الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية وزارة التعليم
العالي والبحث العلمي

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université de RELIZANE
Faculté des Sciences de la nature et de la vie
Département des Sciences Biologiques

MEMOIRE

En vue de l'obtention du diplôme de MASTER en :

Microbiologie et contrôle de qualité

Intitulé

Caractérisation technologique de la flore lactique des produits laitiers traditionnels Algériens.

Présenté par :

Mr : BOUCHAKOUR OUSSAMA

Mlle : HENNI INES

Mlle : KOUDJIL AHLEM

Devant les membres de jury :

Président : Mme	BELHAMRA ZINEB	Maître de conférence (A)	(U. Relizane)
Encadreur : Mlle	GHALOUNI ESSMA	Maître de conférence (A)	(U. Relizane)
Examinateur : Mme	ADDI NESRINE	Maître de conférence (A)	(U. Relizane)

Année universitaire : 2024/2025

بسم الله الرحمان الرحيم

REMERCIMENTS

Nous commençons tout d'abord par remercier **ALLAH**, le tout puissant, de nous avoir donner le courage, l'énergie et la force pour bien mener ce travail.

Nous tenons tout d'abord à exprimer notre profonde gratitude et nos sincères remerciements

À Mme **GHALOUNI.A** d'avoir accepté de diriger ce travail, pour la confiance qu'elle nous a accordée, pour sa présence et patience, pour l'attention particulière avec laquelle elle a suivi et dirigé ce travail, nous la remercions vivement.

Nos remerciements vont également aux membres de jury : **Mme. BELHAMRA.Z** qui a accepté de présider le jury de notre soutenance et **Mme ADDI.N** d'avoir accepté d'examiner et évaluer ce travail de mémoire.

Nous remercions également tout le personnel du laboratoire de notre faculté, de nous avoir bien aidés pour réaliser notre pratique dans de bonnes conditions.

Un grand merci à toute personne qui a contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce mémoire qu'elle trouve ici l'expression de nos vifs remerciements.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail

À ceux qui quel que soit les termes embrassés, je n'arriverais jamais à leur exprimer mon amour sincère.

***A ma très chère mère** : Quoi que je fasse ou que je dise, je ne saurai point te remercier comme il se doit. Ton affection me couvre, ta bienveillance me guide et ta présence à mes côtés a toujours été ma source de force pour affronter les différents obstacles.*

***A mon très cher père** : Tu as toujours été à mes côtés pour me soutenir et m'encourager. Que ce travail traduit ma gratitude et mon affection.*

*A Mes frères **''KACIMO, YACINE ''**et sœurs.'' **ISMAHANE , AMINA''***

*A notre encadrante Mme **GHALOUNI** qui mérite tous mon respect.*

*A mon trinôme **« INES » et « OUSSAMA»**.*

Ahlem

Dédicace

Je dédie ce travail

À mes chers parents,

Pour votre amour inconditionnel, vos sacrifices silencieux et votre soutien indéfectible. Ce travail est aussi le fruit de vos prières et de votre confiance en moi.

À toute ma famille,

Merci pour vos encouragements constants et votre présence rassurante tout au long de ce parcours.

À mes amis,

Pour votre écoute, vos mots réconfortants et les moments partagés qui ont rendu cette aventure plus légère.

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude à notre encadrante Mme ***GHALOUNI*** *pour son accompagnement, ses conseils précieux et sa bienveillance tout au long de ce travail.*

Et sans oublier mes collègues, "AHLEM, INES"

Pour votre collaboration, votre esprit d'équipe et les échanges enrichissants qui ont contribué à la réalisation de ce mémoire.

Je vous dédie ce travail avec toute ma reconnaissance et mon affection.

Oussama

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à :

***A mon cher Papa** : pour ses précieux conseils et encouragements. Aucune dédicace ne saura exprimée l'amour, l'estime et le respect que j'ai pour toi.*

***A ma très chère Maman**, qui a œuvré pour ma réussite, tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils, pour toute son assistance et sa présence dans ma vie.*

***À ma tante Fatima** qui n'a pas cessé de m'encourager.*

*A mes adorables frères et soeur, **Abdelkader, Abdelileh et Maram**, pour leurs encouragements et pour leurs aides.*

***A toute ma famille** pour leur soutien tout au long de mon parcours universitaire.*

*A notre encadrante Mme **GHALOUNI** qui mérite tous mon respect.*

*A mes chères amies**, Loubna et Ikram**.*

*A mes chères collègues **Ahlem** et **Oussama** pour le travail que nous avons fourni.*

Ines

Liste des abréviations

% : pourcentage
°C : degré Celsius
µl: microlitre
ADN : Acide désoxyribonucléique
AGL : acides gras libres
AM : Ampiciline
ARN : acide ribonucléique
ARNr : acide ribonucléique ribosomique
ATB : antibiotique
ATP : adénosine triphosphate
B : *Bifidobacterium*
BAL : bactéries de l'acide lactique
BGN : bacilles gram négatives
BL : bactéries lactiques
CAZ : Ceftazidime
UFC : unités formant colonies
CO_2 : Dioxyde de carbone
E : *Enterococcus*
E : Erythromycine
EPS : Exo-polysaccharides
ESBL : Extended Spectrum Bêta-Lactamase (β-lactamases à spectre étendu)
FBA : Fructose-1,6-bisphosphate Aldolase
GAP : glycéraldéhyde phosphate
GC%: pourcentage Guanine /Cytosine de l'ADN
GRAS: Generally Regarded As Safe
H: heures
H_2O_2: peroxyde d'hydrogène
LB: *Lactobacillus*
LC: *Lactococcus*
LDH: Lactate Déshydrogénase
LN: *Leuconostoc*
MIC: Minimum Inhibitory Concentration (Concentration minimale inhibitrice)
ml: Mililètre
MRS: Man, Rogosa Sharp
NAOH: Hydroxyde de sodium
Pc : *Pediococcus*
pH: Potentiel d'hydrogène
PK : Pyruvate Kinase
qnr : Quinolone Resistance
sp : Espèce non précisée
St : *Streptococcus*
TE : Tétracycline
Tet (M) : Protéine de résistance à la tétracycline, type M
Tet (O) : Protéine de résistance à la tétracycline, type O
XPC : Xylulose-5-phosphate Phosphocétolase

Liste des tableaux

Tableau 1: Les différents genres des bactéries lactiques.....5
Tableau 2:besoins en vitamines de quelques bactéries lactiques.....14
Tableau 3: Les produits laitiers traditionnels.....26
Tableau 4 : Les principales constantes physico-chimiques de lait de vache et chèvre 27
Tableau 5 : Caractéristiques physicochimiques de beurre traditionnel Algérien.....30
Tableau 6 : identification biochimique des souches isolées 45
Tableau 7 :Profils metaboliques des quatre souches.....45
Tableau 8 : Évolution de la croissance des souches en fonction du temps 49
Tableau 9 : Résultats et interprétation de l'antibiogramme des souches isolées 53

Liste des figures

Figure 1 : Arbre phylogénétique des principaux genres de bactéries lactiques et des genres associés, obtenu par analyse des ARNr 16S 4
Figure 2 : *Streptococcus thermophilus*, au microscope électronique 6
Figure 3 : *Lactococcus lactis* au microscope électronique 7
Figure 4 : *Leuconostoc mesenteroides* au microscope électronique 8
Figure 5 : *Pediococcus* au microscope électronique 9
Figure 6 : *Lactobacillus casei* au microscope électronique 10
Figure 7 : *Enterococcus faecalis* au microscope électronique 10
Figure 8 : *Bifidobacterium sp* sous microscope électronique 11
Figure 9 : Voies fermentaires de la dégradation du glucose 12
Figure 10 : Les différentes phases de croissance bactérienne en milieu liquide 16
Figure 11 : Voies métaboliques de production d'arômes 20
Figure 12 : Mécanisme de résistance des bactéries contre les antibiotique 22
Figure 13 : Schéma simplifie montrant les différentes étapes de préparation des produits laitiers traditionnels Algériens 25
Figure 14 : Pourcentage des genres de bactéries lactiques dominants de lait chèvre 28
Figure 15 localisation des deux régions ou les échantillons de lait et de beurre ont été prélevés 36
Figure 16 : préparation des dilutions décimales 37
Figure 17 : Ensemencement des milieux de culture par étalement 37
Figure 18 : test de la catalase 38
Figure 19 : Aspect macroscopique des colonies des souches sur milieu MRS solide 43
Figure 20 : Aspect microscopique des colonies des souches sur milieu MRS solide 44
Figure 21 : Résultat du test de la catalase 44
Figure 22 : Profil fermentaire de la souche B1 sur la galerie Api 20 Strep après 24h d'incubation (l'espèce *Leuconostoc spp)* 46
Figure 23: Profil fermentaire de la souche B2 sur la galerie Api 20 Strep après 24h d'incubation (l'espèce *Leuconostoc spp)* 46
Figure 24: Profil fermentaire de la souche B3 sur la galerie Api 20 Strep après 24h d'incubation (l'espèce *Lactococcus lactis spp cremoris)* 47
Figure 25: Profil fermentaire de la souche B4 sur la galerie Api 20 Strep après 24h d'incubation (l'espèce *Enterococcus avium*) 47
Figure 26 : première préculture des souches réalisée sur milieu MRS 48
Figure 27 : deuxième préculture des souches réalisée sur milieu lait écrémé 48
Figure 28 : Quantité d'acide lactique produite par les deux souches au début et en fin de croissance 50
Figure 29 : virage de la couleur du lait après titration 50
Figure 30 : mise en évidence de la production du diacétyle 52
Figure 31 : Résultats de l'antibiogramme des souches de bactéries lactique 53
Figure 32 : variation des diamètres des zones d'inhibition selon les souches vis-à-vis des ATB testés 54

