acidification nécessaire à l'égouttage du caillé et à sa protection contre le développement de germes de contamination. Cette pratique présente l'avantage de faire travailler une flore variée qui peut être représentative au niveau de la fromagerie, ce qui contribue à fournir au fromage un goût caractéristique (Casalta *et al.*, 1995).

La fonction acidifiante constitue donc la propriété métabolique la plus recherchée des bactéries lactiques utilisée dans les industries agro-alimentaires car elle est considérée comme un critère primordial de sélection des souches à intérêt.

Le suivi de l'activité acidifiante de *streptocoque* étudiée a été réalisé sur le milieu lait écrémé UHT. Les résultats obtenus sont présentés dans le (Tableau 05).

La coagulation du lait par les bactéries lactiques peut être provoqué soit par la transformation progressive du lactose du lait en acide lactique qui provoque l'abaissement du pH et la coagulation du lait; soit par un système enzymatique ou enzymes protéolytiques qui ont la propriété de coaguler le lait.

D'après ces résultats, nous remarquons que l'évolution de l'acidité et les variations de pH au cours de la croissance des *Streptocoques* présentés et testés sur le lait écrémé présentent une production progressive en acide lactique. Cette dernière est accompagnée d'un abaissement du pH du milieu. Après deux heures d'incubation à 42°C, les valeurs de pH ont diminuées de 6,61 à 6,54, en parallèle la quantité d'acide lactique produite est 17,25 ml d'acide lactique par 400ml donc 43,125 ml par litre de lait.

Au bout à de 6 h, les valeurs de pH ont diminuées à 5,38, et de même la quantité d'acide lactique 43,125 ml/L

Les *Streptocoques* présentent un pouvoir acidifiant important de 75°D, avec un pH de 5,38.

**Tableau 05.** Evolution du pH et de l'acidité (en °D) des *Streptocoques* testés au cours du temps

Horaire	pH	Acidité (°D)
0 heures	pH <sub>initial</sub> = 6.61	18
Après 2h	6,54	19
Après 4h	6,30	24
Après 6h	5,38	75



**Figure 30 :** Coagulation du lait écrémé sous l'action des ferments *S.thermophilus*. Obtention d'un coagulum non

Les streptocoques ont un pouvoir légèrement coagulant donnant un coagulant non ferme.

#### **II.4.2. Pouvoir protéolytique**

Une souche parmi ceux étudiées présente une croissance avec une activité protéolytique traduite par l'apparition d'un halo clair autour des disques.

Selon **Vuillemard (1986)**, la souche est dite protéolytique si elle présente une zone de lyse de diamètre compris entre 5 et 15 mm. Par comparaison à cette donnée, notre souche est de *Streptococcus thermophilus* révélée protéolytique dont le diamètre de zone de protéolyse était de 15mm. (**Figure 31**)

L'activité protéolytique des bactéries lactiques est essentielle 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**).



**Figure 31** : Activité protéolytique de la souche de *S.thermophilus* sur milieu MRS au lait.

### II.4.3. Pouvoir épaississant

Les propriétés texturants des bactéries lactiques sont principalement utilisées pour améliorer les qualités organoleptiques des produits laitiers frais fermentés. De plus, elles évitent d'avoir recours à l'ajout d'additifs, tels que les texturants et les épaississants, surtout lors de la production des yaourts (**Monnet et al., 2008**).

La Figure 32 montre l'aspect des gels formés après fermentation par le *S.thermophilus*.

Nous avons pu noter une texture filante, Le gel formé ne présente pas la rhéologie visqueuse. Le levain lactique ne possède pas un pouvoir épaississant.



**Figure 32:** Aspect de gel formé sur lait saccharosé.  
« Texture filant »

#### II.4.4. Pouvoir aromatisant

La production des composés d'arômes est une fonctionnalité technologique importante lors de l'élaboration des produits laitiers fermentés. Le développement d'arôme dans les fromages résulte des activités métaboliques des bactéries lactiques (glycolyse, lipolyse et protéolyse) (Marilley et Casey., 2004).

Les résultats montrent que nos souches *S.thermophiles* n'arrivent pas à produire des arômes «acétoïne» (résultat négatif (-) absence d'un anneau rouge), donc ils n'ont pas un pouvoir aromatisant qui va contribuer aux caractéristiques organoleptiques du fromage.

## II.4.5. Critères macroscopiques des moisissures



**Figure 33:** Aspect cultural du *Mucor mucedo* sur milieu OGA après incubation à 25°C/5j. Thalle blanc, gris



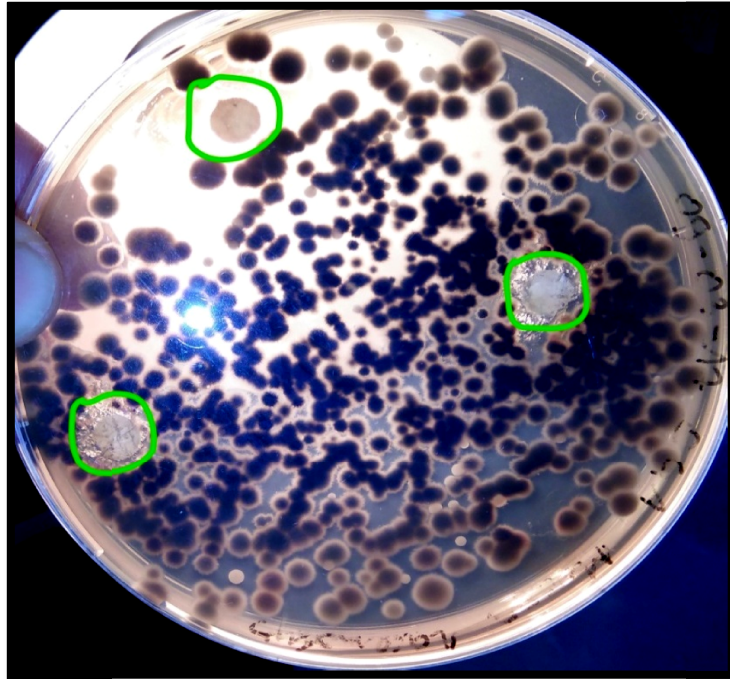
**Figure 34:** Aspect cultural du *Mucor racemosus* sur milieu OGA après incubation à 25°C/5j. Thalle blanc devenant brun gris en vieillissant



