

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 D' BIOLOGIE

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par

M^{elle} **BELOUIS Yamina**

Pour l'obtention du diplôme de

MASTER EN BIOLOGIE

Spécialité : **EXPLOITATION DES ECOSYSTEMES MICROBIENS LAITIERS**

THÈME

*Caractérisation biotechnologique et
microbiologique du lait à la ferme selon les
saisons : cas de la Wilaya de Relizane*

Soutenu publiquement en juin 2017

DEVANT LE JURY

Président	BEKADA Ahmed	Pr.	Université de Tissemsilt
Encadreur	ATTOU Sahnoun	MC B	Université de Mostaganem
Co-encadreur	SASSI Hachemi	Doctorant	Université de
Examinatrice	BELMAHDI Faiza	MAA	Mostaganem Université de

Mostaganem

**Thème réalisé au niveau du Laboratoire des Sciences et Techniques de
Production Animale
Ferme Expérimentale Université de MOSTAGANEM HASSI MAMECHE
Année universitaire 2016 / 2017**

Remerciement

Je tiens tout d'abord à remercier Dieu le tout puissant pour tous ces bienfaits.

Mon vif remerciement et ma profonde gratitude s'adressent à mon promoteur

docteur ATTOU SAHNOUNE.

Je tiens à exprimer ma reconnaissance à Mr SASSI ELHACHEMI., qui m'a donné la chance de travailler sous sa direction, dont les encouragements et les conseils m'ont permis de réaliser ce travail.

Je tiens à remercier les membres du jury :

Monsieur le professeur BEKADA AHMED qui nous a fait l'honneur de présider le jury de ce mémoire.

Madame BELMAHDI FAIZA, qui a accepté d'examiner ce travail.

Je veux remercier toutes les personnes qui, par leurs conseils, leur collaboration ou leur soutien moral et leur amitié, ont contribué à la réalisation et à l'achèvement de ce travail.

Dédicaces

Avant tout, je remercie Dieu tout puissant de m'avoir accordé la force,
le courage et les moyens afin de pouvoir accomplir ce modeste travail .

A celle sous les pieds de laquelle se trouve le paradis, le Jasmine et la joie de ma vie , qui m'a comblée de tendresse ,celle dont le rien chaleureux , le cœur tendre m'ont toujours éclairé le chemine ... ma mère , que dieu la garde et qu'il lui prête longue vie .

A celui qui m'a inculqué la vertu et les bonnes manières, et m'a comblé d'amour et de tendresse. Celui grâce auquel je peux toujours tenir bon contre l'adversité. Celui grâce auquel je ne me suis jamais sentie privée de quoi que ce soit ... Mon cher papa, que dieu le garde et qu'il lui prête longue vie.

A ceux dont je suis fier d'être le descendant, mes grands parents ... Que dieu ait leurs âmes.

Aux bougies qui ont éclairé ma vie, à ceux qui m'ont été d'une aide précieux :

la première bougie, Halima, qui a apporté davantage de lumière à mon chemine,

Amon soutien et mon guide Hakim, que dieu emplisse de roses son chemine.

Les frères Amel et Abdelwahid à qui je souhaite une bonne chance au BEM.

A toute la famille BELOUIS

Enfin , A tous les amis dont j'ai croisé le chemine,

A tous les enseignants et professeurs qui m'ont aidée.

Sans oublier la promotion EEML 2017

Liste des tableaux

Tableau : 01 : Composition générale du lait de vache (VIGNOLA, 2002).....	06
Tableau : 02 : Classification des protéines (BRUNNER, 1981 cité par POUGHEON, 2001).....	11
Tableau : 03 : Composition minérale du lait de vache (JEANTET et coll., 2007).....	13
Tableau : 04 : Les caractéristiques physico-chimiques (BOURGEOIS et al., 1990).....	14
Tableau : 05 : Flore originelle du lait (Vignola, 2002).....	18
Tableau : 06 : Les différents genres de bactéries lactiques et leurs principales caractéristiques (Laurent et al., 1998).....	23
Tableau :07 présentation de la forme des souches.....	36
Tableau :08 résultats de croissance à différentes températures (°C).....	37
Tableau :09 présentation des types fermentaire des souches.....	39
Tableau :10 présentation des résultats destests de NaCl et de Ph.....	40
Tableau :11 présentation des résultats de test l'ADH.....	44
Tableau :12 présentation du test de production de composé aromatique.....	45
Tableau :13 présentation du test de l'ésuline.....	47
Tableau :14 nombre des isolats isolés par exploitation durant les deux saisons.....	51
Tableau :15 forme des bactéries isolées par saison.....	52
Tableau :16 le bilan des souches identifiées durant les deux saisons.....	53

Liste des figures

Figure 1 : Composition de la matière grasse du lait (BYLUND, 1995).....	07
Figure 2 : Structure d'une sub-micelle caséique (BYLUND, 1995).....	09
Figure 3 : Représentation schématique des principales voies de fermentation des Hexoses chez les bactéries lactiques (MAKHLOUFI, 2012).....	26
Figure 4 : résultats du test de lait de Sherman 1%.....	42
Figure 5 : résultats test lait de Sherman 3%.....	42
Figure 6 : résultats de l'Arginine-Di-Hydrolase (ADH).....	43
Figure 7 : résultats du test de production de composés aromatiques (acétoïne).....	45
Figure 8 : résultats du test de l'esculine.....	46

Liste des abréviations

TB : Taux Butyreux

TP : Taux Protéique

LB : Lactosérum Bovin

LC : Lactosérum Camelin

β -La : β -Lactoglobuline

α -La : α -lactalbumine

Ig : Immunoglobulines

MG : Matière Grasse

°C : degré Celsius.

VP : Voges-Proskauer

ADH : arginine dihydrolase

CO₂ : Dioxyde de carbone

pH : potentiel d'hydrogène

MRS : Milieu de Man, Rogosa and Sharpe(1960)

MRS-BCP : Milieu MRS additionné de Pourpre de Bromocrésol.

NaCl : Chlorure de sodium

LB : Lactobacillus

Hm : homofermentaire

Ht : hétérofermentaire

FBA : fructose-1,6-bisphosphate aldolase

LSTPA : Laboratoire des Sciences et Techniques de Production Animale

Résumé

Les bactéries lactiques font naturellement partie de notre environnement et notre alimentation. On connaît depuis longtemps aux bactéries lactiques la propriété de produire des substances antibactériennes qui sont utilisées dans la fermentation et la biopréservation des aliments. L'origine des bactéries lactiques est diversifiée de l'alimentation des animaux, de la végétation, de la peau des animaux et des ustensiles de traite.

L'isolement des bactéries lactiques à partir de laits crus de vaches durant la saison du printemps a permis d'obtenir 40 souches (Gram positif, catalase négative, immobilité). Par ailleurs, l'identification phénotypique a permis d'identifier 14 souches d'*enterococcus*, 10 *streptococcus*, 08 *lactococcus*, 06 *leuconostoc* et 02 *pediococcus*.

La comparaison entre les deux saisons a révélé que les laits produits durant la période hivernale sont plus riches en flore d'intérêt technologique que les laits produits durant le printemps.

Mots clés : Bactéries lactiques, Lait cru, Saison

Summary

Lactic bacteria are naturally part of our environment and our diet. Lactic acid bacteria have long been known to produce antibacterial substances used in the fermentation and biopreservation of food. The origin of lactic acid bacteria is diversity in the feeding of animals, vegetation, animal skin and utensils. The isolation of lactic acid bacteria from raw milks of cows during the spring season yielded 40 strains (Gram positive, catalase negative, immobility). In addition, phenotypic identification identified 14 strains of *enterococcus*, 10 *streptococcus*, 08 *lactococcus*, 06 *leuconostoc* and 02 *pediococcus*. The comparison between the two seasons revealed that the milks produced during the winter period are more rich in flora of technological interest than the milks produced during the spring.

Key words: Lactic acid bacteria, Raw milk, Season

الملخص:

بكتيريا حمض اللبنيك هي جزء طبيعي من بيئتنا و غذائنا،منذ فترة طويلة كان من المعروف ان بكتيريا حمض اللاكتيك تمتلك انتاج مواد مضادة للجراثيم التي تستخدم في التخمير و البيوديفاغسياتي الغذاء اصل بكتيريا حمض اللبنيك هو تنوع علف الحيوانات ،والنباتات ،وجلد الحيوانات وادوات الحليب سلالات عزل بكتيريا حمض اللاكتيك من الحليب الخام للابكار خلال موسم الربيع اسفرت عن 40 (ايجابية الجرام، الكتلاز سلبية، والجمود) وعلاوة على ذلك حددت هوية المظهرية 14 سلالات من المكورات المعوية، 10 العقدية، 06 المملسة النسقة لاكتوكيكس 08

كشفت المقارنة بين الموسمين ان الحليب المنتج خلال فترة الشتاء غني بالنباتات من مصلحة التكنولوجيا عكس الحليب المنتج خلال فصل الربيع

كلمات البحث : بكتيريا حمض اللبنيك ، الحليب الخام ، الموسم

Introduction

Le lait occupe une place stratégique dans l'alimentation quotidienne de l'homme, de part sa composition noble en protéines, en glucides et en lipides et sa richesse en vitamines et en minéraux, notamment le calcium. De nos jours, les besoins en lait sont de plus en plus importants vu que ce produit peut être consommé à l'état frais mais aussi sous forme pasteurisé, stérilisé ou transformé en produits dérivés. En plus, il constitue un substrat idéal pour la multiplication de nombreux microorganismes d'altération ou pathogènes surtout les bactéries lactiques.

Les bactéries lactiques présentent un grand intérêt dans l'industrie agro-alimentaire. Elles sont largement utilisées dans l'élaboration des produits alimentaires par des procédés de fermentations lactiques. Les bactéries lactiques assurent non seulement des caractéristiques particulières d'arômes et de texture mais aussi une bonne sécurité alimentaire. Cette sécurité est favorisée grâce à la production acides organiques (acides lactiques et acétiques) qui font baisser le pH dans le milieu et par la synthèse de bactériocines qui renforcent cette conservation (Bourel et al., 1991, De Roissard H.B et al., 1994). La flore originelle lactique des laits crus a fait l'objet de plusieurs travaux de recherche (Larpen et al., 1991). Les techniques de biologie moléculaires ont permis de mettre en évidence une forte diversité génomique qui a conduit à la classification récente de onze genres.

La diversité des laits en flore d'intérêt technologique est sous la dépendance de plusieurs facteurs liés à 'alimentation, à la végétation, à la propreté des animaux, aux pratiques de production et à la saison.

Cette étude s'inscrit dans le cadre de recherche du laboratoire visant l'étude de l'influence de la saison sur la flore lactique. Ce travail vise essentiellement deux objectifs à savoir :

- Identifier, selon des tests phénotypiques, des souches de bactéries lactiques locales isolées à partir des laits crus de vaches produits dans la région de Relizane durant la saison du printemps.
- Effectuer une comparaison entre les souches isolées durant la saison d'hiver et celles isolées durant la saison du printemps.

Chapitre I- Données générales sur le lait

1- Définition du lait

Selon JENSEN (1995), Huyghebaert (2006) et Cniel (2006), le lait est un produit indispensable à l'équilibre de l'alimentation humaine. Il contient de nombreux nutriments qui fortifient notre organisme : protéines, glucides, lipides, sels minéraux, vitamines et oligo-éléments. Il constitue un milieu propice pour la croissance de nombreux micro-organismes en raison de sa forte teneur en eau, de son pH voisin de la neutralité et de sa richesse en composants biodégradables. Il apparaît comme un liquide opaque, blanc mat, plus ou moins jaunâtre selon sa teneur en β -carotènes et en matière grasse, il a une odeur peu marquée mais reconnaissable.

C'est en 1909 que le Congrès International de la Répression des Fraudes a défini le lait comme étant «*le produit intégral de la traite totale et ininterrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée*».

2- Composition biochimique du lait

De manière générale, le lait est un aliment naturellement complet comprenant quatre types de constituants à savoir les lipides constitués essentiellement de triglycérides, les protéides (telles que la caséine, l'albumine et la globuline), les glucides formés de lactose et les minéraux (tableau 1). Mais, de nombreux autres constituants sont présents en quantité minime dans le lait comme les vitamines, les enzymes, les nucléotides, des gaz dissous; dont certains ont une grande importance du fait de leur activité biologique.

Cette composition varie selon différents facteurs liés généralement aux animaux. Les principaux facteurs de variation de la composition biochimique du lait sont : l'individualité, la race, le stade de lactation, l'alimentation, la saison, l'âge et l'espèce (Vignola, 2002).

Tableau 1 : composition biochimique du lait de vache (Vignola, 2002)

Constituants majeurs	Variations limites (%)	Valeurs moyennes (%)
Eau	85.5 – 89.5	87.6
Matières grasses	2.4 – 5.5	3.7
Protides	2.9 – 5.0	3.2
Glucides	3.6 – 5.5	4.6
Minéraux	0.7 – 0.9	0.8
Constituants mineurs	Vitamines, enzymes, pigments	Cellules diverses, gaz

2-1- Eau

D'après Amiot et al. (2002), l'eau est le constituant le plus important du lait, en proportion. La présence d'un dipôle et de doublets d'électrons libres lui confère un caractère polaire. Ce caractère polaire lui permet de former une solution vraie avec les substances polaires telles que les glucides, les minéraux et une solution colloïdale avec les protéines hydrophiles du sérum. Puisque les matières grasses possèdent un caractère non polaire (ou hydrophobe), elles ne peuvent pas se dissoudre et forment une émulsion du type huile dans l'eau. Il en est de même pour les micelles de caséines qui forment une suspension colloïdale puisqu'elles sont solides.

2 -2- Matière grasse

Jeantet et al. (2008) ont rapporté que la matière grasse est présente dans le lait sous forme de globules gras de diamètre de 0.1 à 10µm et est essentiellement constitué de triglycérides (98%). La matière grasse du lait de vache représente à elle seule la moitié de l'apport énergétique du lait. Elle est constituée de 65% d'acides gras saturés et de 35% d'acides gras insaturés. Elle renferme :

- Une très grande variété d'acides gras;
- Une proportion élevée d'acides gras à chaînes courtes, assimilés plus rapidement que les acides gras à longues chaînes ;

- U
n
e

c18:0) ;

Les phospholipides représentent moins de 1% de la matière grasse. Ils sont plutôt riches en

a

c

i

La matière grasse du lait est produite principalement à partir des acides gras volatils (acides acétique et butyrique). Le premier est formé principalement à partir des glucides pariétaux des fourrages (cellulose et hémicellulose) et le second à partir des glucides rapidement fermentescibles (1 ou 2 exemples de sucres fermentescible). Une partie de la matière grasse du lait provient de la mobilisation des réserves lipidiques de la vache (jusqu'à 60 kg). Sous certaines conditions, des graisses alimentaires peuvent également contribuer à la formation de la matière grasse du lait (Stoll, 2003).

a

La figure 1 illustre les différents constituants de la matière grasse du lait selon Bylund (1995).

i

n

s

a

t

u

r

é

s

.

L

e

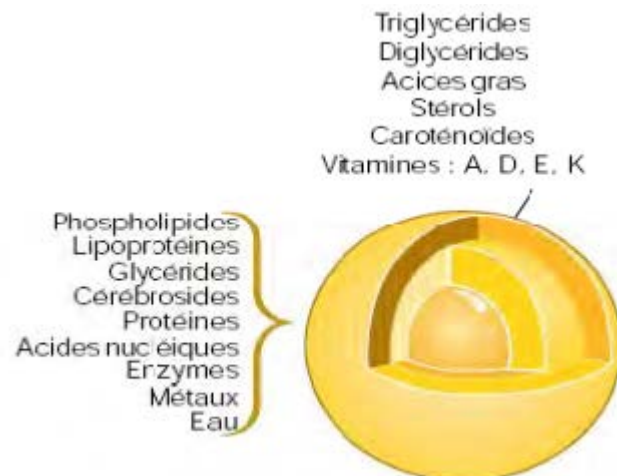


Figure 1: composition de la matière grasse du lait (Bylund, 1995)

Pour le lait de vache, le taux butyreux se situe en moyenne, entre 35 à 45 g/L.

