

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE**  
**MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA**  
**RECHERCHE SCIENTIFIQUE**  
**UNIVERSITE Dr. TAHAR MOULAY SAIDA**  
**FACULTE DES SCIENCES**  
**DEPARTEMENT DE BIOLOGIE**



**MEMOIRE EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME**  
**DE MASTER II EN BILOGIE**

**OPTION : Microbiologie**

**PRESENTE PAR :-Berkak Keltoum**

**-Radjmi Sara**

**THEME :**

**Isolement et la pré-identification de Lactobacillus dans le lait  
de chèvre collecté de la wilaya de Mascara**

**Soutenu le 19\06\2017 devant la commission d'examen :**

**président : Mr.Antar Djamel**

**Encadreur: Mr. Ammam Abdelkader**

**Examineur : Mr.Hachem Kada**

**ANNEE UNIVERSITAIRE**

**2016/2017**

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ  
الْحَمْدُ لِلَّهِ الَّذِي  
خَلَقَ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضَ  
وَالَّذِي يُضَوِّبُ الْمَوْتَى  
إِنَّ رَبَّهُ لَسَدِيدٌ  
إِلَىٰ عَرْشِهِ الرَّحِيمُ  
الَّذِي يُرْسِلُ الرِّيَّاحَ  
تُحْمَلُهُ السَّحَابُ  
وَيُنزِلُ مِنْ سَحَابِهِ  
مَاءً بَارِكًا فِيهِ  
لِيَحْيِيَ الْبَشَرَ  
إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَاتٍ  
لِّعَلَّكُمْ تَعْقِلُونَ



# Remerciements

Je rends grâce à dieu de m'avoir donné le courage et la volonté d'avoir réalisé ce travail.

Je tiens à remercier mes parons et mes frères pour son aide

.Nous portons avec gratitude de reconnaissance pour l'ensemble des professeurs  
du

département de Biologie qui ont contribué à notre formation d'étudiant en  
microbiologie

. On remercie mes encadreurs Mr AMMAM de nous avoir aidés à réaliser ce  
travail.

Nous ne saurons oublier de remercier les honorables Membres du Jury qui nous  
ont fait l'immense honneur de Présider et d'examiner ce Modeste travail.

En fin, je remercie tous ceux et celles qui m'ont aidé de loin ou de près pour  
l'élaboration de ce travail.



# Dédicace

Grace à **Allah** ...

Je dédie ce mémoire à :

Ma très chère mère :Radia

A mon père :Blaid

A mon fiancé :Omar

A mes soeurs

A mes frères

A toutes mes amies, particulièrement, ma binôme: kaltoum

A toute ma famille

*Sara*



# Dédicace



## Grace à Dieu

*Je dédie ce modeste travail :*

*Aux deux être le plus chers au monde, qui ont souffert nuit et jour  
Pour nous couvrir de leur amour, mes parents.*

*A mon père **Houari** pour son patient avec moi et son encouragement.*

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

*À cette source de tendresse, de patience et de générosité, À ma mère **Fatiha**.*

*Que le bon ALLAH vous garde en bonne santé.*

*Je dédie aussi ce modeste travail : A mes sœurs : **Lawniya ,Nawel, Naima,Hafida et  
Zahira.***

*A mes très chers frères : **Mokhtar et NourEdine.***

*A tout la famille **berkak, Hazel et Radjmi.***

## A mon fiancé :**Hossine**

*Ainsi que pour toutes mes amies : **Hamida, Nacira, Khayra,  
Imene,Keltouma,Lamia** et Surtout mon très chère "**Maman**" qui m'a accompagné  
toutes ces circonstances amour terme et de Dévotion leur aidée et encouragée  
pendant cette Période de thèse.*

*A toute promotion microbiologie.*

**Berkak Keltoum**



**Résumé :**

Les bactéries lactiques font naturellement partie de notre environnement et notre alimentation. On reconnaît depuis longtemps, aux bactéries lactiques la propriété de produire des substances antimicrobiennes et sont utilisées dans la fermentation et la biopréservation des aliments.

La recherche de souches bactériennes lactiques productrices des substances antimicrobiennes a été entreprise à partir du lait cru de chèvre.

L'isolement et la pré-identification de *Lactobacillus* à partir de lait cru de chèvre nous a permis d'obtenir 07 souches (Gram positif, catalase négatif) qui ont purifiées et conservées.

L'étude des caractéristiques phénotypiques ; biochimiques et physiologiques (type fermentaire, croissance en présence de NaCl : 6,5% , étude de la thermorésistance à 60 C production d'acétoïne, utilisation du citrate de Simmons, production de CO<sub>2</sub>, production de H<sub>2</sub>S et la fermentation des sucres (Lactose,Saccharose,Glucose) ,test de type fermentaire .

Les 07 souches ont été testées pour leur effet antibactérien contre *Staphylococcus. aureus* ATCC et *Escherichia.coli* ATCC25922 et *Klebseilla.pneumoniae* ATCC 4352 L'interaction de nos souches lactiques et les bactéries pathogènes a donné des résultats positifs.

Les souches du genre *Lactobacillus* (Lb), ont été retenues pour sa forte activité bactéricide notamment vis-à-vis d'*Escherichia.coli*. Les autres souches Lb diminuent considérablement la croissance de *Staphylococcus. aureus* et *Klebseilla. pneumoniae* après quelques heures d'incubation.

**Mots-clés:** Bactéries lactiques ; *Lactobacillus* ; activité antibactérienne ; lait de chèvre.

## ملخص

بكتيريا حمض اللبنيك هي جزء طبيعي من بيئتنا وغذائنا. منذ فترة طويلة كان من المسلم به، وبكتيريا حمض اللاكتيك ممتلكات إنتاج المواد المضادة للميكروبات، وتستخدم في تخمير و *biopreservation* الغذاء.

أجري اللاكتيك سلالات بكتيرية حمض المواد المضادة للميكروبات إنتاج البحوث من حليب الماعز الخام وقد سمح العزلة وتحديد الملبنة قبل من حليب الماعز الخام بنا للحصول 07 سلالات (الجرام إيجابية الكاتلاز السلبية) التي تنقية وتخزينها.

دراسة الصفات المظهرية البيوكيميائية والفسولوجية (نمو التخمير نوع في وجود كلوريد

الصوديوم: 6.5٪، ودراسة المقاومة للحرارة في 60 C، وإنتاج *acétoïne*، وذلك باستخدام سترات سيمونز، إنتاج  $CO_2$ ،  $deH_2S$  الإنتاج وتخمير السكريات (اللاكتوز، السكروز، الجلوكوز)، نوع تخمير الاختبار.

تم اختبار سلالات 07 لتأثير مضاد للجراثيم ضد المكورات العنقودية الذهبية والإشريكية القولونية ATCC 25922 و *Klebseilla* الرئوية ATCC 4352. أعطى تفاعل دينا سلالات اللاكتيك والبكتيريا المسببة للأمراض ولاحظ النتائج الإيجابية

تم تحديد سلالات الملبنة جنس (رطل)، للنشاط القوي للجراثيم، وخاصة فيما وجها لوجه القولونية. سلالات أخرى LB يقلل إلى حد كبير من نمو المكورات العنقودية الذهبية و *Klebseilla* الرئوية بعد بضع ساعات من الحضانة.

كلمات البحث: بكتيريا حمض اللبنيك. الملبنة. النشاط المضاد للبكتيريا. حليب الماعز.

**Summary :**

Lactic bacteria are naturally part of our environment and our diet. It has long been recognized that lactic acid bacteria have the property of producing antimicrobial substances and are used in the fermentation and biopreservation of foods.

The search for lactic bacterial strains producing antimicrobial substances was undertaken from goat raw milk.

The isolation and pre-identification of *Lactobacillus* from goat raw milk allowed us to obtain 07 strains (Gram positive, catalase negative) which purified and preserved.

The study of phenotypic characteristics; Biochemical and physiological studies (fermentation type, growth in the presence of NaCl: 6.5%, study of heat resistance at 60 C, production of acetone, use of Simmons citrate, CO<sub>2</sub> production, H<sub>2</sub>S production and fermentation of sugars , Sucrose, Glucose), fermentative type test.

The 07 strains were tested for their antibacterial effect against *Staphylococcus aureus* ATCC and *Escherichia coli* ATCC25922 and *Klebsiella pneumoniae* ATCC 4352. The interaction of our lactic strains and pathogenic bacteria gave positive results, observed areas of inhibition.

Strains of the genus *Lactobacillus* (Lb) were retained for its strong bactericidal activity, in particular against *Escherichia coli*. The other Lb strains greatly reduce the growth of *Staphylococcus aureus* and *Klebsiella pneumoniae* after a few hours of incubation.

Keywords: Lactic acid bacteria; *Lactobacillus*; Antibacterial activity; goat's

## *Tableau de matière*

<b>Remerciements</b>	
<b>Dédicace</b>	
<b>Résumé</b>	
<b>Abstract</b>	
<b>ملخص</b>	
<b>Sommaire</b>	
<b>Liste des tableaux</b>	
<b>Liste des figures</b>	
<b>Liste des abréviations</b>	
<b>Introduction</b> .....	P01

### **Synthèse bibliographique**

<b>1-Définition générale du lait</b> .....	P02
<b>1-2- le lait de chèvre</b> .....	P02
<b>2-Caractéristiques du lait de chèvre</b> .....	P02
<b>2-1-Caractéristiques organoleptiques</b> .....	P02
<b>2-2 -Caractéristiques physico-chimiques</b> .....	P03
• Le pH .....	P03
• L'acidité.....	P03
• La densité .....	P03
• L'eau.....	P03
• Les minéraux .....	P03
• Les vitamines .....	P04
• Le lactose .....	P04
• La matière grasse.....	P04
<b>3-La fraction protéique</b> .....	P05
• Les caséines.....	P05

• La caséine $\alpha$ 1 .....	P07
• Impact du polymorphisme de la $\alpha$ 1-CN.....	P07
• La caséine $\alpha$ 2 .....	P08
• Impact du polymorphisme de la $\alpha$ 2-CN.....	P08
• La caséine $\beta$ .....	P09
• Impact du polymorphisme de la $\beta$ -CN.....	P09
• La caséine $\kappa$ .....	P09
• La caséine $\gamma$ .....	P10
• Les protéines du lactosérum .....	P10
• La $\beta$ - lactoglobuline.....	P11
• L' $\alpha$ -lactalbumine.....	P12
• Le sérum albumine.....	P13
• Les immunoglobulines.....	P13
• Les protéase-peptones.....	P13
• La lactoferrine.....	P14
• La lactoperoxydase.....	P14
<b>4- Caractéristique médicinales.....</b>	<b>P14</b>
• Immunoglobulines .....	P15
• Lactoferrine .....	P15
• Lactoperoxydase .....	P15
<b>5-La Qualités du lait de chèvre .....</b>	<b>P16</b>
• Qualité nutritionnelle .....	P16
• Qualité microbiologique.....	P16
• Activité lipolytique .....	P17
<b>6-L'intérêt du lait de chèvre .....</b>	<b>P17</b>
<b>7-Les anomalies de la qualité du lait de chèvre .....</b>	<b>P18</b>
• Anomalies d'origine physiologique.....	P18
• Anomalies d'origine pathologique .....	P18

## **Les Lactobacilles**

1Généralité.....	P19
2-Habitat.....	P26
3-Classification.....	P27
4- Caractères culturels et exigences nutritionnelles.....	P27

▪ exigences en vitamines.....	P27
▪ exigences en bases azotées.....	P28
▪ exigences en cations.....	P28
5-Le métabolisme de Lactobacilles .....	P28
6-Rôle des lactobacilles dans l'industrie agro-alimentaire.....	P30
▪ Les fonctions du ferment.....	P31
▪ Lactobacillus comme ferment dans l'industrie agro-alimentaire.....	P31
▪ Lactobacillus comme agent contaminant dans les aliments.....	P32
▪ Effets des lactobacilles sur la santé.....	P32
7-Les substances antibactériennes produites par les Lactobacilles.....	P33
▪ Acides organiques.....	P33
▪ Dioxyde de carbone.....	P33
▪ Diacétyle.....	P35
▪ Substances antimicrobiennes à faible poids moléculaire.....	P35
▪ Bactériocines.....	P36

## Matériel et méthodes

-Matériel

-Méthode

1-Provenance de l'échantillon du lait.....	P38
2- Isolement et purification des souches de Lactobacilles.....	P39
➤ Préparation des échantillons.....	P39
➤ Milieux d'isolement.....	P39
➤ La purification des souches .....	P40
➤ Conservation des souches.....	P41
3-Tests d'orientation pour la pré -identification des lactobacilles.....	P41

### Tests morphologiques

➤ Etude macroscopique.....	P41
➤ Étude microscopique.....	P42
➤ Coloration de gram.....	P42

### Tests biochimiques

➤ Test de la catalase.....	P42
➤ VP/RM.....	P42
➤ Milieu Mannitol-mobilité.....	P43

- TSI (GéloseGlucose-Lactose-Saccharose-H<sub>2</sub>S).....P43
- Citrate de Simmons.....P43
- Galerie API 20.....P44

### **Tests physiologique**

- Croissance en présence de 6.5 % de Na Cl .....P44
- Thermorésistante .....P44
- Type fermentaire.....P44

### **4-Etude de l activité antimicrobien des souches Pathogènes .....P45**

- Méthode des disques .....P45

### **5-Conclusion .....P60**

### **6-references bibliographiques**

### **7-annexes**

## *Liste des tableaux*

<b>Tableau 1 :</b> Caractéristiques des caséines caprines et bovines.....	P10
<b>Tableau 2 :</b> Composition moyenne en g/litre et distribution des protéines dans le lait de diverses espèces animales. ....	P12
<b>Tableau 3 :</b> Liste des espèces du genre Lactobacilles .....	P21
<b>Tableau 4:</b> Classification des lactobacilles.....	P31
<b>Tableau 5 :</b> Les appareillages et petit matériel utilisées.....	P38
<b>Tableau 6 :</b> Critères morphologiques, le gram et le test de la catalase des sept isolats présumés des Lactobacilles isolées de lait cru de chèvre.....	P48
<b>Tableau 7 :</b> Résultats des tests biochimiques classiques d'identification des souches isolées.....	P50
<b>Tableau 8 :</b> lecture de résultat de test Galeries API.....	P54

## *Liste des figures*

<b>Figure 1</b> :Représentation des parties hydrophobes et hydrophiles des différentes caséines bovines. ....	P06
<b>Figure 2</b> :Modèle à sous unité de SCHMIDT 1982 .....	P06
<b>Figure 3</b> :Contraste de phase (A-E) et d'électrons (F) des micrographies montrant la différence de morphologie des cellules de Lb .....	P27
<b>Figure 4</b> : Schéma résumant la méthode utilisée pour l'isolement et la purification des souches.....	P41
<b>Figure 5</b> : Aspect de Culture dans milieu MRS solide.....	P46
<b>Figure 6</b> : . Aspect de Culture dans milieu MRS liquide.....	P47
<b>Figure 7</b> : Aspect morphologique cellulaire des cultures pures des isolats sous microscope (100 µm).....	P49
<b>Figure 8</b> :Résultat de test de Mannitol Mobilité.....	P51
<b>Figure 9</b> :Résultat de test de Voges Proskauer VP.....	P51
<b>Figure 10</b> :Résultat de test RM.....	P52
<b>Figure 11</b> :Résultat de citrate de simons.....	P53
<b>Figure 12</b> : Résultat de test de TSI.....	P53
<b>Figure 13</b> : Résultat de test Galerie API 20.....	P54
<b>Figure 14</b> : Résultat de Croissance en présence de 6.5 % de Na Cl.....	P56
<b>Figure 15</b> :Résultat de thermorésistant.....	P56
<b>Figure 16</b> : Résultat de type fermentaire.....	P57
<b>Figure 17</b> : Résultat Antagonisme Lactobacillus /Escherichia coli ATCC 25922.....	P58
<b>Figure 18</b> : Résultat Antagonisme Lactobacillus /Staphylococcus aureus ATCC.....	P59
<b>Figure 19</b> : Antagonisme Lactobacillus /Klebsiella pneumoniae ATCC 4352.....	P59

## *Liste des abréviations*

**BL:** Bactérie lactique

**LB :** Lactobacillus

**Vp :** Voges-Proskauer

**RM :** rouge de méthyle

**TSI :** Gélose Glucose-Lactose-Saccharose-H<sub>2</sub>S

**Glu :** glucose

**Sacch :** saccharose

**Lac :** lactose

**Man :** Mannitol

**Mob :** Mobilité

# Introduction

### **Introduction :**

Le lait représente un milieu biologique fortement altérable par voie microbienne en raison de sa forte teneur en eau, de son pH voisin de sa neutralité et de sa richesse en composants biodégradables (lactose, protéines et lipides) (Huy ghebaert. 2006). Lorsqu'il est prélevé dans de bonnes conditions, le lait cru contient peu de germes (103 germes par ml).

Il s'agit de germes saprophytes et parmi eux, on trouve les Streptocoques lactiques (Lactococcus) et les Lactobacilles. Durant la traite et le stockage, le lait peut se contaminer par une flore variée constituée essentiellement de bactéries lactiques appartenant aux genres suivants: Streptococcus, Lactococcus, Enterococcus, Leuconostocs et Lactobacillus (Bekhouche, 2006).

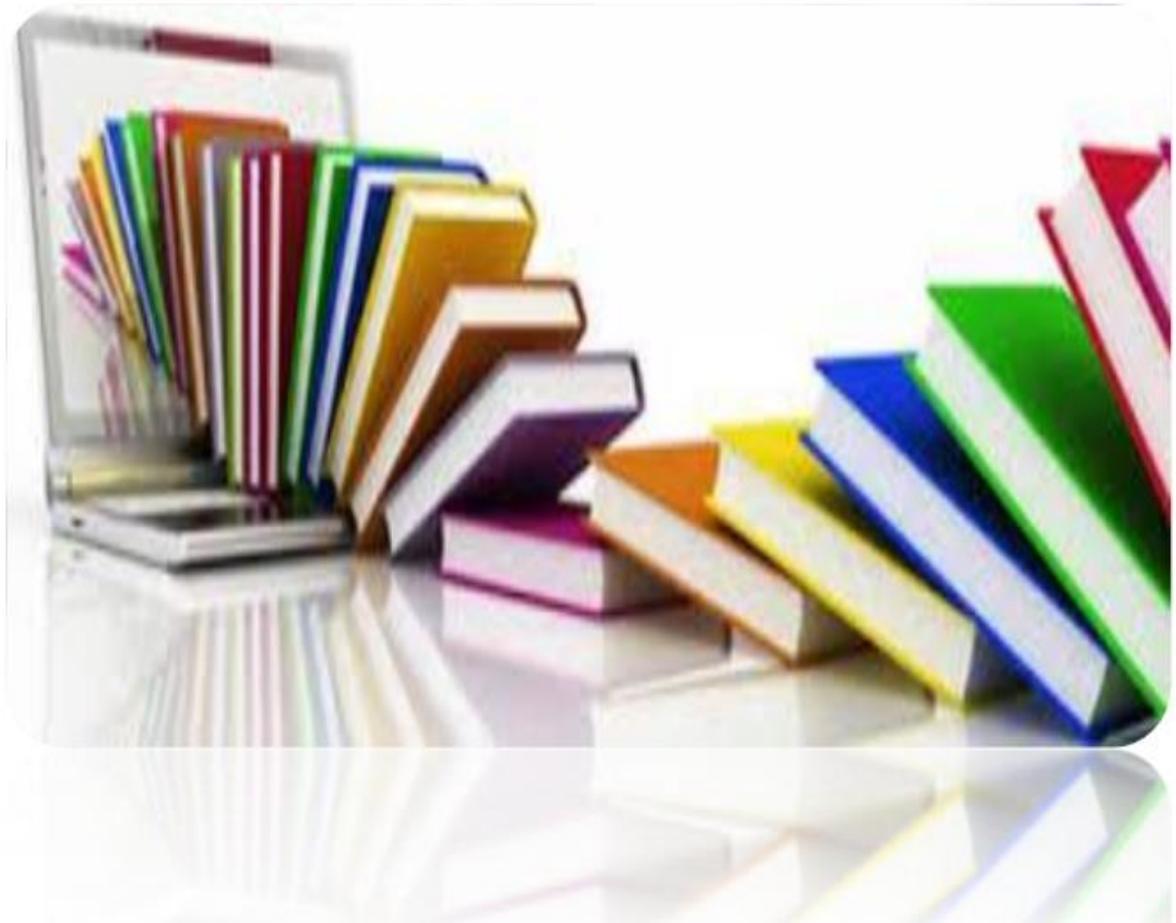
Le lait de chèvre joue un rôle essentiel dans l'alimentation humaine, le plus consommée par la communauté rurale, alors qu'il est très peu disponible sur le marché. que ce soit sous sa forme crue ou transformée (Raïb, Lben «laits fermentés traditionnelles locales» et Jben «fromage frais traditionnel local»). Dans ces produits, la fermentation est spontanée obtenue par la flore lactique naturelle (Badis et al., 2004).

Les lactobacilles représentent un groupe important de micro-organismes dans la flore microbienne du lait cru de chèvre. De même elles se produisent souvent spontanément en grand nombre dans la plupart des aliments fermentés. Toutefois, dans l'industrie laitière les souches lactiques sont sélectionnées sur la base de leurs propriétés technologiques (production de l'acide lactique, production d'arôme, activité protéolytique et cinétique de croissance), et leurs caractéristiques fonctionnelles (activité antibactérienne, résistance au passage gastro-intestinal et résistance aux antibiotiques). Bien qu'il existe d'autres paramètres à prendre en considération (Tamime, 2002; Mayra–Makinen et Bigret, 2004; Molin, 2008).

L'objectif de notre travail est :

- Isolement et purification des souches Lactobacilles à partir de lait de chèvre cru de la région Mascara.
- La Pré-identification, par des tests morphologique, biochimique et physiologique. Étudier l'activité antibactérienne des souches de lactobacilles isolées vis-à-vis les souches pathogènes collectées au niveau des laboratoires Dr .Moulay Tahar Saida.