**Figure 35** Aspect cultural du *Penicillium candidum*



**Figure 36:** Aspect cultural du *Geotrichum candidum*



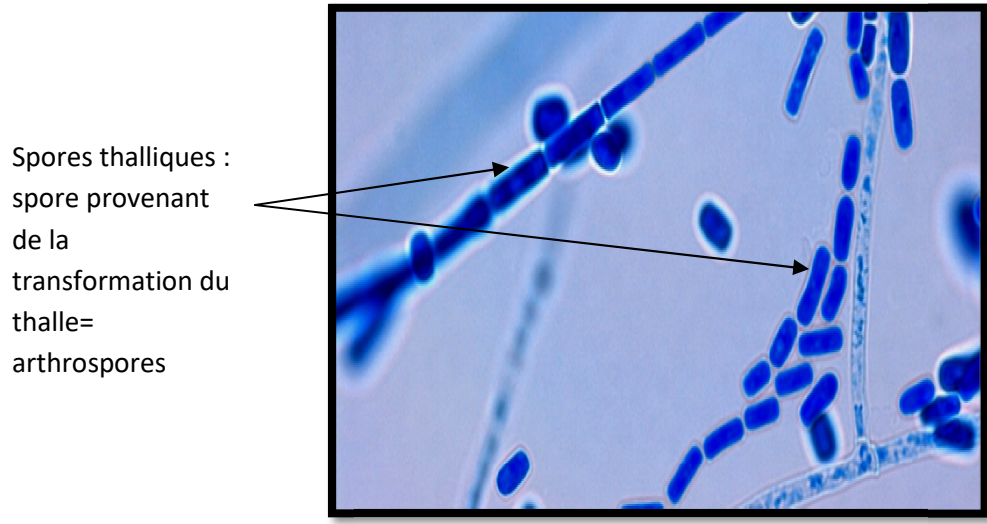
**Figure 37:** Pouvoir anti-mucorale de streptocoques (identifié) avec un résultat positif (+) d'inhibition de développement

Les acides organiques sont produits par les bactéries lactiques lors du processus de fermentation et permettent d'inhiber la croissance des moisissures et d'autres bactéries qui ne peuvent se développer à pH acide (**Corsetti et al., 2001**).

L'effet inhibiteur de ces acides organiques est principalement provoqué par les molécules non dissociées qui diffusent à travers les couches lipidiques des membranes des microorganismes provoquant ainsi un abaissement du pH dans le cytoplasme qui a pour conséquence la déstabilisation des cellules fongiques mucorales.

#### II.4.6. Critères microscopiques des moisissures :

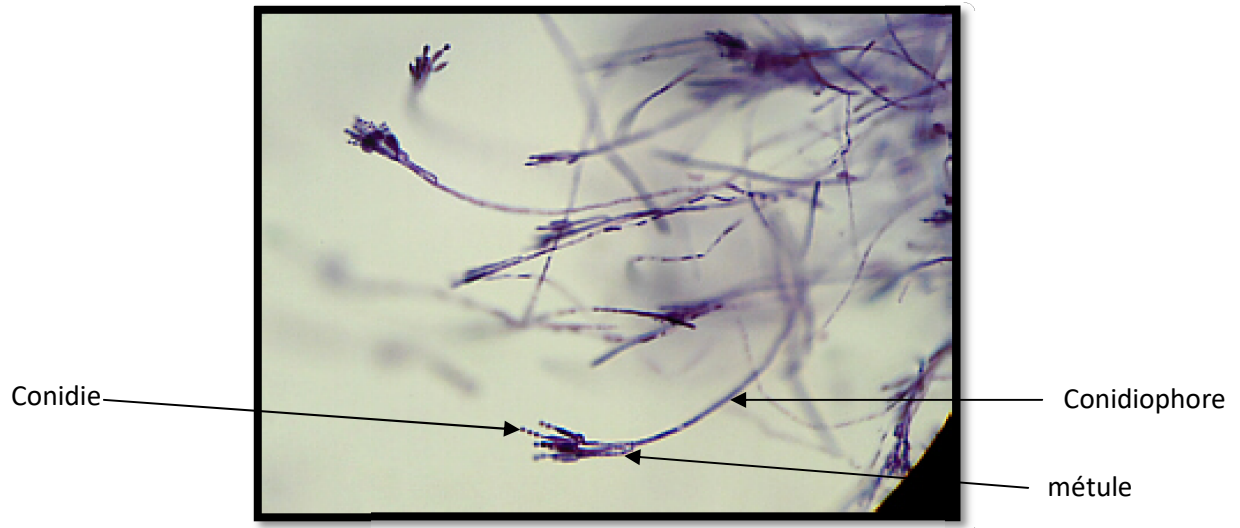
Microscope électronique (labo génétique microbienne Esenia Oran) G×400



