

*République Algérienne Démocratique & Populaire*  
*Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique*

*université D-molay tahar saida*

*Faculté des sciences*

*Département de biologie*



**Spécialité : biotechnologie végétale**

**mémoire master**

**thème**

**L'étude de la bioactivité des bactéries  
lactiques isolées à partir du lait maternelle**

*Présentée Par*

*M<sup>lle</sup> IKRAM Geurchi*

*Encadre Par*

*mme CHAHROUR*

**Soutenu devant le jury composé de :**

*Mr AMMAM Abdelkader*

*Professeur*

*Président*

*Mme HACHEM*

*Professeur*

*Examineur*

*Mme CHAHROUR*

*Professeur*

*Encadreur*

**Année universitaire 2019 - 2020**

## **Remerciements**

*Avant tout nous remercions Dieu, le tout puissant, de nous avoir donné, le courage, la force, La santé et la persistance.*

*Nous adressons nos vifs remerciements à notre*

***Encadreur Mme Chahrour***

*On remercie particulièrement les membres du jury d'avoir accepté de juger notre modeste travail.*

***Président Mr AMMAM Abdelkader***

***Examineur Mme HACHEM***

*de nous avoir proposé ce thème, pour ses orientations et son suivi durant toute la période de la réalisation de ce travail.*

*Nous tenons à remercier vivement **Mr DJAMEL Naar***

***Mlle 'karrouch Z' qui m'aide beaucoup***

***Mme hallal qui m'aide beaucoup***

*Mom entretient, je n'oublie pas mes collègues*

*Et à tous nos amis pour leurs encouragements et leurs compréhensions.*

*Enfin, nous ne pouvons pas terminer sans remercier tous nos camarades de la promotion (2019/2020)*

*Merci à tous*

## Dédicace

*Je dédie ce mémoire avant tout à mes chères et formidables parents*

*« Baghdad – Zohra »*

*qui m'ont toujours soutenue, et qui ont contribué à ma réussite, et grace à eux je suis arrivé à ce stade.*

*Mes frères et mes sœurs surtout Chaima, Ahmed, Mostafa, Yacine*

*Sans oublier mon oncle.*

*La famille Geurchi – Mibarki – Dahaoui –*

*Et soutenir les enseignants mon meilleurs amis*

*Nawel – Imane – Rabia - Meriem – Sohila – Karima –*

*Malika- Wahiba- Fatiha – Boubakeur- Djamel*

# **IKRAM**

## **résumé**

Le lait de mère n'est pas stérile. Il présente un écosystème complexe, reflet du biotope de la mère, qui peut contenir une combinaison de germes non pathogènes ou potentiellement pathogènes. La recherche des bactéries lactiques dans le lait maternel est importante. Plusieurs rapports ont suggéré que le lait maternel est une source indispensable de bactéries lactiques présentes plusieurs *propriétés technologiques*. Les bactéries lactiques forment actuellement un groupe d'organismes utilisés pour l'enrichissement de certains yaourts et laits. Cette utilisation est due aux effets nutritionnels et thérapeutiques de ces bactéries car elles enrichissent le milieu où elles se trouvent en vitamines (B et K), acides aminés, composés organiques (acides lactique et acétique), enzymes (lactase) et bactériocines responsables de l'inhibition des bactéries pathogènes.

**Mots-clés** : le lait maternel, Bactéries lactiques, bactériocine, probiotique, antibactérien.

## **Abstract**

Mother's milk is not sterile. It presents a complex ecosystem, he refled, the mother's biotope, which may contain a combination of non-pathogenic or potentially pathogenic germs. The search for lactic acid bacteria in breast milk is important. Several reports have suggested that breast milk is an indispensable source of lactic acid bacteria with several technological properties. Lactic acid bacteria are currently a group of organisms used for the fortification of certain yogurts and milks. This use is due to the nutritional and therapeutic effects of these bacteria because they enrich the environment where they are found with vitamins (B and K), amino acids, organic compounds (lactic and acetic acids), enzymes (lactase) and bacteriocins responsible for the inhibition of pathogenic bacteria.

**Keywords:** Breast milk, Lactic acid bacteria, bacteriocin, probiotic, antibacterial.

## ملخص:

يعتبر حليب الثدي غير معقم. يقدم نظامًا إيكولوجيًا معقدًا، وهو انعكاس للنمط الحيوي للأم، والذي قد يحتوي على مجموعة من الجراثيم غير المسببة للأمراض أو التي يحتمل أن تكون ممرضة، ويعد البحث عن بكتيريا حمض اللاكتيك في حليب الثدي أمرًا مهمًا.

أشارت تقارير مختلفة إلى أن حليب الثدي مصدر لا غنى عنه لبكتيريا حمض اللاكتيك ذات الخصائص التكنولوجية المختلفة.

تشكل بكتيريا حمض اللاكتيك حاليًا مجموعة من الكائنات الحية المستخدمة في إغناء بعض منتجات الزباديو الحليب.

يرجع هذا الاستخدام إلى التأثيرات الغذائية والعلاجية لهذه البكتيري لأنها تثري البيئة التي توجد فيها بالفيتامينات (K وB) والأحماض الأمينية والمركبات العضوية (اللاكتيك وحمض الأستيك) والإنزيمات (اللاكتاز) والبكتريوسينات المسؤولة عن التثبيط. البكتيري المسببة للأمراض.

**الكلمات المفتاحية:** لبن الأم، بكتيريا حمض اللاكتيك، بكتريوسين، بروبيوتيك، مضاد للبكتيريا.

## Table de matières

### Sommaire

Introduction .....	1
1. Définition du lait maternel.....	5
2. Composition de lait maternel.....	5
3. Evolution du lait maternel au cours de la lactation : .....	6
4. Propriétés du lait maternel : .....	7
5. Les facteurs bioactive de lait maternel : .....	8
6. Origine des bactéries lactiques de lait maternel .....	9
7. Les bienfaits du lait maternel : .....	11
7.1. Pour bébé : .....	11
7.2. Pour la mère : .....	12
1. Définition des bactéries lactiques .....	14
2. Classification des bactéries lactiques .....	14
3. Les caractéristiques générales des bactéries lactiques.....	16
4. Les principaux genres des bactéries lactiques .....	17
4.1 Les lactobacilles .....	17
4.2 Les Lactococcus : .....	18
4.3 Les streptococcus : .....	19
4.4 Les leuconostoc : .....	20
4.5 Weissela.....	21
1. Propriétés technologiques des bactéries lactiques .....	23
1.1. Activité acidifiante .....	23
1.2. Activité protéolytique .....	23
1.3. Activité lipolytique.....	24
1.4. Production d'exo-polysaccharides (EPS) .....	24
1.5. Action probiotique.....	25
1.6. Les propriétés antimicrobiennes des bactéries lactiques .....	26
Conclusion.....	33
Référence bibliographique: .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>

## Liste des figures

<b>figure</b>		<b>page</b>
figure1	sources potentielles de bactéries lactiques du lait maternel.dc cellules dendritiques	11
Figure 2	arbre phylogénétique, basé sur l'analyse comparative des séquences d'ARNr 16s, montrant les principaux groupes phylogénétiques des bactéries lactiques et les genres non liés Bifidobacterium et propionibacterium	15
Figure 3	Image de Lactobacillescasie	18
Figure 4	Image de Lactococcus lactis subsp. lactis	19
Figure 5	Image de Streptococcus thermophilus	20
Figure 6	Observation microscopique de genre Leuconostoc	21
Figure 7	Observation par de genre Weissella par microscope optique	21

## Listes des tableaux

<b>tableaux</b>		<b>page</b>
Tableau 1	la composition du lait maternel	06



## La liste des abréviations

BL : Bactéries lactiques

Lb : lactobacillus

L :lactococcus

ARNs16 :acide ribonucleique ribosomique constituans le petite sous –unite chez les procaryotes

% : pourcentage

C° :degré celsius

ARNr:acide ribonucléique ribosomique

IGA :immunoglobulineA

IGG :immonoglobuline G

mg :miligramme

ml :mililitre

Co2 :dioxyde de carbone

pH :potentiellehydrogène

St :streptococcus

G:gram

Eps:exopolysaccharides

CD : cluster de différenciation

Kcal :kilocalorie

G :Gram.