# Synthèse Bibliographie



## **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).

## **1-2- Le lait de chèvre**

Le lait de chèvre est un liquide blanc ou mât, due à l'absence de  $\beta$ -carotène contrairement au lait de vache. Il a une odeur assez neutre. Parfois en fin de lactation, une odeur caprine apparaît et après stockage au froid il acquiert une saveur caractéristique (BOSSET et al, 2000). Il donne une impression bien homogène c'est-à-dire ni trop fluide ni trop épais. Du point de vue de ses qualités nutritives et digestives, le lait de chèvre possède une bonne valeur nutritionnelle.

Ces qualités diététiques sont la conséquence d'un certain nombre de caractéristique physico-chimiques et microbiologiques (MONTEL, 2003).

## **2-Caractéristiques du lait de chèvre**

### **2-1-Caractéristiques organoleptiques :**

Comme le lait de vache, le lait de chèvre est une émulsion de matière grasse sous forme de globules gras dispersés dans une solution aqueuse (sérum) comprenant de nombreux éléments, les uns à l'état dissous (lactose, protéines du lactosérum, ... etc.), les autres sous forme colloïdale (caséines) (DOYON, 2005). En raison de l'absence de  $\beta$ -carotènes, le lait de chèvre est plus blanc que le lait de vache (CHILLIARD, 1997), blancheur se répercutant sur les produit laitiers caprins. Le lait caprin a un goût légèrement sucré (DUTEURTRE et al, 2005). Il est caractérisé par une flaveur particulière et un goût plus relevé que le lait de vache

(ZELLER, 2005 ; JOUYANDEH et ABROUMAND, 2010). Cette saveur, en grande partie due à certains acides gras libres (JAUBERT G, 1997; MORGAN et al, 2001), est accentuée par la lipolyse (JAUBERT G, 1997).

## **2-2Caractéristiques physico-chimiques :**

### **1 -Le pH**

Le pH du lait de chèvre, se caractérise par des valeurs allant de 6,45 à 6,90 (REMEUF et al, 1989) avec une moyenne de 6,7 différant peu du pH moyen du lait bovin qui est de 6,6 (REMEUF et al, 1989 ; LE JAOUEN et al, 1990). Néanmoins, le lait de chèvre en raison d'un polymorphisme génétique important de ses protéines, se démarque par une variabilité du pH suivant le type génétique en question.

### **2-L'acidité**

L'acidité du lait de chèvre reste assez stable durant la lactation. Elle oscille entre 0,16 et 0,17% d'acide lactique (VEINOGLU et al, 1982b). En technologie fromagère, celle-ci réduit le temps de coagulation du lait caprin par la présure et aussi accélère la synérèse du caillé (KOUNIBA, 2007).

### **3-La densité**

La densité du lait de chèvre est relativement stable (VEINOGLU et al, 1982b) et se situe à 1,022, inférieure à celle du lait de vache (1,036).

### **4-L'eau**

Cet élément essentiel, est le composé majoritaire du lait (DAHLBORN et al, 1997). L'établissement d'un comparatif entre le lait de chèvre et le de lait vache et humain montre peu de différence. Ces laits se caractérisent respectivement par 87,5, 87,7 et 87,1g d'eau pour 100g de lait analysé (DESJEUX, 1993).

### **5-Les minéraux**

La fraction minérale du lait caprin, ne représente qu'une faible portion de celui-ci, en moyenne 8% de la matière sèche contre 7% pour le lait de vache (KERN, 1954). Elle joue un rôle important dans la structure et la stabilité des micelles de caséine (BLOOMFIELD et MEAD, 1974 ; GAUCHERON, 2005).

Le lait de chèvre semble être plus riche en calcium, phosphore, magnésium, potassium et chlore que le lait de vache mais moins riche en sodium (MAHIEU et al, 1977 ; JENNESS, 1980 ; SAWAYA et al, 1984a).

## **6-Les vitamines**

Par rapport au lait de vache, le lait de chèvre se distingue par l'absence de B-carotène. Cette caractéristique a été utilisée comme moyen de détection de l'adultération du lait caprin par le lait bovin (MUCIO, 1983).

Les données sur le contenu vitaminique du lait de chèvre, montrent que la Vitamine A y est plus présente que dans le lait de vache (HEINLEIN et CACCESE, 2006). Pour ce qui est des Vitamines B1, B2, B5, B6, B8 et B12, le contenu des deux laits est quasi identique (JAUBERT, 1997). En dehors des vitamines E, B3 et B9 plus riche dans le lait de vache, les deux laits, (qui ont des teneurs relativement similaires), sont assez carencés en vitamine C et D (JENNESS, 1980 ; JAUBERT, 1997 ; RAYNAL-LJUTOVAC et al, 2008).

## **7-Le lactose**

Comparativement au lait de vache (50g/l), le lait de chèvre est moins riche en lactose, avec une variation allant de 44 à 47g/l (VEINOGLU et al, 1982b ; ROUDJ et al, 2005). C'est le constituant le plus stable du lait de chèvre au cours de la lactation (LOPEZ et al, 1999). En plus du rôle énergétique en tant que substrat de la flore lactique endogène, le lactose joue un rôle dans la régulation de la pression osmotique entre les cellules sécrétrices mammaires et le milieu sanguin à partir duquel la mamelle puise les éléments minéraux, l'eau, les acides gras et les vitamines (GNANDA et al, 2006).

## **8-La matière grasse**

Moins riche en matière grasse (ROUDJ et al, 2005), le lait caprin est aussi plus difficile à écrémer (JENNESS et PARKASH, 1971 ; ATTAIE et RICHTERT, 2000) que le lait de vache du fait que les globules gras caprins se démarquent par leur petite taille (HOLMES et al, 1945), Cette disparité leur confère une meilleure dispersion ainsi que l'obtention d'une phase plus homogène (HEINLEIN et CACCESE, 2006). La membrane du globule gras caprin est composée de protéines montrant une forte tendance à l'association aux caséines, qui ne se retrouve pas chez le bovin (CABO, 2010).

Le contenu lipidique total du lait caprin, sujet à une forte variation (CERBULIS et al, 1982), se caractérise par une richesse en triglycérides à forte proportion d'acides gras à chaîne courte, notamment en C8 et C10, qui représentent de 11 à 12% des acides gras totaux caprins, contre 3 à 4% chez les bovins (LE JAOUEN et al, 1990 ; DESJEUX, 1993 ; RUIZ-SALA et al, 1996). On y trouve aussi des triglycérides polyinsaturés à chaîne moyenne (RUIZ-SALA et al, 1996).

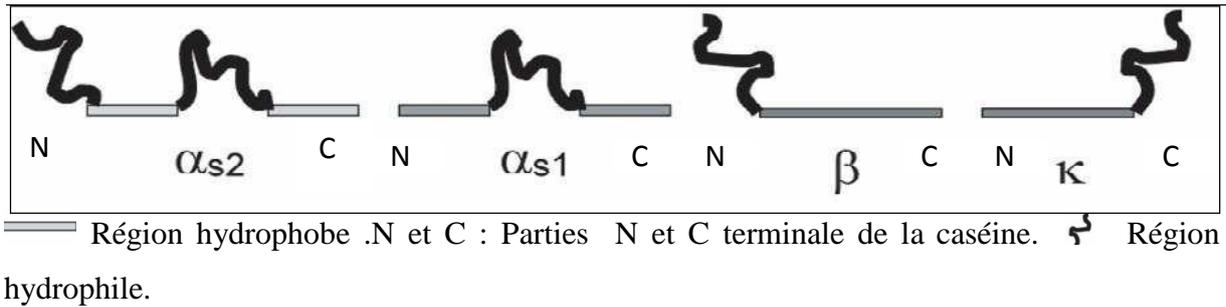
### **3-La fraction protéique**

Les protéines du lait de chèvre comme celles des autres espèces de mammifères, sont composées de deux fractions, l'une majoritaire dénommée caséines (représentant environ 80%) (MAHE et al, 1993), précipite à pH 4,2 pour le lait de chèvre et 4,6 pour le lait de vache (MASLE et MORGAN, 2001) L'autre, minoritaire (représentant 20%) et dénommé protéines sériques se caractérisant par leur solubilité dans les mêmes conditions de pH (COLLIN et al, 1991 ; TRUJILLO et al, 2000 ; CHANOKPHAT, 2005).

Par rapport au lait de vache, les teneurs en protéines sont nettement plus faibles dans le lait de chèvre (28 g/l contre 32g/l) (REMEUF et LENOIR, 1985 ; ROUDJ et al, 2005).

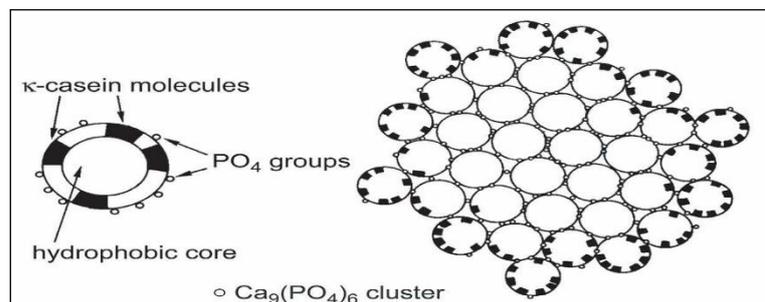
#### **3-1-Les caséines**

Par rapport au bovin, le lait caprin présente les mêmes constituants caséiniques (Caséine  $\alpha$ S1,  $\alpha$ S2,  $\beta$  et  $\kappa$ ) (RAZANAJATOVO et ALAIS, 1977 ;BOULANGER et al,1984) et partage avec celui-ci plusieurs similitudes (ASSENAT, 1976). Les caséines sont dépourvues d'acides aminés soufrés, donc non structurées par des ponts disulfures. Elles sont par contre riches en résidu proline (particulièrement la caséine  $\beta$ ), résidus connus pour leur rigidité stéréochimique, expliquant ainsi l'absence de structure organisées pour ces protéines (PAYENS, 1982). Ces caséines possèdent des chaînes latérales polaires (résidus phosphoseryle, glutamyle et aspartyle) du côté N-terminal et des chaînes latérales apolaires du côté C-terminal (caséine  $\alpha$ S et  $\beta$ ), représentation inversée pour ce qui est de la caséine  $\kappa$  (figure 1) (LORIENT et CAYOT, 2000).



**Figure 1** : Représentation des parties hydrophobes et hydrophiles des différentes caséines bovines (PHOEBE, 2007).

Ces protéines, forment des structures micellaires en suspension par interaction du phosphate de calcium, avec les résidus phosphosérines de celles-ci (PIERRE et al, 1998 ; MARLETTA et al, 2007). Ces structures (pelote statistique) ont pour conséquence l'exposition des groupements hydrophobes des caséines, plus que ceux des protéines globulaires, ce qui explique la grande tendance des caséines à l'association (PAYENS, 1982 ; LEONIL et al, 2007). L'hydratation des micelles est corrélée positivement avec leur stabilité thermique (FARRELL, 1973) et négativement avec leur minéralisation (REMEUF et al, 1989). La structure micellaire caprine, à la différence de son homologue bovin est de diamètre et de degré de dispersion plus important (OULD ELEYA et al, 1995), diamètre qui augmente avec la diminution de la teneur en caséine (REMEUF et al, 1989). Aussi celle-ci en diffère par une minéralisation elle aussi supérieure, ce qui pour ce facteur lui est préjudiciable au plan de son hydratation qui en sera fortement diminuée (REMEUF et LENOIR, 1985 ; REMEUF et al, 1989 ; OULD ELEYA et al, 1995).



**Figure 2** : Modèle à sous unité de SCHMIDT 1982 (RUETTIMANN et LADISCH, 1987)

### 3-1-1-La caséine $\alpha$ 1

Des trois caséines, la caséine  $\alpha$ 1 est la plus sensible au calcium (SLATTERY, 1976), elle est composée dans les deux laits (bovin et caprin), de 199 acides aminés pour une masse moléculaire de 23600 Da (FARRELL, 1973 ;MARLETTA et al, 2007) avec 80% de similitude (BOULANGER et al, 1984 ; TRUJILLO et al, 2000).

La caséine  $\alpha$ 1 possède un domaine d'environ 40 acides aminés où sont localisés d'une part, des résidus phosphates (sept à dix) (FARRELL, 1973 ; SLATTERY, 1976 ; TRUJILLO et al, 2000) et, d'autre part, douze résidus carboxyliques, conférant à cette protéine une grande acidité et une charge hautement négative (FARRELL, 1973 ; SLATTERY, 1976).

Cette protéine se démarque de son homologue bovin par une forte variation individuelle liée à l'existence d'un haut degré de polymorphisme génétique (LE JAOUEN et al, 1990).

#### 3-1-1-1-Impact du polymorphisme de la $\alpha$ 1-CN

Les gènes de la caséine caprine, montrent des modifications complexes conduisant à une grande hétérogénéité de cette fraction (PIERRE et al, 2001 ; CAROLI et al, 2006 ; MARLETTA et al, 2007),ainsi qu'à sa variabilité tant au niveau quantitatif que qualitatif ce qui se répercute aussi bien sur la composition que sur les propriétés technologiques (propriétés fromagères) du lait de chèvre (PIACERE et ELSÉN, 1992 ; MOATSOU et al, 2006).

Le polymorphisme le plus marqué, est celui de la caséine  $\alpha$ 1, qui en plus du fait d'avoir un effet sur son propre taux de synthèse, a aussi des répercussions sur les teneurs en caséines totales (LE JAOUEN et al, 1990 ; MANFREDI et al, 1993 ; GROSCLAUDE et al, 1994). Le polymorphisme de cette fraction associe différents taux de synthèse à différentes classes alléliques (PIACERE et ELSÉN, 1992 ;REMEUF, 1993 ; GROSCLAUDE et al, 1994 ;DELACOIX-BUCHET et al, 1996). Ainsi, pour cette fraction il existe 7 allèles pouvant être regroupés en 3 groupes, le variant « fort » représenté par les allèles A, B et C et associés à des taux de synthèse élevés de 3,6g/l, le variant « intermédiaire » représenté par l'allèle E et associé à des taux de synthèse moyens de 1,6g/l, deux variant « faibles » F et D'associés à un taux de synthèse faible de 0,6g/l et un dernier variant « nul » O dépourvu de caséine  $\alpha$ 1 (MANFREDI et al, 1993;VASSAL et al, 1994 ;RICOORDEAU et al, 1999 ; MARTIN et LEROUX, 2000), (AA >AE,AF > EE,EF >FF (BARBIERI et al, 1995).

Chaque variant a un impact technologique significatif, c'est ainsi que pour le paramètre « diamètre des micelles » l'influence est nette. Les laits issus du variant (AA), ont des micelles de diamètre plus faible que les laits (EE), eux même de diamètre inférieur aux laits (FF), (AA < EE < FF) (REMEUF, 1993 ; GROSCLAUDE et al, 1994 ; PIERRE et al, 1995 ; REMEUF Et al, 2001). Alors que pour « le degré de minéralisation calcique des micelles », le phénomène s'inverse. Les taux pour les laits (EE) et (FF) sont supérieurs aux laits (AA) (REMEUF, 1993 ; GROSCLAUDE et al, 1994).

Au plan technologique, ces laits adoptent des comportements différents. Ainsi, la fermeté du gel présure est supérieure pour le lait (AA) par rapport au lait (EE) lui-même supérieur au lait (FF), la même tendance est suivie pour la vitesse de raffermissement, (REMEUF, 1993 ; REMEUF et al, 2001) et aussi pour le taux de matière grasse (VASSAL et al, 1994).

Les laits (FF) étant les moins riches en matière grasse, se caractérisent par des anomalies de comportement à l'écémage avec aussi un degré de lipolyse plus important (LAURET, 2002a; RAYNAL-LJUTOVAC et al, 2004), ce qui est à l'origine de la saveur "chèvre" plus prononcée pour celui-ci (MARTIN et LEROUX, 2000) et est bien moins marquée pour les fromages issus des laits (AA) (DELACOIX-BUCHET et al, 1996 ; REMEUF et al, 2001).

Ces différents paramètres, font que le lait (AA) est un lait se rapprochant du lait bovin (MORA-GUTIERREZ et al, 1993 ; GROSCLAUDE et al, 1994).

### **3-1-2-La caséine $\alpha_2$**

La caséine  $\alpha_2$  caprine est la caséine la plus phosphorylée avec plus de 13 résidus phosphate. Elle contient 288 résidus d'acides aminés (un de plus que son homologue bovin) pour une masse moléculaire de 25 300 Daltons (PAYENS, 1982) ; Elle partage aussi environ 88% de similitude avec l'homologue bovin (TRUJILLO Et al, 2000).

#### **3-1-2-1-Impact du polymorphisme de la $\alpha_2$ -CN**

Les travaux sur le polymorphisme des caséines caprines, ont permis de mettre en évidence l'existence de 3 variants pour la caséine  $\alpha_2$ , qui sont, l'allèle A (allèle le plus répandu (MANFREDI et al, 1993), B et C (RICOORDEAU et al, 1999) associés à une production de 2,5g/l de caséine  $\alpha_2$ , ainsi qu'un variant à taux faible et un autre de taux nul (MOATSOU et al, 2006).

Aucune association entre les aptitudes technologiques et les variantes de cette fraction n'a pour le moment été établie (REMEUF et al, 2001).

### **3-1-3-La caséine $\beta$**

La caséine  $\beta$  est une phosphoprotéine constituée d'une seule chaîne polypeptidique (RIBADEAU-DUMAS et al, 1972) avec cinq résidus phosphosérines pour une masse moléculaire de 24000 Daltons (FARRELL, 1973).

Cette protéine est bien plus hydrophobe que la caséine  $\alpha S1$ , mais d'une sensibilité moindre au calcium (SLATTERY, 1976 ; CHANOKPHAT, 2005).

Cette fraction est constituée par deux composants de poids moléculaire identique, mais avec deux niveaux de phosphorylation différents (cinq et six). La caséine  $\beta$  est composée de 207 résidus d'acide aminés soit deux de moins que la protéine homologue bovine et avec une homologie de 90% avec celle-ci (TRUJILLO et al, 2000 ; MARLETTA et al, 2007). Elle partage néanmoins la même mobilité électrophorétique avec la caséine  $\beta$  bovine (MUCIO, 1983). Le clivage de la caséine  $\beta$  conduit d'une part à la formation aux caséines  $\gamma$  et d'autre part à plusieurs des composants de la fraction protéase-peptone (LE BARS et GRIPON, 1993).

#### **3-1-3-1-Impact du polymorphisme de la $\beta$ -CN**

Pour la caséine  $\beta$ , 3 variant A, B et O ont été identifiés (TRUJILLO et al, 2000).

L'existence du variant O de teneur en caséines  $\beta$  nul s'accompagne d'une baisse sensible de la teneur en caséines totales du lait caprin. En contre partie, ceci s'accompagne d'une augmentation des teneurs en caséine  $\alpha S1$ . Il a été constaté que les laits sans caséine  $\beta$  ont un temps de prise beaucoup plus long et donnent des caillés plus mous par rapport aux laits ayant une teneur normale en caséine  $\beta$  (CHIANESE et al, 1993).

### **3-1-4-La caséine $\kappa$**

Seule la caséine  $\kappa$  est une glycoprotéine dotée de propriétés amphiphiles (SLATTERY, 1976 ; MARTIN et LEROUX, 2000) ; La caséine  $\kappa$  caprine a une masse moléculaire de 19000 Daltons (PAYENS, 1982) pour 171 résidus d'acides aminés. Elle contient deux résidus phosphate. Elle est difficilement précipitée par les ions calcium

(SLATTERY, 1976 ; CHANOKPHAT, 2005). Ces deux facteurs combinés, font que la caséine  $\kappa$  joue le rôle de stabilisant pour les autres caséines (PAYENS, 1982 ; CHANOKPHAT, 2005).

Pour ces raisons, la caséine  $\kappa$  est localisée à la périphérie de la micelle de caséine, jouant le rôle à la fois de limitant de la croissance de la micelle et de maintien de celle-ci en suspension dans le lait (CREAMER et al, 1998 ; LEONIL et al, 2007).

La fraction  $\kappa$  se démarque des autres fractions par son contenu cystéinique, au nombre de deux résidus localisés dans la frange hydrophobe. Ces résidus permettent la polymérisation via des ponts disulfures (SLATTERY, 1976).

### 3-1-5-La caséine $\gamma$

Cette fraction se retrouve en faible quantité dans le lait, et résulte d'une protéolyse naturelle et limitée de la caséine  $\beta$  (TRUJILLO et al, 1997 ; CHANOKPHAT, 2005).

D'un point de vue sensibilité au calcium, cette dernière fraction de caséine est plus affectée que la caséine  $\alpha$ S1 et  $\beta$  (EIGEL et RANDOLPH, 1975).

**Tableau 1:** Caractéristiques des caséines caprines et bovines (MARTIN, 1993).

Caséines	$\alpha$ S1		$\beta$		$\alpha$ S2		$\kappa$	
	C	V	C	V	C	V	C	V
C = chèvre V = vache								
Acides aminés	199	199	207	209	208	207	171	169
% de la caséine totale	10	38	48	38	20	11	22	13
Groupements phosphate	7/9	8/9	5/6	5	9/11	10/13	2/3	1/2

### 3-2-Les protéines du lactosérum

Ces protéines ont une bonne valeur nutritionnelle, car elles sont riches en Lysine, Tryptophane et acides aminés soufrés (CHEFTEL et LORIENT, 1982).

Elles ont une structure compacte stabilisée par des ponts disulfure. Ce sont des protéines qui sont sensibles au traitement thermique (LORIENT et CAYOT, 2000). En moyenne, le lait de chèvre est plus riche en protéines solubles que le lait de vache (VEINOGLU et al, 1982b).

### **3-2-1-La $\beta$ - lactoglobuline**

La  $\beta$  lactoglobuline est la protéine majeure du lactosérum caprin (FOX, 2003). Elle représente environ 55% soit plus de 4,4g /l de lait contre 25% pour le bovin (MEZA-NIETO et al, 2006).

Cette protéine possède une structure globulaire maintenue et stabilisée par deux ponts disulfures (EIGEL et al, 1984 ; FOX, 2003).

On y note aussi la présence, en un cœur central de feuillets  $\beta$  antiparallèles, formant un site de fixation hydrophobe (QIWU et al, 1997).

Cette dernière caractéristique permet la fixation de petites molécules hydrophobes telles les acides gras et explique la fonction supposée de cette protéine dans la fixation et le transport du rétinol, précurseur de la vitamine A (QIWU et al, 1997 ; FOX, 2003).

