



**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE**

UNIVERSITE ABDELHAMID BENBADIS – MOSTAGANEM

Faculté des sciences de la Nature et de la vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Microbiologie Appliquée

Mémoire présenté Par :

- OULD BEY Baya
- DAHMANE BOUNOUA Kawther Hayet

THEME:

Isolement et identification des bactéries lactiques à partir des produits laitiers traditionnels

Mme. CHOUGRANI Fadela	Professeur	Université de Mostaganem	Président
Mr. CHERIGUENE Abderrahim	Professeur	Université de Mostaganem	Encadreur
Mr. ZABOURI Younes	MAA	Université de Mostaganem	Examineur
Mlle. Bouchibane Malika	Doctorante	Université de Mostaganem	Co-encadreur

Année universitaire 2019/2020

Dédicace

On dédie ce modeste travail à nos très chers et précieux parents, frères et sœurs...

A notre chère copine qui nous a quitté SADOUKI Radia « الله يرحمها »

Remerciement

Avant tout propos, nos remerciements infinis sont adressés à Dieu le tout puissant.

Nos sincères remerciements s'adressent à notre encadreur Mr. CHERIGUENE Abderrahim pour son soutien, ses conseils et son encouragement continu, sa gentillesse et sa bonté.

On remercie Mme. CHOUGRANI Fadela qui a fait l'honneur de présider ce jury de soutenance.

Et on remercie également Mr. ZABOURI Younes d'avoir accepté d'examiner notre travail.

On remercie vivement Mr. DJIBAOUI Rachid, notre chef de parcours pour son soutien et ses conseils constructifs tout au long de notre parcours, sa gentillesse et sa générosité.

On remercie particulièrement tous nos enseignants, chacun par son nom qui depuis notre entrée à l'université ont contribué au savoir auquel on a acquis, on leur exprime notre gratitude la plus sincère, ainsi qu'à tout le personnel du laboratoire Microbiologie et Biologie Végétale qu'on a commencé avec eux avant l'épidémie du Covid-19. On n'en dressera pas la liste, de peur d'en oublier, mais ils se reconnaîtront certainement.

TABLE DES MATIERES

Index des abréviations

Index des figures

Index des tableaux

Résumé

Abstrat

ملخص

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

Introduction.....01

CHAPITRE I : LES PRODUITS LAITIERS

1- Définition.....	05
1-1 Lait fermenté.....	05
1-1-1 L'ben.....	05
1-1-2 Rayeb.....	06
1-2 Fromage.....	06
1-2-1 J'ben.....	07
1-3 Zebda (beurre frais).....	07
1-4 D'han (beurre traditionnel).....	08
1-5 Yaourt.....	08

CHAPITRE II : LES BACTERIES LACTIQUES

I- Généralité.....	10
1- Caractéristiques des bactéries lactiques.....	11
1-1 Voix de fermentation.....	11
1-1-1 Les bactéries lactiques homofermentaires.....	11
1-1-2 Les bactéries lactiques hétérofermentaires.....	11
2- Origine et habitat.....	12
3- Taxonomie.....	13
4- Classification.....	16

5-1 Méthode classique.....	17
5- Les voies métaboliques des bactéries lactiques.....	17
6-1 La glycolyse (métabolisme des sucres).....	17
6-2 La protéolyse (métabolisme des protéines).....	18
6-3 La lipolyse (métabolisme des acides gras).....	19

CHAPITRE III : LES PROPRIETES TECHNOLOGIQUES DES BACTERIES LACTIQUES

1- L'intérêt des bactéries lactiques.....	21
1-1 Dans le domaine alimentaire.....	21
1-1-1 Pouvoir texturant.....	21
1-1-2 Pouvoir aromatisant.....	22
1-1-3 Pouvoir acidifiant.....	22
1-1-4 Pouvoir protéolytique.....	23
1-1-5 Pouvoir lipolytique.....	23
1-1-6 Pouvoir antimicrobien.....	24
1-2 Dans le domaine thérapeutique.....	24

PARTIE EXPERIMENTALE

• Echantillon « L'ben ».....	28
I- Matériels et méthodes.....	28
1- Isolement des bactéries lactiques.....	28
2- Identification des bactéries lactiques.....	28
3- Caractérisation technologique.....	29
3-1 Mesure de l'acidité.....	29
3-2 Mesure de l'activité protéolytique.....	29
II- Résultats et discussions.....	29
• Echantillon « Rayeb ».....	34
I- Matériels et méthodes.....	34
1- Comptage de la population microbienne.....	34

2-	Isolement des bactéries lactiques.....	34
3-	Identification des bactéries lactiques.....	34
3-1	Caractérisations préliminaires des bactéries lactiques.....	34
3-2	Test de catalase.....	35
3-3	Production de CO ₂ à partir du glucose.....	35
3-4	Système API.....	35
4-	Tests de performance.....	35
4-1	Production d'acide.....	35
4-2	Activité antibactérienne.....	35
II-	Résultats et discussions.....	36
•	Echantillon « J'ben ».....	44
I-	Matériels et méthodes.....	44
1-	Origine des échantillons de J'ben.....	44
2-	Méthodes d'appréciation de la flore lactique du J'ben	44
3-	Analyses microbiologiques.....	44
4-	Pré-identification.....	45
5-	Caractérisation biochimique et identification phénotypique.....	45
6-	Etudes de quelques aptitudes technologiques des isolats.....	45
6-1	Activité antimicrobienne.....	45
6-2	Activité protéolytique.....	45
II-	Résultats et discussions.....	46
III-	Conclusion générale.....	53
	Conclusion et perspectives.....	54

Références bibliographiques

Annexe

Liste des principales Abréviations :

GRAS : Generally Recognized As Safe (généralement considérées comme sûres).

API: Analytical Profile Index.

ADH : Arginine dihydrolase.

DO : Densité optique.

MI7: Milieu complexe à base d'extrait de viande, de peptone et d'extrait de levure.

MRS : de Man, Rogosa et Scharpe.

GN : gélose nutritive.

VP : Voges-Proskauer.

NaCl: Chlorure de sodium.

NaOH : Hydroxyde de sodium.

pH : Potentiel hydrogène.

PA : Activité protéolytique.

UFC/g : Unité formant colonies par gramme.

Index des figures :

Figure 01	Schéma de fabrication des produits laitiers traditionnels.	08
Figure 02	Voies métaboliques homofermentaire, hétérofermentaire de la dégradation du glucose.	12
Figure 03	Dendrogramme illustrant les relations phylogénétiques de l'ordre « <i>Lactobacillales</i> » dans la classe des « <i>Bacilli</i> ».	16
Figure 04	Principales voies assurant le transport et le métabolisme du glucose par les bactéries lactiques.	18
Figure 05	Protéolyse du lait par les bactéries lactiques.	19
Figure 06	Principales voies de la lipolyse.	19
Figure 07	La répartition en pourcentage des souches isolées à partir des échantillons de L'ben Algérien.	30
Figure 08	Distribution de LAB au niveau du genre isolé de lait Rayeb traditionnel en Egypte.	38
Figure 09	Activité antibactérienne des souches isolées.	51
Figure 10	Activité protéolytique des souches de bactéries lactiques isolées.	52

Index des tableaux :

Tableau 01	Groupement des souches représentatives de LAB isolées à partir de lait Rayeb traditionnel utilisant des différents milieux.	37
Tableau 02	Caractérisation morphologique et physiologique de LAB isolée du Rayeb traditionnel.	39
Tableau 03	Résultats API de souches isolées.	41
Tableau 04	Les activités technologiques des isolats du lait Rayeb traditionnel (Production d'acide et activité antibactérienne).	42
Tableau 05	Incidence des bactéries lactiques dans les différents échantillons de J'ben.	46
Tableau 06	Les milieux utilisés et les conditions d'incubation pour l'isolement des bactéries lactiques.	48
Tableau 07	Caractères morphologiques et physiologiques des genres présumés des bactéries lactiques isolées.	49
Tableau 08	Profil physiologique et biochimique des souches lactiques isolées.	50
Tableau 09	Activité antibactérienne des souches isolées sur des germes pathogènes.	51
Tableau 10	Activité protéolytique des souches de bactéries lactiques isolées.	52

Résumé

En Algérie, comme dans les différents autres pays du monde on retrouve des produits laitiers indigènes dont le mode de fabrication découle de l'héritage culturel de la population.

Ces produits sont issus de la transformation de lait dans le but de prolonger sa durée de conservation. Parmi les préparations lactières traditionnelles algériennes : L'ben, Rayeb, J'ben, D'han et Yaourt.

Les bactéries lactiques font naturellement partie de notre environnement et notre alimentation. On reconnaît depuis longtemps, aux bactéries lactiques la propriété de produire des substances antimicrobiennes. En effet, les bactéries lactiques ont la particularité de synthétiser des substances inhibitrices.

L'objectif de notre recherche consiste à identifier des bactéries lactiques isolées à partir des produits laitiers du détroit, et en étudiant les différentes propriétés technologiques.

L'étude des caractéristiques macroscopique, microscopique, biochimique et physiologique (type fermentaire, fermentation des sucres, croissance à différentes températures et différents NaCl) a permis d'orienter l'identification vers les bactéries lactiques.

Les chercheurs ont isolé et purifié les souches de produits laitiers fermentés puis étudié chez ces isolats quelques aptitudes technologiques afin d'évaluer leurs capacités pour un éventuel usage industriel. Alors, ils se sont basés particulièrement à l'évaluation de l'activité protéolytique mise en évidence sur milieu GN au lait écrémé, pouvoir aromatisant et pouvoir acidifiant.

Les résultats de l'évaluation des aptitudes technologiques ont montré ces activités d'intérêts et sont exprimées d'une manière très hétérogène. L'ensemble des souches présentent un pouvoir acidifiant, protéolytique et antimicrobien. Ces derniers constituent un facteur essentiel dans les transformations lactières.

Les mots clés :

Produits laitiers fermentés, bactéries lactiques, caractères technologiques, substances antimicrobiennes, protéolyse, pouvoir acidifiant.

Abstrat

In Algeria, as in the various other countries of the world, there are indigenous dairy products whose method of production derives from the cultural heritage of the population.

These products come from the transformation of milk in order to extend its shelf life. Among the traditional Algerian dairy preparations: L'ben, Rayeb, J'ben, D'han and Yogurt.

Lactic acid bacteria are a natural part of our environment and our diet. Lactic acid bacteria have long been recognized for the property of producing antimicrobial substances. Indeed, lactic acid bacteria have the distinction of synthesizing inhibitory substances.

The objective of our research is to identify lactic acid bacteria isolated from the dairy products of the strait, and by studying the different technological properties.

The study of macroscopic, microscopic, biochemical and physiological characteristics (fermentation type, sugar fermentation, growth at different temperatures and different NaCl) made it possible to orient the identification towards lactic acid bacteria.

The researchers isolated and purified the strains of fermented milk products and then studied some technological skills in these isolates in order to assess their capacities for possible industrial use. So, they are based particularly on the evaluation of the proteolytic activity highlighted on GN medium with skimmed milk, flavoring and acidifying power.

The results of the assessment of technological skills showed that these activities of interest are expressed in a very heterogeneous way. All the strains have an acidifying, proteolytic and antimicrobial power. The latter are an essential factor in dairy processing.

Keywords:

Fermented milk products, lactic acid bacteria, technological characteristics, antimicrobial substances, proteolysis, acidifying power.

ملخص

في الجزائر، كما هو الحال في مختلف بلدان العالم، هناك منتجات ألبان أصلية تستمد طريقة تصنيعها من التراث الثقافي للسكان. يتم الحصول على هذه المنتجات من تصنيع الحليب بهدف إطالة مدة صلاحيته. ومن بين مستحضرات الألبان الجزائرية التقليدية: لبن، رايب، جبين، دهان ويورت.

تعد بكتيريا حمض اللاكتيك جزءاً طبيعياً من بيئتنا ونظامنا الغذائي. منذ فترة طويلة تم التعرف على بكتيريا حمض اللاكتيك على أنها تمتلك خاصية إنتاج المواد المضادة للميكروبات. في الواقع، تتمتع بكتيريا حمض اللاكتيك بخصائص تصنيع المواد المثبطة.

الهدف من بحثنا هو التعرف على بكتيريا حمض اللاكتيك المعزولة من منتجات الألبان، ودراسة الخصائص التكنولوجية المختلفة. إن دراسة الخصائص العيانية والميكروسكوبية والكيميائية الحيوية والفسيلوجية (نوع التخمر، تخمير السكريات، النمو في درجات حرارة مختلفة ومختلف كلوريد الصوديوم) جعلت من الممكن توجيه التعرف نحو بكتيريا حمض اللاكتيك.

قام الباحثون بعزل وتنقية سلالات منتجات الألبان المخمرة ثم درسوا بعض القدرات التكنولوجية في هذه العزلات من أجل تقييم قدراتها للاستخدام الصناعي المحتمل. لذلك، استندوا بشكل خاص إلى تقييم النشاط التحلل للبروتين الموضح على وسط مغذي مع حليب منزوع الدسم وقوة النكهة وقوة التحميض.

أظهرت نتائج تقييم الكفاءة التكنولوجية هذه الأنشطة ذات الأهمية وتم التعبير عنها بطريقة غير متجانسة للغاية. تظهر جميع السلالات قوة حامضية ومحللة للبروتين ومضادة للميكروبات. هذا الأخير عامل أساسي في معالجة الألبان.

الكلمات الدالة :

منتجات الألبان المخمرة، بكتيريا حمض اللاكتيك، الخصائص التكنولوجية، المواد المضادة للميكروبات، تحلل البروتين، القدرة الحمضية.

SYNTHESE

BIBLIOGRAPHIQUE

INTRODCUTION

Introduction :

Notre pays a une tradition bien établie sur les produits laitiers, transmise d'une génération à une autre à travers des siècles (**Bencharif, 2001**).

En Algérie, la consommation du lait et des produits laitiers est traditionnellement liée à la pratique de l'élevage. Les produits laitiers étant fabriqués par des processus artisanaux anciens, à partir d'un lait ou de mélanges de laits de différentes espèces. Il existe une grande variété de produits laitiers de terroir, leur dénomination ainsi que leur processus de fabrication diffèrent d'une région à une autre. Plusieurs travaux ont caractérisé des produits laitiers tels que L'ben, Rayeb, J'ben, D'han et Yaourt (**Hallel, 2001**).

Ces produits font partie de l'héritage Algérien et ont une grande importance culturelle, médicinale et économique, ils ont été développés sur une grande période (**Benkerroum et al., 2004**).

Le lait est un produit difficile à conserver et facilement périssable pour cela il a été toujours transformé. Cette transformation se fait par l'intermédiaire des bactéries lactiques (**Claps et Morone, 2011**).

Les bactéries lactiques sont des microorganismes utiles pour l'homme, lui permettant de fabriquer et de conserver un nombre très important d'aliments. Ces bactéries sont déjà reconnues par la production des acides organiques qui abaissent le pH des aliments, ce qui permet d'inhiber la prolifération des microorganismes pathogènes (**Ross et Jonsson, 2002**) tels que *Bacillus*, *Clostridium*, *Enterococcus*, *Escherichia coli*, *Listeria*, *Pseudomonas*, *Salmonella*, *Staphylococcus* et *Yersinia* (**Dunne et al., 2001**). La production de CO₂ par les bactéries lactiques réduit le potentiel d'oxydoréduction et inhibe les germes aérobies (**Desmazeaud, 1992**).

Les bactéries lactiques sont largement utilisées dans la fermentation de différents aliments. Les métabolites tels que le peroxyde d'hydrogène, l'alcool et le diacétyl synthétisés par les bactéries lactiques peuvent aussi contribuer à la préservation des produits alimentaires (**Claps et Morone, 2011**).

Grâce à ces capacités, l'utilisation de ces bactéries permet de satisfaire les besoins de point de vue sanitaire en industrie alimentaire, et ainsi d'assurer une bonne conservation des aliments (**Paul Ross et al., 2002**).

Les bactéries lactiques sont généralement sélectionnées pour leurs propriétés technologiques (**Drouault et Corthier, 2001**), mais depuis les théories de Metchnikoff (1907) sur leurs effets bénéfiques sur la santé, l'attention s'est portée sur ces microorganismes et d'autres propriétés sont

prises en compte, telles que la survie et la persistance dans l'environnement dans lequel ils doivent agir (**Bouhnik, 1998**).

Une large gamme d'activités métaboliques et propriétés technologiques sont recherchées chez ces bactéries pour un usage industriel, telle que l'acidification, la protéolyse, la lipolyse ...etc. Grâce à leur richesse en enzymes protéolytiques elles participent avec d'autres enzymes à l'hydrolyse des caséines en petits peptides et acides aminés (**Hassaine O et al., 2013**).

L'objectif de ce travail consiste à isoler des bactéries lactiques à partir des produits laitiers traditionnels (L'ben, Rayeb, J'ben, D'han et Yaourt) et l'étude de leurs pouvoir technologiques concernant le pouvoir acidifiant, l'activité protéolytique et lipolytique.

CHAPITRE I

LES PRODUITS LAITEIRS

I- Définition :

C'est l'augmentation de la production du lait durant certaines saisons, et la difficulté de la préservation sous forme fraîche qui a conduit au développement des technologies de production traditionnelle (**Dharam et Narender, 2007**).

Une large gamme de produits laitiers fermentés est commercialisée à travers le monde. Il existe un grand nombre de laits fermentés provenant de plusieurs pays et qui diffèrent par leur matière première, leur flore microbienne, leur technologie, leur texture, leur goût et leur durée de conservation. (**Luquet et Corrieu, 2005**).

Les bactéries lactiques (LAB) microflore dans les produits laitiers fermentés traditionnels jouent un rôle important pour conférer les caractéristiques spécifiques des produits laitiers et la saveur indigène (**Varalakshmi et al., 2014**).

Ces produits sont une partie intégrante d'héritage Algérien, et ont une grande importance, culturelle, médicinale et économique. Ils ont été développés sur une longue période avec les compétences culinaires des femmes, pour qu'aujourd'hui L'ben, J'ben, Rayeb, D'han et Zebda et autres font de produits traditionnels les plus importants à l'échelle commerciale algérienne (**Medouni et al., 2005**).

1-1. Lait fermenté :

Les laits fermentés sont des produits laitiers transformés par une fermentation essentiellement lactique qui aboutit à l'acidification et à la gélification du lait (**Béal et Sodini, 2012**). Les laits fermentés algériens sont le L'ben et le Rayeb.

1-1-1. L'ben :

L'ben est fabriqué à partir de lait de vache, brebis et de chèvre. Le lait subit une acidification spontanée par sa flore originale jusqu'à coagulation. En Algérie, L'ben entre dans la fabrication de différents fromages traditionnels tels que Bouhezza et Klila.

La composition chimique du « L'ben » est variable, elle dépend des localités, des régions, des fermes, de la composition chimique du lait cru de départ et de la procédure de fabrication. Néanmoins, certains indicateurs donnent une idée sur la qualité globale du produit et le processus de sa fabrication (**El Baradei et al., 2008**).

L'origine de ce produit remonte à des temps immémoriaux, probablement à l'époque où l'homme a commencé à domestiquer les espèces laitières et à utiliser leurs laits. Sa fermentation lactique lui donne son arôme naturel et sa saveur inimitable. Sa préparation artisanale est simple, le lait est abandonné à lui-même jusqu'à sa coagulation. Celle-ci se fait à température ambiante et dure 24h à 48h selon la saison. Le barattage qui lui succède dure 30 à 40 minutes. L'ben est produit également à l'échelle industrielle. C'est un lait pasteurisé fermenté.