Sommaire

Liste des abréviations i

Liste des tableaux ii

Liste des figures iii

Introduction 1

1. Synthèse bibliographique 2

1.1. Les bactéries lactiques 2

1.1.1. Historique et généralités sur les bactéries lactiques 2

1.1.2. Définition et caractéristiques des bactéries lactiques 2

1.1.3. Habitat 3

1.1.4. Taxonomie des bactéries lactiques 3

1.1.5. Classification des bactéries lactiques 4

1.1.6. Caractéristiques des principaux genres des bactéries lactiques 6

1.1.7. Voies métaboliques des bactéries lactiques 11

1.1.8. Exigences nutritionnelles des bactéries lactiques 13

1.1.9. Intérêt des bactéries lactiques 15

1.1.10. La croissance des BL 16

1.1.11. Méthodes d'identification des bactéries lactiques 17

1.2. Les activités à intérêt technologique des bactéries lactiques 18

1.2.1. L'activité acidifiante 18

1.2.2. L'activité protéolytique 18

1.2.3. L'activité lipolytique 19

1.2.4. L'activité aromatisante 20

1.2.5. L'activité texturante 21

1.3. Résistance des bactéries lactiques aux antibiotiques 22

1.3.1. Mécanismes de résistance des BL aux ATB 22

1.4. Les produits laitiers traditionnels algériens 25

1.4.1. Le lait de chèvre 27

1.4.1.1 Les critères organoleptiques 27

1.4.1.2 Les critères physicochimiques 27

1.4.1.3 Microflore du lait de chèvre 28

1.4.2. Le Beurre (Dhan) 29

1.4.2.1 Les critères organoleptiques 29

1.4.2.2 Les critères physicochimiques 30

1.4.2.3 Microflore de beurre 31

2. Matériels et méthodes 34

2.1. Objectif de l'étude 36

2.2. Lieu et période d'étude 36

2.3. Echantillonnage 36

2.4. Isolement et purification des souches 37

2.4.1. Préparation de la solution mère et les dilutions décimales 37

2.4.2. Isolement des bactéries lactiques 37

2.4.3. Purification des isolats 38

2.4.4. Analyse des isolats 38

2.4.5. conservation des souches 39

2.5. Identification des isolats 39

2.6. Caractérisation technologique des souches 40

2.6.1. Réalisation de la première préculture 40

2.6.2. Réalisation de deuxième préculture 40

2.6.3. Étude de la croissance 40

2.6.4. Étude de l'activité acidifiante 40

2.6.5. Étude de l'activité aromatisante 40

2.7. Étude de l'antibiorésistance des souches 41

2.7.1. Réalisation de l'antibiogramme 41

3. Résultats et discussion 42

3.1. Isolement des bactéries lactiques 43

3.1.1. Caractérisation macroscopique 43

3.1.2. Caractérisation microscopique 43

3.1.3. Test de la Catalase 44

3.2. Identification des souches 44

3.3. Caractérisation technologique des souches 48

- La première préculture des souches 48

- La deuxième préculture des souches 48

3.3.1. Étude de la croissance bactérienne 48

3.3.2. Étude de l'activité acidifiante 50

3.3.3. Étude de l'activité aromatisante 51

3.4. Détermination de l'antibiorésistance des souches 52

4. Conclusion 57

5. Références bibliographiques 58

6. Annexes 69

Introduction

De nos jours, le monde s'intéresse de plus en plus aux aliments liés à des lieux ou territoires spécifiques. En effet, les consommateurs sont de plus en plus attirés par les aliments locaux à caractère ou image traditionnelle, et ces aliments locaux sont souvent perçus comme étant de meilleure qualité, plus frais, plus durables et contribuant à soutenir l'économie locale **(Pieniak *et al.*, 2009).** Les aliments traditionnels, tels que les aliments fermentés, sont consommés depuis l'Antiquité et continuent d'être la principale source de nutrition pour les populations du monde entier. Ils sont également un élément essentiel de l'alimentation humaine et de la culture culinaire et la majorité de ces produits sont fabriqués dans les petites entreprises via une fermentation spontanée. Parmi les aliments fermentés, les produits laitiers sont très appréciés en raison de leur formulation simple **(El Sheikha et Hu,2018 ; Johansen *et al.*, 2020).**

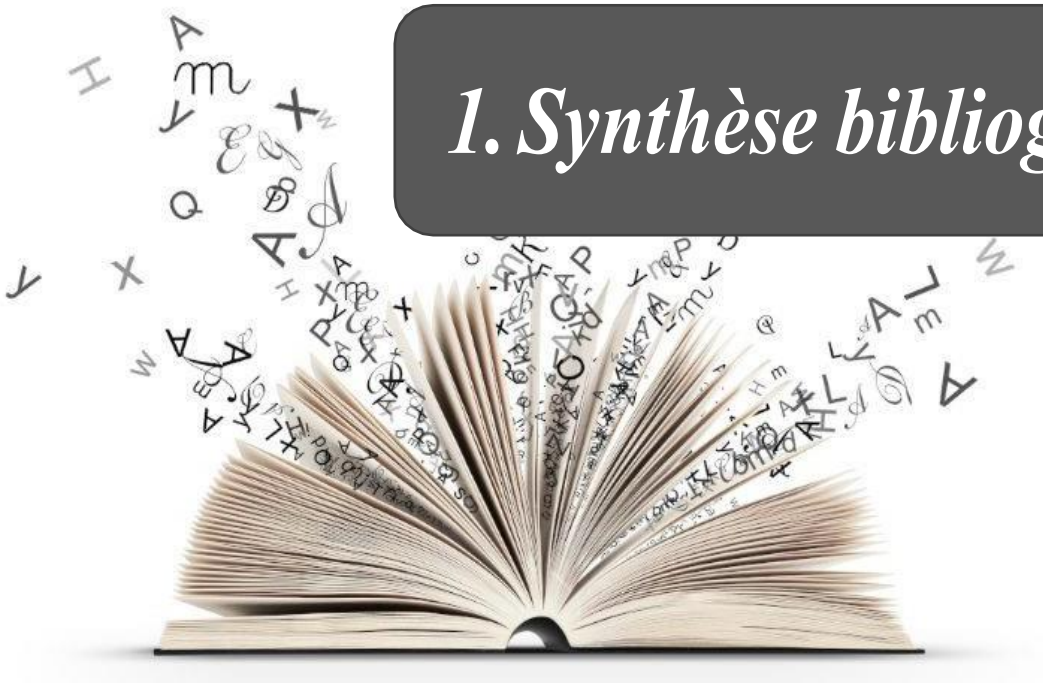
En Algérie, les produits laitiers traditionnels, en particulier les variétés fermentées, font depuis longtemps la fierté de la cuisine algérienne et dans la culture algérienne. Il est clair que ces produits ont joué un rôle majeur dans l'alimentation des communautés rurales. Ces produits sont confrontés au problème de la disparition à cause de l'urbanisation intense et la transformation profonde des conditions de vie en milieu rural, ce qui rend leur inventaire, identification et caractérisation plus que nécessaire **(Henriques et Pereira, 2017).**

Selon la fédération internationale de la laiterie (FIL) (2015), en 2014 la quantité produite à l'échelle mondiale est d'environ 802.2 millions de tonnes, avec 6 milliards de consommateurs dans le monde **(FAO, 2016).**

Le lait cru est transformé par des méthodes traditionnelles en lait fermenté qui est un produit laitier apportant l'alimentation humaine avec des composés nutritifs aux saveurs variées, arômes et textures. Ces produits sont basés sur l'activité métabolique des bactéries lactiques qui fermentent les sucres, en particulier le lactose, pour produire de l'acide lactique, des composés acides et aromatiques qui donnent aux aliments fermentés leurs saveurs et leurs goûts distincts **(Guetouache et Guessas, 2015)**. Parmi les types des laits fermenté : Lben, Rayeb, les dérives grasses : Zebda et Smen et les différents types des fromages traditionnels (Bouhezza, Klila, Jben ...).

C'est dans ce contexte que s'inscrit notre étude qui a pour objectif d'isoler et d'identifier des bactéries lactiques à partir de Lait de chèvre et de beurre (Dhan) algériens de fabrication traditionnelle et leurs caractérisation biochimique, physiologique et technologique.

1. Synthèse bibliographique



1.1. Les bactéries lactiques

1.1.1. Historique et généralités sur les bactéries lactiques

Les bactéries lactiques sont de très anciens micro-organismes, dont les ancêtres auraient pu voir le jour il y a trois milliards d'années. Elles seraient donc apparues avant les cyanobactéries photosynthétiques qui ont transformé l'atmosphère terrestre ancienne sans oxygène en atmosphère aérobie **(Drider et Prévost, 2009)**.

Le terme bactéries lactiques est intimement associé aux bactéries impliquées dans la fermentation des aliments pour l'homme et l'animal. La première culture pure était des *Bacterium lactis* probablement des *Lactococcus lactis*, obtenu par **Lister** en **1873.**

Historiquement, les premiers genres à être décrits sont : *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* et *Streptococcus* ; les genres ci-après : *Aerococcus*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus* et *Weissella* sont considérés comme les principales bactéries lactiques du point de vue technologique **(Guiraud, 2003 ; Limsowtin *et al.*, 2004).**

Les bactéries lactiques sont des microorganismes utiles à l'homme lui permettant de fabriquer et de conserver un nombre important de ses aliments. Elles sont surtout connues pour le rôle qu'elles jouent dans la préparation des laitages fermentés, elles sont utilisées également dans le saumurage des légumes, la boulangerie, la fabrication du vin, le saurissage des poissons, des viandes et des salaisons (EUFIC1999). Elles sont devenues les principaux candidats probiotiques et bénéficient d'un status GRAS (Generally Regarded AS Safe). **(Ait Belghanaoui, 2006).**

1.1.2. Définition et caractéristiques des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques appelées aussi bactéries de l'acide lactique (BAL) constituent un groupe très hétérogène de micro-organismes partageant divers aspects morphologiques, métaboliques et physiologiques et dont la caractéristique fondamentale est la production de quantités appréciables d'acide lactique comme produit principal de leur métabolisme fermentaire **(Marshall et Law, 1984 ; Axelsson, 1993).**

Les bactéries lactiques sont dépourvues de nombreuses activités enzymatiques comme la catalase, la nitrate réductase et le cytochrome oxydase, elles ne produisent pas d'indole ni d'acide sulfhydrique et certaines espèces hydrolysent la caséine.

Elles sont protéolytiques, ne liquéfient pas la gélatine, et ne forment pas d'indole ni d'hydrogène sulfureux, ces bactéries sont également incapables de fermenter le glycérol **(Dellaglio *et al.*, 1994 ; Salminen et *al*., 2004).**

En raison de leur faible capacité biosynthétique, ces bactéries ont des exigences nutritionnelles complexes pour les acides aminés, les peptides, les vitamines, les sels, les acides gras et les glucides fermentescibles **(Dellaglio et *al*., 1994).**

En plus de l'acide lactique et des autres acides organiques qui empêchent le développement des microorganismes indésirables par diminution du pH du milieu, les bactéries lactiques produisent d'autres métabolites ayant des propriétés antimicrobiennes tels que le peroxyde d'hydrogène, le diacétyle, la reutérine, le dioxyde de carbone et les bactériocines **(Dortu et Thonart, 2009).**

1.1.3. Habitat

Les bactéries lactiques sont très fréquentes dans la nature. Elles se trouvent généralement associées à des aliments riches en sucres simples. Elles peuvent être isolées du lait, du fromage, de la viande, des végétaux ou des aliments ensemencés par les végétaux. Elles se développent avec la levure dans le vin, la bière et le pain. Quelques espèces colonisent le tube digestif de l'homme et des animaux **(Leveau et Bouix, 1993 ; Hassan et Frank, 2001).**

1.1.4. Taxonomie des bactéries lactiques

La taxonomie des BL a été révolutionnée en introduisant la phylogénie moléculaire basée sur la séquence des ARN ribosomiques qui a conduit à une reclassification importante de certaines espèces et sous-espèces. Plusieurs méthodes génotypes, basées sur les acides nucléiques sont utilisées en classification, tel que le pourcentage en GC qui est retenu comme un élément principal dans la répartition des BL **(figure1). (König et Fröhlich, 2017).**

