République Algérienne Démocratique et populaire
الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
Ministre de l'Enseignement Supérieure et de la Recherche Scientifique
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Université Dr Moulay Tahar de SAIDA
جامعة الدكتور مولاي الطاهر سعيدة

Faculté des Science
كلية العلوم

Département de Biologie
قسم البيولوجيا

Mémoire présenté Pour l'obtention du diplôme de

Master en Biochimie

Intitulé :

L'étude des bactéries lactiques produisantes des substances antimicrobiennes de type bactériocines omniprésentes dans les produits laitiers traditionnels

Présenté par : Melle HALIMI Kheira et **Melle TAHIR Oumria.**

Soutenue le Mercredi 16 Septembre 2020 à 10h00

Devant la commission de jury composée de :

Président : Mr HACHEM K.	**M.C.A** à l'université de Saida
Examinateur : Mr AMMAM A.	**M.C.A** à l'université de Saida
Encadreur : Mr BELLIL Y.	**M.C.B** à l'université de Saida

Année universitaire 2019/2020

REMERCIEMENT:

Nous tenons tout d'abord à remercier Allah le tout puissant et miséricordieux, qui nous a donné la force et la patience d'accomplir ce Modeste travail

*Nos sincères remerciements s'adressent à notre encadreur **Mr BELLILE Yahia** maitre à l'université de **SAIDA**, pour sa grande disponibilité, son écoute et son suivi tout au long de ce travail.*

Ainsi que pour sa patience et sa compréhension des situations diverses et variées tout au long d' elaboration de ce travail.

Mes remerciements sont adressés également aux membres du Jury Mr "HACHEME.K " et Mr "AMMAM.A" qui ont prissur leur temps et ont bien voulu accepter de juger ce modest travail

Ami ahmed ; directeur du laboratoire de biochimie de la faculté des siences a l'université de saida .Quoique nous dise , les mots ne sauraient exprimer ma profonde gratitude pour avoir dirigé cette mémoire .ses encouragements et sa patience m'ont beaucoup aider a surmonter toutes les difficulties . nous le remercie vivement d'avoir suivi et orienter ce travail

Pour finir, je remercie aussi tous mes enseignants et toutes les personnes qui ont contribués de près ou de loin pour la réalisation de ce travail.

Dédicace

*Je dédie ce travail à la mémoire de mon cher frère "**Redouane**" qui aurait été fiere de ma réussite .(lah yerhmah inchalah)*

Ames parent qui ont été toujours a mes cotés pour me soutenir et mes donner le courage pour terminer mes études

*Merci beaucoup **papa** et **maman***

Lah ykhalikom lia .

*À mes frères " **Mohamed** " qui m'a beaucoup aidé dans dans la vie et ma soutenue ,et au benjamin "**Hichem**" je t'aime mes frères.*

*À ma chère tante "**Mokhtaria**", ma sœur et ma cousine "**Amina**" Qui m'a beaucoup aide dans ma soutenue Merci beaucoup*

*Le plus grand merci dédicace a une personne chère a mon cœur ma sœur "**nawel** "qui m'a beaucoup soutenue "je t'aime ma sœur"*

*A mes très chères sœur "**Fatiha** " et leurs petits "**Anes** ";" **Khalfalah**" et "**Bachir**"*
*A mes très chères sœur "**Cherifa** " et leurs petits "**Imen**" ;"**Bouchra**;"**fouad**" et **Ritadj**"*

*A tous la famille "**HALIMI**"*

A tous ceux qui, par un mot, m'ont donné la force de continuer…A tous ce qui me sent chers et que j'ai omis de citer.

HALIMI Kheira

Dédicace

*Avec l'aide de **Dieu,** j'ai pu réaliser ce modeste travail que je dédie À:*

Mes chers parents, pour leurs dévouements,

Leurs amours, leurs sacrifices et leurs encouragements jusqu'au

*bout, que **Dieu** leur accorde une longue vie et encore une fois*

Merci!!

À la source de la tendresse de patience et de générosité,

*Ma mère "**Amina Tahir ".***

*À mon père"**Boussadjra**,"qui m'appris que la patience est*

le Secret du succès."Que Dieu ait pitié de lui ".

*Mes chères frangines : **Halima. "Que Dieu ait pitié d'elle** "et **Fatima** et*

Mokhtaria

*Mes chers frères : **Ali** et **kadda** et **Rayenne***

*Et les filles de ma sœur **: Meriem, Marwa ; Imen ;** et **Riteje***

A toutes mes camarades et mes très chères amies:

***Marwa** et **Siheme** et ma cousine" **sara** " que je l'aime beaucoup.*

Sans oublier tout les professeurs que ce soit du

primaire, du moyen, du secondaire ou de

l'enseignement supérieur.

Enfin à toutes les personnes qui comptent pour moi, intervenues dans

ma vie à un moment ou à un autre et qui m'ont accompagné et

soutenu.

Et

Tous ceux qui, par un mot, m'ont donné la force de continuer .....

Résumé

Les bactéries lactiques sont utilisées dans la fermentation et la bioconservation des aliments grâce à la production des acides organiques et d'autres substances antibactériennes telles que les bactériocines en inhibant certaines souches pathogènes. Dans le but de mettre en évidence l'effet inhibiteur de ces bactéries, nous avons étudié le pouvoir antagoniste de 60 souches de bactéries lactiques isolées d'un produit laitier Algérien traditionnel le «Jben» et «Klila» de chèvre et de brebis qui est un fromage frais vis-à-vis de quatre souches pathogènes (*Klebsiella oxytoca ATCC13182, Enterococcus gilvus LMG 13600, Listeria ivanovii ATCC19119, Staphylococcus simulans CECT 4538).* Des dénombrements de la flore lactique de ce produit laitier traditionnel ont été effectués sur les milieux Rogosa, MRS, M17 où la charge de la flore, leurs interactions a conduit à l'apparition de zones d'inhibition importantes d'un diamètre qui varie entre 3 à 29 mm. Les résultats obtenus ont montré que ces agents sont probablement des bactériocines. Des tests supplémentaires seront nécessaires pour connaître la nature exacte des agents inhibiteurs. Les produits laitiers traditionnels constituent une source de nouvelles souches Starters antimicrobiennes.

Mots clés : Produit laitier traditionnel, Jben, Klila, bactéries lactiques, bactéries pathogènes, Antagonisme, bactériocines.

Abstract

Lactic acid bacteria are used in the fermentation and biopreservation of food through the production of organic acids and other antibacterial substances like bacteriocins by inhibiting certain pathogenic strains. In order to demonstrate the inhibitory effect of these bacteria, we have studied the antagonistic power of 60 strains isolated from a traditional Algerian dairy product "Jben" and "Klila" goat and sheep which is a fresh cheese vis-à-vis four pathogenic strains *(Klebsiella oxytoca ATCC13182 ; Enterococcus gilvus LMG 13600; Listeria ivanovii ATCC19119 ; Staphylococcus simulans CECT 4538).* Counts of the total the lactic flora of this product traditional slag were carried out on Rogosa, MRS, M17 media where the load of flora, Their interactions led to the appearance of significant zones of inhibition of a diameter that varies between 3 to 29 mm. The results obtained have shown that these agents are probably bacteriocins. Additional tests were necessary to know the exact nature of the inhibitors. Traditional dairy products are a source of new strains Antimicrobial

Key words: Traditional dairy product, Jben, Klila, lactic acid bacteria, pathogenic bacteria, antagonism, bacteriocin.

ملخص

تستخدم بكتيريا حمض اللاكتيك في التخمير والحفظ البيولوجي الغذاء من خلال إنتاج الأحماض العضوية والمواد المضادة للبكتيريا الأخرى مثل البكتريوسينات عن طريق تثبيط بعض السلالات المسببة للأمراض.

من أجل إظهار التأثير المثبط لهذه البكتيريا ، قمنا بدراسة القوة المضادة لـ 60 سلالة معزولة من منتج ألبان جزائري تقليدي الماعز "جبين" و "كليلة" وهي عبارة عن جبن طازج مقابل أربع سلالات ممرضة(*Enterococcus gilvus LMG 13600; Listeria ivanovii ATCC19119 ; Staphylococcus simulans CECT 4538 klebsiella oxytoca ; ATCC13182)*. عدد النباتات المحبة للحرارة الكلية والنباتات اللبنية لهذا المنتج تم تنفيذ الخبث التقليدي في وسائط Rogosa و MRS و M17 حيث تم تحميل النباتات أدت تفاعلاتهم إلى ظهور مناطق كبيرة من تثبيط قطر يتراوح بين 3 و 29 ملم.

أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها أن هذه العوامل ربما تكون بكتريوسينات. وكان من الضروري إجراء اختبارات إضافية لمعرفة الطبيعة الدقيقة للعوامل مثبطات. تعتبر منتجات الألبان التقليدية مصدرًا لسلالات جديدة من مضادات الميكروبات

الكلمات المفتاحية: منتجات الألبان التقليدية ، جبن ، كليلة ، بكتيريا حمض اللاكتيك ، البكتيريا المسببة للأمراض ، البكتريوسين

Liste des tableaux

Tableau 1: Composition en lipides des laits de différentes espèces……...……04

Tableau 2: Composition moyenne du lait en éléments minéraux majeurs de différentes

Espèces……...…….……05

Tableau 3: Composition moyenne du lait en principaux oligo-éléments indispensables aux différentes espèces…….....……05

Tableau 4 : Composition vitaminique du lait de différentes espèces…….……06

Tableau 5: Composition de lait de différentes espèces……..……07

Tableau 6 : composition du lait de brebis…….……..13

Tableau 7 : compositions de lait de différents espèces…….……..17

Tableau 8: Rôle de quelques espèces deLactobacillusutilisés en industrie…….……..28

Tableau 9Critères technologiques de sélection des bactéries lactiques fournis par les fiches techniques……30

Tableau 10: Principales utilisations des bactéries lactiques en agroalimentaires…….……..32

Tableau 11 :les classes des Bacteriocines produites par les bacteries lactiques…….46

Tableau12 :Exemples des bactériocines produites par Lactobacillus plantarum……..…….48

Tableau 13:Les principales bactériocines produites par certaines espèces de bactéries lactiques letterature …….……51

Tableau 14: Espèces de bactéries lactiques ayant un rôle probiotique ……..61

Tableau 15 **:** présente le nombre et numération des colonies observée sur chaque milieu gélosée M17, MRS et Rogosa. …….……74

Tableau 16: Résultats des caractères morphologiques des colonies obtenus sur le milieu MRS. ……...76

Tableau 17: Résultats de l'activité antimicrobienne des souches lactiques contre les bactéries cibles déterminé par méthode directe (*Spot Agar Test*)……..80

Liste des figures

Figure 1 : Morphologie de la race de chèvre Arabia.....10

Figure 2 :Morphologie de la race de chèvre Makatia…….……..…….11

Figure 3 : Morphologie de la race de chèvre Mozabite……..…….……..11

Figure 4 : Morphologie de la race de chèvre Kabylie……..……12

Figure 5: *La vache Prim'Holstein* ……...……..……...…….……...……15

Figure 06*:La vache Monthabiliare*…….….……..…16

Figure 7 : La vache Normande……..…….……16

Figure 08: Différente forme microscopique de bactéries lactiques…….……23

Figure09 : Modèle de formation d'un pore transmembranaire par la nisine……..56

Figure 10: Jben de brebis……..……67

Figure 11:Klila de breb……..……...……67

Figure 12:Klila de vache ……..……..……..……68

Figure 13 : Klila de chèvre……..……...…...……68

Figure 14 : Jben de chèvre……..……...……68

Figure 15 : L'aspect et la couleur des colonies isolée sur les milieux MRS, M17 et Rogosa……75

Figure 16: Aspect macroscopique de quelques souches des bactéries lactiques (LA3, LB7, LC23 et JE51) purifiées sur gélose MRS……..79

Figure 17: Observation microscopique des isolats après coloration de Gram ……79

Figure 18 : Photos présentent l'activité antibactérienne des souches isolées des bactéries lactiques contre deux souches cibles *Klebsiella oxytoca* et *Enterococcus gilvus*…….……83

Figure 19: Inhibition de *Klebsiella oxytoca* par nos 64 isolats des bactéries lactiques……83.

Figure 20: Inhibition de *Listeria ivanovii* par nos 64 isolats des bactéries lactiques……....84

Figure 21: Inhibition d'*Enterococcus gilvus* par nos 64 isolats des bactéries lactiques……..84

Figure 22: Inhibition de *Pseudomonas aeruginosa* par nos 64 isolats des bactéries lactiques…....85

ABRÉVIATIONS

BL	***:***	bactérie lactique
°C	***:***	degré celsius
ADN	***:***	acide désoxyribonucléique
ARN	***:***	acide ribonucléique
CO2	***:***	dioxyde de carbone
h	***:***	heure
Da	***:***	dalton
LDH	***:***	le lactase déshydrogénase
mg	***:***	milligramme
min	***:***	minute
MRS	***:***	milieu de man,rogosa and sharpe (1960)
mM	***:***	milli-molaire
PH	***:***	potentiel d'hydrogéne
µg	***:***	microgrammes
Mg++	***:***	ion de magnésium

Sommaire

Remerciement

Dédicace

Résumé

Liste de tableau

Liste de figure

Liste des abbreviations

Introduction 01

Partie bibliographique

Chapitre I : le lait

I.1- Definition générale du lait ……03

I.2- Composition du lait …….……..……03

I.3- Microflore du lait……07

I.4- Lait de chevre …….08

I.5- Lait de brebis…….…….13

I.6- Lait de vache …….…….14

Chapitre II : Produits laitiers traditionnels

I- : Les produits dérivés du lait…….……17

I.1- Le jben…….17

I.2. Klila……...……..19

Chapitre III : les bactéries lactiques

I.1-Definition ……20

I.2-Proprieties generals……..…20

I.3-Origine des bacterie lactique ……...……21

I.4-Genétique des bacterie lactiques……..22

I.5-Classification des bacterie lactiques ……..……22

I.5.1-Classification classique…….……23

II- Exigencies nutritionnelles des bacteries lactiques……...…… 24

III- L'intéret des bacterie lactiques……...…….26

III.1- L'aspect medical……...…26

III.2- L'aspect technologique…….27

IV- Criétéres de selection de souches pour l'elaboration des ferments……...……..36

V- Les proprieties inhibitrices des bactiries lactiques…….…….38

VI- Proprieties inhibitrices des bactéries lactiques …….……..41

VII- Definition des interactions ……..….42

VIII-Bactériocine…….…….43

VIII.1-Classification des bactériocine……..…….44

VIII.2-Mode d'action des bactériocines……..…49

IX-Biopréservation des produits laitieres …….……..52

X- Model type de bactiocines(la nisine)……53

XI- Possibililé d'utilisations dans les produits laitiers…….58

XII- Utilisation des bacteries lactiques……..……..58

XII-Protéolise chez les bactéries lactiques …….59

XIV-Role probiotique des bactéries lactiques…….……60

XV-Metabolism des sucres et le pouvoir acidifiant des bactéries lactiques …….…….62

XVI- Pouvoir épaississant des bactéries lactiques……...…..62

XVII- Proprieties aromatiques des bactéries lactiques……..63

XVIII- Bioconservation par les bactéries lactiques …….64

XIV-Les fermentations……..……65

XV- Domaine de santé …….……66

Partie : Matériel et methods

- Durée et lieu de l'étude ……..……67
- Nature des échantillons ……..……67
- Transport et conservation des échantillons ……..……..69

I: La recherche des bactéries ……..……..69

II.1: L'isolement et purification ……..……71

II.2:Conservation des isolats…….……..71

III: Tests d'orientation pour l'identification des bactéries lactiques…… 72

III.1: Étude macroscopique:……72

III.2: Étude microscopique…….……..72

IV : Test d'antagonisme ……..……73

- La méthode directe ……..73

Résultats et interpretation……...74

Conclusion….....87

Références bibliographiques

Annexes

Introduction

Introduction générale

Le présent travail a été réalisé avec l'objectif de préparer un ferment lactique autochtone composé de bactérie isolées du lait de brebis et de chèvre collecté dans les régions de de la wilaya de Saïda. Ces bactéries peuvent posséder des caractères technologiques intéressants atypiques de ceux souvent montrés par les ferments commerciaux, surtout que des propriétés originales ont été précédemment rapportées chez des lactocoques isolées de lait de chèvre comme la résistance à des concentrations élevées de NaCl (Zadi Karam et Karam, 2006) ; une thermorésistance avec un nouveau profil plasmidique (Drici et al., 2010) et des peptidases spécifiques chez des souches de *Lactobacillus* (Belkheir et al., 2012). Cette contribution peut attirer l'attention des chercheurs et du grand public sur les enjeux économiques de l'utilisation des laits de caprin et ovin comme source pour l'obtention des bactéries lactiques technologiquement performantes. Nous avons axé l'essentiel de notre travail de recherche sur la caractérisation technologique des isolats afin de préparer des nouveaux ferments lactiques.

La nécessité de développement de nouveaux produits fermentés représente une préoccupation majeure des microbiologistes qui cherchent à satisfaire les demandes croissantes des consommateurs. L'amélioration et la diversification des produits traditionnels n'est possible qu'après contrôle des fermentations ancestrales. En effet la fabrication des produits fermentés est un processus impliquant une multitude d'événements biochimiques complexes dirigés par les bactéries qui composent le ferment. Mis à part leur rôle d'acidification, ces bactéries déploient différentes protéinases, peptidases et lipases associées au développement de la texture et de l'arôme des produits finaux.

Pendant longtemps les ferments alimentaires étaient constitués d'un mélange inconnu, non maîtrisé et variable, de plusieurs souches ou espèces bactériennes provenant d'une fermentation naturelle du produit en question. De nos jours l'utilisation des microorganismes et surtout des bactéries lactiques en industrie alimentaire est passée de «contaminations» spontanées et accidentelles, résultant en des possibilités de conservation des denrées alimentaires, à une incorporation contrôlée de manière empirique, permettant l'exploitation du matériel enzymatique de ces bactéries pour modifier l'aliment et élaborer de nouveaux produits ou de nouvelles saveurs.

Il est bien connu que les bactéries lactiques occupent une place importante dans les technologies laitières qui représentent le principal domaine de leur application. Par ailleurs les bactéries lactiques sont aussi utilisées dans la fermentation des viandes et des végétaux ou dans d'autres secteurs industriels pour la fabrication d'une large gamme de métabolites, tels que les acides organiques, les

composés aromatiques et antimicrobiens, les exopolysaccharides et les biopeptides (Gaspar et al., 2013 ; Landeta et al., 2013).

Dans l'industrie laitière, les bactéries lactiques sont utilisées sous forme de ferments mixtes qui demeurent les plus utilisés. Cette association complexe de microorganismes nécessite la maitrise des facteurs qui peuvent influencer la dynamique et les activités métaboliques des populations bactériennes au sein du ferment. La connaissance des interactions de compétition ou de coopération possibles entre ces souches est fondamentale. Des interactions microbiennes négatives peuvent générer un déséquilibre et causer des changements indésirables dans les produits finaux.

L'intérêt considérable réservé aux ferments lactiques s'est dirigé vers la sélection et l'utilisation de nouvelles souches bactériennes montrant des caractéristiques technologiques différentes de celles souvent notées pour les ferments traditionnels. Avec le même raisonnement, beaucoup de travaux ont été entrepris en Algérie pour la préparation des ferments locaux à partir de bactéries lactiques indigènes isolées de plusieurs produits alimentaires traditionnels et laits crus de différentes espèces animales (vache, chèvre, brebis, chamelle) (Kacem et al.,2004 ; Badis et al.,2005 ; Zadi Karam et Karam ,2006 ; Idoui et Karam, 2008).

Synthèse bibliographiques

Chapitre I: Le Lait

I .1: Lait

I.1.Définition générale du lait :

Le lait est un liquide physiologique complexe sécrété par les mammifères et destiné à l'alimentation du jeune animal naissant. L'origine de ses constituants est à la fois la synthèse réalisée au sein des cellules mammaires, à partir d'éléments sanguins tels que les acides gras et triglycérides, les protéines provenant d'acides aminés et le lactose provenant du glucose et de la filtration sélective de certains composants sanguins (sels minéraux). L'une des caractéristiques nutritionnelles majeures du lait est qu'il représente la source unique de nutriments qui doit satisfaire des besoins importants de croissance de l'organisme. L'intérêt provient de la qualité des ses protéines, de ses lipides et de ses vitamines, en particulier, sa richesse en calcium. La composition du lait varie beaucoup d'une espèce à l'autre et reflète les besoins nutritionnels spécifiques de chaque espèce. Il existe, cependant ; des similitudes dans la composition des laits d'une même espèce (Mahé, 1996).

- C'est en 1909 que le Congrès International de la Répression des Fraudes a défini le lait comme étant : « le produit intégral de la traite totale et ininterrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée. Il doit être recueilli proprement et ne pas contenir de colostrum » **(Larpent et al. 1997).**

Le lait apparait comme un liquide physiologique opaque, blanc mat, plus moins jaunâtre selon sa teneure en β-carotènes et en matière grasse. Il a une odeur peu marquée mais reconnaissable **(Cniel, 2006).**

I.2: Composition du lait :

Le lait est un substrat très riche, fournissant à l'Homme et aux jeunes mammifères un aliment presque complet (Larpent, 1997)**.** Protides, glucides, lipides, sels minéraux et vitamines sont présents à des concentrations tout à fait satisfaisantes pour la croissance et la multiplication cellulaire.

A: L'eau :

Elle forme une solution vraie avec les glucides, les minéraux, une solution colloïdale avec les protéines hydrophiles, une suspension colloïdale avec les micelles de caséines et une émulsion avec les matières grasses. Le lait de chèvre est constitué de 87% d'eau (Amiot et al.,2002)

B: Les glucides :

Le lactose est le glucide le plus important du lait, d'autres glucides peuvent provenir de l'hydrolyse du lactose (glucose, galactose). Certains glucides peuvent se combiner aux protéines, formant des glycoprotéines ou peuvent se trouver sous forme libre (Amiot et al.,2002).

C: Les protéines :

On les classe en deux catégories, d'après leur solubilité dans l'eau :

- les caséines : (α-S1B, α-S2A, β-A2, K) qui sont en suspension colloïdale se regroupent sous forme de micelles.

- Les protéines de sérum : (bêta-lactoglobuline, alpha-lactalbumine) qui se retrouvent sous forme d'une solution colloïdale.

L'analyse de la composition en acide aminé des protéines du lait de chèvre faite par le chercheur Mahé en 1996, a révélé que la concentration d'Acide glutamique est la plus élevé (209mg/g). En revanche celle de la Cystéine elle est de 9 mg/g.

d: Les Lipides :

Les lipides du lait se composent principalement de triglycérides, de phospholipides et forment une émulsion.

Tableau 1: Composition en lipides des laits de différentes espèces (Chilliard, 1987).