L'acidification est provoquée par l'ensemencement des ferments lactiques mésophiles. Le lait qui sert à la préparation du L'ben est reconstitué. Il subit une pasteurisation à 84°C pendant 30 secondes, puis refroidi à 22°C et ensemencé de levain lactique (*Streptococcus cremoris* ; *Streptococcus lactis* et *Streptococcus diacetylactis* ; *Leuconostoc dextranicum*, *Ln. citrovorum* et *Ln. mesenteroides*) (Benkerroum et Tamime, 2004).

1-1-2. Rayeb :

Le Rayeb fait partie des produits laitiers fermentés populaires en Algérie, en plus du L'ben (lait écrémé fermenté). Le Rayeb a une très ancienne tradition en Algérie ; il est fabriqué à partir du lait cru de vache ou de chèvre.

La fermentation du lait, comme de nombreux procédés traditionnels de fermentation est spontanée et incontrôlée et pourrait être une source précieuse des bactéries lactiques autochtones (Mechai et Kirane, 2008).

Contrairement au L'ben, le Rayeb ne subit pas une opération de barattage et d'écémage, il s'agit d'un lait fermenté entier.

1-2. Fromage :

Les fromages traditionnels sont caractérisés par un lien fort avec leur terroir d'origine et attestent de l'histoire et de la culture de la communauté qui les produit. Chaque fromage traditionnel provient de systèmes complexes qui lui donnent des caractéristiques organoleptiques spécifiques. Ces caractéristiques sont liées à divers facteurs de biodiversité, comme l'environnement, le climat, la prairie naturelle, la race des animaux, l'utilisation de lait cru et de sa microflore naturelle (Licitra, 2010).

Les fromages sont des formes de conservation et de report ancestrales de la matière utile du lait (Protéines, matière grasse ainsi qu'une partie du calcium et phosphore), dont les

qualités nutritionnelles et organoleptiques sont appréciées par l'homme dans presque toutes les régions du globe (**Jeantet et al., 2008**).

La dénomination « fromage » est réservée aux produits fermentés ou non, affinés ou non, obtenus à partir des matières d'origine exclusivement laitière suivantes : lait, lait partiellement ou totalement écrémé, crème, matière grasse, babeurre, utilisées seules ou en mélange et coagulées en tout ou en partie avant égouttage ou après élimination partielle de la partie aqueuse (**Mahaut et al., 2000**).

1-2-1. J'ben :

Le « J'ben » est le fromage frais le plus connu et consommé dans certaines régions en Algérie depuis fort longtemps aussi bien en milieu rural qu'en milieu urbain. Dernièrement, la consommation de ce produit s'est accrue suite à l'installation dans les villes d'un grand nombre de laiteries traditionnelles qui préparent le «J'ben» à partir du lait cru selon des procédures souvent artisanales.

A côté de ce secteur traditionnel, certaines unités laitières semi-industrielles se sont aussi intéressées à la fabrication du «J'ben», utilisant du lait soit cru, soit pasteurisé, et des procédures de préparation plus ou moins améliorées. De ce fait, il existe aujourd'hui de nombreuses méthodes de préparation du «J'ben», et par conséquent, plusieurs variétés de fromage frais sont commercialisées au Maroc sous la dénomination populaire commune de "J'ben" (**Benkerroum et Tamime, 2004**).

Traditionnellement, le fromage J'ben est fabriqué avec du lait cru de brebis ou de chèvre, acidifié spontanément et coagulé par des enzymes coagulantes d'origine végétale (**Nouani, 2009**).

1-3. Zebda : (beurre frais)

Selon la norme du Codex Alimentaire, le beurre est un produit gras dérivé exclusivement du lait et/ou de produits obtenus à partir du lait, principalement sous forme d'une émulsion du type eau dans huile. Il est obtenu par barattage de la crème du lait (**Luquet et Corrieu, 2005**). Zebda contient presque la totalité des lipides du lait et 2,7g de protéines pour 100g.

Le beurre est fabriqué à partir de la crème (le barattage) et contient 0,8g de protéines pour 100g (**Vilain, 2010**).

1-4. D'han : (beurre traditionnel)

Un beurre traditionnel est fabriqué à partir du lait de vache non pasteurisé. Tout d'abord, le lait est laissé à température ambiante jusqu'à ce qu'il s'acidifie. Une agitation manuelle est utilisée jusqu'à la séparation de la crème au lait écrémé, pendant l'agitation d'une petite quantité d'eau fraîche est ajoutée. Cette eau rassemble les globules gras. Cette agitation dure quelques dizaines de minutes. Les matières grasses sont collectées et elles représentent le beurre (**Bettache et al., 2012**).

1-5. Yaourt :

Le yaourt est un lait fermenté obtenu exclusivement par la coagulation du lait sous l'action de deux bactéries : *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus* (**Quiberoni et al., 2010**). Ces bactéries doivent être vivantes dans le produit et leur nombre doit dépasser dix millions par gramme de yaourt à la date limite de conservation (**Champagne et al., 2009**).

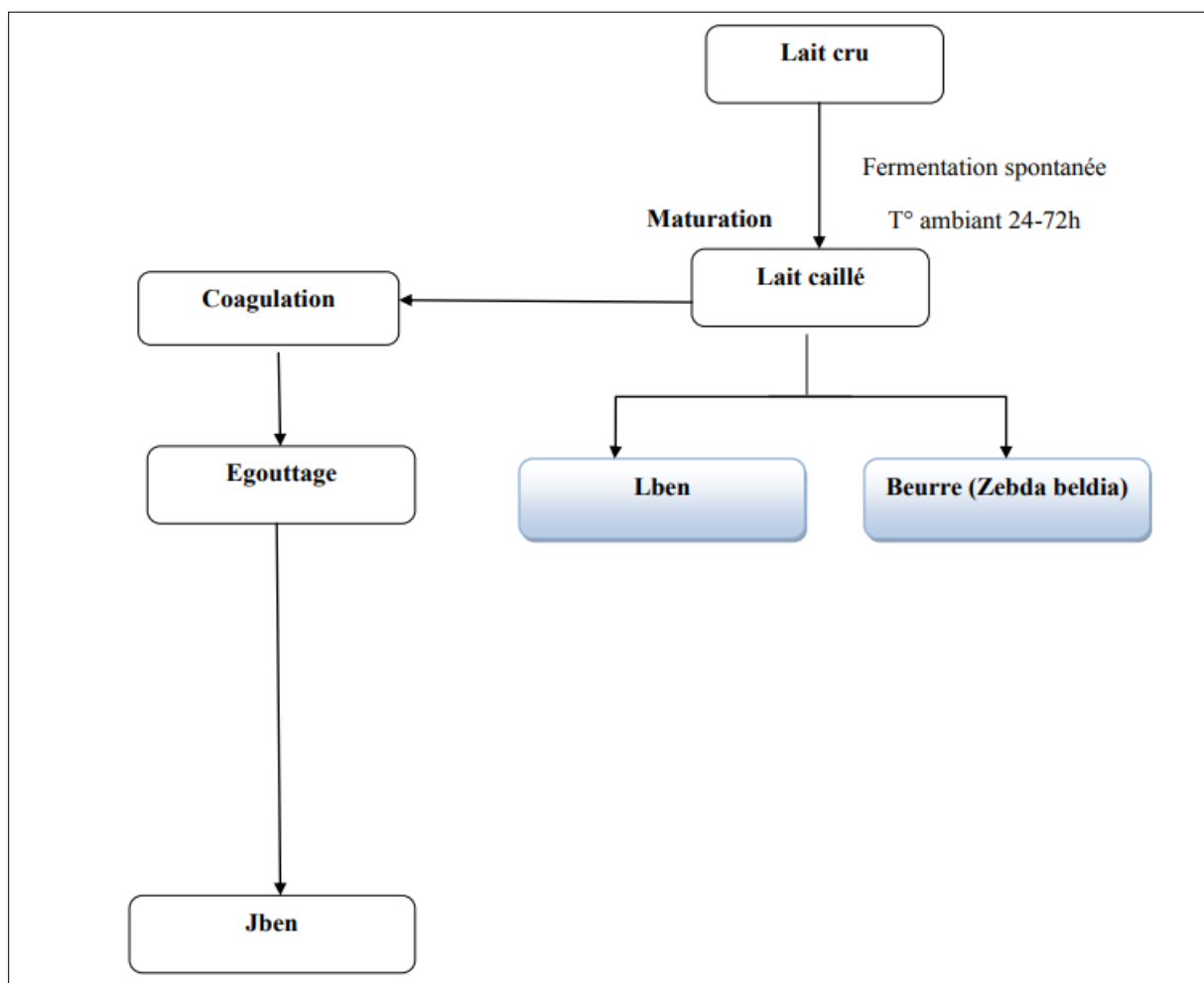


Figure 01 : Schéma de fabrication des produits laitiers traditionnels (**Benkerroum et Tamime, 2004**).

CHAPITRE II

LES BACTERIES LACTIQUES

I- Généralité :

Les bactéries lactiques de très anciens micro-organismes, utilisés pour la fermentation des aliments depuis plus de 4000 ans, sans pour autant comprendre la base scientifique de leur utilisation (**Dridier et Prevost, 2009**).

Ce n'est qu'à la fin du 19^{ème} siècle, époque des grandes découvertes de la microbiologie, que le groupe des bactéries lactiques ou bactéries de l'acide lactique a été défini, plus précisément en 1919 par Orla-Jensen. Il a réuni plusieurs genres caractérisés par leur capacité à fermenter les glucides en produisant de l'acide lactique (**Tredez, 2008**).

Ce sont des cellules vivantes, procaryotes, hétérotrophes et chimio-organotrophes. Les bactéries lactiques sont un groupe de bactéries à Gram positives, immobiles, asporulées, anaérobies mais aérotoles, dépourvues de catalase, de nitrate réductase, et de cytochrome oxydase (**Atlan et al., 2008**). Ces bactéries forment un groupe relativement divers, ayant des caractéristiques physiologiques et métaboliques communes (**Yang, 2000**).

Leur forme peut être coccoïde, coccobacillaire ou bacillaire, elles sont généralement mésophiles avec une température optimum de croissance entre 20°C et 30°C ou thermophiles entre 40°C et 45°C. La majorité des souches se développent à pH 4,0-4,5, certaines sont en activité à pH 9,6 et d'autres à pH 3,2 (**Jozala et al., 2005**).

Les bactéries lactiques (LAB) englobent un large groupe de micro-organismes appartenant aux genres *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* et *Streptococcus* (**Burgain et al., 2014**).

Les LAB, présents naturellement dans certains aliments, participent aux processus de fermentation des aliments et sont intentionnellement ajoutées en tant que cultures de départ pour améliorer le développement de la couleur, réduire les périodes de maturation et améliorer les caractéristiques sensorielles, notamment la saveur, l'arôme et la texture. De plus, la fermentation des LAB améliore la digestibilité des aliments et augmente la sécurité des produits grâce à l'inhibition de la détérioration et des bactéries pathogènes (**Papagianni, 2012**). Au-delà de ces rôles physico-chimiques importants, certaines souches de LAB sont considérées comme des probiotiques en raison de leur effet bénéfique sur le tractus intestinal et la santé humaine (**Jankovic et al., 2010**).

Du point de vue nutritionnel, les bactéries lactiques se caractérisent par des exigences assez complexes, en ce qui concerne les acides aminés, les acides gras, les peptides, les vitamines, les glucides fermentescibles et les sels. Ces bactéries servent à de très nombreux procédés, aussi bien dans la transformation du lait, que dans la fermentation des végétaux, et dans la production des

produits carnés fermentés (**Guiraud, 1998**), ce qui a conduit à la reconnaissance de leur statut GRAS (Generally Recognized As Safe). Ils sont importants pour l'industrie laitière et sont essentiels pour la production d'une gamme de produits laitiers traditionnels et nouveaux (**Klaenhammer et al., 2005**).

Il est bien connu que les LAB (*Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Pediococcus* et *Streptococcus*) sont porteurs de l'activité probiotique, ce qui influence les maladies du tractus gastro-intestinal bénéfique (**Benyacoub et al., 2005**).

1- Caractéristiques principales des bactéries lactiques :

1-1. Voies de fermentation :

Dans l'antiquité, les bactéries lactiques (LAB) ont été utilisées pour la fermentation des aliments différents et sont à la base de l'une des méthodes les plus anciennes employées pour la conservation des aliments connue de l'homme (**Michaylova et al., 2007**).

Elles fermentent les glucides en acide lactique, d'où une diminution du pH favorable à la conservation des aliments (**Callewaert et al., 2000**).

- On distingue deux voies de fermentations lactiques :

1-1-1. Les bactéries homo-lactiques : (Homofermentation)

Toutes les bactéries lactiques (à l'exception des genres : *Leuconstoc*, *Oenococcus*, *Weissella* et certains membres du genre *Lactobacillus*) entravent la voie de la glycolyse pour dégrader les hexoses en pyruvate qui sera réduit en acide lactique, le produit unique de la fermentation. Dans les conditions défavorables telles la limitation du glucose, ces bactéries produisent également l'acide formique, l'acide acétique, l'éthanol et/ou le CO₂ par la voie de fermentation des acides mixtes (**Mozzi et al., 2010**).

1-1-2. Les bactéries hétéro-lactiques : (hétérofermentation)

Ce groupe de bactéries lactiques utilise la voie des pentoses phosphate (ou 6- phosphogluconate) pour transformer le glucose en CO₂, éthanol ou de l'acétate en plus de l'acide lactique (**Salminen et al., 2004**).

Les bactéries lactiques qui fermentent le glucose en produisant, en plus de l'acide lactique, de l'éthanol et du CO₂ sont dites hétérofermentaires. Les groupes principaux de bactéries présentant ce type de métabolisme sont les *Leuconostoc* et certains lactobacilles (Thompson et Gentry-Weeks, 1994).

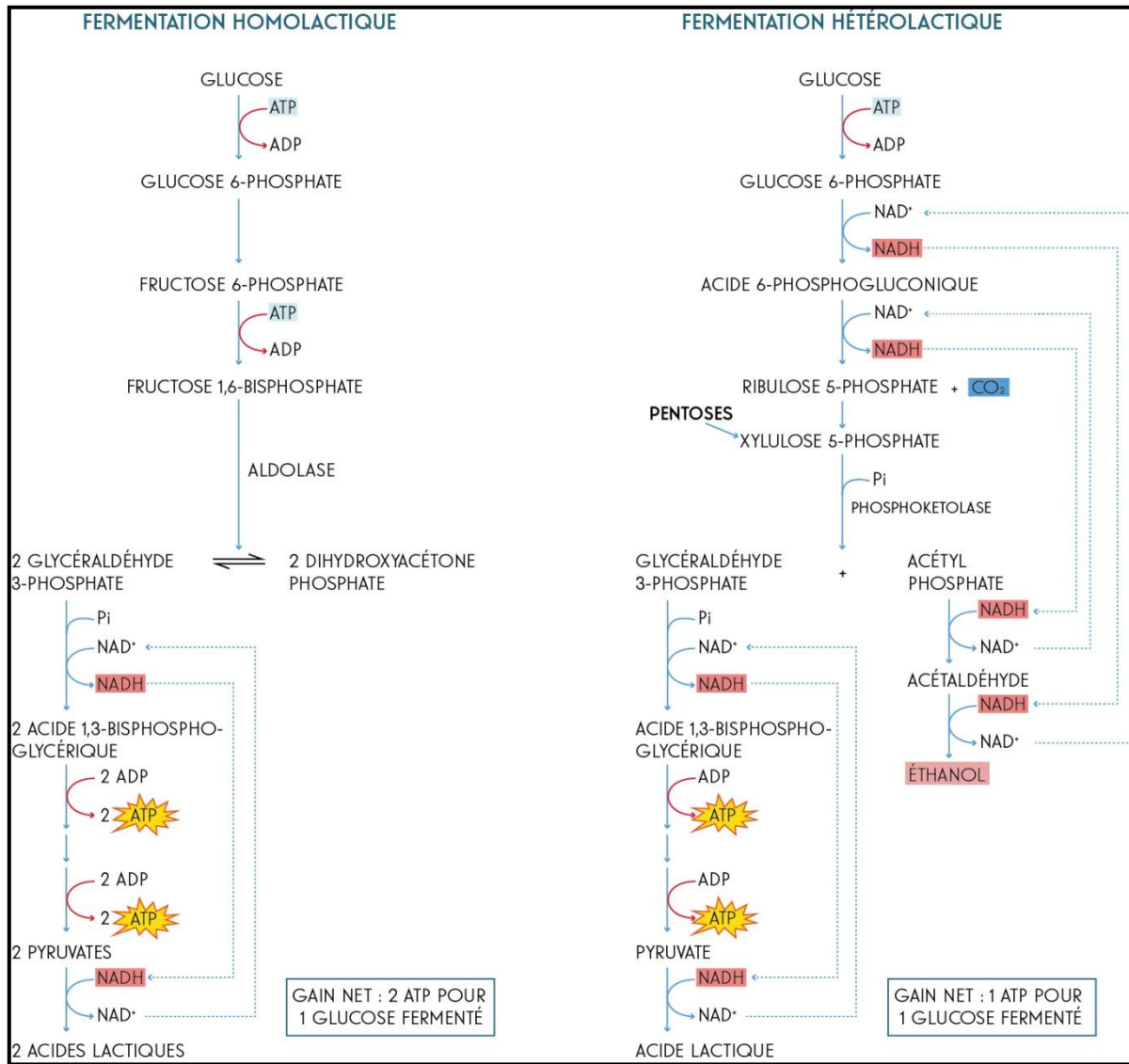


Figure 02 : Voies métaboliques homofermentaire, hétérofermentaire de la dégradation du glucose (Dridier et al., 2009).

2- Origine et habitat :

Les bactéries lactiques sont des micro-organismes ubiquitaires qui se retrouvent dans différents types d'habitat (Matamoros, 2008), et dans différents environnements, aptes à se développer sur différents substrats autres que le lait. Leur présence est révélée dans plusieurs niches écologiques

entre autres végétales (plantes, fruits, légumes, céréales), animales et humaines (tractus digestif, cavités buccales et urogénitales) (Tailliez, 2001).

A titre d'exemple, les espèces du genre *Streptococcus*, *Lactococcus* sont présents chez l'homme et chez les animaux où elles sont isolées à partir de leurs peaux, de leurs matières fécales, et elles sont aussi isolées de l'ensilage du foin et des grains. (Mathara et al., 2004). Par ailleurs, les espèces du genre *Lactobacillus* sont encore plus répandues dans la nature; elles se trouvent sur les végétaux mais également dans l'intestin des animaux et de l'homme.

Certaines espèces comme *Lb. acidophilus* entrent en composition au niveau de la flore commensale de l'intestin et du vagin, où leur présence empêche l'invasion par *Candida albicans*. Les espèces du genre *Pediococcus* ne se rencontrent pratiquement que sur les plantes (Guiraud, 1998). Même si elles se développent dans une variété d'habitats, les bactéries lactiques exigent des carbohydrates fermentescibles, des acides aminés, des acides gras, des sels et des vitamines pour leurs croissances (Hammes et Hertel, 2006).

D'une façon générale, les bactéries lactiques sont présentes partout où il y a de fortes concentrations de glucides, de produits de dégradation des protéines, de vitamines et peu d'oxygène (Marteau, 2007).

3- Taxonomie :

Depuis la description du *Bacterium lactis* (actuellement *Lactococcus lactis*), la taxonomie des bactéries lactiques est en évolution permanente. Le nombre de nouvelles espèces a augmenté énormément au cours de ces dix dernières années. Les réorganisations effectuées ont contribué à fusionner des espèces en une seule, ou identifier une espèce comme un nouveau genre. L'élaboration de la taxonomie est basée sur un large ensemble de critères regroupant les caractéristiques écologiques, phénotypiques, biochimiques et génétiques (Pot, 2008).