De plus, les travaux réalisés par MOULTI-MATI (1991), mettent l'accent sur le rôle majeur de cette protéine dans la prolifération cellulaire et donc par ce fait se révèle être un outil essentiel en culture cellulaire.

**Tableau 2** : Composition moyenne en g/litre et distribution des protéines dans le lait de diverses espèces animales (FAO, 2006).

Protéines	Vache	Bufflonne	Jument	Chèvre	Brebis
$\alpha$ -lactalbumine	1, 5 (45%)	2.50 (37%)	2.30 (26%)	2, 0 (25%)	1, 3 (10%)
$\beta$ -lactoglobuline	2, 7 (25%)	2, 70 (39%)	5, 30 (59%)	4.4 (55%)	8, 4 (67%)
Albumine sérique	0, 3 (5%)	0, 20 (3%)	0, 20 (2%)	0, 6 (7%)	0, 6 (5%)
Immunoglobulines	0, 7 (12%)	1.35 (20%)	1.10 (13%)	0.5 (6%)	2.3 (18%)
Protéose-peptone	0, 8 (1 3%)	-	-	0, 6(7%)	-
Total PS (100%)	6, 0 (100%)	6, 75 (100%)	9, 00 (100%)	8.10 (100%)	12, 6 (100%)
Caséine $\alpha$ -S	12, 0 (46%)	9, 30 (26%)	-	-	21 .0 (47%)
Caséine $\beta$	9, 0 (36%)	18, 20 (51%)	-	-	16, 1 (36%)
Caséine $\kappa$	3, 5 (13%)	-	-	-	4, 5 (10%)
Caséine $\gamma$	1, 5 (6%)	8.25 (23%)	-	-	3, 0 (6%)
Total CN (100%)	26, 0 (100%)	35.75 (100%)	13, 60 (100%)	26, 0 (100%)	44, 6 (100%)
Protides totaux	32,0	42,50	22,60	34,1	57,2

- : non déterminé

### 3-2-2-L' $\alpha$ -lactalbumine

Représentant environ 20 à 25% des protéines sériques (EBNER et BORDBEC, 1968 ; MARSHALL, 2004), l' $\alpha$ -lactalbumine, est une métalloprotéine globulaire, caractérisée dans sa structure par la présence de 4 ponts disulfures lui conférant une stabilité thermique remarquable (CHEFTEL et LORIENT, 1982 ; HAERTLE, 2000).

Il faut néanmoins noter que malgré une structure proche de celle du lysozyme, celle-ci ne présente pas d'activité enzymatique (HOUDEBINE, 1995 ; HAERTLE, 2000).

Toutefois l' $\alpha$ -lactalbumine, présente la particularité de fixer certains ions tel le calcium, le magnésium, le sodium, le potassium, le cuivre et le zinc et aussi et surtout elle intervient dans le processus de biosynthèse du lactose (EIGEL et al, 1984 ; RIBADEAU-DUMAS, 1991 ; HOUDEBINE, 1995 ; DE WIT, 1998 ).

### **3-2-3-Le sérum albumine**

Le sérum albumine est une protéine largement décrite dans le lait, il est toutefois clairement démontré qu'elle possède une similitude physique et immunologique accrue avec son homologue sanguin (EIGEL et al, 1984 ; LONNERDAL, 1985 ; SHUSTER et HARMON, 1990).

Ceci s'explique par le passage du sérum albumine du sang vers le lait, au travers des jonctions des vaisseaux sanguins de la glande mammaire (LONNERDAL, 1985).

Caractérisée par une forte tendance à l'agrégation (LIESKE et al, 2005), celle-ci se retrouve dans le lait associée au cuivre et au zinc, ce qui est en phase avec la capacité de cette protéine à lier un nombre élevé de ligands (LONNERDAL, 1985).

### **3-2-4-Les immunoglobulines**

D'une grande hétérogénéité, les immunoglobulines sont un groupe protéique complexe et différent significativement des autres protéines sériques (EIGEL et al, 1984). Sur les 5 classes d'immunoglobulines seules les Ig G, A et M se retrouvent dans le lait caprin (PARK, 2007).

La fonction protectrice largement connue de ces protéines, s'exprime à travers le lait d'une part par la protection des glandes mammaires et d'autre part par celle du nouveau né (CAFFIN et al, 1983 ; DE WIT, 1998 ; MARSHALL, 2004).

### **3-2-5-Les protéase-peptones**

Les protéase-peptones constituent une fraction protéique soluble après traitement thermique à 95°C pendant 30 minutes suivie d'une acidification au pH isoélectrique des caséines (KOLAR et BRUNNER, 1970 ; NG et al, 1970).

Les constituants de cette fraction se distinguent en fonction de leur origine : ceux issus de l'hydrolyse de la caséine  $\beta$  (composant 5 et 8) (LE BARS et GRIPON, 1993 ; KOLAR et BRUNNER, 1970 ; PAQUET, 1989) et le composant 3 (ou PP3) (NG et al, 1970 ; PAQUET, 1989), qui est une glycoprotéine phosphorylée, représentant le composant majeur de la fraction hydrophobe des protéase-peptones (MATI et al, 1991 ; LISTER et al, 1998).

### **3-2-6-La lactoferrine**

Métallo glycoprotéine fixatrice du fer (HURLEY et al, 1993 ; MARSHALL, 2004), la lactoferrine joue le rôle de promoteur dans l'absorption intestinale de celui-ci (HURLEY et al, 1993). De plus, du fait de son homologie avec la transferrine, elle est souvent qualifiée de lactotransferrine (VOJTECH et al, 2008). Connue pour ses propriétés bactériostatiques (SHUSTER et HARMON, 1990 ; MAUBOIS, 2002), par ferriprivation (MAYNARD et al, 1989), sa concentration dans le lait est un indice de résistance des glandes mammaires à l'implantation d'une infection bactérienne (SHUSTER et HARMON, 1990 ; RIBADEAU-DUMAS, 1991).

### **3-2-7-La lactoperoxydase**

Enzyme la plus abondante du lait (RIBADEAU-DUMAS et GRAPPIN, 1989).

la lactoperoxydase est connue pour son caractère bactéricide du fait qu'elle est le catalyseur de l'oxydation par le peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) du thiocyanate (SCN<sup>-</sup>) donnant naissance à l'hypothiocyanate (OSCN<sup>-</sup>) (RIBADEAU-DUMAS et GRAPPIN, 1989 ; RIBADEAU-DUMAS, 1991 ; MARSHALL, 2004), composé actif sur les bactéries Gram négatif (ZAPICO et al, 1991). Du fait de cette caractéristique bactéricide la lactoperoxydase est utilisée comme agent protecteur du lait cru en particulier dans les régions tropicales (RIBADEAU-DUMAS et GRAPPIN, 1989) et cela par l'ajout de faibles quantités de peroxyde d'hydrogène au lait de chèvre (ZAPICO et al, 1991).

## **4-Caractéristique médicinales :**

Le lait de chèvre est supposé porteur de vertus diététiques et thérapeutiques qui en font un produit de qualité. Il aurait une meilleure influence sur la prévention de l'ostéoporose et l'athérosclérose. Il préviendrait la prévention les inflammations des artères, et toutes les maladies dans lesquelles le stress oxydatif joue un rôle : inflammations, vieillissement, fertilité réduite chez l'homme, schizophrénie, cancer, maladie cardio-vasculaires.

Les oligosaccharides dans le lait de chèvre protègent contre les bactéries pathogènes dans les intestins , et stimulent la croissance des bifido-bactéries dans le tractus gastro- intestinal (FRANK, 2003).

Il existe également un nombre important d'espèces quantitativement mineures, dont certaines jouent un rôle essentiel dans la protection du petit. C'est le cas des immunoglobulines, la lactoferrine, la lactoperoxydase (DORA, 2007).

#### **4-1 Immunoglobulines**

D'une grande hétérogénéité, les immunoglobulines constituent un groupe protéique complexe et différent significativement des autres protéines sériques (EIGEL et al, 1984). Sur les 5 classes d'immunoglobulines seules les IgG, IgA et IgM se retrouvent dans le lait caprin (PARK et al, 2007). La fonction protectrice de ces protéines, s'exprime à travers le lait d'une part par la protection des glandes mammaires et d'autre part par celle du nouveau-né (DE WIT, 1998 ; MARSHALL, 2004).

#### **4-2 Lactoferrine**

Métallo glycoprotéine fixatrice du fer (HURLEY et al, 1993 ; MARSHALL, 2004) la lactoferrine joue le rôle de promoteur dans l'absorption intestinale de celui-ci (HURLEY et al, 1993). De plus, du fait de son homologie avec la transferrine, elle est souvent qualifiée de lactotransferrine (VOJTECH et al, 2008). Vu ses propriétés bactériostatiques (SHUSTER et HARMON, 1990), par Ferri privation (MAYNARD et al, 1989), sa concentration dans le lait est un indice de résistance des glandes mammaires à l'implantation d'une infection bactérienne (SHUSTER et HARMON, 1990 ; RIBADEAU-DUMAS, 1991).

#### **4-3 Lactoperoxydase**

Enzyme la plus abondante du lait (RIBADEAU-DUMAS et GRAPPIN, 1989) la lactoperoxydase est connue pour son caractère bactéricide du fait qu'elle est le catalyseur de l'oxydation par le peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) du thiocyanate (SCN) donnant naissance à l'hypothiocyanate (OSCN<sup>-</sup>) (RIBADEAU-DUMAS et GRAPPIN, 1989 ; RIBADEAU-DUMAS, et al, 1991). L'hypothiocyanate est un puissant antibactérien. Du fait de cette caractéristique bactéricide, la lactoperoxydase est utilisée comme agent protecteur du lait cru en particulier dans les régions tropicales (RIBADEAU-DUMAS et GRAPPIN, 1989).

## 5-La Qualités du lait de chèvre

### 5-1-Qualité nutritionnelle :

D'un point de vue énergétique, avec 710 contre 650 kcal/l pour le lait de vache, le lait de chèvre constitue une source importante d'énergie, expliquant ainsi de nombreuses observations de gain de poids chez l'enfant malade (DESJEUX, 1993; DE LA TORRE et al, 2008). De plus, celui-ci est d'une biodisponibilité supérieure au lait de vache (HOSSAINI-HILLALI, 1995).

La fraction lipidique du lait caprin est pauvre en acides gras polyinsaturés nécessaires au métabolisme humain, mais riches en acides gras à chaînes courtes et moyennes (C4 à C 10) favorisant la digestibilité (RAZAFINDRAKOTO et al, 1993 ; MAHE, 1997 ; BARRIONUEVO et al, 2001). Cette dernière est importante pour les protéines du lait de chèvre et dépasse celles du lait de vache (RAMOS et al, 2005 ; HEINLEIN et CACCESE, 2006).

### 5-2-Qualité microbiologique :

D'un point de vue microbiologique, la majorité des espèces de bactéries lactiques sont présentes dans le lait cru de chèvre. Le lait ovin et caprin constitue néanmoins un danger en tant que vecteur potentiel de la brucellose (DUMOULIN et PERETZ, 1993).

Les mammites sont les troubles sanitaires les plus fréquentes en élevage laitier. Ce sont des infections microbiennes de la mamelle, à l'origine d'une forte augmentation de la concentration en cellules somatiques (C C S) du lait (MORGAN, 1999 ; COULON et al, 2005). Pour le lait caprin, ces mammites sont sujettes à des variations saisonnières, avec de faibles concentrations en avril et de fortes concentrations en cellules somatiques en septembre (DROKE et al, 1992 ; GUILHERME et al, 2009).

Toutefois, le contenu en cellules somatiques d'un lait prélevé sur une chèvre saine est nettement plus important que celui provenant d'une vache saine (SANCHEZ et al, 2005).

En plus de l'impact sur la qualité microbiologique du lait, l'augmentation du nombre de cellules somatique dans celui-ci modifie la composition physico-chimique (JYOTI et al, 1988 ; CEBO et al, 2009).

C'est ainsi qu'on note une diminution du pH, des teneurs en lactose et en caséines, une augmentation de la lipolyse et une forte variation des équilibres salins (BALLOU et al, 1995 ; LEITNER et al, 2004 ; PULINA et al, 2008).

### **5-2-1-Activité lipolytique**

La lipolyse, dégradation enzymatique de la matière grasse du lait, conduit à la libération d'acides gras libres, ayant pour conséquence le développement de la flaveur particulière type "chèvre " mais peut aussi engendrer des défauts de flaveur à des niveaux de lipolyse trop élevées (LAURET, 2002a).

La lipolyse peut être induite et accentuée par des traitements mécaniques ou thermiques lors de la traite ou de la manipulation des laits (MORGAN et al, 2001; LAURET, 200

DEHARENG et al, 2004). Ces facteurs permettent aux lipases d'avoir un plus large accès aux triglycérides après que la membrane du globule gras assurant la dispersion de la matière grasse du lait ait été endommagée (CHILLIARD et LAMBERET, 1984 ; DANTHINE, 2000).

Le lait de chèvre, comme le lait de vache contient une lipase native possédant les caractéristiques d'une lipoprotéine lipase (LPL) (LE JAOUEN et al, 1990), thermolabile (KUZDZAL-SAVOIE, 1975) et n'agissant que très faiblement sur les triglycérides à courte chaîne (CHILLIARD et LAMBERET, 1981).

### **6-L'intérêt du lait de chèvre:**

La chèvre, de par son origine, son anatomie, sa physiologie et ses caractéristiques comportementales représente une ressource sous-estimée qui en même temps a un grand potentiel pour une augmentation de la production du lait (Seifu, 2007).

Des efforts pour le développement du cheptel bovin sont déployés, mais ce n'est pas le cas pour les autres espèces laitières, chèvres, brebis, chamelles, pourtant mieux adaptées à nos conditions agro-climatiques (Ramet, 1993). Par ailleurs, le lait de chèvre possède une qualité nutritionnelle importante : sa digestibilité, Haenlein et Caccese (1984) ont suggéré que le fort pouvoir tampon du lait de chèvre serait utile dans le traitement des ulcères gastriques, Haenlein (1993) a démontré que les protéines du lait de chèvre sont digérées plus facilement et ses acides aminés sont absorbés de façon plus efficace que ceux du lait de vache, Haenlein (1998) a relevé que le lait de chèvre, une fois acidifié, pourrait former un caillé plus doux et plus friable, donc, il peut être attaqué plus facilement et plus rapidement par les protéases de l'estomac, il peut présenter un avantage pour les gens souffrant de désordres gastro-intestinaux et d'ulcères.

Jeannes (1980) a démontré que le lait de chèvre contenait une concentration adéquate d'acides gras essentiels pour les enfants comme le lait de vache, mais dans des quantités légèrement supérieures pour certains spécimens. Juarez et Ramnos (1986) ont mis en évidence le fait que le lait de chèvre a de plus grandes quantités de petites molécules grasses que le lait de vache, de son côté, Devendra (1975-1980) a souligné l'existence dans le lait de chèvre d'acides gras à chaînes de courtes et moyennes longueurs (4 à 12 carbones), dans une proportion élevée (20%) par rapport au lait de vache qui n'en contient que 10 à 20%. Ceci peut contribuer à une meilleure digestibilité car les lipases attaquent les liaisons des acides gras à courte chaîne plus facilement qu'elles ne le font avec des chaînes longues, comme l'a décrit Jenness (1980).

De plus, Park (1994) a indiqué que les acides gras sont largement utilisés dans le traitement des patients souffrant de désordres divers liés à l'absorption, grâce à leur capacité métabolique unique à fournir de l'énergie, un cholestérol sanguin plus bas, à inhiber et limiter le dépôt de cholestérol dans les tissus et entraîner la dissolution des cholestérols. Haenlein (1988) a démontré que le lait de chèvre convient à l'enfant qui lui procure vitamines A et niacine et il lui fournit également une grande quantité de thiamine et de riboflavine (Seifu, 2007).

## **7-Les anomalies de la qualité du lait de chèvre :**

### **7-1-Anomalies d'origine physiologique :**

Les principales anomalies d'origine physiologique concernent la présence de colostrum ou de laits de fin de lactation. Les laits qui se caractérisent, en particulier, par une concentration anormale d'éléments par ailleurs normaux, présentent des risques qui sont essentiellement de nature technologique et ne constituent pas des produits dangereux pour le consommateur (Perrin, 1996).

### **7-2-Anomalies d'origine pathologique :**

Un certain nombre de germes infectieux peuvent être transmis par le lait : Brucella, bacille de la tuberculose, Chlamydia, Coxiella (fièvre Q), Salmonella, Listeria, Staphylocoques (mammites). D'autres anomalies peuvent être d'origine chimique: dues à la présence d'antibiotiques, d'antiseptiques ou de pesticides (Perrin, 1996).

## - Le genre *Lactobacillus*

### 1-Généralités

En 1896, le genre *Lactobacillus* a été décrit pour la première fois par Beijerinck, et l'espèce type était *Lactobacillus delbrueckii*.

Le genre Lb est le genre principal et de loin le plus grand et le plus diversifié de la famille des Lactobacillaceae, il comprend actuellement 158 espèces, sept de ces espèces sont constituées de 18 sous-espèces (Tab.3) (Zhang et Cai, 2014).

Il est également très hétérogène, englobant les espèces avec une grande variété phénotypique, biochimiques et physiologiques.

L'hétérogénéité se traduit par la gamme du pourcentage GC de l'ADN des espèces incluses dans ce genre. Cette gamme est de 32 à 55% (Zhang et Cai, 2014).

Nombreuses d'entre elles sont des agents de fermentation lactique intervenant dans de nombreuses industries ou qui sont rencontrées comme contaminants

(Dworkin et al 2006).

Ils sont Gram positive, immobiles, asporulés et catalase négative. On rencontre chez les Lb une variabilité de forme (fins, incurvés, coccobacilles ou bacilles) (fig.3) (De Vos et al, 2009).

La longueur des bacilles et le degré de courbure dépend de l'âge de la culture la composition du milieu (par exemple, la disponibilité des esters d'acide oléique) et le taux d'oxygène (De Vos et al, 2009).

Cependant, les principales différences morphologiques entre les espèces restent habituellement clairement reconnaissables. Certaines espèces de lactobacilles produisant du gaz (Par exemple, *Lb fermentum* et *Lb brevis*) présentent toujours un mélange de bacilles longs et courts

(Fig.3) (De Vos et al, 2009).

La division cellulaire se produit seulement sur un seul plan. La tendance à former des chaînettes varie selon les espèces et même des souches, ceci dépend de la phase de croissance et le pH du milieu (Zhang et Cai, 2014).

Les Lb sont des exigences nutritionnelles très complexes en acides aminés, vitamines, acides gras, nucléotides, glucides et en sels minéraux.

La température de croissance est comprise entre 2 et 53 ° C, avec un optimum entre 30 et 40 °C (De Vos et al, 2009).

Le pH de croissance est compris entre 3 et 8 avec un optimum habituellement allant de 5.5 à 6.2 (Zhang et Cai, 2014).