Il varie :

i

t

d

e

- En fonction de la race et de la génétique de la vache. Par exemple, le lait des vaches Normandes est plus riche que le lait des Prim'Holstein. Le lait des vaches de race Jersiaise est très riche en matières grasses.

- En fonction du stade de lactation. Au cours d'une lactation, le taux butyreux varie en sens inverse de la quantité journalière de lait produit ; il est corrélé négativement au niveau de production.

- En fonction de la photopériode. Car le taux butyreux est plus faible en été lors des jours les plus longs.

- Et enfin en fonction de l'alimentation :

- Tous les facteurs alimentaires qui peuvent conduire à une acidose ruminale (excès d'amidon, déficit en cellulose brute (<17%), défaut de fibrosité, défaut de transition alimentaire) peuvent provoquer une chute du taux butyreux.

- Les aliments riches en sucres simples (betteraves, mélasse, lactosérum, et dans une moindre mesure l'ensilage de maïs), s'ils ne sont pas distribués en excès (ce qui provoquerait une acidose) augmentent la production ruminale de butyrate, ce qui est très favorable à de bons TB.

- Les suppléments lipidiques de la ration des vaches laitières ont un effet variable.

2-3- Protéines

Selon Jeantet et al. (2007), le lait de vache contient 3,2 à 3,5% de protéines réparties en deux fractions distinctes :

- Les caséines qui précipitent à pH de 4.6, représentent 80%, des protéines totales.
- Les protéines sériques solubles à pH 4.6, représentent 20% . des protéines totales.

2-3-1- Caséines

Jean et Dijon (1993) rapportent que la caséine est un polypeptide complexe, résultat de la polycondensation de différents aminoacides, dont les principaux sont la leucine, la proline,

l'acide glutamique et la sérine. La micelle protéique a un diamètre de l'ordre de 0,1 μm (Figure 2).

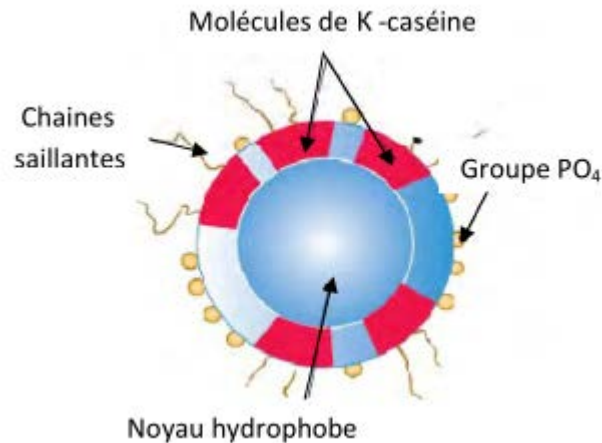


Figure 2: structure d'une sub-micelle caséique (Bylund, 1995)

Elle est formée par quatre protéines individuelles:

- Alpha-caséines ou caséines α s1 36 % et α s2 10 %,
- Bêta-caséine ou caséine β 34 %,
- Kappa-caséine ou caséine κ 13 %
- Et Gamma-caséines ou caséine γ 7 % (produits de la protéolyse de la β -caséine) (Goy et al., 2005).

Une micelle de caséine contient environ 92 à 93% de protéines, les caséines, et 8% de minéraux. La partie minérale de la micelle comporte 90% de phosphate de calcium et 10% d'ions citrate et de magnésium (2,9 % de Ca, 0,1% de Mg, 4,3% d'ions phosphate, 0,5% d'ions citrate) (Cayot et Lorient, 1998). La présence de phosphate de calcium lié à la caséine est l'une des forces responsables de la stabilité de la structure des micelles de caséine (Marchin, 2007).

Une propriété importante des micelles est de pouvoir être déstabilisée par voie acide ou par voie enzymatique et de permettre la coagulation. Elle constitue le fondement de la transformation du lait en fromage et en laits fermentés (Ramet, 1985).

L'autre fraction protéique (environ 17%) du lait est présente dans le lactosérum. Les deux principales protéines sériques sont la β -lactoglobuline et l' α -lactalbumine (Cayot et Lorient, 1998).

2-3-2- Protéines sériques

Les protéines du lactosérum représentent 15 à 28% des protéines du lait de vache et 17% des matières azotées (Debry, 2001).

Thapon (2005) a défini les protéines du lactosérum comme étant des protéines d'excellente valeur nutritionnelle, riches en acides aminés soufrés, en lysine et tryptophane. Elles ont de remarquables propriétés fonctionnelles mais sont sensibles à la dénaturation thermique.

a- L' α -lactalbumine

L' α -lactalbumine est une protéine de 123 acides aminés comportant trois variantes génétiques (A, B, C). Métalloprotéine (elle possède un atome de calcium par mole) du type globulaire (structure tertiaire quasi sphérique). Elle présente environ 22% des protéines du sérum (Vignola, 2002).

b- La β -lactoglobuline

La β -lactoglobuline est la plus importante des protéines du sérum puisqu'elle en représente environ 55%. Son point isoélectrique est 5.1. La β -lactoglobuline est une protéine de 162 acides aminés comportant 7 variantes génétiques (A, B, C, D, E, F, G). Lors du chauffage la fixation d'une molécule de caséine K et d'une β -lactoglobuline se fait également par un pont disulfure (Debry, 2001).

c- Le sérum-albumine

Représente environ 7% des protéines du sérum. Elle est constituée de 582 résidus d'acides aminés. Comptant un seul variant génétique A est identique au sérum albumine sanguine (Vignola, 2002).

d- Les immunoglobulines

Ce sont des glycoprotéines de haut poids moléculaire responsable de l'immunité. On distingue trois grandes classes d'immunoglobulines: IgA, IgG, IgM. Elles sont très abondantes dans le colostrum. Les immunoglobulines sont les protéines du lactosérum les plus sensibles à la dénaturation thermique (Thapon, 2005).

e- Protéoses-peptones

Elles forment la fraction protéique soluble après chauffage du lait acidifié à pH 4.6 vers 95°C pendant 20 à 30 minutes. C'est un groupe hétérogène issu de la protéolyse par la plasmine de la caséine β (Debry, 2001).

Le tableau 2 présente la classification des protéines selon Brunner (1981) cité par Pougeon (2001).

Tableau 2: classification des protéines (Brunner, 1981 cité par Pougeon, 2001)

NOMS	% des protéines	Nombre d'AA
CASEINES :	75-85	
Caséine α S1	39-46	199
Caséine α S2	8-11	207
Caséine β	25-35	209
Caséine κ	8-15	169
Caséine γ	3-7	
PROTEINES DU LACTOSERUM	15-22	
β -Lactoglobuline	7-12	162
α -Lactalbumine	2-5	123
Sérum-albumine	0.7-1.3	582
Immunoglobulines (G1, G2, A, M)	1.9-3.3	
Protéoses-peptones	2-4	

2-3-3- Variation de la teneur en matière protéique

Le taux protéique (TP) varie essentiellement :

-En fonction de la race ; par exemple, le lait des vaches Normandes est plus riche que le lait des Prim'Holstein.

- En fonction du génotype de l'animal,

- En fonction de la photopériode, le TP est plus faible en été lors des jours longs.

- En fonction de l'alimentation :

. Le principal facteur alimentaire est l'apport d'énergie. Si les besoins énergétiques de l'animal ne sont pas couverts, il y a une diminution du taux protéique. Une sous alimentation totale ou protéique provoque une chute du TP en plus d'une chute de la production laitière dans toutes les espèces.

. Chez la vache laitière, si la ration est riche en énergie, la synthèse protéique est stimulée. Par contre, un excès de protéines alimentaires n'augmente pas le TP mais augmente le taux d'azote non protéique en particulier la teneur en urée. La teneur en urée du lait est identique à celle du sang de la vache et peut être utilisé comme un indicateur d'une surnutrition ou sous-nutrition protéique.

. Chez les vaches laitières très hautes productrices, l'apport d'acides aminés limitant (Lysine, méthionine le plus souvent) protégés des dégradations ruminales (tourteaux tannés, acides aminés de synthèse protégés) peut permettre une augmentation modérée du taux protéique (environ 1 g/kg).

2-4- Lactose

Mathieu (1999) avait évoqué que le lait contient des glucides essentiellement représentés par le lactose, son constituant le plus abondant après l'eau. Sa molécule $C_{12}H_{22}O_{11}$, est constituée d'un résidu galactose uni à un résidu glucose. Le lactose est synthétisé dans les cellules des acini à partir du glucose sanguin. Celui-ci est en grande partie produit par le foie.

Le lactose est quasiment le seul glucide du lait de vache et représente 99% des glucides du lait de monogastriques. Sa teneur est très stable entre 48 et 50 g/l dans le lait de vache. Cette teneur présente de faibles variations dans le sens inverse des variations du taux butyreux. Le lactose est un sucre spécifique du lait (Hoden et Coulon, 1991).

2-5- Minéraux

Selon Gaucheron(2004), le lait contient des quantités importantes de différents minéraux. Les principaux minéraux sont le calcium, le magnésium, le sodium et le potassium pour les cations et le phosphate, le chlorure et le citrate pour les anions (Tableau 3).

Tableau 3 : composition minérale du lait de vache (Jeantet et al., 2007)

Eléments minéraux	Concentration (mg/kg)
Calcium	1043-1283
Magnésium	97-146
Phosphate	1805-2185
Citrate	1323-2079
Sodium	391-644
Potassium	1212-1681
Chlorure	772-1207

2-6- Vitamines

Selon Vignola (2002), les vitamines sont des substances biologiquement indispensables à la vie puisqu'elles participent comme cofacteurs dans les réactions enzymatiques et dans les échanges à l'échelle des membranes cellulaires. L'organisme humain n'est pas capable de les synthétiser

On distingue d'une part les vitamines hydrosolubles (vitamine du groupe B et vitamine C) en quantité constantes, et d'autre part les vitamines liposolubles (A, D, E et K) (Jeantet et al., 2008).

3 – Caractéristiques physico-chimiques du lait

Les principales propriétés physico-chimiques du lait sont représentées par sa densité, son point de congélation, son point d'ébullition et son acidité.

Dans le tableau 4 figurent les caractéristiques physico-chimiques du lait selon Bourgeois et al., (1990).

Tableau 4 : caractéristiques physico-chimiques du lait (Bourgeois et al., 1990).

Caractéristiques physiques	Valeurs
Ph	6.6 – 6.8
Densité	1.030 – 1.033
Température de congélation (°C)	- 0.53
Caractéristiques chimiques (g / 100g)	Valeurs
Teneur en eau	87.3
Extrait sec total	12.7
Taux de matière grasse	3.9
Extrait sec dégraissé	9.2
Teneur en matière azotée totale	3.4
Teneur en caséine	2.8
Teneur en albumine et globuline	0.5
Teneur en lactose	4.9
Teneur en cendre	0.90
Vitamines, enzymes et gaz dissous	Traces

3-1- La densité

La densité du lait varie entre 1,028 et 1,034. Elle doit être supérieure ou égale à 1,028 à 20°C. La densité des laits de grand mélange des laiteries est de 1,032 à 20°C. Celle des laits écrémés

est supérieure à 1,035. Un lait à la fois écrémé et mouillé peut avoir une densité normale (Vierling , 2008).

3-2- L'acidité titrable ou Dornic

L'acidité titrable indique le taux d'acide lactique formé à partir du lactose. Un lait frais a une acidité Dornic de 16 à 18°D. Conservé à la température ambiante, le lait s'acidifie spontanément et progressivement (Mathieu, 1998). C'est la raison pour laquelle on distingue l'acidité naturelle, celle qui caractérise le lait frais, d'une acidité développée issue de la transformation du lactose en acide lactique par divers microorganismes (CIPC lait, 2011).

Deux laits peuvent avoir le même pH et des acidités Dornic différentes et inversement. C'est dire qu'il n'y a pas de relation d'équivalence réelle entre le pH et l'acidité Dornic (Dieng, 2001).

3-3- Le point de congélation

Le point de congélation du lait est l'une de ses caractéristiques physiques les plus constantes. Sa valeur moyenne, si l'on considère des productions individuelles de vache, se situe entre - 0,54 °C et - 0,55°C (Mathieu, 1998). La mesure de ce paramètre permet l'appréciation de la quantité d'eau éventuellement ajoutée au lait. Un mouillage de 1% entraîne une augmentation du point de congélation d'environ 0,0055°C (Goursaud, 1985).

3-4- Le pH

Le pH renseigne précisément sur l'état de fraîcheur du lait. Un lait de vache frais a un pH de l'ordre de 6,7. S'il y a une action des bactéries lactiques, une partie du lactose du lait sera dégradée en acide lactique, ce qui entraîne une augmentation de la concentration du lait en ions hydronium (H₃O⁺) et donc une diminution du pH, car :

$$PH = \log 1 / [H_3O^+]$$

Un lait mammitique, contenant des composés à caractéristiques basiques, aura un pH > 7 et le colostrum un pH voisin de 6 (Luquet, 1985).

3-5- L'extrait sec total

On entend par matière sèche du lait le produit résultant de la dessiccation du lait dans les conditions décrites par la présente norme AFNOR (1985).

La matière sèche exprimée en grammes par litre de lait est égale à :

$$(M_1 - M_0) \times 100 / V$$

M_0 : est la masse en grammes de la capsule vide (Tare).

M_1 : est la masse en grammes de la capsule et du résidu après dessiccation et refroidissement

V : est le volume en millilitres de la prise d'essai.

3-6- L'extrait sec dégraissé

La matière sèche dégraissée est obtenue par différence entre la matière sèche totale et la matière grasse. Les laits normaux contiennent habituellement de 90 à 95 g de matière sèche non grasse par litre.

$$ESD = EST - MG$$

ESD : extrait sec dégraissée

EST : extrait sec total

MG : matière grasse

4- Microflore du lait

La microflore du lait fait partie de sa flore normale et se caractérise par son aptitude à fermenter le lactose avec production d'acide lactique et donc, abaissement du pH. Les ferments lactiques laitiers constituent un groupe diversifié de bactéries qui ont néanmoins un certain nombre de caractéristiques communes : elles sont à Gram positifs, catalase négatifs, anaérobies facultatifs ou micro-aérophiles et hétérotrophes (Alais, 1984 ; Claude et Champagne, 1998).

L'ensemble de ces caractères précieux permet aux bactéries lactiques un développement plus rapide que les espèces considérées comme étant nuisibles (Kouda et Boudabous, 1994).

Très peu d'espèces résistent à la pasteurisation basse (63°C pendant 30mn). Elles produisent des substances inhibitrices et antibiotiques telles que la nisine, la «diplococcine», et «l'acidophine» qui sélectionnent les bactéries non lactiques au profil des bactéries lactiques. Parmi les bactéries lactiques ayant comme habitat le lait, nous avons le genre Streptococcus, Lactobacillus, Enterococcus, Leuconostoc et Aerococcus (Luquet et Corrieu, 2005).

4-1- Les sources de contamination

Le lait est généralement contaminé par une grande variété de microorganismes d'origines diverses. Cette contamination peut provenir de l'animal (intérieur ou extérieur de la mamelle), de l'environnement où se fait la traite (sol, atmosphère, eau, mains sales etc.) et du matériel servant à la collecte du lait (machines à traire, filtre, récipients, divers) mais aussi de l'homme. Certains microorganismes peuvent provoquer un danger pour le consommateur du lait cru ou de produits fabriqués avec du lait cru. D'autres sont seulement des agents d'altération de ces produits ; ils dégradent les composants du lait en donnant des produits de métabolisme indésirables (Richard, 1990 et Guiraud, 1998).

4-2- La microflore contaminant

Elle est composée de la flore pathogène et de la flore d'altération.

4-2-1- La flore pathogène

Elle fait partie de la flore contaminant du lait. Les bactéries pathogènes pour l'homme peuvent être présentes dans le lait cru, ou dans les produits laitiers qui en dérivent. Elles sont capables de provoquer des malaises chez les personnes qui consomment ces produits.