Selon la dernière édition de *Bergey's manual of systematic bacteriology* (2009), les bactéries lactiques sont classées dans le phylum des *Firmicutes*, la classe des *Bacilli* et l'ordre des *Lactobacillales* renfermant trente-cinq genres répartis sur six familles. Parmi ces genres, seulement douze sont utilisés dans la biotechnologie alimentaire, à savoir *Aerococcus*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Vagococcus*, *Tetragenococcus*, *Weissella* (Drider et Privost, 2009). (Figure03).

- Parmi ces genres, qui sont utilisés dans le domaine de la biotechnologie, il s'agit de :

Le genre *Lactobacillus* : Au sein des bactéries lactiques, les lactobacilles forment un ensemble très disparate. Ce sont soit des bacilles longs (incurvés) ou des coccobacilles courts isolés, comme elles peuvent former des chaînes. Elles sont généralement immobiles à l'exception de quelques espèces qui possèdent des flagelles péritriches. Acidophiles et peuvent croître à un pH optimum variant de 5,5 à 6,2. La température optimale de croissance est de 30°C à 40°C (De Vos et al., 2009).

Le genre *Lactococcus* : Le genre *Lactococcus* (streptocoque du groupe N) représente les streptocoques dits «lactiques», car ils sont associés à de nombreuses fermentations alimentaires et ne possèdent aucun caractère pathogène. De formes sphériques ou ovoïdes, isolées en paires, ou en chaînes. De type mésophiles, leur température optimale est comprise entre 10°C et 40°C, mais sont incapables de se développer à 45°C. Celles-ci se développent généralement à 4% de NaCl et à un pH proche de la neutralité, leur croissance s'arrêtant lorsque le pH du milieu atteint 4,5. Les produits végétaux constituent leur réservoir principal, mais ils sont largement présents dans le lait et les produits laitiers (Pilet et al., 2005).

Le genre *Enterococcus* : Le genre *Enterococcus* regroupe les streptocoques fécaux qui présentent une hémolyse de type α , β , et qui appartiennent au groupe sérologique D. Ce sont des commensaux de l'intestin. Cellules ovoïdes, isolées en paires ou en courtes chaînes, homofermentaires. Quelques espèces sont mobiles par des petits flagelles et d'autres possèdent une pseudo catalase. Ce genre se caractérise par sa tolérance à 6.5% de NaCl, un pH 9,6 et un intervalle de température compris entre 10°C et 45°C, avec un optimale de croissance de 35°C à 37°C. Les espèces rencontrées dans l'alimentation sont essentiellement *En. faecalis* (auparavant *Streptococcus faecalis*), et ses variétés *En. durans* et *En. bovis*. Les *Enterococcus* sont les bactéries lactiques les plus controversées (Franz et al., 2003).

Le genre *Leuconostoc* : Ils représentent les coques hétérofermentaires marqués, avec production d'acide lactique, de CO₂ et d'éthanol. Ce genre comprend 10 espèces fastidieuses dans leurs exigences nutritionnelles, de forme ellipsoïdales à sphériques généralement allongées qui s'arrangent en paires ou en chaînes, non acidophiles avec un pH optimum de croissance égal à 6,5. Concernant la température optimale est comprise entre 20°C et 30°C. Capables de produire du dextrane en milieu concentré en saccharose. Les caractéristiques telles que l'hydrolyse de l'esculine, la formation de dextrane, les conditions de croissance, la capacité à croître à différents pH et température, l'assimilation de citrate et/ou malate permettent la différenciation entre les genres *Leuconostoc* et *Weissella* (Ho et al., 2007).

Le genre *Pediococcus* : Les *Pediococcus* sont des coques homofermentaires dont la particularité est le regroupement en tétrade. Ils sont mésophiles, le plus souvent incapables

d'utiliser le lactose, et leur développement nécessite la présence de divers facteurs de croissance. Immobiles de forme sphérique parfois ovoïdes, isolées ou en paires qui se divisent en deux directions perpendiculaires formant ainsi les tétrades mais jamais les chaînes. Les cellules sont acidophiles à pH=5, la température optimale de croissance est comprise entre 25°C à 35°C. Certaines espèces se distinguent par leur capacité à se développer à des teneurs en sels très élevées, comme *Pediococcus halophilus*, renommé *Tetragenococcus halophilus* et *Tetragenococcus muriaticus* qui tolère jusqu'à 18% de NaCl (Pilet et al., 2005).

Le genre *Streptococcus* : Immobiles, sphériques ou ovoïdes qui ont un diamètre inférieur à 2µm 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. Leur température optimale de croissance est 37°C. Elles sont incapables de se développer à 15°C et à un pH 9,6 (Desar et al., 2008).

Le genre *Vagococcus* : Ovoïdes isolées, en paires ou en chaînes. La plupart des espèces sont mobiles par des flagelles péritriches. Elles sont capables de croître à 10°C mais non à 45°C sans production de gaz ni d'arginine di-hydrolase (ADH) (Ammor et al., 2006).

Le genre *Tetragenococcus* : Cellules sphériques ou ovoïdes avec un diamètre de 0.5-1.0µm, immobiles, formant des tétrades, comme elles peuvent être isolées ou en paires. Leur température optimale de croissance se situe entre 25°C et 35°C et ne peuvent pas croître à 10°C et à 45°C. Les espèces *Tetragenococcus* ont un rôle crucial dans la fabrication des produits alimentaires à concentration de sel élevée par exemple les sauces de soja (Masuda et al., 2008).

Le genre *Weissella* : Ovoïdes ou de courts bâtonnets à extrémités rondes qui s'associent en paires ou en courtes chaînes et sont immobiles. Leur température optimale de croissance est de 15°C, mais quelques espèces peuvent croître entre 42°C et 45°C (Tosukhowong et al., 2005).

Parmi tous les genres cités, seulement *Aerococcus*, *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc* et *Pediococcus* répondent aux caractéristiques générales d'une bactérie lactique proprement dit (Salminen et al., 2004).

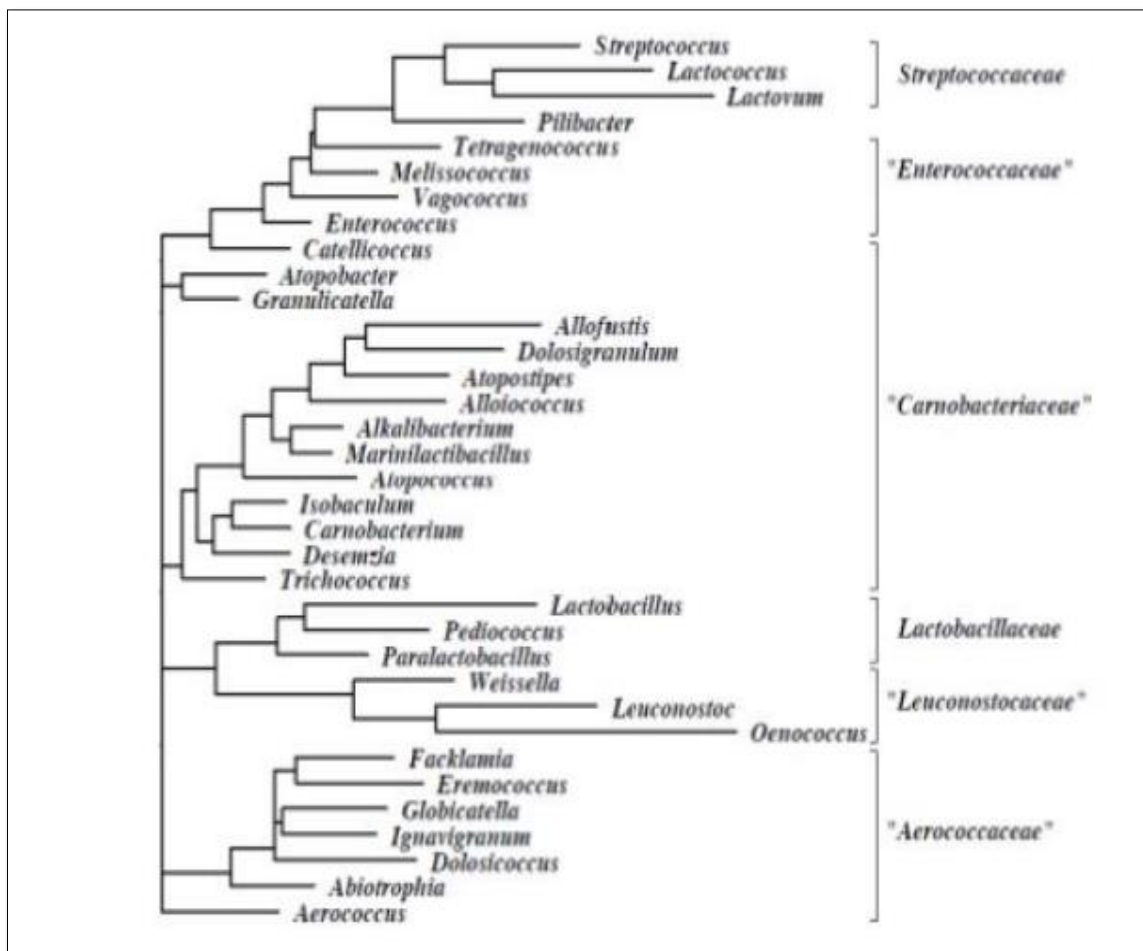


Figure 03: Dendrogramme illustrant les relations phylogénétiques de l'ordre « *Lactobacillales* » dans la classe des « *Bacilli* » (De Vos et al., 2009).

4- Classification des bactéries lactiques :

La classification phénotypique des bactéries lactiques est largement basée sur la morphologie, le mode de fermentation du glucose, la croissance à différentes températures, l'aptitude de croître à fortes concentrations de sels (6.5%, 18%), la tolérance aux pH acides, alcalins et à l'éthanol, la configuration de l'acide lactique produit à partir de glucose, l'hydrolyse de l'arginine, la formation d'acétoïne, etc. Les marqueurs chimio-taxonomiques comme la composition en acides gras et les constituants de la paroi cellulaire peuvent aussi être utiles dans la classification (König et Fröhlich, 2009).

La classification est également possible avec des méthodes génotypiques (RAPD-PCR, ribotyping) ou d'autres techniques semblables. Elle permet une nouvelle approche phylogénétique. Le génome des bactéries lactiques varie selon le genre et selon l'espèce (1 à 5 millions de paires de base). Cette variabilité peut servir pour différencier les groupes bactériens. (Bolotin et al., 2001).

5-1. Méthodes classiques :

Les caractéristiques phénotypiques ont généralement servi de point de départ pour plusieurs tests sophistiqués et constituent la base de différenciation et d'identification des bactéries lactiques. Différents tests clefs sont largement adoptés. La morphologie ainsi que les méthodes physiologiques, métaboliques biochimiques et chimio taxonomiques sont plus utilisées.

Les méthodes physiologiques incluent principalement, la croissance à certaines températures, à certaines concentrations de NaCl, à différents pH. Les méthodes métaboliques biochimiques incluent principalement, la production de CO₂ en milieu glucosé, le profil de fermentation de nombreux sucres, l'hydrolyse de l'arginine, de l'esculine et la détermination de l'isomère optique de l'acide lactique (**Ammor, 2004**).

5- Les voies métaboliques des bactéries lactiques :

Les bactéries lactiques nécessitent une source d'hydrate de carbone fermentescible pour la production d'énergie cellulaire (ATP) et leur croissance. Le lactose présent dans le lait, disaccharide composé de glucose et de galactose, atteint des concentrations de 4 à 5%.

En technologie laitière, l'acidification lactique joue de multiples rôles : elle participe à la coagulation du lait, active la synérèse du caillé et la solubilisation du calcium micellaire qui ont une influence déterminante sur la texture des produits laitiers. Elle contribue aussi aux qualités organoleptiques des produits fermentés et inhibe la croissance des microorganismes nuisibles. Les produits issus de la glycolyse peuvent être métabolisés selon différentes voies pour la formation de composés aromatiques variés (**Masuda et al., 2008**).

6-1. Métabolisme des sucres : (la glycolyse)

Les sucres utilisés par les bactéries lactiques sont fermentés essentiellement en acide lactique. Pour pénétrer dans la cellule, ces sucres doivent d'abord franchir la membrane cellulaire. Deux systèmes de transports actifs des sucres sont présents chez les bactéries lactiques : le système phosphotransférase phosphoénol-pyruvate dépendant (PTS), qui couple le transport et la phosphorylation du glucide (phosphorylation en cascade), et le système perméase énergie-dépendant, qui fait pénétrer les glucides sous forme de sucres libres (**Corrieu et al., 2008**).

Les bactéries lactiques synthétisent leur ATP grâce à la fermentation lactique des glucides. On les distingue en deux groupes biochimiques : les homofermentaire et les hétérofermentaire. Les homofermentaire produisent deux molécules d'acide lactiques (C3) par glucose (C6) consommé. Chez les hétérofermentaire, seule une molécule d'acide lactique est produite à partir du glucose.

Une autre molécule en C2 est produite (en général soit de l'éthanol soit de l'acide acétique) et une molécule d'oxygène. La différence entre ces deux groupes est détectable par le dégagement de CO₂ (Bourgeois et al., 1996). La figure 04 présente les principales voies de la glycolyse chez les bactéries lactiques.

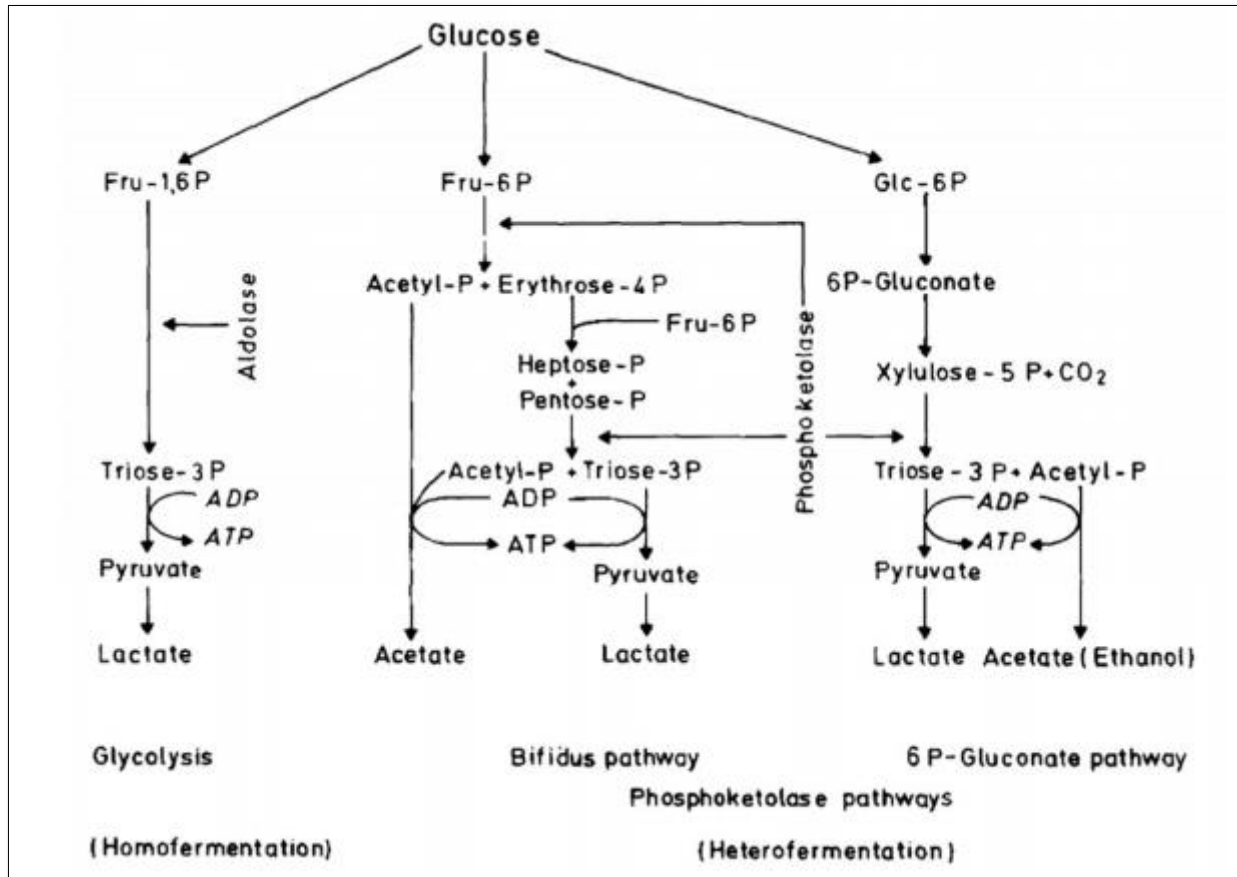


Figure 04 : Principales voies assurant le transport et le métabolisme du glucose par les bactéries lactiques (Kandler, 1986)

6-2. Métabolisme des protéines (la protéolyse)

Après l'utilisation des acides aminés et des peptides libres, les bactéries lactiques doivent hydrolyser les protéines pour croître dans le lait. Le système protéolytique de ces bactéries est constitué de deux types d'enzymes distinctes : les protéases capables d'hydrolyser des protéines natives par exemple les caséines ou leurs dérivés et les peptidases détectées par l'hydrolyse de peptides issus de la dégradation des protéines. Ces enzymes peuvent être intracellulaires ou liées à la paroi bactérienne (Leveau et al., 1993).

Les enzymes intracellulaires peuvent être libérées dans le milieu extracellulaire par l'autolyse bactérienne liée à l'âge de la cellule ou aux conditions physiologiques défavorables qui activent les autolysines capables d'hydrolyser les peptidoglycanes de la paroi (Roudj et al., 2009). La protéolyse du lait par les bactéries lactiques est résumée dans la figure 05

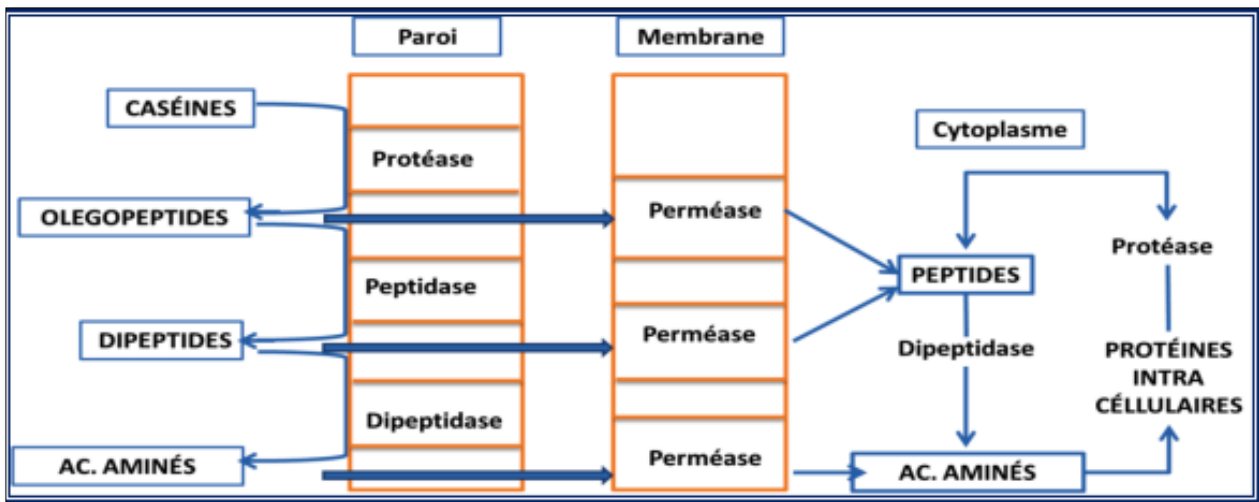


Figure 05: Protéolyse du lait par les bactéries lactiques (Leveau et al., 1993).