**Tableau.3:**Liste des espèces du genre Lactobacilles (Zhang et Cai, 2014).

Numéro	espèce	année	source	Métabolisme *	Phylogroupe **
1	<i>L. acetotolerans</i>	1986	Plant	FHE	delbrueckii
2	<i>L. acidifarinae</i>	2005	Sourdough	OHE	brevis
3	<i>L. acidipiscis</i>	2000	Meat products	FHE	salivarius
4	<i>L. acidophilus</i>	1970	Animals-NGI	OHO	delbrueckii
5	<i>L. agilis</i>	1982	Environment	FHE	salivarius
6	<i>L. algidus</i>	2000	Meat products	FHE	ss
7	<i>L. alimentarius</i>	1983	Meat products	FHE	alimentarius
8	<i>L. amylolyticus</i>	1999	Wine products	OHO	delbrueckii
9	<i>L. amylophilus</i>	1981	Plant	OHO	delbrueckii
10	<i>L. amylotrophicus</i>	2006	Plant	OHO	delbrueckii
11	<i>L. amylovorus</i>	1981	Plant	OHO	delbrueckii
12	<i>L. animalis</i>	1983	Animals-GI	OHO	salivarius
13	<i>L. antri</i>	2005	Animals-GI	OHE	reuteri
14	<i>L. apodemi</i>	2006	Animals-GI	FHE	salivarius
15	<i>L. aquaticus</i>	2009	Environment	OHO	salivarius
16	<i>L. aviarius ssp. araffinosus</i>	1986	Animals-GI	OHO	salivarius
17	<i>L. aviarius ssp. aviarius</i>	1985	Animals-GI	OHO	salivarius
18	<i>L. backii</i>	2013	Plant	OHO	backii-iwatensis
19	<i>L. bif fermentans</i>	1943	Dairy products	FHE	coryniformis
20	<i>L. brantae</i>	2012	Animals-GI	FHE	brantae-saniviri
21	<i>L. brevis</i>	1934	Animals-GI	OHE	brevis
22	<i>L. buchneri</i>	1923	Plant	OHE	buchneri
23	<i>L. cacaonum</i>	2009	Plant	FHE	salivarius
24	<i>L. camelliae</i>	2007	Plant	OHO	ss
25	<i>L. capillatus</i>	2008	Plant	OHO	salivarius
26	<i>L. casei</i>	1971	Dairy products	FHE	casei

27	<i>L. ceti</i>	2008	Animals-NGI	FHE	salivarius
28	<i>L. coleohominis</i>	2001	Animals-NGI	FHE	reuteri
29	<i>L. collinoides</i>	1972	Plant	OHE	collinoides
30	<i>L. composti</i>	2007	Plant	FHE	ss
31	<i>L. concavus</i>	2005	Environment	OHO	concavus- dextrinicus
32	<i>L. coryniformis</i> ssp. <i>coryniformis</i>	1965	Plant	FHE	coryniformis
33	<i>L. coryniformis</i> ssp. <i>torquens</i>	1965	Environment	FHE	coryniformis
34	<i>L. crispatus</i>	1970	Animals-NGI	OHO	delbrueckii
35	<i>L. crustorum</i>	2007	Sourdough	OHO	alimentarius
36	<i>L. curieae</i>	2013	Plant	OHO	curieae-senioris
37	<i>L. curvatus</i>	1996	Dairy products	FHE	sakci
38	<i>L. delbrueckii</i> ssp. <i>bulgaricus</i>	1984	Dairy products	OHO	delbrueckii
39	<i>L. delbrueckii</i> ssp. <i>delbrueckii</i>	1901	Plant	OHO	delbrueckii
40	<i>L. delbrueckii</i> ssp. <i>indicus</i>	2005	Dairy products	OHO	delbrueckii
41	<i>L. delbrueckii</i> ssp. <i>jakobsenii</i>	2013	Plant	OHO	delbrueckii
42	<i>L. delbrueckii</i> ssp. <i>lactis</i>	1984	Dairy products	OHO	delbrueckii
43	<i>L. delbrueckii</i> ssp. <i>sunkii</i>	2012	Plant	OHO	delbrueckii
44	<i>L. dextrinicus</i>	2009	Plant	OHE	concavus- dextrinicus
45	<i>L. diolivorans</i>	2002	Plant	OHE	buchneri
46	<i>L. equi</i>	2002	Animals-GI	OHO	salivarius
47	<i>L. equicursoris</i>	2010	Animals-NGI	OHO	delbrueckii
48	<i>L. equigenerosi</i>	2008	Animals-NGI	OHE	reuteri
49	<i>L. fabifermentans</i>	2009	Plant	FHE	plantarum

50	<i>L. farciminis</i>	1983	Meat products	OHO	alimentarius
51	<i>L. farraginis</i>	2007	Wine products	FHE	buchneri
52	<i>L. fermentum</i>	1901	Plant	OHE	reuteri
53	<i>L. floricola</i>	2011	Plant	OHO	ss
54	<i>L. florum</i>	2010	Plant	OHE	fructivorans
55	<i>L. formicalis</i>	2000	Animals-NGI	FHE	delbrueckii
56	<i>L. fructivorans</i>	1934	Plant	OHE	fructivorans
57	<i>L. frumenti</i>	2000	Sourdough	OHE	reuteri
58	<i>L. fuchuensis</i>	2002	Meat products	FHE	sakei
59	<i>L. futsaii</i>	2012	Plant	OHO	alimentarius
60	<i>L. gallinarum</i>	1992	Animals-GI	OHO	delbrueckii
61	<i>L. gasseri</i>	1980	Animals-NGI	OHO	delbrueckii
62	<i>L. gastricus</i>	2008	Animals-GI	OHE	reuteri
63	<i>L. ghanensis</i>	2007	Plant	OHO	salivarius
64	<i>L. gigeriorum</i>	2012	Animals-GI	OHO	delbrueckii
65	<i>L. graminis</i>	1989	Plant	FHE	sakei
66	<i>L. hammesii</i>	2005	Sourdough	FHE	brevis
67	<i>L. hamsteri</i>	1988	Animals-GI	FHE	delbrueckii
68	<i>L. harbinensis</i>	2006	Plant	FHE	perolens
69	<i>L. hayakitensis</i>	2007	Animals-GI	OHO	salivarius
70	<i>L. heilongjiangensis</i>	2013	Plant	ND	alimentarius
71	<i>L. helveticus</i>	1925	Dairy	OHO	delbrueckii

Numéro	espèce	année	source	Métabolisme *	Phylogroupe **
72	<i>L. hilgardii</i>	1936	Wine products	OHE	buchneri
73	<i>L. hominis</i>	2013	Animals-GI	OHO	delbrueckii
74	<i>L. homohiochii</i>	1957	Meat products	FHE	fructivorans
75	<i>L. hordei</i>	2008	Plant	OHO	salivarius
76	<i>L. iners</i>	1999	Animals-NGI	OHO	delbrueckii
77	<i>L. ingluviei</i>	2003	Animals-GI	OHE	reuteri
78	<i>L. intestinalis</i>	1990	Animals-GI	FHE	delbrueckii
79	<i>L. iwatensis</i>	2013	Plant	OHO	backii-iwatensis
80	<i>L. jensenii</i>	1970	Animals-NGI	FHE	delbrueckii
81	<i>L. johnsonii</i>	1992	Animals-NGI	OHO	delbrueckii
82	<i>L. kalixensis</i>	2005	Animals-GI	OHO	delbrueckii
83	<i>L. kefiranofaciens</i> ssp. <i>kefiranofaciens</i>	1988	Plant	OHO	delbrueckii
84	<i>L. kefiranofaciens</i> ssp. <i>kefirgranum</i>	2004	Plant	OHO	delbrueckii
85	<i>L. kefiri</i>	1983	Plant	OHE	buchneri
86	<i>L. kimchicus</i>	2008	Plant	FHE/OHE	collinoides
87	<i>L. kimchiensis</i>	2013	Plant	OHO	alimentarius
88	<i>L. kisonensis</i>	2009	Plant	OHE	buchneri
89	<i>L. kitasatonis</i>	2003	Animals-GI	OHO	delbrueckii
90	<i>L. koreensis</i>	2011	Plant	OHE	brevis
91	<i>L. kunkeei</i>	2012	Wine products	OHE	kunkeei-ozensis

92	<i>L. lindneri</i>	1997	Plant	OHE	fructivorans
93	<i>L. malefermentans</i>	1989	Wine products	OHE	ss
94	<i>L. mali</i>	1970	Plant	OHO	salivarius
95	<i>L. manihotivorans</i>	1998	Plant	OHO	manihotivorans
96	<i>L. mindensis</i>	2003	Sourdough	OHO	alimentarius
97	<i>L. mucosae</i>	2000	Animals-GI	OHE	reuteri
98	<i>L. murinus</i>	1982	Animals-GI	FHE	salivarius
99	<i>L. nagelii</i>	2000	Wine products	OHO	salivarius
100	<i>L. namurensis</i>	2007	Sourdough	OHE	brevis
101	<i>L. nantensis</i>	2006	Sourdough	FHE	alimentarius
102	<i>L. nasuensis</i>	2012	Plant	OHO	manihotivorans
103	<i>L. nodensis</i>	2009	Plant	FHE	alimentarius
104	<i>L. odoratitofui</i>	2010	Plant	OHE	collinoides
105	<i>L. oeni</i>	2009	Wine products	OHO	salivarius
106	<i>L. oligofermentans</i>	2005	Meat products	OHE	vaccinostercus
107	<i>L. oris</i>	1988	Animals-GI	OHE	reuteri
108	<i>L. oryzae</i>	2013	Plant	OHE	manihotivorans
109	<i>L. otakiensis</i>	2009	Plant	OHE	buchneri
110	<i>L. ozensis</i>	2011	Plant	OHE	kunkeei-ozensis
111	<i>L. panis</i>	1996	Sourdough	OHE	reuteri
112	<i>L. pantheris</i> thailandensis	2002	Animals-GI	OHO	pantheris-

Numéro	espèce	année	source	Métabolisme *	Phylogroupe **
113	<i>L. parabrevis</i>	2006	Plant	OHE	brevis
114	<i>L. parabuchneri</i>	2002	Animals-GI	OHE	buchneri
115	<i>L. paracasei</i> ssp. <i>paracasei</i>	1989	Dairy products	FHE	casei
116	<i>L. paracasei</i> ssp. <i>tolerans</i>	1989	Dairy products	FHE	casei
117	<i>L. paracollinoides</i>	2004	Environment	OHE	collinoides
118	<i>L. parafarraginis</i>	2007	Wine products	FHE	buchneri
119	<i>L. parakefiri</i>	1994	Dairy products	OHE	buchneri
120	<i>L. paralimentarius</i>	1999	Sourdough	FHE	alimentarius
121	<i>L. paraplantarum</i>	1996	Wine products	FHE	plantarum
122	<i>L. pasteurii</i>	2013	Animals-GI	FHE	delbrueckii
123	<i>L. paucivorans</i>	2010	Environment	OHE	brevis
124	<i>L. pentosus</i>	1987	Plant	FHE	plantarum
125	<i>L. perolens</i>	2000	Plant	FHE	perolens
126	<i>L. plantarum</i> ssp. <i>argentoratensis</i>	2005	Plant	FHE	plantarum
127	<i>L. plantarum</i> ssp. <i>plantarum</i>	1923	Plant	FHE	plantarum
128	<i>L. pobuzihii</i>	2010	Plant	FHE	salivarius

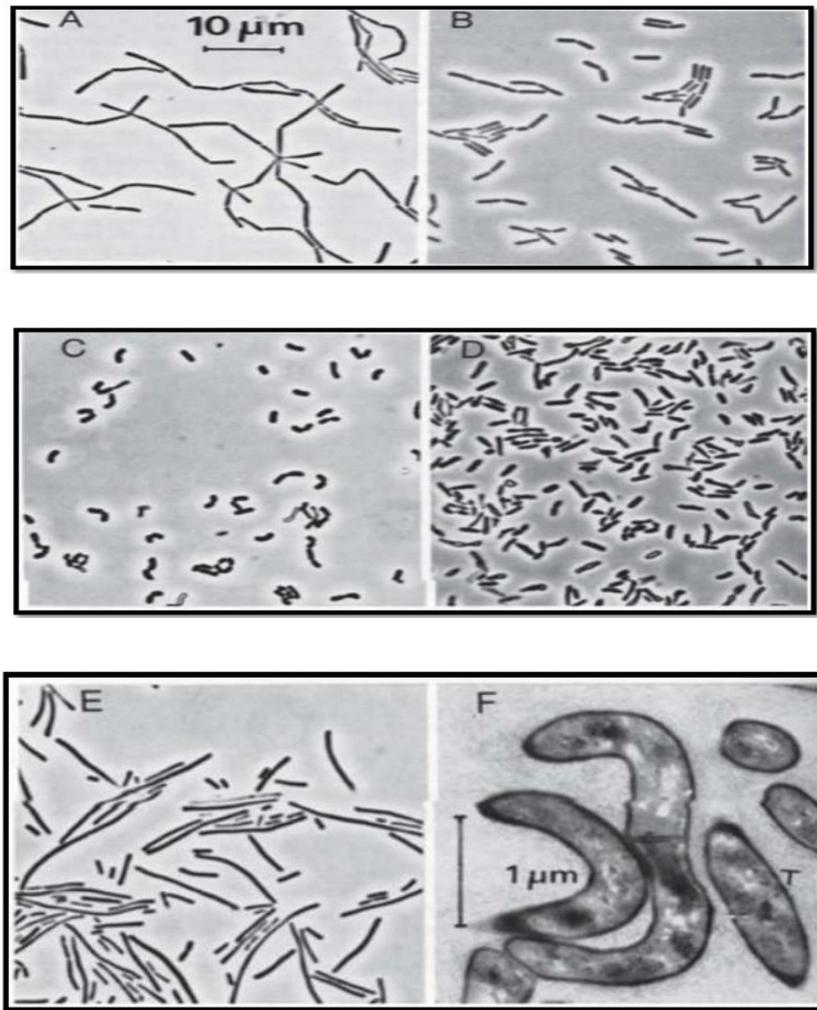
129	<i>L. pontis</i>	1994	Sourdough	OHE	reuteri
130	<i>L. porciniae</i>	2013	Environment	OHO	manihotivorans
131	<i>L. psittaci</i>	2001	Animals-NGI	OHE	delbrueckii
132	<i>L. rapi</i>	2009	Plant	OHE	buchneri
133	<i>L. rennini</i>	2006	Animals-NGI	FHE	poryniformis
134	<i>L. reuteri</i>	1982	Animals-GI	OHE	reuteri
135	<i>L. rhamnosus</i>	1989	Dairy products	FHE	casei
136	<i>L. rossiae</i>	2005	Sourdough	OHE	rossiae-siliginis
137	<i>L. ruminis</i>	1973	Animals-NGI	OHO	salivarius
138	<i>L. saerimneri</i>	2004	Animals-GI	OHO	salivarius
139	<i>L. sakei</i> ssp. <i>carneus</i>	1996	Meat products	FHE	sakei
140	<i>L. sakei</i> ssp. <i>sakei</i>	1996	Wine products	FHE	sakei
141	<i>L. salivarius</i>	2006	Animals-GI	FHE	salivarius
142	<i>L. sanfranciscensis</i>	1984	Sourdough	OHE	fructivorans
143	<i>L. saniviri</i>	2012	Animals-GI	FHE	brantae-saniviri
144	<i>L. satsumensis</i>	2005	Wine products	OHO	salivarius
145	<i>L. secaliphilus</i>	2007	Sourdough	FHE	reuteri
146	<i>L. selangorensis</i>	2011	Plant	OHO	ss
147	<i>L. senioris</i>	2012	Animals-GI	OHE	curicae-senioris
148	<i>L. senmaizukei</i>	2008	Plant	FHE	brevis

Numéro	espèce	année	source	Métabolisme *	Phylogroupe **
149	<i>L. sharpeae</i>	1982	Environment	OHO	ss
150	<i>L. shenzhenensis</i>	2013	Dairy products	OHE	perolens
151	<i>L. siliginis</i>	2006	Sourdough	OHE	rossiae-siliginis
152	<i>L. similis</i>	2010	Plant	OHE	collinoides
153	<i>L. spicheri</i>	2004	Sourdough	FHE	brevis
154	<i>L. sucicola</i>	2009	Plant	OHO	salivarius
155	<i>L. suebicus</i>	1989	Plant	OHE	vaccinostercus
156	<i>L. sunkii</i>	2009	Plant	OHE	buchneri
157	<i>L. taiwanensis</i>	2009	Plant	OHO	delbrueckii
158	<i>L. thailandensis</i> thailandensis	2007	Plant	OHO	pantheris-
159	<i>L. tuccei</i>	2009	Meat products	OHO	alimentarius
160	<i>L. ultunensis</i>	2005	Animals-GI	OHO	delbrueckii
161	<i>L. uvarum</i>	2009	Plant	OHO	salivarius
162	<i>L. vaccinostercus</i>	2006	Animals-NGI	OHE	vaccinostercus
163	<i>L. vaginalis</i>	1989	Animals-NGI	OHE	reuteri
164	<i>L. versmoldensis</i>	2003	Meat products	OHO	alimentarius
165	<i>L. vini</i>	2006	Plant	FHE	salivarius
166	<i>L. xiangfangensis</i>	2012	Plant	FHE	plantarum
167	<i>L. yonginensis</i>	2013	Plant	ND	brevis
168	<i>L. zaeae</i>	1996	Wine products	FHE	casei
169	<i>L. zymae</i>	2005	Sourdough	OHE	brevis

\* OHO: Homofermentaire; FHE: Hétérofermentaire facultative; OHE

: Hétérofermentaire obligatoire; ND : pas de données disponibles

\*\*Ss: une seule espèce



**Figure 3:** Contraste de phase (A-E) et d'électrons (F) des micrographies montrant la différence de morphologie des cellules de *Lb* (De Vos et al, 2009): A: *Lb gasseri*; B: *Lb agilis*; C: *Lb curvatus*; D, *Lb mineur*; E: *Lb fermentum*; et F, la forme de l'involution de *Lb* dans une lame mince d'un grain de kéfir.

## 2-Habitat de lactobacillus

Les lactobacilles ont un habitat vaste et ils sont présents dans de nombreux biotopes: eau, sol, lait et produits laitiers, végétaux, produits carnés, poissons, bière, vin, fruits et jus de fruits (Fredereghi, 2005).

Les lactobacilles constituent, entre autres, une part importante du microbiote humain et animal. Chez l'Homme sain, ils se retrouvent tout au long du système digestif : de la bouche au côlon.

Les espèces les plus rencontrées sont : *L. salivarius*, *L. plantarum*, *L. brevis*, le groupe

*L. casei*, *L. gasseri*, *L. reuteri*, *L. fermentum*, *L. vaginalis* Et *L. ruminis* (Reuter, 2001; Eckburg et al., 2005 ; Walter, 2008; Ozgun et Vural, 2011).

### **3-Classification**

Domaine : Bacteria

Embranchement : Firmicute

Classe :Bacilli

Ordre : Lactobacillales

Famille : Lactobacillaceae

Genre : *Lactobacillus*

### **4-Caractères cultureux et exigences nutritionnelles**

La plupart des lactobacilles se multiplie dans une gamme de température comprise entre 15°C et 42°C ; Certaines souches de Lb dites « thermophiles » restent viables à 55 °C (Adams et Moss, 2000 ; Tailliez, 2004). Les lactobacilles se développent au mieux dans des conditions acides, quand le pH avoisine les 4,5 à 6,4, mais leur croissance s'arrête lorsque le pH avoisine 3,5 (De Vos et al.,2009).

Le milieu le plus adapté à leur culture est celui De Man, Rogosa et Sharpe (MRS) ; Sur MRS gélosé, les colonies se développent en 24 à 48 heures. Elles sont généralement petites, incolores, blanchâtres ou jaunâtres, lisses ou rugueuses, arrondies ou lenticulaires (De Vos et al. 2009).

En plus de la source de carbone et d'azote, les Lb sont caractérisés par des exigences nutritionnelles nombreuses qui peuvent être classées selon De Man et al. (1960) ; De Vos et al. (2009) comme suit :

#### **4-1-exigences en vitamines**

Toutes les espèces ont un besoin absolu en vitamines telles que la pantothenate (B5), en niacine (B3) et en cobalamine (B12). Les déficiences en vitamine B12 peuvent induire une

diminution de la synthèse de l'ADN et entrainer des changements morphologiques et les cellules deviennent filamenteuses. Une telle élongation cellulaire a été observée avec

*L. helveticus sp jugurti* lors de déficiences en cobalamine (B12) ou en acide folique.

#### **4-2-exigences en bases azotées**

Dans les milieux synthétiques, les lactobacilles, exigent la présence d'adénine, de cytosine, de désoxyguanosine, de guanine, de thymidine et d'uracile. Ces exigences sont variables selon les espèces.

#### **4-3-exigences en cations**

Les ions  $Mg^{2+}$  et  $Mn^{2+}$  ou  $Fe^{2+}$  sont nécessaires pour la croissance des lactobacilles.

Il a été démontré que le manganèse et le magnésium interviennent comme activateurs d'un grand nombre de réactions enzymatiques et comme stabilisateurs de la structure des acides nucléiques, de l'intégrité des ribosomes et de la membrane cellulaire des lactobacilles.

### **5-Le métabolisme de Lactobacilles :**

À l'origine, les espèces du genre *Lb* ont été regroupés en fonction de leur température de croissance et leurs capacité à fermenter les hexoses, et par la suite en fonction de leur potentiel homo ou hétérofermentaire. Orla-Jensen (1919) a subdivisé ce groupe d'une manière similaire à celle des coques lactiques.

Ainsi, les sous-genres de *Lactobacillus* ont été créés: *Thermobacterium*, *Streptobacterium* et *Betabacterium*(tab.3). Remarquablement, cette division est toujours valide à un degré considérable, bien que les désignations aient été abandonnées et quelques modifications dans les définitions des sous-groupes ont été faites (Zhang et Cai, 2014; Salminen et al, 2004).

Ces subdivisions étaient revisitées par Pot et ses collègues en 1994, mais la définition acceptée «moderne» si on peut le dire comme ça est celle donnée par Hammes et Vogel en 1995 et qui divise le genre en 3 sous-genres sur la base du type des sucres fermentés et le processus de fermentation utilisé (Zhang et Cai, 2014; Salminen et al, 2004).

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

**-Groupe I** : formé des Lb homofermentaires stricts qui regroupent les espèces de l'ancien sous-genre Thermobacterium ne produisant presque exclusivement que de l'acide lactique à partir de la fermentation des hexoses par glycolyse. Ils ne peuvent fermenter ni les pentoses ni les gluconates.

**-Groupe II** : formé de Lb hétérofermentaires facultatifs qui regroupent les espèces de l'ancien sous genre Streptobacterium et qui fermentent les hexoses en acide lactique par glycolyse, et peuvent fermenter les pentoses en acide lactique et en acide acétique grâce à une phosphocétolase inductible.

Ils ne produisent pas de CO<sub>2</sub> lors de la fermentation du glucose mais ils en produisent lors de la Fermentation du gluconate

**-Groupe III** : formé de Lb hétérofermentaires stricts qui regroupent les espèces de l'ancien sous-genre Bêtabacterium, qui fermentent les hexoses en acide lactique, acide acétique (ou éthanol) et CO<sub>2</sub> (voie hétérofermentaire de 6-phosphogluconate déshydrogénase/phosphocétolase), et qui fermentent les pentoses en acide lactique et acide acétique (voie hétérofermentative de glycéraldéhyde-3-phosphate/pyruvate kinase/lactate déshydrogénase) (Zhang et Cai, 2014; Salminen et al, 2004; Bakhouché, 2006).

**Tableau 4** : Classification des lactobacilles (Kandler et Weiss in : Sneath et al., 1986)

Les groupes	Caractéristiques	Les complexes	Exemple : espèces et sous-espèces
Groupe I	Homofermentaires strict fermentent les hexoses par voie E.M.P, ne fermentent ni gluconate ni les pentoses.	<i>Lb. delbrueckii</i>	Trois sous-espèces : <i>delbrueckii, lactis, bulgaricus</i>
		<i>Lb. acidophilus</i>	<i>Lb. acidophilus, Lb. heverticus, Lb. amylovorus, Lb. crispatus, Lb. gassaeri, Lb. gallinarum, Lb. johnsonii</i>
		Autres espèces	<i>Lb. intestinalis, Lb. jonsonii, Lb. aviarius, Lb. hamsteri, Lb. kefiranofaciens, Lb. mali, Lb. acetotolerans, Lb. ruminus, Lb. vitulinus.</i>
Groupe II	Hétérofermentaires facultatifs, fermentent les hexoses par E.M.P et les pentoses	<i>Lb. plantarum</i>	<i>Lb. plantarum, Lb. pentosus et Lb. agilis</i>
		<i>Lb. casei</i>	<i>Lb. casei, Lb. paracasei, Lb. rhamnosus.</i>
		<i>Lb. bavaricus</i>	<i>Lb. bavaricus, Lb. curvatus, Lb. sake</i>
		Autres espèces	<i>Lb. uli, Lb. graminis.</i>
Groupe III	Hétérofermentaires stricts fermentent les hexoses et les pentoses.	<i>Lb. fermentum</i>	<i>Lb. fermentum, Lb. cellobiosis, Lb. reuteri et Lb. vavaginalis.</i>
		<i>Lb. brevis</i>	<i>Lb. brevis, Lb. buchneri, Lb. kefir, Lb. hilgardii, Lb. collinoides, Lb. oris, Lb. sanfrancisco, Lb. malfermentans.</i>
		Autres espèces	<i>Lb. fructivorans, Lb. suebicus, Lb. bifementans (seule espèce capable, selon le pH, de dégrader le glucose en acide acétique).</i>

## 6-Rôle des lactobacilles dans l'industrie agro-alimentaire

Les lactobacilles sont répartis dans la nature, et beaucoup d'espèces ont des applications dans les industries agroalimentaires. Elles sont en général plus tolérantes à l'acidité que les autres bactéries et peuvent, ainsi, terminer beaucoup de fermentations lactiques spontanées comme l'ensilage et les fermentations végétales (Mayra –Makinen et Bigret, 2004).