Composants %	**Chèvre**	**vache**	**Humain**
Triglycérides	95	98	97
Glycérides partielles	3	0.5	1
Phospholipides	1	0.9	1.1
Acides gras libres	0.6	0.4	0.5
Cholestérol	0.4	0.3	0.6

E: Les minéraux :

Ils prennent la forme de sel, de base et d'acide mais les deux formes principales sont les sels ionisés solubles dans le sérum et les micelles. Les éléments basiques majeurs comme le calcium, le potassium, le magnésium et le sodium forment des sels avec les constituants acides que sont les protéines, les citrates, les phosphates et les chlorures, en outre le calcium, le magnésium, les citrates et les phosphates se trouvent sous forme colloïdale dans les micelles de caséines (Amiot et al., 2002).

Tableau 2: Composition moyenne du lait en éléments minéraux majeurs de différentes espèces (Gueguen, 1996).

Composants mg/l	Chèvre	humain	vache	brebis
Calcium	1260	320	1200	1950
Phosphore	970	150	920	1500
Sodium	380	200	450	460
Chlore	1600	450	1100	1100
Magnésium	130	40	110	180
Potassium	1900	550	1500	1400

Tableau 3: Composition moyenne du lait en principaux oligo-éléments indispensables aux différentes espèces (Gueguen, 1996).

Composants µg/l	Chèvre	humain	vache	Brebis
Zinc	3400	3000	3800	5000
Fer	550	600	460	700
Cuivre	300	360	220	400
Manganèse	80	30	60	90
Iode	80	80	70	100
Sélénium	20	20	30	30

F: Les Vitamines :

Elles sont réparties en deux classes : les vitamines hydrosolubles et les vitamines liposolubles. En remarque que le lait de chèvre est pauvre en carotène et B9 acide folique (Amiot et al., 2002).

Tableau 4 : Composition vitaminique du lait de différentes espèces (Jaubert, 1996).

Composants pour 100 g	Chèvre	Vache	Humain
Vitamines liposolubles			
A rétinol mg	0.040	0.035	0.060
Carotène mg	0	0.021	0.025
Vit D µg	0.06	0.08	0.055
E tocophérol mg	0.04	0.11	0.23
Vitamines hydrosolubles			
B1 thiamine mg	0.05	0.04	0.02
B2 riboflavine mg	0.14	0.17	0.035
B3 niacine mg	0.27	0.09	0.16
B5 acide pantothénique mg	0.31	0.34	0.18
B6 pyridoxine mg	0.05	0.04	0.01
B8 biotine µg	2	2	0.7
B9 acide folique µg	1	5.3	5.2
B12 cobalamine µg	0.06	0.35	0.04
Acide ascorbique mg	1.3	1	4

G: Les nucléotides:

Indépendamment de l'espèce, la composition en nucléotides du lait dépend du stade de lactation, les concentrations les plus élevées sont dans le colostrum et maximales de deux jours après la mise bas. Le lait de chèvre se caractérise par la part prépondérante des dérivés d'uridine (Jaubert, 1996). La composition du lait varie beaucoup d'une espèce à l'autre et reflète les besoins nutritionnels spécifiques de chaque espece.il existe, cependant ; des similitudes dans la composition des laits d'une même espèce (Mahé, 1996)

Tableau 5:Composition de lait de différentes espèces (Alais, 1984 et Amiot et al., 2002).

Eléments en g/l	Vache	Chèvre	Brebis
Eau	900-910	900	860
Extrait sec total(EST)	125-135	140	190
Matières grasses	35-45	45-50	70-75
Matières protéiques	30-36	35-40	55-60
Caséines	27-30	30-35	45-50
Protéines solubles	4-5	6-8	8-10
Matières minérales	7.5-8.2	8-10	10-12
Lactose	40-50	40-45	45-50

I.3: Microflore du lait :

-Le lait contient peu de micro-organismes lorsqu'il est prélevé dans des bonnes conditions, à partir d'un animal sain (moins de 5000 germes/ml) (Larpent, 1997).

Dans des conditions de propreté et d'hygiène normale, le lait cru renferme de nombreux germes constituant la flore originale. Cette microflore est représentée essentiellement par des lactobacilles et des streptocoques lactiques commensaux provenant du pis et des canaux galactophores (Hermier et al., 1992).

- Le lait cru peut être contaminé par différents microorganismes avant, pendant et après la traite ; selon Betsi et al. (1997) in Chaouch et Tebichek (2001) ils peuvent être classés dans les flores suivantes :

a: La microflore indigène ou originelle :

Ensembles des micro-organismes retrouvés dans le lait à la sortie du pis, ces micro-organismes dépendent de l'alimentation, de la race et d'autres facteurs. Les genres dominants en sont principalement des micro-organismes mésophiles (Micrococcussp, Lactobacillus, Streptococcuso ou Lactococcus et les bactéries à gram négatif) (La montagne et al., 2002).

b: La microflore contaminante :

Ensembles des micro-organismes ajouté au lait de la récolte jusqu'à la consommation, elle peut se composer d'une flore d'altération qui causera des défauts sensoriels ou qui réduira la durée de la conservation des produits et d'une flore pathogène, capable de provoques des maladies chez les personnes qui consomment ces produits laitières (Lamontagne et al., 2002).

c: La microflore d'altération :Responsable de diverses dégradations du produit au niveau du gout, de l'arome, de l'apparence ou de la texture.Les principaux micro-organismes d'altération sont : Pseudomonas sp.,Porteussp., Coliformes, principalement E. coli, Enterobacter, les sporulés, tel que Bacillus sp., Clostridium et certaines levure et moisissures.

e: La microflore pathogène :sa présence dans le lait est due à l'animal, à l'environnement ou à l'homme. Les bactéries pathogènes sont responsables des affections reliées à la santé des manipulateurs et des consommateurs. On en retrouve deux genres :

- Les bactéries infectieuses : qui doit être vivantes dans l'aliment lors de consommation pour agir, une fois ingérées, elles dérèglent le système dijestif.Apparaissent divers symptômes connus, tels que la diarrhée, les maux de tête et même la mort, il s'agit de Salmonella sp., E. coli 0157 :H7, *Listeria monocytogenes,Clostridium perfringens, Brucella et Campylobacter sp*. (Lamontagne et al., 2002).
- Les bactéries toxinogenes : qui produisent une toxine dans l'aliment et c'est cette toxine qui rend le consommateur malade. Il n'est donc pas suffisant de détruire la bactérie pour éviter l'incidence de la maladie, de plus certaines toxines sont trés résistantes aux traitements thermiques, tels que la pasteurisation et même la stérilisation.

I.4 : Lait de chèvre :

Le lait de chèvre est caractérisé par sa couleur blanche due à l'absence de béta carotène, le lait de chèvre se digère plus facilement que le lait de vache. De plus il est naturellement homogénéisé car il dépourvue d'une protéine, l'agglutinine.

Le lait de chèvre est plus digeste ou moins allergénique ; aussi il ya un peu moins de lactose dans le lait de chèvre (0.2 à 0.5 %).

Les concentrations en calcium, magnésium, potassium et en phosphore dans le lait de chèvre et le lait de vache sont presque équivalentes (IDF, 1990).

La composition chimique joue un rôle important sur son aptitude à l'acidification par les ferments lactiques et notamment l'influence des sels minéraux (Masle et Morgan, 2001).

La densité du lait de chèvre est comparable à celle du lait de vache : avec une densité moyenne de 1031, 05 à 15°c.

Le lait de chèvre présente une grande conductivité électrique par apport a celui de la vache.

Le lait de chèvre est particulièrement plus pauvre en vitamines C, D, pyridoxine, B12 et acide folique.

Les caséines représentent la parie la plus importante des protéines du lait, elles constituent environ 70% des matières azotés coagulables et sont représentées sous forme de micelles (Corcy, 1991).

Les matières grasses du lait de chèvre sont caractérisées par la langueur des chaines de carbone (C18). Ces matières grasses sont constituent de triglycérides et d'acide gras.

C'est la population la plus dominante, qui se rattache à la race Nubienne, elle est localisée surtout dans les hauts plateaux, les zones steppiques et semi-steppiques. Elle se caractérise par une taille basse

de 50-70cm, une tête dépourvue de cornes avec des oreilles longues, larges et pendantes. Sa robe est multicolore (noire, grise, marron) à poils longs de 12- 15Cm. La chèvre Arabe a une production laitière moyenne de 1,5 litre par jour. D'après Dekkiche (1987), et Madani et al (2003), on a deux types : le sédentaire et le transhumant.

a- La Race Arbia :

1. Type sédentaire :

Selon Hellal (1986), sa taille moyenne est de 70 cm pour le mâle et de 63 cm pour la femelle, alors que leurs poids respectifs sont de 50kg et 35kg. Le corps est allongé avec un dessus droit rectiligne dont le chanfrein est droit. Le poil est long, de 10 à17 cm, et polychrome blanc, pie noir, et le brun. La tête soit d'une couleur unie ou avec des listes, porte des cornes moyennement longues et dirigées vers l'arrière, et des oreilles assez longue (17 Cm), la production laitière est de 0,5 litre par jour.

2. Type transhumant :

Selon le même auteur, sa taille moyenne et de 74 cm pour le mâle et de 64 cm pour la femelle, leurs poids respectifs sont de 60 kg et 32 kg. Le corps allongé, dessus droit rectiligne, mais convexe chez certains sujets. Poils longs de 14 à 21cm où la couleur pie noire domine. La tête porte des cornes assez longues dirigées vers l'arrière (surtout chez le mâle) dont les oreilles sont très larges, la production laitière est de 0,25-0,75 litre par jour.

Figure 1 : Morphologie de la race de chèvre Arabia

b. Race Makatia :

D'après Guelmaoui et Abderehmani (1995), elle est originaire d'Ouled Nail, on la trouve dans la région de Laghouat. Elle est sans doute le résultat du croisement entre l'ARABIA et la CHERKIA (Djari et Ghribeche, 1981), généralement elle est conduite en association avec la chèvre ARABIA sédentaire.

Selon Hellal (1986), la chèvre MAKATIA présente un corps allongé à dessus droit, chanfrein légèrement convexe chez quelques sujets, robe variée de couleur grise, beige, blanche et brune à poils ras et fin, longueur entre 3-5 cm.

La tête est forte chez le mâle, et chez la femelle elle porte des cornes dirigées vers l'arrière, possède d'une barbiche et deux pendeloques (moins fréquentes) et de longues oreilles tombantes qui peuvent atteindre 16 cm. Le poids est de 60 kg pour le mâle et 40 kg pour la femelle, alors que la hauteur au garrot est respectivement de 72 cm et 63 cm.

La mamelle est bien équilibrée du type carré, haut et bien attaché et les 2/3 des femelles ont de gros trayons, la production laitière est de1à 2 litres par jour.

Figure 2 :Morphologie de la race de chèvre Makatia

c. La Race Mozabite :

Dénommée aussi « la chèvre rouge des oasis ». Elle est originaire de Metlili ou Berriane, et se caractérise par un corps allongé, droit et rectiligne, la taille est de 68 cm pour le mâle, et 65 cm pour la femelle, avec des poids respectifs de 50 kg et 35 kg. La robe est de trois couleurs : le chamois qui domine, le brun et le noir, le poil est court (3- 7Cm) chez la majorité des individus, la tête est fine, portent des cornes rejetées en arrière lorsqu'elles existent, le chanfrein est convexe, les oreilles sont longues et tombantes (15 cm) (Hellal, 1986).

La race MOZABITE est très intéressante du point de vue de la production laitière (2,56 kg/j).

Figure 3 *:* Morphologie de la race de chèvre Mozabite

d. La race Kabylie « Naine de Kabylie » :

Selon Guelmaoui et Abderehmani (1995), la chèvre KABYLE est considérée comme descendante de la chèvre Pamelcaprapromaza.

D'après Pedro (1952), Hellal (1986), c'est une chèvre autochtone qui peuple les massifs montagneux de la Kabylie et des Aurès.

Elle est robuste, massive, de petite taille (66 cm, pour le mâle, et 62 cm pour la femelle) d'où son nom « Naine de Kabylie », la longueur du corps est de 65-80 cm, avec des poids respectifs de 60 kg et 47 kg.

Le corps est allongé avec en dessus droit et rectiligne, la tête est fine, porte des cornes dirigées vers l'arrière, la couleur de la robe varie, mais les couleurs qui dominent sont : le beige, le roux, le blanc, la pie rouge, la pie noire et le noir.

Les oreilles sont petites et pointues pour les sujets à robe blanche, et moyennement longue chez les sujets à robe beige, le poil est long (46 % des sujets entre 3-9cm) et court (54 % des sujets) ne dépassant pas 3 cm.

Sa production laitière est mauvaise, elle est élevée généralement pour la production de viande qui est de qualité appréciable.

Figure 4 : Morphologie de la race de chèvre Kabylie

I.5: Lait de brebis :

Tableau 6 : Composition du lait de brebis

	Lait de brebis entier (100 ml)
Protéines (en g)	5,68
Glucides (en g)	4,5
Lipides (en g)	7
Calcium (en mg)	200
Calories	103

Le lait de brebis se distingue des deux autres par sa **forte teneur en graisses** : 100 ml de lait de brebis entier contiennent 7 g de lipides, soit **plus de deux fois plus que les laits de vache et de chèvre entiers**. Il est donc plus calorique avec 103 kcal aux 100 ml. Le lait de brebis contient en moyenne 81 % d'eau, 7 % de lipides, 6 % de protéines, près de 5 % de glucides et environ 1 % de minéraux et vitamines. On trouve en moyenne 200 mg de calcium pour 100 g de lait. Il est plus riche en protéines que les autres laits. En particulier, il contient beaucoup d'a-caséine. La caséine forme des micelles chargées de phosphore et de calcium de caractéristiques physico-chimiques semblables à celles du lait de vache, mais de dimensions légèrement réduites. On trouve davantage de phosphore et de calcium dans la phase colloïdale, autant dans la phase soluble que dans le lait de vache. Ces différences impriment à ces laits des caractéristiques différentes de coagulation: le lait de brebis coagule plus vite et donne un coagulum plus ferme que le lait de vache. C'est pourquoi il est très utilisé en fromagerie (comme le lait de chèvre).

-La richesse du lait de brebis en protéines sériques est surtout marquée par une teneur élevée de la bêta-lactoglobuline et des immunoglobulines .Cette composition moyenne est influencée par de nombreux facteurs comme la race des brebis, le système de production, la saison,...

-L'azote non protéique (de 6 à 8 pour cent de l'azote total) est distribué un peu différemment de celui du lait de vache: plus d'urée et d'acide urique et moins d'acides aminés libres.

Les ovins prédominent et représentent 80 pourcent de l'effectif national avec plus de 10 millions de brebis.

I.6: Le lait de vache:

Le lait de vache est un liquide opaque de couleur blanche, plus au moins jaunâtre selon la teneur de la matière grasse en beta carotène. Sa saveur est douce et son odeur faible.

Le lait de vache de part sa richesse en matière azoté en calcium et en vitamine offre un intérêt alimentaire exceptionnel.

Les proportions des différents composants du lait de vache varient quelque peu selon les espèces de mammifères et parmi les espèces selon leurs races.

Le pourcentage de matière grasse est sensiblement le même que dans le lait de chèvre .cependant, le diamètre moyen des globules gras dans le lait de vache est grand que le lait de chèvre.

Les principales protéines du sérum sont identiques, soit l'alpha lactalbumine ; la béta lactoglobuline et les immunoglobulines. Le lait de vache contient des quantités équivalentes entre caséines alpha et béta alors que le lait de chèvre contient une quantité plus grande de caséines de type béta.

Le lait contient presque toutes les vitamines indispensables à la vie à l'exception de la vitamine c(très petite quantité).

Les races de vache :

Les races hautes productrices ou bovins laitiers modernes (BLM), sont des races d'importation à haut potentiel génétique d'origine européenne, l'introduction de ces races était depuis la colonisation du pays (Eddebbarh, 1989), elles représentent 9% à 10% du total du cheptel national, soit 120000 à 130000 têtes, ce cheptel assure 40% de la production du Lait (Bencharif, 2001).

a: La vache Prim'holstein :

C'est la race bovine laitière par excellence ! Cette vache française descend de la Holstein néerlandaise. Elle représente 30% du cheptel français et produit à elle seule 80% de la production laitière dans l'hexagone. On la retrouve un peu partout dans le monde sous différents noms selon les pays. La Prim'holstein est présente dans plusieurs troupeaux des éleveurs d'Alsace Lait.

Archétype de la vache, on la reconnait à sa robe à pie noire (blanche avec des tâches noires). De plus c'est une vache particulièrement grande, en moyenne 1,45m de hauteur.

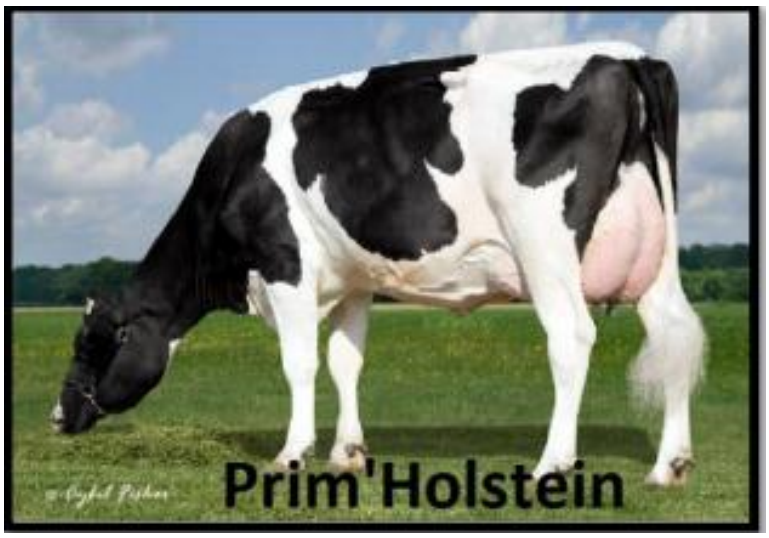


Figure 5 : *La vache Prim'Holstein*

b: La vache Montbéliarde :

La Montbéliarde est une race de vache issue d'un croisement entre la Fribourgeoise pie-rouge, race blanche tachetée de noir originaire de Suisse, disparue aujourd'hui, et la Fémeline, originaire de Franche-Comté. La rencontre entre ces deux races eut lieu au 18ème siècle, lors de l'expulsion de chrétiens Mennonites du canton de Berne. Les Mennonites s'exilèrent alors en Franche-Comté avec leurs troupeaux, permettant la fécondation par les taureaux locaux.

Deuxième vache laitière de France, la Montbéliarde est à l'origine de la confection de nombreux fromages d'appellation d'origine contrôlée (AOC), comme le reblochon, le comté ou encore l'abondance.
La Montbéliarde est bien adaptée au climat des montagnes. Sa physionomie lui permet de supporter de longues marches ainsi que d'être à l'aise dans des pâturages en pente. C'est aussi une race qui supporte aisément le changement de climat. Nous en exportons en Algérie dès le début du 20ème siècle. Nous retrouvons une fois de plus cette race de vaches dans plusieurs troupeaux d'éleveurs Alsace Lait.

Figure 6 : *La vache Monthabiliare*

c: La vache Normande :

La vache Normande est, comme son nom l'indique, originaire des pâturages de Normandie. Elle se reconnaît à sa robe blanche, agrémentée de taches brunes ou noires.

Si la Normande est réputée pour offrir un lait de qualité supérieure, la quantité de lait qu'elle est produit n'en est pas moins impressionnante. Pour un animal, on estime le potentiel moyen de production de lait à 7 300kg de lait par an. Le lait de cette vache est également utilisé dans de nombreux fromages, comme le fameux Camembert de Normandie.La Normande n'est pas qu'une vache laitière : elle est aussi appréciée pour ses qualités bouchères.

Figure 7 : La vache Normande

Tableau 7 : Compositions de lait de différents espèces (Alais, 1984 et Amiot et al. 2002).

Eléments en g/l	vache	chèvre	Brebis
Eau	900 - 910	900	860
Extrait sec total	125 - 135	140	190
Matières grasses	35 - 45	45 - 50	70 – 75
Matières protéiques	30 - 36	35 - 40	55 – 60
Caséines	27 - 30	30 - 35	45 – 45
Protéines solubles	4 - 5	6 - 8	8 – 10
Matières minérales	7.5 – 8.2	8 - 10	10 – 12
Lactose	40 - 50	40 - 45	45 – 50

Lait fermenté est un produit laitière obtenu par la fermentation du lait, lequel peut avoir été fabriqué à base de produit obtenus à partir de lait avec ou sans modification de composition dans la limitation des dispositions de la section 3.3 par l'action de microorganismes appropriés et résultant dans la réduction du pH avec ou sans coagulation (précipitation isoélectrique). Ces levains (micro-organismes) doivent être viables, actifs et abondants dans le produit à la date de durabilité minimale (Codex alimentarius, 2011).

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 (Leksir, 2012).

Chapitre II: Produits Laitiers Traditionnels

I: Les produits dérivés du lait:

La production du lait durant certaines saisons est augmenter, et la difficulté de son préservation sous la forme fraiche à conduit au développement des technologies de produit traditionnelles (Dharam et Narender, 2007). Ces produits ont une grande importance, culturelle, médicinale, économique comme : Jben, Klila, Rayeb...

I.1. Le Jben : à partir de lait de vache, chèvre, brebis, le lait subit une acidification spontanée par sa flore originale jusqu'à coagulation. La composition physico –chimique du Jben varie en fonction de la nature du lait utilisé, de la condition de coagulation.

a: Caractéristiques physiques et chimiques du Jben :

Le fromage frais « Jben » ne présente pas de caractéristiques définies à cause des méthodes artisanales utilisées pour sa préparation reposant, essentiellement, sur les connaissances acquises à partir d'une longue expérience (Salmeron et al., 2002). Les arômes, les propriétés organoleptiques et les caractéristiques physico-chimiques du fromage dépendent de celles du lait cru qui à son tour dépend de la race des animaux et leur type d'alimentation (Poznanski et al., 2004). Généralement, Le pH (<4,2) et l'acidité titrable (> 0,9%) sont les paramètres les moins variables du « Jben ». Cependant, les matières solides totales du « Jben » sont le facteur le plus variable car ce dernier dépend de la durée d'égouttage. Étant donné que les lipides, le lactose et les protéines constituent les principaux composants de l'ensemble des matières solides en « Jben », ils sont directement influencés par les variations des dites matières solides (Benkerroum et Tamime, 2004).

b: Technologie du Jben

Le Jben est un produit laitier connu et consommé au Algérie depuis fort longtemps aussi bien dans en milieu rural qu'en milieu urbain. Cependant, au cours de la dernière décennie(les années 80), la consommation des produits laitiers traditionnels en général, et du fromage frais en particulier, s'est accrue suite à l'installation dans les villes d'un grand nombre de laiteries traditionnelles qui préparent le Jben à partir du lait cru selon des procédures souvent artisanales. A coté de ce secteur traditionnel, certaines unités laitières semi-industrielles se sont aussi intéressées à la fabrication du jben,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 Jben, et par conséquent, plusieurs variétés de fromage frais sont commercialisées au Algérie sous la dénomination populaire commune de « Jben ».