6-3. Métabolisme des acides gras (la lipolyse)

Les lipases bactériennes catalysent en partie la production des acides gras à longues chaînes à partir des mono et di glycérides, alors que les estérases permettent la libération des acides gras volatils. Les acides gras, dont la concentration augmente pendant l’affinage, seraient responsables en partie de la saveur typique des fromages à pâte pressée cuite. Ils sont également des précurseurs pour la formation de méthylcétones, alcools, lactones et esters (Siegumfeldt et al., 2000). La figure 06 présente les différentes voies conduisant à la formation de ces composés.

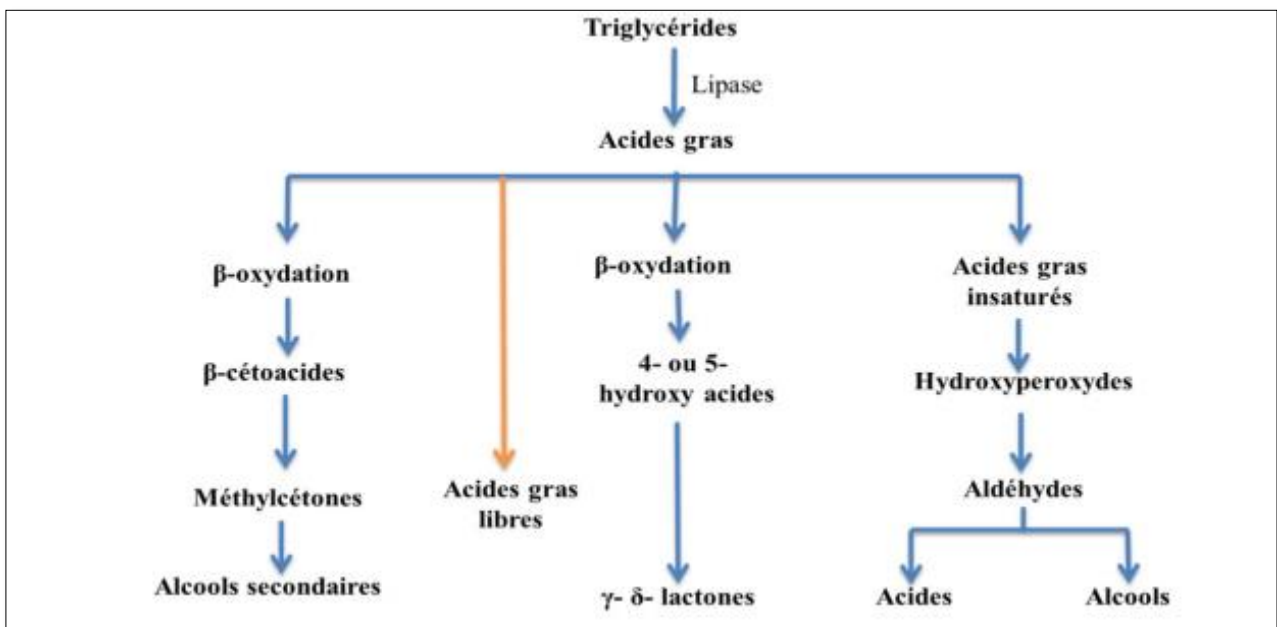


Figure 06 : Principales voies de la lipolyse (Siegumfeldt et al., 2000).

CHAPITRE III

LES PROPRIETES TECHNOLOGIQUES

1- L'intérêt des bactéries lactiques :

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

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

1-1-Dans le domaine alimentaire : (Fermentation alimentaire)

Les bactéries lactiques sont impliquées dans la fermentation et la bioconservation de différents aliments. L'utilisation de ces derniers a pour but de l'amélioration des caractéristiques organoleptiques des produits fermentés et par conséquent augmenter la durée de leur conservation sans pour autant utiliser de conservateurs chimiques, et ce grâce aux substances antimicrobiennes qu'elles produisent. Différentes actions enzymatiques (protéolyse, réduction des nitrites, activité peroxydasique, dégradation des lipides) permettent l'apparition de flaveur, texture et couleur, intéressante pour le consommateur (**Dortu et Thonart, 2009**).

1-1-1. Pouvoir texturant :

La capacité des bactéries lactiques à synthétiser des exopolysaccharides (EPS) joue un rôle important pour la consistance et la rhéologie des produits transformés (**Welman et Maddox, 2003**). Ces composés polymères sont généralement considérés comme des agents épaississants naturels en industrie alimentaire. Les *Lb. delbrueckii ssp. bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus* produisant des EPS sont utilisés en tant que starters fonctionnels dans la fabrication des yaourts, ceci afin d'améliorer la texture, éviter la synérèse et augmenter la viscosité des produits finis (**Durlu-Özkaya et al., 2007**). L'utilisation des EPS produits par les souches *Lactococcus lactis ssp. cremoris* est très prometteuse pour la structure et la viscosité des produits laitiers fermentés (**Ruas-Madiedo et al., 2005**).

1-1-2. Pouvoir aromatisant :

Certaines bactéries lactiques sont capables de produire des composés d'arômes qui participent aux qualités organoleptiques des fromages. La plupart des composés d'arôme sont issus du métabolisme du citrate : l'acétoïne et le diacétyl sont les plus importants (**Tamime, 2002**). Cette fonctionnalité est particulièrement importante lors de l'élaboration des laits fermentés, des fromages frais, crèmes et beurre, dont l'arôme principal est lié à cette activité microbienne (**Cholet, 2006**).

La production de diacétyl est généralement associée à la fermentation du citrate. Les lactobacilles synthétisent de l'acétaldéhyde. La teneur en acétaldéhyde est à la fois fonction de son degré de synthèse et du rythme de sa dégradation (**Vignola, 2002**).

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

1-1-3. Pouvoir acidifiant :

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

Le pouvoir acidifiant des bactéries lactiques permet la coagulation du lait (en facilitant l'action de la présure) et l'augmentation de la synérèse du caillé; la participation aux propriétés rhéologiques du produit final; l'inhibition de la croissance des bactéries nuisibles (**Papamanoli et al., 2003**).

L'acidité d'un produit laitier est le plus souvent exprimée en degrés dornic (0.1g acide lactique par 1g de lait), comme elle peut également être exprimée en valeur de pH (**Corrieu, 2005**). Les conséquences du phénomène d'acidité chez les bactéries lactiques d'ordre physicochimique et microbiologique peuvent se résumer ainsi :

- L'accumulation de l'acide lactique participe à la saveur des aliments fermentés.
- L'abaissement progressif du pH du milieu de culture et des matrices alimentaires.
- La limitation des risques de développement des flores pathogènes et d'altération dans les produits finaux.
- La déstabilisation des micelles des caséines et coagulation du lait.

1-1-4. Pouvoir protéolytique :

La protéolyse joue un rôle clé dans plusieurs processus biologiques chez les bactéries lactiques : nutrition azotée, activation et dégradation de protéines, la machinerie protéolytique des bactéries lactiques est constituée d'un ensemble d'enzyme qui diffèrent par leur mécanisme catalytique, leur spécificité d'hydrolyse, leur localisation cellulaire et leur rôle. Les bactéries lactiques possèdent un système protéolytique complexe qui assure leur croissance dans des milieux à faibles concentrations en acides aminés libres et oligopeptides comme le lait (**Vignola et al., 2002**).

Le système protéolytique joue un rôle clé dans la fermentation du lait et permet l'obtention des acides aminés à partir des caséines, les protéines les plus abondantes dans le lait (**Moussaoui, 2013**).

Le système protéolytique des bactéries lactiques est composé de protéases associées à la paroi cellulaire, qui catalysent l'hydrolyse de protéines en peptides contenant de 7 à 16 résidus aminés, ces peptides sont ensuite dégradés par des endopeptidases ou exopeptidases en unités transportables d'acides aminés et de petits peptides. Les lactobacilles présentent généralement une activité protéolytique plus prononcée que les lactocoques (**Roudj et al., 2009**).

En général, les bactéries lactiques ont une faible propriété protéolytique sur les protéines myofibrillaires. Des peptidases issues de ces bactéries lactiques hydrolysent des oligopeptides et de ce fait, produisent les substances responsables de la flaveur et de la texture des produits fermentés (**Ammor et al., 2005**).

1-1-5. Pouvoir lipolytique :

La lipolyse a été largement étudiée dans le domaine alimentaire. Elle joue un rôle important dans la formation des substances aromatiques des produits transformés tels les jambons secs et les saucissons secs, bien que parfois elles soient à l'origine d'altérations. L'addition des lipases exogènes augmente significativement et rapidement la concentration en acides gras libres des produits fermentés (**Nguyet, 2008**).

Les bactéries lactiques possèdent des enzymes lipolytiques capables d'hydrolyser une multitude d'esters d'acides gras, des substrats de tri-di et mono acylglycérols (**Liu et al., 2001**).

L'activité lipolytique est relativement faible chez les ferments lactiques, et de très faible activité estérolytique, l'activité lipasique contribue à l'élaboration de la flaveur dans les produits laitiers particulièrement dans la maturation des fromages (**Mahamedi, 2015**).

1-1-6. Pouvoir antimicrobien : (Antibactérien, Antagoniste)

Les bactéries lactiques peuvent synthétiser des substances antibactériennes et sont utilisées dans la fermentation et la bioconservation des aliments. (Labioui et al., 2005)

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

Durant la fermentation du lait, différents agents antimicrobiens ayant la capacité d'inhiber le développement de bactéries pathogènes et/ou d'une flore de dégradation de l'aliment sont produits par les bactéries lactiques.

- Les acides organiques, comme l'acide lactique, l'acide acétique ou l'acide propionique, élaborés lors de la fermentation des glucides, peuvent inhiber des levures, des moisissures et des bactéries.
- Le peroxyde d'hydrogène produit par les bactéries lactiques s'accumule dans l'environnement et peut inhiber certains microorganismes (Ammor et al., 2006).
- Les bactériocines produites par les bactéries lactiques sont des peptides antimicrobiens de faible poids moléculaire. Elles ont une activité inhibitrice dirigée contre les bactéries proches de la souche productrice. Leur spectre d'action est généralement étroit. Cependant, la plupart ont une activité contre des pathogènes alimentaires tels que *Listeria monocytogenes* (Dortu et Thonart, 2009).

1-2. Dans le domaine thérapeutique : (Santé humaine)

Dans le domaine de la santé, certaines bactéries lactiques spécifiques sont utilisées comme probiotique c'est-à-dire des microorganismes vivants dont l'application à l'homme ou à l'animal exercent un effet bénéfique sur la santé de ce dernier par amélioration des propriétés de la flore intestinale. 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). Cependant depuis quelques années l'usage des bactéries lactiques dans d'autres écosystèmes (vaginal, mammaire) est évalué, ouvrant ainsi de nouvelles perspectives thérapeutiques (contre les

métrites ou les mammites) (**Bouchard, 2013**), également dans l'élaboration des vaccins (**Calvez et al., 2009**).

- Les bactéries lactiques constituent l'un des groupes incontournables de la microbiologie alimentaire (**Dridier et Prevost, 2009**). Comme depuis longtemps pour leur capacité de fermentation lactique associée à de nombreux aliments fermentés, leur participation à l'acquisition des propriétés nutritionnelles ou de la qualité sanitaire de l'aliment est plus récemment utilisée, et elles jouent un rôle important dans de nombreux procédés laitiers (**Raynaud, 2006**) et dans la fermentation de nombreux autres produits alimentaires : saumurage des légumes, boulangerie, fabrication du vin, saurissage des poissons, des viandes et des salaisons, etc. Elles contribuent à la texture, à la saveur des aliments et à la production de composés aromatiques (**Labioui et al., 2005**).

PARTIE

EXPERIMENTALE

Ce mémoire est réalisé dans des conditions de confinement (à cause de Covid-19) qui n'ont pas permis de réaliser un travail expérimental, par la suite on était obligé de réaliser une synthèse de travaux scientifiques.

Selon le protocole mené par : (Ghalouni E., Hassaine O., Karam N., 2018, Oran-Algérie).

Echantillon : L'ben

I- Matériels et méthodes :

Un total de 10 échantillons de L'ben traditionnellement fabriqués ont été collectés dans des élevages de vaches d'Algérie. Les échantillons ont été prélevés de manière aseptique dans des flacons stériles, transportés immédiatement au laboratoire dans une boîte isotherme fraîche et stockés à 4°C avant analyse.

1- Isolement des bactéries lactiques :

Tous les échantillons ont été dilués en série dix fois sur solution de NaCl (0,9%) et 1 ml de ces dilutions a été coulé en surface dans le milieu M17 (**Terzaghi et Sandine, 1975**) et MRS (**De Man et al., 1960**) ajusté au pH 5,5.

Après incubation à 30°C pendant 24 à 48h, les colonies ont été prélevées au hasard sur des boites de Pétri ayant un nombre de colonie entre 30 et 300 et plusieurs souches représentatives affichant les caractéristiques générales des bactéries lactiques ont été choisies pour la purification successive sur M17 et MRS (**Harrigan et Mc Cance, 1976**).

Le criblage des isolats purifiés a été réalisé selon la coloration de Gram et la catalase. Les souches de bactéries lactiques ont été stockées à -20°C dans du bouillon M17 et MRS avec du glycérol (80%).

2- Identification des bactéries lactiques :

Les souches de Gram positif et catalase négative ont été présumées identifiées comme LAB. Une identification plus poussée a été effectuée en utilisant les propriétés biochimiques suivantes: croissance à différentes températures et à pH 9,6 ainsi que la capacité de croissance dans les différentes concentrations de NaCl survie après chauffage de 60°C pendant 30 min (**Samelis et al., 1994**), production de gaz à partir du glucose déterminée sur le bouillon M17 et MRS contenant une cloche de Durham, hydrolyse de l'arginine testée sur M17 et MRS additionné du pourpre de bromocrésol (**Thomas, 1973**), et production d'acétoïne du glucose déterminée en utilisant le test de Voges-Prokauer (**Zourari et al., 1991**).

La fermentation des sucres a été déterminée dans le bouillon MRS et M17 sans glucose et extrait de viande, mais contenant du pourpre de bromocrésol (0,02 g/l) utilisé comme indicateur de pH et complété avec 1% des glucides suivants: glucose, fructose, lactose, saccharose, xylose, arabinose,

maltose, mannose, cellobiose, raffinose et mannitol. Pour garantir des conditions anaérobies, chaque tube a été rempli avec une goutte de paraffine stérile après inoculation (**Samelis et al ., 1994**).

Les isolats ont été sélectionnés pour identification au niveau des espèces en utilisant les galeries API 20 STREP. Les galeries ont été incubées à 30°C et les réactions ont été observées après 24h et 48h. La base de données Web API (API STREPTO) a été utilisée pour interpréter les résultats obtenus. Tous les tests phénotypiques ont été effectués deux fois pour chaque souche.

3- Caractérisation technologique :

3-1. Mesure de l'acidité :

Le lait écrémé stérilisé a été inoculé avec 1% de chaque souche précultivée et incubée à 30°C pendant 18h. À intervalles réguliers (1 heure), des échantillons ont été prélevés aseptiquement et la croissance des souches a été déterminée en mesurant la densité optique à 600 nm comme décrit par **Boutrou et al.,(1998)**.

3-2. Mesure de l'activité protéolytique :

Les 30 cultures bactériennes ont été évaluées pour leur capacité à la protéolyse de la gélose au lait écrémé (lait écrémé en poudre 4% et gélose 1,5%). Pour détecter l'hydrolyse des protéines, tous bactéries sélectionnées (LAB) ont été semées à la surface de la gélose au lait écrémé et ont été incubées à 30°C pendant 48h, puis refroidissement au réfrigérateur (4°C) pendant 3 jours comme décrit par **Pailin et al .,(2001)**.

L'hydrolyse des protéines a été observée par la production des halos clairs entourant les colonies isolées et le diamètre de chaque zone claire et sa colonie correspondante était mesuré et enregistré en mm.

Les essais ont été effectués en double et tous les résultats sont exprimés en moyennes. L'activité protéolytique (PA) a été exprimée comme le rapport du diamètre de la zone claire au diamètre de la colonie.

II- Résultat et discussion :

1- Isolement des bactéries lactiques :

Les enquêteurs ont découvert que les principaux genres LAB comprennent les lactobacilles, les lactocoques et les leuconostocs. La présence d'entérocoques et des streptocoques a également été signalée (**Beukes et al., 2001**).

Un total de 30 isolats obtenus de L'ben, de catalase négative et Gram positif ont été considéré comme appartenant au groupe des bactéries lactiques (LAB), et ont été identifiés par l'analyse morphologique, physiologique et biochimique et complétés à l'aide de l'API 20 STREP tel que décrit par le fabricant d'instructions.

Sur les 30 isolats, 24 isolats ont été identifiés comme appartenant au genre *Enterococcus*, 4 isolats à *Leuconostoc* et 2 isolats à *Lactococcus*.

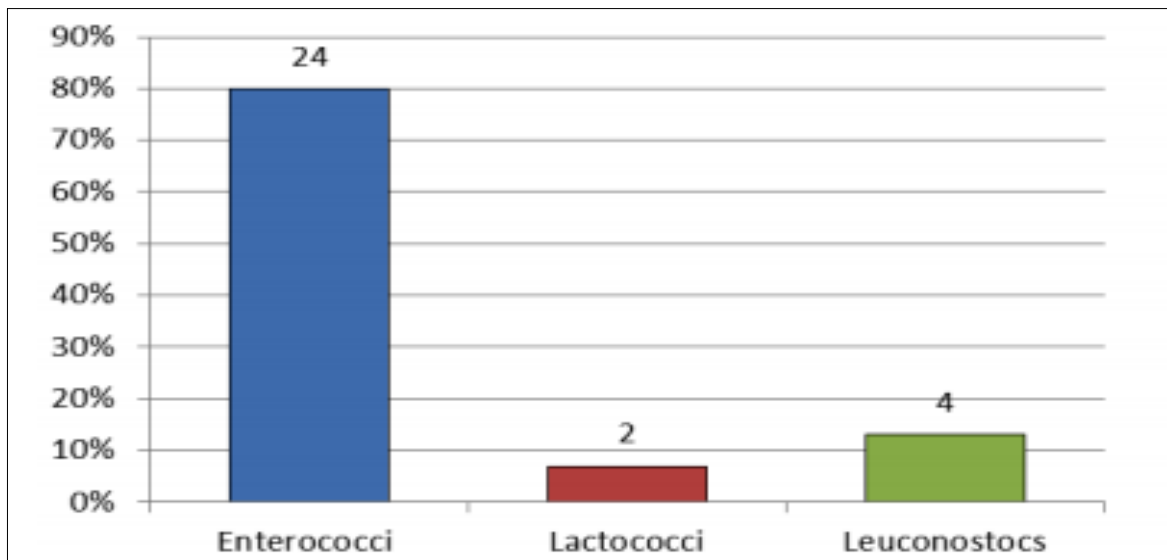


Figure 07 : La répartition en pourcentage des 30 souches isolées à partir des échantillons de l'ben Algérien

Les 24 entérocoques isolés ont été caractérisés par leur capacité à croître de 15 à 45°C dans le bouillon à 6,5% de NaCl et pH 9,6, peuvent survivre à 60°C pendant 30 min et former du NH₃ à partir de l'arginine, mais pas le CO₂ du glucose.

A ce niveau, les deux espèces classiques *Enterococcus faecalis* et *Enterococcus faecium* ont été identifiées, ces derniers ayant le même profil mais différent par l'hydrolyse du L-Arabinose où *Enterococcus faecium* métabolise ce sucre contrairement à *Enterococcus faecalis*, comme l'ont rapporté **Boubekri et Ohta (1996)**.