# **Introduction**

## Introduction

Le lait maternel est un aliment et une nourriture importants pour les nouveau-nés et les nourrissons. Outre sa composition nutritionnelle, il contient également des exosomes, des immunoglobulines et des microARN qui favorisent le développement du système immunitaire des bébés (Admyre et al. 2007). Il a été démontré que le micro-ARN (miARN) est un matériel génétique transférable transmis de la mère à l'enfant. Il est suggéré que les miARN sont contenus dans des microvésicules ou des exosomes (Kosaka et al 2010).

Une substance également trouvée dans le lait maternel humain,  $\alpha$ -lactalbumine humaine rendue mortelle pour les cellules tumorales (HAMLET), s'est avérée détruire plus de 50 types différents de cellules cancéreuses (Mossberg et al 2010).

Il a également été démontré que le lait maternel humain contient des bactéries bénéfiques telles que les bifidobactéries et les bactéries lactiques (LAB) qui aident à développer un microbiote sain dans l'intestin des bébés. Il a été démontré que certaines de ces bactéries bénéfiques ont un potentiel probiotique. Surtout *Lactobacillus gasseri*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus acidophilus* et *Lactobacillus plantarum* (Suganya et al. 2013 et Khedid et al. 2009), *Pedococcus pentosaceus* (Gerez et al. 2006), espèces *Weisella*, *Bifidobacterium infantis*, *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium longum* et *Bifidobacterium adolescentis* (Matsuki et al. 1999 et Onyibe et al. 2013).

De nombreux avantages pour la santé ont été associés à l'ingestion de probiotiques, notamment : l'amélioration du système immunitaire, la prévention des infections intestinales, en particulier la diarrhée, la réduction des problèmes d'allergies et l'amélioration de la récupération après une antibiothérapie. (Gueimonde et al. 2007, Martin et al. 2009 et Arboleye et al. 2011).

Ces divers composants du lait maternel humain favorisent donc la santé, la croissance, le développement et le bien-être général des bébés et des nourrissons.

A partir de ce contexte la rédaction de ce document été basé sur un aperçu sur le lait maternel puis une deuxième partie qui parle sur les généralités sur les bactéries lactiques (définition, classification, genres,...). Une partie sur l'intérêt des BL ; mette en évidence le pouvoir antibactérien qui représente une partie primordial de l'effet probiotique de ces bactéries.

# Rappel bibliographique

# Chapitre 1 :

## A perçu sur le lait maternel

## **1. Définition du lait maternel**

Le lait humain, comme celui de tous les mammifères, est propre à l'espèce (Beaudry, 2006). Il contient tous les éléments nécessaires pour assurer la croissance et le développement du nourrisson. La composition du lait maternel varie dans le temps, en fonction du déroulement de la tétée, au cours de la journée, et sur la période d'allaitement (Beaudry et al 2006).

Le lait est un liquide sécrété par les glandes mammaires des femelles après la naissance du jeune. Il s'agit d'un fluide aqueux opaque, blanc, légèrement bleuté ou plus ou moins jaunâtre selon la teneur en  $\beta$ -carotène de sa matière grasse, d'une saveur douceâtre et d'un pH légèrement acide (6,6 à 6,8), proche de la neutralité (Alais, 1984).

C'est un liquide composé principalement d'eau (90%) de lipides et de protéines (Wilson, 1987). Les principaux composants du lait sont les mêmes chez toutes les espèces, mais en proportion variable.

## **2. Composition de lait maternel :**

Les composants majeurs du lait maternel sont l'eau (87,5 % environ), les glucides, les lipides, les protéines, les micronutriments. Une partie des éléments du lait provient de la filtration sélective du sang (eau, sels, albumine, globulines), l'autre d'une synthèse (lactose, caséine, matières grasses, acide citrique) par les cellules de l'acinus d'éléments propres au lait (Tackoen, 2012).

Le tableau suivant présente des principaux composants du lait en nutriments.

Tableau 01 : la composition du lait maternel (Turka et al 2013 )

Pour 100ml	Lait maternel
Calories (kcal)	68
Protéines (g)	0.8-1
Caséine (%)	40
Lipides(g)	3.5
Acide linoléiques (mg)	350
Acide l-linoléique (mg)	37
Glucides(g)	7.5
Lactose (%)	85
Autres sucres (g)	Oligosaccharides (1.2)
Sels minéraux (mg)	210
Sodium (mg)	16
Calcium (mg)	33
Calcium phosphorefer (mg)	2
	0.05

### 3. Evolution du lait maternel au cours de la lactation :

Le lait est un milieu multiphasique : une phase aqueuse continue contenant essentiellement le lactose et des minéraux et des éléments dispersés de nature lipidique (globules gras) et de nature protéique (micelles de caséines) (Mahaut *et al* 2000).

En outre la quantité et la qualité (nutriments d'une part et facteurs bioactifs d'autre part) du lait maternel évoluent au fil des jours pour satisfaire les



besoins nutritionnels du nouveau-né puis du nourrisson. Mais la composition du lait évolue également au cours d'une même tétée et tout au long de la journée.

- **Le colostrum** est produit durant les 3 à 5 premiers jours de lactation. Moins riche en lipides et en lactose que le lait mature, il a une plus faible valeur calorique mais il contient deux fois plus de protéines, surtout des immunoglobulines A (IgA), des facteurs de croissance et des cytokines. Il est également riche en cellules immunitaires et en oligosaccharides.
- **Le lait de transition** est produit au cours des 15 jours suivants. Sa composition évolue vers celle du lait mature avec une augmentation progressive de la teneur en lipides et en lactose et une diminution de la teneur en protéines.
- **Le lait mature** est produit environ trois semaines à un mois après le démarrage de l'allaitement. Cette évolution est adaptée aux besoins progressifs de l'enfant en croissance, en particulier à la maturation des défenses immunitaires et au développement du système nerveux central.

#### **4. Propriétés du lait maternel :**

Le lait maternel est bien plus qu'un aliment ; c'est également une substance vivante. Avant de le manipuler, lavez donc vos mains à l'eau chaude et savonneuse. La façon dont vous conservez votre lait déterminera dans quelle mesure ses qualités nutritionnelles et ses agents anti-infectieux seront préservés. Les propriétés antibactériennes du lait maternel lui permettent de rester frais plus longtemps. En effet, les anticorps et les cellules vivantes qui préviennent la prolifération de bactéries dans les intestins de votre bébé freinent également la croissance des bactéries lorsque le lait est conservé dans un contenant (bouchard, 2010).