**Figure 38:** Aspect microscopique des *Geotrichum candidum* (Microscope électronique g×400).

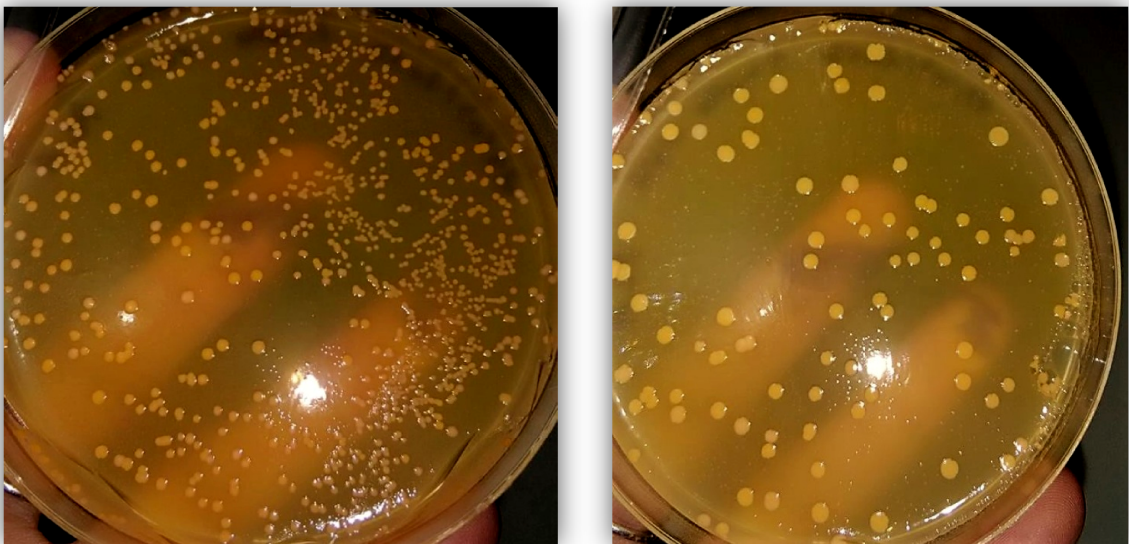


**Figure 39:** Aspect microscopique de *Mucor mucedo* (Microscope électronique g×400).

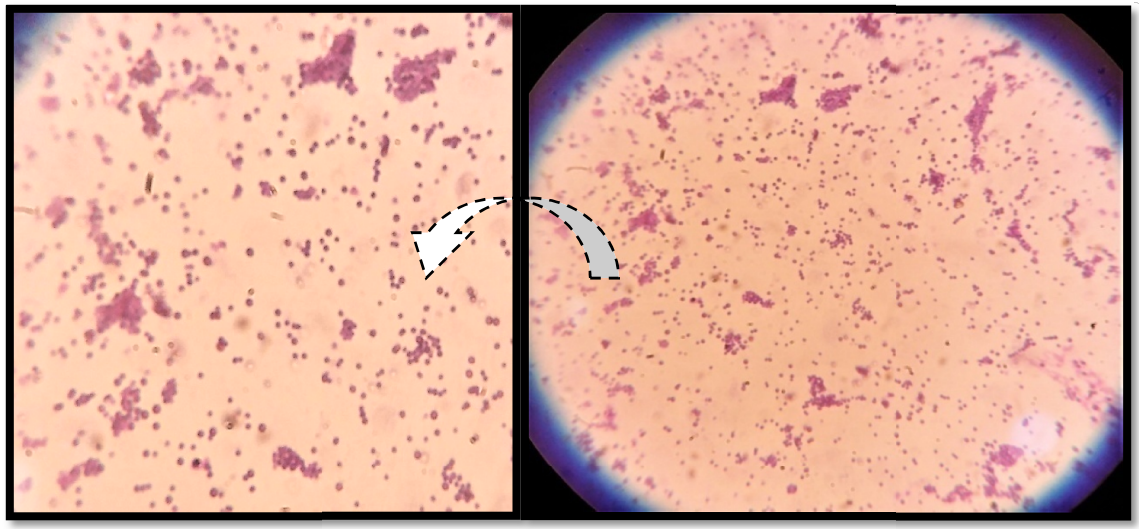


**Figure 40:** Aspect microscopique de *Penicillium candidum* (Microscope électronique  $\times 400$ ).

## II.5. Dénombrement de *S thermophile* présent dans le produit fini :



**Figure 41:** Aspect des colonies jaunâtre de *S thermophilus* présent dans le produit fini (camembert de type stabilisé) après étalement des dilutions  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$  sur milieu PCA



**Figure 42** : Aspect microscopique des *streptocoques* après coloration de Gram (microscope optique g×100) forme cocci

## II.6. Rendement fromager du camembert et qualité physico-chimique

Humidité = 56,50%

EST g/100g = 43% ;

MG = 21%

Poids moyen des 02 pièces produites : 1<sup>ère</sup> pièce = 423 grammes

2<sup>ème</sup> pièce = de 415 grammes

-Soit un Rendement fromager de 8,35 litres/kg de fromage.

# **Conclusion & Perspectives**

## Conclusion et perspectives

Depuis l'antiquité, les bactéries lactiques ont été utilisées pour la fabrication et la conservation d'aliments. La découverte de leur action sur le lait fut probablement accidentelle mais leur utilisation fut perpétuée sous forme de ferments et elle est en développement continu.

Le but de cette étude était de mettre en place une application technologique des isolats de bactéries lactiques thermophiles dans la lutte contre un accident fongique « le mucor » au niveau d'une transformation fromagère de type pâte molle en utilisant des bactéries thermophiles « *Streptocoques* lactiques isolées et identifiées » L'identification des souches a été réalisée par la détermination des caractéristiques morphologiques, physiologiques et biochimiques.

D'après les résultats de l'étude des aptitudes technologiques, nous avons pu déduire que, *Streptocoque thermophile* acidifie rapidement le lait et il abaisse le pH à 5,38, il a en plus de l'activité acidifiante, protéolytique et texturante, un pouvoir anti-mucoral. Ainsi, les souches utilisées avaient de bonnes fonctionnalités technologiques.

L'utilisation contrôlée du streptocoque lactique a inhibé le développement du mucor malgré son ensemencement préalable au niveau du lait, notre bactérie lactique est capable de synthétiser des substances inhibitrices ayant une activité antibactérienne : les acides organiques libérés par cette souche ont un effet anti-fongique.

Enfin, l'utilisation des ferments thermophiles dans la fabrication d'un fromage à pâte molle a permis l'obtention d'un rendement fromager de 8,35 litres/kg avec une qualité physicochimique et microbiologique du produit fini acceptable.