Les bactéries les plus importantes de cette flore pathogène sont le plus souvent mésophiles et les principaux microorganismes pathogènes associés aux produits laitiers sont : Salmonella, Staphylococcus aureus, Clostridium botulinum, Clostridium perfringens, Bacillus cereus, Yersinia enterocolitica, Listeria monocytogenes, Escherichia coli, Campylobacter jejuni, Shigella sonnei et certaines moisissures (Vignola, 2002).

4-2-2- La flore d'altération

Incluse dans la flore contaminant, la flore d'altération cause des défauts sensoriels de goût, d'arômes, d'apparence ou de texture et baisse la durée de vie du produit laitier. Parfois, certains microorganismes nuisibles peuvent aussi être pathogènes. L'un n'exclut pas l'autre. Les principaux genres identifiés comme flore d'altération sont : *Pseudomonas* sp, *Proteus* sp, les coliformes soit principalement les genres : *Escherichia* et *Enterobacter*, les sporulées telles que *Bacillus* sp, *Clostridium* sp et certaines levures et moisissures (Vignola, 2002 et Richard, 1990).

4-3- La flore originelle

Le lait contient peu de Microorganismes lorsqu'il est prélevé dans de bonnes conditions, à partir d'un animal sain (moins de 10^3 germes/ml). Il s'agit essentiellement des germes saprophytes de pis et des canaux galactophores : microcoques, streptocoques lactiques, lactobacilles. Des germes pathogènes et dangereux du point de vue sanitaire peuvent être présents lorsque le lait est issu d'un animal malade (Streptocoque pyogène, carynebactéries pyogènes, des staphylocoques) qui sont des agents des mammites et il peut s'agir aussi de germes d'infection générale tels que *Salmonella*, *Brucella*, et exceptionnellement *Listeria monocytogene*, mycobactérie, *Bacillus anthracis* et quelque virus (Guiraud, 2003). Dans le tableau 5 sont citées les espèces qui constituent la flore originelle du lait.

Tableau 5 : Flore originelle du lait (Vignola, 2002)

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

4-4- Les principales activités des microorganismes dans le lait

Les activités métaboliques des microorganismes présents dans le lait peuvent avoir des effets positifs ou négatifs sur l'apparence, l'odeur, la consistance ou la texture et le goût des produits laitiers. Parmi ces activités on peut citer l'acidification, la protéolyse, la lipolyse et la production de gaz.

- ❖ L'acidification : c'est une production d'acide lactique à partir du lactose par les ferments lactiques lors de leur croissance.
- ❖ La protéolyse : c'est la dégradation des protéines du lait avec formation de peptides, dont certains donnent des mauvais goûts aux produits laitiers.
- ❖ La lipolyse : c'est la libération d'acides gras à partir des triglycérides du lait, entraînant un goût de lipolyse ou de savon (rancidité).
- ❖ La production de gaz : au cours de leur croissance, certaines bactéries (hétérofermentaires, bactéries telluriques) produisent des gaz. Dans le cas de certains fromages, on peut assister à l'apparition d'un défaut d'aspect, dû à la production de gaz, associé ou non à un défaut de goût.

Enfin, certains microorganismes ne semblent pas présenter les inconvénients cités plus haut. Leur présence en grand nombre dans le lait est toutefois indispensable comme les bactéries lactiques (Vignola, 2002 et Richard, 1990).

Chapitre II- Bactéries lactiques

1 - Généralités

Les bactéries lactiques sont des cellules procaryotes organotrophes formant un groupe hétérogène constitué de cocci et de bacilli (Badis et al., 2005). 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. Leur division se déroule sur un seul plan à l'exception des genres : *Pediococcus*, *Aerococcus*, et *Tetragenococcus*. (Salminen et al. 2004; König et Fröhlich, 2009 ; Pringsulaka et al., 2011). En général ces bactéries ne possèdent ni catalase, ni nitrate réductase, ni cytochrome oxydase (à l'exception de quelques souches sous certaines conditions), elles sont protéolytiques, ne liquéfient pas la gélatine, et ne forment plus d'indole ni d'hydrogène sulfureux, ces bactéries sont également incapables de fermenter le glycérol (Dellaglio et al., 1994; Salminen et al., 2004).

2 - Habitat des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques sont ubiquistes : elles sont retrouvées dans différentes niches écologiques comme le lait et les produits laitiers, les végétaux, la viande, le poisson, les muqueuses humaines et animales et dans le tractus digestif, ce qui explique leur température de croissance hétérogène (Mayo et al., 2010 ; Klein et al., 1993).

Les bactéries lactiques colonisent les habitats riches en nutriments tels les plantes, les fruits, les produits laitiers, les eaux et les eaux usées, les jus, ainsi que les cavités buccales, vaginales et intestinales de l'homme, sans pour autant lui provoquer des maladies, à l'exception de quelques cas causés par les *Streptococci* et certains *Sactobacilli* (König et Fröhlich, 2009).

3 - Classification des bactéries lactiques

Traditionnellement, les bactéries lactiques ont été classées sur la base des propriétés phénotypiques : la morphologie, le mode de fermentation du glucose, la croissance à différentes températures, l'isomère de l'acide lactique produit et la fermentation des différents hydrates de carbone (De Roissart et Luquet, 1994; Holzapfel et al., 2001). Les genres les plus étudiés sont *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Enterococcus* et *Pediococcus* (Drouault et Corthier, 2001). Actuellement le groupe des bactéries lactiques associées aux aliments renferme les 7 genres suivantes : *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Streptococcus* et *Bifidobacterium*.

3-1- Lactobacilles (*Lactobacillus*)

Les bactéries du genre *Lactobacillus* ont des aspects variés allant du bacille long et fin au *Coccobacille* en passant par la forme bâtonnet court ou légèrement flexueux. Ils sont Gram positif, non sporulés, fréquemment associés en chaînettes et habituellement immobiles. Les *lactobacilles* se montrent généralement plus résistants au stress acide que les *lactocoques* (Siegumfeldt et al, 2000).

Les lactobacilles se répartissent en trois groupes selon leur profil fermentaire, d'après la classification de Kandler et Weiss (1986) :

- Les lactobacilles du groupe I (LBI) : ils comprennent les espèces homofermentaires obligatoires, c'est-à-dire produisant exclusivement de l'acide lactique à partir du

glucose. Ce groupe est constitué d'environ 25 espèces, la plupart thermophiles (croissance à 45°C) dont *Lb. delbrueckii*, *Lb. acidophilus* et *Lb. helveticus*. La plupart des espèces sont présentes dans le lait et les produits laitiers.

- Les lactobacilles du groupe II (LBII) : ce sont les espèces hétérofermentaires facultatives, c'est-à-dire capables d'utiliser la voie hétérofermentaire dans certaines conditions comme une concentration en glucose limitante. Il est constitué d'une vingtaine d'espèces dont *Lb. casei*, *Lb. curvatus*, *Lb. sake* et *Lb. plantarum*, majoritairement mésophiles (Laurent et al. 1998).
- Les lactobacilles du groupe III (LBIII) : ils sont constitués des espèces hétérofermentaires obligatoires, c'est-à-dire utilisant la voie des pentoses phosphates pour la fermentation des hexoses et des pentoses. C'est un groupe qui rassemble des espèces relativement hétérogènes, surtout mésophiles, comme *Lb. brevis*, *Lb. kefir* et *Lb. sanfransisco*, Outre leur présence dans les produits laitiers et carnés, certaines espèces se développent dans le tube digestif de l'homme, et participent à l'équilibre de la flore intestinale (Laurent et al., 1998).

3-2- *Lactococcus*

Le genre *Lactococcus* a été proposé par Schleifer et al. (1985) pour reclasser des souches du genre *Streptococcus* (*Streptococcus* du groupe N) et des espèces de *Lactobacillus*. Il a été défini sur la base de critères chémitaxonomiques et du séquençage d'ARNr 16S (Schleifer et al., 1985; Collins et al., 1989). Le genre *Lactococcus* comprend 5 espèces. *Lactococcus garvieae* antérieurement identifié à *Enterococcus seriolicida* (Kusuda et al., 1991; Teixeira et al., 1996), *Lactococcus piscium*, *Lactococcus raffinolactis*, *Lactococcus plantarum* et *Lactococcus lactis* qui est subdivisé en 3 sous-espèces, *Lactococcus lactis subsp. cremoris*, *Lactococcus lactis subsp. lactis* et *Lactococcus lactis subsp. hordniae* antérieurement classifié dans le genre *Lactobacillus*. Les espèces de *Lactococcus* sont des coques, à Gram positif au métabolisme homofermentaire produisant exclusivement de l'acide lactique (L+). Elles ont un optimum de croissance voisin de 30°C et ne poussent pas à pH 9,6 ou en présence de 6,5 % de NaCl. Excepté l'espèce *Lactococcus garvieae*, elles ne sont pas hémolytiques.

Les espèces *Lactococcus lactis subsp. cremoris* et *Lactococcus lactis subsp. lactis* ont un rôle majeur dans l'acidification des fromages par production d'acide lactique. Elles contribuent également à la texture par production d'exopolysaccharides et à la flaveur par production de composés aromatiques (alcools, aldéhydes, cétones) par la dégradation du citrate ou des acides gras (Engels et Visser, 1996). Dotées de protéases membranaires et de peptidases, elles sont capables de dégrader les protéines et les peptides (Monnet et al., 1993). Elles métabolisent également les acides aminés en composés aromatiques (aldéhydes, alcools, composés soufrés) (Bonnarme et al., 2004; Yvon, 2006). Elles peuvent aussi produire du diacétyl. Leurs potentialités métaboliques sont de plus en plus explicitées grâce à l'exploitation des séquences du génome disponibles (Kok et al., 2005).

3-3- Stéptocoques (*Streptococcus*)

Les cellules de ce genre sont immobiles, sphériques ou ovoïdes qui ont un diamètre inférieur à 2µm 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 de 37°C. Elles sont incapables de se développer à 15°C et à pH: 9.6. Beaucoup d'espèces sont commensales ou parasites de l'homme et des animaux et certaines sont hautement pathogènes. Comprend essentiellement des espèces d'origine humaine ou animale dont certaines sont pathogènes comme *S. pyogenes* et *S. agalactiae* d'autres sont impliquées dans la formation de la plaque dentaire (*S. mutans*). L'espèce thermophile *Streptococcus thermophilus* se différencie par son habitat (lait et produits laitiers), et son caractère non pathogène. Du fait de ses propriétés technologiques, c'est la seule espèce considérée comme un streptocoque lactique (Laurent et al., 1998).

3-4 - *Leuconostoc*

La famille des *leuconostocaceae*, contient des coques ovoïdes, pouvant être allongés ou elliptiques. Ce sont des cellules sphériques disposent en paire ou en chaîne, elles sont caractérisées par un métabolisme hétérofermentaire en convertissant le glucose en D-lactate et éthanol ou en acide acétique par la voie de transcétolase, elles sont incapables de dégrader l'arginine ce qui leurs distinguent des lactobacilles hétérofermentaires (Gonzalez et al., 2007). On range habituellement les leuconostocs dans les anaérobies facultatifs, mais certains les

considèrent comme des anaérobies aérotolérants. Ils sont exigeants et présentent souvent une auxotrophie pour les acides aminés, les peptides, les vitamines, les sels minéraux et les glucides (Dellaglio et al., 1994). Ce genre comprend les espèces suivantes : *Ln. mesenteroides* avec ces sous espèces *mesenteroides cremoris* et *dextranicum* et *Ln. lactis* et *Ln. Pseudomesenteroides* et *Ln. Paramesenteroides* (Collins et al., 1993 ; Laease, 2005).

3-5- *Pediococcus*

Ce sont des coques formées de cellules groupées en paires ou en tétrades. Ils sont mésophiles homofermentaires, et le plus souvent incapable d'utiliser le lactose.

- ✓ Sept espèces de *Pediococcus* sont connues : *P. acidilactici*, *P. damnosus*, *P. dextranicum*, *P. inopinatus*, *P. parvulus*, *P. pentosaceus* et *P. urinaeequi*. Ils fermentent les sucres en produisant de l'acide lactique DL ou L(+) et sont aussi caractérisés par le GC% de leur ADN (34-42%). Ces dernières sont importantes dans l'agroalimentaire tant sous l'aspect négatif que positif. Ce sont des agents de dégradation en brasserie (*P. damnosus*). Les *P. acidilactici* et *P. pentosaceus* ont démontré leur utilité dans l'élaboration de plusieurs produits carnés fermentés naturels. Ils sont parfois utilisés comme levains lactiques pour les charcuteries. Les *pediocoques* sont également des bactéries lactiques autochtones qui permettent la maturation des fromages (Gonzalez et al., 2007 ; Gurira et al., 2005).
- ✓ L'espèce *pediococcus halophilus* a été renommée *Tetragenococcus halophilus*. Seulement deux espèces de *Tetragenococcus* sont connues : *T. halophilus* et *T. muriaticus*. Ces bactéries résistent à des concentrations élevées en sel (supérieures à 18% Na Cl). Ils ont un rôle crucial dans la fabrication des produits alimentaires comme les saumures (les anchois salés), les sauces de soja, etc.

3-6- *Bifidobacterium*

Les cellules de *Bifidobacterium* se caractérisent par leur forme très irrégulière, souvent en V et en Y, mais pouvant être coccoïdes. Elles se différencient des autres bactéries lactiques par leur caractère anaérobie, leur G + C % élevé, et 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, ainsi qu'en moindre proportion de l'éthanol et d'autres acides organiques. Cette fermentation «lactique» a conduit à les rapprocher du groupe des

bactéries lactiques. Leur température optimale de croissance est comprise entre 37°C et 41°C. Elles se développent à pH supérieur à 5. Elles sont isolées de l'homme et des animaux (Laurent, 1998). Le tableau 06 regroupe les différents genres de bactéries lactiques et leurs principales caractéristiques selon Laurent et al. (1998).

Tableau 06 : Les différents genres de bactéries lactiques et leurs principales caractéristiques (Laurent et al., 1998).

Genre	Morphologie	Fermentation	Température optimale	Nombre d'espèces
<i>Lactobacilles</i>	Bacilles	Homo ou hétérofermentaires	Thermophiles Ou Mésophiles	G1 :23 G2 :16 G3 : 22
<i>Lactococcus</i>	Coques	homofermentaires	Mésophiles	5
<i>Streptococcus</i>	coques	homofermentaires	Mésophiles ou thermophiles	19
<i>Leuconostoc</i>	coques	hétérofermentaires	Mésophiles	11
<i>Bifidobacterium</i>	Forme irrégulière	Acide acétique et lactique	Mésophiles	25

4- Exigences nutritionnelles des bactéries lactiques

Selon Gevers (2002), les bactéries lactiques ont une faible aptitude biosynthétique et sont en principe incapables d'assimiler directement les principaux précurseurs de leur environnement. Elles sont considérées comme un groupe bactérien le plus exigeant du point de vue nutritionnel, car elles requièrent non seulement des substrats complexes carbonés, azotés, phosphatés et soufrés mais aussi des facteurs de croissance comme les vitamines et les oligoéléments dont le rôle des coenzymes est plus important.

4-1- Exigences en vitamines

Pour le métabolisme cellulaire, les vitamines jouent le rôle irremplaçable de coenzyme. D'après Desmazaud et De Roissart (1994), les bactéries lactiques sont, à quelque exceptions

près incapable de synthétiser des vitamines, d'où l'importance d'un apport exogène de vitamines dans le milieu de culture (Cocaigne-Bousquet et al., 1996).

4-2- Exigences en azote

Les bactéries lactiques exigent l'apport exogène d'acides aminés pour leur croissance car elles sont incapables, pour la plupart, d'en synthétiser à partir d'une source azotée plus simple (Desmazaud, 1983). Elles ne peuvent absorber et utiliser que des acides aminés libres ou des peptides courts (peptidases, dipeptidases). Leur nutrition azotée exige donc l'hydrolyse des grandes protéines du lait et notamment les caséines, par des enzymes (les protéases) situées dans la paroi extérieure de la cellule (Desmazaud, 1998).