**5. Les facteurs bioactive de lait maternel :**

Plus sa valeur nutritive, le lait maternel riche en substances et cellules qui, par leurs actions directes et indirectes, contribuent de manière efficace à la prévention des infections chez le jeune enfant :

- **Les cellules immunocompétentes :** lymphocytes, macrophage), qui contribuent directement à la destruction des micro-organismes agresseurs par leur action phagocytaires (Dusjts et *al* 2010)
- **Le lactoferrine :** elle accapare le fer duquel se servent les agent pathogènes pour se développe);
- **Les nucléotides :** qui stimulent le développement du tissu lymphoïde associé au tube digestif) (Hamosh, 2001)
- **Les oligosaccharides :** agents prébiotiques permettant le développement et l'implantation des bifidobactériesqui assurent une barrière vis-à-vis des agents pathogènes (Thurl et *al* 2010)
- **immunoglobulines :**enparticulierIgA sécrétoires (particulièrement résistantes à la protéolyse, qui s'attachent à la muqueuse intestinale et préviennent l'adhésion des virus et des bactéries) (Greer et *al*, 2008)
- **Lysozyme :** hydrolysant des liaisons moléculaires des parois bactériennes de la plupart des bactéries gram + et de quelques bactéries gram - ;
- **Les acides gras libresetmonoglycérides :** ayant une activité détergente et lytique sur les parois des bactéries, des protozoaires et des virus (en particulier acides laurique et linoléique) (Hamosh, 2001).

D'autres facteurs présents dans le lait maternel renforcent les défenses ;

Le cortisol, Une grande variété d'hormones gastro-intestinales (bombésine, cholécystokinine, peptide YY, vasoactive intestinal peptide), des facteurs de croissance, des peptides libres ou libérés lors de l'hydrolyse de la caséine sont apportés par l'allaitement .(Newburg ;2005).

## **6. Origine des bactéries lactiques de lait maternel**

On pensait que les bifidobactéries et les LAB potentiellement bénéfiques provenaient de la glande mammaire, des mamelons maternels et des environs immédiats de la peau du sein.

Cependant, certaines études ont indiqué que l'origine des bactéries bénéfiques viables dans le lait maternel humain est l'intestin maternel .(Perez et al.2007 et Jeurink et al 2013).

Les cellules immunitaires (CD18 +), les cellules dendritiques et les macrophages dans l'intestin de la mère captent les bactéries bénéfiques et les transportent vers la glande mammaire en utilisant le système lymphatique (Jeurink et al 2013).

Il a été démontré que les cellules dendritiques (CD) peuvent ouvrir les jonctions serrées entre les cellules épithéliales intestinales et pénétrer l'épithélium intestinal avec leurs dendrites, permettant aux CD de prélever des bactéries commensales directement dans la lumière intestinale sans endommager l'intégrité de la barrière épithéliale (Martín et al 2004. Perez et al 2007 et Fernandenz et al 2013).

Ce processus a été comparé à une souche de *Salmonella typhimurium* qui, bien que déficiente en gènes d'invasion, a pu atteindre la rate vivante après administration orale à des souris (Rescigno et al 2001).

Les macrophages se sont également avérés capables de disséminer des bactéries non invasives (Jeurink et al 2013).

Dans une recherche comparant la diversité bactérienne du lait maternel et de la peau du sein, des différences génotypiques majeures ont été trouvées parmi les lactobacilles, les entérocoques et les bifidobactéries des différents environnements (Martin et al 2003 ; Gueimonde et al 2007).

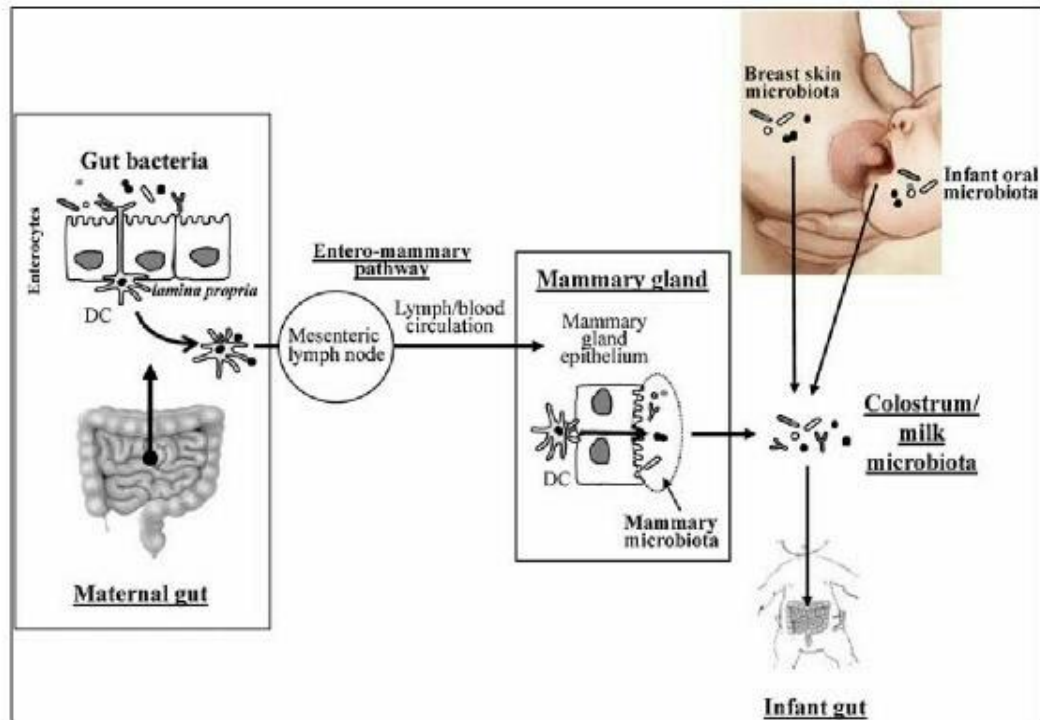
Il a été démontré que les bactéries bénéfiques vivantes administrées par voie orale aux femmes allaitantes dans une capsule peuvent être extraites de leur lait (Jimenez et *al.* 2008 et Arroyo et *al.* 2010).

De plus, des études chez la souris ont montré que les bactéries de l'intestin se transloquent vers les ganglions lymphatiques mésentériques (MLN) et les glandes mammaires à la fin de la grossesse et au début de la lactation (Fernandez et *al.* 2004 et Jeurink et *al.* 2013).

Le processus de migration de l'intestin maternel vers la glande mammaire est influencé par la capacité des bactéries à adhérer au mucus. La production d'exopolysaccharides (EPS) par les bactéries améliore leur survie pendant le transport systémique.

Les recherches de Fanning et *al.* (2012) ont montré que la souche UCC2003 de *Bifidobacterium breve* produit un EPS censé faciliter la capacité de la bactérie à rester immunologiquement silencieuse en échappant à la réponse adaptative de l'hôte des cellules B.

Les bactéries potentiellement bénéfiques telles que le LAB et les bifidobactéries présentes dans le lait peuvent avoir une origine endogène et ne pas être le résultat d'une contamination de la peau du sein environnant (Martin et *al.* 2003).