En perspectives , cette étude pour être complétée par des applications technologiques sur l'effet du taux d'ensemencement de nos laits destinés à la transformation à optimiser la durée de fabrication et d'affinage de nos fromages et empêcher le développement des flores fongiques indésirables en fromagerie tel que le bleu et l'oïdium.

# **Références Bibliographiques**

## Références bibliographiques

---

**Abdoune O., 2003.** Qualité du fromage à pâte molle type Camembert fabriqué à la laiterie Draa ben khedda: nature de la matière première et évaluation de l'activité protéolytique au cours de l'affinage et de l'entreposage réfrigéré du fromage .mémoire de magister en science alimentaire, Constantine, 88 pages.

**Accolas JP, Hemme D, Desmazeaud M, Vassal L, Bouillanne C, Veaux M., 1980.** Les lavains lactiques thermophiles : propriétés et comportement en technologie laitière. *Lait*, 60 : 487-524.

**Ait Abd Elouhab Naoual., 2001.** Microbiologie alimentaire, Office des publications universitaires, Alger, 147 pages.

**Amatayakul T., Halmos A.L., Sherkat F. and Shah N.P., 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.

**Ammor S., Tauveron G., Dufour E. and Chevallier I., 2006.** Antibacterial activity of lactic acid bacteria against spoilage and pathogenic bacteria isolated from the same meat small-scale facility, 1-Screening and characterization of the antibacterial compounds *Food Control*. vol. 17, 454-461.

**Atlan D., Béal C., Champonier-Vergès M.C., Chapot-Chartier M.P., Chouayekh H., Cocaign-Bousquet M., Deghorain M., et al., 2008.** Métabolisme et ingénierie métabolique. *In* : Bactéries lactiques de la génétique aux ferments (Corrieu G. et Luquet F.M.). *Tec & Doc, Lavoisier*.Paris. 271-447.

**Axelsson L., 2004.** Classification and physiology. *In* : Lactic acid bacteria: Microbiological and functional aspects ((Salminen S., Wright A.V. et Ouwehand A.). 3<sup>e</sup> Ed., *Marcel Dekker, Inc.* New York. 1-66.

**Badis A., Laouabdia-sellami N., Guetarni D., Kihal M. et Ouzrout R., 2005.** Caractérisation phénotypique des bactéries lactiques isolées à partir de lait cru de chèvre de deux populations caprines locales «Arabia et Kabyle». *Sci. Technol.*, 23: 30-37.

**Beresfordt et Williamsa., 2004.** The Microbiology of Cheese Ripening – Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology, Third edition, Volume 1: General Aspects, Éd. Fox

## Références bibliographiques

---

P., McSweeney P., Cogan T., Guinee T., Academic Press.

**Bergere J.L. et Lenoir J.** : Les accidents de fromagerie et les défauts des fromages. In ECK A., Gillis J.C., Le fromage. 3<sup>ème</sup> édition. Lavoisier TEC&DOC ed. Paris. 1997, 509-541.

**Björkroth J. and Holzapfel W., 2003.** Genera *Leuconostoc*, *Oenococcus* and *Weissella*. In: M. Dworkin (Ed.) The Prokaryotes, 3rd ed. (electronic version). Springer-Verlag. New York, NY.

**Block S.S., 1991.** Peroxygen compound. In: disinfection, sterilization and preservation. ed. Lea and Feabiger, Philadelphia. pp 169-180.

**Booth J.R., 1985.** Regulation of cytoplasmic pH in bacteria. *Microbiological Reviews*. 49, 359-364.

**Boudra A.** : Protocole d'évaluation de la contamination mycotoxique. Application) la noix et la figue. Thèse univ. Toulouse. 1994

**Bourgeois C.M., Mescle J.F. et Zoucca., 1996.** Microbiologie Alimentaire : Aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments. Techniques et Documentation Lavoisier. Paris

**Bourgeois., Leveau., 1991.** Techniques d'analyse et de contrôle dans les industries agro-alimentaires. Paris, 2<sup>e</sup> édition, 454p

**Branger A., Richer M.M. et Roustel S., 2007.** Microbiochimie et alimentation. *Educagri Edition*. 166-168.

**Broadbent J.R., 2001.** Genetics of Lactic Acid Bacteria. In: Applied Dairy Microbiology (Marth E.H. et Steele J.L.). 2<sup>e</sup> Ed., Marcel Dekker, Inc. New York. 243-300.

**Caridi a., Micari P., Caparra P., Cufari a. and Sarullo V., 2003.** Ripening and seasonal changes in microbial groups and in physico-chemical properties of the ewes' cheese Pecorino del Poro. *International Dairy Journal* 13, 191-200.

**Casalta E., Vassal Y., Desmazeaud m.J. and Casabianca F., 1995.** Comparison of the

## Références bibliographiques

---

acidifying activity of *Lactococcus lactis* isolated from Corsican goat milk and cheese. *Food Science and Technology-Lebensmittel-Wissenschaft & Technology* 28, 291-299.

**Casalta E., Vassal Y., Desmazeaud m.J. 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* 28, 291-299.

**Cerning Jutta et Gripon J.C et Lamberet G et Lenoir J. (1987).** Les activités biochimiques des *Penicilliums* utilisés en fromagerie, *Le Lait*, 67 (1), 3-39

**Chamba F.J., 2008.** Application des bactéries lactiques lors des fabrications fromagères. In: Bactéries lactiques de la génétique aux ferments (Corrieu G. et Luquet F.M.). *Tec & Doc, Lavoisier*. Paris. 787-813.

**Champigny P.L. (2011).** biocompatibilité des bactéries lactiques probiotiques et d'affinage avec des mycètes du camembert isolées de laits de terroir québécois, mémoire présenté à la faculté des études supérieures de l'université Laval, 90 pages.

**Chavarri e.J., Nunez J.A. and Nunez M., 1983.** Behavior of *Streptococcus lactis* in heat treated (80 °C for 30 min) or sterilized cow's or ewe's milk. *Journal of Dairy Research*, 50, 357-363.