L'identification complémentaire au niveau des espèces grâce à l'utilisation de la galerie API 20 STREP a révélé que 11 souches sur 24 ont été identifiées à *Enterococcus faecium*, 9 à *Enterococcus faecalis* et 4 à *Enterococcus avium*.

Les 04 isolats à Gram positifs forme de cocci ovoïde affectés au genre *Leuconostoc* sont hétérofermentaires caractérisés par la production de gaz à partir du glucose (qui est une caractéristique importante pour les distinguer), mésophile (croître de 15 à 37°C, mais pas à 45°C),

thermosensible et incapable de croître à pH 9,6 également à 6,5% de NaCl. Tous ces isolats étaient ADH négatifs et ont fermenté le maltose et le galactose mais pas l'arabinose et le raffinose.

Selon le schéma de **Villani et al .,(1997)**, ils ont été présumés identifiés comme *Leuconostoc sp.* Les résultats de l'identification complémentaire de ces quatre souches avec le système API 20 STREP ont permis l'identification en tant que *Leuconostoc mesenteroides*.

Les deux isolats de *Lactococcus lactis* sont homofermentaires, mésophiles et thermosensibles et incapables de croître ni à pH 9,6 ni à 6,5% de NaCl.

Par référence à l'API 20 STREP système d'identification et le test ADH ils étaient subdivisés en deux sous-espèces; *Lactococcus lactis* subsp *lactis* (ADH positif), et *Lactococcus lactis* subsp *cremoris* (ADH négatif), de plus, ce dernier ne peut pas croître à 4% de NaCl et ne peut utiliser que très peu les glucides.

Cette étude a révélé que les échantillons de L'ben sont principalement dominés par le genre de *Enterococcus*, suivi par *Leuconostoc* et *Lactococcus*, avec une absence totale de lactobacilles. Ces mêmes observations déjà signalées précédemment dans les travaux de **Harrati (1974)**, où il a également noté l'absence de ces bactéries dans L'ben algérien et fait les hypothèses suivantes: Fermentation de lait par les lactocoques ne permettent pas suffisamment aux lactobacilles de se croître, présence de facteurs inhibiteurs des lactobacilles dans le lait algérien, leur développement est favorisé lorsque le lait est coagulé et lorsque L'ben atteint une acidité élevée. Selon **Ouadghiri et al .,(2009)**, la faible présence de lactobacilles dans L'ben ou même leur absence totale s'explique par la croissance retard de ce dernier dans des conditions mésophiles.

Selon **Švec et Franz (2014)**, les entérocoques sont des bactéries importantes dans la santé publique, leur association avec l'alimentation semble nocive car elles provoquent une détérioration, ou d'autre part, ils peuvent jouer un rôle important dans la maturation et le développement des arômes de certains produits fermentés traditionnels tels que fromage en particulier, ceux qui sont fabriqués dans les régions méditerranéennes.

Les entérocoques sont aussi utilisés comme probiotique et sont utiles dans le traitement des maladies diarrhéiques provoquées par des pathogènes. Quant aux leuconostocs, leur présence peut être liée à une contamination post-préparation.

Tous les membres de genre *Leuconostoc* est hétérofermentaire, fermentation du glucose via la voie de l'hexose-monophosphate pour produire des quantités équimolaires de l'acide lactique, éthanol et CO₂ (**Jay, 1992**).

De plus, ils sont capables de convertir le citrate en composés aromatiques tels que l'acétoïne et le diacétyle, une caractéristique qui serait fonctionnelle pour le développement d'arômes à L'ben. Ces bactéries sont généralement associées avec des habitats différents, et ont un incontestable dans la fermentation des aliments, mais ils peuvent également entraîner une détérioration (**Björkroth et al., 2014**).

Malgré cela, ces bactéries ne posent aucun problème de santé risque. Les leuconostocs sont considérés comme micro-organismes GRAS (**Ogier et al., 2008**).

Pour les lactocoques, un résultat identique par **Harrati (1974)** a été décrit en lait fermenté algérien « L'ben», où les deux souches: *Lactococcus lactis subsp. cremoris* et *Lactococcus lactis subsp. lactis* obtenues dans notre cas étaient identifiées.

Ces bactéries sont connues pour leur utilisation comme culture de départ de produits laitiers fermentés. Ils métabolisent le lactose du lait et leur rôle principal inclus dans le développement de la texture par la production d'exopolysaccharides (EPS) et d'arôme par la production de composés aromatiques (alcools et aldéhydes) et / ou par le métabolisme des citrates, acides aminés et lipides (**Kim, 2014**).

2- Production d'acide lactique :

La production d'acide est d'une importance capitale. En fait, la diminution du pH du lait est due à la production d'acide lactique à partir de fermentation de lactose (**Thomson et Gentry, 1994**). La quantité d'acide lactique varie selon les souches et leur capacité et le taux de dégradation de lactose, en effet la quantité de l'acide lactique produit après 19h d'incubation se situe entre 70 et 100°D dans la majorité des souches à l'exception de deux souches de *Leuconostoc* qui se démarquent de l'ensemble des souches car elles produisent une plus grande quantité d'acide lactique entre 112 et 117°D.

Ainsi, selon leur capacité de l'acidification, les souches ont été réparties comme suit: isolats hautement acidifiants qui coagulent le lait avant 10h d'incubation, isolats faiblement acidifiants qui coagulent le lait après 19h d'incubation, les isolats restants sont reconnus comme des isolats modérément acidifiants, ils coagulent le lait après 10 à 19h d'incubation. Les différentes acidités observées entre différents isolats ont été expliqués par **De Roissart (1986)**.

Les souches acidifiantes rapides sont donc bons candidats pour le processus de fermentation laitière comme culture de démarrage primaire, les souches peuvent être utilisées comme cultures d'appoint selon d'autres propriétés (**Ayad et al., 2004**).

3- Activité protéolytique :

L'apparition des zones claires de l'activité protéolytique dans le milieu de gélose au lait écrémé était facilement détectée. L'activité protéolytique des souches mésophiles ne diffèrent pas beaucoup entre les 30 souches étudiées à l'exception d'une seule souche de *Leuconostoc* qui émerge de l'ensemble des souches en raison de leurs plus grandes zones.

En réalité, un examen du rapport (halo / colonie) montre que cette souche présente une activité maximale contrairement aux autres qui ont une faible activité protéolytique. Ceci indique que les souches LAB ont de très faibles activités protéolytiques, conformément aux conclusions d'autres enquêteurs sur LAB provenant d'autres sources (**Hassaine et al., 2007**).

L'activité protéolytique du LAB laitier est essentielle pour la croissance des organismes dans le lait et elle est impliquée dans le développement des propriétés organoleptiques de différents produits fermentés (**Hassaine et al., 2007**).

Selon les travaux de : (Abd El Gawad I., Abd El Fatah A., Al Rubayyi K., 2010, Egypte)

Echantillon : Rayeb traditionnel

I- Matériels et méthodes :

40 échantillons de lait Rayeb fabriqués par méthode traditionnelle ont été collectés de façon aseptique. Des échantillons ont été transportés au laboratoire en utilisant une glacière et stockés sous réfrigération à 4°C jusqu'à utilisation.

1- Isolement des bactéries lactiques:

10 ml de chaque échantillon de lait Rayeb ont été aseptiquement ajouté dans 90 ml de NaCl (0,9%) stérile et bien mélangé.

Des dilutions en série (10^{-1} jusqu'à 10^{-7}) ont été effectuées et 1 ml de dilution a été directement inoculé en triple sur les milieux suivants :

- a) Gélose MRS, incubée en anaérobie pendant 48h à 37°C pour l'isolement des *Lactobacilli* (**De Man et al., 1960**).
- b) Gélose M17, incubée en aérobie pendant 48h à 37°C pour l'isolement des lactobacilles, des entérocoques et *Streptococcus thermophilus* (**Therzaghi et Sandine, 1975**).
- c) Gélose MRS contenant 30 µg/ml de vancomycine (MRS + V) incubé en anaérobie pendant 72h à 25°C pour l'isolement du *Leuconostoc* (**Florez et al., 2006**).

Après incubation, toutes les colonies représentant 15 à 20 colonies ont été encore purifiées par stries successives sur la gélose correspondante.

170 isolats purifiés ont été obtenus à partir des échantillons de Rayeb. Ces isolats ont été conservés dans du lait écrémé stérile supplémenté avec 15% (v/v) de glycérol agent cryoprotecteur et conservé à -20°C jusqu'au moment des tests.

2- Identification des bactéries lactiques :

2-1. Caractérisation préliminaire des isolats:

Tous les isolats ont été examinés au microscope après la coloration de Gram (**Sneath et al., 1986**). Activité de catalase et production de CO₂ à partir du glucose ont été également déterminées

pour identifier le genre des isolats. Uniquement les isolats à Gram positif et catalase négative ont été identifiés au niveau des espèces (**Harrigan et McCance, 1976**).

2-2. Test de catalase:

Une goutte de peroxyde d'hydrogène (3%) a été placée sur une lame microscopique propre. Un montant visible de croissance bactérienne a été ajouté. Les deux étaient mélangés et observés.

2-3. Production de CO₂ à partir du glucose:

50 µl de cultures d'une nuit ont été transférées dans les 8 ml de bouillon MRS et M17 contenant des cloches Durham. Après incubation pendant 5 jours à 30°C, l'accumulation de gaz dans les tubes Durham a été prise comme preuve de la production de CO₂ à partir du glucose.

2-4. Systèmes API:

Les bandelettes de test API 50 CHL (Biomérieux, France) ont été utilisées pour l'identification des lactobacilles, lactocoques, leuconostocs, pediocoques et *Str. thermophilus* alors que l'API 20 STREP (Biomérieux, France) a été utilisée pour les tests enzymatiques et profils de fermentation des glucides des entérocoques. Le système API a été utilisé selon les instructions du fabricant. La base de données de l'API LAB PLUS (Bio Merieux, France) a été utilisée pour l'interprétation des résultats.

3- Tests de performance:

3-1. Production d'acide:

La capacité de production d'acide a été testée par inoculation des cultures de 24h avec 10% de lait écrémé, incubation à 30°C. L'acidité était déterminée toutes les 1h à 7h d'incubation.

3-2. Activité antibactérienne:

Les isolats LAB ont été testés pour leur activité antibactérienne par la méthode de diffusion de puits d'agar (**Varadaraj et al., 1993**).

Les souches indicatrices utilisées ont été *E. coli* et *S. aureus*. Les souches pures ont été cultivées dans des bouillons et ont été ajoutées à 0,1ml dans chaque puits et les boîtes de Pétri ont été maintenues à 4°C pendant 2h pour faciliter la diffusion de la culture. Les boîtes ont ensuite été incubées à 37°C pendant 24h.

Les boîtes ont été vérifiées pour les zones d'inhibition entourant les colonies de souches productrices (Geis et al., 1983).

II- Résultats et discussion:

1- Isolement et identification du LAB:

Les bactéries lactiques étaient le groupe microbien prédominant dans le lait Rayeb, qui est important en raison de rôle qu'elles jouent dans les processus de fermentation et production d'acide lactique et le rôle antimicrobien ainsi que son utilisation potentielle comme démarreur de lait Rayeb en production standardisée.

Pour cette raison, les souches LAB ont été isolées et identifiées. 170 LAB isolées des échantillons de lait Rayeb ont été identifiées phénotypiquement.

Les isolats ont été regroupés sur la base de la coloration de Gram (forme cellulaire, arrangement cellulaire), de la catalase, production d'acide et la production de gaz à partir du glucose.

Sur la base des caractéristiques phénotypiques, la majorité des isolats étaient Gram positif et catalase négative.

Le tableau N°01 résume les résultats décrits ci-dessus et distribution d'isolats provenant des différents milieux: 67 isolats sur gélose M17, 57 isolats sur gélose MRS et 46 isolats sur gélose MRS + V.

Tableau 01: Groupement des souches représentatives de LAB isolées à partir de lait Rayeb traditionnel utilisant des différents milieux.

Genre	Milieu de culture			Totale
	M17	MRS	MRS+V	
<i>Streptococci</i>	25	4	2	31
<i>Lactobacilli</i>	-	46	4	50
<i>Leuconostoc</i>	-	5	40	45
<i>Enterococci</i>	32	2	-	34
<i>Aerococci</i>	10	-	-	10
Totale	67	57	46	170

Les milieux de culture utilisés pour le comptage des différents groupes de bactéries lactiques: M17 pour streptocoques, MRS pour lactobacilles, MRS + vancomycine ($\mu\text{g/ml}$) pour *Leuconostoc spp*

La sélectivité du milieu MRS était de 92,0% pour *Lactobacilli* et moins de 10% pour les autres genres, tandis que la sélectivité de milieu MRS + V était de 88% pour *Leuconostoc* et inférieure à 10% pour les autres genres.

La figure 08 illustre la distribution au niveau du genre, 170 LAB identifié à partir du lait Rayeb. Les isolats ont été divisés en cinq genres: les lactobacilles (30%), leuconostocs (26%), entérocoques (20%) streptocoques (18%) et aerocoques (6%)

Des résultats similaires ont été rapportés par **Savadoغو et al .,(2004)** et **Harun-ur-Rashid et al .,(2007)**. Ils ont identifié six genres de lait fermenté traditionnel : *Leuconostoc*, *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Streptococcus* et *Pediococcus*.

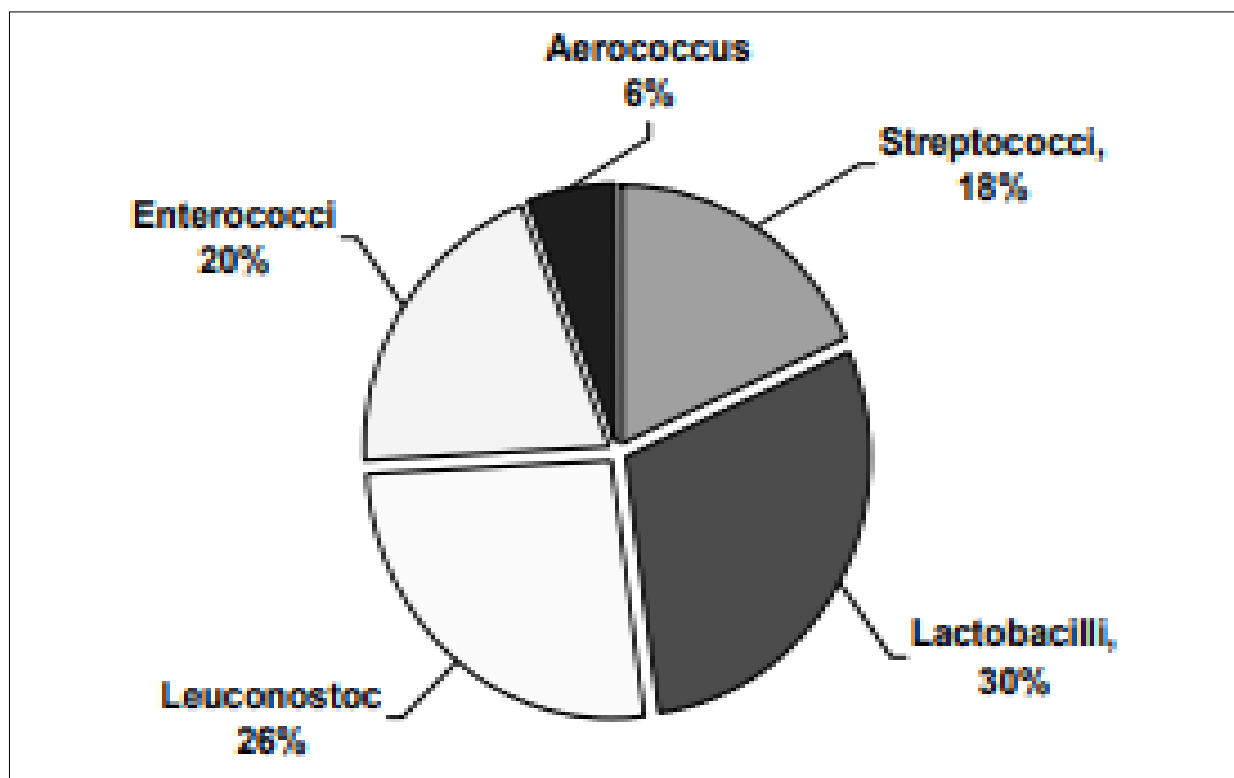


Figure 08 : Distribution de LAB au niveau du genre isolé de lait Rayeb traditionnel en Egypte.

La dominance du *Lactobacillus* parmi les souches isolées est conforme à la découverte d'**El-Shafei (2002)**, comme le lait Rayeb est l'hétérogène mélange de différents micro-organismes.

2- Identification du LAB au niveau de l'espèce:

Les LAB isolées ont été identifiées sur la base de leurs caractéristiques morphologiques, production du gaz et d'acide à partir du glucose et de lactose (**tableau 02**). Sur la base des caractéristiques phénotypiques et interprétation de la base de données API, 38 souches ont été identifiées de manière satisfaisante, dont 22 ont été identifiées à l'aide d'un profil sucre - fermentation API 20 STREP et 16 ont été identifiées à l'aide de l'API 50 comme montré dans le **tableau 02**.

Ces souches étaient provisoirement identifiées comme *Str. thermophilus*, *Lb. bulgaricus*, *Lb. helveticus*, *Lb. acidophilus*, *Lb. delbuerkii*, *Leu. cremoris*, *Ent. faecium*, *Str. durans*, *Str. acidomonas* et *Aer. viridans*.

Tableau 02 : Caractérisation morphologique et physiologique de LAB isolé du Rayeb traditionnel.

Espèces	Nombre d'isolat	Forme des cellules	Coloration de Gram	Catalase	Acide à partir du glucose	Acide à partir du lactose	CO2 à partir du glucose	Arrangement cellulaire
<i>Ent. faecium</i>	11	Sphérique	(11) +	-	+	+	2/9	Paire et chaîne courte
<i>Aer. viridians</i>	7	Cocci	(7) +	-	+	+	1/6	Isolé et paire
<i>Str. acidomonas</i>	4	Sphérique	(4) +	-	+	+	0/4	Courte chaîne
<i>Lb. bulgaricus</i>	4	Rond	(4) +	-	+	+	0/4	Isolé, paire et chaîne courte
<i>Lb. acidophilus</i>	3	Rond	(3) +	-	+	+	0/3	Isolé, paire et chaîne courte
<i>Str. thermophilus</i>	3	Sphérique	(3) +	-	+	+	0/3	Paire et longue chaîne
<i>Lb. delbuerkii</i>	2	Rond	(2) +	-	+	+	0/2	Isolé, paire et chaîne courte
<i>Leu. cremoris</i>	2	Cocci	(2) +	-	+	-	2/0	Paire et chaîne courte
<i>Lb. helveticus</i>	1	Rond	(1) +	-	+	+	0/1	Isolé, paire et chaîne courte
<i>Str. durans</i>	1	Cocci	(1) +	-	+	+	0/1	Paire et courte chaîne

(+) toutes les souches positives, (-) toutes les souches négatives, (- / -) nombre de souches positives / négatives

Tableau 03 représente les résultats API des souches isolées, basé sur l'identification API 20 STREP, 11 isolats (28,9%) ont été enregistrés comme *Ent. faecium*, 7 isolats (18,4%) comme *Aer. viridans* et 4 isolats (10,5%) comme *Str. acidominimus* (**tableau 03**).

Le haut pourcentage d'*Ent. faecium* est un indicateur clé dans le rôle des processus de fermentation joué par ces bactéries dans le lait Rayeb (**tableau 03**).

Les souches de *Lactobacillus* (26,3%) ont été classées en 4 espèces. *Lb. bulgaricus* était l'espèce prédominante (10,5%) suivie de *Lb. acidophilus* (7,9%), *Lb. delbuerkii* (5,3%) et *Lb. helveticus* (2,6%).