## 6-1-Les fonctions du ferment

Parmi les fonctions physiologiques des lactobacilles qui sont très importantes dans l'industrie alimentaire, et qui influence sur les qualités organoleptiques de l'aliment:

- Fermentation des sucres, amener le pH à un niveau bas, ce qui est important pour terminer le phénomène de caillage, et la réduction ou la prévention de la croissance de la microflore adventice;
- Hydrolyse des protéines, ce qui donne la texture et le goût de l'aliment;
- La synthèse des composants aromatiques (acétoïne, diacétyl);
- La synthèse des agents de texture (exopolysaccharides), ce qui peut influencer la consistance du produit.
- La production des composants inhibiteurs de la flore indésirable.
- La contribution à la fonction diététique de l'aliment.(Tamime, 2002; Mayra –Makinen et Bigret, 2004).

### Lactobacillus comme ferment dans l'industrie agro-alimentaire

Les lactobacilles sont très utilisés dans l'industrie, en laiterie, fromagerie, dans la fabrication de choucroute et interviennent dans les saumures et charcuteries. Dans les yaourts *Lactobacillus delbrueckii subsp. Bulgaricus* forme des peptides utilisés par

*Streptococcus. thermophilus* qui forme de l'acide formique qui est capable de le stimuler (synergie); L'arôme du yaourt est dû à l'acétaldéhyde formé à partir de thréonine par aldolase de *Lb. delbrueckii subsp bulgaricus*; Divers lactobacilles (*Lb. casei*, *Lb. plantarum*, *Lb. brevis*, *Lb. buchneri*...) interviennent pendant l'affinage des fromages.

*Lb. helveticus*, *Lb. lactis* et *Lb. delbrueckii subsp bulgaricus* agissent avec *S. thermophilus* dans les fromages à pâte cuite; Dans le kéfir *Lactobacillus. kefir*, *Lb. Kefiranofaciens* et d'autres lactobacilles mésophiles interviennent à côté de *Candida kefir*, d'autres levures de *Leuconostoc* et de bactéries acétiques.

Le rôle des lactobacilles est également important dans les végétaux fermentés; Dans les ensilages, il ya d'abord intervention des coliformes qui utilisent l'oxygène, puis de *Leuconostoc* et d'entérocoques, enfin de pédiocoques et de lactobacilles (*Lb. plantarum*,

*Lb. casei*, *Lb. brevis*, *Lb. curvatus*, *Lb. buchneri*, *Lb. acidophilus*, *Lb. graminis*...). Dans la choucroute, on observe une succession de flore voisine avec *Lb. Brevis* puis *Lb.plantarum*,

*Lb. curvatus*, *Lb. sake*... Dans les cornichons, on trouve *Lb. plantarum*, *Lb. brevis* au côté de *Leuconostoc . mesenteroides*, *Enterococcus. faecalis*, *Pediococcus cerevisiae* ; Dans certains pains les lactobacilles homo ou hétérofermentaires (*Lb. delbrueckii*, *Lb. acidophilus*,

*Lb. plantarum*, *Lb. brevis* et surtout *Lb. sanfrancisco*) interviennent au côté des levures.

Dans le vin, les lactobacilles participent à la fermentation malolactique (*Lb. plantarum*,

*Lb. casei*, *Lb. brevis*, *Lb. buchneri*, *Lb. hilgardii*, *Lb. fructivorans*, *Lb. mali*...) et à la dégradation de l'acide lactique: *Lb. plantarum*, *Lb. brevis* (Guiraudet Rosec, 2004; Giraffa et al., 2010).

## 6-2-Lactobacillus comme agent contaminant dans les aliments

Les lactobacilles contaminent fréquemment les produits alimentaires et sont agents de surissement. Dans les viandes, les lactobacilles provoquent le verdissement par action de l'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> qui transforme l'hémoglobine en choléglobine, ou de l'H<sub>2</sub>S qui forme de la sulfomyoglobine.

*Lb. brevis*, *Lb. casei*, *Lb. Plantarum* ont une action défavorable dans la bière ainsi que dans d'autres fermentations de grains pour la production d'alcool (whisky).

*Lb. casei*, *Lb. Plantarum* altèrent aussi les jus sucrés. Dans le cidre, un mauvais goût dû à l'acétate est provoqué par *Lb. brevis*, *Lb. plantarum*, *Lb. mali*.... Dans les produits conservés par des acides (pH 3,5-3,8; 4-5% d'acide acétique) *Lb. Acetotolerans* et d'autres lactobacilles (*Lb. plantarum*, *Lb. buchneri*, *Lb. brevis*, *Lb. delbrueckii*, *Lb. casei*, *Lb. fructivorans*) peuvent résister et causer des altérations (Guiraud et Rosec, 2004).

## 7-Effets des lactobacilles sur la santé

Depuis Metchnikoff et ses théories sur l'effet bénéfique des ferments lactiques, l'effet probiotique de certains lactobacilles a été est encore largement étudié (ISOLAURI et al. 2004).

Un des effets majeurs des lactobacilles sur la santé humaine décrits dans la littérature est leur rôle antagoniste vis à vis des bactéries pathogènes (SERVIN, 2004).

Les effets des lactobacilles sur les bactéries pathogènes reposent sur différentes propriétés telles que la capacité à adhérer aux cellules et d'inhiber ainsi l'adhésion des pathogènes,

l'inhibition de la croissance des pathogènes, la capacité d'entrer en compétition avec les pathogènes pour les ressources nutritives et la modulation de la réponse immunitaire de l'hôte (REID et BURTON, 2002).

Aujourd'hui, le débat reste encore ouvert sur l'innocuité des probiotiques, qui pourraient être des opportunistes notamment chez les patients immuno-déprimés (CANNON et al, 2005).

## **8-Les substances antibactériennes produites par les Lactobacilles**

Les bactéries peuvent produire un large éventail de substances antimicrobiennes ; La plupart des études ont porté sur les antimicrobiens Produits par les bactéries lactiques et associés des bactéries telles que les bactéries propioniques et les bifidobactéries ;Galvez et al (2010) pense que l'utilisation de cette propriété dans la préservation des aliments contre les agents Pathogènes représente une piste intéressante dans l'hygiène et la sécurité des aliments.

### **8-1. Acides organiques**

Après la fermentation des hexoses, l'acide lactique est produit par homofermentation ; Dans le cas d'une hétérofermentation; des quantités équimolaire d'acide lactique,acide acétique / éthanol et de CO<sub>2</sub> seront produites (Ouweland et Vesterlund, 2004).

Il a été depuis longtemps remarqué que les acides faibles ont un pouvoir antimicrobien plus élevé à pH faible qu'à pH neutre ;L'acide acétique est les plus forts inhibiteurs et dispose d'un large éventail d'activité inhibitrice, inhibition des levures, des moisissures et des bactéries tandis que l'acide propionique exerce un fort effet antimicrobien, en particulier contre les levures et les moisissures.

Cette forte activité antimicrobienne des acides acétique et propionique peut être expliquée en partie par leur pKa plus grand par rapport à celui de l'acide lactique (4,87, 4,75, et 3,08, respectivement) ;Par exemple, à pH 4, seulement 11% d'acide lactique est non dissocié, alors que 85% d'acide acétique et 92% d'acide propionique sont non dissociés,Lorsqu'un mélange d'acides est présent, il est probable que l'acide lactique contribue principalement à la réduction du pH tandis que l'acide propionique et acétique, qui deviennent non dissociés, sont les agents antimicrobiens réels.

En effet, il a été observés les mélanges d'acide lactique et acétique ont la capacité de réduire le taux de croissanc de *Salmonella.entericaser* ; var. *Typhimurium* plus que l'acide seul suggérant une activité synergique.

Cependant, en plus de la réduction du pH, il a été observé que l'acide lactique également perméabilise les membranes, ainsi, renforce l'activité d'autres substances antimicrobiennes. On suppose souvent que la molécule non dissociée est la forme toxique d'un acide faible, bien que les acides dissociés possèdent également un pouvoir d'inhibition de la croissance microbienne.

La forme non dissociée (neutre) de l'acide organique diffuse à travers la membrane cellulaire, car ils sont liposolubles (Bears on et al., 1997).

Toutefois, Après avoir pénétré dans la cellule, l'acide se dissocie car le pH cytoplasmique est généralement autour de neutre ; Beaucoup de chercheurs ont suggéré que la libération de protons dans le cytoplasme conduit à l'acidification et la dissipation du gradient de pH sur la membrane ce qui est à l'origine de l'inhibition de la croissance (Salmond et al. 1984; Blom et Mortvedt, 1991).

Toutefois, d'autres chercheurs suggèrent que cette hypothèse devrait être revue.

Il a été suggéré que ce n'est pas la translocation des protons, mais l'accumulation des anions est la principale cause de l'inhibition de la croissance observée (Eklund, 1980; Russell et al. 1992).

Il est proposé que l'anion réduise le taux de synthèse des macromolécules et affecte le transport sur la membrane cellulaire.

En particulier, les bactéries y compris les bactéries d'acide lactique, est généralement bactériostatique, alors que de nombreuses bactéries gram-négatives sont rapidement tuées (Ouwehand et Vesterlund, 2004; Zalan et al. 2010).

## **8-2-Dioxyde de carbone**

Le dioxyde de carbone (CO<sub>2</sub>) est principalement formé pendant la fermentation d'acide lactique hétérofermentaires des hexoses, mais aussi de nombreuses autres voies métaboliques produisent du dioxyde de carbone au cours de la fermentation.

Le dioxyde de carbone a un double effet antimicrobien; Sa formation crée un milieu anaérobie et le dioxyde de carbone, lui même, a une activité antimicrobienne, Le mécanisme de cette activité est inconnu, mais il a été suggéré que les décarboxylations enzymatiques sont inhibées et que l'accumulation de dioxyde de carbone dans la bicouche lipidique provoque un dysfonctionnement de la perméabilité membranaire, Lors de faible concentration du dioxyde

de carbone, la croissance de certains organismes peut être stimulée, tandis que des concentrations plus élevées peuvent empêcher la croissance.

En raison de son activité antimicrobienne, le dioxyde de carbone est maintenant couramment utilisé comme principal composant des emballages sous atmosphère modifiée.

Les bactéries Gram-négatives sont plus sensibles au dioxyde de carbone que les bactéries gram-positives (Ouwehand et Vesterlund, 2004; Zalan et al, 2010).

### **8-3-Diacétyl**

Le diacétyl (2,3-butanediol) a été identifié par van Niel et ses collègues (1929) comme l'arôme et le composant de goût du beurre.

En 1927, Lemoigne a décrit son activité antimicrobienne contre *Bacillus sp.*

Il est produit par les espèces et les souches de genres *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Streptococcus* et, ainsi que d'autres organismes.

Lorsque les hexoses sont métabolisés, la formation de diacétyl sera réprimée. Toutefois, le diacétyl peut être surproduit si le citrate est métabolisé.

Le citrate est converti par l'intermédiaire du pyruvate en diacétyl. Jay (1982) a observé que le diacétyl est de plus en plus efficace à pH7, Il a également été observé que l'activité antimicrobienne a été contrariée par la présence de glucose l'acétate, et le Tween 80.

Il a été trouvé que le diacétyl est plus actifs contre les bactéries à gram-négatif, les levures et les moisissures que contre les bactéries gram-positives; les bactéries lactiques ont été moins sensibles (Ouwehand et Vesterlund, 2004).

### **8-4-Substances antimicrobiennes à faible poids moléculaire**

Il ya plusieurs rapports sur la production de composants à faible poids moléculaire possédant une activité antimicrobienne par des bactéries lactiques.

En plus d'un faible poids moléculaire, ces composants partagent également d'autres propriétés: (a) actifs à faible pH, (b) thermostables, (c) large spectre d'activité, et (d) solubles dans l'acétone ;Des informations détaillées sur ces substances n'ont pas été publiées, Dans certains cas, d'autres chercheurs n'ont pas été capable de reproduire les résultats, La question est donc de savoir si les activités observées sont attribuées à des substances ou des produits

du métabolisme déjà déclarés ;Cela illustre les incertitudes entourant cette classe de substances antimicrobiennes, Trois substances antimicrobiennes à faible poids moléculaire ont été bien identifiées, la Reuterine, la Reutericyclin produites par *Lactobacillus. reuteri*, l'acide 2-Pyrrolidone-5-carboxylique produit par *Lactobacillus .casei subsp.casei*, *Lb. casei subsp. Pseudoplanatarum* et *Streptococcus . bovis* (Ouwehand et Vesterlund, 2004).

## **8-5-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 étudiés 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 à 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 (Fox et al. 2000).

# Partie pratique



**-Matériel et méthodes**

**I)- Matériel**

**Tableau 5:** Les appareillages et petit matériel utilisées.

Appareillage	petit matériel
Autoclave	Boîtes de Pétri
Plaque Chauffante	Pipettes Pasteur
Bain Marie	Tubes à Essai
Réfrigérateur	Erlen Meyer
Balance Electrique	Pipettes Graduées
Etuve	Bicher
Four pasteur	Lames
Bec benzène	Lance de platine
Microscope optique	Ver de montre
	Spatule
	Pince
	Flacons

**II)-Méthodes**

**1)-Provenance de l'échantillon du lait**

L'échantillon de lait cru de chèvre provienne de ferme d'élevages situé dans le village Wizert la commune d'Oued Taria Wilaya de Mascara.

La collecte du lait cru a été réalisée selon les règles d'hygiène et d'asepsie recommandées en microbiologie, c'est-à-dire après lavage à l'eau savonneuse, rinçage à l'eau javellisée puis séché avec une lingette stérile du pis de la chèvre, suivie d'une élimination des premiers jets de laits. C'est à partir de ce moment que le lait cru a été recueilli dans un flacon stérile ;L'échantillon a été transporté dans une glacière au laboratoire de microbiologie appliquée de l'université Dr. Molay Tahar Saida.

## 2) Isolement et purification des souches de Lactobacilles:

### 2) 1-Préparation des échantillons :

Le lait cru que nous avons collecté présente un aspect normal selon la description de Joffin(1992), car il a une couleur blanchâtre, opaque, le PH voisine la neutralité (PH=7) mesurée au niveau de laboratoire.

On a réalisé une série de dilutions décimales de lait ( $10^{-1}$  à  $10^{-10}$ ) effectuées avec d'eau physiologie.

A l'aide d'une pipette graduée de 10ml stérile on a prélevé 1ml de lait cru et ajouté soigneusement au tube contenant 9ml l'eau physiologie stérile, agiter le tube, au moyen d'une autre pipette stérile prélever 1ml de la dilution  $10^{-1}$  et en l'introduisant aseptiquement dans un tube à essai contenant 9 ml du diluant (eau physiologie) On obtient ainsi la dilution  $10^{-2}$  et on répète la même procédure jusqu'à la dilution  $10^{-10}$  (Guiraud, 2003).

### 2) 2-Milieus d'isolement:

Pour l'isolement des Lactobacilles, nous avons utilisés un milieu sélectif (MRS) pour éliminer et/ou ralentir la croissance des autres bactéries lactiques.

A partir de chaque dilution on a déposé 0,1ml dans une boîte de Pétri contenant du milieu MRS gélosé (de Manet al. 1960) ; On a étalé par la suite ces gouttes sur le milieu de cultures à l'aide d'un étaloir stérile.

Les boîtes sont incubées à 30°C pendant 48 à 72 heures en anaérobiose.

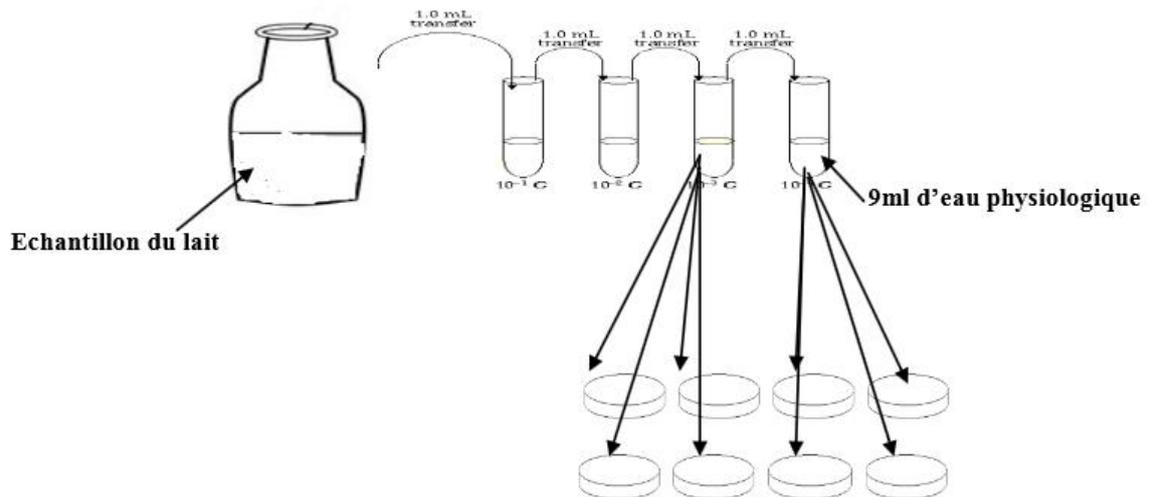
Après la croissance bactérienne, on a prélevés des colonies bien isolée et sur les quelles on effectue une coloration du GRAM et une recherche de la catalase ;Seules les bactéries

Gram +, de forme bacillaire et catalase – sont retenues et repiquées dans le MRS bouillon et incubé à 30°C. Après incubation ces cultures sont réensemencées sur le milieu MRS solide.

### **2) 3-La purification des souches**

On prend au hasard quelques colonies bien isolées et sont purifiés par repiquages successifs sur MRS gélose et bouillon (par la méthode des stries) jusqu'à l'obtention des colonies bien distincte et homogène ayant le même aspect extérieur (couleur, taille et forme) (Guiraud, 2004).

Ces colonies pures sont retenues pour la suite de l'étude.



1ml transférer et ensemer en surface dans MRS solide

Incubation à 30°C pendant 24h à 48h

Colonies blanchâtres de forme Lenticulaire

Réalisation de la coloration de Gram et le test de la catalase

Réensemencement dans le milieu MRS liquide

Incubation à 30°C pendant 24h à 48h

Ensemencement dans MRS solide par strie

Incubation à 30°C pendant 24h à 48h

**Figure 4:** Schéma résumant la méthode utilisée pour l'isolement et la purification des souches.

## **2)4-Conservation des souches**

- ✓ A court terme : Les souches sont ensemencées sur gélose MRS incliné en tube. Après incubation à 30 °C pendant 18 heures, les tubes sont conservés à + 4°C. Les repiquages se font toutes les trois ou quatre semaines (Badis et al. 2004).

## **3) Tests d'orientation pour le pré -identification des lactobacilles**

La pré-identification a été établie en se basant sur des caractères morphologiques et divers caractères biochimique et physiologiques.

### **3) 1-Tests morphologiques:**

#### **3)-1-1-Etude macroscopique**

Cette étude est basée sur l'observation visuelle de la culture des isolats sur milieu MRS Solide et liquide ; Pour caractériser la taille, la forme, l'aspect et la couleur des colonies sur milieu MRS solide (Badis et al, 2005) ;Et le trouble dans le milieu liquide.

#### **3)-1-2 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).

### **Coloration de gram**

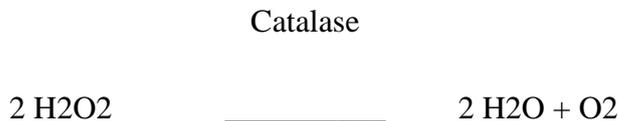
Nécessaire à l'observation microscopique car elle nous oriente suite aux formes observées vers les démarches à suivre pour les autres tests ; Cette étape sert à colorer les bactéries Gram- en rose et les Gram+ en violet.

-La coloration de Gram a été effectuée selon le protocole décrit par (Prescott et al. 2003). La technique est indiquée en annexe n°3.

### 3)- 2-Tests biochimiques :

#### 3) -2-1 Test de la catalase :

Chez les bactéries douées d'un métabolisme oxydatif, le système respiratoire compte parmi d'autres enzymes une catalase, celle-ci décompose l'eau oxygénée selon la réaction suivante :



La méthode de recherche de la catalase consiste à étaler une colonie sur une lame de verre sur laquelle on ajoute une goutte de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> et on observe immédiatement. L'apparition de bulles, signifie un dégagement gazeux de dioxygène: la souche est dite catalase +, pas de bulles: catalase -(Prescott et al. 2003).

#### 3)-2-2- VP/RM :

14 tubes contenant chacun 1ml de milieu Clark et Lubs sont ensemencés chaque souche dans un deux tubes (7 souches) à l'aide d'une anse , après incubation à 30°C ± 1°C pendant 18 à 48 h, on ajoute deux gouttes de réactif VP1 laisse deux minutes et on ajoutons vp2 dans un 7 tubes et deux gouttes de réactif RM dans l'autre.

- Une teinte rouge cerise indique une réaction VP positive.
- Une teinte rouge indique une réaction RM positive (Marchal et al. 1991).

#### 3)-2-3- Milieu Mannitol-mobilité :

Le mannitol est un produit de réduction du D-mannose. Il permet de rechercher simultanément la fermentation du mannitol et la mobilité. On a ensemencé les souches étudiées (7souches) dans le milieu par piqûre centrale, et incubé à 30°C pendant 18 à 24 h.

Le virage au jaune du milieu indique la fermentation du mannitol, une diffusion a partir de la ligne verticale d'ensemencement en créant un trouble dans la gélose indique la mobilité des bactéries (Marchal et al. 1991).