5- Voies fermentaires des bactéries lactiques

La fermentation est un processus produisant de l'énergie par oxydation de composés organiques, principalement des glucides, où un donneur d'électron, NADH cède ses électrons à un accepteur endogène, le pyruvate. Dans la respiration les électrons sont donnés à un accepteur exogène, l'oxygène pour la respiration aérobie et le nitrate ou le sulfate pour la respiration anaérobie. (Prescott et al., 2003)

Les bactéries lactiques utilisent principalement l'une des deux voies majeures du métabolisme des sucres (Figure 2). Il s'agit des voies homofermentaires (Embden-Meyerhoff- Parnas, EMP) et hétérofermentaire (voie des pentoses-phosphate). Ainsi, les bactéries lactiques sont divisées en deux groupes principaux d'espèces homofermentaires ou hétérofermentaires selon la nature et la concentration des produits terminaux issus de la fermentation du glucose (Makhloufi, 2012).

5-1- Voies homofermentaires

Les bactéries lactiques homofermentaires comprennent les espèces de *lactocoques*, *pédiocoques*, ainsi que certains lactobacilles. Cette voie conduit dans des conditions optimales de croissance à la production de deux molécules de lactate et deux molécules d'ATP par molécule de glucose consommée (Thompson et Gentry-Weeks., 1994). Des sucres autres que le glucose peuvent également être fermentés via cette voie : monosaccharides, disaccharides, hexitols. Ces micro-organismes présentent un métabolisme de type homolactique lorsque le lactate représente plus de 90% des produits de fermentation. Dans certaines conditions de

croissance (certains sucres, limitation carbone.), le métabolisme de ces bactéries se diversifie vers un métabolisme mixte avec production, en plus du lactate, de formiate, de CO₂, d'acétate et d'éthanol (Cocaign-Bousquet et al., 1996). La fructose-1,6-bisphosphate aldolase (FBA), est une enzyme clé présente chez toutes les espèces homofermentaires et indispensables au fonctionnement de la voie EMP. Cette enzyme catalyse la réaction menant à partir du fructose-1,6-bisphosphate (FBP) à deux molécules à 3 carbones, le dihydroxyacétone-phosphate (DHAP) et le glycéraldéhyde-3-phosphate (GAP).

5-2- Voies hétérofermentaires

Les bactéries lactiques qui fermentent le glucose en produisant, en plus de l'acide lactique (moins de 1,8 moles par mole de glucose), de l'acétate, de l'éthanol et du CO₂ sont dites hétérofermentaires (Thompson et Gentry-Weeks., 1994). Les groupes principaux de bactéries 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. Ce dernier 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 CO₂ et d'un seul ATP.

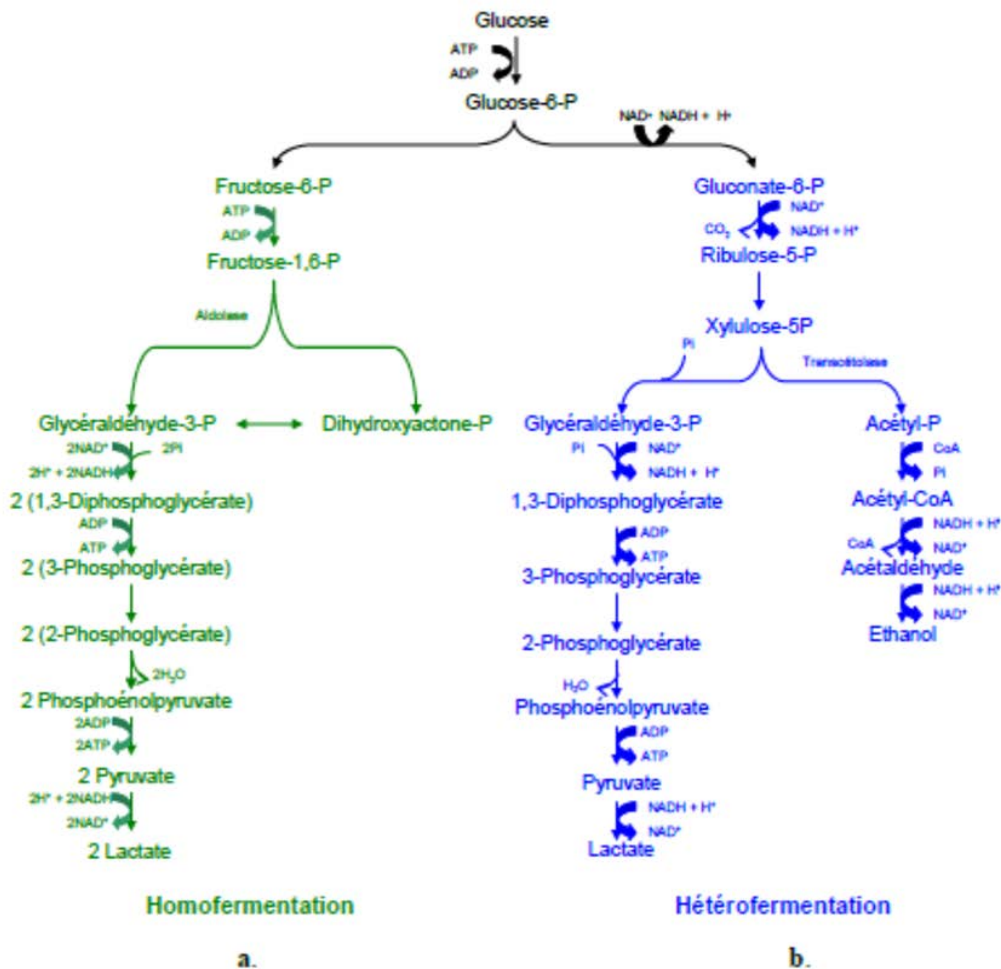


Figure 2: Représentation schématique des principales voies de fermentation des Hexoses chez les bactéries lactiques (Makhloufi, 2012)

6- Utilisation et intérêt des bactéries lactiques

De très nombreux produits alimentaires subissent une fermentation lactique avant leur consommation. Celle-ci leur assure des caractéristiques bien particulières d'arôme et de texture, mais aussi une bonne sécurité alimentaire par rapport aux bactéries indésirables grâce aux acides organiques produits. Les bactéries qui en sont responsables sont toutes regroupées sous la même appellation de bactéries lactiques bien que ce terme concerne des germes très différents (Novel, 1993 ; Caplice et Fitzgerald, 1999; Soornro et Kiran, 2002).

Dans un certain nombre de cas, la fermentation lactique est spontanée et la qualité des produits finaux obtenus est très variable. Aussi, au fur et à mesure de l'industrialisation de certaines fabrications, les technologues ont bien connu ces bactéries et les utilisent dans des conditions définies.

Au niveau des produits animaux, le lait est transformé en fromages, crèmes et beurre, yaourts et autres laits fermentés. La viande est transformée en des saucisses fermentées ou en produits saumurés secs. Dans de nombreux pays, les produits végétaux subissent aussi une fermentation lactique pour la production de boissons (vins, bières, cidres), des pains, dans la transformation du soja, du chou en choucroute ou différents végétaux ou fruits (Daly et Davis, 1998 ; Soornro et Kiran, 2002).

Les bactéries lactiques jouent un rôle important que ce soit dans l'industrie alimentaire ou dans le domaine thérapeutique.

- ✓ Dans l'industrie alimentaire : les bactéries lactiques sont impliquées dans la fermentation et la bio-conservation de différents aliments. Ainsi, les souches de *Lactobacillus bulgaricus*, *Sterptococcus thermophilus* sont utilisées pour la production du yaourt, des fromages et des laits fermentés (Yateem et al., 2008). Le vin, les poissons, les viandes, les charcuteries, le pain au levain entre autres sont aussi des produits de fermentation par des bactéries lactiques (Badis et al., 2005). L'utilisation de ces dernières a pour but l'amélioration des caractéristiques organoleptiques des produits fermentés et l'augmentation de leur durée de conservation sans l'utilisation de conservateurs chimiques grâce aux substances antimicrobiennes qu'elles secrètent (Dortu et Thonart, 2009). Les souches utilisées en industrie alimentaire doivent répondre à certains critères : absence de pathogénicité ou activité toxique, capacité d'améliorer les caractéristiques organoleptiques, capacité de dominance, facilité de culture et de conservation et maintenance des propriétés désirables durant le stockage (Marth et Steele, 2001).
- ✓ Dans le domaine thérapeutique : étant des pro biotiques, les bactéries lactiques apportent des bénéfices à l'hôte en conférant une balance de la microflore intestinale et en jouant également un rôle important dans la maturation du système immunitaire (Yateem et al., 2008). Différentes études ont démontré le rôle préventif aussi bien que curatif de ces bactéries 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.

7- Métabolites bactériens à activité antagoniste

L'antagonisme est un phénomène très complexe, résultant de nombreuses activités connues. Il influe sur les caractères morphologiques des microorganismes et divers processus physiologiques telle que la capacité de la production de pigments (Bourgeois et al., 1996).

L'antagonisme est une relation d'exclusion qui s'établit entre des espèces microbiennes entrant en compétition dans un même milieu. Lorsque se crée une relation antagoniste entre deux espèces microbiennes vivantes dans le même milieu, le développement d'une espèce se trouve affectée par la présence de l'autre (Singleton, 1984).

On reconnaît depuis longtemps, aux bactéries lactique, la propriété de produire des substances antibactériennes leur permettant de se développer préférentiellement dans divers écosystèmes. L'activité antagoniste des bactéries lactiques est due aux métabolites excrétés : l'acide lactique et autre acides organiques, peroxyde d'hydrogène, reutérine, diacétyl et acétaldéhyde (Leveau et al., 1991 ; Klaenhammer et al ., 1994 ; De Vuyst et Leroy, 2007).

7-1- Les acides organiques

Le métabolisme principal des bactéries lactiques a pour effet une production importante des acides organiques. Les acides organiques sont produits soit par les bactéries homofermentaires, soit par les bactéries hétérofermentaires. Le métabolisme du pyruvate conduit à la formation uniquement d'acide lactique chez les homofermentaires tandis qu'il conduit à la formation d'acides lactique, acétique et formique , d'éthanol et de dioxyde de carbone chez les hétérofermentaires (Liu, 2003).

En général, la production d'acides organiques permet une acidification du milieu qui peut limiter la croissance de certaines bactéries entre autres les bactéries indésirables et pathogènes. Ainsi, les acides organiques ont différentes actions tels qu'un excellent pouvoir bactéricide ou un effet bactériostatique contre les micro-organismes pathogènes se trouvant dans le tube digestif.

Les acides organiques sont un des agents classique de préservations des aliments (Brul et Coote, 1999) et sont reconnus comme des additifs alimentaires.

7-2- Le peroxyde d'hydrogène

L'intervention du peroxyde d'hydrogène dans les phénomènes d'inhibition par les bactéries lactiques a été établie (Wheater et al., 1951) .

Les bactéries lactiques sont des catalases négatives et certaines souches peuvent accumuler du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) essentiellement par le métabolisme aérobie ou en micro-aérobiose des glucides. Le peroxyde d'hydrogène est, depuis longtemps, reconnu comme un agent majeur de l'activité antimicrobienne des bactéries lactiques en particulier celle des *lactobacilles*. Il peut s'accumuler et être inhibiteur de différents micro-organismes par l'oxydation des lipides membranaires et la destruction des structures des protéines cellulaires (Zalan et al., 2005).

7-3- Le dioxyde de carbone

Le dioxyde de carbone (CO_2) est formé pendant la fermentation hétérolactique et crée un environnement anaérobie qui inhibe les microorganismes aérobies. L'accumulation de CO_2 dans la bicouche lipidique peut causer un dysfonctionnement de la perméabilité (Ammor et al., 2006).

Ainsi, le CO_2 peut effectivement inhiber la croissance de nombreux germes d'altération et essentiellement les germes psychrotrophes à Gram négatif.

7-4- Le diacétyl

Le diacétyl ou butane-2,3-dione $C_4H_6O_2$ produit par de nombreuses de bactéries lactiques est un inhibiteur actif contre de nombreux microorganismes, bactéries ou moisissures. Le diacétyl ($C_4H_6O_2$) est un des composants aromatiques essentiels du beurre. L'action inhibitrice est accrue en milieu acide. Les bactéries Gram négatives sont plus sensibles que les bactéries Gram positives (Mathot et al., 1996).

Les concentrations nécessaires à l'obtention d'une inhibition sont de l'ordre de 100 ppm, et sont supérieures à celles présentes dans le beurre et susceptibles de provoquer son arôme (2 à 7 ppm) (Caplice et Fitzgerald, 1999).

7-5- Acétaldéhyde

L'acétaldéhyde empêche la croissance de *Staphylococcus aureus*, de *Salmonella typhimurium* et d'*Escherichia coli* à une concentration de 10 à 100 ppm dans les produits laitiers (Piard et Desmazeaud, 1991). La contribution de l'acétaldéhyde à la bio préservation est mineure car le seuil de saveur est beaucoup moindre aux niveaux qui sont nécessaires à l'inhibition des microorganismes (Kulshrestha et Marth, 1974).

7-6- Reutérine

La reutérine ou 3-hydroxypropionaldéhyde est une substance antimicrobienne qui est produite comme métabolite intermédiaire pendant la fermentation anaérobie du glycérol par certaines espèces de *Lactobacillus* ainsi que par d'autres genres bactériens non lactiques tels que *Bacillus*, *Klebsiella*, *Citrobacter*, *Enterobacter* et *Clostridium* (El-Ziney et al, 1998). La fermentation du glycérol se déroule en deux étapes. Le glycérol sera tout d'abord déshydraté par une «glycérol deshydratase» pour former de la reutérine qui sera ensuite réduite en 1,3-propanediol par une oxydoréductase. Cette deuxième étape est inhibée en l'absence de glucose. La reutérine s'accumule alors dans le microorganisme producteur. A haute concentration, elle est excrétée dans le milieu. Sa toxicité contre la cellule productrice limite sa production. Certaines espèces comme *Lactobacillus reuteri* y sont plus résistantes (Vollenweider, 2004). La reutérine a un large spectre d'activité. Elle a une action contre les procaryotes Gram-positif ou Gram-négatif, les eucaryotes, les virus, les champignons et les protozoaires. Elle interfère avec la réplication de l'ADN. Elle a des applications aussi bien dans le domaine médical que dans le domaine alimentaire (Vollenweider, 2004).

Chapitre I - Matériels et méthodes

1. Objectifs

Vu l'importance de la qualité microbiologique du lait et admettant que l'équilibre d'un lait en microorganismes est le fait d'éléments impondérables comme le lieu, le climat, la végétation ayant servi à la nourriture des animaux, la saison, l'ambiance qui s'est installée dans le bâtiment et les équipements de la traite notre but s'inscrit, en premier lieu, dans l'étude de la diversité de la flore microbienne d'intérêt technologique issu des laits produits durant la saison du printemps, en second lieu, effectuer une comparaison entre la flore obtenue durant le printemps et celle obtenue durant l'hiver.

2- Présentation de la zone d'étude

La wilaya de Relizane se situe au nord –ouest de l'Algérie. Elle est délimitée :

- ✓ Au nord par la wilaya de Mostaganem,
- ✓ A l'ouest par la wilaya de Mascara,
- ✓ A l'est par la wilaya de Chlef
- ✓ Et au sud par la wilaya de Tiaret et Tissemsilt.

Sa superficie est de 4870 km² avec un climat continental, très chaud en été et doux en hiver. Elle compte 13 Dairas et 38 communes. Elle est connue par l'importance de l'élevage bovin notamment dans la région Est de la wilaya qui s'inscrit dans un contexte marqué à la fois par l'aridité du climat et le manque de ressources hydriques.