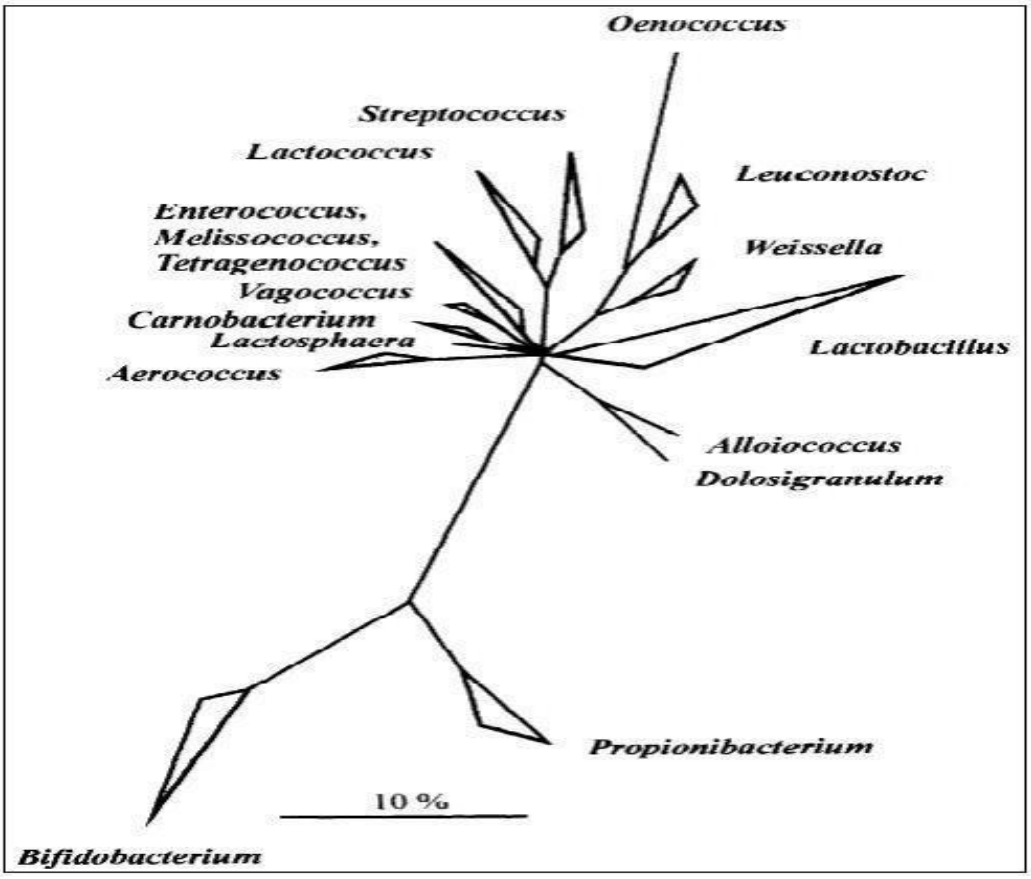


Figure 1: Arbre phylogénétique des principaux genres de bactéries lactiques et des genres associés, obtenu par analyse des ARNr 16S **(Stiles et Holzapfel, 1997).**

1.1.5. Classification des bactéries lactiques

La classification des bactéries lactiques peut se faire aussi selon des critères phylogénétiques par l'utilisation des méthodes moléculaires. Cependant, la caractérisation phénotypique /biochimique classique demeure pratique dans l'identification préliminaire des microorganismes.

Le tableau suivant présente les différents genres de bactéries lactiques et leurs principales caractéristiques :

Tableau 01: Les différents genres des bactéries lactiques **(Federighi, 2005).**

Genre	Morphologie	Fermentation	Principales Caractéristiques	Habitat
Lactobacillus	Bacilles	Homofermentaire où Hétérofermentaire	Thermophiles ou mésophiles	Homme, produits laitiers, carnés, végétaux
Carnobacterium	Bacilles	Hétérofermentaire	(psychrotrophes), acidotolérants	Produits carné, poissons, produits laitiers.
Lactococcus	Coques	Homofermentaire	Mésophiles, croissance à 10°C et non à 45°C	Produits laitiers, Végétaux.
Streptococcus	Coques	Homofermentaire	Thermophiles	Produits laitiers.
Enterococcus	Coques	Hétérofermentaire	Mésophiles, croissance à 45°C et non à 10°, thermorésistantes .	Intestin de l'homme et des animaux, produits laitiers.
Pediococcus	Coques	Homofermentaire	Mésophiles halotolérants.	Bière, produits végétaux, saucissons.
Tetragencoccus	Coques en tétrades	Homofermentaire	Mésophiles halophiles	Saumures
Leuconostoc	Coques	Hétérofermentaire	Mésophiles	Produits végétaux, produits laitiers.
Oenococcus	Coques	Hétérofermentaire	Mésophiles	Vin
Bifidobacterium	Forme Irrégulière	Acide acétique et lactique	Mésophiles	Intestin de l'homme et des animaux.
Vagococcus	Coques mobiles	Homofermentaire	Mésophiles	Intestin de l'homme et des animaux, produits laitiers

1.1.6. Caractéristiques des principaux genres des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques sont représentées par plusieurs genres d'importance différente **(Leveau J. V, Bouix M,1993)**. Le rassemblement de ces genres dans un même groupe est confirmé par la taxonomie moléculaire ; l'analyse de la séquence nucléotidique de leurs ARN ribosomique (ARNr) permet de les réunir dans un même grand groupe phylogénétique.

Les bactéries lactiques appartiennent aux sept genres suivants : *Lactococcus (Lc), Streptococcus (St*), *Leuconostoc* (*Ln*), *Pediococcus* (*Pc*), *Lactobacillus* (*Lb*), *Enterococcus (E)* et *Bifidobacterium (B).*

1.1.6.1. Le genre *Streptococccus*

Ce genre comprend la majorité des espèces de *streptocoques* ayant un pourcentage en GC entre 34- 36 % **(Leveau J. V, Bouix M,1993).** Ces espèces ont une forme ronde et sont assemblés par deux ou en chaîne, très exigeants du point de vue nutritionnel **(Guiraud.J et Joseph, 1998).** La plupart des espèces sont thermophiles, leur fermentation est homolactique. L'espèce *Streptococcus thermophilus* se différencie des autres par son habitat (lait et produit laitiers) et son caractère non pathogène **(figure2) (Sutra L et *al.*, 1998).**

La classification de **BERGEY** fait apparaître 29 espèces principales auxquels viennent s'ajouter 8 espèces "nouvellement décrites". Les 29 espèces sont reparties en 6 groupes : *streptocoques hémolytiques pyogènes*, *streptocoques* de la bouche, *streptocoques fécaux* ou *entérocoques*, *streptocoques lactiques* ou *lactocoques*, *streptocoques* anaérobies et autres *streptocoques*

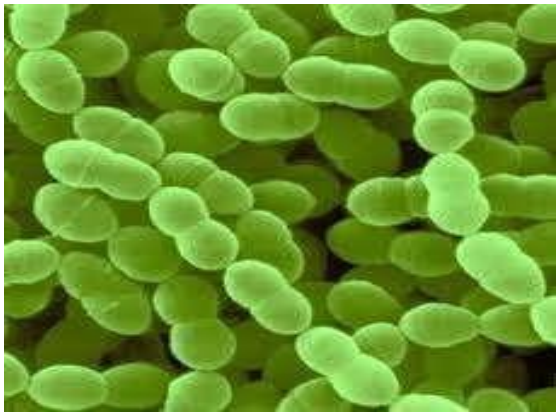


Figure 2: *Streptococcus thermophilus,* au microscope électronique **(Corrieu et Luquet, 2008).**

1.1.6.2. Le genre *Lactococcus*

Le genre *Lactococcus* récemment défini doit être considéré dans le genre *Streptococcus*. Ce sont des cellules sphériques, mésophiles, peuvent quelques fois s'allonger, elles produisent l'acide lactique L (+) **(Leveau J. V, Bouix M,1993).**

Les espèces de ce genre sont associés à de nombreuses fermentations alimentaires et ne possèdent aucun caractère pathogène. Largement présent dans le lait et les produits laitier. Certaines espèces isolées de poissons d'eau douce possèdent la particularité d'être mobiles **(Sutra L *et al.,* 1998).**

Dans le groupe des *lactocoques* on distingue deux espèces : *Lactococcus lactis* **(figure 3)** et *Lactococcus raffinolactis* comme le fait le manuel de **BERGEY (1986)** sous l'ancienne dénomination. *Streptococcus lactis* et *Streptococcus raffinolactis.*

Les espèces *Lactococcus cremoris* et *Lactococcus diacetylactis* sont considères selon **Sutra L *et al.,* (1998)** comme sous espèces de *Lactococcus lactis,* qui comporte ainsi : *Lactococcus lactis ssp lactis, Lactococcus lactis ssp cremoris et Lactococcus lactis ssp diacetylactis* **.**

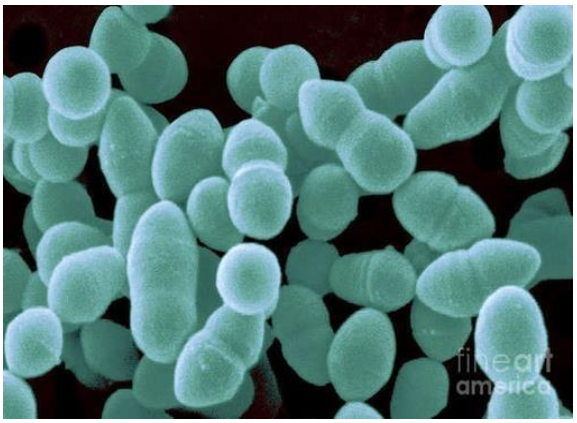


Figure 3 : *Lactococcus lactis* au microscope électronique **(Corrieu et luquet, 2008).**

1.1.6.3. Le genre *Leuconostoc*

Il rassemble les coques lenticulaires en paires ou en chaînettes mésophiles. Généralement capsulés, qui possèdent un caractère hétérofermentaire marqué, avec production de l'a cide lactique (isomère D), de CO_2 et éthanol, certaines espèces sont capables de fermenter le citrate, ce qui leur confère une activité aromatique importante, elles ne sont pas pathogènes, ce sont des contaminants fréquents qui produisent des accidents de fabrication dans les produits acides, sucrés et dans les végétaux **(Sutra L *et al.,* 1998).**

Les *Leuconostoc* sont mésophiles, la température optimale de croissance se situe autour de 25°C. Aucune espèce ne se cultive à 45°C, *Leuconostoc mesenteroides* ssp *cremoris* **(figure 4)** ne pousse pas à 37°C, tout comme *Leuconostoc oenos,* pour ces souches, la température minimale de développement est de 10°C **(J-Y. Leveau et *al.,* 1991).** Leur pourcentage en GC% est compris entre 36 -43 % **(Leveau J. V, Bouix M,1993).**

La classification de **BERGEY** fait apparaître 04 espèces : *Leuconostoc mesenteroides* qui comporte trois sous espèces (Leuconostoc *mesenteroïdes ssp mesenteroides, Leuconostoc mesenteroides ssp dextranicum, Leuconostoc mesenteroides ssp cremoris*), *Leuconostoc lactis, Leuconostoc oenos et Leuconostoc paramesenteroides*.