Beukes et al.,(2001) et Harun-ur-Rashid et al .,(2007) ont signalé que 5 genres de LAB (*Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Leuconostoc* et *Lactococcus*) ont été trouvés dans des fermentes traditionnelles du lait sud-africain.

Parmi les autres espèces trouvées dans le Rayeb, *Str.thermophilus* qui représente 7,9% tel qu'identifié par l'API 50 CHL. Deux des 38 représentants les isolats (5,3%) ont été identifiés comme *Leu. Mesenteroides subsp. cremoris*.

Les analyses représentant ces isolats (38 isolats) ont montré que 2,6% appartenait à l'espèce *Enterococcus durans*.

La prédominance des genres de *Lactobacillus* en raison de ces types de bactéries est généralement associée aux conditions climatiques chaudes de régions productives (**Cueto et al., 2007**).

Tandis que des souches de *Leuconostoc* ont été trouvées à un faible niveau car sont des bactéries mésophiles, complexes nutritionnelles exigences et montrent une faible compétitivité pendant la fermentation du lait (**Mathara et al., 2004**).

Toutes ces espèces identifiées peuvent contribuer à la qualité du lait fermenté traditionnel Rayeb par production d'acide, de saveur et d'arôme.

Tableau 03 : Résultats API de souches isolées

Espèces identifiées à l'aide d'un système d'API	Nombre des souches identifiées	Fréquence (%) au total	Fréquence (%) dans le genre
<i>Ent. faecium</i>	11	28.9	100
<i>Aer. viridans</i>	7	18.4	100
<i>Str. acidomonas</i>	4	10.5	50
<i>Lb. bulgaricus</i>	4	10.5	40
<i>Lb. acidophilus</i>	3	7.9	30
<i>Str. thermophilus</i>	3	7.9	37.5
<i>Lb. delbuerkii</i>	2	5.3	20
<i>Leu. cremoris</i>	2	5.3	100
<i>Lb. helveticus</i>	1	2.6	10
<i>Str. durans</i>	1	2.6	12.5

3- Propriétés technologiques des isolats LAB:

Etude des propriétés technologiques des LAB isolées du Rayeb traditionnel est un critère important pour la sélection des cultures de départ utilisées dans la production standardisée de Rayeb.

3-1. Activité acidifiante:

Le tableau 04 montre les activités technologiques des isolats du lait Rayeb traditionnel (production d'acide et activité antibactérienne).

Les souches	Nombre des isolats	Activité antibactérienne				Acidification et coagulation		
		<i>E.coli</i>		<i>S.aureus</i>		3h	4h	5h
		-	+	-	+			
<i>Ent. faecium</i>	11	11	-	11	-	-0.37	-0.48	+0.71
<i>Aer. viridans</i>	7	7	-	7	-	-0.38	-0.42	+0.52
<i>Str.acidomonas</i>	4	-	4	-	4	-0.44	+0.65	+0.73
<i>Lb. bulgaricus</i>	4	3	1	2	2	-0.36	-0.59	+0.81
<i>Lb. acidophilus</i>	3	3	-	3	-	-0.35	+0.63	+0.81
<i>Str. thermophilus</i>	3	3	-	3	-	-0.25	-0.50	+0.58
<i>Lb. delbuerkii</i>	2	2	-	2	-	-0.43	+0.73	+0.79
<i>Leu. cremoris</i>	2	1	1	2	-	-0.19	-0.25	-0.28
<i>Lb. helveticus</i>	1	1	-	1	-	+0.65	+0.97	+1.5
<i>Str. durans</i>	1	1	-	1	-	+0.38	+0.46	+0.65

Les résultats ont révélé que l'activité acidifiante de *Lactobacillus* était plus élevée que l'activité des autres espèces.

Les données du **tableau 04** montrent un exemple typique de 10 cultures avec différents taux d'acidification. L'acidité était plus élevée à 5h surtout pour *Lb. helveticus* qui atteint le maximum (1,5%).

Toutes les souches de *Lb. bulgaricus*, *Lb. acidophilus* et *Lb. delbuerkii* sont considérées comme des producteurs d'une acidité titrable plus élevée qui atteint 0,79-0,81%.

La capacité acidifiante des isolats obtenus du *Str. thermopilus* étaient relativement homogènes, après incubation de 5h.

Cependant, les valeurs étaient autour de 0,58% après 5h. La vitesse d'acidification était lente par comparaison avec les isolats de *Lactobacillus*. Celles-ci les résultats sont en accord avec **Badis et al .,(2004)**.

Parmi les autres souches isolées trouvées dans la présente étude sont *Ent. faecium*, *Aer. viridans*, *Str. acidomonas* et *Str. durans* qui ont produit de l'acidité variait entre 0,52 et 0,73% après 5h d'incubation.

Une activité acidifiante lente a été trouvée dans isolats de *Leuconostoc*. Ce genre est hétérofermentaire et sensible à la croissance à faible pH (**Kihal et al., 1996**).

L'activité acidifiante de chaque souche est liée à sa capacité spécifique à se décomposer les substances présentes dans le milieu et capable d'assimilation. Parfois, des différences sont en raison de la présence ou de l'absence de systèmes de transport des nutriments (**Albenzio et al., 2001**).

A partir du **tableau 04**, on peut remarquer que *Lb. helveticus* n'a provoqué que la coagulation du lait après 3h.

Cependant, toutes les souches isolées sauf *Leu. cremoris* ont provoqué la coagulation du lait après 5h avec taux différent de production d'acide.

Coagulation du lait par les souches LAB montre leur potentiel en tant que démarreurs d'appoint dans la production de lait fermenté.

3-2. Activité antibactérienne:

La culture du LAB, qui comprenait 38 isolats des genres *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Enterococcus* et *Aerococcus* isolés du lait Rayeb traditionnel a été testée par méthode de diffusion pour savoir si les métabolites antibactériens sont produits.

Dans le **Tableau 04**, il pourrait être remarqué que *Str.acidomonas*, *Lb. bulgaricus* et *Leu cremoris* ont montré l'activité antibactérienne contre les souches indicatrices d'*E.coli* et *S. aureus*.

Parmi les souches de *Lb. bulgaricus*, une seule souche a montré une activité antibactérienne contre *E. coli*.

Ce suggère que les propriétés antimicrobiennes de ces souches peut réduire le nombre d'autres micro-organismes indésirables dans les produits laitiers ainsi que d'effectuer rôles essentiels dans la conservation du produit pour la consommation humaine (**Mufandaedza et al., 2006**)

Protocole mené par : (Dahou A., Homrani A., Bensaleh F., Medjahed M., 2015, Naama-Algérie).

Echantillon : J'ben

I- Matériel et méthodes

Dans notre expérimentation, nous avons utilisé le matériel biologique suivant : Fromage frais type J'ben. Des échantillons de fromage ont été prélevés aseptiquement dans des récipients stériles des différentes fermes des villes de Khabaza, Touadger et Fortassa de la wilaya de Naama et conservés à basses températures jusqu'à la mise en route des analyses expérimentales au laboratoire.

1- Origine des échantillons de J'ben :

Les fromages récupérés des différentes exploitations sont comme suit :

- 1^{ère} Exploitation du village Khabaza de la commune d'Elbiodh de la wilaya de Naama : Fromage frais traditionnel type J'ben avec du lait de brebis de race Rembi
- 2^{ème} Exploitation de la commune de Touadger de la wilaya de Naama : Fromage frais traditionnel type J'ben avec du lait de vache de race la brune de l'Atlas
- 3^{ème} Exploitation de la commune Sfissifa de la wilaya de Naama : Fromage frais traditionnel type J'ben avec du lait de chèvre de race Arabia.

Les fromages récupérés sont issus d'un cheptel de race locale ; d'un système d'élevage extensif et traditionnel. La collecte du lait est manuelle, précédée d'un nettoyage des mamelles. Les échantillons de J'ben collectés ont subi des analyses physico-chimiques du pH de la matière sèche, de la matière grasse et du taux d'humidité.

2- Méthodes d'appréciation de la flore lactique du J'ben :

Les méthodes d'appréciation de la flore lactique du J'ben ont été établies par approche classique par des cultures sur milieu M17 et MRS dépendantes.

3- Analyses microbiologiques :

La solution mère a été préparée en réalisant une dilution au dixième. A partir de cette solution mère, des dilutions décimales adaptées à l'échantillon ont été effectuées. Des aliquotes ont été prélevées et étalées sur milieu mixte de Man-Rogosa-Sharpe (MRS) agar (additionné d'acide sorbique), et de M17 agar additionné d'acide sorbique et incubés à 30°C et 45°C en condition

d'anaérobie pendant 48-72 heures. Les colonies ont été comptées pour chaque dilution pour déterminer le nombre UFC/g.

Trois répétitions d'analyse de la flore lactique totale ont été réalisées sur les 03 échantillons de J'ben et cela dans le but de déterminer la dominance des bactéries lactiques pour chaque fromage.

4- Pré-identification :

La pré-identification a comporté des tests rapides qui permettent l'orientation de l'identification par l'étude morphologique des bactéries lactiques sur un aspect macroscopique et microscopique.

Observation microscopique à l'état frais : l'examen direct à l'état frais a permis d'apprécier la morphologie des bactéries, leurs groupements, leur abondance et observer leur mobilité.

5- Caractérisation biochimique et identification phénotypique des isolats obtenus :

Les colonies apparemment caractéristiques des groupes bactériens à étudier ont été caractérisées biochimiquement comme suit : isolats purifiés différenciés par la recherche de la catalase et la coloration de Gram.

Les bactéries bacilles ou coques, Gram-positives et catalase négative ont été retenues comme étant des bactéries lactiques. L'identification des souches s'est basée sur les techniques classiques de microbiologie basées sur la recherche d'un certain nombre de caractères morphologiques, physiologiques et biochimiques. Toutes ces techniques ont été décrites par **Badis et al .,(2005)**.

6- Etudes de quelques aptitudes technologiques des isolats :

6-1. Activité antibactérienne :

Ce test consiste à étudier l'activité inhibitrice des bactéries lactiques isolées vis-à-vis des souches indicatrices : il s'agit de trois souches : *Escherichia coli*, *Salmonella* et *Staphylococcus aureus*.

6-2. Pouvoir protéolytique :

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

II- Résultats et discussions :

1. Analyses physico-chimiques du fromage :

Les valeurs moyennes des paramètres physico-chimiques obtenues dans l'étude sont en adéquation avec ceux obtenues par **Mennane et al .,(2007)**.

La grande variabilité observée pour les fromages traditionnels Algériens et même sur la base de données limitées reflète la typicité des transformations laitières traditionnelles à chaque région, cela nécessite une caractérisation de ces produits laitiers traditionnels en respectant la spécificité de chaque fromage dont le J'ben par région du pays.

Tableau 05 : Incidence des bactéries lactiques dans les différents échantillons de J'ben

Origine du fromage	KHABAZA NAAMA	TOUADJER NAAMA	FORTASA NAAMA
Type du fromage	J'ben de brebis	J'ben de vache	J'ben de chèvre
Analyses réalisées			
Gras / sec : G/S %	25	18	24
pH	4,57	4,62	4,81
Eau (g/100g)	72	66	58
Matière sèche (g/100g)	28	34	42
Matière grasse (g/100g)	7	6	10
UFC/g	10 ⁸	2 10 ⁴	5 10 ⁴
Espèces apparentées	<i>Enterococcus</i> 50% <i>Lactococcus</i> 35% <i>Pediococcus</i> 15%	<i>Enterococcus</i> 70% <i>Lactococcus</i> 30%	<i>Lactobacillus</i> 60% <i>Lactococcus</i> 25% <i>Leuconostoc</i> 10% <i>Pediococcus</i> 5%
Isolats	3	2	4

Le **Tableau 05** montre que les bactéries lactiques sont présentes dans les 03 échantillons de J'ben analysés à des dénombrements respectifs de : 2 10⁶ UFC/g pour le fromage J'ben de vache, 5 10⁶ UFC/g pour le fromage J'ben de chèvre et 10⁸ UFC/g pour le fromage J'ben de brebis.

La dominance des bactéries lactiques pour chaque fromage est comme suit : Pour le J'ben de brebis on remarque une dominance à 50% par des *Enterococcus*, 35% *Lactococcus* et 15%

Pediococcus alors que le J'ben de vache est dominé à 70% par *Enterococcus* et 30 % par *Lactococcus*.

Cette observation est en accord avec celle déjà décrite par **Boubekri et Ohta,(1996)**. Le J'ben de chèvre est à 60% *Lactobacillus*, 25% *Lactococcus*, 10% *Leuconostoc* et 5% *Pediococcus*.

Cependant toutes les études menées à ce jour par plusieurs auteurs **Aissaoui et Zidoune,(2006)**; **Ouadghiri et al .,(2009)** ont décrit comme espèces majoritaires et par ordre *Enterococcus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc* et *Lactobacillus* dans surtout le J'ben préparé à base de lait de vache.

Or dans le cas de cette étude, la dominance est différente par fromage ; variabilité liée au lait utilisé issu d'un cheptel varié (cheptel de vache laitière locale «Brune de l'atlas», de brebis «Rembi » et de chèvre « Arabia ») donnant ainsi des variantes génétiques des lacto-protéines du lait se répercutant ainsi sur la qualité de la flore lactique. Tout cela est en conformité avec les résultats de **Monnet et al .,(2008)**.

Dans tout cela, le J'ben de vache a la même tendance sur le plan dominance des espèces bactériennes lactiques avec les résultats des études faites.

A partir des 03 échantillons de fromage, ils ont obtenu 09 isolats décrite dans le **Tableau 05** et qui ont été rattachés à chaque J'ben suivant la qualité du lait utilisé. Le nombre se détermine avec la qualité de l'échantillonnage en relation avec le nombre d'exploitations d'élevage et de transformation comme décrite par **Benkerroum et Tammime,(2004)**.

2. Analyses microbiologiques :

Les bactéries lactiques ont été dénombrées dans tous les échantillons de fromage étudiés. Leur nombre varie de $5 \cdot 10^6$ UFC/g à 10^8 UFC/g .Cette différence de nombre de bactéries lactiques dans les échantillons analysés est le résultat de la variabilité des laits utilisés crus dans la fabrication de ces fromages.

3. Pré-identification :

La micromorphologie des espèces isolées va de coques diplocoques et en chainettes pour les entérocoques lactiques, de coques diplocoques et en chainettes pour les lactocoques, de coques ovales en chainettes pour les leuconostocs, de coques en tétrades pour les pédiocoques, de bacilles filamenteux pour le lactobacille thermophile et de petits bacilles en chainettes pour le lactobacille mésophile avec une observation microscopique x1000.

Cette approche micro-morphologique a été décrite sur la base des techniques déjà établies par **Gusils et al .,(2010)**.

Tableau 06: Les milieux utilisés et les conditions d'incubation pour l'isolement des bactéries lactiques

Microorganismes	Milieu d'isolement	Température °C	Durée (h)	Incubation
Entérocoques lactiques	M17 pH = 6,5	45	72	Aérobiose
Lactocoques	M17 pH = 6,5	30	72	Aérobiose
Leuconostocs	Milieu hypersalé 6,5% pH = 9,5	30	72 à 96	Aérobiose
Pediocoques	M17 pH = 6,5	30	72	Aérobiose
Lactobacilles mésophiles	MRS pH = 6 et 5,5	30	72	Aérobiose à Anaérobiose
Lactobacilles thermophiles	MRS pH = 6 et 5,5	45	72	Anaérobiose

La caractérisation a porté surtout sur certains facteurs de croissance telle que la température d'incubation et le pH optimal. En comparaison des paramètres de croissance des bactéries lactiques définis par **Mennane et al .,(2007)**.

On a déterminé que les leuconostocs se développent à une température variable entre 18 et 30°C avec un optimum à 30°C, une incubation en aérobiose et une tolérance aux variations des concentrations ioniques.

Ces bactéries acceptent des concentrations allant jusqu'à 6,5 % de sel mais non obligatoire pour leur croissance. Ces espèces de leuconostocs peuvent être apparentées à *Leuconostoc mesenteroide* puisqu'en plus de leur tolérance des milieux hypersalés, préfèrent un pH alcalin de 9,6 par rapport à la majorité des bactéries lactiques neutrophiles qui se développent à un pH compris entre 5,5 et 6,5 avec un optimum voisin de 6,5 sauf pour les espèces *Lactobacillus acidophiles* qui se multiplient mieux dans les milieux acides à des pH de 4,5 soit le cas des 02 *Lactobacillus* isolés.

D'un autre côté, les lactobacilles et les leuconostocs, bactéries lactiques hétéro-fermentaire sont dégagé du gaz carbonique CO₂ , pour la première espèce une concentration de 5-10% stimule sa

croissance cela est en adéquation avec les résultats de **El-Baradei et al .,(2008)** et pour la deuxième espèce cette caractéristique est soit déclarée comme accident de fabrication suite au problème des trous précoces dans les jeunes fromages fabriqués ou bien recommandée pour certaines technologies fromagères à l'exemple du fromage roquefort.

Tableau 07 : Caractères morphologiques et physiologiques des genres présumés des bactéries lactiques isolées

Macro-morphologie	Milieux d'isolement	Température °C	Groupes
Colonies blanches, rondes ou lenticulaires	Coques – diplocoques et en chaînettes	45	Entérocoques lactiques
Colonies blanches, rondes ou lenticulaires	Coques – diplocoques et en chaînettes	30	Lactocoques
Colonies transparentes très petites rondes	Coques ovales en chaînettes	30	Leuconostocs
Colonies lisses arrondies grisâtres ou blanchâtres	Coques en tétrades	30	Pediocoques
Petites colonies blanches, rondes ou lenticulaires	Petits bacilles en chaînettes	30	Lactobacilles mésophiles
Petites colonies blanches à centre marron et bombé	Bacilles longs enroulés ou filamenteux isolés ou en chaînettes	45	Lactobacilles thermophiles

D'un autre côté, en plus des milieux d'isolement utilisés soit le M17 pour les formes coques et MRS pour les formes en bacilles ; milieux qui doivent satisfaire leurs besoins nutritifs et énergétiques, un bouillon BEA utilisé pour la caractérisation des entérocoques lactiques comme énoncé par **Bouton et al.,(2006)** a été déterminant par le développement d'un trouble caractéristique par rapport aux témoins des autres espèces en forme coques.

Les autres bactéries lactiques isolées dont les lactobacilles mésophiles, lactocoques et les pédiocoques ont un optimum de croissance à une température de 30 °C et à un pH neutrophile de 6,5 et une tolérance d'un pH de 4,5 pour le lactobacille mésophile.

Le lactobacille thermophile tolère un optimum en température de 45 °C et un pH de croissance de 6 et une tolérance acidophile de 4,5 comme déjà noté par **Mallet et al .,(2010)**.

Tableau 08 : Profil physiologique et biochimique des souches lactiques isolées

Souche / Caractère	<i>Enterococcus</i>	<i>Lactococcus</i>	<i>Leuconostoc</i>	<i>Pediococcus</i>	Lactobacille mésophile	Lactobacille thermophile
Gram	+	+	+	+	+	+
Forme	Coque	Coque	Coque	Coque	Bacille	Bacille
Catalase	-	-	-	-	-	-
Croissance à 30°C	-	+	+	+	+	+
Croissance à 45°C	+	-	-	-	-	+
Croissance à 6,5% NaCl	+	+	+	+	+	+
Croissance à pH = 4,5	-	-	-	-	+	+
Croissance à pH = 6,5	+	+	+	+	+	+
Croissance à pH = 9,6	-	-	+	-	-	-
Croissance sur BEA	+	-	-	-	-	-

Biochimiquement les isolats sont catalase négative et de Gram positif ce qui est caractéristique des bactéries lactiques.