3- Origine des données et des isolats étudiés

Afin de réaliser l'étude comparative entre les deux saisons, des données obtenues par l'étude de la diversité technologique durant l'hiver sont exploitées. Cette étude était déjà réalisée au niveau du Laboratoire de Sciences et Techniques de Production Animales dans le cadre d'un axe de recherche portant sur la caractérisation biotechnologique et microbiologique du lait cru à la ferme dans la wilaya de Relizane.

Concernant la saison du printemps, 43 isolats sont obtenus à partir des laits prélevés dans 03 exploitations situées dans la région de Relizane. Après leur prélèvement, ils sont isolés et conservés à – 20 C° dans du MRS et glycérol jusqu'à leur analyse.

4- Préparation des souches

Après leur conservation à -20°C , les souches sont décongelées et revivifiées dans des tubes de bouillon **MRS** et incubées à 30°C pendant 18 à 24 heures.

5- Identification des isolats

5-1- Critères morphologiques

5-1-1- Description macroscopique

Une observation visuelle a permis de décrire l'aspect des colonies obtenues sur le milieu solide (taille, pigmentation, contour, aspect et viscosité).

5-1-2- Observation microscopique

L'observation microscopique au grossissement (G 100) a permis de classer les bactéries selon leur Gram, leur morphologie cellulaire, leur mode d'association.

5-1-3- Test de mobilité

Le test de mobilité consiste à réaliser un frottis bactérien vital en déposant une colonie repiquée à partir des souches isolées entre lame et lamelle puis d'ajouter une goutte de Bleu de Méthylène pour enfin passer à l'observation. Ce test a permis de déterminer la mobilité de l'immobilité de la souche étudiée.

5-2- Critères physiologiques et biochimiques

5-2-1- Test de la catalase

Le test catalase sert à démontrer si la bactérie possède l'enzyme catalase servant à décomposer le peroxyde d'hydrogène.

L'activité catalytique consiste à prélever une colonie sur gélose **MRS** ou **M17** et dissociée dans une goutte d'eau oxygénée (H_2O_2) 10 volumes. L'apparition de bulles révèle le dégagement d'oxygène (Ahmed et Irene, 2007).

5-2-2- Croissance à différentes températures

Ce test est important car il permet de distinguer les bactéries lactiques mésophiles des thermophiles (Leveau et al., 1991).

Les souches sont ensemencées sur milieu **MRS/M17** liquide puis incubées à 10, 15, 37 et 45°C pendant 24 heures à 48 heures.

5-2-3- Type fermentaire

Ce test permet de classer les bactéries en *hétérofermentaire* ou *homofermentaire*. Il est effectué dans un milieu dépourvu de citrate pour éviter la formation de CO₂ liée à ce métabolisme particulier (Dicks et Vuuren, 1987). On ensemence abondamment un tube de 10ml de bouillon **MRS** ou **M17** (sans citrate) dans le milieu. Puis, on introduit une cloche de Durham. Le CO₂ dégagé par les bactéries *hétérofermentaire* s'accumule après incubation à 30°C pendant 24 à 48 heures.

5-2-4- Croissance dans des conditions hostiles

Ce test est réalisé pour la caractérisation des Lactocoques des Entérocoques (Schleifer et al, 1985 ; Hardie et Whiley, 1995 ; Stiles et Holzapfel, 1997).

5-2-4-1- Culture à pH 9.6 et NaCl 4% et 6.5%

Un milieu hypersalé à différentes concentration de NaCl (4 et 6.5% de NaCl) et un milieu **MRS** alcalinisé à pH 9.6 et à pH 4.6 est ensemencé et incubé pendant 2 à 3 jours. La croissance est appréciée par l'apparition d'un trouble.

5-2-4-2- Croissance sur le lait Bleu de Sherman (1937)

On teste l'aptitude des souches à pousser en présence de Bleu de Méthylène. Ce test est appliqué pour différencier les Streptocoques et les Lactocoques. Les souches purifiées sur bouillon MRS sont ensemencées dans deux séries de tubes contenant 9 ml de lait écrémé stérile additionné à 1 ml de Bleu de Méthylène à (1%) stérile pour la première série, et à 1 ml de Bleu de Méthylène (3%) pour la deuxième série.

L'incubation se fait à 37C° pendant 24 à 48 heures. Le Bleu de Méthylène tire sa couleur grâce à l'oxygène. Ce test porte toujours sur le système respiratoire des lactocoques, car vu

que ce sont des micro-aérophiles. Ils ne vont utiliser qu'une faible partie de l'oxygène présent dans le Bleu de Méthylène (3%) et de ce fait la couleur du lait ne virera que légèrement vers le blanc et ce contrairement aux entérocoques (aérobies) qui utilisent tout l'oxygène.

Les Streptocoques fécaux se développent en présence de 0.1% de Bleu de Méthylène. Quant à *Streptococcus thermophilus*, il est très sensible au colorant utilisé dans ce test.

5-2-5-3- Thermorésistance

La thermorésistance des souches est testée par leur incubation dans un bain marie pendant 30 minutes à 63°C ; ensuite les tubes seront incubés pendant 24 à 48 heures à 30°C.

5-2-6- Etude du métabolisme azoté (Détermination de l'arginine hydrolase)

Elle est mise en évidence sur un milieu de Moeller (Moeller, 1955 ; Harrigan et Mc Cance, 1976). Pour chaque souche isolée on ensemence un tube de bouillon Moeller arginine et un tube témoin (Moeller sans arginine) recouvrir le milieu avec 4 à 5 mm d'huile de paraffine stérile. Après 2 à 6 jours d'incubation à 30°C, la culture se manifeste par un virage au jaune dû à l'acidification du milieu (métabolisme du glucose) (Larpen-Gourgau et al, 1997 ; Carr et al, 2002). La dégradation de l'arginine aboutissant à la formation d'ammoniaque est révélée par alcalinisation du milieu qui devient violet.

5-2-7- Hydrolyse de l'esculine

A partir de pré-cultures bactériennes en milieu MRS, les cellules sont ensemencées en touches sur milieu gélosé à l'esculine (Larpen-Gourgau et al., 1997). Les boîtes à pétri sont incubées à 37°C pendant 48 heures.

L'esculine est hétéroside formé d'un glucide complexe qui peut être dégradé par l'esculinase.

Les produits de la réaction sont le glucose et l'esculétine. L'esculétine formé peut réagir avec les ions de fer pour donner des colonies noirs. Le test de l'esculinase est un critère important pour une orientation vers les entérocoques.

5-2-8- Production de composés aromatiques

La production d'acétoïne (acétylméthylcarbinol) est testée par la réaction de Voges Proskauer (VP) après une culture de 24heures à 30°C sur milieu Clark et Lubs (Facklam et Elliot, 1995).

Ajouter 5 gouttes de réactif VP1 (solution de soude NaOH à 16% dans l'eau distillée) et le même volume du réactif VP2 (alpha-naphtol à 6% dans l'alcool à 95 %). On agite soigneusement les tubes et on attend pendant 10 minutes.

La présence d'acétoïne se traduit par une coloration rose en surface mais pouvant se diffuser dans le milieu.

6- Etude comparative

Le deuxième volet de cette étude consiste à réaliser une comparaison entre la diversité des laits en flore d'intérêt technologique produits durant la saison de l'hiver et ceux produits durant la saison du printemps dans le but de déceler l'influence de la saison sur cette flore.

Chapitre II- Résultats et discussions

1 - Identification des isolats

Lors de cette étude, on a identifié les souches qui étaient obtenues durant la saison du printemps à partir de laits de vache.

Les isolats étaient au nombre de 43. Après revivification sur les 43 souches revivifiées, 40 isolats sont activées. Ces isolats sont Gram positif, à catalase négatif et immobiles.

2 - Critères morphologiques

Toutes les souches se présentent sous la forme de coques. Les cellules sont associées en paires ou en chaînettes, alors que la forme bâtonnets est absente.

Tableau 7 : présentation de la forme des souches

Echanti-llon	Souche	Forme Cocci
01	S1	Cocci
	S2	Cocci
	S3	Cocci
	S4	Cocci
	S5	Cocci
02	S6	Cocci
	S7	Cocci
	S8	Cocci
03	S9	Cocci
	S10	Cocci
	S11	Cocci
	S12	Cocci
	S13	-
04	S14	Cocci

Echanti-llon	Souche	Forme
	S15	Cocci
	S16	-
	S17	Cocci
05	S18	Cocci
	S19	Cocci
	S20	Cocci
	S21	Cocci
	S22	Cocci
06	S23	Cocci
	S24	Cocci
	S25	Cocci
	S26	Cocci
	S27	-
	S28	Cocci

Echanti-llon	Souche	Forme
	S29	Cocci
07	S30	Cocci
	S31	Cocci
	S32	Cocci
	S33	Cocci
	S34	Cocci
08	S35	Cocci
	S36	Cocci
	S37	Cocci
	S38	Cocci
	S39	Cocci
09	S40	Cocci
	S41	Cocci
	S42	Cocci
	S43	Cocci

3 - Critères physiologiques et biochimiques

Un total de 40 isolats lactiques a été rattaché à cinq (5) groupes bactériens. Ces isolats sont identifiés au stade du *Genre* en se basant sur leurs caractéristiques morphologiques, physiologiques et biochimiques. Les résultats des critères physiologiques et biochimiques sont groupés dans les (tableaux 8, 9, 10,11,12,13).

L'identification du genre est d'abord orienté par la morphologie, puis par le type fermentaire (production de gaz CO_2) et les conditions physiologiques de croissance (Pilet et al., 2005).

3-1- Croissance à 10, 37, 45°C et la thermorésistance

Cette étude de la croissance à 10, 37, 45°C et la thermorésistance à 63°C pendant 30 minutes permet de faire la différence entre la flore thermophile et la flore mésophile. D'après les résultats obtenus, il a été constaté la présence de 14 souches mésophiles (soit 35%) et 26 souches thermophiles (soit 65%). Enfin, seulement 12 souches ont résisté au test de la thermorésistance à 63°C (tableau 8).

Tableau 8 : résultats de croissance à différentes températures (°C)

Echantillons	Souches	Températures (°C)			Thermorésistance
		10	37	45	
01	S1	+	+	-	-
	S2	+	+	-	-
	S3	+	-	-	
	S4	+	+	+	+
	S5	+	+	+	+
02	S6	±	+	+	±
	S7	-	+	+	±
	S8	±	+	+	+
03	S9	+	+	+	±
	S10	±	+	+	-
	S11	±	+	+	-
	S12	+	+	+	+
	S13				
04	S14	+	+	+	+
	S15	+	+	-	-
	S16				
	S17	+	+	-	-
05	S18	±	-	+	ND
	S19	+	±	+	-
	S20	+	+	-	-
	S21	+	±	+	+

(+) résultats positif, (-) résultats négatif, ND : non déterminé, V ; variable

Tableau 8 : résultats de croissance à différentes températures (°C) (suite)

Echantillons	Souches	Températures (°C)			Thermorésistance
		10	37	45	
	S22	+	+	-	-
06	S23	+	+	-	-
	S24	±	-	+	±
	S25	+	±	+	+
	S26	+	-	+	+
	S27				
	S28	+	+	-	-
	S29	+	-	-	-
07	S30	+	-	+	±
	S31	+	-	-	+
	S32	+	+	+	+
	S33	+	+	+	+
	S34	+	+	±	+
08	S35	+	+	+	±
	S36	+	+	+	-
	S37	±	-	-	-
	S38	+	+	+	+
	S39	+	+	-	-
09	S40	±	+	-	-
	S41	+	+	+	-
	S42	+	+	+	+
	S43	-	+	+	±

(+) résultats positif, (-) résultats négatif, ND : non déterminé, V ; variable

3-2- Type fermentaire

Ce test a permis de différencier entre les souches homofermentaires et les souches hétérofermentaires en utilisant un milieu glucosé stérile qui contient une cloche de Durham. La production de gaz (CO₂) a été observée uniquement chez 04 souches S29, S31, S39 et S40 (**tableau 9**).

Tableau 9 : présentation des types fermentaire des souches

Echantillons	Souches	Type fermentaire
01	S1	Homo
	S2	Homo
	S3	Homo
	S4	Homo
	S5	Homo
02	S6	Homo
	S7	Homo
	S8	Homo
03	S9	Homo
	S10	Homo
	S11	Homo
	S12	Homo
	S13	
04	S14	Homo
	S15	Homo
	S16	
	S17	Homo
05	S18	Homo
	S19	Homo
	S20	Hétéro
	S21	Homo

Echantillons	Souches	Type fermentaire
	S22	Homo
06	S23	Homo
	S24	Homo
	S25	Homo
	S26	Homo
	S27	
	S28	Homo
	S29	Hétéro
07	S30	Homo
	S31	Hétéro
	S32	Homo
	S33	Homo
	S34	Homo
08	S35	Homo
	S36	Homo
	S37	Homo
	S38	Homo
	S39	Hétéro
09	S40	Hétéro
	S41	Homo
	S42	Homo
	S43	Homo

(+) résultats positif, (-) résultats négatif, ND : non déterminé, V ; variable

3-3- Test de NaCl 4% et 6.5% et de pH 9.6

Ce test est réalisé dans le but de différencier les lactocoques des entérocoques. Après culture on a remarqué que 11 souches ont pu croître en présence de 6.5% de NaCl et à pH de 9.6. Les résultats de ces tests de NaCl et de pH sont regroupés dans le tableau 10.

Tableau 10 : présentation des résultats destests de NaCl et de pH

Echantillons	Souches	NaCl 4%	NaCl 6.5%	pH 4.6	pH 9.6
01	S01	+	V	-	ND
	S02	-	-	-	-
	S03	-	-	-	ND
	S04	-	+	-	+
	S05	-	-	-	V
02	S06	-	+	-	+
	S07	-	-	ND	V
	S08	-	+	-	+
03	S09	-	+	-	+
	S10	-	-	ND	ND
	S11	-	-	ND	ND
	S12	-	-	-	-
	S13				
04	S14	-	+	ND	+
	S15	-	+	-	-
	S16				
	S17	-	-	ND	V
05	S18	-	+	ND	+
	S19	-	+	-	+
	S20	-	ND	-	-
	S21	-	-	-	ND

(+) résultats positif, (-) résultats négatif, ND : non déterminé, V ; variable

Tableau 10 : présentation des résultats destests de NaCl et de pH (suite)

Echantillons	Souches	NaCl 4%	NaCl 6.5%	pH 4.6	pH 9.6
	S22	ND	-	-	+
06	S23	-	V	-	ND
	S24	-	-	-	V
	S25	+	+	-	ND
	S26	ND	-	-	+
	S27				
	S28	+	-	-	ND
	S29	-	+	ND	ND
07	S30	+	+	-	ND
	S31	-	-	-	ND
	S32	ND	-	ND	+
	S33	ND	+	ND	V
	S34	-	-	ND	V
08	S35	-	+	-	ND
	S36	+	V	+	V
	S37	+	+	+	-
	S38	-	-	-	-
	S39	-	+	ND	ND
09	S40	-	+	ND	ND
	S41	+	+	-	+
	S42	-	-	ND	V
	S43	ND	+	ND	+

(+) résultats positif, (-) résultats négatif, ND : non déterminé, V ; variable

3-4- Test de lait de Sherman

On a ensemencé les souches isolées dans deux séries de tubes ; la première avec 1% de Bleu de Méthylène et l'autre avec 3% de Bleu de Méthylène. Ce test est basé sur le mode respiratoire des souches. Les souches aérobies vont tirer l'oxygène du Bleu de Méthylène présent dans le lait en perdant sa couleur. Les souches qui sont microaérobies, le cas des lactocoques, vont utiliser une faible quantité de l'oxygène donc la couleur est peu virée (figure 4 et 5).

Treize (13) souches ont réduit le Bleu de Méthylène 3% ; ceci signifie qu'il s'agit d'entérocoques.



Figure 4 : résultats du test de lait de Sherman 1%



Figure 5 : résultats test lait de Sherman 3%

3-5- Recherche de l'arginine hydrolase

La production de l'acide lactique acidifie le milieu de culture (M16BCP) qui contient un indicateur de pH et la couleur de ce dernier va virer vers le jaune. Les souches possédant l'arginine déshydrogénase (ADH) vont réalcalinisé le milieu et sa couleur redeviendra mauve. Ceux qui ne possèdent pas d'ADH, leur milieu reste jaune (**figure 6**).