**figure1 : Sources potentielles de bactéries lactiques du lait maternel.**  
(Fernandez et al 2013)

## 7. Les bienfaits du lait maternel :

### 7.1. Pour bébé :

1. L'allaitement maternel diminue l'incidence et la gravité des infections digestives, ORL et respiratoire.
  2. Il permet une réduction du risque allergique chez les nourrissons.
  3. Il participe également à la prévention artérielle de l'obésité pendant l'enfance et l'adolescence.
  4. Les enfants allaités ont une tension artérielle et une cholestérolémie inférieures.
1. Supplémentations en énergie, protéines et sels minéraux, (M. Crost, M. Kaminski ;1998)

**7.2.Pour la mère :**

Dès l'instant du premier contact peau avec le nouveau-né , l'organisme déclenche une poussée d'ocytocine , surnommée «hormone de l'amour » ou « hormone de l'attachement » , le corps libère de l'ocytocine chaque fois que le bébé tète .

1. moins susceptible de souffrir d'une anémie due à une carence en fer(Labbok m m , 2001 ) .
2. L'ocytocine présente également un effet anti déresseur. une étude a démontré que les mères présentant des niveaux plus élevés d'ocytocine avaient moins de symptômes d'anxiété et de dépression ( Stuebam et ali 2013 ).
3. l'allaitement réduit votre risque à long terme de développer un maladie cardiaque ou un diabète de type 2(Peters, sae et *al* ;2017 ) , ( Victor cg et *al* ;2016 ) .
4. chaque mois d'allaitement supplémentaire diminue également votre risque de contracter différents cancers, notamment ceux du sein, des ovaires et de l'utérus ( L I D P et *al* ; 2014 ) ( Jordan SJ et *al* 2017 )

# **Chapitre 2 :**

## **Les bactéries lactiques**

### **1. Définition des bactéries lactiques**

Les bactéries lactiques sont des cellules procaryotes organotrophes formant un groupe hétérogène constitué de cocci et bacilli. ce sont des bactéries gram positif et généralement sont immobiles (Pringsulaka et *al* , 2011 ).

Ces bactéries ont la capacité de fermenter certains sucres comme le glucose, le fructose, le mannose, le galactose, le saccharose et le lactose en acide lactique (Kandler et weiss , 1986 ).

Les bactéries lactiques sont considérées comme non pathogènes ( *Aquirre et collins* , 1993 ; *adams et marteau* , 1995 ) ; cependant, parmi elle il existe quelques espèces du genre streptococcus et enterococcus sont considérées comme des pathogènes opportunistes ( *Aguiree et collins* , 1993 ).

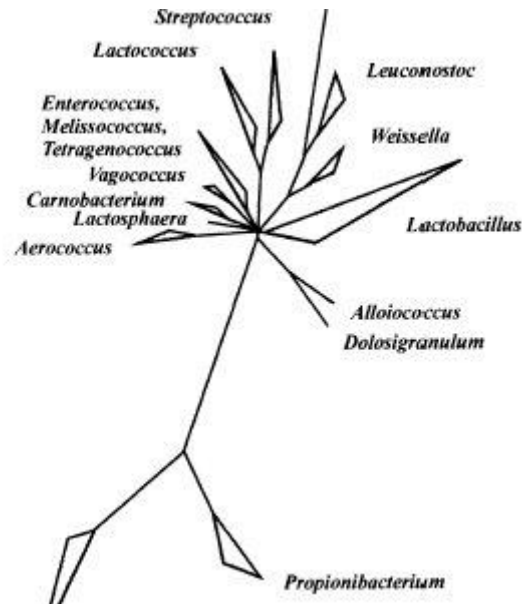
### **2. Classification des bactéries lactiques**

Les bactéries lactique ont été classés selon les propriété phénotypiques : la morphologie, le mode de fermentation du glucose, la croissance à différent températures, l'isomère del'acide lactique produit et la fermentation des différents hydrates de carbone (Derosissant et loquet, 1994, holzupfel et *al* ,2001).

Cependant, les études basées sur la comparaison des séquences de l'ARN16s sont montrés que certains taxons générés sur la base de la caractérisation phénotypique ne concordent pas avec les relations phylogénétiques suggérées. ainsi certaines aspects ne sont pas faciles à distinguer par des caractéristiques phénotypiques (Gevers , 2002).



Ces études basées sur les critères moléculaires ont permis de classer les espèces en coques lactiques et en bacilles (Schleifer et al 1985 ; Farrow et al 1989)



**Figure 2 :** L'arbre phylogénétique, basé sur l'analyse comparative des séquences d'ARNr16s, montrant les principaux groupes phylogénétiques des bactéries lactiques et les genres non reliés *Bifidobacterium* et *propioni bacterium* (Holzapfel et al 2001)

### 3. Les caractéristiques générales des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques sont des cellules vivantes, procaryotes, gram positive hétérotrophes et chimio-organotrophes. Elles sont le plus souvent immobiles, jamais sporulées, catalase négative, oxydase négative, anaérobies facultatives, micro-aérophiles (Tailliez , 2001 ) .

Les bactéries lactiques encore appelées bactéries de l'acide lactique sont caractérisées par leur aptitude à fermenter les glucides en produisant de l'acide lactique (D, L ou DL) en utilisant les voies cataboliques d'Embden-Meyerhof (EMP), de dickers – horecker et d'entrer doudoroff. (Tailliez,2001)

Les bactéries lactiques sont dites homo-fermentaires lorsque l'acide lactique est le seul produit formé : par contre elles sont hétéro-fermentaire lorsque d'autres composés produit comme l'éthanol et la CO<sub>2</sub>ou autre.

Les bactéries lactiques regroupent en ensemble d'espèces hétérogènes dont le trait commun est la production l'acide lactique.

Les connaissances actuelles permettent d'affirmer que le groupe des bactéries lactiques est constitué de bactéries en forme de coque : *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Vagococcus*, *Enterococcus*, *Pediococcus*, *Aerococcus*, *Teragenococcus*, *Leuconostoc*.

Et des bactéries en forme de bacille : *lactobacillus* et *Carnobacterium*. Mais l'appellation des bactéries lactiques est souvent étendue à d'autres bactéries qui leur sont apparentées :

*Bifidobacterium*, *Propionibacterium*, *Micrococcus* et *Brevibacterium* .(Dellaglio et al .1994).

## **4. Les principaux genres des bactéries lactiques**

### **4.1 Les lactobacilles**

Lactobacilles est le genre principal de la famille lactobacillaceae. les bactéries du genre *lactobacillus* ont des aspects variés allant du bacille long et fin au coccobacille en passant par la forme bâtonnet court ou légèrement flosculeux. Ils sont Gram positif non sporulé. fréquemment associés en chainettes et habituellement immobiles ( Sneath et al , 1986 Hammes & Hertel , 2006 ).

La classification des lactobacilles a été établie selon le profil fermentaires (groupe 1) homofermentaire strict, (groupe 2) hétérofermentaire facultatif et (groupe 3) hétérofermentaire strict :

**Groupe 1 :** « thermobacterium » comprend les lactobacillus homofermentaires obligatoires ; fermentant les sucres en acide lactique et ne fermentent pas les pentoses ou gluconate. Les principales espèces utilisées en alimentation sont : *Lb acidophilus* , *Lb delbrueckii* et *Lb helveticus* , ainsi que *Lb jirinciminis* et *Lb kefiranofaciens* , *Lb delbrueckii* , *Lb bulgaricus* , *Lb lactis* et *Lb bickmani* avaient auparavant classé comme des espèces différentes puis elle sont reclassées en une seule espèce *Lb delbrueckii* avec les *subsp* , *Lb bulgaricus* et *Lb lactis*. ( Weiss et al , 1983 ).