4. Etudes de quelques aptitudes technologiques des isolats :

4-1. Activité antibactérienne :

L'activité antibactérienne comme décrite par **Ammor et al .,(2006)** en milieu agar nutritif testée d'une part sur des souches indicatrices d'altération d'*Escherichia coli* et d'autre part de *Staphylococcus aureus* et de *Salmonella* a révélé un pouvoir antagoniste des souches isolées avec une inhibition totale de *Staphylococcus aureus* par toutes les espèces isolées et partielle de *Salmonella* pour les genres présumés *Enterococcus*, *Lactococcus* et *Leuconostoc*.

4-2. Pouvoir protéolytique :

Selon **Veuillemard (1986)**, la souche est dite protéolytique si elle présente une zone de lyse sur le milieu utilisé agar-lait et leurs souches isolées se sont révélées protéolytiques dont le diamètre des zones de protéolyse étaient compris entre 6,5 et 12 mm.

Tableau 09 : Activité antibactérienne des souches isolées sur des germes pathogènes.

Souches isolées	<i>Escherichia coli</i> Halo en mm	<i>Staphylococcus aureus</i> Halo en mm	<i>Salmonella</i> Halo en mm
<i>Enterococcus</i>	0	11	8
<i>Lactococcus</i>	0	16	12
Lactobacille thermophile	0	7	0
Lactobacille mésophile	0	9	0
<i>Leuconostoc</i>	0	10	14
<i>Pediococcus</i>	0	6	0

En tenant compte du rapport des experts de l'organisation mondiale de gastro-entérologie et les recommandations pratiques de **Kaufmann et al .,(2008)**, leurs espèces présumées de *Lactobacillus* et *Lactococcus* peuvent être incluses dans le groupe des probiotiques.

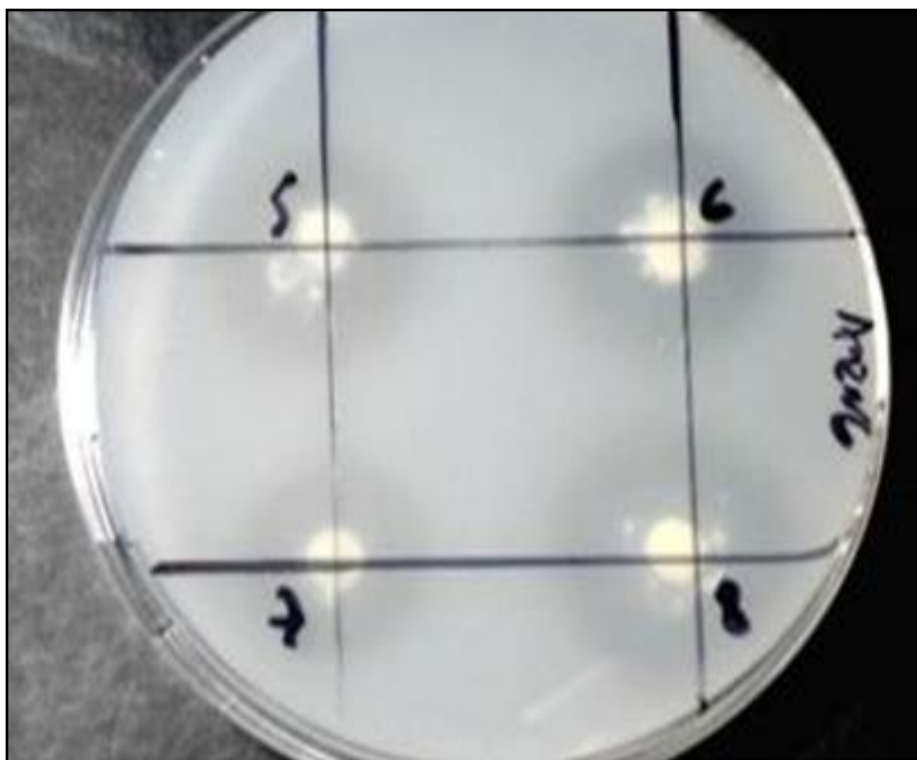


Figure 09 : Activité antibactérienne des souches isolées.

Tableau 10 : Activité protéolytique des souches de bactéries lactiques isolées.

Souches isolées	Observations	Diamètre en mm	Numéro de l'halo
<i>Enterococcus</i>	Croissance avec protéolyse	6,5	7
<i>Lactococcus</i>	Croissance avec protéolyse	12	8
Lactobacille thermophile	Croissance avec protéolyse	7	8S
Lactobacille mésophile	Croissance avec protéolyse	8	9
<i>Leuconostoc</i>	Croissance avec protéolyse	8,5	6
<i>Pediococcus</i>	Croissance avec protéolyse	10	5

Le genre présumé *Lactococcus* est fortement protéolytique comparativement aux autres. Cela démontre les potentialités différentes des bactéries lactiques liées à leur équipement enzymatique pour l'utilisation de la fraction azotée.

**Figure 10** : Activité protéolytique des souches de bactéries lactiques isolées.

Les diverses activités évaluées sont de très bons indices afin de recomposer de nouveaux ferments ayant des aptitudes technologiques donnant des fromages caractéristiques de très bonne qualité nutritionnelle et organoleptique.

III- Conclusion générale :

Les résultats de ces travaux ont montré que plusieurs espèces et genres de LAB peuvent être isolés du lait de vache fermenté algérien " L'ben ". Une dominance de 80% des entérocoques, 13% des leuconostocs et 7% des lactocoques a été détectée. Ces isolats ont montré des propriétés technologiques intéressantes notamment pour les souches de *Leuconostoc mesenteroides*, ces dernières pourraient être utilisées comme point de départ dans la fabrication des produits laitiers.

L'étude sur le Rayeb a montré que les bactéries lactiques sont la microflore dominante, qui a un effet significatif sur la qualité globale du lait Rayeb.

L'étude du J'ben réalisée a apporté une approche confirmative sur la composition de l'écosystème microbien lactique du J'ben issu des zones steppiques de l'Algérie et plus précisément de la wilaya de Naama.

Ces produits dérivés du terroir d'une transformation traditionnelle des laits crus d'un cheptel différent et de race locale montrent cette grande diversité d'espèces qui dépend d'une même région et de ses exploitations d'élevage. La comparaison des résultats avec ceux cités dans la bibliographie sur des produits similaires permet de conclure que notre pays dispose d'un écosystème microbien lactique riche et que nos produits laitiers traditionnels peuvent être une source non négligeable d'espèces microbiennes soit en flore lactique ou en flore d'affinage avec des propriétés technologiques très intéressantes.

La divergence des résultats peut être expliquée d'une part par les conditions climatiques et géographiques différentes, d'autre part par la qualité des laits crus utilisés dans la transformation obtenue de lactations différentes ; d'un cheptel diversifié et par la qualité de la nourriture selon les saisons sans oublier la qualité et la quantité de l'échantillonnage utilisé pour la réalisation des études établies. On observe la même tendance ; *Enterococcus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc* et *Lactobacillus* sont les bactéries lactiques les plus fréquemment rencontrées.

Des espèces telles que *Lactococcus* et *Lactobacillus* sont devenues rares dans les pays industrialisés et même certaines espèces de *Leuconostoc* et de *Pediococcus* sont fréquentes dans nos fromages traditionnels ce qui contribue à l'enrichissement du créneau et à la connaissance de leur écologie.

Conclusion & Perspectives

Conclusion et perspectives :

Depuis l'antiquité, les bactéries lactiques ont été utilisées pour la fabrication et la conservation d'aliments.

Cette étude nous a permis d'avoir une idée sur la composition de la flore microbologique en bactéries lactiques de quelque produits laitiers traditionnels (L'ben, Rayeb, J'ben).

Le but de notre étude est de mettre en place une collection de souches lactiques extraite de produits laitiers fermentés traditionnellement ayant des potentiels technologiques pour un usage industriel.

L'évaluation de ces aptitudes a mis en évidence l'existence de bonnes fonctionnalités technologiques chez les isolats testés. Cependant, ces pouvoirs varient selon le genre et l'espèce de la souche, même au sein d'une même espèce, qui lui confèrent les propriétés organoleptiques et particulières aux produits laitiers fermentés.

Ceci nous permet de conclure que nos souches testées peuvent être utilisées comme starter dans les fermentations industriels dont le but produire des composés aromatiques, pour une protéolyse et dans la coagulation par leurs aptitudes de diminuer le pH de milieu.

Les résultats de notre recherche assez intéressants ouvrent de nouvelles perspectives, donc pour compléter ce travail sur la flore lactique de produits laitiers :

- Faire une étude sur le pouvoir lipolytique et antioxydant des souches.
- Il serait intéressant de tester la résistance des LAB aux antibiotiques.

Nous espérons donner suite à ces travaux afin de compléter l'identification génotypique des souches de bactéries lactiques isolées et aussi d'identifier les substances antimicrobiennes car pour cela la réalisation d'une série de tests est impérative à savoir peroxyde, et l'effet des enzymes protéolytiques qui pouvant confirmer que la nature de cette substance pourrait être une bactériocine afin de l'intégrer dans le domaine pharmaceutiques ou agroalimentaires.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Références Bibliographiques :

- Aissaoui D., Zidoune M. N. (2006). Le fromage traditionnel algérien « BOUHEZZA » Séminaire d'animation régional. Technologie douce et procédé de séparation au service de la qualité et de l'innocuité des aliments. INSAT. Tunis, Tunisie 27-28-29.
- Albenzio, M., Corbo, M.R., Rehman, S.U., Fox, P.F., De Angelis, M., Corsetti, A., Sevi, A. and Gobbetti, M. (2001). Microbiological and biochemical characteristics of Canestrato Pugliese cheese made from raw milk, pasteurized milk or by heating the curd in hot whey. *Int. J. Food Microbiol.*, 67:35-48.
- Ammor S., Rachman C., Chaillou S., Prevost H., Dousset X., Zagorec M., Dufour E. and Chevallier I., (2004). Phenotypic and genotypic identification of lactic acid bacteria isolated from a small-scale facility producing traditional dry sausages. *Food Microbiol.* 05-11.
- Ammor S., Tauveron G., Dufour E. and Chevallier I. (2006). Antibacterial activity of lactic acid bacteria against spoilage and pathogenic bacteria isolated from the same meat small-scale facility, 1-Screening and characterization of the antibacterial compounds. *Food Control.* vol. 17(06): 454-461.
- Atlan K., Comi G., Cocolin L. (2008). Lactic Acid Bacterial Population Dynamics During Food Fermentations. *Food Microbiology.* Vol. 23, 451-477.
- Ayad, E.H.E., Nashat, S., El-Sedek, N., Metwaly, H., El-Soda, M. (2004). Selection of wild lactic acid bacteria isolated from traditional Egyptian dairy products according to production and technological criteria. *Food Microbiology.* 21: 15-725.
- Badis A., Aouabdia L., Sellami D., guetarni, Kihal M., et Ouzrout R. (2005). Caractérisation phénotypique des bactéries lactiques isolées à partir de lait cru de chèvre de deux populations caprines locales « Arabia et Kabyle». *Sciences et Technologie* N°23 30-37.
- Badis, A., Guetarni, D., Moussa Boudjema, B., Henni, D.E., and M. Kihal, M. (2004). Identification and technological properties of lactic acid bacteria isolated from raw goat milk of four Algerian races. *Food Microbiol.* 21:579–588.
- Belyagoubi L., (2014). Antibiotiques produits par des bactéries (actinomycètes et bactéries lactiques) issus de différents écosystèmes naturels Algériens. Thèse de Doctorat en Biologie. Université Aboubakr Belkaïd-Tlemcen. 170p.
- Bencharif A. (2001). Stratégie des acteurs de filier lait en Algérie : états des lieux et problématique. *Options Méditerranéennes Série B. Etudes et Recherche* 32: 25-45.
- Benkerroum, N., Tammime A.Y. (2004). Technology transfert of some traditional products (Lben, Jben and smen) to small industrial scale. *Food Microbiology.*

- Benyacoub J., Perez P.F., Rochat F., Saudan K.Y., Reuteler G., Antille N., Humen M., De Antoni G.L., Cavadini C., Blum S., Schiffrin E.J. (2005). Enterococcus faecium SF68 enhances the immune response to Giardia intestinalis in mice. *J. Nutr.* 135, 1171–1176.
- Bettache G., Adjoudj F., Hadadj M., Kiha M. (2012). Isolation and identification of Lactic Acid Bacteria from D’han, a traditional Butter and their major technological traits, *World applied sciences journal* 17(4).pp :480-488.
- Beukes E.M., Bester B.H., Mostert J.F. (2001). The microbiology of South African traditional fermented milks. *Int J Food Microbiol*, 63(3): 189-197.
- Béal C., et Sodini I. (2012). Fabrication des yaourts et des laits fermentés, *Techniques de l’Ingénieur*, Paris France, 16 p
- Björkroth J., Dicks M.T., Endo A., Holzapfel W.H. (2014). The genus *Leuconostoc*, Lactic Acid Bacteria, Biodiversity and Taxonomy. UK: John Wiley et Sons LTD, p 391-404.
- Bolotin A., Wincker P., Mauger S., Jaillon O., Malarne K., Weissenbach J., Ehrlich S.D. et Sorokin A. (2001). The complete genome sequence of the lactic acid bacterium *Lactococcus lactis* ssp. *Lactis* IL1403. *Genome Res.* 11: 731-753.
- Boubekri K., Yoshiyuki O. (1996). Identification of lactic acid bacteria from Algerian traditional cheese, El-klila. *J Sci Food*, (4):501- 505.
- Bouchard F. (2013). Développement and manufacture of yogurt and other dairy products, CRC Press Taylor & Francis Group, USA, p 435.
- Bouhnik Y. (1998). Probiotiques, bactéries probiotiques, levains: Survie et effets chez l'homme des bactéries ingérées dans les laits fermentés. Elsevier INRA. 73, 241-247.
- Bouton Y., Guyot P., Beuvier E. (2006). Diversité génomique et temporelle des flores lactiques : lactobacilles, bactéries propioniques et entérocoques isolées de laits crus. Colloque SFM.N°7, Paris.
- Bourgeois C.M., Mescle J.F., et Zoucca A. (1996). Microbiologie Alimentaire : Aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments. Techniques et Documentation Lavoisier. Paris.
- Boutrou R., Sepulchre A., Gripon J.C., Monnet V. (1998). Simple tests for predicting the lytic behavior and proteolytic activity of lactococcal strains in cheese. *Journal of Dairy Science.* 81: 2321-2328.
- Burgain J., Scher J., Francius G., Borges F., Corgneau M., Revol-Junelles AM., Cailliez-Grimal C., Gaiani C. (2014). Bactéries à l'acide lactique dans les produits laitiers: caractérisation de surface et interactions avec les composants de la matrice alimentaire. *Adv Colloid Interf Sci* 213: 21–35.

- Callewaert R., De Vuyst L. (2000). Bacteriocin production with *Lactobacillus amylovorus* DCE 471 is improved and stabilized by fed- batch fermentation. - *Appl. Environ. Microbiol.*, 66(2), 606-613.
- Calvez S., Belguesmia Y., Kergourley G. (2009). Les bactériocines de la synthèse aux applications des bactéries lactiques: physiologique , métabolisme, génomique et applications industrielles édition . p 100-122.
- Caridi A., Micari P., Caparra P., Cufari A. and Sarullo V. (2003). Ripening and seasonal changes in microbial groups and in physico-chemical properties of the ewes' cheese Pecorino del Poro. *International Dairy Journal* 13, 191-200.
- Champagne C. P., Gagnon D., St-Gelais D., Vuillemard J. C. (2009). Interactions between *Lactococcus lactis* and *Streptococcus thermophilus* strains in Cheddar cheese processing conditions. *International Dairy Journal* 19:669–674.
- Cholet O., (2006). Etude de l'écosystème fromager par une approche biochimique et moléculaire. Institut National Agronomique Paris-Grignon. Ecole Doctorale ABIÉS.
- Claps S et Morone G. (2011). Produits laitiers et fromagers traditionnels de l'Algérie. In *Développement de la Filière laitière et Fromagère en Algérie*. CorFilac. 57-77.
- Corrieu G. (2005). Les bactéries lactiques et probiotiques. 11 rue Lavoisier 75008 Paris : Tec et Doc : 26-28.
- Corrieu G., Luquet F. M. (2008). Bactéries lactiques : de la génétique aux ferments. Tec et Doc, Lavoisier, Paris : 269-306.
- Cueto C., García D., Garcés F and Cruz J. (2007). Preliminary studies on the microbiological characterization of lactic acid bacteria in suero costeño, a Colombian traditional fermented milk product. *Rev. Latinoam. Microbiol*, 49 (1-2): 12-18.
- De Man J.C., Rogosa M., Sharpe M.E. (1960). A medium for the cultivation of lactobacilli. 23: 130-135.
- De Roissart H.B. (1986). Bactéries lactiques. Laits et produits ! laitiers vache, brebis et chevre. Tome 3. Paris, Technique et documentation. Lavoisier, p 343-408.
- Desar I.M.E., De Boer M., Bens C.C.P.M. (2008). Rapid and reliable identification of *Streptococcus anginosus* group isolates to the species level by real-time PCR and melting curve analysis. *Journal of Microbiological Methods*. vol. 75, 372-374.
- Desmazeaud M. (1992). Les bactéries lactiques in : Les groupes microbiens d'intérêt laitier.
- De Vos W.M., Kuipers O.P., van der Meer J.R et Siezen R.J. (2009). Maturation pathway of nisin and other lantibiotics: post-translationally modified antimicrobial peptides exported by gram-positive bacteria. *Mol. Microbiol*. 17:427-37.

- Dharam P., Narender R.P. (2007). Indian traditional dairy products. International Conference on Traditional Dairy Foods. November 14-17. ndri, karnal (India).
- Dortu C., et Thonart P. (2009). Les bactériocines des bactéries lactiques : caractéristiques et intérêts pour la bioconservation des produits alimentaires. *Biotechnol Agron Soc Environ* 13.143-154.
- Drider D., et Prevost H. (2009). Bactéries lactiques Physiologie, Métabolisme, Génomique et Application industrielle. Ed, Economisa 49 rue Harica 75015 Paris : p381-427
- Drouault S et Corthier G. (2001). Effets des bactéries lactiques ingérées avec des laits fermentés sur la santé. *Vet Res.* 32, 101-117.
- Dunne C., O'Mahony L., Murphy L., Thornton G., Morrissey D., O'Halloran S., Feeney M., Flynn S, Fitzgerald G et Daly C. (2001). In vitro selection criteria for probiotic bacteria of Bibliographie 178 human origin: correlation with in vivo findings. *The American J of Clinical Nutrition.*73 Suppl 2: 386-392.
- Durlu-Ozkaya, F., Xanthopoulos, V., Tinail, N., & Litopoulou-Tzanetaki, E. (2007). Technologically important properties of lactic acid bacteria from Beyaz cheese made from raw ewe's milk. *Journal Applied Microbiology*, 91, 861-870.
- El-Baradei G., Delacroix-Buchet A. and Ogier, J.C. (2008). Bacterial biodiversity of traditional Zabady fermented milk. *Int. J. Food Microbiol.* 121: 295–301.
- El-Ghaish, S., Ahmadova, A., Hadji-Sfaxi, I., El-Mecherfi, K.E., Bazukyan, I., Choiset, I., Rabesona, 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.
- El-Shafei, K.; Ibrahim, G.A. and Tawfik, N.F. (2002). Beneficial uses of locally isolated lactic acid bacteria, Egypt *J.Dairy sci.*,30:15-25.
- Florez, A.B.; Lopez-Diaz, T. M.; Alvarez-Martin, P. and Mayo, B. (2006). Microbial characterisation of the tradition Spanish blue-veined Cabrales cheese: identification of dominant lactic acid bacteria. *Food Technol*, 223:503-508.
- Franz C.M.A.P., Stiles M.E., Schleifer K.H., Holzapfel W.H. (2003). Enterococci in foods-a conundrum for food safety. *International Journal of Food Microbiology* Enterococci in Foods. Functional and Safety Aspects. vol. 88,105-122.
- Geis, E.; Singh, J. and Teuber, M. (1983). Potential of lactic Streptococci to produce bacteriocin. *Appl. Environ. Microbiol.* 45:205-211.
- Guiraud J.P. (2003). *Microbiologie alimentaire*. Dunod – RIA., 696.