Après culture et incubation, on a remarqué que 22 souches (soit ? %) n'ont pas une arginine déshydrogénase (tableau 11).



Figure 6 : résultats de l'Arginine-Di-Hydrolase (ADH)

Tableau 11: présentation des résultats de test l'ADH

Echantillons	Souches	ADH
01	S01	+
	S02	-
	S03	-
	S04	+
	S05	-
02	S06	+
	S07	-
	S08	+
03	S09	-
	S10	-
	S11	-
	S12	V
	S13	
04	S14	+
	S15	-
	S16	
	S17	-
05	S18	+
	S19	-
	S20	-
	S21	-
	S22	-

Echantillons	Souches	ADH
06	S23	+
	S24	-
	S25	+
	S26	+
	S27	
	S28	+
	S29	-
07	S30	-
	S31	-
	S32	+
	S33	-
	S34	+
08	S35	+
	S36	+
	S37	+
	S38	V
	S39	-
09	S40	-
	S41	-
	S42	+
	S43	+

(+) résultats positif, (-) résultats négatif, ND : non déterminé, V ; variable

3-6- Production de composés aromatiques

Ce test est réalisé afin de différencier les souches qui ont la capacité de produire les composés aromatiques (acétoïne) (figure 7). D'après les résultats enregistrés, on a constaté que 12 souches ont cette capacité de produire les composés aromatiques (**tableau 12**).

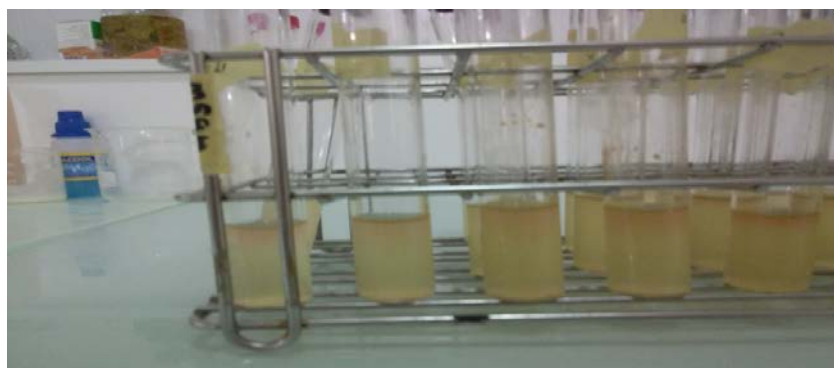


Figure 7 : résultats du test de production de composés aromatiques (acétoïne)

Tableau 12 : présentation du test de production de composé aromatique

Echantillons	Souches	Acétoïne
01	S01	+
	S02	-
	S03	+
	S04	V
	S05	V
02	S06	+
	S07	V
	S08	+
03	S09	+
	S10	-
	S11	-
	S12	V
	S13	
04	S14	V
	S15	-
	S16	
	S17	V
05	S18	+
	S19	-
	S20	-
	S21	-
	S22	-

Echantillons	Souches	Acétoïne
06	S23	-
	S24	V
	S25	-
	S26	+
	S27	
07	S28	+
	S29	-
	S30	-
08	S31	-
	S32	-
	S33	-
	S34	-
	S35	-
09	S36	+
	S37	-
	S38	-
	S39	-
09	S40	-
	S41	-
	S42	-
	S43	-

3 -7- Esculine

Ce test a pour objectif de déceler si la souche possède l'enzyme l'esculinase responsable de la dégradation de l'esculine en l'esculétine. D'après les résultats obtenus, on a remarqué que la plus part des souches possèdent cette enzyme (**figure 8 et tableau 13**).



Figure 8 : résultats du test de l'esculine

Tableau 13: présentation du test de l'esculine

Echantillons	Souches	Esculine
01	S01	+
	S02	+
	S03	-
	S04	+
	S05	+
02	S06	+
	S07	+
	S08	+
03	S09	+
	S10	+
	S11	+
	S12	-
	S13	
04	S14	+
	S15	+
	S16	
	S17	+
05	S18	+
	S19	+
	S20	+
	S21	-
	S22	+

Echantillons	Souches	Esculine
06	S23	-
	S24	+
	S25	+
	S26	+
	S27	
	S28	+
	S29	+
	S30	+
07	S31	+
	S32	+
	S33	+
	S34	+
08	S35	+
	S36	+
	S37	-
	S38	-
	S39	+
09	S40	+
	S41	+
	S42	+
	S43	+

(+) résultats positif, (-) résultats négatif, ND : non déterminé, V ; variable

Discussions

L'étude des caractères cultureux, biochimiques et physiologiques des 40 souches isolées et sélectionnées à partir de laits crus de vache produits dans la région de Relizane et pendant la saison du printemps a permis de mettre en évidence 05 groupes bactériens. Le nombre de souches par échantillon varie de 3 à 7 et de 13 à 16 par exploitation.

La forme *coque* est la forme dominante dans l'ensemble des échantillons de laits des 03 exploitations d'élevage. Le même résultat a été apporté par Zadi- Karem (1998) et Bekhouche (2005).

L'effectif total des souches sont représenté par les genres *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Pediococcus* et *Leuconostoc*.

Les résultats obtenus sur les 40 souches sélectionnées ont montré que la plus part des isolats sont Gram positif, avec catalase négatif et immobile. Ces résultats confirment ceux de Gunter et al., (1998).

Parmi les souches sélectionnées pour les tests d'identification, 14 appartiennent au groupe *Enterococcus* et présentent un développement positif à 10°C (sauf la souche S43) et à 45°C, à pH 9.6 (sauf S25 et S35), en présence de 6.5% de NaCl (sauf S26) et une thermorésistance à 63°C (sauf S18, S19 et S41).

Parmi le genre *Lactococcus*, 08 souches ont été déterminées. Ces dernières ne se développent pas à 6.5% NaCl (sauf S15). Elles produisent de l'acétolactone (sauf S02, S10, S11, S22 et S23). , Elles ne présentent pas de résistance à 63°C, ni de croissance (à pH 9.6) et de développement à la température de 45°C. . En revanche, elles présentent une croissance aux températures de 10°C et 37°C.

Parmi le genre *Streptococcus*, on s'est basé sur la thermorésistance positive, la croissance à 45°C et sur les résultats du test de lait de Sherman. Les souches sont toutes thermorésistantes positives, avec une croissance positive à 45°C (sauf pour la S17) et un test de lait de Sherman négatif.

Le genre *Leuconostoc* est présenté par 06 souches qui se développent toutes à 37°C, sauf pour les S3 S29 et S31 qui ne possèdent pas l'arginine déshydrogénase (ADH), se développent à 10°C et ne se développent pas à 45°C et sont toutes hétérofermentaires.

Pour le genre *Pediococcus*, 02 souches seulement sont sélectionnées à savoir la S36 et la S37. Ces deux souches se développent à 10°C et à 37°C, ne résistent pas 63°C, sont homofermentaire et enfin se développent à un pH 4.6 et à 4% de NaCl.

D'après nos résultats, le genre *Enterococcus* est dominant, avec une fréquence de présence de 35%. Ces résultats sont en accord avec ceux enregistrés par Boubekri et al. (1996) qui ont

constaté une forte prédominance du genre *Enterococcus*, alors que nos résultats sont supérieurs à ceux rapporté par Bekhouche et al. (2005) où ce genre a été représenté par 02 souches. La prédominance des *Enterococcus*, bactéries d'origine fécales, dans notre étude est probablement dû aux conditions hygiéniques de traite et de stockage des laits à la ferme et qui sont de qualité médiocre durant cette saison.

Vraisemblablement, certaines à identifier et appartenant au genre *Enterococcus* pourront être utilisées pour améliorer la qualité gustative du Cheddar et d'autres fromages. Ces bactéries forment sur le milieu M17 solide des colonies bombées, circulaires, avec une surface lisse et une couleur blanche d'environ 0.5 à 1 mm de diamètre. Ils se forment en coques associés en deux ou en courte chaîne (Franz et Holzappel, 2004). Les entérocoques poussent dans les conditions hostiles en présence de 6.5% NaCl, à pH 9.6, avec une croissance à 45°C. Elles survivent généralement à 63C° pendant 30 minutes (Larpent G.M., et al., 1997).

Les *Leuconostoc* développées sur le milieu MSE (Mayeux et al., 1962) forment des colonies brillantes, transparentes, gluantes et devenant muqueuses après production de dextrane. L'observation après coloration de Gram indique qu'il s'agit de coques ovoïdes en paires ou en chaînette (Novel G., 1993).

Les *Leuconostoc* fermentent le glucose avec la production du gaz CO₂, donc hétérofermentaires. Elles ne produisent pas l'acétoïne, n'hydrolysant pas l'arginine et se développant à 37°C. Elles sont mésophiles et présentent une croissance à 6.5 % NaCl et la plus part hydrolysent l'esculine (Larpent, 1998 ; Badis et al., 2004).

Les *Lactococcus* sont présentées par 08 souches (20%). Le même constat a été mentionné par Ayed et al. (2006) qui avaient isolé un nombre réduit de *Lactococcus* (8%) à partir de fromage artisanal égyptien.

L'aspect microscopique a montré que les *Lactococcus* se développent sur le milieu M17 de petites colonies régulières, de couleur blanchâtre, lisses et légèrement bombées. L'observation microscopique a révèlé la forme cocci sphérique, associées en paires ou groupées en chaînettes plus ou moins longues (Tenber et Geis, 2006). Les lactocoques sont des bactéries homofermentaires, ne poussant ni à 45C° et ni dans une concentration en NaCl à 6.5%.

Au cours de cette étude, on a isolé des souches atypiques, par rapport aux souches de références. Le même résultat a été obtenu par Franciosi et al., (2009) en présence de 6.5%

NaCl. Des résultats similaires ont été rapportés par Kacem et al., (2002). Parmi ces souches, les S10 et S11 poussent à 45°C. Selon Drouault et al. (2002), la caractérisation phénotypique des bactéries lactiques est peu claire et beaucoup de souches sont mal clarifiées au niveau des genres de bactéries lactiques déterminés. La caractérisation peut être erronée par la variation du phénotype : par la présence ou l'absence d'un plasmide codant pour des fonctions métaboliques, la variation de la taille de l'inoculum et la durée d'incubation, l'expression différente des caractères phénotypiques selon la température et la composition du milieu de culture.

Les *Pediococcus* ne sont présentés que par 2 souches à savoir la S36 et la S37, soit 5%. Elles sont microaérophiles avec des besoins nutritionnels complexes. Elles sont homofermentaires, poussant à 4% NaCl, avec une croissance à 10°C et ne résistant pas à 63°C pendant 30 minutes. Les S36 et S37 possèdent l'ADH. D'autres espèces sont dépourvues de cette enzyme et poussent à un pH de 4.6. La souche S36 a produit de l'acétoïne alors que la S37 n'a pas cette propriété, donc il s'agit de 02 espèces différentes.

Les *Streptococcus* sont présentées par 10 souches (25%). Elles sont Gram positif et se présentent généralement sous forme de coques en chainettes. Elles ne présentent pas une croissance sur le lait de Sherman et avec une croissance à 37°C. Elles sont homofermentaires et toutes poussent à 45°C (sauf la S17), résistent à 63°C et avec un test d'esculine positif.

Etude comparative

Les isolats prélevés durant la saison hivernale sont constitués de 65% de bactéries lactiques contre 33% pour le printemps. Par ailleurs et quelque soit la saison, de grandes variations sont constatées d'une exploitation à une autre. En effet, le nombre le plus élevé est de 35 isolats pour l'exploitation 01 durant l'hiver contre 16 isolats pour l'exploitation 03 durant le printemps. Le nombre le plus bas est de 23 isolats pour l'exploitation 03 durant l'hiver contre seulement 13 isolats pour exploitation 01 durant le printemps. Ces résultats, variable d'une saison à une autre et d'une exploitation à une autre, sont probablement dûs au niveau de contamination élevé des laits. Il est à noter que les laits les plus contaminés sont produits durant le printemps ce qui rend difficile l'isolement des bactéries lactiques durant cette saison. Ainsi le nombre de contaminant enregistré est plus élevé durant le printemps (66% des isolats n'ayant pas répondu aux tests préliminaires de sélection des bactéries lactiques) que durant l'hiver ou seulement 34% n'ont pas répondu aux tests préliminaires (tableau 14).

Tableau 14 : nombre des isolats isolés par exploitation durant les deux saisons

Exploitation	Saison	
	Hiver	Printemps
01	35 isolats	14 isolats
02	34 isolats	13 isolats
03	23 isolats	16 isolats
Total	92 isolats	43 isolats

Pour la forme des cellules, on a remarqué que durant le printemps les cellules se sont présentées sous forme de coques, en paires ou en chainettes. Alors qu'en hiver, 88% de ces cellules ont présenté cette forme. En revanche, la forme bacille est totalement absente durant le printemps ; elle est de 12% de l'ensemble des cellules durant l'hiver (tableau 15). Ceci est probablement dû aux pratiques existantes au niveau des exploitations durant l'hiver. Nos résultats sont en accord avec ceux de Bouton et al. (2000) qui avaient confirmé que les bacilles sont 4 fois présents en hiver qu'en d'autres saisons.

De même, on a constaté que le genre *Lactobacillus* est présent uniquement en hiver avec absence totale durant le printemps. Les mêmes résultats ont été rapportés par plusieurs auteurs. Il ressort que la flore varie qualitativement et quantitativement d'une saison à une autre ; la flore psychrotrophe, lactocoques et les lactobacilles sont deux fois plus élevés en hiver qu'en été. Ces variations peuvent être expliquées par les pratiques d'élevages, notamment l'utilisation du foin (distribution, refus...), et l'hygiène (propreté des sols, nature des revêtements) (Normand et al., 2007).

Tableau 15 : forme des bactéries isolées par saison

Exploitation	Saison	
	Hiver	Printemps
01	13% bacilles / 87% coques	100% coques
02	17% bacilles / 83% coques	100% coques
03	13% bacilles / 87% coques	100% coques
Total	10% bacilles / 90% coques	100% coques

Le genre dominant durant l'hiver et au niveau de toutes les exploitations est *Lactococcus*. Ceci est en relation avec les pratiques de production ainsi qu'avec le climat notamment la température ambiante. Des résultats similaires ont été obtenus par Demasures et Gueguen (1997) qui avaient révélé que les lactocoques étaient présents en hiver qu'en d'autres saisons. Par contre, durant le printemps les entérocoques dominent les autres espèces avec un taux de présence de 35% contre 17% durant l'hiver. Ceci est dû aux conditions d'hygiène médiocres qui ont été enregistrées durant le printemps. L'origine fécale des entérocoques peut aussi expliquer cette dominance.

On a constaté aussi que les autres genres sont présents durant les deux saisons mais leur présence est plus dense en hiver qu'en printemps ; les pédiocoques et les streptocoques sont présentés par 14 et 13 souches respectivement durant l'hiver alors qu'en printemps elles sont présentées qu'avec seulement 02 et 10 souches respectivement. Ces observations signifient probablement que les laits de l'hiver sont plus riches en flore d'intérêt technologique que les laits de printemps. Le tableau 16 récapitule les souches identifiées.

Tableau 16 : le bilan des souches identifiées durant les deux saisons.