- ***Technologie traditionnelle :***

Dans les procédures traditionnelles de préparation du Jben, le lait cru de vache ou de chèvre ou de brebis est utilisé. Celui-ci est tout d'abord filtré afin d'éliminer les impuretés grossières qu'il peut contenir, puis il est abandonné à lui-même dans une outre de peau de chèvre ou dans une jarre en terre cuite, pendant une durée de 24 à 48h,e fonction de la saison, à température ambiante. Coagulation du lait, on procède à l'égouttage du coagulum qui est versé dans des sacs de toile fine. Ces sacs sont ensuite suspendus pour laisser s'échapper le lactosérum à température ambiante.la durée de l'exposition du caillé à l'air dépend de la consistance de la pâte désirée. Généralement, la pâte obtenue est purement lactique, elle est souvent mal soudée et très humide.

Dans les régions de Jbala et du Rif, on pratique couramment le salage de la pâte après égouttage par saupoudrage de sel à la surface de la pâte. Ceci permet l'exsudation d'une plus grande paries d'eau, et par conséquent, abouti à la formation d'un fromage frais à consistance relativement ferme.

- ***Technologie semi-industrielle***

La consommation accrue du Jben dans les centres urbains a conduit certaines unités fromagères à introduire des améliorations dans la préparation du Jben pour augmenter les quantités produites et de réduire les durées de fabrication.

Les améliorations apportées sont, cependant, variables d'un producteur à l'autre. Certains fabrications continuent d'utiliser du lait cru, mais la coagulation du lait n'est plus spontanés, elle est obtenue par l'emploi de la présure, ce qui permet de gagner du temps. Le lait subit avant l'emprésurage un chauffage modéré (40 à 50°C) pour favoriser l'action de la présure surtout en saison froide. D'autre fromagers, travaillent avec du lait pasteurisé et utilisent par conséquent, pour la coagulation et l'acidification du lait, de la présure et des ferments lactiques mésophiles du commerce, ou parfois utilisent des levains naturels provenant leur propre lait (Ennahdi, 1980). Dans la de ces ateliers de fabrication du fromage frais, il y a emploi de plus en plus de matériel et ustensiles modernes en matières plastiques ou en aluminium (cuve de coagulation, table spéciale d'égouttage etc.).

I.2. Klila: C'est un fromage ferment produit empiriquement dans plusieurs régions de l'Algérie, il est fabriqué par un chauffage relativement modéré (55 à 75°C)du Lben jusqu'à ce qu'il est aille (10 à 15 min). Lecaille est ensuite égoutté spontanément ou pressé à l'aide d'une pierre, le fromage obtenu est consommée tel qu'il est frais au après un séchage il est utilisée comme un ingrédient après réhydratation dans les préparations culinaires traditionnels (Mennane et al.,2007).

Chapitre III : Bactéries lactiques

I- Les bactéries lactiques :

I-1:Définition :

Avant le vingtième siècle, le terme bactéries lactiques (Lactic acid bacteria) a été utilisé pour signifier les organismes du lait acidifié (Milk-souring organisms). Significativement, la première culture pure de ces bactéries était celle de *Bacterium lactis* (probablement *Lactococcus lactis*), obtenu par Lister(1873). Des progrès important dans la classification de ces bactéries ont été apparus quand les similarités entre les bactéries du lait acidifié et les autres bactéries productrices d'acide lactique étaient reconnues (Axelsson, 2004).

Les bactéries lactiques sont généralement associées aux habitats riches en nutriments, comme divers produits alimentaires (lait, viande, boisson, végétaux), mais d'autres sont aussi membres de la flore normale de la bouche, l'intestin et le vagin des mammifères (Salminen,2004 et Carina Audisio et al.,2010). La monographie d'Orla-Jensen(1919) constitue la référence pour l'étude des bactéries lactiques. Orla Jensen utilise les caractéristiques suivantes comme base de classification : morphologie (cocci ou bâtonnets, formation tétrade), mode de fermentation du glucose (homo ou hétéro fermentation), la croissance à certaines températures cardinales (ex: 10°C et 45°C), les types de sucres utilisés. Ces caractéristiques sont toujours très importantes dans la classification des bactéries lactiques (Stiles et Holzapfel, 1997; Carret al., 2002 et Axelsson, 2004).

I-2:Propriétés générales :

D'une façon générale le groupe se compose de bactéries sous forme, de coques ou de bâtonnets à Gram positifs, non sporulant, et produisent l'acide lactique comme produit final principal pendant la fermentation des carbohydrates (Kandler, 1983).

Les BL sont, selon la voie qu'elles empruntent pour fermenter les hexoses, Homofermentaires ou hétéro fermentaires.

La voie de la glycolyse (Embden-Meyerhof-Parnas), ayant pour produit final principal l'acide lactique ou la voie 6-phosphogluconate/phosphokétolase (6-pg/pk) (Schleifer et Ludwig, 1995) Ayant pour résultat l'acide lactique, l'anhydride carbonique et l'éthanol (acide acétique).

Cependant, quelques espèces sont considérées comme hétérofermentaires facultatifs. Concernant la fermentation des hexoses, ces espèces sont homofermentaires, mais dans certaines conditions (par exemple si la source disponible de carbone est un pentose), elles

induisent la voie 6-pg/pk, ayant pour résultat la fermentation hétéro lactique (Axelsson, 2004et Jozalaet al., 2005).

Les BL sont trouvées dans diverses niches écologiques, tel que le lait, ainsi que certaines nourritures, la bouche, les régions gastro-intestinales et urogénitales des humains et des animaux (Lopez-Diazet al., 2000; Navarroet al., 2000; El Shafeiet al., 2000 et Matharaetal., 2004). Elles constituent aussi la flore microbienne dominante responsable de la fermentation des céréales et des plantes fourragères ensilées (Carret al., 2002 et Kotelnikovaet Gelfand, 2002). Même si elles se développent dans une variété d'habitats, elles exigent des carbohydrates fermentescibles, des acides aminés, des acides gras, des sels et des vitaminespour leur croissance (Shihata et Shah, 2000; Björkroth et Holzapfel, 2003 et Hammes etHertel, 2003).

Les souches sont généralement faiblement protéolytiques et lipolytiques et exigent des acides aminés, des purines, des pyrimidines et des vitamines pour leur croissance (Stamer,1976; Cogan et Hill, 1993 et Jay, 1996).

Les bactéries lactiques utilisées dans les fermentations laitières peuvent être divisées en deux groupes sur la base de leur croissance optimale (Bissonnetteet al., 2000). Les bactéries mésophiles avec une température optimum de croissance entre 20°C et 30°C et les thermophiles entre 30°C et 45°C.Alors que la majorité de souches se développent à pH 4,0-4,5, certaines sont en activités à pH 9,6 et d'autres à pH 3,2 (Jozalaet al., 2005).

L'acide lactique produit peut être sous deux formes stéréo-isoméries, L moins Fréquemment, D ou un mélange des deux (Who, 1974).

I-3Origine des bactéries lactiques :

Les bactéries lactiques ont été isolées dans de nombreux milieux naturels végétaux, animaux et humains ; certains espèces semblent adaptées à un environnement spécifique et ne semblent guère se retrouver ailleurs que dans leur habitat naturel. Grace à leur souplesse d'adaptation physiologique, les BL peuvent coloniser des milieux très différents du point devue physico-chimique et biologique (de Roissard et Luquet, 1994).

Selon Des mazeaud (1992), les espèces du genre Streptococcus, Lactococcus et Leuconostocse rencontrent plutôt chez les hommes, ainsi que chez les animaux. Dans le domaine laitier, elles existent en quantité considérable, les espèces du genreLactobacillussont encore plus répondues dans la nature, par exemple, on les trouve sur les végétaux ou elles assurent l'acidification de l'ensilage, on les trouve aussi dans

l'intestin des animaux et del'homme. Elles sont également isolées des cavités naturelles de l'organisme (cavités buccaleset vaginales) (de Roissard et Luquet, 1995)

I-4:Génétique des bactéries lactiques :

Le matériel génétique des bactéries lactiques est organisé en deux structures: le chromosome, long filament d'ADN très replie sur lui-même, et les plasmides, petites molécules circulaires d'ADN indépendantes du chromosome, pouvant se répliquer de façon autonome. Les plasmides peuvent être perdus spontanément par la bactérie dans les conditions de milieu défavorables (température élevée, privation nutritionnelles) ou éliminés par des traitements chimiques. Cette possibilité de perdre spontanément des plasmides explique l'instabilité des propriétés technologiques, due à l'apparition de variantes ayant perdu certain gènes et donc certaines fonctions métaboliques Ainsi, la perte du plasmide codant pour la protéase de paroi rend les bactéries peu protéolytique, et entraine une croissance ralentie des germes et une acidification faible du lait.

D'autres caractères technologiques sont également codés par des gènes portés par des plasmides la capacité à utiliser le lactose, le métabolisme de précurseurs d'arômes, la production de la nisine chez certaine souches, des résistances aux bactériophages(Stackebrandt et Teuber, 1988 et Kandler et Weiss, 1986).

I-5:classification des bactéries lactiques :

Le groupe des bactéries lactiques a été systématique, ensuite plusieurs travaux dans ce domaine ont été repris par (Orla-Jensen, 1919; collinet al., 1987; collinet al.,1993; Davies etLaw, 1984; Gilliland, 1995; Stiles et Hotzapfel, 1997; Sneathet al.,1986; Leveau et Bouix,1983 et cité dans de Roissard et Luquet,1994) dont le classement est complété par la classification moderne qui a permis de distinguer différents genres.

I-5-1:Classification classique :

Orla-Jensen (1991), a proposé une classification fondée sur les caractères morphologique, biochimique et physiologique (Température de croissance, mode de fermentation du glucose et la forme de l'acide lactique produit). Il a travaillé sur le genre Lactobacillus avec sa structuration en *Thermobactérium, Streptobactérium* et *Bétabactérium* correspondant aux trois groupes actuels des Lactobacilles. Homo fermentaires strictes, hétéro fermentaires facultatifs ethétéro fermentaires strictes.

-Les groupes des homo fermentaires sont formés de trois sous-groupes:

- *Streptobacterium.*
- *Thermobacterium*

-Les groupes des hétéro fermentaires sont formés également de trois sous-groupes :

- *Bifidobacterium.*
- *Betabacterium*
- *Betacoccus*(Gournier Château et Larpent, 1994).

Selon Sneathet al.,(1986), les bactéries lactiques sont regroupées suivant une taxonomie basée sur :

a)Les caractères morphologiques :

- ***La forme :*** des cellules microbiennes représentent souvent un caractère distinctif de l'espace et du genre bactériens (coques ou bâtonnets).

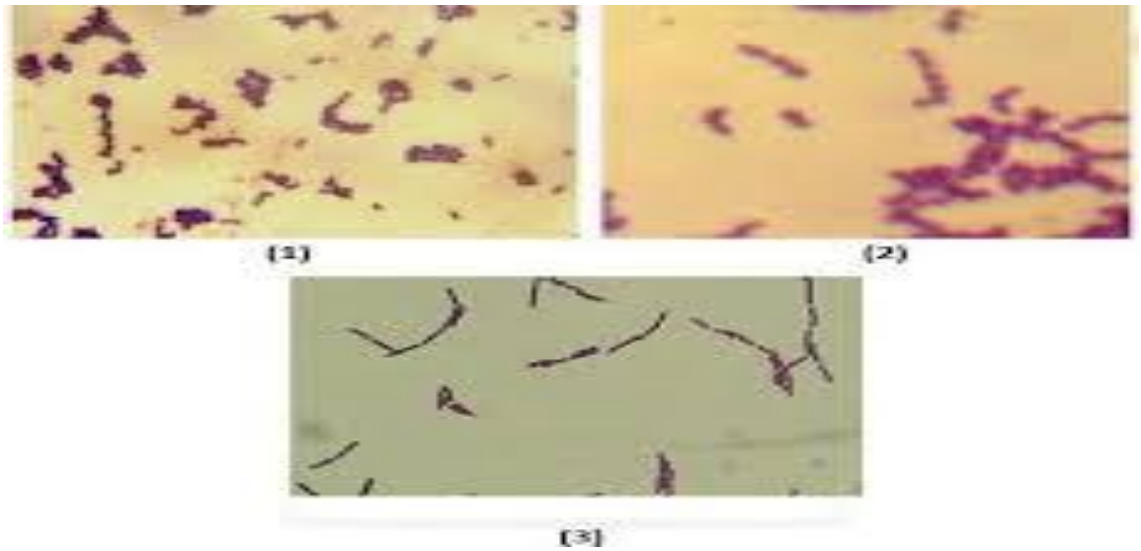


Figure 08: Différente forme microscopique de bactéries lactiques (MAMI 2020)

- ***Le diamètre cellulaire :*** est un caractère plus stable que la longueur cellulaire
- ***La mobilité:*** est une caractéristique rare chez les bactéries lactiques qui sont généralement non mobiles, sauf dans certains cas ou elles possèdent des flagellespéritriches.
- ***La sporulation:*** toutes les bactéries lactiques sont non sporulées.

La présence d'inclusions cellulaires, corpuscules métachromatiques ou de volutine,est un caractère distinctif de certaines espèces du genreLactobacillushomofermentaires strict

b)Les caractères physiologiques et biochimiques :

- ***Regroupent :*** La quantité et la configuration de l'acide lactique produit, la température décroissance minimale, optimale et maximale, la tolérance à l'oxygène et au chlorure de sodium, production de gaz et d'arôme, la production d'ammoniaque à partir de l'arginine, la capacité d'hydrolyser l'esculine ou de résister aux sels biliaires et à différentes valeurs de pH(Loquet et de Rossard, 1994).

c)Les caractères immunologiques :

La réaction immunologique se traduit par l'agglutination des cellules bactériennes ou par la précipitation à l'interface antigène-antisérum (de Roissard et Luquet, 1994).

La sérologie a été utilisée pour la classification et l'identification des Streptocoques, depuis que Lancefield (1933), propose les premiers groupements. Les groupes sérologiques comme le cas des streptocoques lactiques qui sont rangés dans le groupe sérologique N.

d)Les caractères structuraux :

L'analyse de ces composes cellulaires est entrain de devenir un instrument essentiel non seulement pour la classification mais aussi pour l'identification des bactéries.

Les recherches chimio taxonomiques réalisées sur les bactéries ont contribué de façon fondamentales à expliquer les relations génétiques intra et inter spécifiques.

II:Exigences nutritionnelles des bactéries lactiques :

Les bactéries lactique sont très exigeantes du point de vue nutritionnelle Elles requièrent plusieurs substrats complexes azotés, phosphatés et soufrés mais aussi des facteurs de croissances comme les vitamines et les cations (Desmazeaud, 1983).

II-1:Exigence en vitamines :

Vis-à-vis des vitamines, toutes les espèces de lactobacilles présentent une exigence absolue pour le pantothénate de calcium (Vitamine B5) et la riboflavine (vitamine B5) (Saufpour Lb, revis qui nécessite la thiamine -vitamine B1 et l'acide folique), de plus Lb. lactis, Lb.bulgaricusetLb. acidophiles exigent la cobalamine (vitamine B12),Lb. helverticusexige la pyridoxine (Vitamine B6),Lb. acidophiles l'acide folique, Lb. caseila pyridoxine et l'acide folique. Les lactocoques ont une exigence en niacine et en acide pantothénique Les streptocoques thermophiles ont une exigence absolue en acide pantothéniques et en riboflavine leur croissances est stimulées par la thiamine et la niacine la biotine et la pyridoxine (Luquet et de Roissard, 1994).

II-2:Exigences en sources azotées :

Chez certaines souches des lactocoques, la production d'acide dans le lait peut être stimulée par le mélange, adénine, guanine, uracile et xanthine Dans les milieux synthétiques, les lactobacilles exigent la présence d'adénine, de cytosine, de désoxyguanosine, de guanine, de thymidine et d'uracile (Law et Kolstad, 1988).

II-3:Influence des cations:

La supplémentassion du lait avec 1 à 2,1 mM en ions Mg++permet la stimulation de la croissance de ce thermophiles et*Lactococcus* lactiset un meilleur taux du servie, cet ionserait indispensable pour la croissance deLb. helverticuset essentiel pour celle deLb. lactisetLb. delbrueckii.

Le manganèse à lui aussi des effets biologiques importants chez les bactéries lactiques le manganèse est nécessaire à :

- La structure et fonctionnement des enzymes, dont l'ARN polymérase.
- La détoxication des cellules mises en présence de l'oxygène.

- Le potassium joue un rôle important dans la régulation du pH intracellulaire Cet ion est exigée pour la croissance deLb. helvertcus, En. faecalis et Lb.casei.
- Le sodium, quant à lui, exerce un effet sélectif sur les différentes espèces de bactéries lactiques (Luquet et de Roissard ; 1994).

III: L'intérêt des bactéries lactiques:

III-1: L 'aspect Médical: les probiotique :

Ce sont Metchnikoff et Tissier qui ont été les premiers à avancer dans leurs travaux des propositions scientifiques au sujet de l'utilisation probiotique des bactéries (Lilly et Stillwell,1965).

L'expression « probiotique » dérive de deux mots grecs ; « pro » et « bios » qui signifient en faveur de la vie, ce sont des préparations microbiennes vivantes utilisées comme additifs alimentaires et qui ont une action bénéfique sur l'hôte en améliorant la digestion et l'hygiène intestinale. Chez les animaux d'élevage, ces produits favorisant le mécanisme biologique naturel peuvent être une bonne alternative à l'emploi des antibiotiques qui ont été longtemps utilisés pour améliorer les performances zootechniques et sanitaires de ces animaux mais dont l'une des conséquences néfastes a été l'apparition de l'antibiorésistance.

Chez l'homme, ces bactéries jouent un rôle inhibiteur contre les bactéries pathogènes et améliorent la digestion. L'effet bénéfique est du à plusieurs mécanismes :

- La production d'acides organiques (acide lactique, acétique), de peroxyded'hydrogène, et de bactériocines limitent le développement des entérobactéries.
- Certaines souches ont la capacité de dé conjugué les sels biliaires qui sont alors plus inhibiteurs sur le développement des bactéries pathogènes que les formes conjuguées.
- Les souches peuvent inhiber l'implantation des germes pathogènes par compétition.
- pour l'adhésion aux cellules intestinales, ce qui permet une colonisation rapide et dirigée du tube digestif.
- Ces bactéries peuvent réduire l'absorption de substances toxiques (ammoniac, amines, indole) et peuvent ainsi diminuer les biotransformations des sels biliaires et des acides gras en produits toxiques.
- Les probiotiques peuvent également produire des métabolites susceptibles de neutraliser « in situ » certaines toxines bactériennes.
- Les probiotiques peuvent stimuler l'activité enzymatique de micro-organismes endogènes permettant ainsi une meilleure assimilation des aliments.

- Ils peuvent stimuler les cellules du système immunitaire et favoriser la production d'anticorps qui inhibent ainsi les bactéries pathogènes à la surface des muqueuses intestinales.
- Certaines souches peuvent posséder une activité anti-cancérigène dont les propriétés peuvent se répartir en deux catégories :

1- la prévention de l'initiation d'un cancer, soit en détruisant des substances Pré-cancérigènes présentes dans l'organisme, soit en inhibant les bactéries présentes dans le tractus digestif, productrices d'enzymes catalysant la conversion de substances cancérigènes.

2- la suppression de cellules tumorales, soit directement, soit de façon Indirecte, en favorisant l'activité des macrophages qui sont impliqués dans la destruction des cellules tumorales.

- Les Lactobacilles excrètent la bêta-galactosidase, souvent déficiente dans le tractus digestif de l'hôte et facilite donc la digestion du lactose (Larpent, 1997).

III -2:L 'aspect technologique : les levains

- Acidification par production d'acide lactique.
- Texturation par libération d'exopolysaccharides (yaourts).
- Production d'arômes (acétaldéhyde) (fromages).
- Amélioration des propriétés digestives (*Bifidobacterium*) (Brangeret al.,2007).

Ils possèdent un pouvoir inhibiteur vis-à-vis des micro-organismes pathogènes ou d'altération (Larpent, 1997), Leur rôle dans la production des fromages est d'abord la fermentation du lactose en acide lactique et donc l'acidification du lait pour obtenir le caillé (à partir d'un pH inférieur à 4.6).

D'autre part, les espèces de *Lactobacillus* comme *Lactobacillus bulgaricus, Lactobacillus plantarum, Lactobacillus casei, Lactobacillus thermophilus* sont pour la plupart, des espèces homofermentaires. Du fait de leur métabolisme particulièrement diversifié, elles participent de façon plus importante que les streptocoqueslactiques à la production d'arômes. Leur rôle est essentiel au cours de l'affinage des fromages car leur concentration au cours de cette étape est forte par rapport à leur concentration dans levait et le caillé (Leyral et Vierling, 2007).

Tableau 8 : Rôle de quelques espèces de *Lactobacillus* utilisés en industrie (Lamontagneetal., 2002).

Espèces	Emploi en industrie	Rôle
Lb. Bulgaricus	Yogourt- fromage (mozzarelle…)	Acidification en cours de production protéolyse encours de maturation libération du galactose pour le brunissement production d'arômes et de polysaccharides (yogourt).
Lb. Helveticus	Fromages (suisse,mozzarella...)	Acidification en cours de production prévention del'amertume (peptidase).
Lb. Casei	Yogourt – fromage(cheddar...)	Un peu d'acidification en cours de production contribution au caractère probiotique.
Lb. Acidophilus	Yogourt- lait acidophile	Acidification en cours de production contribution au caractère probiotique.

Lb. Kefir	Kéfir	Acidification en cours de production

En industrie, on utilise les levains. Comme les bactéries doivent se multiplier et atteindre des populations de l'ordre de 105à 106cellules/ml pour déclencher le processus fermentaire désiré, on ajoute le levain, ce qui évite l'attente de la phase de multiplication et prévient ledéveloppement d'autres micro-organismes d'altération (Montel, 2005).

Ces levains sont généralement des cultures mixtes et non des cultures pures, à cause des bactériophages. Deux types de ferments sont disponibles :

- Ferments mixtes : mélanges non déterminés, provenant généralement de cultures repiquées de façon traditionnelle, moins sensibles aux phages mais plus difficiles uniformiser.
- Ferments définis : souches mélangées dans des proportions précises, il convient de connaître, outre les caractéristiques de chaque souche, les interactions positives(comme l'association Streptococcus thermophilus/ Lb. bulgaricusdans le yogourt)et négatives pour cause d'antagonisme (Lamontagneet al., 2002).