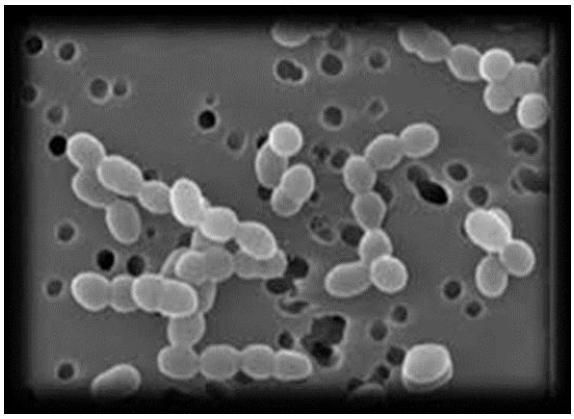


Figure 4 *: Leuconostoc mesenteroÏdes* au microscope électronique **(Wallace et *al.*, 2003)**.

1.1.6.4. Le genre *Pediococcus*

Ce sont des cellules sphériques, associées en paires et en tétrades, les pediocoques **(figure 5)** sont homofernentaires, produisent de l'acide lactique DL ou L (+), elles sont mésophiles, et le plus souvent incapables d'utiliser le lactose. Ce sont des agents de dégradation des brasseries (*Pc. damnosus*), et causent aussi des altérations (viscosité) dans les produits; végétaux et parfois les viandes et les poissons **(Leveau J. V ,Bouix M,1993).** La classification de BERGEYS recense 08 espèces dans ce genre **:** *Pc. damnosus, Pc. pnulus, Pc. Inopinatus, Pc. Dextrinicus, Pc. Acidilactici, Pc. Halophilus et Pc. urinaeequi.*

Ces bactéries ont la particularité de se reproduire alternativement suivant deux plans perpendiculaires **(J-Y. Leveau et *al.,* 1991).** Leur pourcentage en bases GC est entre 34-42% **(Leveau J. V, Bouix M,1993).**

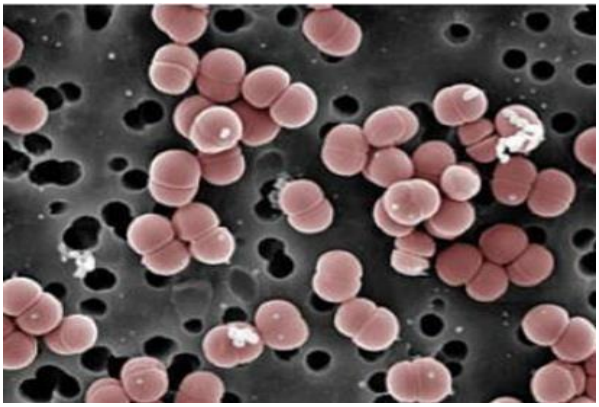


Figure 5 : *Pediococcus* au microscope électronique **(Wallace et *al.*, 2003).**

1.1.6.5. Le genre *Lactobacillus*

Il s'agit de bacilles souvent allongés, parfois groupés en paires ou en chaînes, certaines espèces sont homolactiques, d'autres hétérolactiques produisant des acides volatiles, de l'éthanol et CO_2 en plus de l'acide lactique.

Lactobacillus est le genre principal de la famille des *Lactobacillaceae*. Il contient de nombreuses espèces qui sont des agents de fermentation lactique intervenant dans de nombreuses industries **(Guiraud. J et Joseph, 1998).** Ce genre est caractérisé par l'hétérogénéité de ces espèces car le pourcentage en GC% de leurs ADN est compris entre 32-53% **(Leveau J. V, Bouix M,1993).** Le genre *Lactobacillus* a été subdivisé par ORLA-JENSEN en 1919 en trois groupes.

Groupe I : « *Thermobacterium* » regroupe les Lactobacilles thermophiles et homofermentaires obligatoires produisant exclusivement de l'acide lactique à partir du glucose à 45°C mais pas à 15°C. Ils sont incapables de fermenter les pentoses et le gluconate. Ce groupe est constitué d'environ 25 espèces, la plupart des espèces présentes dans le lait et les produits laitiers (*Lb. helveticus, Lb. delbrueckii, Lb. acidophilus*), mais un grand nombre a été isolé chez l'Homme et les animaux dans le tractus digestif et les organes génitaux.

Groupe Il : « *Streptobacterium* » ce sont des espèces hétérofermentaires facultatives, c'est-à-dire capables d'utiliser la voie hétérofermentaire dans certaines conditions comme une concentration en glucose limitante. Il est constitué d'une vingtaine d'espèces dont *Lb. Casei, Lb. Curvatus, Lb. sakei* et *Lb. plantarum*, majoritairement mésophiles. Ils sont isolés des fourrages, des produits laitiers et des produits carnés.

Groupe III : « *Betabacterium* », ce sont des Lactobacilles hétérofermentaires obligatoires, utilisant la voie des pentoses phosphates pour la fermentation des hexoses et des pentoses. Il comporte des espèces relativement hétérogènes et mésophiles comme *Lb. fermentum*, *Lb. brevis* et *Lb. sanfransisco*. Outre leur présence dans les produits laitiers et carnés certaines espèces se développent dans le tube digestif de l'homme et participent à l'équilibre de la flore intestinale.

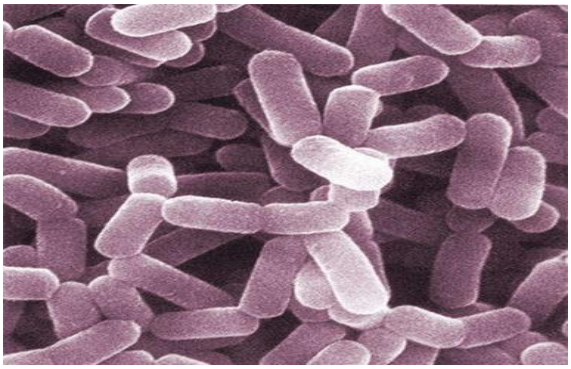


Figure 6 : *Lactobacillus casei* au microscope électronique **(Corrieu et Luquet ,2008).**

1.1.6.6. Le genre *Enterococcus*

Ce genre forme des coques, généralement groupés ou isolés, en paire, en chaînettes ou en amas et leur morphologie peut varier selon les conditions de culture (**Devriese *et al.*,1993).** Il se caractérise par sa tolérance à 6,5% de NaCl, au pH 9,6 et par la croissance à 10°C et 45°C avec une température optimale de croissance de 35°C à 37°C **(Zhang et Cai, 2014).** Les entérocoques peuvent être mobiles, homofermentaires, généralement différenciés par la fermentation de l'arabinose et le sorbitol (**Tamime ,2002 ; Ho *et al.*, 2007).**

Figure 7 : *Enterococcus faecalis* au microscope électronique **(Wallace *et al.*,2003).**

1.1.6.7. Le genre *Bifidobacterium*

Le genre *Bifidobacterium* **(figure 8)** est considéré comme faisant partie du groupe des bactéries lactiques grâce à la similarité de ses propriétés physiologiques et biochimiques et à sa présence dans le même habitat écologique, tel que le tube gastro-intestinal. Ces microorganismes sont phylogénétiquement sans rapport avec ces dernières. Ils sont davantage liés au phylum *Actinobacteria* (anciennement *Actinomycètes*) des bactéries Gram positif dont l'ADN est à haut pourcentage de G +C. Les *bifidobactéries* se caractérisent par leur forme très irrégulière souvent en forme V mais pouvant être coccoïdes, la présence d'une enzyme, la fructose-6-phosphate phosphocétolase, celle-ci leur permet de fermenter les hexoses en produisant de l'acide acétique et de l'acide lactique. Leur température de croissance varie de 36°C à 43°C **(figure 8)**. **(Axelsson *et al.*, 2004 ; Pilet *et al.*, 2005 ; Ho *et al.*, 2007)**.

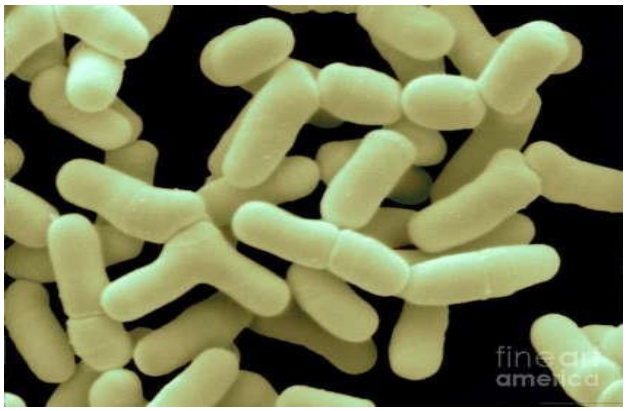


Figure 8 *:* *Bifidobacterium sp* sous microscope électronique **(wallace et *al.*, 2003).**

1.1.7. Voies métaboliques des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques peuvent être divisées en deux groupes homofermentaires et hétéro-fermentaires **(figure 9)** en se basant sur les produits fabriqués à partir de la fermentation du glucose **(Atlan *et al.*, 2008).**

1.1.7.1. Les BL homofermentaires

Toutes les bactéries lactiques (à l'exception des genres : *Leuconstoc,Oenococcus*, *Weissella* et certains membres du genre *Lactobacillus*) entravent la voie de la glycolyse pour dégrader les hexoses (ex : glucose). Après son transfert vers la cellule, le glucose subit une phosphorylation pour se transformer en fructose qui est à son tour phosphorylé en fructose 1 -6 di-phosphate puis clivé en dihydroxyacétone phosphate et glycéraldéhyde phosphate (GAP), ces deux derniers sont convertis en pyruvate. Le pyruvate est dans une dernière étape réduite en acide lactique qui est le produit unique : c'est la fermentation homolactique.