Exploitation	Saison	
	Hiver	Printemps
01	<i>Enterococcus</i> (06) <i>Pediococcus</i> (07) <i>Leuconostoc</i> (04) <i>Lactococcus</i> (08) <i>Streptococcus</i> (06) <i>Lactobacillus</i> (04)	<i>Enterococcus</i> (04) <i>Pediococcus</i> (00) <i>Leuconostoc</i> (02) <i>Lactococcus</i> (03) <i>Streptococcus</i> (04) <i>Lactobacillus</i> (00)
02	<i>Enterococcus</i> (05) <i>Pediococcus</i> (03) <i>Leuconostoc</i> (03) <i>Lactococcus</i> (12) <i>Streptococcus</i> (06) <i>Lactobacillus</i> (05)	<i>Enterococcus</i> (05) <i>Pediococcus</i> (02) <i>Leuconostoc</i> (02) <i>Lactococcus</i> (01) <i>Streptococcus</i> (03) <i>Lactobacillus</i> (00)
03	<i>Enterococcus</i> (05) <i>Pediococcus</i> (03) <i>Leuconostoc</i> (01) <i>Lactococcus</i> (11) <i>Streptococcus</i> (01) <i>Lactobacillus</i> (02)	<i>Enterococcus</i> (05) <i>Pediococcus</i> (00) <i>Leuconostoc</i> (02) <i>Lactococcus</i> (04) <i>Streptococcus</i> (03) <i>Lactobacillus</i> (00)
Total	<i>Enterococcus</i> (16) <i>Pediococcus</i> (14) <i>Leuconostoc</i> (08) <i>Lactococcus</i> (30) <i>Streptococcus</i> (13) <i>Lactobacillus</i> (11)	<i>Enterococcus</i> (14) <i>Pediococcus</i> (02) <i>Leuconostoc</i> (06) <i>Lactococcus</i> (08) <i>Streptococcus</i> (10) <i>Lactobacillus</i> (00)

Conclusion

Les laits algériens pourraient constituer une source intéressante d'isolement de bactéries lactiques pourvus de propriétés industrielles importantes.

L'identification phénotypique des bactéries a permis d'identifier un nombre de souches appartenant à cinq groupes bactériens, avec une dominance des lactocoques durant l'hiver et les entérocoques durant le printemps.

Les résultats obtenus ont montré que la diversité des laits en flore d'intérêt technologique se diffère d'une saison à une autre et d'une exploitation à une autre. Ainsi, la diversité des laits

produits traduit la diversité des objectifs de production et la diversité des pratiques des éleveurs, ainsi que l'hétérogénéité existant au niveau de la maîtrise des producteurs. A cet effet, il est fort intéressant de définir à travers d'autres études qui doivent apporter des connaissances complémentaires, les leviers d'actions dans les élevages qui permettront d'enrichir les laits en flore d'intérêt technologique tout en garantissant leur qualité hygiénique et sanitaire.

Des alternatives peuvent être proposées pour ce travail à savoir :

- L'identification des espèces et des sous espèces,
- L'identification des souches isolées par des voies moléculaire,
- Et la généralisation de l'étude sur toute l'année afin d'avoir une vision plus claire sur la cinétique de la flore lactique.

Adrian J., Potus J. et Frangne R., 2004. La science alimentaire de A à Z, 2^{ème} édition, Tec et Doc, Lavoisier : 79 ; 477 pages.

Afnor., 1985. Contrôle de la qualité des produits laitiers –Analyses physiques et chimiques, 3^{ème} édition : 321 pages.

Amiot J., Fournier S., Lebeuf Y., Paquin P., Simpson R et Turgeon H., 2002. Composition, propriétés physicochimiques, valeur nutritive, qualité technologique et techniques d'analyse du lait In VIGNOLA C.L, Science et technologie du lait – Transformation du lait, École polytechnique de Montréal, ISBN:3-25-29 : 600 pages.

Ammor M.Salim, Tauveron Grégoire, Dufour Eric, Chevallier Isabelle, 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., 17:454-461.

Avril Det Denis M., 1992. Biopreservation by lactic acid bacteria .Antonie leeuwenhoek. j.70 : 331-345.

Bylund G., (1995) Dairy processing handbook-Tetra pak processing systems AB S-221 86 , Lund ,Sweden : 18- 23-381(436 pages).

Brunner J., (1981) Cow milk proteins: twenty five years of progress. J dairy Sci, 1981,64 : 1038-1054. In POUGHEON S ., Contribution a l'étude des variations de la composition du lait et ses conséquences en technologie laitière thèse pour obtenir le grade de docteur vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire Toulouse, France: 31(102 pages).

Badis A., Guetrani D., Moussa-Boujemaa B., Henni D.E., Tornadijo M.E. et Kihal M., (2004). Identification of cultivable of lactic acid bacteria isolated from Algerian raw goat's milk and evaluation of their technological properties. Food Microbiol. 3: 72-78.

Badis, A., Laouabdia-Sellami, N., Guetarni, D., Kihal, M., 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.

Bourgeois C.M., Mescle J.F. et Zucca J.J (1996). Microbiologie alimentaire aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments. Ed.Tec. et Doc. Lavoisier, vol(1), 174p

Brul S., Coote P., 1999. Preservative agents in foods: Mode of action and microbial resistance mechanisms. Int. J. Food. Microbiol., 50(1-2):1-17.

Bourgeois C.M et Larpent J.P (1996). Microbiologie alimentaire T2 ; aliments fermentés et fermentation alimentaire . Ed Tec et doc , 523p

Carr p, Geman H, Madan D and yor M., (2002). The fine structure of asset returns: an empirical investigation. J. Business 75 305–32

Cniel. 2006. Produit laitier. Maison de lait.

Chye, F.Y., Abdullah, A. and Ayob, M.K. (2004). Bacteriological quality and safety of raw milk in Malaysia. Food Microbiol, 21: 535–541.

- CIPCLait Commission Interprofessionnelle des Pratiques Contractuelles (2011).** Avis relatif à la définition et aux méthodes d'analyse de l'acidité du lait n°2011-02
- Cocaigne-Bousquet M. Garrigues C., Loubière P., Lindley N.D.1996.**Physiology of pyruvate metabolism in *Lactococcus lactis*. *Antonie van Leeuw.*70 :253-267
- Cayot P. et Lorient D. (1998).** Structures et Technofonctions des Protéines du Lait. Edition Tec et Doc Lavoisier. Paris.
- CapliceE.,Fitzgerald G.,1999.**Food fermentations :role of microorganisms in food productionand preservation.*Int.J.Food Microbiol.,*50(1-2):131-149.
- Cocaign-Bousquet M., Garrigues C., Loubière P., Lindley N.D. (1996)**Physiology of pyruvate metabolism in *Lactococcuslactis*. *Antonie van Leeuw.* 70: 253-267
- Dieng M. (2001).** Contribution à l'étude de la qualité microbiologique des laits caillés industriels commercialisés sur le marché Dakarois. Thèse Docteur vétérinaire, Université de Dakar Sénégal.
- Debry G., (2001)** Lait, nutrition et santé, Tec et Doc, Paris : 21 (566 pages)
- Desmazaud M ., et De Roissart H., 1994.** Métabolisme général des bactéries lactiques In : bactéries lactiques.De Roissart H., Luquet F-M., Tome 1, Loriga.P.169-207.
- Desmazaud M., 1983.**L'état des connaissances en matière de nutrition sur les bactéries lactiques. *Le Lait .*,63,286-310.
- Desmazaud M., 1998.** Bactéries lactiques et qualité des fromages . Lab . De recherche laitieres INRA .1-3 .
- Dellaglio, F., DeRoissart, H., Torriani, S., Curk, M. C., Janssens, D. (1994).** Caractéristiques généralesdes bactéries lactiques. DeRoissart, H. et Luquet, F. M., Loriga Uriage, France
- De Roissart, H. et Luquet, F.M. (1994).** Les bactéries lactiques. Uriage, Loriga, France, 1 : 1- 286
- Drouault, S. et Corthier, G. (2001).** Effets des bactéries lactiques ingérées avec des laits fermentés
- Dellaglio, F., De Roissart, H., Torriani, S., Curk, M. et Janssens, C. 1994.**Bactéries lactiques aspects fondamentaux et technologiques, 1 : 25-114.
- Daly C and Davis R, 1998.** The biotechnology of lactic acid bacteria with emphasis onapplications in food safety and human health. *Agri. food Sei. Finland,* 7, 251-264.
- Dortu, C. et Thonart, P. (2009).** Les bactériocines des bactéries lactiques : caractéristiques et intérêt pourla bioconservation des produits alimentaires. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ. ,* 13: 143-154.
- De.VystLuk,LeroyFrédéric,2007.**Bacteriocins From Lactic Acid Bacterie :Production,Purification,andFood Application.*J.Mol.Microbiol.Biotechnol.,*13:194-199.
- DESTOUET, JL .** Les protéines du lait : variations de leurs concentrations et applications. Thèse de doctorat vétérinaire, Toulouse, 1989.

Dicks L.M.T., Van vuuren H.J.J., (1987). Modification of the hot-tube method for the detection of carbon dioxide produced by heterofermentative *Lactobacillus* strains. *J. Microbiol. Meth.*, 6: 273-275.

Enjalbert F. Alimentation et composition du lait de vache. *Point Vét.* 1993, 25 (156) : 769-778.

El-Ziney, M.G., Uyttendaele, M., Debevere, J., Jakobsen, M. (1998). Characterization of growth and metabolite production of *Lb. reuteri* during glucose/glycerol cofermentation in batch and continuous cultures. *Biotechnol. Lett.* 20(10), 913-916.

Fleming, H.R., Etschell, G.L., Costilow, R.N. 1985. Microbial inhibition by isolate of *Pediococcus* from cucumber brine. *Appl and Microbiology*, 30:104-1042.

Gaucheron F., (2004) Minéraux et produits laitiers, Tec et Doc, Lavoisier:783 (922 pages).

Goursaud J., (1985). Composition et propriétés physico-chimiques. Dans *Laits et produits laitiers vache, brebis, chèvre*. Tome 1 : Les laits de la mamelle à la laitière. Luquet F.M.. Edition Tec et Doc Lavoisier, Paris.

Guiraud, J.P. 1998. Microbiologie des principaux produits alimentaires, Microbiologie alimentaire. Ed ©Dunod, Paris.

Goy D., Häni JP. , Wechsler D. et Jakob E. (2005). Valeur de la teneur en caséine du lait de fromagerie. Edition, Agroscope Liebfeld-Posieux. Groupe de discussions Gruyère N°27f .

Gasson M.J., 1993. Progress and potential in the biotechnology of lactic acid bacteria. *FEMS Microbiol Rev.*, 12, 3-20.

Gonzalez, et al., 2007. In Boudjani, W. 2009 . Action de la flore lactique sur les bactéries contamination. Mémoire d'ingénieur, Institut de biologie, Université de Tlemcen. 73 pages.

Gevers, D. (2002). Tetracycline resistance in lactic acid bacteria isolated from fermented dry sausages. Thèse Doc. Univ. Gent. Fac. Sci. Gent. Belgium

Gonzalez L., Sandoval H., Sacristan N., Castro J.M., Fresno J.M., Tornadijo M.E., 2007. Identification of lactic Acid Bacteria isolated from Genestoso cheese throughout ripening and study of their antimicrobial activity. *Food control.*, 18:716-722

Gurira O.Z., Buys E.M, 2005. Characterization and antimicrobial activity of *Pediococcus* species isolated from South African farm – style cheese. *Food Microbiology.*, 22:159-168

Goursaud J., (1985). Composition et propriétés physico-chimiques. Dans *Laits et produits laitiers vache, brebis, chèvre*. Tome 1 : Les laits de la mamelle à la laitière. Luquet F.M.. Edition Tec et Doc Lavoisier, Paris.

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

Guiraud J P (2012). Microbiologie alimentaire. Edition DUNOD. P89.

Guessas B. 2007. Les potentialités métabolique des bactéries lactiques isolées du lait cru de chèvre dans le bio-contrôle de *Staphylococcus aureus*. Thèse de doctorat d'Etat Université d'Oran 148p.

- Hoden P., et COULON H., (1991)** Composition chimique du lait, <http://www.2.vet.lyon.fr>.
- Huyghebaert. 2006.** Stratégies des produits à base de lait cru. Bruxelles.
- Harding, F, Marschall, KR .** Terminology for milk protein fractions. International Dairy Federation Bull., 1998, 329, 30-31.
- Holzappel, W.H., Haberer, P., Geisen, R., Björkroth, J. and Schillinger, U. (2001).** Taxonomy and important features of probiotic microorganisms in food and nutrition. Am. J. Clin. Nutr, 73(suppl): 365S–73S.
- H., Sitohy, M., Popov, Y. G., Kuliev, A. A., Mozzi, F., Chobert, J. M., Haertlé, T. (2011).** Potential use of lactic bacteria for reduction of allergenicity and for longer conservation of fermented foods. Trends in Food Sci. Technol. 22: 509-516
- Jensen R., (1995)** Handbook of milk composition-General description of milks, Academic Press, Inc: 3 (919 pages).
- Jensen R., (1995)** Handbook of milk composition-General description of milks, Academic Press, Inc: 3 (919 pages).
- Jeantet R., Croguennec T., Schuck P. et Brule G., (2007)** Science des aliments-technologie des produits alimentaires tec et doc, Lavoisier : 17 (456 pages).
- Jeantet R., Croguennec T., Mahaut M., Schuck P. et Brule G., (2008)** Les produits laitiers ,2ème édition, Tec et Doc, Lavoisier: 1-3-13-14-17 (185 pages). 69-STOLL W., (2003)
- Jeantet R., Croguennec T., Schuck P. et Brule G., (2007)** Science des aliments-technologie des produits alimentaires tec et doc, Lavoisier : 17 (456 pages).
- Jean C., et dijon C., (1993)** Au fil du lait, ISBN 2-86621-172-3.
- Kulshrestha, D. C. et Marth ,E. H. (1974)** - Some volatile and non-volatile compounds associated with milk and their effects on certain bacteria. A review. J. Milk Food Technol., 38, 604-620.
- Klaenhammer.T.R., Fremaux., Hechard Y., 1994.** Activité antimicrobienne des bactéries lactiques In bactéries lactiques, De Roissart H., Luquet
- Kandler, O., Weiss, N., (1986).** Genus Lactobacillus. In : Bergey's Manual of Systematic Bacteriology., vol 2. P.H.A, Sneath., N.S, Mair., Sharpe, M.E., Holt, J.G (Ed). Williams and Wilkins, Baltimore, M.D. M.Tome 1, Lorica. pp : 353-366.
- Klein C., Kaletta , C., and Entian , K., D., 1993.** Biosynthesis of the lantibiotics subtilin regulated by a histidine Kinase: response regulator system. Appl Environ Microbiol. 59: 296-303
- König, H. et Fröhlich, J. (2009).** Biology of microorganisms on grapes, in must and in wine. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg
- Legrand P.,** Intérêt nutritionnel des principaux acides gras des lipides du lait, Cholé-Doc, Centre de Recherche et d'Informations Nutritionnelles, 105, janv-fev 2008

- Mayo B., Aleksanzder – piekarczyk T.,Fernandz M., Alvarez – Martin P. et Bardowski J., 2010.** Updates in the Metabolism of Acid Bacteria biotechnology of lactic Acid Bacteria : Novel Applications Blackwell publishing(3-34)
- Laurent, S. (1998).** Manuel de bactériologie alimentaire. Poly technica Paris. 307 pages
- Laurent, S. 1998.** Manuel de bactériologie alimentaire. Poly technica Paris.307 pages.
- Leveau J-Y.,BouxMrielle,DeRoissart H.,1991.** La flore lactique In Technique d’analyse et de control dans les l’industries agroalimentaire.Bourgeois C.M.,Leveau.J-Y.Tec&Doc,Lavoisier,pp :152-186.
- Liu S., 2003.**Practical implications of lactate and pyruvate metabolism by lactic acid bacteria in food and beverage fermentaions.Int.J.Food.Microbiol.83 (2):115-131.
- Lelliott R .A et Stead D.E , 1987.** Methode for diagnosis of bacterial diseases of plants Blacwell Scientific publications volume2.Oxford(GB).
- Moeller ,V. 1955 .** Simplified tests of some amino acid decarboxylases and for the arginine dihydrolase system. Acta. Pathol. Microbiol. Scand., 36: 158-172.
- Mathieu J. (1998).** Initiation à la physicochimie du lait. Guides Technologiques des IAA. Edition Lavoisier Tec et Doc, Paris.
- Mathieu J.,(1999)**Initiation à la physicochimie du lait, Tec et Doc, Lavoisier, Paris: 3-190 (220 pages).
- Marchin S. (2007).** Dynamique de la micelle de caséines : caractérisation structurale. Thèse INRA/ Agrocampus Rennes.
- Mathot A.G.,Beliard E., Thnault D.,1996.**Propriétés antimicrobiennes des bactéries lactiques In Microbiologie alimentaire: Aliments fermentés et fermentation alimentaire.Bourgeois C.M., LarpentJ-P.Tome 2,Tec &Doc,Lavoisier,pp :432-452.
- Mkrtychyan, H., Gibbons, S., Heidelberger, S., Zloh, M., 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.
- Marth, E. H. et Steele, J. L. (2001).** Applied dairy microbiology. Marcel Dekker, Inc.,New York.
- Makhloufi .K. M. (2012)** Caractérisation d’une bactériocine produite par une bactérie lactique Leuconostocpseudomesenteroides isolée du boza. Thèse de doctorat de l’université pierre et marie curie. Spécialité : microbiologie, biochimie (école doctorale iviv)
- Novel G., 1993.** Les bactéries lactiques. In : LeveaulY.,Bouix M. (éds). Microbiologieindustrielle. Les micro-organismes d’intérêt industriel. Paris: Tec & Doc, pp.169-374.
- Piard JC. , Desmazeaud M. (1991).**Inhibitions‘ factors produced by lactic acid bacteria: Bacteriocins and other antibacterial substances. Le lait, 72, 113-142.