Tableau 9:*Critères technologiques de sélection des bactéries lactiques fournis par les fiches techniques (Lamontagneet al., 2002).*

Propriétés de fermentation	Résistance/sensibilité	Autres
Dilution des sucres (homo /hétéro fermentation	Bactériophages	Nomenclature
Fermentation du citrate/production d'arômes	NaCl	Comportement Symbiotique (cultures mixtes)
Production de gaz	Température (cuisson)	Coût
Vitesse d'acidification	Phosphates (milieuxde culture)	Qualité microbiologique
Activité proteinolytique et peptidolytique	pH inhibiteur (sur acidification lors de l'entreposage du yogourt)	
Production de saccharides	Oxygène	
Productiondebactériocines oud'autresinhibiteurs de micro -organismes indésirables		
Acidité titrable ou pH indiquant la fin de la fermentation		

Les ferments lactiques du genre *Lactococcus et Leuconostoc* sont mésophiles (leur croissance optimale se situe entre 25°C et 45°C), un certain nombre de cultures (Lactobacillusdelbrueckiisubsp.bulgaricus,Lactobacillushelveticus,Streptococcus thermophilus et

Bifidobacterium) sont dites thermophiles car leur température optimale de croissance se situe entre 37°C et 47°C.

Connaître la caractéristique du comportement d'une culture selon la température est cruciale en technologie laitière. La température sert à contrôler les vitesses d'acidification et constitue un outil important dans la gestion de l'équilibre des flores (Lamontagneet al.,2002).

Un inconvénient des bactéries lactiques, au niveau industriel, est d'ordre génétique ; àl'exception des Streptocoques thermophiles, elles possèdent des protéinases liées aux parois qui les rendent capables d'utiliser les oligopeptides et les protéines du lait. La température, le pH et la concentration en ions calcium interviennent pour réguler la liaison de la protéinase àla paroi cellulaire. Les gènes des protéinases ne sont pas situés sur le chromosome bactérien mais sur des petits fragments d'ADN ou plasmides, qui peuvent être perdus quand les cellules se divisent en cours de croissance, d'où une instabilité d'autant plus forte que d'autres caractères technologiques sont aussi codés par des gènes portés par des plasmides (hydrolyse du lactose, métabolisme du citrate...etc.). Pour l'avenir, il faut stabiliser ces caractères d'acidification, de protéolyse ou de production de composés d'arômes par intégration dans le chromosome bactérien des gènes portés par les plasmides (Martinet et Houdebine, 1993).

En dépit des progrès récents en technologie et des concepts d'assurance-qualité, l'application des pratiques d'hygiène dans les ateliers de production de certains produits alimentaires en Afrique s'est montrée insuffisante pour assurer l'absence des bactéries d'altération et pathogènes dans le produit final.

Cette problématique a donc incité les chercheurs à développer de nouvelles technologies, notamment celles qui utilisent des agents biologiques pour réduire les contaminations. Les bactéries lactiques productrices de bactériocines représentent un modèle de choix pour réaliser cet objectif (Thonartet al.,2009).

Tableau 10: Principales utilisations des bactéries lactiques en agroalimentaires (Caplice et Fitzgerald 1999 et Rosset al., 2002).

Produits	Pays	Microorganismes	Substrats
		Pain	
Pain	International	Saccharomyces cerevisiae,autres levures,et BL.	Blé, riz et autres céréales
San Francisco		Lb. Sanfrancisco	Farine de blé
Produits végétaux			
Bongkrek	Indonésie	Rhizopus oligosporus	Noix de coco
Gari	Afrique del'oues t	Corynebacterium manihot,autres levures,et BL(Lb. plantarum, Streptococcus spp.)	Racines de manioc
Idli	Sud de l'Inde	BL(Ln. mesenteroides, E. faecalis)Torulopsis, Candida, Trichosporonpullulans	Riz et black gram dhal
Kenkey	Ghana	Inconnu	Mais
Kimchi	Corée	BL	Choux, végétaux, noix
Mahewu	Afrique du sud	BL	Mais
Ogi	Nigeria	BL	Cephalosporium, Fusarium,Aspergillus , Penicillium spp.,Saccharomyces

			cerevisiae, Candidamycoderma, C. valida,ouC. ViniMais
Sauce de soja	Japon, Chine,Philippines	Aspergillus oryzaeou A. soyae,Lactobacillus, Zygosaccharomyces rouxii	Soja et blé
Tempeh	Indonésie	Rhizopus oligosporus	Soja
Nan	Inde	Saccharomyces cerevisiae,BL.	Farine
Olives	Méditerranée	Ln. mesenteroides, Lb. Plantarum	Olives vertes
Choucroute	Europe	Lc.lactis,Ln. Mesenteroides ,Lb.(brevis,plantarum,curvatus,sake)	Choux
Sauce de soja		Lactobacillu ssp., Aspergillus oryzaeetsoyae et Zygosaccharomyces rouxii	Soja et blé
Légumes		Enterococcus(mundtii,faecium),Lactococcus(cremoris,lactis),	Légumes

Pickles		Pediococcus, Lb. Plantarum	Concombres
Bière		Saccharomyces cerevisiae, BL	Orge, houblon
Vin		Oenococcus oenos	Raisin
Sake		Lb.sake, Lb.homohiochi, Ln. Mesenteroides	Riz
Produits laitiers			
Fromages .	International	Lc.lactisSc. thermophilus, Lb.shermaniietLb.bulgaricus, Propionibacteriumshermanii,Penicillium spp	Lait de vache, chèvre oubrebis
Lait fermenté		Lb. Acidophilus	Lait de vache
Cheddar		Lc.(cremoris,lactis) etLeuconostoc	Lait
Suisse		Lb.(delbrueckii,bulgaricus ,helveticus)	Lait
Yoghurt	International	S.thermophilus, Lb. bulgaricus	Lait

Képhir		Lactococcus, levure,Lb.kefir(et autres)	Lait de vache, de jumentou de chèvre
Produits carnés et de la pêche			
Viandes etSaucissesfermentées	Europe (Sud etCentre , U.S.A.)	BL(Lactobacillus,Pediococcus), Staphylococcus,autres BL	Viandes de bœuf, porc etvolailles
Poissons		Lb.(plantarum,casei),Cb.(piscicola, etdivergens)	Poisson
Izushi	Asie	Ln. mesenteroides, Lb. plantarum	Poisson, riz, légumes

Traditionnellement, les fermiers et les bergers ont fait le fromage à partir du lait cru de vaches, de chèvres ou de brebis sur une petite échelle, en utilisant les bactéries lactiques naturelles. Des cultures de ces bactéries ont été produites en incubant le lait ou petit lait à partir de la veille dans des conditions spécifiques. Aujourd'hui, cette manière traditionnelle de produire le fromage est toujours présente dans beaucoup de pays européens méditerranéens et méridionaux ; ces fromages sont généralement appelés «artisanaux» (Coganet al., 1997). Il n'est pas étonnant de découvrir que les produits fermentés traditionnels des pays subtropicaux hébergent principalement des bactéries thermophiles, tandis que les produits avec les bactéries mésophiles proviennent des pays européens nordiques (Wouter set al.,2002). Elles ont été traditionnellement employées en tant que bio préservateur des produits alimentaires. Labiopréservation se rapporte à la durée de conservation prolongée et la sécurité augmentée des nourritures obtenues en employant la flore microbienne normale ou supplémentaire et leurs produits antimicrobiens.

L'utilisation des procédés de fermentation a augmenté durant ces dernières années et inclus maintenant beaucoup de types d'alimentation que ce soit pour les humains ou les animaux(Rosset al., 2002 et Schnürer et Magnusson, 2005).

IV :Critères de sélection de souches pour l'élaboration des ferments :

Cette sélection s'effectue selon des critères technologiques, les principales fonctions des ferments étant la production d'acide de gaz et d'arôme, la protéolyse, la lipolyse et l'inhibition de bactérie indésirables. La caractérisation technologique se fait donc sur les critères suivants :

IV -1: Activité acidifiante :

L'acidification et le rôle principal des bactéries utilisées comme ferments celle-ci a différents buts :

–La coagulation du lait (en facilitant l'action de l'enzyme 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 (Larsen et Anon, 1989 et 1990).

IV -2:Activité protéolytique :

Les bactéries lactiques possèdent des protéinases, des peptidases nécessaire 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 caractéristiques du produit final (Chahbalet al.,1991 et 1993).

Dans les fromages, l'activité des enzymes protéolytiques des bactéries lactiques est fondamentale car elle va participer à la formation du gout ou des arômes : la protéolyse dueaux bactéries lactiques va surtout conduire à des peptides court et à des acides aminés libres Ces derniers sont des précurseurs pour de nombreux produits d'arômes. En effet, la méthionine peut conduire à des composés soufrés caractéristiques. Ceci après leur dégradation par la flore d'affinage (Schirchet al., 1985 et Ottet al., 1997)

IV -3:Pouvoir aromatisant et pouvoir gazeux :

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 diacétyle sont les plus importants (Tamime, 1990).

IV -4:Résistance aux bactériophages :

Les phages, virus des bactéries, sont des parasites obligatoires. Ils constituent l'une des principales causes de perturbation de l'acidification du lait par les bactéries lactiques. Il est nécessaire que les bactéries lactiques composant les ferments ne soient pas toutes sensibles aux mêmes phages pour diminuer les risques d'accidents de fabrication.

IV -5:Activité bactériostatique : production de bactériocines :

Les bactériocines, telles que la nisine ou la pédiocine, sont des molécules de nature protéiqued ont l'action bactériostatique est spécifique de quelques espèces bactériennes. Ces substances, élaborées par certaines bactéries, inhibant ainsi la croissance de différentes souches de bactéries pathogènes (Listeria et Clostridium), contribuant aussi à la préservation Del 'équilibre microbien et organoleptique du fromage. Les bactéries lactiques produisent des substances antimicrobiennes de nature protéique appelées bactériocines Cette caractéristique est utilisées industriellement pour la destruction des bactéries indésirables et pathogènes dans la fabrication d'aliment comme la nisine produite par les lactocoques dirigée contreBacillusetClostridium, la plantaricine et la sakacine produites toutes les deux par les lactobacilles actives surE. coli, Listeriaet certaines levures (Neset al., 1996).

IV -6:Résistance aux antibiotiques :

La présence d'antibiotiques dans le lait (pénicilline, vancomycine...etc) peut être due au traitement des immunités. La plupart des bactéries y sont sensibles. Mais, de plus en plus on voit l'émergence de souches résistantes à ces antibiotiques, surtout dans le genreEnterococcus. Il n'est pas souhaitable de sélectionner, dans la composition des ferments, des souches résistantes aux antibiotiques, car, ingérées par l'homme, elles sont susceptibles de transférer ces caractères aux autres bactéries du tube digestif. De plus, l'augmentation Del 'ingestion d'antibiotiques par l'homme peut entrainer des risques d'allergies.

Enfin, des bactéries résistantes aux antibiotiques peuvent avoir, en plus, perdu certaines deleurs caractéristiques originelles.

V:Les propriétés inhibitrices des bactéries lactiques :

L'homme utilise depuis longtemps, consciemment ou non, les propriétés antibactériennes des bactéries lactiques. Ces propriétés se sont avérées être intéressantes pour la conservation des aliments dans lesquels cette flore se développe. Les bactéries lactiques inhibent le développement de certains micro-organismes grâce à la synthèse de molécules antibactériennes telles que des acides organiques, notamment l'acide lactique, du peroxyde d'hydrogène et des bactériocines (Jasniwski, 2008); ou par la compétition nutritionnelle et pour l'espace (Leonard, 2013).

Il est intéressant de noter que ces phénomènes d'inhibition causés par les bactéries lactiques peuvent également s'exercer contre de nombreux organismes étrangers à savoir les staphylocoques, les c1ostridies, les streptocoques non lactiques et les bactéries coliformes (Julliard et al., 1987).

V-1: La compétition nutritionnelle et pour l'espace :

Lorsque plusieurs souches sont mises en culture dans un même milieu, elles entrent nécessairement en compétition, si elles utilisent le même substrat. C'est ce qui se passe avec les bactéries lactiques utilisant le lactose (Julliard et al., 1987).

Du fait de leurs importantes exigences nutritionnelles, les bactéries lactiques envahissent complètement le milieu. Elles limitent alors la multiplication des autres colonisateurs (Castellano et al, 2008). De plus, les cellules d'une même espèce possèdent des systèmes de communication (Gram et al., 2002). Lorsqu'une certaine densité cellulaire est atteinte (système de «Quorum Sensing»), des signaux sont envoyés d'une cellule à l'autre pour réguler l'expression de certains gènes et orienter le métabolisme (Leonard, 2013).

Lorsque les bactéries lactiques sont utilisées en culture mixtes pour la fermentation du lait, des interactions entre les différentes souches se manifestent. Ces interactions sont généralement classées en deux groupes : l'antagonisme et la stimulation.

Les points suivants ne se veulent pas une liste exhaustive des interactions recontrées lors de la fabrication fromagères mais un résumé des principales observations résultant de l'association de bactéries lactiques dans un même levain (Grattepanche, 2005).

V-2: Les phénomènes d'antagonisme :

La fermentation est historiquement utilisée comme un mode de conservation des aliments. 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 produit par les bactéries lactiques.

Cependant, lorsqu'il atteignent une certaine concentration ; ces composés peuvent interrompre la croissance des souches productrices, il s'agit d'autoinhition et/ou des autres souches constituant le levain.

Ces interactions négatives faisant intervenir la production de substances inhibitrices sont connues sous le non d'amensalisme.

C'est notamment le cas des acides organiques issus des mécanismes homofermentaires et hétérofermentaires des bactéries lactiques.

L'inhibition peut aussi résulter de la production de peroxyde d'hydrogène car contrairement à d'autres genres bactériens, les bactéries lactiques sont dépourvues de catalase capable de dégrader ce composé toxique. L'action inhibitrice du peroxyde d'hydrogène peut être renforcée par le système lactoperoxydase-thiocyanate présent naturellement dans le lait (Gilliland, 1985).

Le thiocyanate est oxydé, en présence d'H2O2, en un composé bactériostatique pour les bactéries Gram positif. Les bactériocines, produites par quelques souches de bactéries lactiques, sont également des agents inhibiteurs très puissants dont le spectre d'activité s'étend de souches phylogénétiquement proches de la souche productrice à des espèces génétiquement plus éloignées. Pour assurer leur développement dans le lait, les lactocoques possèdent un système protéolytique capable de dégrader les caséines en acides aminés.

Comme nous l'avons vu précédemment, ils existent deux types de protéinases PI et PIII. En culture mixte dans le lait, la population bactérienne possédant la protéinase de type PIII domine sur le type PI.

Ce déséquilibre résulterait d'une inhibition de la synthèse de l'enzyme PI ou d'un phénomène de compétition pour les peptides relâchés par les deux types d'enzyme au niveau du système de transport des oligopeptides (Opp) (Flambard et al., 1997).

Les phénomènes de compétition constituent la deuxième catégorie des interactions négatives fréquemment rencontrées lors de la fermentation du lait par une culture mixte.

Certains nuppiments présents dans le lait en faibles quantités et indispensables à la croissance bactérienne, peuvent être consommés préférentiellement par un groupe microbien aux dépens d'un autre.

C'est le cas notamment des matières azotées nonprotéiques (NPN de l'anglais Non-Protein-Nitrogen) regroupant l'urée, des acides aminés, de courts peptides et les bases azotées adénine, guanine, uracile et xanthine.

La concentration en NPN dans le lait ne supporte la croissance que d'une faible densité cellulaire de bactéries lactiques. Juillard et al.(1990 et 1991) ont ainsi observé que la croissance d'une souche de lactocoque dans le lait ayant déjà préalablement servi à la préculture de la souche était inférieure à celle réalisée dans du lait frais. Ce phénomène s'explique par l'épuisement de la fraction azotée de faible poids moléculaire durant la préculture (Juillard et al., 1990).

V-3: Les phénomènes de stimulation :

Les phénomènes de stimulation sont divisés en plusieurs catégories. On distingue le commensalisme, lorsqu'une population est stimulée par la production d'une substance essentielle ou la destruction d'un facteur inhibiteur par une autre population et le mutualisme ou la protocoopération, lorsque l'interaction est positive pour chacune des populations.

Dans le cas du mutualisme, l'interaction est nécessaire à la survie des populations contrairement à la protocoopération où l'interaction présente un caractère facultatif (Choisy et al., 1997).

L'interaction entre les lactobacilles et les streptocoques thermophiles est particulièrement mise à profit pour la fabrication des yaourts. Dans un premier temps, les lactobacilles se développent puis, leurs activités protéolytiques et aminopeptidasique permettent de stimuler la croissance des streptocoques. Ceci se vérifie également pour des souches de lactocoques protéinase positive (Prt+) et négative (Prt-) associées en culture mixte. Certains variants de lactocoques présentent une déficience dans leur système protéolytique résultant, notamment, de la perte des plasmides codant en partie pour la protéinase de paroi (Prt-) et le système de transport Opp (Yu et al., 1996).

En cultures mixtes dans le lait, la croissance des deux variants est similaire tant que la concentration en NPN est suffisante. Dans un second temps, lorsque la source de NPN est épuisée, la croissance du variant Prt– est stimulée, comparativement à une culture pure, par

l'activité protéolytique du variant Prt+ qui favorise la libération de fractions azotées de faible poids moléculaire utilisables directement par les cellules.

Cependant, l'hydrolyse des caséines par les souches Prt+ est trop faible pour assurer une croissance maximale des deux souches. Par conséquent, le développement du variant Prt+ se trouve inhibé par compétition pour les oligopeptides avec le variant Prt– (Juillard et al., 1994 et 1996).

L'association des deux types de variant est également profitable pour éviter les défauts d'amertume: les peptides amers générés par les protéinases des souches Prt+ pouvant être dégradés par l'activité aminopeptidasique des variants Prt–.De nombreuses études ont également porté sur l'association de Lactobacillus NSLAB et de lactocoques afin de développer des arômes durant l'affinage des fromages (El Soda et al., 2000).

VI:Propriétés inhibitrices des bactéries lactiques :

VI -1:Choix de microorganismes :

La première étape essentielle réside dans le choix du microorganisme. Celui-ci doit être exempt de toute pathogenicité (Suvarna et Boby, 2005).

Toutefois ce genre de risque est pratiquement inexistant du fait que les microorganismes probiotiques ont trouvé de nombreuses applications dans l'industrie alimentaire (ces souches sont incorporées dans les yaourts, les dérivés lactés, les boissons, les fromages, les desserts réfrigérés et même dans le lait non fermenté) et ne présentent aucun danger pour l'homme, les animaux ou l'environnement (Bouzianeet al. , 2004).

VI -2: Activités antimicrobiennes :

Les probiotiques doivent essentiellement jouer deux rôles au niveau du tractus digestif : améliorer la digestibilité de la ration alimentaire et maintenir de bonnes conditions sanitaires. L'activité antimicrobienne des lactobacilles (Lb.acidophilus, Lb. Plantarumet Lb. brevis) a été prouvé in vitro contre deux pathogènes entériques : Escherichia coli et Salmonella typhimurium (El-Nagger, 2004). L'effet inhibiteur de *Lactobacillus fermentum sur Escherichia coli, sur Salmonella typhimurium et sur Staphylococcus aureus* avait été démontré (Requeet al.,2000).

Il est donc important que ces bactéries soient capables d'inhiber le développement des germes indésirables :

-Soit par la production de substances antagonistes de types bactériocines ou autre tels que les acides organiques et le peroxyde d'hydrogène (Lima et al.,2005).

-Soit en empêchant l'adhésion des germes pathogènes aux cellules de la paroi intestinale; selon Hariharan et al.,(2004) l'emploi des probiotiques réduit la colonisation du tractus digestif par *Campylobacter jejuni*(Chafai, 2006).

VI -3:Viabilité et stabilité des microorganismes :

C'est l'une des critères de sélection la plus importante. Pour que les probiotiques puissent exprimer ces diverses potentialités, il faut qu'elles atteignent leur site d'activité digestive dans les conditions les plus propices à leur efficacité, ce qui suppose qu'elles soient vivantes : cela induit des contraintes technologiques sévères au cours de concentration et de la dessiccation pout une présentation en poudre, et interdit le passage dans une presse à granuler (qui porte la température au dessus de 80°C à moins de faire appel à des enrobages thermorésistants(Klaenhammer, 2000).

VII:Définition des interactions :

Les produits laitiers, en général, comme le lait fermenté ou les fromages sont les supports d'écosystèmes dont la composition évolue avec le temps. Les facteurs de sélection qui gouvernent cette évolution sont générés par l'activité métabolique des micro-organismes eux-mêmes. Ceux-ci, à un instant donné, créent à la fois les conditions de leur déclin et celles favorisant l'installation d'autres groupes microbiens :

❖ par la production de substances inhibitrices ou au contraire celles de facteurs de croissance.

❖ par la modification de facteurs physico-chimiques, dont le pH. (Leyral et Vierling,2007).

VII-1: Interactions positives: synergie :

Le meilleur exemple en est l'effet coopératif entre deux espèces ; Streptococcus thermophilus et Lactobacillus delbrueckii qui jouent un rôle dans l'élaboration du yaourt. Au début de la fermentation, c'est le Streptocoque qui se développe le plus rapidement et produit différents acides (acide pyruvique, acide formique, acide lactique), l'adénine et une très faible quantité de CO2. L'abaissement progressif du pH et la présence de ces substances vont petit à petit activer la croissance du Lactobacille qui est plus acidophile. Celui-ci a une activité protéolytique plus importante que celle du Streptocoque et la libération d'acides aminés (valine, histidine, glycine, acide glutamique, leucine, méthionine) et des peptides vont les stimulers. Malheureusement pour le Streptocoque, ces interactions positives ne durent pas très longtemps, dans la mesure où il est beaucoup plus sensible au pH que le Lactobacille, sa croissance va être progressivement inhibée par l'acidité du milieu (Brangeret al., 2007).

VII-2: Interactions négatives : inhibition

L'un des avantages présentés par les bactéries lactiques est l'augmentation de la durée de conservation d'un produit alimentaire par la production de nombreux métabolites aux propriétés antimicrobiennes tels que les acides organiques, le peroxyde d'hydrogène, le dioxyde de carbone, la reutérine, le diacétyl et les bactériocines (Dortu et Thonart, 2009).

VIII:Bactériocines :

Les bactériocines sont des composés de synthèse ribosomale produites par les bactéries dans le but d'inhiber la croissance des autres bactéries. Ces composés sont trouvés chez la plupart des espèces bactériennes étudiées jusqu'à aujourd'hui. Mais peu d'entre eux sont largement étudiés. En général, elles ont un spectre d'action restreint, inhibant seulement les bactéries voisines de la souche productrice. Les bactéries à gram n'inhibent pas les bactéries gram–et vice versa (Ouwehand et Vesterlund, 2004).

Habituellement, elles sont de faible poids moléculaire (mais des bactériocines à haut poids moléculaire sont également produites). C'est leur nature protéique et leur spectre d'inhibition étroit qui les distingue des antibiotiques (De Vuyst et Leroy, 2007).