**Christiansen P.S., Edelsten D., Kristiansen J.R. and Nielsen E.W., 1996.** Some properties of ice cream containing *Bifidobacterium bifidum* and *Lactobacillus acidophilus*. *Milchwissenschaft*, 51: 502-504.

**Collins M.D., 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. *J. Appl. Bacteriol.* (75): 595-603.

**Corbier C., Krier F., Mulliert G., Vitoux B. and Revol-junelles A.M., 2001.** Biological activities and structural properties of the atypical bacteriocins mesenterocin52b and leucocin b-ta33a. *Applied and Environmental Microbiology*. 67, 4, 1418-22.

## Références bibliographiques

---

**Corroler D., Desmasures N. and Guéguen M., 1999.** Correlation between

polymerase chain reaction analysis of the histidine biosynthesis operon, randomly amplified polymorphic DNA analysis and phenotypic characterization of dairy *Lactococcus* isolates. *Applied Microbiology and Biotechnology* 51, 91-99.

**Corroler D., Mangin I., Desmasures N. and Gueguen M., 1998.** An ecological study of lactococci isolated from raw milk in the camembert cheese registered designation of origin area. *Appl Environ Microbiol* 64, 4729-4735.

**Dalmasso M., Prestoz S., Rigobello V. and Demarigny Y., 2008.** Behavior of *Lactococcus lactis* subsp *lactis* biovar. *diacetylactis* in a Four *Lactococcus* Strain Starter during Successive Milk Cultures. *Food Science and Technology International* 14, 469-477.

**DE Roissard H. et Luquet F.M., 1994.** Bactéries lactiques. 2volumes, *Lorica Uriage*, 600 p. par volume.

**Dellaglio F., DE Roissard H., Torriani S., Curk M.C. et Janssens D., 1994.** Caractéristiques générales des bactéries lactiques. In : Bactéries lactiques (De Roissard H. et Luquet F.M.). *Lorica, Uriage*. 1 : 25-116.

**Desfleurs M. :** Accidents de fabrication et défauts des fromages à pâte molle. Brochure Lactolabo. 1980

**Desfleurs M., Desmazeaud M., Hardy J. et Soijverain R. :** Les auxiliaires technologiques. In Luquet F.M., *Laits et produits laitiers*. Vol 2. Lavoisier TEC&DOC. ed. paris. 1995, 569\_630

**Devoyod J.J. :** Les accidents dus aux Mucor en fromagerie. *Microbiol- Alim. Nutr.*, 1988, 6, 25 -29.

**Donkor O.N., Henriksson A., Vasiljevic T. and Shaha N.P., 2007.** Proteolytic activity of dairy lactic acid bacteria and probiotics as determinant of growth and in vitro angiotensin converting enzyme inhibitory activity in fermented milk. *INRA, EDP Sciences*. 86: 21-38.

**Dortu C. et Thonart P., 2009.** Les bactériocines des bactéries lactiques : caractéristiques et intérêts pour la bioconservation des produits alimentaires. *Biotechnol. Agron. Soc. Env.*

## Références bibliographiques

---

13(1) : 143-154.

**Durlu-özkaya F., Aslim B. and Taha Ozkaya M., 2007.** Effect of

exopolysaccharides (EPSs) produced by *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* strains to bacteriophage and nisin sensitivity of the bacteria. *LWT -Food Science and Technology*. Vol.40, 564-568.

**Edima H.C., 2007.** *Carnobacterium maltaromaticum*: caractéristiques physiologiques et potentialités en technologie fromagère. *Thèse de doctorat*. INPL et PhD. Université de Ngaoundéré. 165p

**Eklund T., 1984.** The effect of carbon dioxide on bacterial growth and on uptake processes in bacterial membrane vesicles. *International Journal of Food Microbiology*. 1, 4, 179-185.

**Farkye N.Y., Madkor S.A. and Atkins H.G., 1995.** Proteolytic abilities of some lactic acid bacteria in a model cheese system. *Int Dairy J* 5: 715-725.

**Fredote., 2005.** Connaissance des aliments –Bases alimentaires et nutritionnelles de la diététique .Paris, London, Newyork, Edition TEC et DOC, 397 pages.

**Gardinier G., Ross R.P., Collins J.K., Fitzgerald G. et Stanton C., 1998.** Development of a probiotic cheddar cheese containing human-derived *Lactobacillus paracasei* strains. *Appl. Env. Microbiol.* **64** : 2192-2199.

**Gomes A.M.P. And Xavier Malcata F., 1998.** Development of probiotic cheese

manufactured from goat milk: response surface analysis via technological manipulation. *J. Dairy Sci.*, 81: 1992-1507.

**Guiraud J.P. et Rosec J.P., 2004.** Pratique des normes en microbiologie alimentaire. *AFNOR*. 237- 251.

**Guiraud J.P., 1998.** Microbiologie alimentaire. *1e Ed., Dunod*. Paris. 136-144.

**Guiraud J.P., 1998.** Microbiologie alimentaire. *1e Ed., Dunod*. Paris. 136-144.

## Références bibliographiques

---

**Guiraud J.P., 2003.** Microbiologie Alimentaire. *Tec & Doc, Dunod*. Paris. 90-292.

**Gulahmadov S.G.O., Batdorj B., Dalgalarrrondo M., Chobert J.M.,**

**Kuliev A. A.O.K. and Haertlé T., 2006.** Characterization of bacteriocin-like inhibitory substances (BLIS) from lactic acid bacteria isolated from traditional Azerbaijani cheeses. *Eur Food Res Technol.* 224: 229–235.

**Gusils C., Chaia A.P., Olivier G. et Gonzalez S., 2010.** Microtechnique for identification of lactic acid bacteria. *Methods in molecular biology*, Vol. **268** : Public Health Microbiology: Methods and Protocols. *Humana Press*. Totowa. 453-458.

**Haddie J.M., 1986.** Other streptococci. *In: Bergey's manual of systematic bacteriology* (Sneath P.H.A., Mair N.S., Sharpe M.E., Holt J.G.W. et Baltimore W.). 1: 1070.