**Groupe 2 :** « streptobacterium » comprend les lactobacilles hétérofermentaires facultatifs ; fermentent les hexoses en acides lactique et peuvent produire du gaz à partir du gluconate (pas à partir du glucose). Ils fermentent aussi les pentoses en acides lactique et acétique par une phosphokétolase inductible. Les principales espèces sont : *Lb casei* et *Lb plantarum*. Cette dernière est utilisée dans la culture starter des céréales, légumes et des produits canés. *Lb curvatus* et *Lb sakei* sont aussi utilisées dans les cultures starters des

produits camés fermentes comme elles dominant la population microbienne de ces produits ( Hammes et *al*, 1991 ).

**Groupe 3 :** anciennement appelés «betabacterium » les lactobacilles appartenant à ce groupe sont hétéro-fermentaires strictes, fermentent les carbones. La production du gaz à partir du glucose et le genre principale est un *Lb sanfrancisco* est un lactobacille hétéro-fermentaire strict utilisé dans la fermentation des aliments, il fermente le maltose en produisant de l'acide lactique et acétique et différents composants la fermentation des produits panaires.



**Figure 3 :**Image de *Lactobacilles casei*(<https://www.gettyimage.fr/photos/lactobacillus>)

#### 4.2 Les Lactococcus :

- Les lactocoques peuvent être isolés du lait ou des végétaux qui constituent, probablement leur réservoir naturel mais ils sont largement présents dans le lait et les produits laitiers(Jones ,1978).

- *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* qui fut isolé pour la première fois par Lister en 1873 du lait fermenté et est reconnu comme agent primaire de l'acidification du lait caillé. (Sandine, 1988)
- *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* exclusivement adapté au lait mais son isolement est plus difficile. sa concentration y étant faible (Sandine, 1988)



**Figure4 :Image de Lactococcuslactic subsp.lactis**

([https://fr.wikipedia.org/wiki/lactocoque.](https://fr.wikipedia.org/wiki/lactocoque))

#### **4.3 Les streptococcus :**

*Streptococcus thermophilus* est le seul streptocoque utilise comme ferment .

Bien que thermophile, sa température optimal de croissance étant comprise entre 40 et 44 c°. elle est capable de ce développer entre 20 et 30 c° mais beaucoup plus lentement, et elle résiste à des températures comprises entre 50 et 55 c° ( Tsakalidou et *al* , 1998 )

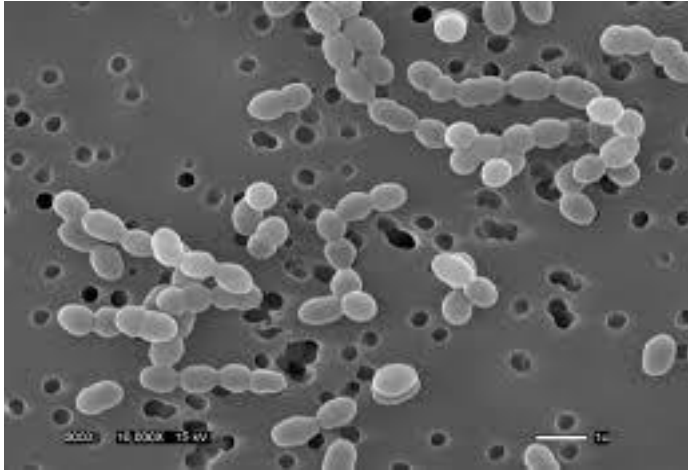


**Figure5** :Image de *Streptococcus thermophilus*(<https://www.123rf.com/photo>)

#### 4.4 Les leuconostoc :

Le genre leuconostoc a été défini par (Vantieghem en 1878)le terme leuconostoc vient du mot " nostoc " qui est une algue bleue mucilagineuse veu dire blanc. Les leuconostoc sont cocci ovoïde, sous forme de chaines, d'aspect mucilagineuse, non pigmentes. Les premières souches ont été isolées à partir d'accident produisent le dextraneen milieu riche en saccharose, les chaines de cocci sont entourées d'une gaine bien distincte à l'examen microscopique : gaine qui rappelle celle des nostocs.

**Leuconostocs sont :** *Lc fallax*, *Lc comosum*, *Lc gelidum*, *Lc mesenteroides*, *Lc mesenteroides ssp cremois*, *Lc mesenteroides ssp. Dextranicum*, *Lc mesenteroides ssp. Suionicum* *Lc miyukkimchii*, *Lc pseudomesenteroides*, *leuc citreum*, *Lc kimchii*, *leuc gasicomitatum*( Zhang et cai ,2014)

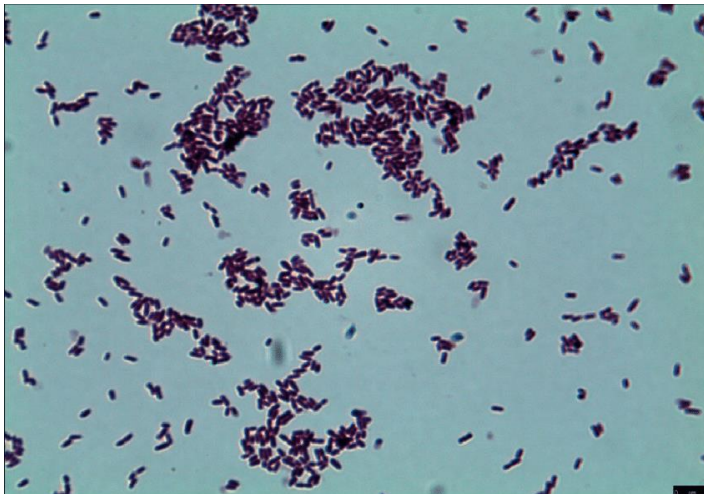


**Figure 6 : Observation microscopique de genre Leuconostoc**

(<https://tel.archives-ouvertes.fr/>)

#### **4.5 Weissela**

Le genre weissela : 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 15c° mais quelques espèces peuvent croître entre 42c°et 45c°.



**Figure 7 : Observation par de genre Weissela par microscope optique(x :100)**

(<https://docplayer.fr/>)

## **Chapitre 3**

# **Propriétés technologiques des bactéries lactiques**



### **1. Propriétés technologiques des bactéries lactiques**

L'utilisation des bactéries lactiques pour une application industrielle donné est déterminée par leurs propriétés fonctionnelles et technologiques, Celles –ci recouvrent les propriétés suivantes :

#### **1.1. Activité acidifiante**

Le catabolisme fermentaire des hexoses conduit chez les bactéries lactiques a un fort abaissement du pH extracellulaire par la production d'acide. Cette propriété est très recherchée en industrie alimentaire et particulièrement lors de la fabrication des produits laitiers.

l'acidification du lait permet la coagulation du lait, l'augmentation de la synérèse du caillé et la participation aux propriétés rhéologiques du produit final .la diminution du pH peut empêcher la croissance des autres micro- organismes, en particulier les bactéries pathogènes (Piard et Desmazaud, 1991).