Au cours des deux dernières décennies, la sécurité alimentaire est devenue un problème majeur, et de grands efforts ont été fournis pour identifier des bactériocines qui inhibent la

croissance des germes pathogènes et nuisibles. Pour l'utilisation dans l'aliment la bactériocine doit être :

- ✓ Stable à la chaleur,
- ✓ Stable à l'acidité,
- ✓ Résistante aux protéases qui se trouvent dans l'aliment,
- ✓ Active pendant une période prolongée,
- ✓ En activité au pH de l'alimentation (4,5 à 7,0),
- ✓ Avoir un effet bactéricide que bactériostatique,
- ✓ Un large éventail d'hôtes, en inhibant plusieurs agents pathogènes et nuisibles (Foxet al., 2000).

VIII-1: Classification des bactériocines : Les bactériocines produites par les bactéries lactiques sont réparties en quatre classes,comme proposé par Klaenhammer (1993). Ces quatre classes sont :

- ***Classe I. Les lantibiotiques***: peptides de taille inférieure à 5 kDa, stables à la chaleur et qui contiennent des acides aminés inhabituels soufrés formés post-traditionnellement, c'est-àdire la lanthionine, la β-méthyl lanthionine, la déhydrobutyrine et la déhydroalanine. Ils 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. Certains antibiotiques sont par ailleurs constitués de deux peptides agissant ensemble pour avoir une activité comme la lacticin 3147. La nisine, produite parLactococcus lactissubsp.lactis, est la bactériocine la plus largement étudiée de la classe I (Dortu et Thonart, 2009 et Rajaramet al., 2010).
- ***Classe II.*** Peptides de taille inférieure à 10 kDa, stables à la chaleur, ne contenant pas d'acides aminés modifiés. Leur point isolélectrique varie entre 8 et 10. Cette classe est divisée en trois sous-classes. Les bactériocines de la sous-classe Iia contiennent entre 27 et 48 acides aminés et ont toutes une partie N-terminale hydrophobe contenant la séquence consensus YGNG ainsi qu'un pont disulfure et une partie C-terminale moins conservée, hydrophobe ou amphiphile qui détermine la spécificité d'action. Elles ont toutes une

activité contreListeriamonocytogenes.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 conférerait une meilleure activité antimicrobienne, une meilleure résistance à l'exposition à des hautes températures et un spectre d'action plus large. La sous-classe IIb 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(Synergie) où les deux peptides sont complémentaires. La sous classe IIc contient les bactériocines ne pouvant pas être classées dans les autres sous-classes (Dortu etThonart, 2009).

- ***Classe III.*** Protéines de taille supérieure à 30 kDa et sensibles à la chaleur. Lastructure et le mode d'action de ces bactériocines diffèrent complètement des autres bactériocines produites par les bactéries lactiques.
- ***Classe IV.*** Peptides requérant une partie carbohydratée ou lipidique pour avoir une activité. Aucune bactériocine de cette classe n'a été décrite (Dortu et Thonart,2009).

Le tableau montre les différentes classes de bactériocines avec leurs descriptions(Ouwehand et Vesterlund, 2004).

Tableau 11 : Les classes des Bactériocines produites par les bacteries lactiques (Ouwehand etVesterlund,2004).

Classe	Sous- classe	Description
Classe I (lantibiotiques)	A 1	Allongé, cationique, membrane active, la chargenette est légèrement + ou -.
	A2	Allongé, cationique, membrane active, la chargenette est hautement -.
	B	Globulaire, inhibe l'activité enzymatique.
Classe II		Petite (<10 kDa), stabilité à la chaleur modérée.(100°C) à élevée (121°C), les peptides membraneactives ne contiennent pas la lanthionine.
	Iia	PeptidesListeriaactive avec –Y–G–N–G–V–X–C–près de l'amino-terminus.
	IIb	bactériocines deux-

		peptides
	IIc	bactériocines autres peptides
Classe III		Grand (>30 kDa) protéines thermolabiles.
Classe IV		Bactériocines complexes : protéines avec lipideset/ou carbohydrates.

VIII-2: Bactériocines de Lactobacillus plantarum :

La plupart des bactériocines produites par les lactobacilles, ont une gamme d'activité étroite. Lb. Helveticus produit helveticine J et lacticine LP27. Helveticine J est une bactériocine.

inhabituelle, car elle est codée par l'ADN chromosomique et active à pH neutre (Joerger etKlaenhammer,1986).

Lb. acidophilusproduit de nombreuses bactériocines, y compris lacticines B et F etacidocine J1229 (Muriana et Klaenhammer, 1991) etLb. case produit la caseicine 80 etLb.delbrueckiisubsp. lactisproduit lacticines A et B (Hoover et Chen, 2005)

Lactoline a été la première documentation d'une protéine à effet antagoniste produite parLb. plantarum(Kodama, 1952). Après, d'autres travaux comme ceux d'Andersson (1986), ontmontré que certaines bactériocinesLb. plantarum83 inhibentS. aureuset les spheroplastesdes bactéries à gram– (Hoover et Chen, 2005).

Récemment, un groupe de chercheurs japonais a découvert une nouvelle bactériocine,plantaricin ASM1 produite parLactobacillus plantarumA-1 (Hataet al., 2010). Le tableauVII présente quelques exemples de bactériocines produites par l'espèceLactobacillusplantarum, et leur spectre d'action.

Tableau12 : Exemples des bactériocines produites par *Lactobacillus plantarum*

Bactériocines	Souche productrice	Activité antimicrobienne
Classe Iia Pediocine P1/AcH/SJ-1	Lb.plantarumWHE92	Etendu,L. monocytogenes
Classe IIb PlantaricineEF Plantaricine JK Plantaricine S	Lb.plantarumC11 Lb.plantarumC11 Lb. plantarum	Leuconostocspp., Lb.helveticus, Lb.plantarum, Lb. delbrueckii, Lb.reuteri,Enterococcusspp., Pediococcusspp.,Lactococcusspp., Streptococcusspp.,Micrococcusspp., Propionibacteriumspp.etClostridium tyrobutyricum
Classe IIc Plantaricin A	Lb. plantarumC-11	Lb. plantarum, Lactobacillusspp.,Leuconostocspp.,Pediococcusspp. ;Lc.lactis. etE. Faecali

VIII- 3:Mode d'action des bactériocines :

Le siège d'activité des bactériocines est la membrane cellulaire, raison pour laquelle les bactériocines n'ont pas d'activité contre les bactéries Gram–. Cependant, les mécanismes d'action des bactériocines sur la membrane sont variés.

A:Les lantibiotiques :

Les lantibiotiques interagissent avec la membrane cellulaire par des interactions électrostatiques ou par liaison à des récepteurs spécifiques tels que le lipide II (un decaprenyl-pyro-phosphoryl- MurNAc-pentapeptides-GlcNAc), un précurseur de peptidoglycanes.

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 dissipation des deux composantes de la force proton motrice, à la cessation rapide des activités cellulaires et à la mort de la cellule. L'interaction avec le lipide II permet d'augmenter la stabilité des pores formés et de réduire la concentration du l'antibiotique nécessaire à la formation des pores, mais peut également conduire à l'inhibition de la synthèse de la paroi cellulaire (Dortu et Thonart, 2009). Les lantibiotiques de type A dissipent la force proton-motrice par formation de pores et interfèrent avec la synthèse des peptidoglycanes alors que la plupart des lantibiotiques de type B agissent par inhibition de la synthèse des peptidoglycanes. Néanmoins, certains forment également despores dans la membrane des cellules cibles. La nisine, un lantibiotique de type IA, interagit avec le lipide II au niveau du MurNAc tandis que la mersacidine, un lantibiotique de type IB,interagit avec le GlcNAc du lipide II (Dortu et Thonart, 2009)

b/Les bactériocines de classe II :

Le mécanisme d'action supposé des bactériocines de classe IIa est l'interaction de la bactériocine avec la membrane ou un récepteur spécifique, la « mannose perméase », pour ensuite former un pore dans la membrane de la cellule, ce qui induit la perméabilisation de la membrane, la dissipation des deux composantes de la force proton motrice et la mort de la cellule. Le mécanisme de formation des pores n'est pas connu, même si l'hypothèse la plus courante est l'association de différentes molécules de la bactériocine (Dortu et

Thonart,2009).La figure 11, montre le mécanisme d'action bactéricide de la pédiocine PA-1/AcH(Naiduet al., 2006).

Les bactériocines de classe IIb ont en général un spectre d'action inhibant une largegamme de bactéries Gram+. Elles forment des pores et rendent la membrane perméable àdifférentes petites molécules, des cations monovalents ou des anions, ce qui dissipe une ou les deux composantes de la force proton motrice (Dortu et Thonart, 2009).

C:Les bactériocines de classe III

Le mode d'action de ces bactériocines diffère complètement des bactériocines des autres classes. Par exemple, l'entérolysine A, la zoocine A et la milléricine B agissent parl'hydrolyse des liens peptidiques des peptidoglycanes des cellules sensibles. La zoocine A aun spectre d'action étroit alors que l'entérolysine A et la milléricine B ont un spectre d'actionlarge. L'helvéticine J a un mode d'action bactéricide (Dortu et Thonart, 2009).

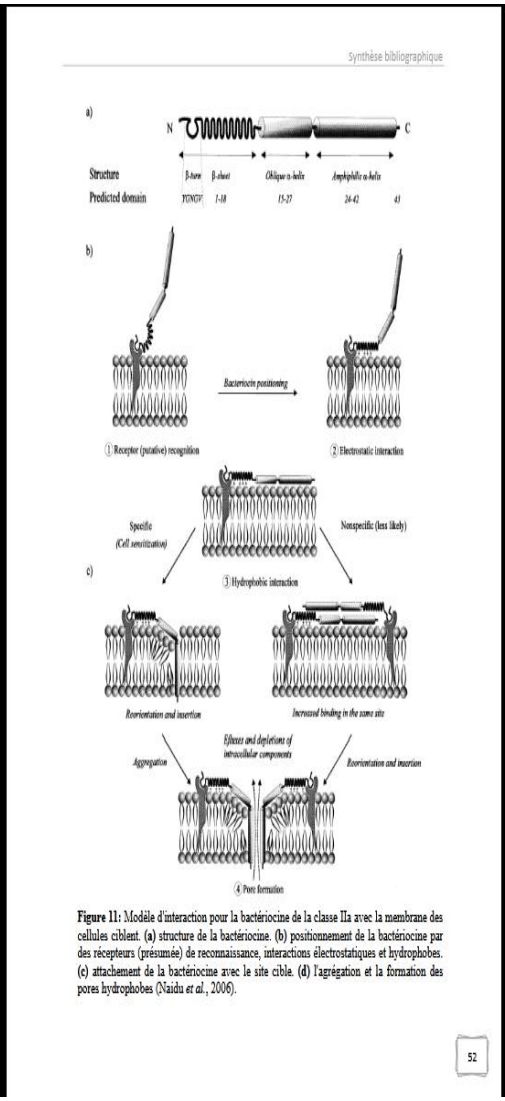


Figure 11: Modèle d'interaction pour la bactériocine de la classe IIa avec la membrane des cellules ciblent. **(a)** structure de la bactériocine. **(b)** positionnement de la bactériocine par des récepteurs (présumée) de reconnaissance, interactions électrostatiques et hydrophobes. **(c)** attachement de la bactériocine avec le site cible. **(d)** l'agrégation et la formation des pores hydrophobes (Naidu *et al.*, 2006).

Tableau 13: Les principales bactériocines produites par certaines espèces de bactéries lactiques letterature (Dortu et Thonart, 2009

Dénomination	Espèce productrice	Espèces sensibles
Nisine	Lactococcus lactissubsp. lactis	Lactococcus, bactéries Gram positif (dontClostridium, Bacillus, Listeria)
Lacticine 481	Lactococcus lactissubsp. lactis	Lactococcus LactobacillusLeuconostoc, Clostridium
Diplococcine	Lactococcus lactissubsp. cremoris	Lactocoques
Lactostrepcine (S)	Lactococcus lactissubsp. lactis	Lactococcus,Streptocoques hémolytiques,Lactobacillus helveticus, Leuconostoc,Clostridium, Listeria
Lactocidine	Lactococcus fermentum	Lactobacillus
Lactocine 27	Lactobacillus helveticus	Lactobacillus helveticus, Lactobacillusacidophilus
Helveticine	Lactobacillus helveticus	Lactobacillus helveticus, Lactobacillusbulgaricus, Lactobacillus lactis
Lactacine B	Lactobacillus acidophilus N2	Lactobacillus leichmanii, Lactobacillusbulgaricus, Lactobacillus lactis,Lactobacillus helveticus
Lactacine F	Lactobacillus	Id+ Lactobacillus

	acidophilus SS	fermentum+Enterococcus faecalis
Plantaricine A	Lactobacillus plantarum	Lactobacillus plantarum, Pediococcuspentosaceus, Leuconostocparamesenteroides
Pediocine A	Pediococcus pentosaceus	Clostridium botulinum, Clostridiumsporogenes, Staphylococcus aureus,Lactobacillus brevis, Lactococcus lactis,Leuconostoc, Pediococcus

IX:Biopréservation des produits laitiers :

Les espèces de *Listeria monocytogenes* sont responsables de plusieurs intoxications associées avec les produits laitiers, tel que le lait pasteurisé (Flamandet al., 1985) et le fromage (Jameset al., 1985). La nisine a montré son efficacitée contreL. Monocytogenes dans les produits laitiers. Ferreira et Lund (1996) ont trouvés qu'après inoculation d'une souche résistante à la nisine dans du fromage blanc de longue durée de conservation à pH 4.6 à 4.7, le nombre deL. monocytogenesdécroit approximativement 1-Log ufc/ml pendant le stockage à20°C pour 7 jours. L'addition de nisine (2000 IU/g) au fromage blanc augmenterait le tauxd'inactivation d'approximativement 3-Log ufc/ml dans 3 jours.Davieset al., (1997) ont déterminés l'efficacité de la nisine pour contrôler L.monocytogenes dans les fromages du type ricotta de plus de 70 jours à 6-8°C. L'addition de lanisine (100 UI/ml) inhibe efficacement la croissance de L. monocytogenes pour une période de 8 semaines ou plus (dépendant sur type de fromage). Le fromage témoin contient des niveaux dangereux du microorganisme après 1 à 2 semaines de stockage.Zottolaet al.,(1994) utilisent le fromage du cheddar contenant la nisine produite par unlactocoque comme composant du fromage au lait pasteurisé. La durée de vie du fromage au

Synthèse bibliographique54lait pasteurisé (301 et 387 UI/g de nisine) était considérablement plus grande que celle Del 'échantillon témoin de fromage. Dans le fromage en paquet réfrigéré, la nisine (100 et 300IU/g) a réduit largement le nombre de *L.*

monocytogenes, S. aureus, et des spores de *C.sporogenes* ayant subi un choque thermique. Un autre problème dans la production fromagère est la fermentation butyrique des *Clostridium*.

La nisine est ajouté fréquemment aux fromages du lait pasteurisé pour prévenir la germination des spores de Clostridium, tel que Clostridium *tyrobutyricum* (Schillingeret al.,1996).

Une application de la lacticine 3147, une bactériocine à large spectre et à deux 2composants produits par *Lc. lactissubsp. lactis*DPC 3147, est le maintien de la qualité ducheddar en réduisant le nombre de bactéries lactiques de la population exogènes aux ferments pendant la maturation (Rosset al., 1999). Le fromage produit avec *Lc. lactis*3147 DPC4275transconjuguée productrice de lacticine 3147, contient 2 Log ufc/ml de bactéries lactiques exogènes aux ferments que dans l'échantillon témoin après 6 mois de maturation.

De plus, le fromage fabriqué avec 3 souches productrices de lacticine 3147 n'avait aucune bactérie lactique exogène à la culture initiale détectable sur la même période. Dans le fromage blanc la population de *L. monocytogenes* a été réduite de 3-Log ufc/ml sur une période d'une semaine de maturation que lorsqu'il a été fabriqué avecLc. lactisDPC4275; cependant, le nombre de *Listeria* dans l'échantillon témoin fabriqué par culture non productrice de lacticine3147 restes inchanger (104ufc/g).

La culture transconjugante produisant la lacticine 3147 a aussi été utilisée comme une culture protectrice pour inhiber *Listeria* sur la surface d'un fromage à maturation par les moisissures. La présence de la souche productrice de la lacticine 3147 sur la surface du fromage a réduit le nombre de *L. monocytogenes* de 3-Log ufc/ml (Rosset al., 1999)

X:Model type de bactériocine : La nisine

La nisine est un agent antimicrobien produit par quelques souches de *Lc. lactis sp*. Elle appartient au groupe des bactériocines définies par Tagget al.,(1976) comme des composés protéiques ayant une activité inhibitrice contre des souches phylogénétiquement proches de la souche productrice. De nombreuses bactériocines répondent à cette définition mais certaines d'entre elles présentent un spectre d'activité plus large s'étendant à des souches plus éloignées. La nisine fut découverte en 1928 par Rogers lorsqu'il s'aperçut qu'un métabolite produit par *Streptococcus lactis (Lc. lactis*dans la nouvelle nomenclature) possédait une activité inhibitrice contre d'autres bactéries lactiques. La nisine appartient à la classe I des bactériocines (Klaenhammer, 1993).

Cette classe regroupe les composés protéiques d'une taille inférieure à 5 kDa et contenant les acides aminés modifiés thioéther lanthionine et méthyllanthionine et des acides aminés déshydratés tels que le didéshydrobutyrine (Dhb) et didéshydroalanine (Dha). Le termelantibiotique (par contraction des mots lanthionine et antibiotique) leur est généralement réservé (Sahlet al., 1998).

X-1:Propriétés physico-chimiques :

La nisine est un peptide de 3488 Da constitué de 34 acides aminés .Les molécules de nisine peuvent s'assembler en dimères ou oligomères de 7000 à 14000 Da via des réactions intermoléculaires entre les résidus Dha etDhb. La conformation en anneaux des lanthionines assurerait la rigidité du peptide, diminuerait sa sensibilité à la protéolyse et augmenterait sa résistance à la chaleur (Mc Auliffeet al., 2001).

Mulderset ses collaborateursen 1991, ont isolés un variant naturel de la nisine A, la nisineZ, qui diffère par un acide aminé en position 27. La spécificité de l'activité antimicrobienne des deux variants est identique. Cependant, des tests d'activité menés par la technique de diffusion en gélose et des concentrations en bactériocines supérieures à 0.1 µg/ml ont montré que la nisine A donnait des zones d'inhibition d'un diamètre inférieur à celles de la nisine Z concentrations identiques. Cette différence s'explique pas une meilleure diffusion de la nisineZ dans l'agar (de Voset al., 1995).

La solubilité de la nisine est fonction du pH et de la force ionique de la solution. En-dessous de pH 5, la nisine A présente une solubilité supérieure à celle de la nisine Z. Dans des conditions de pH neutre ou basique, la solubilité des deux variants est comparable. Le pH influence de façon importante la stabilité de la nisine à la température (Rollemaet al., 1995).La nisine dans une solution à pH 5.0 et 6.8 perd respectivement 40 et plus de 90 % de son activité après un autoclavage à 115.6°C, alors qu'à pH 2 aucune diminution de l'activité n'est observée (Hurst, 1981).

X-2:Biosynthèse:

Trois classes de transposons d'une taille de 70 kb contenant les gènes responsables de lasynthèse de nisine ont été identifiés chez *Lc. lactis sp* (Rauchet al., 1994). Les classes I et II regroupent les transposons conjugatifs portant respectivement les gènes nisA et nisZ codant pour le prépeptide de la nisine A et Z.

Les membres de la classe III contiennent le gènenisZet sont non conjugatifs. Les transposons portent également les gènes des protéines impliquées dans les modifications post-traductionnelles du prépeptide (nisB,nisCetnisP), la sécrétion du peptide mature (nisT), Del 'immunité de la souche productrice à la bactériocine (nisI,nisF,nisEetnisG) et des facteurs de régulation de la transcription (nisKetnisR). La production de nisine évolue en fonction dela phase de croissance. Elle débute au milieu de la phase exponentielle pour atteindre un maximum de la fin de cette phase de croissance au début de la phase stationnaire(Kleerebezemet al., 2001).

La régulation se fait au niveau de la transcription par un système de type«quorum sensing»(Kleerebezem, 2004). La production de bactériocine est également influencée par les facteurs environnementaux, notamment le pH et l'aération du milieu de culture. L'aération stimule la production de nisine Z parLc. diacetylactisUL719 tandis qu'elle possède un effet antagoniste pour la nisine. Hurst (1981), Amialiet al.(1998) ont observé une diminution de 50 % de la concentration en nisine Z, produite parLc. diacetylactisUL719, lorsque la souche est cultivéeà un pH de 5.0 comparativement aux pH 5.5, 6.0 et 6.5.

Pour d'autres souches productrices de nisine, différents auteurs ont mis en évidence une augmentation du titre en bactériocine pour des cultures effectuées sans contrôle de pH ou dans des milieux non tamponnés (Guerraet al., 2003).

X-3:Spectre d'activité et modes d'action :

Parmi toutes les bactériocines, la nisine possède un spectre d'activité très large incluant dessouches de *Lactococcus, Lactobacillus, Listeria, Enterococcus, Micrococcus, Pediococcus et Staphylococcus* ainsi que des cellules végétatives et des spores de *Clostridium et Bacillus* (Meghrouset al., 1999).

Dans des conditions normales, les bactériocines produites par des bactéries Gram positifn'ont pas d'effet bactéricide sur des espèces Gram négatif. Cependant, la nisine

présente une activité inhibitrice contre des souches de *Helicobacter pylori et Neisseria* (Mota-Meiraet al.,2000) et de *Salmonella* en présence d'EDTA. La première cible de la nisine se situe au niveau de la membrane cytoplasmique des souches sensibles.

Des deux modèles proposés dans la littérature pour expliquer la formation des pores transmembranaires par la nisine, celui de Driessenet al.(1995) et Van den Hoovenet al.(1996)est généralement retenu (Sahlet al., 1998).

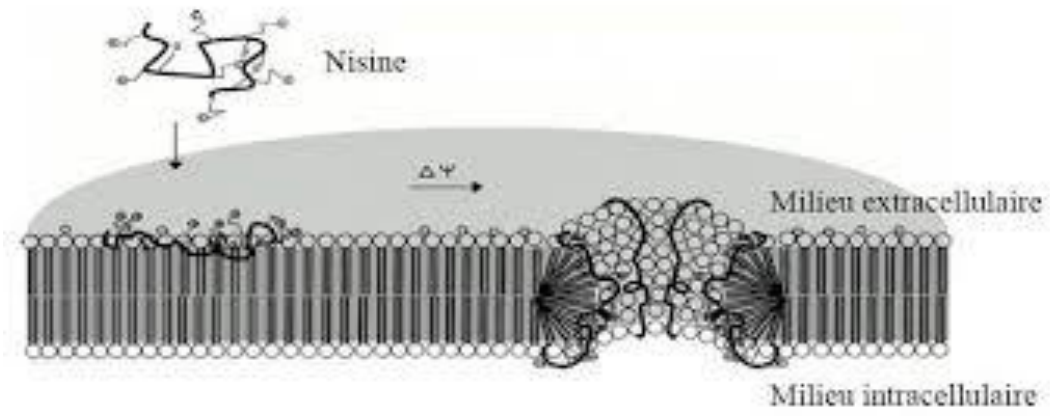


Figure09: Modèle de formation d'un pore transmembranaire par la nisine (Sahlet al.,1998).