**Hammes W.P. and Vogel R.F., 1995.** The genus *Lactobacillus*. *In: B. J. B. Wood and W.H. Holzapfel* (Eds.). *The Genera of Lactic Acid Bacteria. Elsevier Applied Science Publishers*. London, UK. 19–54.

**Hassaïne O., Zadi-Karam H. et Karam N.E., 2007.** Technologically important properties of lactic acid bacteria isolated from raw milk of three breeds of Algerian dromedary (*Camelus dromedarius*). *Afr. J. Biotechnol.* **6** (14) : 1720-1727.

**Hassan a.N. and Frank J.F., 2001.** Starter Cultures and their use. *In: Applied Dairy Microbiology* (Marth E.H. et Steele J.L.) *2e Ed., Marcel Dekker, Inc.* New York. 151-205.

**Heller K.J., 2001.** Probiotic bacteria in fermented foods: product characteristics and starter organisms. *American Journal of Clinical Nutrition*, 73: 374S-379S.

**Hermier J et Lenoir J et Weber F., 1992.** Les groupes microbiens d'intérêt laitier .Edition CEPIL, Paris, 568 pages.

**Ho T.N.T., Tuan N., Deschamps A. and 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*. 134-142.

## Références bibliographiques

---

- Idoui T. et Karam N.E., 2008.** Lactic acid bacteria from Jijel's butter: isolation, identification and major technological traits. *Gr. Y. Aceites*. **59**(4) : 361-367.
- Khalid N.M. et Marth E.H., 1990.** Lactobacilli, their enzymes and role. In: Ripening and spoilage of cheese. *Rev. Dairy Sci.* **73** : 158-167.
- Khan S.H. and Ansari F.A., 2007.** Probiotics-The friendly bacteria with market potential in global market. *Pak. J. Pharm. Sci.*, 20(1): 76-82.
- Klaenhammer T.R., Azcarate-Peril M.A., 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*, 137: 748S-750S.
- König H. and Fröhlich J., 2009.** Biology of microorganisms on grapes, in must and in wine. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg.
- Lafarge V., Ogier J.C., Girard V., Maladen V., Leveau J.Y., Gruss A. and Delacroix-Buchet A., 2004.** Raw cow milk bacterial population shifts attributable to refrigeration. *Applied and Environmental Microbiology*. 70, 5644-5650.
- Lahtinen S., Salminen S., Ouwehand A.C. and Wright A.V., 2012.** Lactic acid bacteria, Microbiological and functional aspects Fourth edition Taylor & Francis group. *Boca Raton London New York*.
- Lane C.N. and Fox P.F., 1996.** Contribution of starter and adjunct lactobacilli to proteolysis in Cheddar cheese during ripening. *International Dairy Journal*. 6, 7, 715-728.
- Larpent J.P. and Larpent G.M., 1990.** Mémento technique de microbiologie 2ème Ed. *Technique et documentaire lavoisier*, Paris, P: 417.
- Larpent J.P., 1997.** Microbiologie alimentaire. *Tec & doc, Lavoisier*. Paris. 10-72.
- Law J. and Haandrikman A., 1997.** Proteolytic enzymes of lactic acid bacteria. *Int. Dairy J.* 7: 1-11.
- LE MENS P. :** Le « poil de chat » sur les fromages de chèvre fermiers. I.T.O.V.I.C.

## Références bibliographiques

---

Section caprine. Supplément moutons et chèvres. 59-63.

**Lenoir J., 1962.** La dégradation des protides au cours de la maturation du Camembert. C.R. Acad. Agric., 48, 392-399

**Leveau J.Y. et Bouix M., 1993.** Microbiologie industrielle : les microorganismes d'intérêt industriel. *Tec & Doc, Lavoisier*. Paris. 85-87.

**Leveau J.Y., Bouix M. et De Roissart H.B., 1991.** La flore lactique : technique d'analyse et de contrôle dans les industries agro- alimentaires. *2ème Ed., Tec & Doc, Lavoisier*. Paris. 3: 2-40.

**Luquet F.M. et Corrieu G., 2005.** Bactéries lactiques et probiotiques. *Santé et Nutrition*. France.

**Lynch C.M., MC Sweeney P.L.H., Fox P.F., Cogan T.M. and Drinan F.D., 1997.** Contribution of starter lactococci and non-starter lactobacilli to proteolysis in Cheddar cheese with a controlled microflora. *Lait* 77, 441-459.

**Mahaut M., Jeantet R. et Brule G., 2000.** Initiation à la technologie fromagère. *Tec & Doc Lavoisier*. 194p.

**Marilley L. and Casey M.G., 2004.** Review article: Flavours of cheese products: metabolic pathways, analytical tools and identification of producing strains. *International Journal of Food Microbiology* 90 : 139– 159.

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

**Mkrtchyan H., Gibbons S., Heidelberger S., Zloh M. And Limaki H.K., 2010.** Purification, characterization and identification of acidocin LCHV, an antimicrobial peptide produced by *Lactobacillus acidophilus* n.v. Er 317/402 strain narine. *Int.J. Antimicrobial Agents*, 35: 255-260.

**Mkrtchyan H., Gibbons S., Heidelberger S., Zloh M. And Limaki H.K., 2010.** Purification, characterization and identification of acidocin LCHV, an antimicrobial

## Références bibliographiques

---

peptide produced by *Lactobacillus acidophilus* n.v. Er 317/402 strain narine. *Int.J. Antimicrobial Agents*, 35: 255-260.

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

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

**Moreau C.** : Quelques problèmes posés par les moisissures dans les industries laitières. *Tech. Lait.*, 1983, 97 5, 37 -43.

**Mozzi F., Raya R.R. et Vignolo G.M., 2010.** Biotechnology of lactic acid bacteria: Novel applications. *Blackwell. Publishing*. 13.