#### **1.2. Activité protéolytique**

Les bactéries lactiques ont des protéases et des peptidases nécessaires à la dégradation des protéines du lait en peptides et acides aminés Ceux-ci peuvent alors être transformés en alcools et en acides . Cette activité protéolytique intervient de ce fait sur le rendement Fromager, la texture et la saveur typique du fromage et par conséquent sur les caractéristique du produit final.

Il existe chez la majorité des bactéries lactiques des protéases extracellulaires ou protéase de paroi et entre une dizaine et une vingtaine de peptidases intracellulaires qui diffèrent à la fois par leur spécificité de substrat et leur mécanisme catalytique.

Outre l'impact sur la texture, l'action principale des enzymes impliquées dans la protéolyse conduit à la libération des peptides et des acides aminés libres et des composés d'arôme (plusieurs familles de composés aromatique volatiles

### **Chapitre 3 : Propriétés technologiques des bactéries lactiques**

sont formées via l'action enzymatique en utilisant des acides aminés comme substrats)(Buist et al.,1998)

#### **1.3. Activité lipolytique**

Les propriétés lipolytiques sont généralement faibles chez les bactéries lactiques. les BL sont considérés comme plus lipolytiques *Streptococcus Thermophilus* et les lactobacilles, Elle peuvent cependant présenter un intérêt pour certaines applications fromagères(béal et al.,2008)

D'une manière générale on distingue les estérases qui hydrolysent de façon préférentielle les esters formés avec les acides gras à chaîne (C2\_C8) et les lipases qui sont actives sur des substrats émulsifiés contenant des acides gras à chaîne longue (C8). Ces enzymes sont impliquées dans l'hydrolyse de mono, di, triglycérides (Bal et al.,2008 ;serhamet al.,2009).

#### **1.4. Production d'exo-polysaccharides (EPS)**

Certaines souches de bactéries lactiques ont la capacité de synthétiser et d'excréter, au cours de leur croissance, des polymères de sucre appelés polysaccharides exocellulaires ou EPS, qui permettent d'améliorer la texture et la viscosité du produit fini (Dupont,1998).

En générale, la Présence de polysaccharides dans des produits fermentés, tels les yaourts ; permet d'augmenter l'homogénéité du produit et rend sa présentation plus agréable.

Les bactéries lactiques produisant des EPS ont été utilisées dans la production de yaourt et de certains laits fermentés. L'utilisation de souches productrices d'EPS comme ferment du yaourt améliore la rétention d'eau pour diminuer la synérèse, améliore la viscosité et peut remplacer la matière grasse. En production de yaourt, les EPS synthétisés durant la fermentation du lait ont la capacité d'influencer tant les propriétés rhéologiques le maintien des propriétés

### **Chapitre 3 : Propriétés technologiques des bactéries lactiques**

physico-chimiques du lait (texture, viscosité, arômes ....etc.) mais ils présentent aussi des effets curatifs dans les traitements de certaines maladies gastro-intestinales (Desmazaud, 1983).

#### **1.5. Action probiotique**

Les bactéries lactiques sont de plus utilisées en alimentation humaine et animale pour leurs effets probiotiques. Parmi ces effets on peut citer, les bactéries lactiques ayant des leurs effets propriétés antitumorales qui pourraient être due à l'inactivation ou l'inhibition des composés carcinogènes dans le tractus gastro-intestinal et/ou à la réduction des activités enzymatiques des bactéries intestinales telle que la b-glucoronidase, l'azoréductase et la nitroréductase.

La prévention et traitement des diarrhées dues aux infections gastro-intestinales ; la diminution de la cholestérolémie par réduction de l'absorption intestinale du cholestérol endogène et exogène et la diminution de sa synthèse dans le foie (GIVRY.1996).

Certaines souches probiotiques, notamment des lactobacilles excrètent la b-galactosidase souvent déficients dans le tractus digestif de l'hôte et facilitent la digestion du lactose, elles stimuleraient l'activité enzymatique des microorganismes endogènes. Permettant ainsi une meilleure assimilation des aliments. Elles stimuleraient également les activités lactase et invertase des cellules épithéliales du tractus digestif (Larpen-gourgau et *al.* 1997).

##### **1.5.1. Caractéristiques des bactéries probiotiques**

Une bactérie « probiotique » doit posséder plusieurs caractéristiques indiquées par (Fores et *al.*, 2007., Behnsen et *al.*, 2013., Roefes, 2014)

1. appartenir à la flore commensale
2. avoir un métabolisme actif

3. ne pas être pathogène ou carcinogène
4. viabilité : les probiotiques doivent rester viables dans les conditions de préparation et de stockage habituels, et résister aux conditions extrêmes retrouvées dans le tractus gastro-intestinal (pH acide, sucs gastriques, bile).
5. adhérence : les microorganismes probiotiques doivent être capables d'adhérer à l'épithélium et au mucus intestinal, pour pouvoir s'y implanter et s'y développer.
6. propriétés antimicrobiennes.

### **1.5.2. Les microorganismes probiotiques**

Il existe plusieurs genres :

Les ferments lactiques : *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus* et *Lactobacillus casei*, Entérocoques et Streptocoques. Les bifidobactéries. Les différentes levures de type *Saccharomyces cerevisiae*. Elles sont principalement utilisées par l'industrie agroalimentaire mais peuvent aussi être utilisées en tant que complément alimentaire. Les autres bactéries sporulées, dont *Bacillus subtilis* et *Bacillus cereus*.

### **1.6. Les propriétés antimicrobiennes des bactéries lactiques**

Les propriétés antimicrobiennes des bactéries lactiques peuvent être associées à de nombreux éléments. Elles résultent de l'effet combiné de différents facteurs biologiques provenant de leurs activités métaboliques.

#### **1.6.1 Le pH et les acides organiques**

Les produits principaux du métabolisme des bactéries lactiques sont les acides organiques qui sont produits soit par la voie homofermentaire, soit par la voie hétérofermentaire. Le métabolisme du pyruvate conduit à la formation uniquement d'acide lactique chez les homofermentaires tandis qu'il conduit à la

### **Chapitre 3 : Propriétés technologiques des bactéries lactiques**

formation d'acide lactique, acétique et formique, d'éthanol et de dioxyde de carbone chez les hétérofermentaires (Liu, 2003).

Grâce à cette production d'acides organiques, les bactéries lactiques diminuent le pH du milieu dans lequel elles se multiplient en inhibant une partie de la flore qui s'y développe. Les acides organiques sont un des agents classiques de préservation des aliments (Brul et Coote, 1999) et sont reconnus comme des additifs alimentaires. Les acides couramment utilisés sont les acides benzoïque, sorbique, acétique, fumarique, propionique et lactique. Ils sont utilisés pour prévenir ou retarder la croissance des bactéries dégradant la nourriture (Hsiao et Siebert, 1999).

#### **1.6.2 Le peroxyde d'hydrogène :**

Les bactéries lactiques ne possèdent pas de catalase typique contenant un noyau hème pour dégrader le peroxyde d'hydrogène en oxygène et en eau. Il peut s'accumuler et être inhibiteur de différents microorganismes par l'oxydation des lipides membranaires et la destruction des structures des protéines cellulaires (Zalan et *al.*, 2005).