Prescott et al (2003). microbiologie.2ème Edition française. Traduction de la 5ème Edition américaine par Claire-Michelle-Bacq-Calberg et Jean Dussart. Edition de Boeck

Pringsulaka , O., Thongam, N., Suwannasai, N., Atthakor, W., Pothivejkul, K., Rangsiruji, A.(2011). Partial characterization of bacteriocins produced by lactic acid bacteria isolated from Thai-fermented meat and fish products. Food Control , 23: 547-551.

Rosset, R. 2001. Etude du cas particulier de *Listeria monocytogenes*, Croissance microbienne et froid.

REMOND, B. Influence du stade de lactation et de l'âge sur la composition du lait. In : Le lait, matière première de l'industrie laitière. INRA publication, Versailles. 1987, 151- 159.

Ramet J.P. (1985). La fromagerie et les variétés de fromages du bassin méditerranéen. Collection FAO Alimentation et nutrition n°48.

Stoll W., (2003)Vaches laitières -L'alimentation influence la composition du lait , vol 9 , [http:// www.db-admin-ch/ fr/ publication en / docs/ 2612.pdf](http://www.db-admin.ch/fr/publication/en/docs/2612.pdf).

Salminen, S., Wright, A. V., Ouwehand, A. (2004). Lactic acid bacteria. microbiological and functional aspects. Marcel Dekker. Inc., U.S.A.

Siegmund, H., Rechinger, KB.,Jakobsen, M., (2000). Dynamic changes of intracellular pH in individual lactic acid bacterium cells in response to a rapid drop in extracellular pH. Appl Environ Microbiol, 66: 2330-2335.

Singleton (1984). Abrégés de bactériologie .Ed. Masson ,Paris :353-364.

Soomro A. H., Masud T. and AnwaarKiran, 2002. Role of lactic acid bacteria (LAB) in food preservation and Human health. A Review. Pakistan Journal of Nutrition, 1(1), 2024.

Thompson J., Gentry-Weeks C.R. (1994) Métabolisme des sucres par les bactéries lactiques. Dans : Bactéries lactiques, Vol. I, p 239-290 (Editeurs : De Roissart H., Luquet

Thapon J.L., (2005) Science et technologie du lait, Agrocampus-Rennes, France: 14(77 pages).

Uehara, S., Monden, K., Nomoto, K., Seno, Y., Kariyama, R., 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

Vollenweider, S. (2004). 3-hydroxypropionaldehyde: applications and perspectives of biotechnological production. Appl. Microbiol. Biotech. 64, 16-27.

Vimahieu. 2005. Composition du lait .Edition Université libre de Bruxelles.

Vignola C.L., (2002) Science et technologie du lait –Transformation du lait, École polytechnique de Montréal, ISBN: 29-34 (600 pages).

Vierling E.(2008). Aliments et boissons filières et produits. 3ème édition Biosciences et techniques. Paris. pp :15-16.

Vignola C. L .,2002. Science et technologie du : Transformation du lait – Montréal :presse internationale polytechnique .60

Vignola C.L., (2002) Science et technologie du lait –Transformation du lait, École polytechnique de Montréal, ISBN: 29-34 (600 pages).

Yateem, A., Balba, M. T., Al-Surrayai, T., Al-Mutairi, B., Al-Daher, R. (2008). Isolation of lactic acidbacteria with probiotic potential from camel milk. Int. J. Dairy Sci.3: 194-199.

WheaterM.R.,Hirsch H.,Mattick A.T.R.,1951.Possible identity of “lactobacilline with hydrogen peroxide produced by *lactobacilli*. Nature .,170:623.

Zalan Z.,Brath A., Halasz A.,2005.Influence of growth medium on hydrogen peroxide and bacteriocin production of lactobacillus strains.Food Technol.Biotech.,43(3):219-225.

4 ?- Croissance à 10, 37, 45C° et la thermorésistance

Echantillon	souches	10°	37°	45°	Résist 63°
01	S01	+	+	-	-
	S02	+	+	-	-
	S03	+	-	-	-
	S04	+	+	+	+
	S05	+	+	+	+
02	S06	±	+	+	±
	S07	-	+	+	±
	S08	±	+	+	+
03	S09	+	+	+	±
	S10	±	+	+	-
	S11	±	+	+	-
	S12	+	+	+	+
	S13				
04	S14	+	+	+	+
	S15	+	+	-	-
	S16				
	S17	-	v	v	+

4 ?- Croissance à 10, 37, 45C° et la thermorésistance (suite)

Echantillon	souches	10°	37°	45°	Résist 63°
05	S18	±	-	+	ND
	S19	+	±	+	-
	S20	+	+	-	-
	S21	+	±	+	+
	S22	+	+	-	-
06	S23	+	+	-	-
	S24	±	-	+	±
	S25	+	±	+	+
	S26	+	-	+	+
	S27				
	S28	+	+	-	-
	S29	+	-	-	-
07	S30	+	-	+	±
	S31	+	-	-	+
	S32	+	+	+	+
	S33	+	+	+	+
	S34	+	+	±	+

4 ?- Croissance à 10, 37, 45C° et la thermorésistance (suite)

Echantillon	souches	10°	37°	45°	Résist 63°
08	S35	+	+	+	±
	S36	+	+	+	-
	S37	±	-	-	-
	S38	+	+	+	+
	S39	+	+	-	-
09	S40	±	+	-	-
	S41	+	+	+	-
	S42	+	+	+	+
	S43	-	+	+	±

6 ? - Test de NaCl 4% et 6.5% et de pH 9.6

Echantillon	souches	NaCl 4%	NaCl 6.5%	Ph 4.6	Ph 9.6
01	S01	+	V	.	ND
	S02	-	-	.	-
	S03	.	-	.	ND
	S04	.	+	.	+
	S05	.	-	.	V
02	S06	.	+	.	+
	S07	.	-	ND	V
	S08	.	+	.	+
03	S09	.	+	.	+
	S10	-	-	ND	ND
	S11	-	-	ND	ND
	S12	.	-	.	-
	S13				
04	S14	.	+	ND	+
	S15	.	+	.	-
	S16				
	S17	.	-	ND	V

6 ? - Test de NaCl 4% et 6.5% et de pH 9.6 (suite)

Echantillon	souches	NaCl 4%	NaCl 6.5%	pH 4.6	pH 9.6
05	S18	.	+	ND	+
	S19	.	+	.	+
	S20	.	ND	-	-
	S21	-	-	ND	-
	S22	ND	-	.	+
06	S23	.	V	.	ND
	S24	.	-	.	V
	S25	+	+	.	ND
	S26	ND	-	.	+
	S27				
	S28	+	-	.	ND
	S29	-	+	ND	ND
07	S30	+	+	.	ND
	S31	-	-	.	ND
	S32	ND	+	ND	+
	S33	ND	+	ND	V
	S34	.	-	ND	V

6 ? - Test de NaCl 4% et 6.5% et de pH 9.6 (suite)

Echantillon	souches	NaCl 4%	NaCl 6.5%	Ph 4.6	Ph 9.6
08	S35	.	+	.	ND
	S36	+	V	+	V
	S37	+	+	+	-
	S38	-	-	.	-
	S39	-	+	ND	ND
09	S40	-	+	ND	ND
	S41	+	+	.	+
	S42	.	-	ND	V
	S43	ND	+	ND	+

7 ? - Test de lait de Sherman

Echantillon	souches	L.Shr 1%	L.Shr 3%
01	S01	+	-
	S02	ND	ND
	S03		-
	S04	+	+
	S05	-	-
02	S06	+	+
	S07	-	-
	S08	+	+
03	S09	+	+
	S10	ND	ND
	S11	ND	ND
	S12	-	-
	S13		
04	S14	+	+
	S15	-	-
	S16		
	S17	-	-

7 ? - Test de lait de Sherman (suite)

Echantillon	souches	L.Shr 1%	L.Shr 3%
05	S18	+	+
	S19	+	+
	S20	-	-
	S21	-	-
	S22	+	-
06	S23		-
	S24	-	-
	S25	+	+
	S26	+	+
	S27		
	S28	-	-
	S29	+	+
07	S30	ND	ND
	S31	ND	-
	S32	+	+
	S33	-	-
	S34	-	-

7 ? - Test de lait de Sherman (suite)

Echantillon	souches	L.Shr 1%	L.Shr 3%
08	S35	+	+
	S36	+	-
	S37	+	-
	S38	-	-
	S39	+	-
09	S40	+	-
	S41	+	+
	S42	-	-
	S43	+	+

8 ? - Recherche de l'arginine hydrolase (ADH)

Echantillon	souches	ADH
01	S01	+
	S02	-
	S03	-
	S04	+
	S05	-
02	S06	+
	S07	-
	S08	+
03	S09	-
	S10	-
	S11	-
	S12	V
	S13	
04	S14	+
	S15	-
	S16	
	S17	-

8 ? - Recherche de l'arginine hydrolase (ADH) (suite)

Echantillon	souches	ADH
05	S18	+
	S19	-
	S20	-
	S21	-
	S22	-
06	S23	+
	S24	-
	S25	+
	S26	+
	S27	
	S28	+
	S29	-
07	S30	-
	S31	-
	S32	+
	S33	-
	S34	+

8 ? - Recherche de l'arginine hydrolase (ADH) (suite)

Echantillon	souches	ADH
08	S35	+
	S36	+
	S37	+
	S38	V
	S39	-
09	S40	-
	S41	-
	S42	+
	S43	+

10 ? - Esculine

Echantillon	souches	Esculine
01	S01	+
	S02	+
	S03	-
	S04	+
	S05	+
02	S06	+
	S07	+
	S08	+
03	S09	+
	S10	+
	S11	+
	S12	-
	S13	
04	S14	+
	S15	+
	S16	
	S17	+

10 ? – Esculine (suite)

Echantillon	souches	Esculine
05	S18	+
	S19	+
	S20	+
	S21	-
	S22	+
06	S23	-
	S24	+
	S25	+
	S26	+
	S27	
	S28	+
	S29	+
07	S30	+
	S31	+
	S32	+
	S33	+
	S34	+

10 ? – Esculine (suite)

Echantillon	souches	Esculine
08	S35	+
	S36	+
	S37	-
	S38	-
	S39	+
09	S40	+
	S41	+
	S42	+
	S43	+

Sommaire

Remerciements	
Dédicaces	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Liste des abréviations	
Résumé (français)	1
Résumé (anglais)	2
Résumé (arabe)	3
Introduction	4
Première partie : synthèse bibliographique	5
Chapitre I- Données générales sur le lait	5
1- Définition du lait	5
2- Composition biochimique du lait	5
2-1- Eau	6
2 -2- Matière grasse	6
2-3- Protéines.....	8
2-3-1- Caséines.....	8
2-3-2- Protéines sériques.....	10
2-3-3- Variation de la teneur en matière protéique.....	11
2-4- Lactose.....	12
2-5-Minéraux.....	12
2-6- Vitamines.....	13
3 – Caractéristiques physico-chimiques du lait.....	13
3-1- La densité.....	14
3-2- L'acidité titrable ou Dornic.....	14
3-3- Le point de congélation.....	15
3-4- Le Ph.....	15
3-5- L'extrait sec total.....	15
3-6- L'extrait sec dégraissé.....	16
4- Microflore du lait.....	16

4-1- Les sources de contamination.....	16
4-2- La microflore contaminant.....	17
4-2-1- La flore pathogène.....	17
4-2-2- La flore d'altération.....	17
4-3- La flore originelle.....	17
4-4- Les principales activités des microorganismes dans le lait.....	18

Chapitre II- Bactéries lactiques

1 -Généralités.....	19
2 - Habitat des bactéries lactiques.....	19
3 - Classification des bactéries lactiques.....	19
3-1- <i>Lactobacille</i>	20
3-2- <i>Lactococcus</i>	21
3-3- <i>Stéptocoques</i>	21
3-4 - <i>Leuconostoc</i>	22
3-5- <i>Pediococcus</i>	22
3-6- <i>Bifidobacterium</i>	23
4-Exigences nutritionnelles des bactéries lactiques.....	24
4-1- Exigences en vitamines.....	24
4-2- Exigences en azote.....	24
5- Voies fermentaires des bactéries lactiques.....	24
5-1- Voies homofermentaires.....	25
5-2- Voies hétérofermentaires.....	25
6- Utilisation et intérêt des bactéries lactiques.....	26
7- Métabolites bactériens à activité antagoniste.....	28
7-1- Les acides organiques.....	28
7-2- Le peroxyde d'hydrogène.....	29
7-3- Le dioxyde de carbone.....	29
7-4- Le diacétyle.....	29
7-5- Acétaldéhyde.....	30
7-6- Reutéline.....	30

Deuxième partie : expérimentation

Chapitre I - Matériels et méthodes

1. Objectifs.....	31
2- Présentation de la zone d'étude.....	31
3- Origine des données et des isolats étudiés.....	31
4- Préparation des souches.....	32
5- Identification des isolats.....	32
5-1- Critères morphologiques.....	32
5-1-1- Description macroscopique.....	32
5-1-2- Observation microscopique.....	32
5-1-3- Test de mobilité.....	32
5-2- Critères physiologiques et biochimiques.....	32
5-2-1- Test de la catalase.....	32
5-2-2- Croissance à différentes températures.....	33
5-2-3- Type fermentaire.....	33
5-2-4- Croissance dans des conditions hostiles.....	33
5-2-4-1- Culture à pH 9.6 et NaCl 4% et 6.5%.....	33
5-2-4-2- Croissance sur le lait Bleu de Sherman (1937).....	33
5-2-5-3- Thermorésistance.....	34
5-2-6- Etude du métabolisme azoté (Détermination de l'arginine hydrolase).....	34
5-2-7- Hydrolyse de l'esculine.....	34
5-2-8- Production de composés aromatiques.....	34
6- Etude comparative.....	35
Chapitre II- Résultats et discussions.....	35
1 - Identification des isolats.....	36
2 - Critères morphologiques.....	36
3 - Critères physiologiques et biochimiques.....	36
3-1- Croissance à 10, 37, 45C° et la thermorésistance.....	37
3-2- Type fermentaire.....	38
3-3- Test de NaCl 4% et 6.5% et de pH 9.6.....	40
3-4- Test de lait de Sherman.....	41
3-5- Recherche de l'arginine hydrolase.....	42
3-6- Production de composés aromatiques.....	44
3-7- Esculine.....	46

Discussions.....	47
Etude comparative.....	50
Conclusion.....	53
Références bibliographiques	55
Annexes.....	62