Dans les conditions défavorables telle que la limitation du glucose, ces bactéries produisent également l'acide formique, l'acide acétique, l'éthanol et/ou le CO_2 par la voie de fermentation des acides mixtes **(Mozzi et *al.*, 2010).**

1.1.7.2. Les BL hétérofermentaires

Ce groupe utilise la voie des pentoses phosphate (ou 6-phosphogluconate) qui consiste en une déshydrogénation du glucose, après sa phosphorylation, pour donner le 6-phosphogluconate qui subira une décarboxylation. Le pentose résultant est clivé en glycéraldéhyde phosphate (GAP) qui suit la voie de la glycolyse donnant l'acide lactique et l'acétyle phosphate qui sera réduit en éthanol. En raison de la production de CO_2, d'éthanol ou de l'acétate en plus de l'acide lactique, cette fermentation est appelée hétérolactique **(Salminen et *al.*, 2004).**

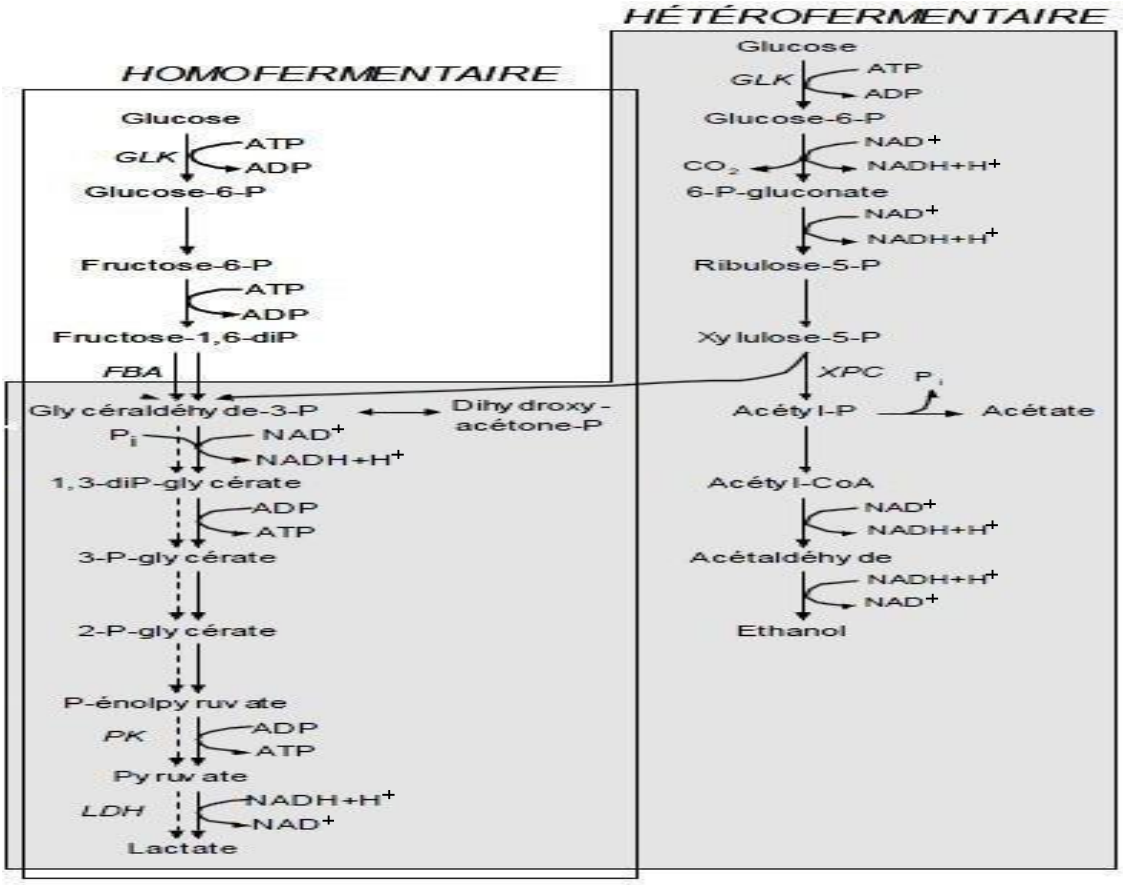


Figure 9 : Voies fermentaires de la dégradation du glucose **(Atlan *et al.*, 2008)**.
[*GLK* : glucokinase, *FBA* : fructose-1,6- bisphosphate aldolase, *XPC* : xylulose-5-phosphate phosphocétolase, *PK* : pyruvate kinase, *LDH* : lactate déshydrogénase].

1.1.8. Exigences nutritionnelles des bactéries lactiques

Si les bactéries lactiques sont considérées comme un des groupes bactériens les plus exigeants du point de vue nutritionnelle, c'est parce qu'elles requièrent non seulement des substrats complexes carbonés, azotés, phosphatés, et soufrés, mais aussi des facteurs de croissance comme les vitamines et les oligo-éléments.

1.1.8.1. Exigences en oxygène

Généralement, les bactéries lactiques sont considérées comme des germes anaérobies facultatifs ayant une préférence pour des conditions anaérobies selon **Whittenbury (1978).** Cependant, cet auteur fait remarquer que les bactéries lactiques sont uniques parmi les bactéries capables de croître en aérobiose, par le fait qu'elles sont incapables de synthétiser des porphyrines (et donc des cytochromes et de la catalase) et qu'apparemment, elles ne sont pas capables de former de l'ATP par la chaîne de transport des électrons (ou phosphorylation oxydative). Si l'oxygène peut parfois leur être substrat, il conduit comme produit final au peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) qui est toujours un produit toxique **(Davis, 1963).**

1.1.8.2. Exigences en acides aminés

Les BL exigent la fourniture exogène d'acides aminés pour leur croissance, car elles sont incapables d'en effectuer la synthèse à partir d'une source azotée minérale simple. Ces besoins en acides aminés sont cependant variables d'une souche à une autre. D'une manière générale *Streptococcus thermophilus* est l'espèce la moins exigeante (6 acides aminés au maximum) alors que les lactobacilles sont auxotrophes pour un très grand nombre d'acides aminés **(Kassas, 2017).**

1.1.8.3. Exigences en vitamines

Les vitamines jouent un rôle primordial dans le métabolisme cellulaire, les bactéries lactiques sont incapables de synthétiser des vitamines **(Desmazeaud et De Roissart, 1994)**. La vitamine B6 (pyridoxal) est stimulante ; l'acide aminé L-alanine peut remplacer cette dernière chez certaines souches. En général, l'acide folique ou folinique, la thiamine et la vitamine B12 ne sont pas exigés. Les exigences en biotine ont été plus difficiles à mettre en évidence car des interférences avec l'utilisation du CO_2 peuvent se produire. En effet, le CO_2 serait essentiel pour la croissance des streptocoques lactiques car il serait impliqué dans la biosynthèse de l'acide aspartique et des acides gras par un phénomène de fixation faisant intervenir la biotine **(Law et Sharpe, 1978)**. Les *streptocoques thermophiles* montrent une exigence absolue en acide

pantothénique et en riboflavine et à un moindre degré en thiamine, en nicotinamide (ou acide nicotinique) et en biotine. La pyridoxine (ou ses dérivés) stimule fortement leur croissance **(Guss et Delwiche, 1954).**

Tableau 02:besoins en vitamines de quelques bactéries lactiques **(Corrieu et Luquet ,2008).**

Vitamines	***Lactobacillus***	***Lactococcus***	***Streptococcus thermophilus***
Acide ascorbique			++
Acide folique		**V**	**V**
Acide nicotinique			+
Acide pantothénique (vitamine B5)	++	++	++
Biotine	**V**	+	+
Cobalamine	**V**	**V**	**V**
Niacine	++	++	+
Pyridoxine	**V**	+	+
Riboflavine	++	**V**	++
Thiamine	**V**	**V**	+

++ **:** Exigence absolue, + **:** stimulant mais non essentiel, **V :** variable selon l'espèce

1.1.8.4. Exigences en base azotés

Les bases azotées peuvent être stimulantes pour la croissance des BL. De telles exigences proviennent de l'absence d'enzymes impliquées dans le métabolisme des pyrimidines et des purines. Les streptocoques thermophiles présentent une exigence absolue pour les bases : adénine, guanine, uracile et xanthine tandis que les *lactobacilles* exigent la présence d'adénine, de cytidine, de désoxyguanosine, de guanine, de thymidine et uracile. En général, chez les *lactobacille*s, les exigences en bases azotées sont très variables selon les souches ; l'addition de ces composés peut même, chez certaines souches, entraîner des phénomènes d'inhibition de la croissance **(Kassas, 2017).**

1.1.8.5. Exigences en glucides

Les bactéries lactiques ont besoin d'un apport de nutriments comportant au moins un sucre fermentescible comme source d'énergie. La fermentation des sucres s'effectue essentiellement en trois étapes. Premièrement, le transport du sucre à travers la barrière hydrophobe de la membrane cellulaire. Deuxièmement, le catabolisme intracellulaire du sucre et enfin la

formation et l'expulsion extracellulaire des métabolites terminaux généralement acides **(Desmazeaud ,1983).**

1.1.9. Intérêt des bactéries lactiques

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

1.1.9.1. Dans l'industrie alimentaire

Les bactéries lactiques sont impliquées dans la fermentation et la bioconservation de différents aliments. Ainsi, les souches de *Lactobacillus bulgaricus*, *Sterptococcus thermophilus* sont utilisées pour la production du yaourt, des fromages et des laits fermentés **(Yateem et *al.*, 2008)**. Le vin, les poissons, les viandes, les charcuteries, le pain au levain entre autres sont aussi des produits de fermentation par des bactéries lactiques **(Badis *et al.*, 2005)**.

Les souches de BL utilisées en industrie alimentaire ont pour but améliorer les caractéristiques organoleptiques des produits fermentés et d'augmenter leur durée de conservation sans utilisation de conservateurs chimiques grâce aux substances antimicrobiennes qu'elles sécrètent, elles doivent également répondre à certains critères tels que : absence de pathogènicité ou activité toxique, facilité de culture et de conservation, et maintenance des propriétés désirables durant le stockage **(Marth et Steele, 2001)**.

1.1.9.2. Dans le domaine thérapeutique

L'intérêt des bactéries lactiques en matière de santé humaine a été initialement proposé au début du siècle, en 1907, par le russe Metchnikoff **(Metchnikoff E, 1907).**

Les bactéries lactiques, présentes dans le tractus digestif de l'homme et des animaux, jouent un rôle non négligeable sur la santé de leur hôte. Incorporées dans les laits fermentés ou des aliments supplémentés, on leur attribue plusieurs effets thérapeutiques. Les substances antimicrobiennes qu'elles produisent contrôlent la prolifération de pathogènes indésirables **(Corcy et Lepage, 1991).** Parmi leurs rôles bénéfiques des BL sur la santé :

- Elles élaborent des enzymes qui viennent en aide au métabolisme de leur hôte, plus particulièrement pour les individus déficients en lactase.

- Leurs propriétés anti-cholestérol interviennent en diminuant le taux de cholestérol sérique.

- Elles peuvent réduire les chances d'apparition du cancer du côlon en éliminant les substances pro-carcinogènes et en intervenant sur les enzymes fécales susceptibles de transformer les substances pro-carcinogènes en substances carcinogènes.

- Elles interviennent sur la suppression des tumeurs par activation des macrophages.

1.1.10. La croissance des BL

Lorsque les conditions de milieu sont favorables (présence de nutriments, Température, activité de l'eau, pH, absence d'antiseptiques ou d'antibiotiques...), la croissance des BL suit la courbe de **la figure10 (Buchanan, 1918).**

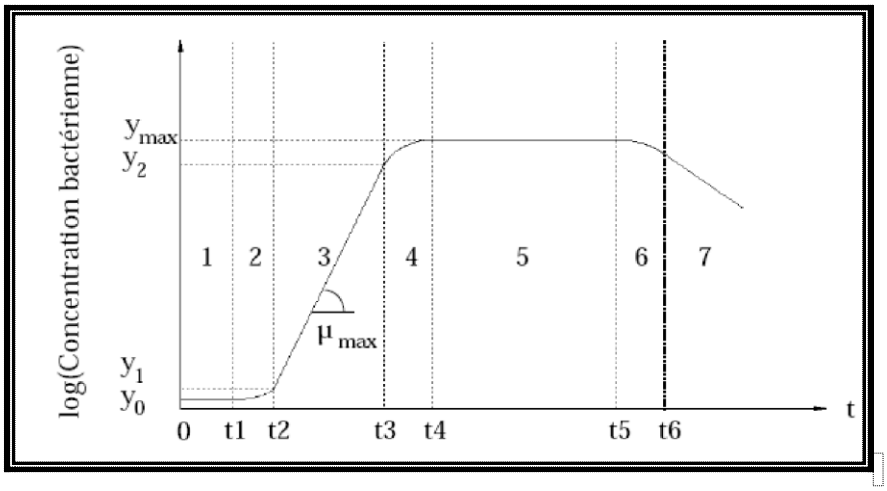


Figure 10 : : Les différentes phases de croissance bactérienne en milieu liquide décrites par **Buchanan (1918).**

On reconnaît classiquement les six phases successives suivantes **(De Roissart, 1986 ; Augustin, 2005)**

- **La phase de latence (μ=0),** elle suit immédiatement l'ensemencement du milieu par l'inoculum bactérien. Cette phase correspond à une période d'adaptation de l'inoculum à son nouvel environnement de croissance et sa durée dépend de la nature du milieu d'accueil, de l'état physiologique des cellules inoculées et éventuellement de la taille de l'inoculum.
- **La phase d'accélération (μ augmente),** pendant laquelle le métabolisme cellulaire reprend et la croissance démarre.
- **La phase exponentielle ($\mu=\mu_{max}$ constant),** au cours de laquelle toutes les bactéries se trouvent dans leur état physiologique optimal et se multiplient a leur taux de croissance maximum. Cette phase se présente sous la forme d'une portion linéaire lorsque l'on représente l'évolution du logarithme de la concentration bactérienne ou de la biomasse en fonction du temps.