Les forces d'attraction électrostatiques entre les charges négatives des têtes phospholipidiques de la membrane et les charges positives des résidus de lysine de l'extrémitéC-terminale de la nisine serait à l'origine des interactions entre les molécules de nisine et la membrane (Breukinket al., 1998). Le caractère amphiphile de la nisine lui permettrait ensuite de s'insérer dans le feuillet externe de la bicouche lipidique (Van den Hoovenet al., 1996).L'accumulation de plusieurs molécules de nisine au même point conduirait à la formation d'UN pore. Tout en restant attachées à la surface, les molécules de nisine se déplaceraient àtravers la membrane, en réponse au potentiel électrique, entraînant avec elles les lipides de lacouche externe du côté cytoplasmique (Mollet al., 1996).

La formation transitoire de ces pores s'accompagne d'une rupture de la force protonmotrice par dissipation du potentiel électrique transmembranaire (ΔΨ) et du gradiant de pH conduisant à l'arrêt de toutes biosynthèses (Montvilleet al., 1994).

Les pores entraînent également le passage dans le milieu extracellulaire d'ATP, d'acides aminés, de potassium et de phosphate inorganique (Abeeet al., 1994).

Le deuxième mode d'action de la nisine est l'inhibition de la biosynthèse de la paroicellulaire (Reisingeret al., 1980). Cette inhibition résulterait de la formation d'un complexe entre le précurseur lipidique membranaire du peptidoglycane, le lipide II, et les molécules denisine. Le lipide II est également la seule cible spécifique de la nisine pour la formation depores (Mc Auliffeet al., 2001).

Cette association engendrerait des pores stables et uniformes composés de 8 molécules denisine et 4 de lipides II selon un nouveau modèle proposé par Hasperet al.(2004).

L'implication du Dha situé en 5èmeposition sur la molécule de nisine a clairement été démontrée dans la capacité de la bactériocine à inhiber le développement des spores (Chanetal., 1996). La double liaison du résidu Dha interagirait avec des facteurs associés à la sporulation (Liuet al., 1993). La nisine active également des facteurs reliés à l'autolyse de cellules sensibles.

X-4:Application de la nisine :

La nisine est une bactériocine (peptide antimicrobien) produite par certaines bactéries du genre *Lactococcus lactis*. C'est un peptide de 34 acides aminés, il est actif contre certaines bactéries pathogènes des aliments, notamment les *Listeria*, les *Bacillus* et les *Clostridium* et elle est utilisée commercialement en tant qu'agent de conservation dans les conserves etcertains fromages (Harriset al., 1991).

Les conditions d'application de la nisine sont liées à son spectre d'action, ainsi que le pH doit être inférieur à 7. Les raisons qui peuvent permettre l'utilisation de la nisine comme additif alimentaire sont les suivants :

- Elle est produite par un organisme normalement utilisé dans les fermentations alimentaires.
- La nisine résiduelle dans les aliments est dirigée, elle est en effet sensible à lachymotrypsine.

Des tests effectués en Grande Bretagne et en URSS conclus à l'absence de toxicité.

XI:Possibilité d'utilisation dans les produits laitiers :

L'application de cette propriété deLactococcus lactisde produire de la nisine a été d'abord envisagée pour l'inhibition deClostridium trybutyricumdans les fromages et divers travaux anciens ont confirmé cette possibilité mais la sensibilité des souches nisinogemes aux plages de la sensibilité des ferments à la nisine rend la problématique de l'utilisation du procédé.Cependant, Liinska (1997), en utilisant des souches productrices de nisine en combinant avec des ferments résistants à la nisine a obtenu 90% de fromage de très bonne qualité, alors que parmi les témoins 59% des fromages étaient butyriques.

La nisine est également utilisée dans les fromages fondus, Somers et Taylor (1987) ont montrés que la nisine était efficace dans la prévention de la formation de toxine de C.botulium dans les fromages fondus possédant un taux d'humidité supérieur à 50%. La nisineest également utilisée pour améliorer la conservation des produits laitiers contenant du chocolat, dans les yaourts pour éviter la forte acidification et dans le « cottage cheese » pour inhiber le développement de souches de *Bacillus* et de *Listeria monocytogenes* (Bayoumi,1991).

XII: Utilisation des bactéries lactiques: L'utilisation des bactéries lactiques pour une application industrielle donnée dépend de leurs propriétés fonctionnelles et technologiques. L'utilisation des sucres et le métabolisme des sources azotées dans les produits alimentaires sont considérés comme étant des événements biochimiques très importants dans le développement des caractères organoleptiques et texturaux d'un aliment donné. De plus la production d'acides organiques dans les aliments assure une baisse du pH jusqu'à une valeur défavorable pour le développement de la majorité des bactéries pathogènes. La synthèse des composés aromatiques et des volatiles avec élaboration des polymères de sucre déterminent elles aussi certains caractères sensoriels et rhéologiques désirés des produits alimentaires.

XIII: Protéolyse chez les bactéries lactiques :

Le système protéolytique des bactéries lactiques est composé de protéases associées à la paroi cellulaire, qui catalysent l'hydrolyse initiale des protéines en peptides. Ces peptides sont ensuite dégradés par des endopeptidases ou exopeptidases en acides aminés et oligopeptides facilement transférables à travers les parois cellulaires (Savijoki et al., 2006 ; Liu et al.,2010). Dans le lait, la dénaturation des caséines laitières conduit à leur précipitation en petits flocons puis en caillé conduisant à la coagulation du lait .La progression de l'hydrolyse des protéines du caillé constitue l'ensemble des phénomènes les plus importants de l'affinage des fromages. La libération de petits peptides et acides aminés durant la maturation fromagère contribue directement au développement d'arômes ou de ses précurseurs. En effet les acides aminés libres ont des saveurs variées certains ont une saveur sucrée (glycoccolle, alanine, sérine), d'autres une saveur amère (leucine, lysine, tryptophane); la tyrosine est insipide, la cystine a une saveur de caoutchouc, tandis que les diacides (aspartique, glutamique) ont une saveur de bouillon. Ensuite la transformation de ces acides aminés en composés spécifiques sous l'action des lyases, décarboxylases, désaminases et transaminases conduit à la formation des amines, des acides et des aldéhydes qui confèrent aussi aux fromages leurs propriétés organoleptiques finales (Singh et al., 2003). La protéolyse dans les produits alimentaires est assurée surtout par les enzymes microbiennes des starters initiaux mésophiles (*Lactococcus lactis et Leuconostoc*) ou thermophiles (*Lb delbrueckii, Lb helveticus et Streptococcus thermophilus*). Cependant la grande partie de l'activité protéolytique est le résultat des enzymes tardives libérées dans les fromages par la flore additive homofermentaire stricte (*Lb farciminis*), hétérofermentaire facultative (*Lb casei, Lb paracasei ,Lb plantarum, Lb pentosus, Lb curvatus et Lb rhamnosus*) ou hétérofermentaire stricte (*Lb fermentum, Lb buchneri, Lb parabuchneri et Lb brevis*) (Settanni et Moschetti, 2010)

XIV: Rôle probiotique des bactéries lactiques: Les probiotiques sont classiquement définis comme étant toutes préparations microbiennes vivantes introduites dans les aliments pour un maintien de l'équilibre microbien intestinal (Almeida et al. ,2008 ; Settachaimongkon et al., 2014). Les prébiotiques quant à eux, sont étroitement associés aux probiotiques, ils sont généralement définis comme étant les substrats pré-fermentés par des bactéries bénéfiques, qui une fois administrés dans le corps humain, stimulent la croissance de la flore endogène (Tabasco et al., 2014)

Les probiotiques agissent généralement, après contact direct avec la cible, par inhibition des bactéries indésirables, par neutralisation des produits toxiques, par amélioration de la digestibilité alimentaire surtout du lactose, par diminution du cholestérol sérique, ou par stimulation de l'immunité humaine (Rivera-Espinoza et Gallardo-Navarro, 2010 ; Syukur et al., 2013). L'inhibition des bactéries pathogènes étant assurée par la synthèse des composés à effet antimicrobien ou par des phénomènes de compétition pour l'adhésion aux épithéliums corporels (Yateem et al., 2008 ; Lee et al., 2013).

Le rôle probiotique des bactéries lactiques a été rapporté chez plusieurs espèces **(Tableau)** qui ont montré un rôle dans la prévention des cancers (tumeurs coliques diminuées par *Lactobacillus acidophilus, Bifidobacterium longum* et vésicales diminuées par *Lactobacillus casei*), la prévention et le traitement des diarrhées infectieuses dues à Clostridium difficile (*Bifidobacterium bifidium et Streptococcus thermophilus*), le traitement des troubles digestifs liés à l'antibiothérapie (*Lactobacillus rhamnosus*) et la diminution du cholestérol sérique surtout sous l'effet des probiotiques dénommés «LactoSacc» (*Lactobacillus acidophilus, Saccharomyces cerevisiae*) (Temmerman et al., 2002 ; Syukur et al., 2013 ; Lee et al., 2013).

Un intérêt spécifique et un budget énorme sont réservés aux produits probiotiques laitiers (yaourts, laits fermentés) ou autres (Sauerkraut, Kimchi, Boza, Tempeh, Killi et Ogi) dont la consommation est en augmentation continue dans le monde (Rivera-Espinoza et GallardoNavarro, 2010 ; Gaspar et al.,2013

Tableau 14: *Espèces de bactéries lactiques ayant un rôle probiotique (Holzapfel et al., 2001 ; Rivera-Espinoza et Gallardo-Navarro,2010)*

lactobacillus	***bifidobacterium***	***Autres bactéries lactiques***
Lbacidophilus Lb fermentum , Lb casei Lb curvaticus Lbamylovorus Lb fructosus, Lb crispatus Lb salivaticus Lb gallinarum , Lbcoryniformis Lb gasseri Lb bulgaricus Lb johnsonii, Lb paracasei Lb delbrueckii subsp. Bulgaricus Lb plantarum, Lb brevis , Lb reuteri Lb rhamnosus,	B adolescentis B animalis B breve B bifidum B infantis B lactis B longum	Enterococcusfaecalis Enterococcusfaecium Leuconstocmesenteroides Lactococcus lactis Pediococcusacidilactici Sporolactobacillusinulinus Streptococcus thermophilus

XV: Métabolisme des sucres et le pouvoir acidifiant des bactéries lactiques:

La fonction acidifiante chez les bactéries lactiques se manifeste par la production d'acide lactique à partir de la fermentation des hydrates de carbone au cours de la croissance bactérienne. Le métabolisme des sucres chez les bactéries lactiques s'effectue selon les voies homolactique ou hétérolactique conduisant toutes les deux à l'abaissement du pH après production d'acides organiques. Les bactéries lactiques transportent le glucose contenu dans les aliments et les milieux de culture à l'intérieur de la cellule à travers des systèmes spécifiques comme le système phosphotransferase (PST) ou les perméases multiples (Corrieu et Luquet, 2008).

Les sucres représentent la principale source de carbone et d'énergie pour les bactéries lactiques. Cependant, en absence de sucres fermentescibles, les bactéries lactiques maintiennent leur croissance en utilisant des acides organiques comme le citrate (Dudley et Steele, 2005), les carbones dérivés de l'hydrolyse des macropeptides et des caséines laitières ou même les pentoses issus de la lyse d'autres bactéries (Settanni et Moschetti, 2010). Généralement les lactobacilles et les leuconostocs sont connus pour leur faible potentiel acidifiant et leur croissance lente dans le lait (Lucas et al., 2004). Ce problème a été souvent résolu en cultivant ces microorganismes en association avec des bactéries rapidement acidifiantes comme *Lactococcus lactis et Lb delbrueckii ssp bulgaricus* qui durant leur croissance fournissent des éléments qui stimulent les autres bactéries (Oliveira et al., 2001).

XVI :Pouvoir épaississant des bactéries lactiques:

Le pouvoir épaississant ou texturant des bactéries lactiques est lié à leur capacité de produire des polysaccharides. Ces polymères de sucre permettent d'augmenter la viscosité et l'onctuosité du produit fermenté et ont la capacité d'empêcher la précipitation au fond des fruits additionnés aux yaourts, rendant ainsi la présentation des laits fermentés agréable (Vijayendra et Sharath Babu, 2008).

Les sucres synthétisés par les bactéries lactiques s'associent avec les glycoprotéines pour former autours de la cellule une fine couche connue souvent sous le nom de « glycocalyx» (Ruas-Madiedo et De los Reyes-Gavilan, 2005).

Le rôle physiologique exact des exopolysaccharides (EPS) pour les microorganismes producteurs reste mal connu, mais plusieurs hypothèses suggèrent la réutilisation de ces polymères par le microorganisme producteur après épuisement de la source de carbone. Une résistance aux phages et aux conditions de dessiccation ou des propriétés adhésives sont aussi probablement associées aux EPS bactériens (Palomba et al., 2012). Les bactéries lactiques forment ces polymères de sucre par succession de résidus monosaccharidiques reliés entre eux par des liens osidiques. Selon le site de synthèse et la nature des précurseurs introduits dans les EPS, les bactéries lactiques produisent soit des homopolysaccharides libérés hors la cellule ou des hétéropolysaccharides qui restent liés à la membrane cellulaire. Les bactéries Ln mesenteroides, S mutans et S salivarius produisent respectivement les homopolysaccharides suivants : dextranes, mutanes et levanes. Les bactéries lactiques mésophiles comme Lc lactis, Lc cremoris et Lb. casei ou les bactéries thermophiles comme Lb bulgaricus et S thermophilus sont connues pour leur synthèse d'hétéropolysaccharides (Nguyen et Nguyen, 2013)

XVII : Propriétés aromatiques des bactéries lactiques:

Le diacétyle (2,3-butanedione) est le principal composé qui participe à l'arôme de très nombreux produits laitiers. La présence de ce composé carbonylé dans le beurre, les laits et les crèmes fermentés, dans certains fromages et, pour le diacétyle, dans les margarines est désirable et même indispensable à la flaveur caractéristique de ces produits. Ce composé volatile à l'arôme de beurre est issu du métabolisme du citrate par différentes espèces de bactéries lactiques.

Le métabolisme du citrate par les bactéries lactiques débute par son transport à l'intérieur de la cellule à travers la citrate perméase. A l'intérieur de la cellule le citrate est transformé en oxaloacétate et en acétate par la citrate lyase. L'oxaloacétate est par la suite converti en CO2 et pyruvate par l'enzyme oxaloacétate déhydrogénase (OADH). La formation de l'α-acétolactate est effectuée en 2 réactions distinctes catalysées par l'enzyme l'α-acétolactate synthase (ALS). Avec la thiamine pyrophosphate (TPP) agissant à titre de coenzyme, une molécule de pyruvate est d'abord décarboxylée, résultant en la formation d'hydroxyéthyl-TPP ou acétaldéhyde actif. Cet intermédiaire réagit ensuite avec une seconde molécule de pyruvate, assurant la formation d'α-acétolactate. Celui-ci est immédiatement décarboxylé en acétoïne par l'α-acétolactate décarboxylase (ALD) ou de façon oxydative en diacétyle. L'acétoïne et le diacétyle produits peuvent par la suite être respectivement réduits en 2,3-butanediol ou acétoïne par les réductases. L'acétate, le formate, l'éthanol et le lactate sont

également formés en quantités variées à partir du pyruvate via les enzymes pyruvate formate lyase (PFL), pyruvate déshydrogénase (PDH) et lactate déshydrogénase (LDH) (Papagianni, 2012). L'intérêt pour ces composés a suscité la recherche de bactéries fortement productrices. L'obtention de ces bactéries est possible en suivant des stratégies visant une production accrue de diacétyle par les bactéries lactiques. L'une de ces stratégies est la redirection des voies du catabolisme du pyruvate avec accumulation d'une plus grande quantité d'αacétolactate pour la production de diacétyle (Bourel et al., 2001).

XVIII: Bioconservation par les bactéries lactiques:

Le développement de la flore indésirable dans les produits alimentaires peut être limité par l'utilisation des additifs vivants ayant la capacité d'inhiber la croissance de ces germes. La technologie de biopréservation fait appel, dans la plupart des cas, aux bactéries du groupe lactique, bien connues pour leurs pouvoirs bactéricides et bactériostatiques. En effet ces bactéries produisent souvent des composés inhibiteurs comme des acides organiques, du peroxyde d'hydrogène, du gaz carbonique et du diacétyle pendant leur croissance (Tuma, et al., 2008).

La production d'acides organiques par les bactéries lactiques, conduit à l'abaissement du pH extérieur et cytoplasmique. Cette acidification inhibe l'activité de la majorité des enzymes cytoplasmiques. De plus, les acides organiques comme l'acide lactique se dissocient faiblement. Une fois accumulés dans le milieu de culture, ces acides s'associent aux phospholipides de la membrane entrainant ainsi un dysfonctionnement des systèmes de transports membranaires (Ammor et al., 2006).

L'effet antimicrobien du peroxyde d'hydrogène est lié à l'oxydation des groupements sulfhydriles des enzymes cellulaires. Cette oxydation conduit à la dénaturation puis à la perte de l'activité enzymatique. Le peroxyde d'hydrogène est aussi le précurseur principal des groupements superoxydes (O-2) et des groupements hydroxyles (OH) qui provoquent des dommages irréversibles dans l'ADN bactérien (Ammor et al., 2006).

Le diacétyle est un composé issu du métabolisme du citrate par les bactéries lactiques. Ce composé affecte la croissance des bactéries à Gram négatif en agissant sur l'utilisation de l'arginine par ces bactéries (Jay, 1982).

Le dioxyde de carbone (CO2) est l'un des produits résultants du métabolisme hétérofermentaire des bactéries lactiques. L'accumulation du CO2 dans le milieu provoque

le dysfonctionnement des lipides membranaires et conduit à la décarboxylation des enzymes cellulaires des bactéries cibles (Ammor et al., 2006).

Outre les mécanismes suscités, les propriétés antimicrobiennes des bactéries lactiques sont aussi associées à leur capacité de synthétiser des bactériocines. Ces peptides de faible poids moléculaire interagissent avec la membrane plasmique de la bactérie cible par des interactions électrostatiques. Ces liaisons conduisent à la formation de pores dans la membrane de la bactérie cible. Différentes bactériocines produites par les bactéries lactiques sont actuellement utilisées dans le domaine de bioconservation alimentaire .Parmi ces bactériocines ont peut citer la plantaricine J produite par Lb plantarum, la Lactococcine G, la lactacine Q et la Lactacine Z produites par Lb. lactis QU 5 et Lb. lactis QU14, l'Entérocine L50 produite par *E faecium* L50, la Lactococcine A, la Lactococcine B et la Lactococcine M produites par *Lc lactis lactis ssp cremoris* 9B4, la Thermophiline A et la Bovicine 255 produites respectivement par *Streptococcus thermophilus* ST134 et *Streptococcus gallolyticus* LRC0255, la Durancine TW-49M produite par *Enterococcus durans* QU, la Carnobactériocine A et la Piscicoline 61 synthétisées respectivement par *Carnobacterium piscicola* (Cb piscicola) LV17A et *Carnobacterium piscicola* (Makhloufi, 2011).

XIV: Les fermentations

XIV-11: Historique et définition :

La fermentation est un processus connu depuis des milliers de siècle. Les premières fermentation des sont apparues au moyen orient avec la domestication des animaux ou la fermentation des produits alimentaires était réalisée dans une vaisselle en bronze ou des jarres avec la flore naturelle du lait. Ces fermentation traditionnelles sont devenues populaires dans les communautés indigènes qui les transmettaient d'une génération a une autre. Une petite quantité d'un ancien produit fermenté utilisée comme levain pour la fermentation du nouveau produit. Actuellement les fermentations sont réalisées a grand échelle en utilisant des ferments biens sélectionnes et un équipement industriel très développé (marshall et mejia, 2012; lopez-chaveset al.2014)

La fermentation est définie comme étant la réaction biochimique conduisant à la libération de l'énergie a partir d'un substrat sous l'action d'enzymes microbiennes. Ces réactions ne font pas intervenir d'oxygéne (O_2), elles se déroulent en présence de microquantités ou en absence totale d'oxygène (anaérobie). Ces réactions sont à l'origine d'un faible rendement

énergétique et une diversité des produits synthétisés (steinkraus, 2002). Un levain est introduit dans l'aliment avec un nombre élevé de cellules vivantes (par exemple au moins 10^7 bactéries /g de lait sont exigées dans le yaourt en France) (maison scientifique de syndifrais ,1997).ces microorganismes accélérant la fermentation du produit en question avec développement des modifications désirables de texture , de flaveur et d'arôme .

Initialement les ferments sont sélectionnés sur la base de leurs capacités acidifiantes. Mais meilleure compréhension du métabolisme et de l'équipement génétique conduit souvent a un bon control de ces microorganismes bon contrôle de ces microorganismes pendent les fermentations (Bourdichon et al.,2012).

En Afrique et notamment en Algérie les fermentations spontanées a des températures ambiantes sont souvent utilisées a la maison pour la préparation d'un grand nombre de produits alimentaires dont la qualité hygiénique est souvent négligée (yao et al .,2009; Tamang et al.,2016).

XV: Domaine de santé :

Dans le domaine de la santé, certaines bactéries lactiques spécifiques sont utilisés comme probiotiques c'est-à dire des micro-organismes vivant (dont l'application à l'homme ou à l'animal exerce un effet bénéfique sur ce dernier par amélioration des propriétés de la flore intestinale). Les espèces couramment utilisée sont *Lb. acidophilus, Lb.johnsonii, Lb. reuteri, Lb. delbruecki, Subsp bulgaricus* (Salminen et al., 2004). Les souches lactiques sont également utilisé dans le traitement de certaines affections telles que la diarrhée, les allergies alimentaires. D'autre effet, comme la prévention des gastro-entérites nosocomiales chez le nourrisson, des propriétés anti-cancérigènes, anti-hypercholestérolémiques, lutte contre Clostridium difficile et *Helicobacter pylori*, prévention des maladies inflammatoires chroniques de l'intestin.

Matériel et méthodes

- ***Technique de fabrication de " jben" :***

Les échantillons de « jben » ramené de Ain el hadjare sont fabriqué avec du lait cru de vache ; brebi et chévre de la façon suivante

Le Lait est chauffé pendant 4 minutes jusqu'à devenir tiède (45°C), Puis le fabriquant introduit dans le lait un petit morceau de présure "Hakka" protégé dans un tissus poreux, il l'introduit puis le retire sans cesse pendant un bon bout de temps (5 à 10mn) , puis il laisse le lait se reposer. Après 10 à 15 mn, le lait devient caillé. Il est mis ensuite dans un tissu poreux pour l'égouttage.