#### **1.6.3 Le dioxyde de carbone.**

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

#### **1.6.4 Le diacétyl.**

Il est synthétisé par différents genres de bactéries lactiques comme *Lactococcus* sp, *Leuconostoc* sp, *Lactobacillus* sp et *Pediococcus* sp. Le diacétyl (C<sub>4</sub>H<sub>6</sub>O<sub>2</sub>) est un des composants aromatiques essentiels du beurre. Il a des propriétés antimicrobiennes qui sont dirigées contre les levures, les bactéries Gram négatifs et les bactéries Gram positifs non lactiques, ces dernières y sont néanmoins moins sensibles (El Ziney et *al.*, 1998).

### **1.6.5 La reutéline**

La reutéline (ou 3-hydroxypropionaldehyde) est une substance antimicrobienne qui est produite comme métabolite intermédiaire pendant la fermentation anaérobie du glycérol par certaines espèces de *Lactobacillus* (El Ziney et al., 1998). La fermentation du glycérol se déroule en deux étapes. Le glycérol sera tout d'abord déshydraté par une «glyceroldéshydratase» pour former de la reutéline qui sera ensuite réduite en 1,3- propanediol par une oxydoréductase. Cette deuxième étape est inhibée en l'absence de glucose. La reutéline s'accumule alors dans le microorganisme producteur. Sa toxicité contre la cellule productrice limite sa production, certaines espèces comme *Lactobacillus reuteri* y sont plus résistantes (Vollenweider, 2004).

### **1.6.6 Les bactériocines**

Les bactériocines produites par les bactéries lactiques sont des substances antimicrobiennes de poids moléculaire variable. Les plus connues sont: la nisine, la diplococcine, l'acidophiline et la bulgaricane (Dortu et Thonart, 2009). La plupart des bactériocines produites par les bactéries lactiques partagent le même mode d'action, basé sur la formation de pores dans la membrane de la bactérie cible (De Vuyst et Leroy, 2007 ; Kumari et al., 2009).

Tagg et al. (1976) suggéraient qu'un composé antimicrobien doit être considéré comme une bactériocine que lorsqu'il satisfait aux critères suivants :

- L'activité des bactériocines doit disparaître sous l'action des protéases.
- Un spectre d'inhibition étroit dirigé contre les espèces apparentées à la souche productrice.
- La présence d'une fraction protéique biologiquement active.
- Un mode d'action bactéricide.
- Un site d'attachement (récepteurs) spécifique sur les cellules sensibles.

- La bactérie productrice synthétise une molécule qui la protège contre sa propre bactériocine.

Les bactériocines sont codées par des plasmides.

### **1.6.6.1 Classification**

Les bactériocines produites par les bactéries lactiques sont réparties en quatre classes comme proposées par (Klaenhammer, 1993):

- **Classe I** : Les l'antibiotiques

Ce sont des peptides de taille inférieure à 5 kDa, stables à la chaleur et qui contiennent des acides aminés inhabituels soufrés formés post-traductionnellement, comme la lanthionine, la  $\beta$ -méthyl lanthionine, la déhydrobutyrine et la déhydroalanine.

Les l'antibiotiques peuvent être divisés en deux types :

La classe Ia qui comprend des peptides cationiques hydrophobes allongés contenant jusqu'à 34 acides aminés et la classe Ib qui comprend les peptides globulaires chargés négativement ou sans charge nette et contenant jusqu'à 19 acides aminés (Twomey et *al.*, 2002).

Les l'antibiotiques interagissent avec la membrane cellulaire par des interactions électrostatiques ou par la liaison à des récepteurs spécifiques telle que le lipide II (undecaprenylpyrophosphoryl-MurNAc-pentapeptides-GlcNAc), un précurseur du peptidoglycane. Suite à cette liaison, les lantibiotiques peuvent former des pores larges et non spécifiques dans la membrane cytoplasmique, ce qui va causer l'efflux rapide des petits composés cytoplasmiques tels que les ions, les acides aminés, l'ATP, etc. Cette augmentation de la perméabilité membranaire va conduire à la mort de la cellule (McAuliffe et Hill, 2001 ; Twomey et *al.*, 2002 ; Bauer et Dicks, 2005 ; Patton et Van Der Donk, 2005).

- **Classe II**

Ce sont des peptides de taille inférieure à 10 kDa, stables à la chaleur, ne contenant pas d'acides aminés modifiés. Leur point isoélectrique varie entre 8 et 10.

**La sous-classe IIa** Ces bactériocines contiennent entre 27 et 48 acides aminés et ont toute une partie Nterminale hydrophobe contenant la séquence consensus YGNGV ainsi qu'un pont disulfure et une partie C-terminale moins conservée, hydrophobe ou amphiphile qui détermine la spécificité d'action (Fimland et al., 2000 ; Richard et al., 2006). Elles ont toutes une activité contre *Listeria monocytogenes*. Certaines bactériocines de cette sous-classe contiennent également un deuxième pont disulfure dans leur domaine C-terminale qui semble être important dans la stabilisation de la structure tertiaire. Il semble par ailleurs qu'il leur confèrerait une meilleure activité antimicrobienne, une meilleure résistance à l'exposition à des hautes températures et un spectre d'action plus large (Eijsink et al., 1998 ; Fimland et al., 2000 ; Drider et al., 2006 ; Richard et al., 2006).

**La sous-classe IIb** Elle comprend les bactériocines ayant besoin de deux peptides pour avoir une activité. Deux types de bactériocines de classe IIb peuvent être distingués: le type E (Enhancing) où la fonction d'un des deux peptides est d'augmenter l'activité de l'autre et le type S (Synergy) où les deux peptides sont complémentaires.

- **Classe III**

Ce sont des protéines de taille supérieure à 30 kDa et sensibles à la chaleur. La structure et le mode d'action de ces bactériocines diffèrent complètement des autres bactériocines produites par les bactéries lactiques. Cette classe ne



### **Chapitre 3 : Propriétés technologiques des bactéries lactiques**

contient que quatre bactériocines: l'helveticin J produite par *Lactobacillus helveticus* A, l'enterolysin A produite par *Enterococcus faecium*, la zoocin A produite par *Streptococcus zooepidemicus* et la millericin B produite par *Streptococcus milleri* (Nilsen et *al.*, 2003 ; Papagianni, 2003 ; Nigmatova et *al.*, 2007).

Le mode d'action de ces bactériocines diffère complètement des bactériocines des autres classes. En effet, l'enterolysin A, la zoocin A et la millericin B agissent par l'hydrolyse des liens peptidiques du peptidoglycane des cellules sensibles. La zoocin A a un spectre d'action étroit alors que l'enterolysin A et la millericin B ont un spectre d'action large. L'helveticin J a un mode d'action bactéricide (Nilsen et *al.*, 2003).

**Classe IV** Ce sont des peptides requérant une partie carbohydratée ou lipidique pour avoir une activité.

# Conclusion

## **Conclusion**

Le lait maternel contient tous les éléments nécessaires pour assurer la croissance et le développement du nourrisson C'est une source potentielle de bactéries qui favorise le bon développement des bactéries de la flore intestinale, intervenant dans la protection contre les maladies et augmentant l'efficacité du système digestif. Dans ce contexte cette étude consiste à isoler et caractériser la flore bactérienne du lait maternel.