#### 3)-2-4-TSI (Gélose Glucose-Lactose-Saccharose-H<sub>2</sub>S):

A l'aide d'une anse contenant des colonies prélevées, on ensemence la pente puis le culot d'un tube par piqûre centrale. L'incubation se fait à 30°C pendant 48 à 72h.

- Une coloration jaune de la pente indique un lactose positif.
- Une coloration jaune du Culot montre un glucose positif.
- Une coloration jaune de la zone intermédiaire indique un saccharose positif.

Ce test permet également la production de H<sub>2</sub>S (noircissement de la zone joignant la pente et le culot) et de Gaz (bulles dans la gélose) (Marchal et al. 1991).

### **3)-2-5- Citrate de Simmons:**

Ce milieu ne contient qu'une seule source de carbone: le citrate. Seules les bactéries possédant une citrate-perméase sont capables de se développer sur ce milieu.

La pente du milieu est ensemencée selon une strie longitudinale au moyen d'une anse contenant une colonie et incubé à 30°C pendant 5 jours.

- Citrate-positive : culture avec alcalinisation du milieu (virage de l'indicateur au bleu).
- Citrate-négative : pas de culture (coloration verte de milieu inchangée) (Marchal et al. 1991).

### **3)-2-6 Galerie API 20 (bio Mérieux):**

La galerie API 20 comporte 20 microtubes contenant des substrats Déshydratés ;Les microtubes sont inoculés avec une suspension bactérienne (prélever une seule colonie bien isolée sur milieu MRS gélosé, et homogénéiser dans un tube contenant 5 ml d'eau physiologique).

Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition des réactifs.

La lecture de ces réactions se fait à l'aide du tableau de lecture, L'identification est obtenue à l'aide du catalogue analytique ou d'un logiciel d'identification.

### **3)-3-Tests physiologique**

#### **3)-3-1-Croissance en présence de 6.5 % de Na Cl**

Un tubes de 10 ml de MRS à 6,5% de Na Cl est ensemencé par un quelques gouttes de la culture bactérienne et incubé à 30 °C ou 37 °C pendant 48h. La croissance est comparée à celle d'un tube témoin sans de bactéries. La croissance bactérienne se traduit par la formation des troubles.

#### **3)-3-2-Thermorésistance:**

Des tubes contenant 10 ml de MRS liquide sont inoculés par les 7 souches étudiés, ensuite les tubes sont déposés dans un bain marie à 63,5°C pendant 30 min, après refroidissement brusque, elles sont incubées à 30°C pendant 48 à 72 h. Un résultat positif se traduit par un trouble.

#### **3)-3-3-Type fermentaire**

Ce test permet de différencier les Lb homofermentaires de celles hétérofermentaires. (Hassaine O, 2013).

De jeunes souches préalablement préparées sont ensemencées dans des 7 tubes contenant du bouillon MRS, avec une cloche de Durham. Après incubation à 37°C pendant 24 à 48 heures, la présence du gaz dans la cloche indique le type hétérofermentaire ;et l'absence indique le type homofermentaire.

### **4)-Etude de l'activité antimicrobien des souches Pathogènes :**

#### **4)-1-Méthode des disques**

Dans cette méthode, on a déposée 0,1ml de la souche indicatrice (*E.coli* ATCC25922, *Staphylococcus aureus* ATCC, *Klebseilla pneumoniae* ATCC4352) est réalisé sur la surface d'un milieu Miller Hinton ou gélose molle, ensuite a l'aide d'une pince imbibés des disques stériles de papier filtre dans la culture jeune à tester sont déposés sur ce tapis. Après incubation, les boites sont examinées pour la présence des zones d'inhibition

# Resultat et discussion



## Résultats de la pré-identification des isolats :

### 1- Caractérisation macroscopique:

#### 1-1- sur milieu solide :

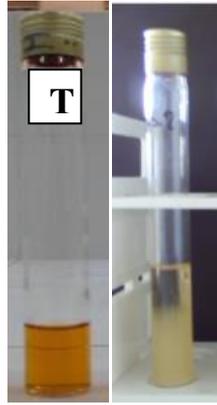
Pour les isolats testés, on a observé à l'œil nu sur milieu MRS solide des petites colonies d'environ 1mm de diamètre, de forme lenticulaire de couleur blanchâtres, avec une surface lisse et un contour circulaire régulier (Figure 5), nos résultat semblent a ceux trouvés par : (CARR et al.2002, Ana Belen Florez et al.2006, De Vos et al 2009).et semble pas avec (KIHAL, 1996).



Figure 5 : Aspect de Culture dans milieu MRS solide.

#### 1-2- Sur milieu liquide :

La croissance en milieu MRS liquide est caractérisée par l'apparition du trouble au fond du tube avec une zone transparente de 5 mm d'épaisseur à la surface du milieu liquide, le résultat obtenu est conforme aux ceux trouvés par (Kihal, 1996, CARR et al.2002, BADIS et al. 2004, Ana Belen Florez et al.2006, De Vos et al 2009).



**Figure 6:** Aspect de Culture dans milieu MRS liquide.

### 2-Test de catalase

Les 7 souches étudiées sont catalase négative car on n'a pas obtenu des bulles d'air après le dépôt de l'eau oxygénée sur la colonie cible, qui est conforme aux résultats trouvés par (Kihal, 1996, Carr et al. 2002, BADIS et al. 2004, HOGG, 2005) ce qui nous orient à déduire que les souches isolées sont des bactéries lactiques. Qui est conforme aux résultats trouvés par (Kihal, 1996, Carr et al. 2002, BADIS *et al.* 2004, HOGG, 2005), par contre les études de (Dellaglio et *al.* 1994) qui trouve les BL sont des pseudo-catalase.

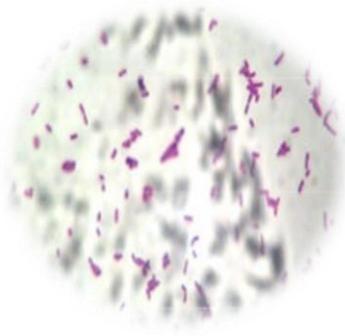
### 3-Characterisation microscopique:

Les 07 souches dominantes représentatives ont fait l'objet d'une étude microscopique, Les résultats obtenus suite a la coloration des Gram et au test de la catalase, montre que les 07souches sont des bâtonnets Gram positif et catalase négative, Toutes les souches présentent une forme cellulaire en bâtonnet, Le mode d'association varie d'une souche à l'autre, il est expliqué dans le tableau (6), Ces observations permettent de classer initialement les isolats selon le Gram, leurs morphologies cellulaires et leur mode d'association (Tabasco et al. 2007).

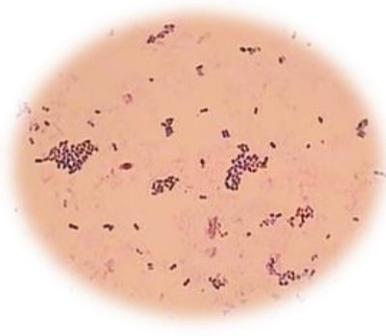
**Tableau 6:** Critères morphologiques, le gram et le test de la catalase des sept isolats présumés des Lactobacilles isolées de lait cru de chèvre.

Code des souches	Gram	Catalase	Forme	Mode d'association
Ch29(1)	+	-	bâtonnet	En chaînette et en diplobacilles
Ch29(2)	+	-	bâtonnet	En chaînette et en diplobacilles
Ch29(3)	+	-	bâtonnet	En chaînette
Ch29(4)	+	-	bâtonnet	En chaînette
Ch29(5)	+	-	bâtonnet	En chaînette
Ch29(6)	+	-	bâtonnet	En chaînette
Ch29(7)	+	-	bâtonnet	En chaînette

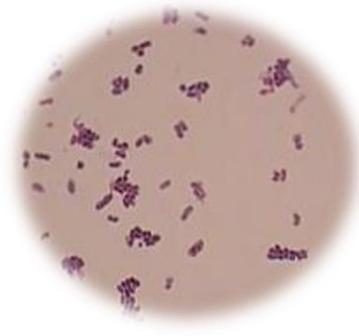
La coloration de Gram montre que tous les isolats sont de Gram positif et de forme bâtonnet, isolés ou regroupés en paire ou en chaînette (Figure 6), ces résultats en accord avec ceux de (Joffin et Leyral, 1996, Gancel et al. 1997, Felten et al. 1998, Badis et al. 2004, Hogg, 2005; Tabasco et al. 2007). Mais diffère des résultats trouvés par (Carr et al, 2002).



Ch29(1), (Ammam, 2017)



Ch29(2), (Ammam, 2017)



Ch29(3), (Ammam, 2017)



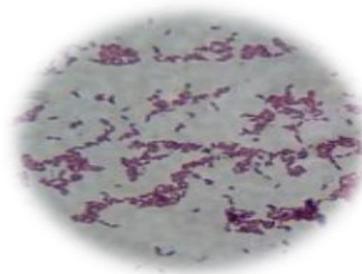
Ch29(4) (Ammam, 2017)



Ch29(5) (Ammam, 2017)



Ch29(6) (Ammam, 2017)



Ch29(7) (Ammam, 2017)

**Figure 7 :** Aspect morphologique cellulaire des cultures pures des isolats sous microscope (G  $\times$ 100).

#### 4-Tests biochimiques classiques :

Le tableau mentionné ci-dessous représente les résultats des tests biochimiques Classiques d'identification.

**Tableau 7** : Résultats des tests biochimiques classiques d'identification des souches isolées.

Souches	Mannitol mobilité		Clark et lubs		Citrates de Simmons	TSI				
	Man	Mob	RM	VP		H2S	Gaz	Glu	Lac	Sacch
Ch29(1)	-	-	+	-	-	-	+	+	+	Ch29(1)
Ch29(2)	-	-	+	-	-	-	+	+	+	Ch29(2)
Ch29(3)	-	-	+	-	-	-	+	+	+	Ch29(3)
Ch29(4)	-	-	+	-	-	-	+	+	+	Ch29(4)
Ch29(5)	-	-	+	-	-	-	+	-	-	Ch29(5)
Ch29(6)	-	-	+	-	-	-	+	+	+	Ch29(6)
Ch29(7)	-	-	+	-	-	-	-	-	-	Ch29(7)

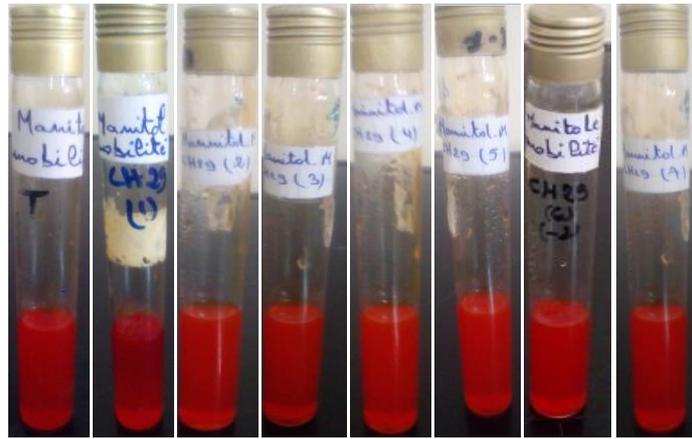
#### 4-1-Résultat de test de mannitol mobilité :

##### -Utilisation du mannitol

La fermentation du mannitol se traduit par une acidification du milieu qui sera mise en évidence par le virage de l'indicateur coloré du pH (le rouge de phénol). En ce qui concerne les souches étudiées, elle était mannitol (-) car n'observe pas un virage de couleur du milieu, (Figure 7) ceux résultats sont confirmés par les (Schleifer et Kilpper-Balz 1984, Devries et al 1991, Manero et Blanch 1999 HOGG, 2005 ; Mais n'accord pas avec les résultats des (Shillinger et Luck 1987, Charpe 1997).

##### -La mobilité

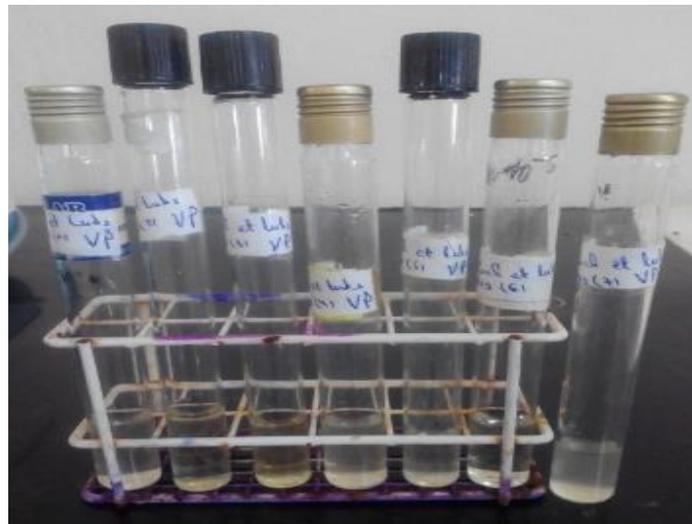
D'après notre étude, nous avons obtenu des résultats négatives concernant le test de mobilité avec toutes les souches testées Lb, Ces résultats sont corroborés par les études de (Khalid et Marth. 1990, Dellagio et al 1994, Gonzalz et al 2000, Holzapfel et al 2001, Geverz, 2002, De Vos et al. 2009). mais n'accord pas avec (Siegumfeldt et al, 2000).



**Figure 8** : Résultat de test de Mannitol Mobilité.

#### 4-2-Résultat de test VP :

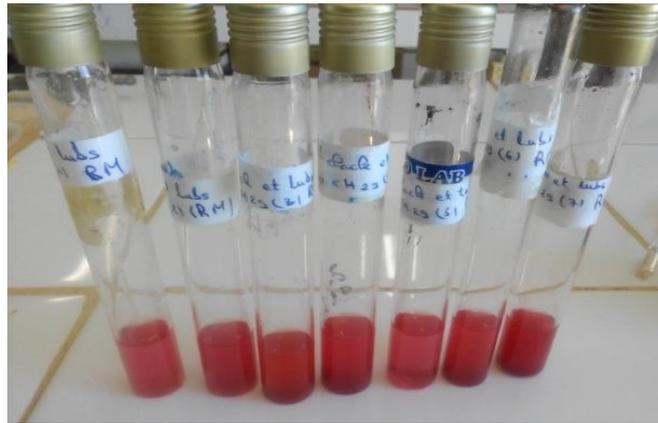
Dans le résultat obtenu on a remarquée pas d'apparition de coloration rouge donc, pas de fermentation du glucose par la voie butylène glycolique (pas de production d'acétoïne) : les 7souches testées sont VP - nos résultat semblent a ceux trouvés par. (Mayra-makien et Bigret, 1998; Frank et Hassan, 1998 ; Beal et al. 2008). Mais semblent différentes de ceux trouvés par (Zourari et al. 1992, Guessas et al 2006).



**Figure 9** : Résultat de test de Voges Proskauer VP.

### 4-2-2-Résultat de test RM :

Dans le résultat obtenu on a remarqué que la coloration de milieu reste rouge c'est à dire le milieu acide, donc cette observation traduit par la fermentation du glucose par la voie des acides mixtes (production d'acides forts) : souche RM +. Nos résultats sont proches de (van Niel et ses collègues 1929, Ouwehand et Vesterlund, 2004 Zalan et al, 2010), mais c'est différent par rapport Jay (1982).



**Figure 10:** Résultat de test RM.

### 4-3-Résultat de Citrate de Simmons :

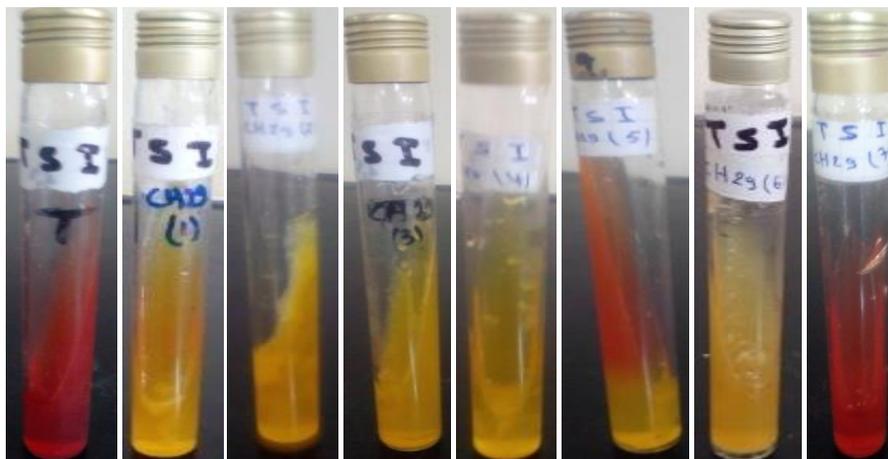
Le milieu de citrate de Simmons est un milieu synthétique où la seule source de carbone est le citrate. Dans ce test le résultat qui sont observées traduit par citrate de Simmons (-), alors que les 07 souches n'utilisent pas le citrate comme seule source de carbone. Ces résultats sont d'une part confirmées à ceux rapportés par (Man et al. 1960, Stamer 1976, Khalid et Marth 1990, Larpen et al. 1994, Jay 1996, Moulay, 2006). De Vos et al. 2009).mais non confirmée pas par (Sanchez et al, 2005).



**Figure 11** :Résultat de citrate de simons.

#### 4-5-Résultat de test TSI :

Au cours de notre étude, nous avons trouvé que les souches (Ch29 1, Ch29 2, Ch29 3, Ch29 4, Ch29 6) que nous avons analysées fermentent le lactose, le saccharose, le Glucose, pas production de gaz et sans production de H<sub>2</sub>S .La souche (Ch29 5) fermentée seulement le Glucose par contre la souche (Ch29 7) n observe aucune fermentation, production de gaz et de H<sub>2</sub>S.Selon (Hammes et Vogel en 1995, Fasoli et al. 2003 ;Salminen et al 2004, Syndifrais, 2005, Zang et cai 2014), qui divise le genre en 3 sous-genres sur la base du type des sucres fermentés et le processus de fermentation utilisé. En comparant nos résultats avec ces données, nous pouvons déduire que nos résultats obtenus avec le test TSI chez les souches testées sont en concordance avec les auteurs déjà cités.



**Figure 12** : Résultat de test de TSI.

**4-5-Résultat de test Galerie API 20 :**



**Figure 13 :** Résultat de test Galerie API 20.

**Tableau 8 :** lecture de résultat de test Galeries API.

Test	Ch29 1	cH29 2	cH29 3	cH29 4	cH29 5	cH29 6	cH29 7
ONPG	+	-	-	-	+	+	-
ADH	-	+	-	-	-	-	-
LDC	-	-	-	-	-	-	-
ODC	-	-	-	-	-	-	-
CIT	-	-	-	-	-	-	-
H2S	-	-	-	-	-	-	-
URE	-	-	-	-	-	-	-

TDA	-	-	-	-	-	-	-
IND	-	-	-	-	-	-	-
VP	-	-	-	-	-	-	-
GEL	-	-	-	-	+	-	-
GLU	-	-	-	-	-	-	-
MAN	-	-	-	-	-	-	-
INO	-	-	-	-	-	-	-
SOR	-	-	-	-	-	-	-
RHA	-	-	-	-	-	-	-
SAC	-	-	-	-	-	-	-
MEL	-	-	-	-	-	-	-
AMY	-	-	-	-	-	-	-
ARA	-	-	-	-	-	-	-

+ Croissance positive    - Croissance négative

## 5-Résultat des tests physiologies

### 5-1-Résultat de Croissance en présence de 6.5 % de Na Cl :

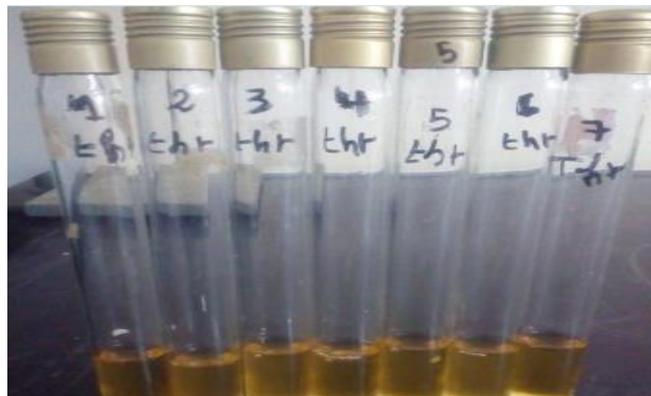
Nous avons remarqué que toutes les souches testées capable de croitre sur milieu MRS liquide en présence de 6.5% de Na Cl. Ces résultats sont en accord avec les résultats décrits par (Barefoot et Klaenhamer 1994, Carr et al. 2002, Mathara et al.2004, Walsh et al 2008,Saidi et al 2011,Mami et al 2012).mais n'accord pas avec (Sharpe 1979, Balows et al 1991).



**Figure 14** : Résultat de Croissance en présence de 6.5 % de Na Cl

### 5-2-Résultat de thermorésistance :

Ce test permet de faire la différence entre les Lb mésophiles et thermophile (Badis et al 2004). Nous avons remarquée que toutes les souches testées n'ont pas des Thermorésistantes (après traitement à 63,5 C° pendant 30 min).donc on a déduit que les souches étudiées sont des mésophiles .Ces résultats sont semblent par les résultats qui sont décrits par (Carr et al. 2002, Badis et al 2004).mais n'accord pas avec le résultat de (Mami 2012).



**Figure 15** : Résultat de thermorésistant.

### 5-3-Résultat de type fermentaire :

Ce test permet de différencier les isolats homolactiques des hétérolactiques après une incubation à 30°C pendant 24 heures jusqu'à 72 heures (GUIRAUD 2003) ;Selon les résultats obtenu la plus parts des souches sont hétérofermentaires (Ch29 1, Ch29 2, Ch29 4, Ch29 5, Ch29 6, Ch29 7) où il y a un dégagement de gaz qui va poussée la cloche de Durham vers le haut, alors que on a déduit la souche (Ch29 3) est homofermentaire. Les lactobacilles se

répartissent en trois groupes selon leur profil fermentaire, d'après la classification (de Kandler et Weiss 1986, Orla-Jensen 1991, Boutazzi 1988, Thompson et al. 1994, Vandamme et al 1996, Laurent et al. 1998, LARPEN2000, GUIRAUD2003, SEBASTIEN, 2008) donc les résultats obtenus ont été proche de ceux trouvés par des auteurs. mais n'accord pas avec Leveau et Bouix, 1993 ; Pilet et al, 2005.