- ***Technique de fabrication de " jben" :***

le *klila* est le produit obtenu après caillage du lait ; le caillé est ensuite pressé légèrement. Ce fromage était consommé frais ou sec et faisait l'objet de commerce au Sahara.. Le *klila* est un fromage durci obtenu en déshydratant complètement le caillé obtenu après chauffage modéré du lait acidulé. Le lait caillé est baratté pour obtenir une boisson acide : le *Lben*, qui subit un traitement thermique modéré pour obtenir le *klila* frais

- ***Durée et lieu de l'étude :***

Notre étude a été menée et suivie, de mars 2020 .

5 échantillons ont été prélevés à partir de wilaya de Saida dans la région de (Ain el hadjar, Ouled machou), les analyses ont été réalisées au niveau de laboratoire de microbiologie d'université Dr. Tahar Moulay Département de Biologie SAIDA.

- **Nature des échantillons :**

5 échantillons sont : Klila de chèvre ; Jben de chèvre ; Klila de brebis ;Jben de brebis ;Klila de vache.

Figure 10: *Jben de brebis*

Figure 11 :*Klila de brebis*

Figure 12 *Klila de vache*

Figure 13: *Klila de chèvre*

Figure 14 : *Jben de chèvre*

- ***Transport et conservation des échantillons :***

Les différents échantillons ont été récupérés dans des sachets de prélèvement stériles, environ 200 g par sachet. Le tout a été acheminé au laboratoire, sous froid (température de réfrigération) dans une glacière, dans un délai ne dépassant pas 2 heures après les prélèvements (en fonction de la distance). Les prélèvements ont été traités soit le jour même, où bien gardés au réfrigérateur jusqu'à très tôt le lendemain pour être analysés **(ISO 7218,2003)**.

I: La recherche des bactéries :

I.1:Le pré-enrichissement:

Deux grammes de l'échantillon de produits laitiers a été homogénéisés vigoureusement avec 20 ml d'eau physiologique. Dans un flacon stérile, nous mettons 27ml du milieu MRS avec 3ml du mélange puis l'incuber à 30°C pendant 24 à 48 heures.

I.2:L'enrichissement:

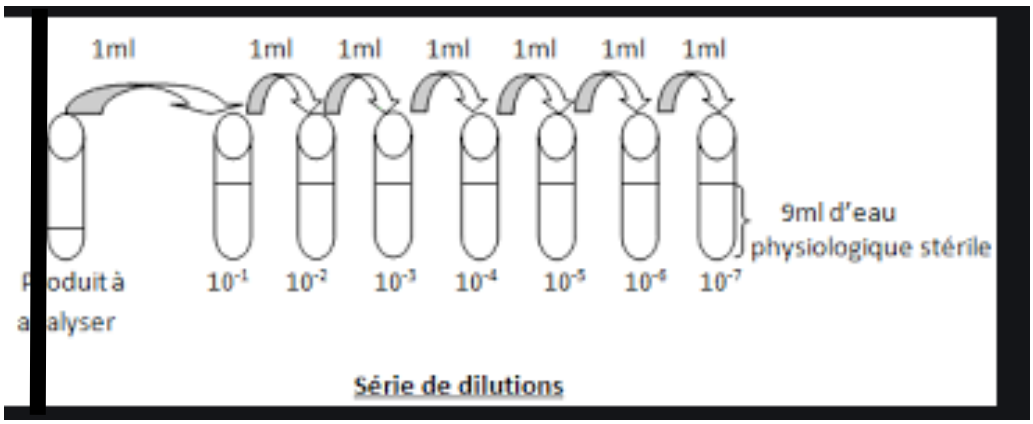
Il est obtenu :

– Un ml de cette suspension-mère (10-1) qu'on ajoute à 9 ml d'EPT contenus dans un tube, on réalise la dilution 10^{-2}.

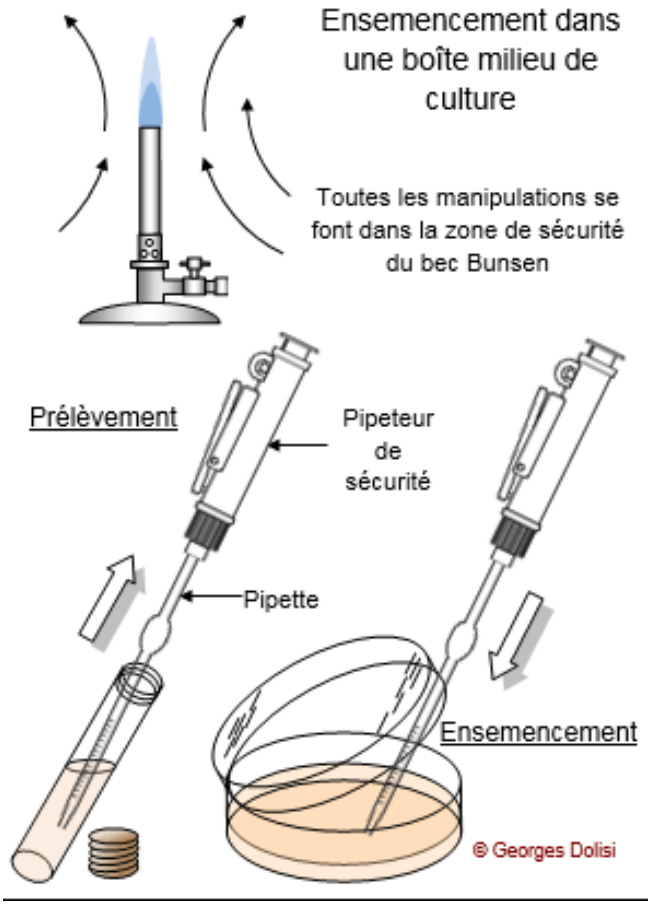
– Un ml de ce tube (10^{-2}) qu'on ajoute à 9 ml d'EPT contenus dans un autre tube,on réalise la dilution 10^{-3}.

– Ainsi de suite, on réalise les dilutions 10^{-4}, 10^{-5}, 10^{-6}, 10^{-7}, etc.

Pour les besoins du comptage en milieu solide deux dilutions seront choisies 10^{-6}, 10^{-7} et pour chaque dilution un volume de 0.1 ml a été étalé en surface sur les milieux d'isolement (Kacem et Karam, 2006; Cheriguene et al., 2007).



L'isolement des bactéries lactiques a été réalisé sur le milieu MRS et le milieu M17 ce milieu convient pour l'isolement des coques lactiques et le milieu Rogosa. Le milieu MRS à pH=6,2 a été utilisé pour la croissance de la microflore lactique totale, les lactobacilles sont énumérés sur milieu MRS acidifié à pH=5,6.(De Man et al., 1960).



II.1: L'isolement et purification : Les cultures ont été incubées pendant 24 heures à 30°C dans des boîtes de Pétri. Après isolement des colonies d'aspects morphologiques différents (taille, couleur, surface, profondeur...), 60 souches ont été repiquées sur milieu MRS bouillon, incubées à 30°C ou 45°C pendant 48h afin de s'assurer de la pureté des cultures (Kacem et Karam, 2006, Cheriguene etal.,2007).

-Isolement par la méthode des cadrans :

Cette méthode consiste à diviser une boîte de Pétri en deux (50 % et 50 %), Sur le plus grand cadran une petite quantité d'inoculum est posée puis étalée. Ensuite on retourne la boîte afin d'étaler les bactéries sur un cadran plus petit, puis on retourne afin d'ensemencer le dernier petit cadran. Les stries doivent être serrées et la pipette ou l'anse de platine doit être flambée entre chaque cadran pour de meilleurs résultats. Il est aussi recommandé de ne pas passer deux fois au même endroit et de ne pas trop revenir "en arrière" lorsque l'on fait pivoter la boîte, sinon l'anse risque de se surcharger et l'isolement sera moins réussi. Les colonies qui sont bien différencié, sont repiquées sur milieu MRS bouillon pour mesurer les cultures jeunes pures.

II.2:Conservation des isolats:

II.2.1:La conservation à court terme :

La conservation des isolats purifiés a été réalisée par ensemencement sur gélose inclinée. Après incubation à 30°C pendant 18 heures, les tubes sont conservés à + 4°C, Le renouvellement des cultures se fait tous les trois semaines (Saidi et al., 2002).

II.2.2:La conservation à long terme :

A partir des jeunes cultures (18-48 h) sur milieu liquide, les cellules ont été récupérées par centrifugation à 4000 t/min pendant 10 min. Une fois le surnageant éliminé, on ajoute le milieu de culture de conservation sur le culot. Le milieu de conservation contient du lait, 0,2% d'extrait de levure et 30% de glycérol. Les cultures sont conservées en suspension dense et en tubes Eppendorfs à-20°C. Indiquent que des suspensions très concentrées résistent mieux à la congélation. En cas de besoin, les cultures sont repiquées dans le lait à 0,5% d'extrait de levure, avant utilisation (Saidiet al., 2002).

III: Tests d'orientation pour l'identification des bactéries lactiques :

Sur chacune des boîtes servant aux dénombrements, nous classons les colonies en catégories selon leur aspect macroscopique. Le pourcentage de chaque type de colonie est noté pour chaque dénombrement. Dans chaque catégorie, nous choisissons aléatoirement une colonie supposée représentative parmi celles, observées pour réaliser les premiers tests d'orientation.

Chaque colonie suspectée est une bactérie lactique et purifiée deux fois par isolement sur le milieu MRS gélosé (incubation en aérobiose 48 h à 30°C). Des cultures pures issues de ces isolements sont réalisées pour stocker les souches à -20°C, dans un milieu MRS contenant du glycérol pour des analyses ultérieures. Pour une identification préliminaire des bactéries lactiques, nous nous sommes basés sur des études :

-Microscopiques (les formes caractéristiques des cellules microbiennes, leur arrangement, la présence ou non de spore et leur coloration de Gram).

-De la mobilité, du test de catalase et du type fermentaire.

III.1: Étude macroscopique:

Une observation macroscopique permet de décrire l'aspect des colonies, obtenues sur milieu solide (taille, pigmentation, contour, aspect, viscosité).

III.2: Étude microscopique:

L'observation microscopique au grossissement (G x100) permet de classer les bactéries selon leur Gram, leur morphologie cellulaire, leur mode d'association (Joffin et Leyral, 1996).

IV : Test d'antagonisme

a. La méthode directe :

Selon Fleming et al.(1975),consiste a cultiver les deux souches dans le même milieu en doubles couches sur MRS solide tamponné et a partir des cultures jeunes des souches de bactéries lactiques (un spot de souche a caractériser en phase exponentielle de croissance),qu'on incubé a 30°C pendant 24h, puis on a versé 0.1 ml de cultures jeunes de bactéries pathogènes ajusté à 2Mc Farland (*B1:klebsiella oxytoca ATCC13182;D5:Enterococcus gilvus LMG 13600;D6: Listeria ivanovii ATCC19119 et I1: Staphylococcus simulans CECT 4538)* dans GN semi-solide qu'on a versé par dessus la première la première couche gélosé conformément à la méthode de la double couche . Apres solidification du milieu, les boites de pétri sont mise à 38°C pendant 24h. La lecture des résultats consiste a déterminé la présence d'un halo clair autour des souches ensemencées en touche et de mesurer leurs dimensions.

Résultats et interprétation

1. Isolement, purification et identification des bactéries lactiques

1.1.Isolement des bactéries lactiques

A partir de cinq échantillons de produits laitiers traditionnels provenant de la région de Ain Hadjar de Saida prélevés dans des conditions d'aseptie et transportés dans une glacière directement au laboratoire, Soixante souches ont été isolées sur trois milieux MRS, M17 et Rogosa (figure 10). Après ensemencement, les colonies des bactéries lactiques apparaissent au bout de deux jours d'incubation à 30C°, les résultats des colonies ont été collectés dans le tableau suivant :

Tableau 15 : présente le nombre et numération des colonies observée sur chaque milieu gélosée M17, MRS et Rogosa.

Numéro d'échantillon	**Type traditionnel**	**Numéro des souches sur milieu ; MRS**	**Numéro des souches sur milieu M17**	**Numéro des souches sur milieu Rogosa**	**Région**
Ech 01	Klila de chèvre	5, 6 , 8 , 38 , 45 , 51 , 52 ;	7,48 ;	1 , 2 , 3 , 4 , 55 , 58 , 59 ;	Wilaya de Saida (Ain el Hadjar)
Ech 02	Jben de chèvre	12, 15, 49, 56, 57;	9, 13 ;	10, 11, 14, 39, 40 ;	Wilaya de Saida (Ain el Hadjar)
Ech 03	Klila de brebis	16, 19, 20 , 24, 31, 46 ;	17, 22, 23, 36 ;	18, 21, 30, 32, 37 ;	Wilaya de Saida (Ain el Hadjar)
Ech 04	Jben de brebis	35, 41, 42, 43 ;		33, 34 ;	Wilaya de Saida (Ain el Hadjar)
Ech 05	Klila de vache	25, 44, 50, 54 ;	26 ;	27, 28, 29, 53, 60;	Wilaya de Saida (Ain el Hadjar)

Selon les résultats présentés dans le tableau 05. Il apparait que le nombre des colonies isolées sur les milieux MRS et Rogosa des échantillons E1, E4 et E5 sont nettement supérieure à celui obtenu à partir des autres échantillons. Ceci peut être expliqué par la différence d'espèce animale, type de produits laitier et la région.

Pour cela, les différents milieux de culture utilisés sont : Le milieu MRS utilisé pour favoriser la culture des bactéries lactiques du genre *Lactobacillus spp (De Man et al. 1960),*milieu M17 (bouillon) : utilisé pour favoriser la culture des bactéries lactiques du genre *Lactococcusspp* **(Terzagui et Sandine, 1975),**et le milieu Rogosa. Ces milieux le plus sensible aux bactéries lactiques contenant : peptone, glucose, les sels de manganèse et de magnésium apportent les éléments nutritifs indispensables à la croissance des *Lactobacilles.*

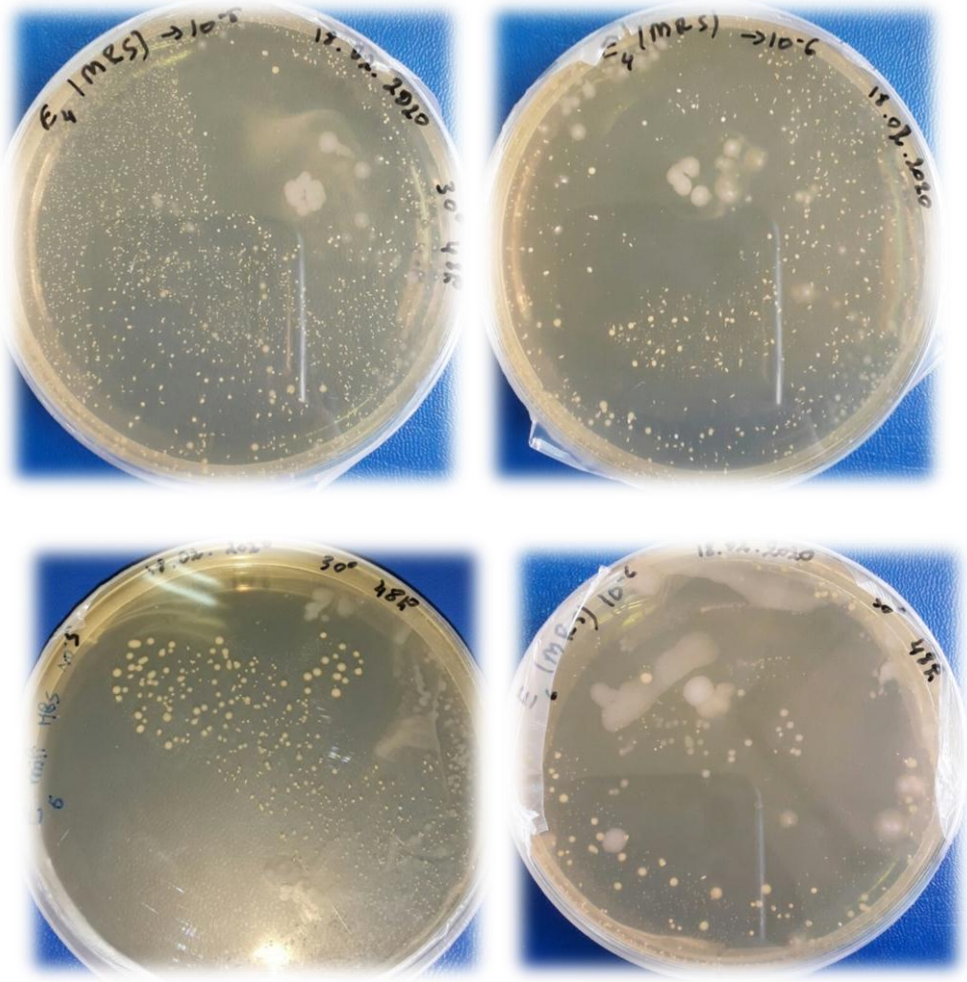


Figure 15 : L'aspect et la couleur des colonies isolée sur les milieux MRS, M17 et Rogosa.

1.2.Purification des bactéries isolée

Les isolats ont montrés généralement les caractéristiques présomptives des bactéries lactiques qui ont été purifiés par la méthode de stries sur milieu solide MRS .La majorité des souches donnent des colonies à forme circulaire et pourtour régulier, avec un aspect Régulier et viscosité crémeuse certains des colonies sont circulaires et bombée, de différentes couleur crème et blanc certains sont crème foncé centre (les colonies : 01 ; 42 ; 44 et 51). Le tableau suivant présente les caractères morphologiques des colonies obtenues sur milieu MRS.

Tableau 16: Résultats des caractères morphologiques des colonies obtenus sur le milieu MRS.

Code	Forme	Couleur
LA1	Circulaire	Crème (foncé à centre)
LA2	Circulaire et bombée	Crème
LA3	Circulaire et bombée	Crème
LA4	Circulaire et bombée	Crème
LA5	Circulaire et bombée	Crème
LA6	Circulaire	Crème
LB7	Circulaire	Crème
LB9	Circulaire et bombée	Crème
LB10	Circulaire et bombée	Crème
LB11	Circulaire	Crème
LB12	Circulaire et bombée	Crème
LB13	Circulaire et bombée	Crème
LB14	Circulaire	Crème
LB15	Circulaire	Blanche

LB16	Circulaire et bombée	Crème
LB17	Circulaire	Blanche
LB18	Circulaire	Blanche
LB19	Circulaire	Crème
LB20	Circulaire	Crème
LC21	Circulaire	Crème
LC22	Circulaire	Blanche
LC23	Circulaire	Crème
LC24	Circulaire	Crème
LC25	Circulaire et bombée	Crème
LF32	Circulaire	Crème
LD33	Circulaire	Crème
LD34	Circulaire	Crème
LD35	Circulaire et bombée	Crème
LD36	Circulaire	Crème
LD39	Circulaire	Crème (foncé à centre)
LD40	Circulaire	Crème (foncé à centre)
JE41	Circulaire	Crème
JE42	Circulaire	Crème
JE43	Circulaire	Crème
JE45	Circulaire	Crème
JE46	Circulaire	Crème

JE47	Circulaire	Crème (foncé à centre)
JE49	Circulaire	Crème
JE51	Circulaire	Crème
JE53	Circulaire	Crème
JE54	Circulaire	Crème
JE56	Circulaire	Crème
JE57	Circulaire	Crème
JE58	Circulaire	Crème
JE59	Circulaire	Crème

1.3.Identification des bactéries lactiques

1.3.1. Pré-identification par étude morphologique (examen macroscopiques, microscopique et test de catalase des souches

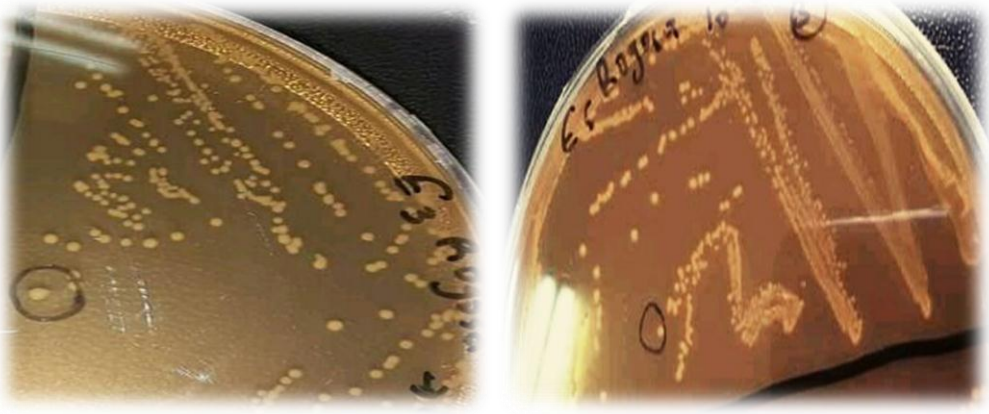
- ***Examen macroscopiques***

La caractérisation macroscopiques, permet de décrire l'aspect des colonies obtenues sur milieux solides, après 48h d'incubation à 30C°, on a déterminé les critères morphologiques des bactéries lactiques (forme, couleur, aspect et viscosité).

La purification des souches lactiques isolées qui a été réalisé par plusieurs repiquages successifs par des stries sur milieu MRS, les colonies ont un aspect typique, petites, blanchâtres certain sont crème, bombées, a contour régulier. Le figure11 montre quelques exemples des résultats pour les aspects macroscopiques des souches.

LA3

LB7



LC21 JE53

Figure 16: Aspect macroscopique de quelques souches des bactéries lactiques (LA3, LB7, LC21et JE53) purifiées sur gélose MRS(10x100).

- ***Etude microscopiques (coloration de Gram) et teste de catalase***

La coloration de Gram et le test catalase qui s'avère être des examens clés de pré-identification ont permis de confirmer la pureté des souches lactiques isolées (figure12).

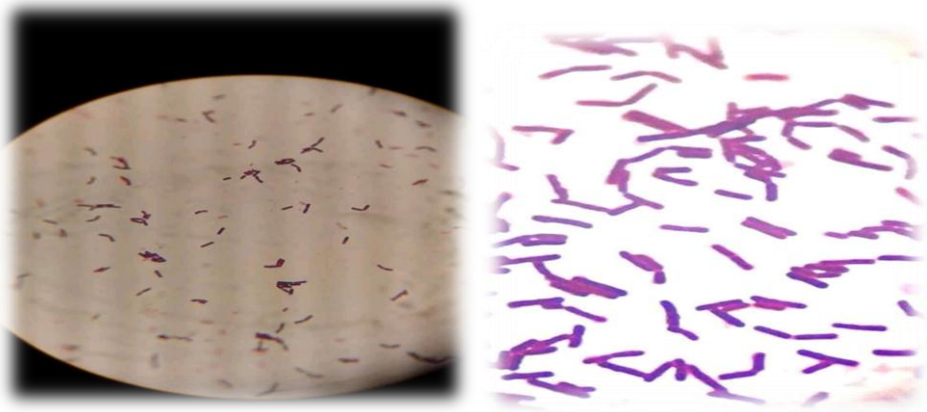


Figure 17: Observation microscopique des isolats après coloration de Gram (10x100).