- Gusils C., Chaia A., Olivier G., et Gonzalez S. (2010). Micro technique for identification of lactic acid bacteria. *Methods in molecular biology*, Vol. 268: Public Health Microbiology: Methods and Protocols. Humana Press. Totowa 453-458.
- Hallel A. (2001). Fromages traditionnels algériens. Quel avenir ? *Revue Agroligne* 14 : pp 43-47.
- Hammes W.P. and Hertel C., (2006). The genera *Lactobacillus* and *Carnobacterium*. Chap. 1.2.10. In *prokaryotes*. 4: 320-403.
- Harrigan, W.F., McCance, M.E. (1976). *Laboratory Methods in Food and Dairy Microbiology*. Academic Press, London.
- Harrati, E. (1974). Recherches sur le L'ben et le klila algériens. Ph. D. thesis, U.E.R. Sciences de la Vie, Université de Caen (France).
- Harrigan, W.F and McCance, M.E. (1976). *Laboratory methods in food and dairy microbiology*. Academic press, London .
- Harun-ur-Rashid, M.; Togo, K.; Ueda, M. and Miyamoto, T. (2007). Identification and characterization of dominant lactic acid bacteria isolated from traditional fermented milk Dahi in Bangladesh. *World J. Microbiol. Biotechnol.*, 23:125-133.
- Hassaïne O., Zadi-Karam H. et Karam N.E., (2013). Technologically important properties of lactic acid bacteria isolated from raw milk of three breeds of Algerian dromedary (*Camelus dromedarius*). *Afr. J. Biotechnol.* 6 (14) : 1720-1727.
- Ho T.N.T., Tuan N.N., Deschamps A., Caubet R. (2007). Isolation and identification of lactic acid bacteria (LAB) of the Nem Chua fermented meat product of Vietnam. *Int. Workshop on Food Safety and Processing Technology*. 134-142.
- Jankovic I, Sybesma W, Phothirath P, Ananta E, Mercenier A. (2010). Application des probiotiques dans les produits alimentaires - défis et nouvelles approches. *Curr Opin Biotechnol* 21: 175–181.
- Jay , J.M. (1992). *Modern food microbiology*. New York: Chapman & Hall.
- Jeantet R., Croguennec T., Madrant., Schuck P. et Brule G., (2008). *Les produits laitiers*, 2ème édition TEC et DOC Lavoisier, 185p.
- Jozala A.F., de Lencastre Novaes L.C., Cholewa O., Moraes D. et Penna T.C.V. (2005). Increase of nisin production by *Lactococcus lactis* in different media. *Afr. J. Biotechnol.* 4: 3, 262-265.

- Kandler O, Weiss N, (1986). Genus *Lactobacillus*. In : Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, vol 2, 9ième ed. Ed. Sneath PHA, Mair NS, Sharpe ME, Holt JG. Williams and Wilkins, Baltimore USA.
- Kaufmann P., Fedorak R., Sanders M., Szajewska H. (2008). Recommandations pratiques probiotiques. Expertise organisation mondiale de gastro-entérologie. 15p.
- Kihal, M.; Prévost, H.; Lhotte, M.E.; Huang, D.Q. and Diviès, C. (1996). Instability of plasmid-encoded citrate permease in *Leuconostoc*. *J. Appl. Microbiol.*, 22:219-223.
- Kim, W. (2014). The genus *Lactococcus*, Lactic Acid Bacteria, Biodiversity and Taxonomy. UK: John Wiley et Sons, pp 430-443.
- Klaenhamner, T.R. (2009). Bacteriocins of lactic acid bacteria. *Biochimie*, 2005, 70, 337-349.
- König H. and Frohlich J. Biology of microorganisms on grapes, in must and in wine. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg.
- Labioui H., Elmoualdi L., El Yachioui M., Ouhsine M., (2005). Selection de souches de bactéries lactiques antibactériennes. *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*. 144 : 237-250.
- Leveau J.Y. et Bouix M., (1993). Microbiologie industrielle : les microorganismes d'intérêt industriel. Tec & Doc, Lavoisier. Paris. 85-87.
- Licitra G., (2010). World-wide traditional cheeses: Banned for business. *Dairy Sci. Technol.* 90, 357-374.
- Liu W. et Hansen J.N. (2001). The antimicrobial effect of a structural variant of subtilin against outgrowing *Bacillus cereus* T spores and vegetative cells occurs by different mechanisms. *Appl. Environ. Microbiol.* 59: 648-651.
- Luquet, F.M et Corrieu G., (2005). Bactéries lactiques et probiotiques. Santé et Nutrition. France.
- Mahamedi, A.E. (2015). Etude des qualités hygiéniques, physico-chimique et microbiologiques des ferments et des beurres traditionnels destinés à la consommation dans différentes régions d'Algérie. Thèse de magister. Université d'Oran, 137p.
- Mahaut M., Jeantet R. et Brule G., (2000). Initiation à la technologie fromagère. Tec & Doc Lavoisier. 194p.
- Makhloufi K.M., (2011). Caractérisation d'une bactériocine produite par une bactérie lactique *Leuconostoc pseudo mesenteroides* isolée du boza. Thèse de Doctorat en Microbiologie, Biochimie. Université Pierre et Marie Curie-Paris 6. France. 200p.
- Mallet A., Gueguen M., Desmasures N. (2010). Etat des lieux de la diversité microbienne quantitative et qualitative des laits crus normands destinés à la transformation fromagère. 8^{ème} Congrès National de la SFM.2-4. Marseille.

- Marteau, P., Seksik, P., Jian, R. (2002). Probiotics and intestinal health effects: a clinical perspective. *Br. J. Nutrition*. 88, s51–s57.
- Masuda S., Yamaguchi H., Kurokawa T., Shirakami T., Tsuji R.F., Nishimura I. (2008). Immunomodulatory effect of halophilic lactic acid bacterium *Tetragenococcus halophilus* from soy sauce moromi grown in high-salt medium. *International Journal of Food Microbiology*., vol. 121, 245-2.
- Matamoros S., (2008). Caractérisation de bactéries lactiques psychrotrophes en vue de leur utilisation dans la biopréservation des aliments. Étude physiologique et moléculaire des mécanismes d'adaptation au. Thèse de doctorat. Université de Nantes:17p
- Mathara, J.M.; Schillinger, U.; Kutima, P.M.; Mbugua, S.K. and Holzapfel, W.H. (2004). Isolation, identification and characterisation of the dominant microorganisms of kule naoto: the Maasai traditional fermented milk in Kenya. *Int J Food Microbiol*. 94(3):269-278.
- Mechai A. et Kirane D., (2008). Antimicrobial activity of autochthonous lactic acid bacteria isolated from Algerian traditional fermented milk “Raïb”. *African Journal of Biotechnology*, 7 (16) : 2908-2914.
- Medouni Y., Boulahchiche N. et Brahimi R. (2005). Role de la femme rurale dans lesystème de production agropastoral. Cas de la fabrication Ouled-Baida de la zone d'El GuedidRegion de Djelfa (Steppe central). *Option : Méditerranéennes, série A., N°70*.
- Mennane Z., Faid M., Lagzouli M., Ouhsine M., Elyachoui M., Berny E., Ennouali M. and Khedid K. (2007). Physico-chemical, Microbial and Sensory Characterization of Moroccan Klila . *Middle-East. J .Scientific Research N°2(3-4)* 93-97.
- Michaylova, M., Minkova, S., Kimura, K., Sasaki, T., Isawa, K., (2007). Isolation and characterization *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* from plants in Bulgaria. *FEMS Microbiol. Lett.* 269, 160–169.
- Mkrtychyan H., Gibbons S., Heidelberger S., Zloh M. and Limaki H.K., (2010). Purification, characterization and identification of acidocin LCHV, an antimicrobial peptide produced by *Lactobacillus acidophilus* n.v. Er 317/402 strain narine. *Int.J. AntimicrobialAgents*, 35: 255-260.
- Monnet V., Latrille E., Beal C. et Corrieu G., (2008). Croissance et propriétés fonctionnelles des bactéries lactiques. In : *Bactéries lactiques de la génétique aux ferments* (Corrieu G. et Luquet F.M.). Tec & Doc, Lavoisier. Paris. 512-592.
- Moussaoui, H. (2013). Protéolyse et autolyse de souches de lactobacilles d'origine laitier, l'étude de leur aptitude à hydrolyser les caséines et les protéines de poisson. Thèse de magister. Université d'Oran, 118p.

- Mozzi F., Raya R. R., Vignolo G.M. (2010). *Biotechnology of lactic acid bacteria: Novel applications*. Blackwell publishing. Singapore. p 3-73.
- Mufandaedza, J; Viljoen, B.C.; Feresu, S.B. and Gadaga, T.H. (2006). Antimicrobial properties of lactic acid bacteria and yeast-LAB cultures isolated from traditional fermented milk against pathogenic *Escherichia coli* and *Salmonella enteritidis* strains. *Int. J. Food Microbiol.*, 108:146-152.
- Nguyet.R. (2008). *Genetics of Lactic Acid Bacteria*. In: *Applied Dairy Microbiology* (Marth E.H. et Steele J.L.). 2e Ed., Marcel Dekker, Inc. New York. 243-300.
- Nouani A., Dako E., Morsli A., Belhamiche N., Belbraouet S., Bellal M et DadieA., (2009). Characterization of the purified coagulant extract from artichoke flower(*cynara scolymus*) and from the fig tree latex (*ficus carica*) in light of their use in the manufacture of traditional cheese in Algeria. *Journal of food technology* 7(1); 20-29.
- Ogier, J.C., Casalta, E., Farrokh, C., Saihi, A. (2008). Safety assessment of dairy microorganisms: the *Leuconostoc* genus. *International Journal of Food Microbiology*. 126 : 286-290.
- Ouadghiri, M., Vancanneyt ,M., Vandamme, P., Naser ,S., Gevers ,G., Lefebvre, K., Swings, J. (2009). Identification of lactic acid bacteria in Moroccan raw milk and traditionally fermented skimmed milk ‘L’ben’. *J Appl Microbiol.*; 106: 486- 495.
- Oxoid Manual (1982). *The oxide manual of culture media, ingredients and other laboratory services*. Oxide limited, Basingstoke, Hampshire, England.
- Pailin, T ., Kang, D.H., Schmidt, K., Fung, D.Y.C. (2001). Detection of extracellular bound proteinases In EPS-producing lactic acid bacteria cultures on skim milk agar. *Letters in Applied Microbiology*.33: 45-49.
- Papagianni M. (2012). *Ingénierie métabolique des bactéries lactiques pour la production de composés industriels importants*. *Comput Struct Biotechnol J* 3: e201210003.
- Papamanoli, E., Tzanetakis, N., Litopoulou-Tzanetaki, E., Kotzekidou, P., (2003). Characterization of lactic acid bacteria isolated from a Greek dry-fermented sausage in respect of their technological and probiotic properties. *Meat Sci*. 65,859–867.
- Paul Ross R, Morgan S., Hill C. (2002). Preservation and Fermentation: present and future. *Int J Food Microbiol*. 79, 3-16.
- Pilet M.F., Magras C., Federigh M. (2005). *Bactéries lactiques*. In : *bactériologie alimentaire* (Federigh M.). 2e Ed., Economica. Paris. 219-240.

- Pot B. (2008). The taxonomy of lactic acid bacteria. In: Corrieu G., and Luquet F.M. (Eds). *Bactéries lactiques. De la génétique aux ferments*. Lavoisier. Paris, France pp 1–152.
- Quiberoni A., Moineau S., Rousseau G. M., Reinheimer J. et Ackermann H-W., (2010). *Streptococcus thermophilus* bacteriophages. *International Dairy Journal*, 20:657-664.
- Raynaud Y. (2006). Régulation métabolique et transcriptionnelle de l'auto acidification chez *Lactococcus lactis*. Thèse de doctorat. L'institut national des sciences appliquées de Toulouse : 21p.
- Roos S et Jonsson H. (2002). A high-molecular mass cell-surface protein from *Lactobacillus reuteri* 1063 adheres to mucus components. *Microbiology*. 148, 433-442.
- Roudj S., Belkheir K., Zadi-Karam H. et Karam N.E., 2009. Protéolyse et autolyse chez deux lactobacilles isolés de lait camelin du Sud Ouest Algérien. *European. J. Sci. Res.* 34 (2): 218-227.
- Ruas-Madiedo P., Alting A.C. and Zoon P., (2005). Effect of exopolysaccharides and proteolytic activity of *Lactococcus lactis* subsp. *Cremoris* strains on the viscosity and structure of fermented milks. *International Dairy Journal*. Vol. 15, 155-164.
- Salminen S., Wright A.V. and Ouwehand A., (2004). *Lactic acid bacteria. Microbiological and functional aspects*. Marcel Dekker. Inc., U.S.A.
- Samelis, J., Maurogenakis, F., Metaxopoulos, J. (1994). Characterization of lactic acid bacteria isolated from naturally fermented Greek dry salami. *International Journal of Food Microbiology*. 23: 179-196.
- Savadogo, A.; Ouattara, C.A.T.; Savadogo, P.W.; Ouatta, A.S.; Barro, N. and Traore, A.S. (2004). Microorganisms Involved in Fulani Tradition Fermented Milk in Burkina Faso. *Pakistan Journal of Nutrition*, 3(2):134-139.
- Siegumfeldt H., Rechinger K.B. and Jakobsen M., (2000). Dynamic changes of intracellular pH in individual lactic acid bacterium cells in response to a rapid drop in extracellular pH. *Appl Environ Microbiol*, 66: 2330-2335.
- Sneath, P.H.A.; Mair, N.S.; Sharpe, E.M. and Holt, J.G. (1986). *Bergey's manual of systematic bacteriology*. vol. 2. Williams & Wilkins, Baltimore.
- Švec, P., (2014). Franz, M.A.P.C. *The genus Enterococcus In Lactic Acid Bacteria, Biodiversity and Taxonomy*. UK: John Wiley et Sons, ; pp 175-211.
- Tailliez, P., (2001). Les bactéries lactiques, ces etres vivants apparus il y a prés de 3 milliards d'années. *Lait*, 81 : 1-11.

- Tamime A.Y., (2002). Microbiology of starter cultures. In: Dairy microbiology handbook (Robinson R.K.). 3rd Ed., John Wiley and Sons, Inc., New York.261-366.
- Terzaghi, B.E., Sandine, W.E. (1975). Improved medium for lactic streptococci and their bacteriophages. *Applied Microbiology*. 29: 807-813.
- Thomas,T.D. (1973). Agar medium for differentiation of *Streptococcus cremoris* from the other bacteria.*Dairy Sci Technol*. 8: 70-71.
- Thompson et Gentry-Weeks. (1994). Métabolisme des sucres par les bactéries lactiques. In: *Bactéries lactiques* (De Roissart H. et Luquet F M.). Lorica. Uriage: 1:p 239- 290.
- Tosukhowong A., Nakayama J., Mizunoe Y., Sugimoto S., Fukuda D., Sonomoto K. (2005). Reconstitution and function of *Tetragenococcus halophila* chaperonin 60 tetradecamer. *J. Biosci. Bioengin*. 99: 30-37.
- Tredez M et Louise H. (2008). Méta- analyse des effets protecteurs des probiotiques sur la cancérogenèse colorectale chez les rongeurs. Thèse pour obtenir le grade de Docteur vétérinaire.Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE. P 38-39.
- Varadaraj, M.C.; Devi, N.; KeShava and Manjreker, S.P. (1993). Antimicrobial activity of neutralized extracellular cultured filtrates of lactic acid bacteria isolated from a cultured Indian milk products. *Int. J. Food Microbial*, 20:259-267.
- Varalakshmi, S., Balasubramanyam, B.V., Surendranath, B., Bagath, M. and Rajendran, D. (2014). Use of novel lactic acid bacterial strains with antagonistic activity for the preparation of safe indigenous fermented dairy foods (dahi and raita). *J Food Safety* 34, 26– 33.
- Veuillemard J.C., (1986). Microbiologie des aliments, Evolution de l'activité protéolytique des bactéries lactiques. Tec et Doc. Lavoisier. Paris p31-65.
- Vilain, A.C. (2010). Qu'est-ce que le lait ? *Revue française d'allergologie*, 50 : 124– 127.
- Villani, F., Moschetti, G., Blaiotta, G., Coppola, S. (1997). Characterization of strains of *Leuconostoc mesenteroides* by analysis of soluble wholecell protein pattern. DNA finger printing and restriction of ribosomal DNA. *Journal of Applied Bacteriology*. 82: 578-588.
- Vingola C.L., (2002). Science et technologie du lait, transformation du lait. Presses internationales polytechnique, Québec ; 608p.
- Welman A.D. and Maddox I.S., (2003). Exopolysaccharides from lactic acid bacteria, perspectives and challenges. *Trends in Biotechnology*. Vol. 21, 269-274.
- Yang, Z. (2000). Antimicrobial compounds and extracellular polysaccharides produced by lactic acid bacteria: Structures and properties. Department of Food Technology, University of Helsinki.

- Zourari, A., Roger, S., Chabanet, C., Desmazeaud, M.J. (1991). Caractérisation des bactéries lactiques thermophiles isolées de yaourts artisanaux grecs. I. Souches de *Streptococcus salivarius* subsphtherophilus. 71(4) : 445-461.

Annexe

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

Extrait de levure	5g
Extrait de viande	10g
Peptone	10g
Acétate de sodium	5g
Citrate de sodium	5g
Glucose	20g
KH ₂ PO ₄	2g
MgSO ₄	0,25g
MnSO ₄	0,05g
Cystéine-HCl	0,5g
Agar	20 g
Eau distillée	1000ml

pH 6,8

Autoclavage 120°C, 20 min.

MILIEU M17 (TERZAGHI ET SANDINE, 1975)

Peptone de caséine	10g
Peptone pepsique de viande	2,5g
Peptone papaïne de soja	5g
Extrait de levure	2,5g
Extrait de viande	5g
B-glycerophosphate	19g
MgSO ₄	0,25 g
Lactose	5 g
Acideascorbique	0,5 g
Agar	20 g
Eau distillée	1000ml

pH 7,2

Autoclavage 120°C, 20 min.

GELOSE NUTRITIVE

Extrait de levure	1 g
Extrait de viande	2 g
Peptone	5 g
Chlorure de sodium	5 g
Agar	15 g
Eau distillée	1000 ml
pH 7,4	
Autoclavage 120°C, 20 min	

LAIT ECREME

Lait écrémé	10 g
Extrait de levure	0,5 g
Eau distillée	1000 ml
pH 7	
Autoclavage 120°C, 20 min.	

EAU PHYSIOLOGIQUE

Chlorure de sodium	8,5 g
Peptone	0,5 g
Eau distillée	1000 ml
pH 7	
Autoclavage 120°C, 20 min.	

BOUILLON BEA : (Bile-Esculine-Azide)

Tryptone	17 g
Peptone	3 g
Extrait de levure	5 g
Bile de bœuf déshydratée	10 g
Chlorure de sodium	5 g
Esculine	1 g

Citrate de fer et d'ammonium	0,5 g
Azoture de sodium (NaN ₃)	0,15 g
Agar	15 g
pH 7,1 ± 0,2	