- **La phase de ralentissement (µ diminue),** elle est due à l'épuisement d'un ou de plusieurs substrats limitants (sucres, acides aminés…), à l'accumulation de produits toxiques (acide lactique, acide acétique, peroxydes.) ou simplement à l'abaissement du pH.
- **La phase stationnaire (µ=0)** qui correspond à un arrêt de la croissance, la culture atteint alors sa densité maximale.
- **La phase de déclin (µ négatif),** qui correspond à la mort des bactéries et éventuellement à leur lyse par manque des réserves énergétiques ou par intoxication.

1.1.11. Méthodes d'identification des bactéries lactiques

Les méthodes classiques de classification des bactéries lactiques ont toujours été basées sur des caractéristiques morphologiques, phénotypiques, biochimiques et physiologiques.

Les principales méthodes utilisées pour la classification et l'identification des bactéries lactiques selon **Michel (2005)**.

- Méthode classique

Sur les milieux MRS, ELIKER ou M17 les bactéries lactiques forment de petites colonies (2 à 3 nm de diamètre) blanches d'aspect crémeux légèrement bombées.

L'appartenance au groupe se fait sur la base de la coloration de gram positive, d'activité catalase et oxydase négatives et éventuellement l'absence de réduction des nitrates.

L'identification du genre est d'abord par la morphologie, puis par le type fermentaire (production de CO_2 à partir du glucose), et les conditions physiologiques de croissance.

L'identification des espèces se base, en plus de ces tests sur le profil de fermentation de différents glucides, la dégradation de l'arginine, la production de dextrane, et l'isomère de l'acide lactique.

Des tests plus spécifiques comme la recherche du pouvoir hémolytique peuvent être utilisés pour les *Streptococcus* et les *Enterococcus*.

- Méthode moléculaire

La technique de l'ADN chromosomique correspondant à L'ARNr 16S permet l'identification précise de l'espèce, il s'agit d'une procédure très adaptée de sélection des souches naturelles et traditionnelles pour un usage alimentaire **(Badis *et al*., 2004).**

1.2. Les activités à intérêt technologique des bactéries lactiques

En dehors de la production de lactate, les BL sont composés de genres et espèces présentant des caractéristiques morphologiques et physiologiques diversifiés, cela se traduit par l'existence au sein des espèces de nombreuses souches possèdent des propriétés fonctionnelles et technologiques très importantes comme : l'acidification, la protéolyse, la lipolyse, la production de composés aromatiques et l'amélioration de la texture (**Muthukumarasamy et Holley, 2006 ; Casaburi et *al.*, 2008 ; Salvucci et *al*., 2016).**

1.2.1. L'activité acidifiante

L'activité acidifiante est l'une des principales fonctions des bactéries lactiques dans la fabrication des produits fermentés, les BL provenant des matières premières ou de l'environnement sont responsables de la production d'acide lactique résultant de l'utilisation des hydrates de carbone **(Visessanguan et *al.*, 2006).** L'activité acidifiante des ferments dépend de la nature et de l'équilibre entre les différentes souches présentes, en particulier, la présence de certaines espèces ou mélanges d'espèces différentes va permettre d'obtenir l'activité voulue. Cependant, il est important de souligner qu'il existe une forte variabilité de l'activité acidifiante des bactéries lactiques, y compris au sein d'une même espèce **(Corrieu et Luquet, 2008).** Les conséquences, d'ordre physico-chimique et microbiologique, peuvent se résumer ainsi par **(Béal et *al.*, 2008) :**

- Accumulation d'acide lactique participant à la saveur des aliments fermentés.
- Abaissement progressif du pH des milieux de culture et des matrices alimentaires.
- Limitation des risques de développement des flores pathogènes et d'altération dans les produits finaux.
- Déstabilisation des micelles de caséine, coagulation des laits et participation à la synérèse.

Pour un ferment donné, il s'agit de permettre une vitesse d'acidification élevée et/ou d'atteindre un niveau d'acidité finale prédéfinie. Le niveau d'acidité dépend des spécifications du produit, les quelles vont conditionner le choix des souches **(Monnet et *al.*, 2008).**

1.2.2. L'activité protéolytique

Cette activité est due aux protéases qui scindent les protéines en gros et moyens peptides et aux peptidases qui dégradent en acides aminés ces peptides **(Menigjin *et al*., 2010 ; Monnet *et al*., 2008).**

En effet, le système protéolytique des bactéries lactiques est composé de protéases associées à la paroi qui catalysant l'hydrolyse de protéines en polypeptides. Les endopeptidases et

exopeptidases par la suite dégradent ces polypeptides en oligopeptides de 7 à 16 résidus aminés et d'acide aminés libres assimilables **(Menigjin *et al*., 2010 ; Salvucci *et al*., 2016).**

Les LAB synthétisent de nombreuses protéases pouvant être des aminopeptidases dipeptidases ou tripeptidase localisées au niveau de la membrane plasmique ou dans le cytoplasme **(Ho *et al*., 2007 ; Atlan *et al*., 2008 ; Lahtinem *et al*., 2012).**

Cependant la faible teneur en acide aminé essentiels comme l'arginine et leucine dans la fraction non protéique du lait et l'incapacité des BL d'en effectuer la synthèse à partir des sources azotées plus simple constituent une limite de croissance de ces germes particulièrement exigeants **(Bouton, 1992).**

La croissance jusqu'à des densités cellulaire permettent aux bactéries lactiques d'assurer les fonctions de fermentation reposant sur un système protéolytique capable de satisfaire tous les besoins en acide aminés en hydrolysant les protéines. Ainsi les bactéries lactiques démontrent des potentialités différentes liées à leur équipement enzymatique pour l'utilisation de la fraction azotée **(Donkor *et al*., 2007 ; Monnet *et al*., 2008 ; Roudj *et al*., 2009 ; Dahou *et al*., 2015).**

1.2.3. L'activité lipolytique

La lipolyse est le processus d'hydrolyse de la matière grasse du lait, elle joue un rôle crucial dans le développement de la saveur d'une gamme de produits alimentaires. Les acides gras libres (AGL) et les esters dérivés des AGL sont des composés aromatiques importants dans le fromage. Les bactéries lactiques sont largement utilisées comme cultures de démarrage dans la fabrication des fromages grâce à leur activité lipolytique qui est nécessaire et contribue à la fermentation et au développement des saveurs finales par l'hydrolyse des triglycérides pour produire des acides gras libres, du glycérol et des intermédiaires tels que les mono- et diglycérides **(Blaya *et al*., 2018).**

En générale, les BL ont un système lipolytique plus faible que les autres micro-organismes lipolytiques, mais malgré ce système plus faible, certaines espèces peuvent avoir des enzymes intracellulaires capables d'hydrolyser les lipides du lait, telles que les estérases et les lipases. Par exemple, la matière grasse naturelle du lait est principalement composée de triglycérides émulsifiés qui ne peuvent être hydrolysés que par des lipases. Cependant, les mono- et diglycérides produits par l'hydrolyse des triglycérides peuvent être hydrolysés par certaines estérases, (Les estérases effectuent l'hydrolyse et la synthèse des liaisons ester et peuvent être en outre classées comme lipases). L'activité estérase des BL a été détectée chez les

streptocoques, les lactocoques et les lactobacilles mésophiles et thermophiles **(Thierry *et al.*, 2017).** Ainsi que **Dortu et Thonart (2009)** ont rapporté que les *lactocoques* lors de la fermentation du lait provoquent la libération d'enzymes intracellulaires dans le produit final et entraîne la formation des arômes.

1.2.4. L'activité aromatisante

Les bactéries lactiques ont les avantages techniques nécessaires pour obtenir la saveur unique des aliments fermentés dont leur qualité dépend de la capacité des levains lactiques à produire de la saveur et de l'arôme. Les espèces des deux genres *Lactococcus* et *Leuconostoc* sont considérées comme les principales espèces responsables de la production de composés aromatiques présents dans les dérivés laitiers. *Lactococcus lactis ssp lactis* et *Lactococcus lactis ssp cremoris* produisent des acides organiques tels que l'acide lactique et l'acide acétique. L'acétaldéhyde, le diacétyle, l'acétoïne et le 2-3 butanediol sont principalement formés à partir du citrate du lait par les espèces *Streptococcus thermophilus*, *Lactococcus lactis et Leuconostoc mesenteroide*. La synthèse de ces composés est largement dépendante des espèces impliquées dans la fermentation des produits et des voies métaboliques qui les caractérisent **(Figure 11),** plusieurs espèces lactiques ont été évaluées pour leur capacité à dégrader les acides aminés en composés aromatiques. Ces derniers sont formés par 3 voies cataboliques principales : protéolyse, glycolyse et la lipolyse **(Farag *et al.*, 2020 ; Chen *et al.*, 2017).**

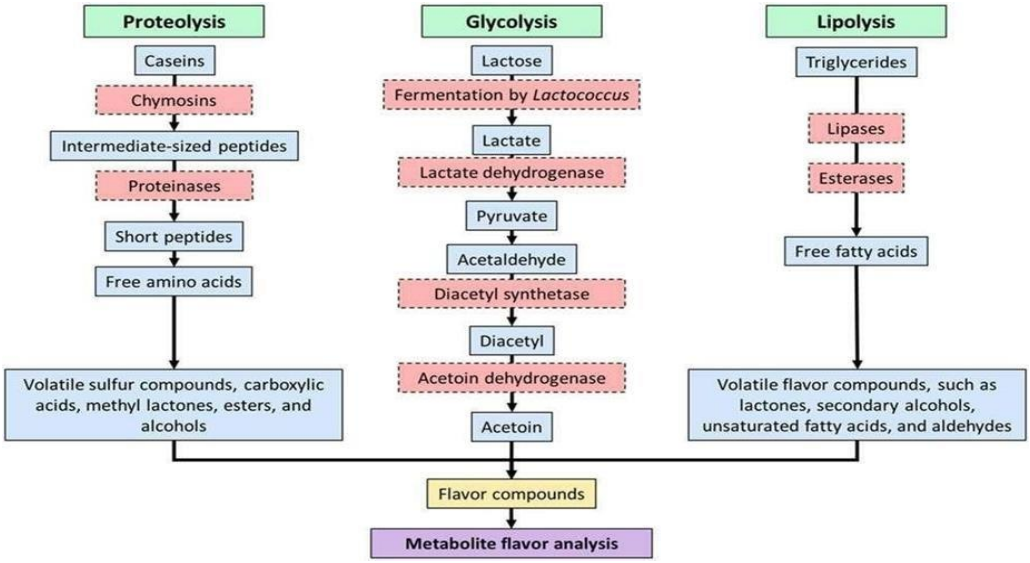


Figure 11 : Voies métaboliques de production d'arômes **(Farag *et al.*, 2020).**