L'observation microscopique a révélé la forme des cellules. Ces caractérisations permettent leur classification au groupe des bactéries lacctiques.

2.Test d'antagonisme

Le spectre d'activité antibactérien des souches lactiques retenues a été recherché par deux méthodes directe et indirecte vis-à-vis quatre souches des bactéries cibles. *B1:klebsiella oxytoca ATCC13182;D5:Enterococcus gilvus LMG 13600;D6: Listeria ivanovii ATCC19119 et I1: Staphylococcus simulans CECT 4538*

Les microorganismes pathogènes testés dans notre étude sont impliqués dans les toxi-infections alimentaires et appartiennent aux espèces suivantes : *Staphylococcus aureus, Bacillus cereus, Enterococcusfaecalis, Listeria monocytogenes.Pseudomonas aeruginosa,* et *Escherichia coli.*

- ***Méthode directe***

Après incubation à 37°C à 24h, l'activité antibactérienne a été déterminée par mesure des diamètres des zones d'inhibition.

D'après les résultats des tests d'antagonisme, on a observé des halos clairs qui apparaissent autour de pré-culture des souches lactiques. (Tableau 07).

Tableau 17: Résultats de l'activité antimicrobienne des souches lactiques contre les bactéries cibles déterminé par méthode directe (*Spot Agar Test*).

	Souches indicatrices (mm)			
Code	**B_1**	**D_6**	**I_1**	**D_5**
LA1	11	13	15	28
LA2	08	04	22	26
LA3	00	00	00	00
LA4	05	06	19	22
LA5	15	08	14	19
LA6	05	06	19	22
LB7	15	08	14	19
LB9	17	09	15	20
LB10	07	10	15	22
LB11	03	05	15	22
LB12	11	15	17	22
LB13	09	11	13	22
LB14	05	06	19	00

LB15	05	06	11	11
LB16	15	07	08	07
LB17	13	03	04	18
LB18	03	00	15	22
LB19	08	09	15	19
LB20	03	10	00	13
LC21	11	13	10	06
LC22	04	06	13	10
LC23	14	06	15	18
LC24	19	05	00	07
LC25	18	15	13	15
LF32	15	10	05	13
LD33	16	10	03	17
LD34	18	18	06	15
LD35	16	12	10	17
LD36	18	11	13	14
LD39	00	00	00	04
LD40	15	00	12	14
JE41	10	00	06	15
JE42	10	00	25	29
JE43	12	00	00	24
JE44	08	00	00	20
JE45	10	00	00	17
JE46	12	00	00	17
JE47	05	00	15	23
JE48	03	00	20	26
JE49	10	06	00	22

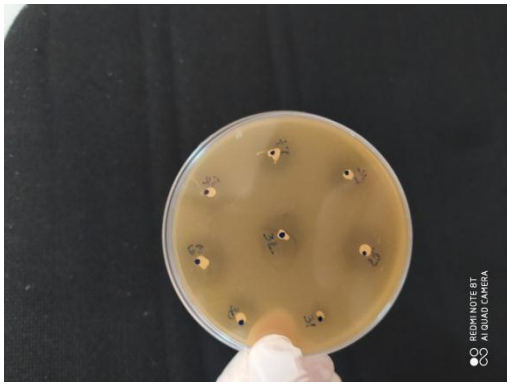
JE51	14	07	14	22
JE53	09	06	00	13
JE54	08	10	00	15
JF56	15	08	00	20
JF57	08	09	00	21
JF58	20	10	08	17
JF59	10	07	08	22
JF60	17	18	21	25

B1: *Klebsiella oxytoca* ; D5: *Enterococcus gilvus* ; D6: *Listeria ivanovii* ; I1 : *Staphylococcus simulans*.

Les résultats montrent que les souches (LB9, JF58, JF60) présentent une activité antibactérienne vis-à-vis *Klebsiella oxytoca* (B_1) et *Enterococcus gilvus*(D_5). Cependant, les souches (LA3, LD39, LB17, JE43, JE44, JE45, JE46) ne présentent aucune activité contre les bactéries *Listeria ivanovi* (D_6) et *Staphylococcus simulans* (I_1).

Le tableau 07 montre que les souches (LB12, LC25, JF60) présentent une activité contre de toutes les bactéries testés, tandis que la souche LA3 ne révèle aucune activité anti bactérienne détectée contre les souches testé. Par contre, les résultats obtenus des souches (LB12, LC25, LD34 et JF60) montrent une activité antibactérienne contre les souches (D_6, D_5).

Les souches (LB20, LA4, JF59, JE44 et JF57) ont montré une faible activité contre les souches (B_1, D_6 et I_1), alors que les souches (LA1 et LA2) et la souche (LF32) présentent les plus fortes activités antibactériennes avec des zones d'inhibitions de (28, 29 et 28 mm). La figure 13 représente un exemple des zones d'inhibitions donné par méthode indirecte contre les souches *Klebsiellaoxytoca* et *Enterococcusgilvus*.



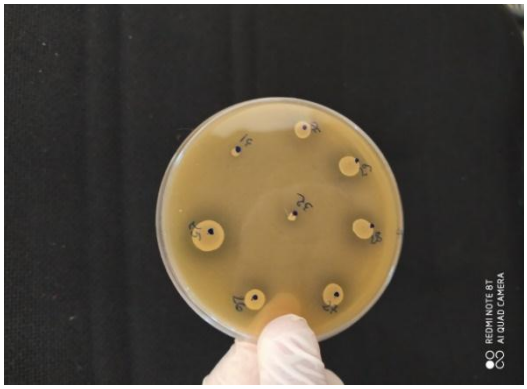


Figure 18 : Photos présentes l'activité antibactérienne des souches lactiques contre deux souches cibles *Klebsiella oxytoca (à droite)* et *Enterococcus gilvus (à gauche)*.

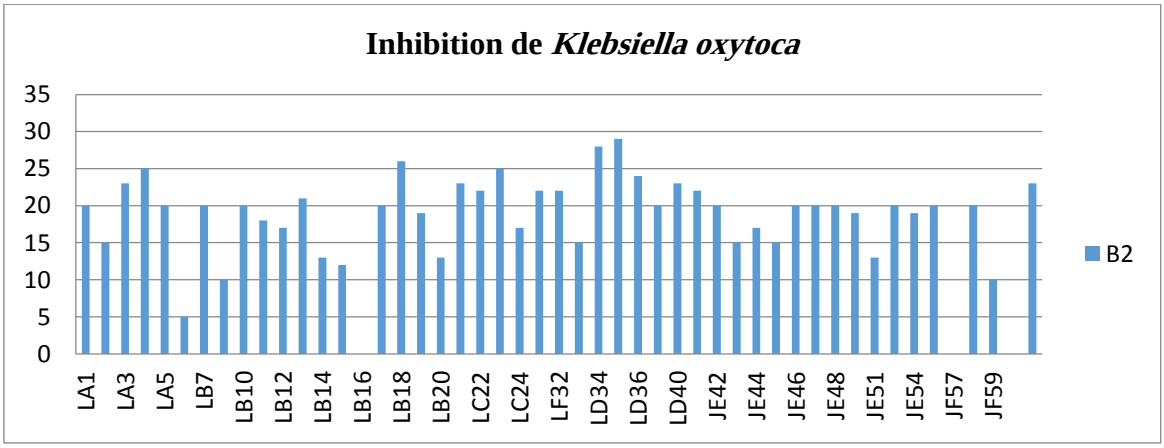


Figure 19: Inhibition de *Klebsiella oxytoca* par nos 60 isolats des bactéries lactiques.

Klebsiella oxytoca a été inhibée par la plus part des souches parmi les 60 testées. La plus grande zone d'inhibition a été observée avec la souche **JF58,** avec un diamètre de 20 mm, la valeur la plus faible a été obtenue par la souche L**B18 , JE48** (3mm), alors que les souches **LA3** et **LD39**ont ne montrent aucune activité antibactérienne(Figure 16).

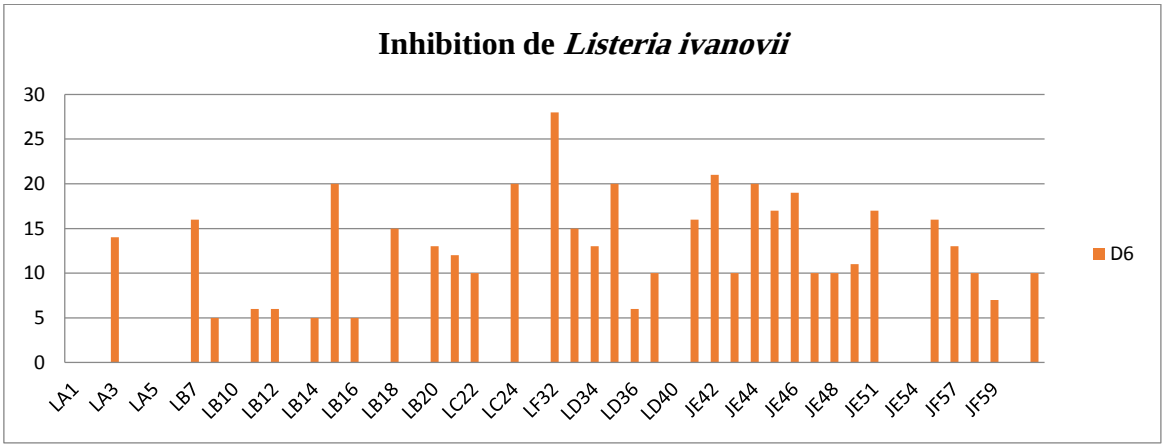


Figure 20: Inhibition de *Listeria ivanovii* par nos 60 isolats des bactéries lactiques.

Listeria ivanovii a été inhibée par 32 souches parmi les 60 testées. La plus grande zone d'inhibition a été observée avec la souche LF32 avec un diamètre de 28 mm. Parmi ces 32 souches, les valeurs les plus faibles ont été obtenues par les souches LB9, LB14 et LB16 (5mm), les autres souches donnés des zones d'inhibition allant de 06 à 21 mm **(**Figure 17).

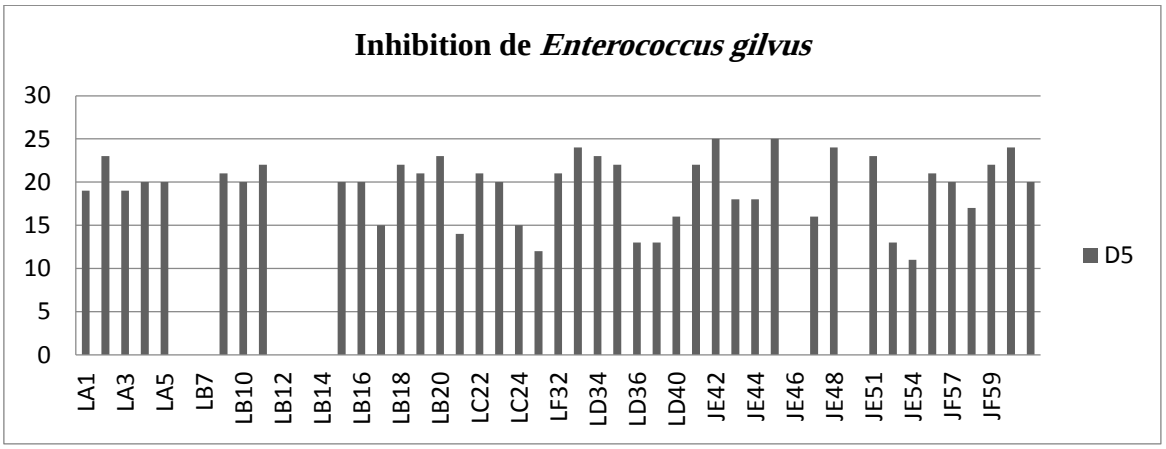


Figure 21: Inhibition d'*Enterococcus gilvus* par nos 60 isolats des bactéries lactiques.

Enterococcus gilvus a été inhibée par la majorité des souches parmi les 60 testées, alors que les autres ont ne montrent aucune activité antibactérienne.21 souches données des zones d'inhibition supérieurs à 20 mm. Les plus grand souches a été observée avec les souches LA2,LA1,JE48 et JE60, avec un diamètre supérieur 25mm(Figure 18).

Staphylococcus simulans été inhibé seulement par 03 souches. La plus grande zone d'inhibition a été observée avec la souche LA2,JE42 et JF60, avec un diamètre de 25 mm, les autres souches données des zones d'inhibition très faible ou aucune activité antimicrobienne .

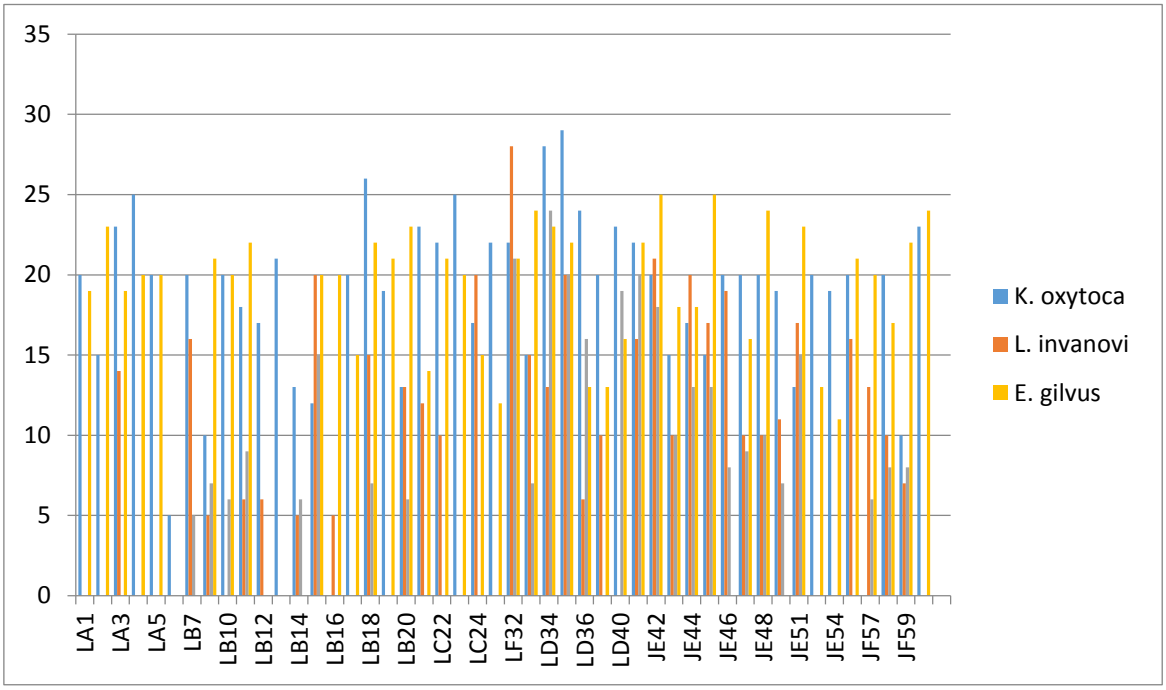


Figure 22: Activité antimicrobiennes des 60 souches des bactéries lactiques contre les microorganismes cibles déterminer par la méthode directe.

Les potentialités inhibitrices naturelles par des tests d'interaction entre les bactéries testées et les isolats lactiques à révéler des zones d'inhibition remarquables varie selon l'espèce.

Leur spectre d'activité peut être plus ou moins large, induit par la synthèse des molécules à actions bactéricides et ou bactériostatiques comme les acides organique, le peroxyde d'hydrogène, le dioxyde de carbone, le diacétyle, la reutérine et les bactériocines.

Les souches LC25, LB12 et (JF60) ont un effet inhibiteur plus large sur la majorité des bactéries testées et montrent des potentialités très intéressantes pour une application dans la lutte contre les microorganismes.

Leur capacité inhibitrice *in vitro* des bactéries lactiques vis-à-vis les bactéries (*Enterococcus gilvus et Klebsiella oxytoca*) semble être une bonne probiotique.

Conclusion

Conclusion générale :

Les bactéries lactiques sont utilisées depuis des siècles pour la production de nombreux aliments fermentés. Grâce à leurs propriétés fermentaires, ainsi qu'à leur capacité de survivre et de se développer dans diverses conditions environnementales, elles prolongent la durée de conservation des produits. En outre, les peptides antimicrobiens « bactériocines », produits par ces bactéries et doués d'activités inhibitrices dirigées notamment contre plusieurs pathogènes des aliments renforcent cette propriété de bio-conservation. Ces bactériocines permettent en effet de lutter efficacement contre les différentes bactéries indésirables, pathogènes, d'altération ou résistantes aux antibiotiques. A ce jour, vu la rigidité des lois réglementant la mise sur le marché d'une substance destinée à l'alimentation humaine, seule la nisine est autorisée comme conservateur alimentaire. Néanmoins, l'utilisation de souches productrices de bactériocines, notamment les bactéries lactiques, qui jouissent du statut GRAS, est très prometteuse.

Les bactériocines se distinguent des antibiotiques par leur production ribosomique et leurs spectres relativement étroits. Elles possèdent des propriétés qui les placent comme substances sans danger pour l'homme de par leur sensibilité aux protéases du tube digestif et l'absence de toxicité. La résistance aux traitements thermiques et aux variations de pH (pour quelques-unes), l'activité bactéricide et l'absence de résistance croisée avec les antibiotiques font des bactériocines des candidats potentiels pour des applications alimentaires

La mise en évidence de souches multi- productrices de bactériocines appartenant à la même classe ou à des classes différentes est très intéressante en vue d'une application dans les produits alimentaires. En effet, les bactériocines de classes différentes n'ont pas forcément le même mode d'action, et donc leur combinaison permet de réduire les risques de développement de résistance parmi les bactéries cibles.

Références bibliographiques

- Aissaoui Zitoun O., Zidoune M.N., 2006. Le fromage traditionnel algérien "bouhezza". Séminaire d'Animation Régional.' Technologies douces et procédés de séparation au service de la qualité et de l'innocuité des aliments ',INSAT – Tunis (communication orale), Tunisie / 27 – 28 – 29 novembre Actes des sommaires. Pp 118 à 124.
- Alais. C.- Sciences du lait: Principes et techniques laitiers. IVe édition, Ed. SEPArC, Paris, 1984,814 p.
- Albenzio, M., Corbo, M.R., Rehman, S.U., Fox, P.F., De Angelis, M., Corsetti, A., Sevi, A. and Gobetti, 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.
- Amarita, F., Requena, T., Taborda, G., Amigo, L. and Pelaez, C. (2001). Lactobacillus casei and Lactobacillus plantarum initiate catabolism of methionine transamination. J. Appl. Microbiol. 90: 971–978.
- Amiot, J., Fournier, S ., Lebeuf, Y., Paquin, P. et Simpson , R. (2002). Composition, propriétés physicochimiques, valeur nutritive, qualité technologique et techniques d'analyses du lait IN science et technologies du lait transformation du lait par Vignola Carole L.presse internationale polytechnique, 1- 60
- Axelsson. L., 2004. Classification and physiology. In : Lactic acid bacteria: Microbiological and functional aspects ((Salminen S., Wright A.V. et Ouwehand A.). 3e Ed., Marcel Dekker, Inc. New York. 1-66
- Badis, A., Guetarni, D., Kihal, M., Ouzrout, R. (2005). Caractérisation phénotypique des Bactéries lactiques isolées à partir de lait de chèvre de deux populations locales "Arabia et Kabyle». Scien &Tech, 23 : 30-37
- Bencharif, A., 2001. Stratégies des acteurs de la filière lait en Algérie: états des lieux et problématiques. Options Méditerranéennes Série B. Etudes et Recherches 32: 25- 45.

- ✓ Bendimerad N.,(2013). Caractérisation phénotypique technologique et moléculaire d,,isolats de bactéries lactiques de laits crus recueillis dans les régions de l,,Ouest Algérien. Essai de fabrication de fromage frais type «Jben».Thèse de Doctorat, Université de Tlemcen. Algérie. P 05.
- ✓ Hogg T., 2005. Essential microbiology. John Wiley & Sons, Ltd. 188-190
- ✓ Jeantet R., Croguennec T., Schuck P., Brule G., 2008. Sciences des aliments. vol.2. Ed. Tec & Doc, Lavoisier, Paris, 449p.
- ✓ PILET M.F., Magras C., Federigh M., 2005. Bactéries lactiques. In : bactériologie alimentaire (Federighi M.). 2e Ed., Economica. Paris. 219-240
- ✓ file:///C:/Users/admin/Desktop/memoire%202/ZALEGH.pdf
- ✓ file:///C:/Users/admin/Desktop/memoire%202/13201338t.pdf

Annexes

Compositions des milieux de culture:

Milieu M17 :

-Tryptone…… 2,50 g

- Peptone pepsique de viande……. 2,50 g

- Peptone papaïnique de soja ……..…… 5,00 g

- Extrait autolytique de levure……..……... 2,50 g

- Extrait de viande……..…. 5,00 g

- Lactose…….…… 5,00 g

- Glycérophosphate de sodium…….. 19,00 g

- Sulfate de magnésium…….……. 0,25 g

- Acide ascorbique…….……. 0,50 g

- Agar bactériologique……... 15,00 g

pH =7,1 ± 0,2.l

Autoclavage : 121°C /15min

• Milieu MRS (de Man Rogosa et Sharpe, 1960):

Extrait de levure……..... 5g

Extrait de viande……..……. 5g

Peptone…….…….. 10 g

Acétate de sodium……..…….. 5g

Citrate de sodium…….……..….... 2g

Glucose……..... 20g

KH2PO4…….……..…… 2g

MgSO4……..……..0.1 g

MnSO4…….…….. 0.05 g

Agar…….……..……... 12g

Tween80…….…… 1 ml

Eau distillée …… 1000 ml

pH=6.5±0.2 à 37°C Autoclavage : 121°C /15min

Rogosa:

Tryptone……10g

Glucose…….……20g

Tween80……1ml

KH2PO4…….……6g

Citrate d'ammoniome…….……2g

Acetate de Na …….2.5g

MgSO4…….……..0.5g

MnSO4……..0.1g

FeSO4…….0.03g

PH=5.4

Autoclavage : 121°C /15min

Eau physiologique peptonée :

Peptone 1g

Chlorure de sodium..... 8,5g

Eau distillée ..... 1000 ml

Bouillon nutritif:

Extrait de viande…….1g

Extrait de levure ……2g

Peptone……..….5g

Chlorure de sodium……5g

Ph=7.44

autoclavage 120°C/20min

Gélose nutritive:

Extrait de viande…….1g

Extrait de levure …….……2g

Peptone……..…….5g

Chlorure de sodium……5g

Agar …….15g

Ph=7.44

autoclavage 120°C/20min