**Nayra S., Sharaf O.M., Ibrahim G.A. and Tawfik N.F., 2002.** Incorporation and viability of some probiotic bacteria in functional dairy food: I. Soft cheese. *Egyptian Journal of Dairy Science*, 30: 217-229

**Neville M.C et Jensen R.G., (1995).** The physical properties of human and bovine milks *In* **JENSEN R.**, Handbook of milk composition-General description of milks, Academic Press, Inc: 82 (919 pages) .

**Ninane V., Mukandayambaje R. et Berben G., 2009.** Probiotiques, aliments

fonctionnels et kéfir : le point sur la situation réglementaire en Belgique et sur les avancées scientifiques en matière d'évaluation des effets santé du kéfir. *Biotechnol Agron Soc Environ*, 13(3) : 459–466.

**Ogier J.C., Casalta E., Farrokh C. and Saïhi A., 2008.** Safety assessment of dairy microorganisms: The *Leuconostoc* genus. *Int. J. Food Microbiol.* 126: 286-290.

**Oliveira M.N., Sodini I., Remeuf F. And Corrieu G., 2001.** Effect of milk

supplementation and culture composition on acidification, textural properties and

## Références bibliographiques

---

microbiological stability of fermented milks containing probiotic bacteria. *International Dairy Journal*, 11: 935-942.

**Orla-Jensen S., 1919.** The lactic acid bacteria. A.F. Høst and son, Koenighichen Hof-Boghamdel, Copenhagen.

**Ortiz DE Apodaca M.J., Selgas M.D. and Ordoñez J.A., 1993.** Lipolytic and proteolytic activities of micrococci isolated from cheese. *Food Research International*. 26: 319-325.

**Pernoud S, Fremaux C, Sepulere A, Corrieu G, Monnet C (2004).** Effect of the metabolism of urea on the acidifying activity of *Streptococcus thermophilus*. *J Dairy Sci*, 87 :550-555

**Piard J.C. and Desmazeaud M.J., 1992.** Inhibiting factors produced by lactic acid bacteria. 2. bacteriocins and other antimicrobial substances. *Le Lait*. 72, 113-142.

**Piard J.C., Muriana P.M., Desmazeaud M.J. and Klaenhammer T.R., 1992.** Purification and Partial Characterization of Lacticin 481, a Lanthionine-Containing Bacteriocin Produced by *Lactococcus lactis* subsp. *Lactis* CNRZ 481. *Applied Environmental Microbiology*. 58, 1, 279-284.

**Pilet M.F., Magras C. et Federighi M., 2005.** Bactéries lactiques. In : bactériologie alimentaire (Federighi M.). 2e Ed., *Economica*. Paris. 219-240.

**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. 1-106.

**Pot B., Devriese L.A., Uris D., Vandamme P., Haesebrouck F. And**

**Kerstens K., 1996.** Phenotypic identification and differentiation of *Lactococcus* strains isolated from animals. *Syst. Appl. Microbiol*. 19: 213-222.

**Reiter B.T., Fryer T.F., Pickering A., Champan H.R., Lawrence R.C. And**

**Sharpe M.E., 1967.** The effect of the microbial flora on the flavor and free fatty acid

## Références bibliographiques

---

composition of Cheddar cheese. *J. Dairy Res.*, 34, 251-272.

**Roudj S., Belkheir K., Zadi-Karam H. et Karam N.E., 2009.** Protéolyse et autolyse chez deux lactobacilles isolés de lait camelin du Sud Ouest Algérien. *European. J.Sci. Res.* 34 (2): 218-227.

**Ruas-Madiedo P., Hugenholtz J. And Zoon P., 2002.** An overview of the functionality of exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria. *International DairyJournal.* Vol. 12, 163-171.

**Salminen S., Wright A.V. And Ouwehand A., 2004.** Lactic acid bacteria. Microbiological and functional aspects. *Marcel Dekker.* Inc., U.S.A.

**Savoy de Giori G. et Hébert M., 2001.** Methods to determine proteolytic activity of lactic acid bacteria. *Methods in biotechnology*, Vol. 14: *Food Microbiol. protocols.* Humana Press. Totowa. 197-202.

**Schleifer K.H. And Kloos W.E., 1975.** A simple test system for the separation of staphylococci from micrococci. *J. Clin. Microbiol.* 1, 337-8.

**Schleifer K.H., 1987.** Recent changes in the taxonomy of lactic acid bacteria. *FEMS Microbiol. Letters.* 46 : 201-203.

**Sylvie Morge.,** Technicienne Fromagère Régionale n (septembre 2005)

**Soomro A.H., Masud T. and Anwaar K., 2002.** Role of lactic acid bacteria (LAB) in food preservation and human health. *Pakistan Journal of Nutrition*, 1(1): 20-24.

**St-Gelais D., Tirard-Coller P., Bélanger G., Couture R. et Drapeau R., 2002.** Fromage. In : Science et technologie du lait : transformation du lait (Vignola C.L.). *Presses. Int. Polytechnique.* 349-407.

**St-Gelais D., Tirard-Coller P., Bélanger G., Couture R. et Drapeau R., 2002.** Fromage. In : Science et technologie du lait : transformation du lait (Vignola C.L.). *Presses. Int. Polytechnique.* 349-407.

## Références bibliographiques

---

**Stiles M.E. And Holzapfel W.H., 1997.** Review article Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy. *Int. J. Food Microbiol.* 36: 1-29.

**Tamime A.Y., 1990.** Microbiology of starter cultures. In: Robinson, R. K. (Ed), *Dairy Microbiology*, vol. 2. *Elsevier, London*. pp. 131- 201.

**Tamime A.Y., 2002.** Microbiology of starter cultures. In: Dairy microbiology handbook (Robinson R.K.). *3rd Ed., John Wiley and Sons, Inc., New York*.261-366.

**Teixeira L.M., Carvalho M.G.S. And Facklam R.R., 1999.** *Vagococcus*. In Encyclopedia of Food Microbiology. Robinson R.K. *Oxford, Elsevier*. 2215-2220.

**Thompson J., Gentry-Weeks C.R., 1994.** Métabolisme des sucres par les bactéries lactiques. In : Bactéries lactiques (De Roissart H. et Luquet F.M.). *Lorica, Uriage*. 1 : 239-290.