**Figure 16 :** Résultat de type fermentaire.

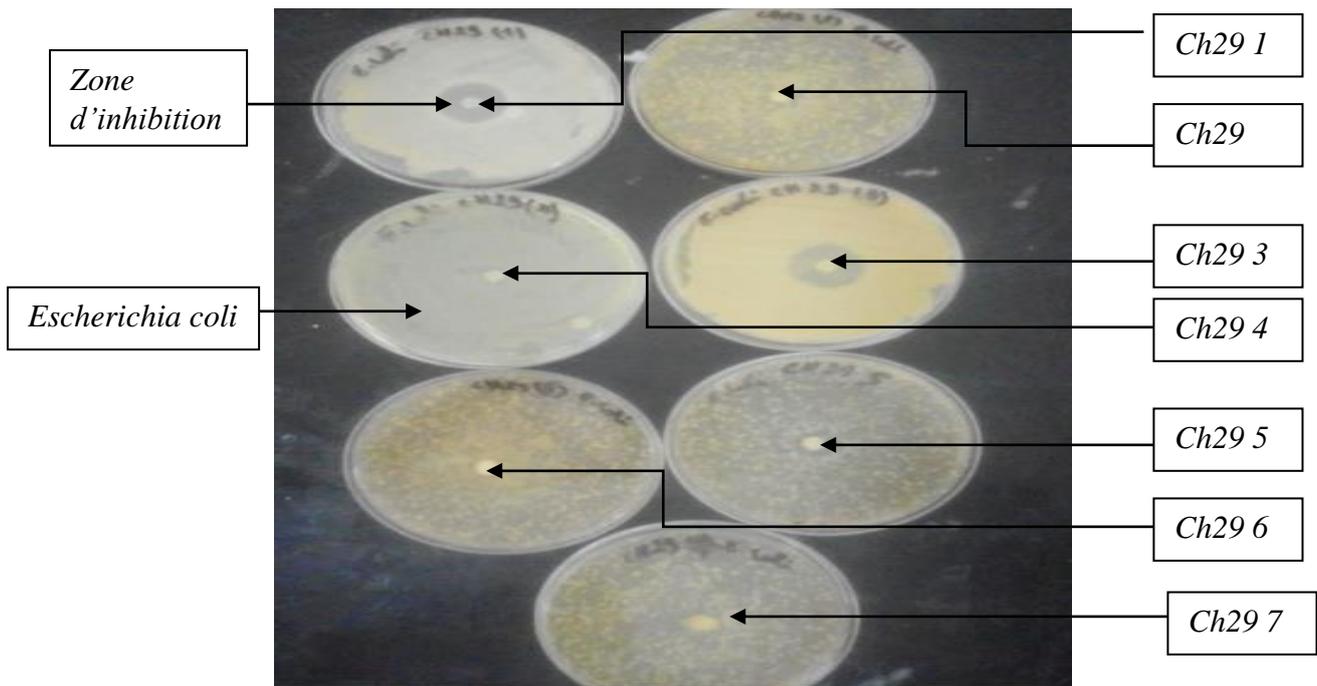
### **6-Résultats de l'activité antimicrobienne contre les souches pathogènes:**

La capacité de compétition de bactéries lactiques résulte de leurs activités fermentaires associées à la production de divers composés antimicrobiens dans le but d'inhiber la prolifération de microorganismes. De nombreuses substances à activité antagoniste produites par les bactéries lactiques ont régulièrement été mises en évidence (Rodrigues et al. 2002).

Les bactéries lactiques produisent de nombreux métabolites aux propriétés antimicrobiennes tels que les acides organiques, le peroxyde d'hydrogène, le dioxyde de carbone, le diacétyl et les bactériocines (Dortu et Thonart, 2009).

**6-1-Antagonisme *Lactobacillus* /*Escherichia coli* ATCC 25922**

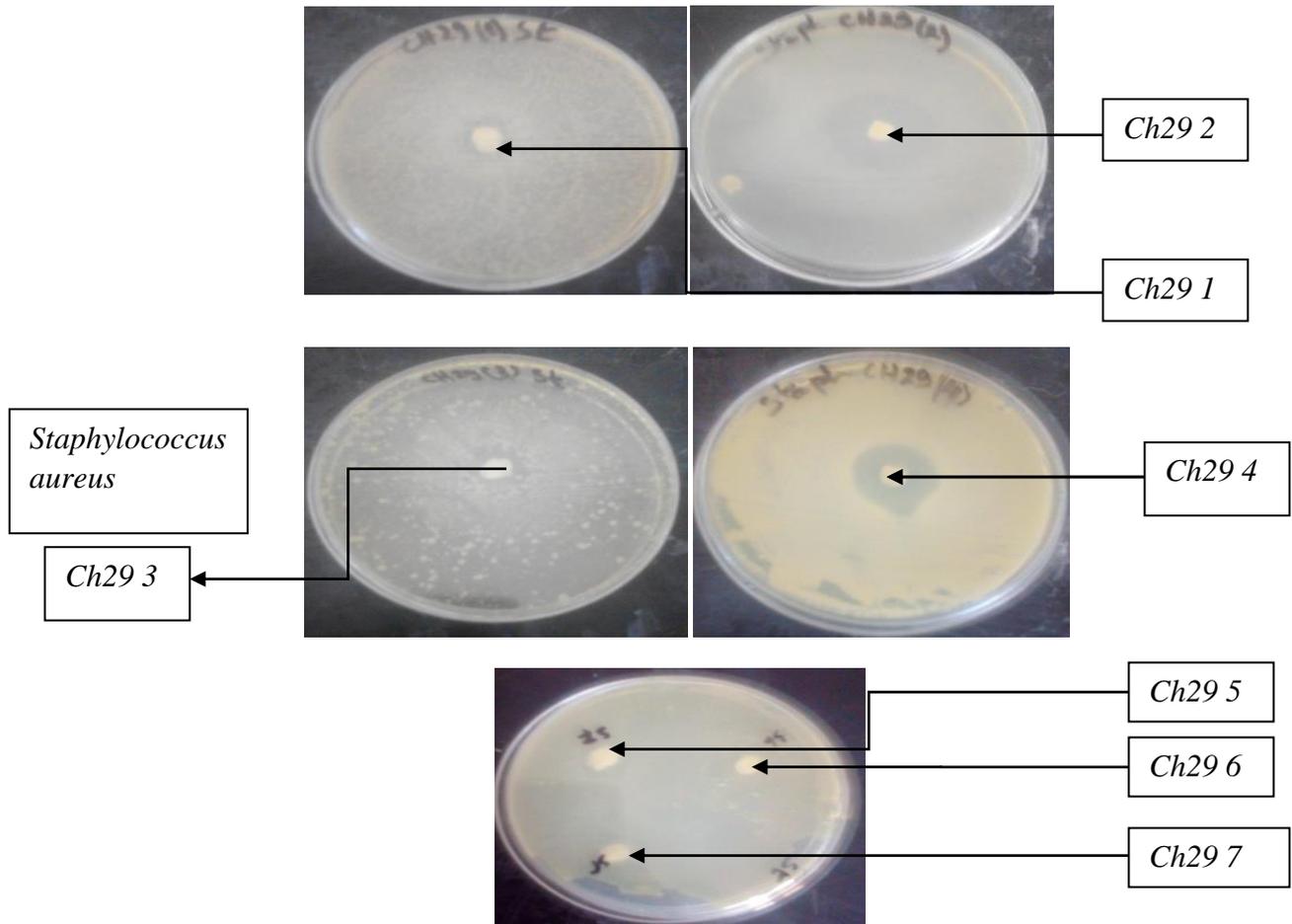
En remarquant Dans la figure 17, un diamètre de zone d'inhibition allant de 12mm à 19 mm pour les souches ouches (Ch29 1, Ch29 2, Ch29 3, Ch29 4, Ch29 5, Ch29 7). Et l'autre souche (Ch29 6) est dépourvue de zone d'inhibition. Selon (Schillinger et Lucke, 2001) L'inhibition est notée actif lorsqu'elle est supérieure à 8 mm et les autres souches ne sont pas actif vis-à-vis à la souche pathogène.



**Figure 17:** Résultat Antagonisme *Lactobacillus* /*Escherichia coli* ATCC 25922.

**6-2-Antagonisme *Lactobacillus* /*Staphylococcus aureus* ATCC**

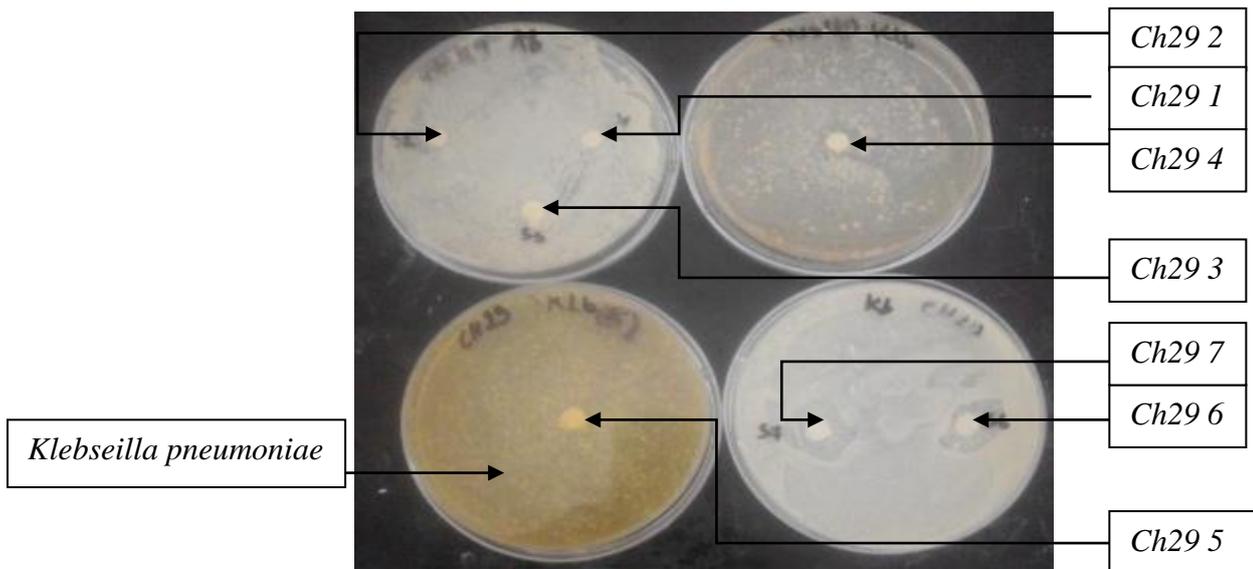
En remarquant Dans la figure 18, un diamètre de zone d’inhibition allant de 12mm à 19 mm pour les souches (Ch29 1, Ch29 2, Ch29 3,Ch 29 5) et les autres souches sont dépourvues de zone d’inhibition. Selon (Schillinger et Lucke, 2001) L’inhibition est notée actif lorsqu’elle est supérieure à 8 mm et les autres souches ne sont pas actif vis-à-vis à la souche pathogène.



**Figure 18 :** Résultat Antagonisme *Lactobacillus* /*Staphylococcus aureus* ATCC.

### 6-3-Antagonisme *Lactobacillus* /*Klebseilla pneumoniae* ATCC 4352

En remarquant Dans la Figure 19, un diamètre de zone d'inhibition allant de 12mm à 19 mm pour les souches ouches (Ch29 3, Ch29 4, Ch29 6, Ch297). Les autres souches (Ch29 1, Ch29 2 , CH29 5) sont dépourvues de zone d'inhibition, L'inhibition est notée positive lorsqu'elle est supérieure à 8 mm (Schillinger et Lucke, 2001) et les autres souches ne sont pas actif vis-à-vis à la souche pathogène.



**Figure 19:** Antagonisme *Lactobacillus* /*Klebseilla pneumoniae* ATCC 4352

Conclusion

### Conclusion:

L'isolement et la pré-identification des bactéries lactiques appartenant au genre *Lactobacillus* a été effectué à partir du lait de chèvre provient de la région de Wizert wilaya de Mascara. Les 07 souches isolées ont été caractérisées par leur forme de bâtonnet, gram positif, catalase négative.

Ces 07 isolats sont retenus et ont subi des tests Morphologiques, physiologiques et biochimiques pour la pré-identification de l'espèce.

La détermination de leur capacité à produire des substances inhibitrices contre les souches cibles pathogènes (*staphylococcus aureus* ATCC 25923 et *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae*) a été démontrée par contact direct cellule-cellule entre la souche productrice et la souche indicatrice, Le test de l'antagonisme a montrée l'effet inhibiteur de nos souches vis-à-vis des souches cibles pathogènes.

Nous avons montré que la plupart des souches lactiques étaient productrices d'agent inhibiteur contre *Staphylococcus. aureus* , *Escherichia .coli* et *Klebsiella. pneumoniae*.

Ces observations ouvrent des Perspectives futures:

- Etude de l'aptitude technologique de nos isolats (Protéolyse, lipolyse).
- La capacité de produire des substances antimicrobiennes.
- Etude de cinétique de croissance et d'acidification.
- Identification moléculaire des isolats.

**Annexe**

## ANNEXES

**Annexe 1:** Composition des milieux de cultures (g/l)**Milieux solides****❖ Milieu MRS (De Man, Rogosa and Sharpe, 1960)**

Extrait de levure	5 g
Extrait de viande	10 g
Peptone	10 g
Acétate de sodium	5 g
Citrate de sodium	2 g
Glucose	2 g
MgSO <sub>4</sub>	0,25 g
MnSO <sub>4</sub>	0,05 g
Cystéine-HCl	0,5 g
Eau distillée	1000 ml

pH =6,8

Autoclavage 120°C, 20 min

**❖ Milieu Mueller-Hinton (Mueller et Hinton, 1941)**

Infusion de viande de bœuf	3000 cm <sup>3</sup>
Peptone de caséine	17,5 g
Amidon de maïs	1,5 g
Agar-agar	17 g
Eau distillée	1000 ml

pH=7.4

Autoclavage 120°C, 20 min

**❖ Gélose- Glucose – Lactose – Saccharose – H<sub>2</sub>S( Ou milieu TSI ):**

Extrait de viande de boeuf .....	3 g
Extrait de levure .....	3 g
Peptone .....	20 g
Chlorure de sodium .....	5 g
Citrate ferrique .....	0,3 g
Thiosulfate de sodium .....	0,3 g
Lactose .....	10 g
Glucose .....	1 g
Saccharose.....	10 g

Rouge de phénol ..... 0,05 g  
Agar..... 12 g  
Eau distillée q.s.p ..... 1000 ml  
pH=7,4

❖ **Mannitol-mobilité :**

Peptone tryptique de viande ..... 20 g  
Agar.....4 g  
Mannitol ..... 2 g  
KNO<sub>3</sub>..... 1 g  
Rouge de phénol à 1 % ..... 4 ml  
Eau distillée q.s.p ..... 1000 ml  
pH=7.6-7.8

❖ **Citrate de Simmons :**

Ammonium dihydrogenophosphate..... 1g  
Phosphate de dipotassique .....1g  
Chlorure de sodium..... 5g  
Citrate de sodium..... 2g  
Sulfate magnésium..... 0,2g  
Bleu de bromothymol..... 0,08g  
Agar .....15g  
Eau distillée .....1000 ml  
pH 6,8□

❖ **Gélose Molle**

Peptone.....10g  
Extrait de levure......5g  
Nacl.....10g  
Agar.....9g  
Eau distillée.....1000ml  
PH :7

**Milieux liquides****❖ Eau physiologique**

Chlorure de sodium.....	8,5 g
Peptone.....	0,5
Eau distillée.....	1000 ml

pH =7

AUTOCLAVAGE : 120° C PENDANT 20 MINUTE

**❖ Bouillon MRS:**

Peptone .....	10g
Extrait de viande .....	.8g
Extrait de levure .....	4g
Glucose .....	20g
Acétate de sodium trihydraté .....	5,0 g
Citrate d'ammonium .....	2,0 g
Tween 80 .....	1,0 ml
Hydrogénophosphate de potassium .....	2,0 g
Sulfate de magnésium heptahydraté .....	0,2 g
Sulfate de manganèse tétrahydraté .....	0,05 g
Eau distillée .....	1000 ml

pH = 6.2

**❖ Clark et Lubs :**

Peptone trypsique ou poly peptone .....	5 – 7 g
Glucose .....	5 g
Phosphate dipotassique .....	5 g
Eau distillée q.s.p .....	1000 ml

pH =7

**Annexe 2: les composition des colorants utilisés****❖ Violet de gentiane au cristal :**

Violet de gentiane .....	10g (ou 5g)
Phénol .....	20g
Ethanol à 0.95 .....	100 cm <sup>3</sup>
Eau distillée .....	1 dm <sup>3</sup>

**❖ Lugol :**

Iode .....	5g
IO dure de potassium .....	10g
Eau distillée qsp .....	1g

**❖ Fuchsine de Ziehl :**

Fuchsine bosique .....	10g
Phénol .....	50g
Ethanol à 0.5 .....	10cm <sup>3</sup>
Eau distillée .....	1dm <sup>3</sup>

**❖ Rouge de Méthyle**

Rouge de méthyle .....	0, 5g
Alcool .....	80%

---

**Annexe 3:**

**❖ Coloration de Gram**

- 1-Déposer une goutte d'eau physiologique stérile sur une lame bien propre
- 2-Prélever un échantillon de colonie et mélanger avec la goutte d'eau, strier et sécher par passage rapide sur la flamme d'un bec benzène
- 3-Couvrir le frottis par du cristal violet pendant 60 secondes
- 4-Laver l'excès du colorant avec de l'eau distillée
- 5-Couvrir de lugol pendant 30 secondes
- 6-Laver à l'eau distillée pendant 5 secondes
- 7-Rincer immédiatement le frottis avec le mélange alcool-acétone en inclinant la lame et par goutte à goutte jusqu'à disparition complète de la coloration violette
- 8-Laver à l'eau distillée pendant 5 secondes
- 9-Couvrir avec de la fuschine pendant 15 secondes
- 10-Laver à l'eau distillée pendant 10 secondes
- 11-Déposer une goutte d'huile à immersion sur le frottis et observer au microscope à un fort grossissement.

Les cellules Gram+ absorbent la couleur du cristal violet et demeurent bleues violettes en apparence, contrairement aux cellules Gram-qui apparaissent distinctement rosâtres.

# Référence bibliographique

---

**Référence bibliographique**

- **Adams MR, Moss MO (2000).** Food Microbiology. Second Edition, The Royal Society of Biochemistry éd. Cambridge. UK. pp. 318-323.
- **ASSENAT L. (1967).** Contribution à l'étude d'une méthode d'identification des laits et fromages au moyen de l'électrophorèse sur gel de polyacrylamide. Première partie. Lait, 468, 393-414.
- **Badis A., Laouabdia-Sellami N., Guetarni D., Kihal M. et Ouzrout R.2004.** Caractérisation phénotypique des bactéries lactiques isolées à partir de lait cru de chèvre de deux populations caprines locales « Arabia et Kabyle ».Sciences & Technologie N°23.Pp:30-37.
- **Bekhouche F.2006.**Bactéries lactiques du lait cru de vache et Microorganismes pectinolytiques des olives noires et vertes (1. Isolement et Identification biochimique. 2. Evaluation et Optimisation de la production d'enzyme polygalacturonase).Thèse de doctorat.Université De Mentouri Constantine.
- **BLOOMFIELD V A. and MEAD JR R J. (1974).** Structure and stability of casein micelles. Journal of Dairy Science, 58 (4), 592-601.
- **BOSS ET J-O; ALBRECHT B; BADERTSCHER R. (2000).**Caractéristiques microbiologiques, chimiques et sensorielles de lait, de caillés et de fromage de chèvre de type Foermlaggini (buxion, robiola) et Foermagella. Péd . LAIT. France: C N R S, 95 (5), pp.546-580.
- **BOULANGER A., GROSCLAUDE F. et MAHE M-F. (1984).** Polymorphisme des caséines  $\alpha$ S1 et  $\alpha$ S2 de la chèvre (*Capra hircus*). Génétique Sélection et Evolution, 16 (2), 157-176.
- **CABO C., CAILLAT H., BOUVIER F. and MARTIN P. (2010).** Major proteins of the goat milk fat globule membrane. Journal of Dairy Science, 93, 868-876.
- **CHANOKPHAT PHADUNGATH. (2005).** Casein micelle structure: a concise review. Journal of Science and Technology, 1 (27), 201-212.
- **CHEFTEL J.C. et LORIENT D. (1982).** Aspects technologiques : Les propriétés fonctionnelles des protéines laitières et leur amélioration. Lait, 62, 435-483.
- **CHIANESE L., GARRO G., NICOLAI MA., MAURIELLO R., FERRANTI P.,PIZZANO R., CAPPuccio U., LAEZZA P., ADDEO F., RAMUNNO L., RANDO A. and RUBINO R. (1993).** The nature of  $\beta$ -casein heterogeneity in caprine milk. Lait, 73, 533-547.
- **CHILLIARD. Y. (1997).**Caractéristiques biochimiques des lipides du lait de chèvre : comparaison avec le lait de vache et humain. Intérêt nutritionnel du lait de chèvre. Annales Pharmaceutiques Françaises, 59, 1, 51.

- 
- **CREAMER L K., PLOWMAN J E., LIDDELL M J., SMITH M H. and HILL P. (1998).** Micelle stability :  $\kappa$ -casein structure and function. *Journal of Dairy Science*, 81, 3004-3012.
  - **COLLIN JC., KOKELAAR A., ROLLET-REPECAUD O. et DELACOIX-BUCHET A. (1991).** Dosage des caséines du lait de vache par électrophorèse et par chromatographie liquide rapide d'échange d'ions (FPLC) : Comparaison des résultats. *Lait*, 71, 339-350.
  