## **Référence bibliographique**

- Alsaweed M (2016). Human milk cells and lipids conserve numerous known and novel miRNAs, some of which are differentially expressed during lactation. *PLoS ONE*, 11(4): e152610
- Ballard O, Morrow. Human milk composition: nutrients and bioactive factors. *Pediatr Clin North Am*. 2013;60(1):49-74
- Beck KL. 2015; comparative proteomics of human and macaque milk reveals species-specific nutrition during postnatal development. *J Proteomics*. 14(5):2143-2157
- Besser T.E. & Gay C.C. (1994). The importance of colostrum to the health of the neonatal calf. *Veterinary Clinics of North America - Food Animal Practice*, 10:107-117.
- Bouchard J., (2010). La conservation du lait maternel 2540, rue Sherbrooke Est, bureau 100 Montréal, Québec H2K 1E9. 1p.
- Bougherra, H., Bedimi S., Flamini G., Coxi F., Belhamel K., Conti B. (2015). Pi stacia
- Brandtzaeg, P. (2010). The mucosal immune system and its integration with the mammary glands. *The J Pediatr*. 156(2):s8-15.
- Browne J.V. 2008 "chemosensory development in the fetus and newborn" *Newborn and Infant Nursing Reviews* vol 8 pp180-186
- Buist, G., Venema, G., Kok, J.A. (1998) Autolysis of *Lactococcus lactis* is influenced by proteolysis. *Journal of bacteriology*. 180 (22), 195-241.
- Daoudi A. (2006). Qualité d'un fromage local à base de lait chèvre. Mémoire de magistère, université Hassiba Ben-Bouali-Chlef. 187
- Desmazeaud M. (1983) Comment les bactéries lactiques se comportent-elles le lait? *Technique laitière*. 976, 11-14.
- Dupont, I. (1998). Identification moléculaire de souches de *Lactobacillus* productrices d'exopolysaccharides et comparaison de la production d'exopolysaccharides par trois de ces souches. Thèse de doctorat de sciences des aliments et de nutrition. Université Laval, faculté des sciences de l'agriculture et de l'alimentation. Canada. 273.

El Agamy E.I., Ruppner r., Ismail a., champagne c.p., assaf r., (1992).Antibacterial and antiviral activity of camel milk protective proteins. Journal of Dairy Research, 59, 169-175.

Ghalouni essma, Modelisation mathematique quelques activites a interet technologique chez des souches de bacteries lactiques Isolees de lait fermenté « l'ben » algerin- these de doctora en sciences- université oran- 2018- 2019.

Guerin-Fauble V, (2006). Antibiothérapie en élevage : la réponse à l'antibiogramme est-elle fiable ? Le Point Vétérinaire, 37(262) : 8-9

H., paulsson m., nyberg L. & Akesson B. (2002). Immunoglobulins, growth factors and growth hormone in bovine colostrum and the effects of processing. International Dairy Journal, 12:879-887.

Hamosh ,M 2001.bioactive factors in human milk .pediatric clinics;48(1):69.86.

Hassiotou f 2013 .cells in human milk ,state of the science ,jhuman lact .;29(2) :171-182

<https://docplayer.fr/>

<https://fr.wikipedia.org/wiki/lactocoque>.

<https://fr.wikipedia.org/wiki/lactocoque>.

<https://tel.archives-ouvertes.fr/>

<https://www.123rf.com/photo>

<https://www.getty image.fr/photos/lactobacillus>

<https://www.getty image.fr/photos/lactobacillus>

Kappeler S.R. (2007), Brink h.j.m.van den, Rahbek-Nielsen H., Farah Z., Puhan Kanuspayeva G.,:Variabilité physico-chimique et biochimique du lait des grands camélidés (Camelus bactrianus, Camelus dromedarius et hybrides) au Kazakhstan. Thèse de doctorat en science des aliments. Université de Montpellier II, France

Larpen-gourgaud monique, michaux odile, larpen J.P, Desmasure nathalie, Desmazeaud milchel, mangin irène, masson florence, montel M.C. et tailliel M.C. et tailliez patrick, (1997). les ferments lactiques et bactéries apparentées In microbiologie alimentaire

- techniques de laboratoire. Larpent J-P technique et documentatation. Lavoisier, 199-255.
- M.crost ,M,kaminsk, l'allitement maternel à la maternité en France 1995.enquête nationale périnatale, archives de pédiatrie (12), 1316-1326,1998.
- Mckenzie H. A. (1971). Whole casein: isolation, properties, and zone electrophoresis, in: Milk Proteins: Chemistry and Molecular Biology Volume 2, H.A. mckenzieed., Academic Press: 87-116.
- Medjaoui Ikram- contribution à la caractérisation moléculaire de la flore du lait maternel et des selles des nouveau- nés de la population de l'ouest algérien-- these de doctora - université oran- 2017-2018
- Merlier efactory stimulation le vents apria une primatise new born in lorditns vol u 5 83 2005
- Mizouno K,ueda a ,”antenatele ol factory learning influences infant feeding “early human development ,vol 76(2004) pp83-90
- Moukarzel s ,bode l.human milk oligosaccararides and the preterm infant : a journey in sickness and in health .clin pernatol .2017;44(1) : 193-207.
- Muthukumarasamy, p. And holley, R.A. ((2006). Microbiological and sensory quality of Dry fermented sausages containing alginate-microencapsulated lactobacillus reuteri. International journal of food microbiology. 111, 164- 169.
- Nislita set al the calming effect of maternal braest milk order in the humen new born en effet nouriciense rese rach 63 2009 pp66 71
- Pakkanen R. & Aalto J. (1997). Growth factors and antimicrobial factors of bovine colostrum. International Dairy Journal, 7:285-297.
- Piot M., Fauquant J., Madec M.N. & Maubois J.L. (2004). Preparation of sérocolostrum by membrane microfiltration. Lait, 84:333-341.
- REITER B. (1978). Review of the progress of dairy science: Antimicrobial systems in milk. Journal of Dairy Research, 45:131-147.
- Sánchez cl.the possible role of human milk nucleotides as sleep inducers .nutr neurosci

- Sbouï amel, khorchani touhami, mongi djegham. et omrane amiot j., fournier s., lebeuf y., paquin p. & simpson r. (2002). composition, propriétés physicochimiques, valeur nutritive, qualité technologique et techniques d'analyse du lait, in: science et technologie du lait, vignola cl., école polytechnique de montreal:1-69
- Shams D., (1994). Growth factors in milk. *Endocrine Régulations*, 28:3-8
- Sullivan R., "clinical usefulness of maternal order in newborns :soothing and feeding preparatory responses ," *boil neonate* ,vol 74(6),(1998)pp402-408
- Todorov, s.d.stojanovski, s, iliev. i; moncheva; p. nero, L. Aivanova, i.v(2017)
- Uauy.R.essential fatty acids in early life :structural and functional role .*proc nutr soc* .2000;59(1):3-15
- Winberg j ,portor RH "ol faction and human neanatot behaviour :clinical implication *acta laediatica* vol 87 1 1998 pp
- Zagulki T., Lipinski P., Zagulska A., Broniek S., Jarzabek Z., (1989).*Br.J.Exp.Pathol.* 70697-704  
*Br. J. Exp. Pathol.*, 70, 697-704
- Zhang.z. Amino acid profiles in term and preterm human milk through lactation :a systematic review .*nutrients* 20130;5(12) :4800-4821