**TORMO H., 2010.**Diversité des flores microbiennes du lait crus de chèvre et facteurs de variabilité .Thèse en vue de l'obtention du doctorat de l'université de Toulouse, 238 pages.

**Tosukhowong A., Nakayama J., Mizunoe Y., Sugimoto S., Fukuda D. Andsonomoto K., 2005.** Reconstitution and function of *Tetragenococcus halophile* chaperonin 60 tetradecamer. *J. Biosci. Bioengin.* 99: 30-37.

**Uehara S., Monden K., Nomoto K., Seno Y., Kariyama R. And Kumon H., 2006.** A pilot study evaluating the safety and effectiveness of *Lactobacillus* vaginal suppositories in patients with recurrent urinary tract infection. *Int. J. Antimicrobial Agents*, 28: 30-34.

**Vandamme P., Pot B., Gillis M., Devos P., Keresters K. And Swings J., 1996.** Polyphasic taxonomy, a consensus approach to bacterial systematic. *Microbiol. Rev.* 60: 407.

**Vandenbergh P.A., 1993.** Lactic acid bacteria, their metabolic products and interference with microbial growth. *FEMS Microbiology Reviews*. 12, 1-3, 221-237.

## Références bibliographiques

---

**Veillemand J.C., 1986.** Microbiologie des aliments. Evolution de l'activité protéolytique des bactéries lactiques. *Tec & Doc, Lavoisier*. Paris. 3 : 1-65.

**Veillemand J.C., 1986.** Microbiologie des aliments. Evolution de l'activité protéolytique des bactéries lactiques. *Tec & Doc, Lavoisier*. Paris. 3 : 1-65.

**Vignola C.L., 2002.** Science et technologie du lait, transformation du lait. *Presses internationales polytechnique*, Québec; 608p.

**Vignola C.L., 2002.** Science et technologie du lait, transformation du lait. *Presses internationales polytechnique*, Québec; 608p.

**Welman A.D. And Maddox I.S., 2003.** Exopolysaccharides from lactic acid bacteria, perspectives and challenges. *Trends in Biotechnology*. Vol. 21, 269-274.

**Zhang H. And Cai Y., 2014.** Lactic Acid Bacteria Fundamentals and Practice. *Springer Dordrecht Heidelberg*. New York London. 536p.

# **Annexes**

*Annexe 01 : Composition des milieux de culture*

**Milieu M17 (Terzaghi et Sandine, 1975)**

Peptone de caséine .....	10 g
Peptone pepsique de viande .....	2,5 g
Peptone papaïne de soja .....	5 g
Extrait de levure .....	2,5
Extrait de viande .....	5 g
$\beta$ -glycérophosphate .....	19 g
$MgSO_4$ .....	0,25 g
Lactose .....	5 g
Acide ascorbique .....	0,5 g
Eau distillée.....	1000 ml
pH.....	7.2
Autoclavage à 120° C pendant 20 minutes	

**Milieu MRS (Man Rogosa et Sharpe, 1960)**

Extrait de levure .....	5 g
Extrait de viande .....	10 g
Peptone .....	10 g
Acétate de sodium.....	5 g
Citrate de sodium .....	2 g
Glucose .....	20 g
$KH_2PO_4$ .....	2 g
$MgSO_4$ .....	0,25 g
$MnSO_4$ .....	0,05 g
Cystéine-HCl .....	0,5 g
Eau distillée .....	1000 ml
Autoclavage à 120° C pendant 20 minutes	

**Milieu Gibson-Abdelmalek (pH 6.5)**

Extrait de levure .....	2.5g
Glucose .....	50g
Jus de tomate.....	100ml
Lait .....	800ml
Gélose nutritive ordinaire .....	200ml

Stérilisation par tyndallisation, 3fois pendant 30min à 100°C.

***Annexe 02 : Coloration de Gram***

La coloration de Gram a été réalisée selon la technique suivante :

- Sur une lame, fixer à la chaleur une culture bactérienne ;
- Recouvrir la lame avec la solution de violet de gentiane pendant une minute ;
- Ajouter du lugol pendant 30 secondes ;
- Décolorer avec de l'alcool 95°, puis rincer à l'eau ;
- Faire une contre coloration en utilisant la fuschine et laisser agir 20 à 30 secondes ;
- Laver à l'eau ;
- Après séchage, soumettre la lame à une observation microscopique à immersion (x100).

Les bactéries à Gram positif apparaissent en violet et les bactéries à Gram négatif en rose.

*Annexe 03 : Lexique mycologique*

**Conidiophore:** hyphe simple ou branchée portant l'organe sporifère.

**Hyphe:** filament de mycélium

**Métule:** cellule intermédiaire portant les phialides, chez les *Aspergillus* et les *Penicillium*.

**Morge:** mince revêtement visqueux, essentiellement constitué de levures et de bactéries, se développant en début d'affinage sur les fromages à pâte pressée cuite comme le Comté.

**Myxospore:** spore de Myxomycète; terme utilisé, par extension, pour désigner des spores à paroi hydrophile, dispersées par l'eau.

**Pénicille:** tête sporifère, en forme de "pinceau", formée par de branches, métules et phialides.

**Phialide:** cellule terminale formant les conidies, en forme de bouteille.

**Rhizoïde:** fausse racine naissant à partir des stolons (ex: *Rhizopus*).

**Sporange:** organe produisant des spores asexuées internes (ex : mucorales...).

**Sporangiophore:** hyphe particulier portant un sporange.

**Stolon:** filament aérien rejoignant deux implantations dans le substrat (ex: *Rhizopus*).

**Thalle:** appareil végétatif des Végétaux inférieurs, ou on ne peut distinguer ni racine, ni tige, ni feuille.

**Xérospore:** spore à paroi hydrophobe, dont la dispersion est surtout effectuée par les courants d'air.

**Zygosporé ou zygote:** spore issue de la reproduction sexuée chez les mucorales.