  - **DAHLBORN K., NIELSEN M O. and HOSSAINI-HILALI J. (1997).** Mechanisms causing decreased milk production in water deprived goats. *CIHEAM, Options Méditerranéennes*, 74, 199-202.
  - **DELACOIX-BUCHET A., DEGAS C., LAMBERET G. et VASSALL. (1996).** Influence des variantes AA et FF de la caséine  $\alpha$ S1 caprine sur le rendement fromager et les caractéristiques sensorielles des fromages. *Lait*, 76, 217-241.
  - **Dellaglio F., De Roissart H., Torriani S., Curk M.C. et Janssens D. 1994.** Caractéristiques générale des bactéries lactiques in « Bactériolactique », de Roissard et Luquet, Tech.Doc., Lavoisier, Paris.
  - **De Man, JC, Rogosa M, Sharpe, ME (1960).** A medium for the cultivation of lactobacilli. *J. App. Bacteriol.* 23 (1): 130-135.
  - **DESJEUX JF. (1993).** Valeur nutritionnelle du lait de chèvre. *Lait*, 73, 573-580.  
**Devandra L.M. 1975-1980.** Valeur nutritionnelle du lait en alimentation humaine in intérêt nutritionnel et diététique du lait de chèvre. INRA. pp10-12-26.
  - **De Vos P., Garrity G. M., Jones D., Krieg N. R., Ludwig W., Rainey F. A., Schleifer K. H. and Whiteman W. B. 2009.** *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology: The firmicutes. Second Edition. Volume Three.* Springer.
  - **De Vuyst. L et Leroy. F. (2007).** Bacteriocins from Lactic Acid Bacteria: Production, Purification, and Food Applications. *J Mol Microbiol Biotechnol* 13:194–199.
  - **DE WIT J N. (1998).** Nutritional and functional characteristics of whey proteins in food products. *Journal of Dairy Science*, **81**, pp.597-608.
  - **DORA ANGELICA V. (2007).** Faisabilité de la production au Mexique de fromages de chèvre additionné de piment: aspects technologique, sensoriels, sanitaires et économiques. Thèse de Doctorale. Université élargie. 273p.
  - **Dortu C. et Thonart P. 2009.** Les bactériocines des bactéries lactiques : caractéristiques et intérêt pour la bioconservation des produits alimentaires. *Biotechnol. Agron. Soc. Env.* 13(1) : 143-154.
  
  - **DOYON A. (2005).** Influence de l'alimentation sur la composition du lait de chèvre : revue des travaux récents ; Colloque sur la chèvre, CRAAQ, 7 octobre, Québec, Canada.

- **DUTEURTRE G., OUDANANG M K, et N’GABA S H. (2005).** Les bars laitier de n’djamena (Tchad) des petites entreprises qui valorisent le lait de brousse. Acte de colloques, Ressources vivrières et choix alimentaires dans le bassin du lac Tchad: 20-22 novembre, Paris X-Nanterre.
- **EIGEL W N., BUTLER J E., ERNSTROM C A., FARRELL JR., HARWALKAR V R., JENNESS R. and WHITNEY R M. (1984).** Nomenclature of proteins of cow’s milk: Fifth revision. *Journal of Dairy Science*, 67, 1599-1631
- **EIGEL W N. and RANDOLPH H E. (1975).** Comparison of calcium sensitivities of  $\alpha$ S1-B,  $\beta$ -A<sup>2</sup>, and  $\gamma$ -A<sup>2</sup> caseins and their stabilization by  $\kappa$ -casein A1. *Journal of Dairy Science*, 59 (2), 203-206.
- **Eklund. T. (1980).** Inhibition of growth and uptake processes in bacteria by some chemical food preservatives. *J. Appl. Bact.* 48, 423–432.
- **FARRELL H. M. JR. (1973).** Models for casein micelle formation. *Journal of Dairy Science*, 56 (9), 1195-1206.
- **FOX PATRICK F. (2003).** Advanced dairy chemistry. *Applied Science*. 1(1), 141-190. **GADDOUR A., NAJARI S. and OUNI M. (2007).** Dairy performance of the goat genetic groups in the southern Tunisian. *Agricultural Journal*, 2 (2), 248-253.
- **Fredereghi M(2005).** Les bactéries lactiques. In :« Bactériologie alimentaire, Compendium d’hygiène des aliments ». Lavoisier éd., Paris.France. pp. 101-130.
- **GAUCHERON F. (2005).** The minerals of milk. *Reproduction Nutrition and Development*, 45, 473-483.
- **GNANDA I.B., ZOUNDI J.S., NIANOGO A.J., LE MASSON A. et MEYER C. (2006).** Performances laitières et pondérales de la chèvre du Sahel Burkinabé en régime de complémentation basé sur l’utilisation des ressources alimentaires locales. *Revue d’Elevage et de Médecine Vétérinaire*, 58 (3), 175-182.
- **GROSCLAUDE F., MAHE MF. and BIBE B. (1995).** Influence du locus de la caséine  $\alpha$ S1 sur les performances laitières et les paramètres génétiques des chèvres de race Alpine. *Genetic Science and Evolution*, 27, 437-450.
- **GROSCLAUDE F., RICORDEAU G., MARTIN P., REMEUF F., VASSAL L. et BOUILLON J. (1994).** Du gène au fromage : Le polymorphisme de la caséine  $\alpha$ S1 caprine, ses effets, son évolution. *INRA Productions Animales*, 7(1), 3-19.
- **HURLLEY W L.; GRIEVE R C J.; MAGURA C E.;HEGARTY H M. and ZOU S. (1993).** Electrophoretic comparisons of lactoferrine from bovine mammary secretion, milk neutrophils, and human milk. *Journal of Dairy science*, 76, pp. 377-387.
- **HAERTLE T. (2000).** Incidences des traitements thermiques sur les propriétés fonctionnelles des PL. Les protéines laitières : Intérêts Technologiques et Nutritionnels, 4<sup>ème</sup> Conférence Européenne d’ARILAIT. 7 novembre, Paris, France.
- **HEINLEIN G. F. W. and CACCESE R. (2006).** Goat milk versus cow milk. *Dairy Goat Journal*, 3, 1-5.

- 
- **HOGG T..2005.** Essential microbiology. John Wiley & Sons, Ltd. 188-190.
  - **HOUEBINE L M. (1995).** Un nouveau rôle pour l' $\alpha$ -lactalbumine. Cahiers Agricultures, 4, 388-391.
  - **HOLMES A D., LINDQUIST G. and GREENWOOD E K. (1945).** Variation in fat, ascorbic acid and riboflavin content of goat's milk. Massachusetts Agricultural Experiment Station, 568, 853-858.
  - 
  - **JAUBERT G. (1997).** Biochemical characteristics and quality of goat milk. CIHEAM, Options Méditerranéennes, 25,71-74.
  - **Jay. J.M. (1982).** Antimicrobial properties of diacetyl. Appl. Env. Microbiol. 1982, 44, 525–532.
  - **JENNESS R. (1980).** Composition and characteristics of goat milk: Review 1968-1979. Journal of Dairy Science, 63, 1605-1630.
  - **JOOYANDEH H. et ABROUMAND A. (2010).** Physico-chemical, nutritional, heat treatment effects and dairy product aspects of goat and sheep milks. World Applied Science Journal.11 (11), 1316-1322.
  - **Juarez M et Ramnos M. 1986.**Physico-chemical characteristics of goat milk as distinct from those of cow milk. In: International Dairy Federation (Ed.), Proceedings of the IDF Seminar Production and Utilization of Ewe's and Goat's Milk, Bulletin No. 202. Athens, Greece, pp.54–67.
  - **Kandler O. et Weiss N. 1986.** Genus Lactobacillus Beijerinck 1901. In Bergey's manual of systematic bacteriology pp. 1209-1234. Edited by P. H. A. Sneath, N. S. Mair, M. E. Sharpe et J. G. Holt. Baltimore: Williams et Wilkins.
  - **KERN A. (1954).** Utilisation du lait de brebis en Israël. Lait, 34, 408-422.
  - **KOLAR C W. and BRUNNER J R. (1970).** Proteose-peptone fraction of bovine milk: lacteal serum components 5 and 8 casein-associated glycoproteins. Journal of Dairy Science, 53 (8), 997-1008.
  - **KOUNIBA A. (2007).** Caractérisation physico-chimique du lait de chèvre comparée à celles du lait de vache et de dromadaire et étude de son aptitude fromagère. Bulletin de l'Institut Agronomique et Vétérinaire HASSAN II.
  - **Larpent S.P.1997.**Microbiologie alimentaire. Techniques de laboratoire.Ed.Tech et Doc,Lavoisier, Paris.
  - **LAURET A. (2002).** Lipolyse du lait de chèvre. Compte Rendu des Activités de l'ITPLC, Paris, France.
  - **LE BARS D. and GRIPON JC. (1993).** Hydrolysis of  $\alpha$ S1-casein by bovine plasmin. Lait, 73, 337-344.

- 
- **LE JAOUEN J C., REMEUF F. et LENOIR J. (1990).** Données récentes sur le lait de chèvre et les fabrications de produits laitiers caprins. XXIII International Dairy Congress, Octobre, 8-12, Montréal, Québec.
  - **LEONIL J., MARCHIN S., HENRY G., JOUANNEAU D. et PUTAUX J-C. (2007).** La caséine  $\kappa$ : Quel rôle dans la structuration de la micelle de caséines ? Colloque, 5-8 juin, Grenoble, France.
  - **Leveau K. et Bouix M. 1983.** Milk Coagulation and the Development of Cheese Texture. In: Advances in the Microbiology and Biochemistry of Cheese and Fermented Milk, Davies, F.L. and B.A. Law (Eds.). Elsevier Applied Science Publishers Ltd., New York, USA.
  - **LIESKE B., JANTZ A. and FINKE B. (2005).** An improved analytical approach for the determination of bovine albumin in milk. Lait, 85, 237-248.
  - **LISTER I M B., RASMUSSEN L K., JOHNSEN L B., MOLLER L., PETERSEN T E. and SORENSEN S. (1998).** The primary structure of caprine PP3: Amino acid sequence, phosphorylation, and glycosylation of component PP3 from the proteose-peptone fraction of caprine milk. Journal of Dairy Science, 81, 2111-2115.
  - **LONNERDAL BO. (1985).** Biochemistry and physiological function of human milk proteins. The American Journal of Clinical Nutrition, 42, 1299-1317.
  - **LOPEZ MB., LUNA A., LAENCINA J. and FALAGAN A. (1999).** Cheese-making capacity of goat's milk during lactation: influence of stage and number of lactations. Journal of the Science of Food and Agriculture, 79, 1105-1111.
  - **LORIENT D. et CAYOT P. (2000).** Les propriétés technofonctionnelles des protéines du lait. Les protéines laitières : Intérêts technologiques et nutritionnels, 4<sup>ème</sup> Conférence Européenne d'ARILAIT, 7 novembre, Paris, France.
  - **MAHE S. (1996).** Valeur nutritionnelle du lait en alimentation humaine. Intérêts nutritionnel et diététique du lait de chèvre. Actes du colloque: Le lait de chèvre, un atout pour la santé, INRA. Niort, France. P. 13.
  - **MAHIEU H., LE JAOUEN JC., LUQUET M F. et MOUILLET L. (1977).** Etude comparative de la composition et de la contamination des laits des espèces laitières bovines, ovines et caprines. Lait, 568, 561-571.
  - **MANFREDI E., BARBIREI ME., BOUILLON J., PIACERE A., MAHE MF., GROSCLAUDE F. et RICORDEAU G. (1993).** Effet des variants de la caséine  $\alpha$ S1 sur les performances laitières de chèvres. Lait, 73, 567-572.
  - **MARSHALL K. (2004).** Therapeutic applications of whey protein. Alternative Medicine Review, 2, pp.136-156.
  - **MARLETTA D., CRISCIONE A., BORDONARO S., GUASTELLA A M. and D'URSO G. (2007).** Casein polymorphism in goat's milk. Lait, 87, 491-504.

- 
- **MASLE I. et MORGAN F. (2001).** Aptitude du lait de chèvre à l'acidification par les ferments lactiques - Facteurs de variation liés à la composition du lait. *Lait*, 81, 561-569.
  - **MATI A., GIRARDET JM., XENAKIS D. et LINDEN G. (1991).** Isolement et caractérisation de la fraction hydrophobe des protéose-peptones des laits bovin, ovin et caprin. *Lait*, 71, 259-273.
  - **MAUBOIS J L. (1964).** Chromatographie des protéines du lactosérum de brebis. *Annals of Biology, Animal Biochemistry and Biophysics*, 4 (3), 295-305.
  - **MAYNARD F.; PIERRE A. et MAUBOIS J.L. (1989).** Préparation de lactoferrine et d'lactalbumine humaines par utilisation de techniques à membranes. *Lait*, 69, pp.59-69.
  - **Mayra-Makinen. A, et Bigret. M. (2004).** Industrial Use and Production of Lactic Acid Bacteria. in *Lactic acid bacteria, Microbiological and Functional Aspect*. Third Edition. Marcel Dekker.
  - **MEZA-NIETO M A., VALLEJO-CORDOBA B., GONZALEZ-CORDOVA A F., FELIX L. and GOYCOOLEA M. (2006).** Effect of  $\beta$ -lactoglobulin A and B whey protein variants on the rennet-induced gelation of skim milk gels in model reconstituted skim milk system. *Journal of Dairy Science*, 90, 582-593.
  - **MOATSOU G., VAMVAKAKI A., MOLLE D., ANIFANTAKIS E. and LEONIL J. (2006).** Protein composition and polymorphism in the milk of skopelos goats. *Lait*, 86, 345-357.
  - **MONTEL N-C. (2003).** Pratiques d'élevage, microflore du lait et qualité des produits laitiers. *Prod. Anim.-France : INRA*, 16, (4), pp. 279-282.
  - **MORA-GUTIERREZ A., HAROLD M., FARRELL JR. and KUMOSINSKI T. F. (1993).** Comparison of Calcium-Induced Associations of bovine and caprine caseins and the relationship of  $\alpha$ S1-casein content to colloidal stabilization: A thermodynamic linkage analysis. *Journal of Dairy Science*, 76, 3690-3697.
  - **MUCIO M FURTADO. (1983).** Detection of cow milk in goat milk by polyacrylamide gel electrophoresis. *Journal of Dairy Science*, 66, 1822-1824.
  - **NG W C., BRUNNER J R. and RHEE K C. (1970).** Proteose-peptone fraction of bovine milk: Lactum serum component 3 a whey glycoprotein. *Journal of Dairy Science*, 53 (8), 987-996.
  - **Orla-Jensen S. 1991.** The lactic acid bacteria. A.F. hostand son, Koenighichen Hof-Boghamdel, Copenhagen.
  - **OULD ELEYA M. M., DESOBRY BANON S., VETIER N. and HARDY J. (1998).** Etude rhéologique des gels acides de laits de vache, de chèvre et de brebis. *Lait*, 78, 453-459.

- 
- **PARK W Y.; JUAREZ M .; RAMOS M. and HAENLEIN G. F. W. (2007).** Physicochemical characteristics of goat and sheep milk. *Small Ruminant Research*.68, pp. 88-113.
  - **PAYENS T A. (1982).** Les propriétés physico-chimiques des caséines alpha s1, bêta et kappa. *Lait*, 62, 306-320.
  - **PIACERE A. et ELSEN J. M. (1992).** Aptitude fromagère du lait et polymorphisme des protéines : perspectives d'utilisation en sélection. *INRA Productions Animales*, Hors série, *Eléments de génétique quantitative et application aux populations animales*, 123-128.
  - **PIERRE A., MICHEL F. and Le GRAET Y. (1995).** Variation in size of goat milk casein micelles related to casein genotype. *Lait*, 75, 489-502.
  - **PIERRE A., MOLLE D., MOLLE D. and ZAHOUTE L. (2001).** Characterisation of the casein variants in goat bulk milks using on-line RP-HPLC/ESI-MS. *Lait*, 81, 667-678.
  - **PHOEBE X QI. (2007).** Studies of casein micelle structure : The past and the present. *Lait*, 87, 363-383. PIERRE A., JEAN-LUC Le QUERE., RIAUBLANC A., YVON Le GRAET.,DEMAIZERES D. and MICHEL F. (1998). Composition and physico-chemical characteristics of goat milks containing the A or O  $\alpha$ S1 casein variants. *Lait*, 78,191-202.
  - **QIWU WANG., JONATHAN C A. and SWAISGOOD H E. (1997).** Binding of vitamin D and cholesterol to  $\beta$ -lactoglobulin. *Journal of Dairy Science*, 80, 1054-1059.
  - **RAYNAL-LJUTOVAC K., BARRUCAND P. et BRUNET J. (2004).** Lipolyse spontanée du lait de chèvre : état des lieux et caractères biochimiques associés. *Rencontres Recherches Ruminants*, 11, 110.
  - **RAYNAL-LJUTOVAC K., LAGRIFFOUL G., PACCARD P., GUILLET I. and CHILLIARD Y. (2008).** Composition of goat and sheep milk products: An update. *Small Ruminant Research*, 79, 57-72.
  - **RAZANAJATOVO L. et ALAIS C. (1977).** Isolement et caractérisation de la caséine kappa de chèvre. *Lait*, 568, 492-568. REMEUF F., GUY R., BRIGNON G. et GROSCLAUDE F. (2001). Influence de la teneur en caséine  $\beta$  sur les caractéristiques physico-chimiques et l'aptitude à la coagulation enzymatique du lait de chèvre. *Lait*, 81, 731-742.
  - **REMEUF F., GUY R., BRIGNON G. et GROSCLAUDE F. (2001).** Influence de la teneur en caséine  $\beta$  sur les caractéristiques physico-chimiques et l'aptitude à la coagulation enzymatique du lait de chèvre. *Lait*, 81, 731-742.

- 
- **REMEUF F. et LENOIR J. (1985).** Caractéristiques physico-chimiques de lait de chèvre. *Revue Laitière Française*, 446, 32-40.
  - **REMEUF F., LENOIR J. et DUBY C. (1989).** Etude des relations entre les caractéristiques physico-chimiques des laits de chèvre et leur aptitude à la coagulation par la présure. *Lait*, 69, 499-518.
  - **RIBADEAU-DUMAS B. (1991).** Physicochimie et biochimie des protéines du lait données récentes. *Lait*, 71, pp.133-139.
  - **RIBADEAU-DUMAS B., BRIGNON G., GROSCLAUDE F. et MERCIER J-C. (1972).** Structure primaire de la caséine  $\beta$  bovine séquence complète. *European Journal of Biochemistry*, 25, 505-514.
  - **RICOORDEAU G., MAHE M F., PERSUY M A., LEROUX C., FRANÇOIS V. et AMIGUES Y. (1999).** Fréquences alléliques des caséines chez les chèvres des pyrénées. Cas particulier de la caséine  $\beta$  nulle. *INRA Productions Animales*, 12 (1), 29-38.
  - **ROUDJ S., BESSADAT A. et KARAM N-E. (2005).** Caractérisations physicochimiques et analyse électrophorétique des protéines de lait de chèvre et de lait de vache de l'Ouest algérien. *Rencontres Recherches Ruminants*, 12, 400.
  - **RUETTIMANN K. W. and LADISCH M. R. (1987).** Casein micelles: structure, properties and enzymic coagulation. *Enzyme Microbial Technology*, 9, 578-589.
  - **RUIZ-SALA P., HIERRO M. T. G., MARTINEZ-CASTRO I. and SANTA-MARIA G. (1996).** Triglyceride composition of ewe, cow, and goat milk fat. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, (3), 283-293.
  - **SAWAYA W N., KHALIL JK and AL-SHALHAT AF. (1984a).** Mineral and vitamin content of goat's milk. *Journal of American Diet Association*, 84(4), 433-435.
  - **Schnürer J. et Magnusson J. 2005.** Antifungal lactic acid bacteria as biopreservatives. *Food Sc. Technol.* 16: 70-78.
  - **SHUSTER D E; and HARMON R J. (1990).** Enzyme immunoassay of bovine lactoferrine and serum albumin in acid precipitated and ultracentrifugal whey. *Journal of Dairy Science*, 73, pp.3104-3111.
  - **SLATTERY C. W. (1976).** Review: casein micelle structure; an examination of models. *Journal of Dairy Science*, 9 (59), 1547-1556
  - **Tabasco R., Paarup T., Janer C., Pelaez C. and Requena T. (2007).** Selective enumeration and identification of mixed cultures of *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *L. acidophilus*, *L. paracasei* subsp. *paracasei* and *Bifidobacterium lactis* in fermented milk. *International Dairy Journal* .23:250-255.

- 
- **TRUJILLO A. J., CASALS I. and GUAMIS B. (2000).** Analysis of major caprine milk proteins by reverse-phase high-performance liquid chromatography and electrospray ionization-masse spectrometry. *Journal of Dairy Science*, 83, 11-19.
  - **Vandamme P., Pot B., Gillis M., DeVos P., Keresters K. and Swings J.. 1996.** Polyphasic taxonomy, a consensus approach to bacterial systematic. *Microbiol. Rev.* 60: 407.
  - **VASSAL L., DELACROIX-BUCHET A. et BOUILLON J. (1994).** Influence des variants AA, EE et FF de la caséine  $\alpha$ S1 caprine sur le rendement fromager et les caractéristiques sensorielles de fromages traditionnels : premières observations. *Lait*, 74, 89-103.
  - **VEINOGLU B., BALTADJIEVA M., KALATZOPOULOS G., STAMENOVA V. et PAPADOPOULOU E. (1982b).** La composition du lait de chèvre de la région de Plovidiv en Bulgarie et de Ionnina en Grèce. *Lait*, 62, 155-165.
  - **VOJTECH A.; ONDREJ Z.; PETR D.; LADISLAV Z.; ALES H.;JAROMIR H.; JAN S.; SONA K.; LIBUSE T. and RENE K. (2008).** Lactoferrin isolation using monolithic column coupled with spectrometric or micro-amperometric detector. *Sensors*, 8, pp.464-487.
  - **Zalan. Z, Hudacek. J, Stetina. J, Chumchalova. J, et Halasz. A. (2010).** Production of organic acids by *Lactobacillus* Strains in three different media. *Eur Food Res Technol* 230:395–404.
  - **ZAPICO P., GAYA P., DE PAZ M., NUNEZ M. and MEDINA M. (1991).** Influence of breed, animal, and days of lactation on lactoperoxidase system components in goat milk. *Journal of Dairy Science*, 74, 783-787.
  - **ZELLER B. (2005).** Le fromage de chèvre : Spécificités technologiques et économiques Thèse de Doctorat de l'université Paul-Sabatier, Toulouse, France.