1.2.5. L'activité texturante

Les BL produisant des exo-polysaccharides (EPS) ; ces microorganismes présentent une importance industrielle dans l'amélioration des produits alimentaires et sont utilisés comme cultures starters pour la production du yaourt, des fromages et des produits à base de céréales **(Liu *et al*., 2010).**

Les EPS sont formées par une succession d'unités répétitives linéaires ou ramifiées de monosaccharides reliés entre eux par des liens osidiques. Ces unités sont principalement le glucose, le galactose, le mannose, N-acétylglucosamine, Nacétylgalactosamine, et le fructose, en proportions variables **(Khue et Ngoc, 2013 ; Finore *et al*., 2014 ; Zarour, 2018).**

Certaines souches des bactéries lactiques ont la caractéristique de synthétiser des EPS, glucanes (dextranes) et fructosanes (levanes) **(Leveau et Bouix, 1993).** Ces polymères de sucre jouent un rôle important pour la consistance et la rhéologie des produits transformés. Comme exemple, *Lb. delbrueckii ssp. Bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus* produisent des EPS, qui sont utilisés dans la fabrication des yaourts pour améliorer la texture, éviter la synérèse et augmenter la viscosité du produit fini **(Leroy et De Vuyst, 2004 ; Ho *et al*.,2007).**

1.3. Résistance des bactéries lactiques aux antibiotiques

Les bactéries lactiques sont naturellement résistantes à beaucoup d'antibiotiques grâce à leur structure et physiologie. Les travaux de **Temmerman et *al*., (2003)** ont montré que 68.4% des probiotiques isolés ont une résistance à un antibiotique ou plus. Des souches de *Lactobacillus* ont été trouvées résistantes à la kanamycine (81%), à la tétracycline (29.5%), à l'érythromycine (12%) et au chloramphénicol (8.5%). 38% des isolats de *Enterococcus faecium* ont été trouvés résistants à la vancomycine. Dans la plupart des cas la résistance n'est pas transmissible, cependant, il est possible que le plasmide codant pour la résistance aux antibiotiques soit transféré à d'autre espèces et genre. C'est une raison significative pour choisir des souches manquantes du potentiel de transfert de résistance **(Denohue, 2004).**

Les autorités européennes ont récemment conclu que quelques bactéries utilisées pour la production d'aliments pourraient poser un risque à la santé humaine et animale en raison d'héberger des souches avec les gènes de résistance transmissibles. Par conséquent, avant de lancer une culture probiotique, il est important de vérifier que les souches bactériennes impliquées ne comportent pas de gènes transmissibles de résistance aux antibiotiques **(Ammor et Mayo, 2007).**

1.3.1. Mécanismes de résistance des BL aux ATB

Un ATB agit du fait de son affinité pour une cible vitale pour la bactérie. Sa fixation spécifique inhibe le fonctionnement de cette cible qui est en général une enzyme ou une structure clé impliquée dans la synthèse de la paroi, des acides nucléiques, des protéines ou de la membrane cytoplasmique **(Turner et *al*., 2016)**.

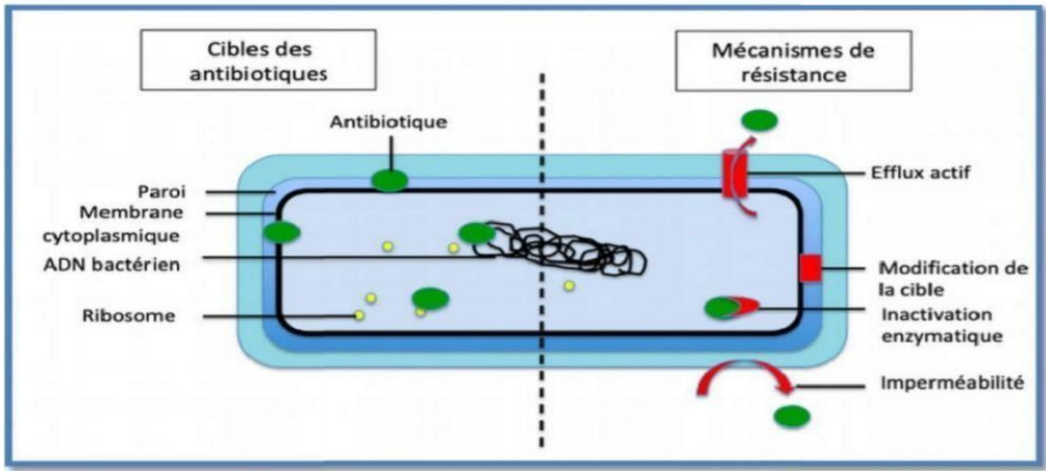


Figure 12 : Mécanismes de résistance des bactéries aux antibiotiques **(Cardot et *al*., 2019)**.

Les mécanismes de résistance des bactèries lactiques aux antibiotiques sont variées et complexes mais peuvent étre regroupés en quelques grandes catégories dont les suivantes :

1.3.1.1. Inactivation de l'antibiotique

C'est le processus le plus fréquent chez les bactéries à Gram négatif. Cette capacité à résister est liée à la production d'enzymes qui soit détruisent l'ATB, soit ajoutent des radicaux libres, ce qui entrave ou diminue la liaison de l'ATB à sa cible **(Pons, 2022 ; Lanotte et Pasquier, 2022)**.

- Production des enzymes inactivant les ATB : Certaines bactéries synthétisent des enzymes β-lactamases capables d'hydrolyser les β-lactamines.
- Production des enzymes qui modifient les antibiotiques : L'immobilisation enzymatique des résidus sur les aminoglycosides réduit leur affinité pour les cibles.

1.3.1.2. Modification ou remplacement de la cible

La cible peut être structurellement modifiée ou remplacée pour que le composé antibactérien, ne puisse plus se lier et exercer son activité au niveau de la bactérie **(Muylaert et Mainil, 2012).**

La modification de la cible peut être obtenue par mutation ou par modification enzymatique, en réorganisant la paroi cellulaire, qui protège les topoisomérases bactériennes de l'activité inhibitrice des quinolones **(Martinez, 2014).**

1.3.1.3. Efflux actif

Il s'agit d'un mécanisme actif d'excrétion des ATB de l'intérieur de la bactérie vers le milieu extérieur. L'ATB n'a pas le temps d'agir sur sa cible et devient donc inactif **(Grohs, 2017)**. Cet efflux actif nécessite de l'énergie sous forme d'ATP (adénosine tri phosphate) ou d'un gradient électrochimique transmembranaire, utilisé par des pompes à efflux ou transporteurs actifs qui réduisent la concentration intracellulaire de l'ATB limitant l'accès à sa cible **(Mangin, 2016)**.

1.3.1.4. Perméabilité réduite de la molécule

Changement de perméabilité de la membrane interne ou externe des bactéries à gram négatif qui sont munies d'une enveloppe additionnelle, qui sert de barrière de protection. La réduction de perméabilité cellulaire se produit par la diminution de l'entrée de

l'antibiotique sur son site, provoquée par l'altération des porines dans la paroi des BGN pour réduire ou bloquer la pénétration de l'antibiotique jusqu'à son site d'action. La mutation des porines jouerait un rôle important dans l'émergence d'une résistance **(Carle, 2009).**

1.3.1.5. Protection de la cible

Ce mode de résistance est bien connu pour la famille des tétracyclines et a été plus récemment décrit pour les quinolones et les fluoroquinolones. Il s'opère grâce à un encombrement stérique du ribosome par production de protéines Tet (M) et Tet (O), qui délogent les tétracyclines de leur cible ou par synthèse de protéines qnr (Quinolone Resistance), qui se fixent sur la Topoisomérase, cible des fluoroquinolones, réduisant leur affinité pour celle-ci **(Demoré *et al.*,2012 ; Muylaert *et al.*, 2012).**

1.3.1.6. Piégeage de l'antibiotique

Les bactéries sont capables de piéger un antibiotique en augmentant la production de sa cible ou en produisant une autre molécule possédant une affinité pour ce dernier. Il en résulte une diminution de l'antibiotique à l'état libre au niveau de la cible. Ainsi des mutations chromosomiques responsables d'une surproduction des cibles des sulfamidés et du triméthoprime ont été décrites chez de nombreuses espèces bactériennes.

Ce mécanisme est également impliqué dans des bas niveaux de résistance aux glycopeptides chez certaines souches de *S.aureus*, et à la Tobramycine chez *E. coli* **(Guard et Courvalin, 2006).**

1.4. Les produits laitiers traditionnels algériens

Il existe une très grande variété de produits laitiers dans le monde à savoir des laits fermentés, du beurre, des fromages selon la source du lait (vache, brebis, chèvre, etc.) et la technologie appliquée (traitement thermique, utilisation de levains, etc.) **(Fox *et al*., 2004).**

En Algérie les produits laitiers fermentés sont consommés traditionnellement ce qui reflète un aspect important de la culture algérienne. La transformation traditionnelle du lait en produits laitiers traditionnels algériens fait partie intégrante de l'héritage et a une grande importance culturelle médicinale et économique **(El Marrakchi et Hamama, 1996 ; Lahsaoui, 2009).**

Cette transformation abondant dans certaines périodes de l'année a permis l'apparition d'une gamme de produits laitiers dont les boissons, les dérivées laitiers gras et les fromages. Cependant, plusieurs produits traditionnels sont actuellement en voie de disparition pour différentes raisons dont les plus importantes, la migration rurale et le changement des habitudes alimentaires **(figure 13) (Aissaoui *et al*., 2006 ; Bendimerad, 2013).**

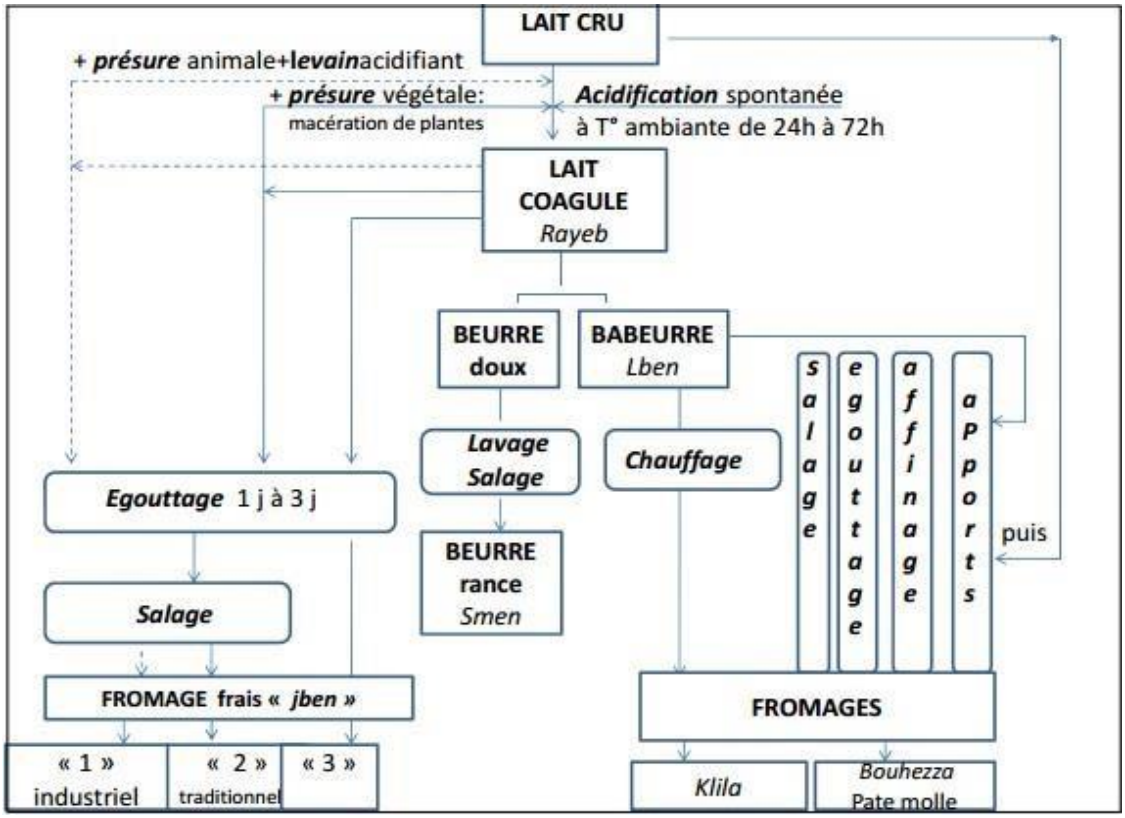


Figure 13 *:* Schéma simplifie montrant les différentes étapes de préparation des produits laitiers traditionnels Algériens **(Bendimerad,2013).**

Le tableau suivant présente un récapitulatif des différents produits laitiers algériens traditionnels.

Tableau 3: les produits laitiers traditionnels

Catégorie	Produit	Description	Références
Lait fermenté	Rayeb	Lait caillé obtenu par acidification spontanée à température ambiante pendant 24 à 72h selon la saison. Consommé tel quel ou transformé. Fermentation par des bactéries lactiques mésophiles (*leuconostocs, lactocoques*).	**Guizani et *al*.,(2001) Benkerroum (2004) Bendimerad (2013) Mechai et *al*., (2014)**
	L'ben	Produit d'origine ancienne. Lait laissé à température ambiante jusqu'à coagulation (24h à 48h) suivi d'un barattage de 30 à 40 min. Ajout de 10% d'eau tiède pour faciliter la formation de beurre.	**Benkerroum et Tamime (2004) Ouadghiri (2009)**
Fromages	Jben	Fromage frais populaire en zones rurales et urbaines. Fabriqué à partir de lait de vache ou de chèvre. Étapes : maturation, coagulation, égouttage.	**Benkerroum et Tamime (2004) Randazo et *al*., (2009)**
	Autres fromages	**- Frais :** Jben, Mechouna, Inhumane , Aghoughlou, Kemariya, Oudiouan Oulli, Klila frais **- Affinés :** Bouhezza **- Fondus :** Medghissa **- Durs :** Ioulsân, Takammart, Klila séchée	**Leksir (2018)**
Dérivés laitiers gras	Smen	Beurre conservé. Préparé artisanalement par lavage, salage, conditionnement en pots en terre, puis conservé à l'abri de l'air/lumière pendant au moins 6 mois.	**El Marrakchi et *al*., (1986) Sakili et Issouel (2003)**
	Dhan	Beurre frais obtenu après barattage du Rayeb. Ajout d'eau tiède (40-50°C) en fin de barattage pour faciliter l'agglomération des globules gras. Consistance molle à cause de la forte concentration en eau.	**Benkerroum et Tamime (2004)**

1.4.1. Le lait de chèvre

Le lait est un liquide physiologique complexe sécrété par les mammifères **(Mahe, 1996)**. Il est blanc mat due à l'absence de β-carotène **(Goursaud, 1985)**. Le lait de chèvre à un goût légèrement sucré, il est caractérisés par une odeur assez neutre (**Zeller, 2005 ; Jouyandah et Abroumand, 2010).**

1.4.1.1. Les critères organoleptiques

- **L'odeur :** Selon **(Jaubert, 1996)**, Fraîchement trait, le lait de chèvre à une odeur assez neutre parfois en fin de lactation, il a une odeur dite caprique.
- **La couleur :** Blanc mat, contrairement au lait de vache, le lait de chèvre ne contient pas de β-carotène, aussi le beurre de chèvre a une couleur blanche **(Alais, 1984)**.
- **La saveur :** Le lait de vache et de chèvre possède tous deux une saveur douce, agréable, particulière au lait. Cependant, le lait de chèvre fraichement trait possède une saveur neutre, par contre, après stockage au froid, il requiert une saveur caractéristique qui s'avère un critère de sélection **(Boyaval et *al*., 1999)**.

1.4.1.2. Les critères physicochimiques

Le lait de chèvre possède des caractéristiques physico-chimiques plus ou moins stables, dépendant soit de l'ensemble des constituants comme la densité, soit des substances en solution, comme le point de congélation, on encore des concentrations en ions, comme le pH **(ST-Gelais *et al.*, 1999).** Le lait de chèvre semble partager beaucoup de points communs avec le lait de vache comme présenté dans le tableau suivant.

Tableau 4 : Les principales constantes physico-chimiques de lait de vache et chèvre **(FAO, 1990**).

Constantes	**Vache**	**Chèvre**
Energie (Kcal/litre)	705	**600-750**
Densité du lait entier à20c°	1,0281,030	**1,0271,035**
Point de congélation (2)	0,520- 0,550	**-0,550- 0,583**
pH à 20c°	6,60-6,80	**6,45-6,60**
Acidité titrable (D°)	15-17	**14-18**
Indice de réfraction	1,45-1,46	**1,35-1,46**

1.4.1.3. Microflore du lait de chèvre

Le lait est un aliment dont la durée de vie est très limitée. En effet, son pH voisin de la neutralité, le rend très facilement altérable par les microorganismes et les enzymes, sa richesse et sa fragilité font du lait un milieu idéal aux nombreux microorganismes comme les moisissures, les levures et les bactéries qui se reproduisent rapidement **(Gosta, 1995).**

Le lait dans les cellules du pis est stérile **(Tolle, 1980),** mais la glande mammaire, la peau du pis, le matériel de traite, la litière, la qualité de l'air et les pratiques des éleveurs sont des sources de contamination **(Ménard *et al*., 2004).**

- **La flore originale**

Ce sont les bactéries lactiques qui peuvent se retrouver dans le lait comme *Lactococcus lactis, Leuconostoc mesenteroïdes ,Streptococcus thermophilus* **(Guessas *et al* .,2004).**

D'après l'étude d'identification des bactéries lactiques proposée par **BERRADIA (2016)**, la microbiologie du lait de chèvre été composée de *Lactobacillus delbrueckii, Lactobacillus fermentum, Streptococcus thermophilus, Streptococcus mitus, Enterococcus durans, Lactococcus lactis subsp, Pediococcus faecalis* et se répartit en des pourcentages différents, qui sont schématisés à la **figure 14.**

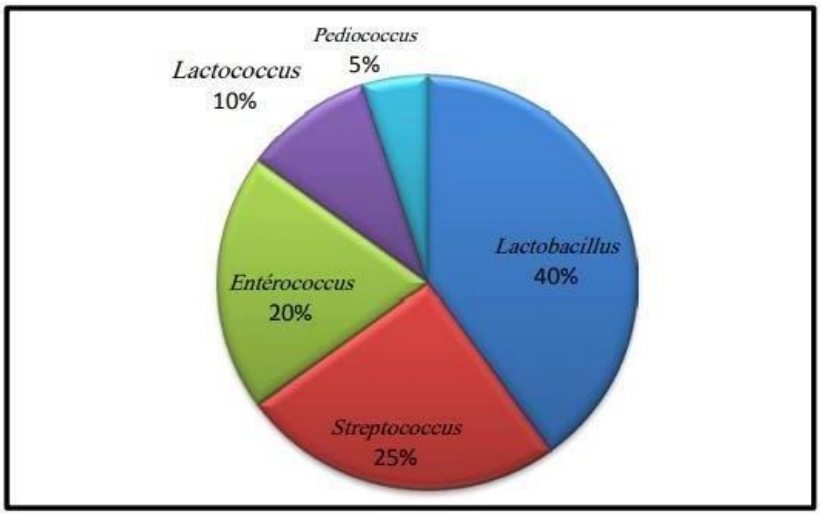


Figure 14 : pourcentages des genres de bactéries lactiques dominants le lait chèvre selon **Berradia (2016).**

1.4.2. Le Beurre (Dhan)

Le beurre est un produit gras dérivé exclusivement du lait ou de produits obtenus à partir du lait, principalement sous forme d'une émulsion du type eau dans l'huile et dont la teneur minimale en matière grasse laitière s'élève à 80 %, la teneur maximale en eau atteint 16 %, alors que la teneur maximale en extrait sec non gras ne doit pas dépasser 2% **(Boutonnier et *al*.,2002).**

Le beurre est une source naturelle de lipides et de vitamines participant à l'équilibre alimentaire. C'est aussi un produit de la cuisine traditionnelle et de la gastronomie. Il est un élément important de la diversité et de l'équilibre nutritionnelle et à ce titre, un facteur de santé, sa consommation raisonnable permet à l'organisme de bénéficier d'un ensemble d'acides gras dont les scientifiques découvrent peu à peu le grand intérêt **(Mendy, 1982).**

1.4.2.1. Les critères organoleptiques

Le beurre traditionnel se distingue par ses propriétés organoleptiques spécifiques, qui dépendent de la qualité de la crème utilisée, du procédé de fabrication, des conditions d'affinage et de conservation, ainsi que de l'activité des microorganismes présents naturellement **(Lenoir et *al.*, 2000).**

❖ **Aspect visuel** : Le beurre traditionnel présente une couleur jaune pâle à jaune doré, souvent non homogène, en raison de la variation naturelle en pigments (comme le bêta-carotène) liée à l'alimentation des animaux **(Walstra et *al.*, 2006).** Il possède une texture ferme à température ambiante, pouvant devenir plus souple ou légèrement granuleuse lorsque le barattage est mal maîtrisé ou si le beurre est conservé à une température inadéquate **(Champagne et *al.*, 1994).**

❖ **Texture** : La texture est généralement onctueuse, souple et tartinable, mais peut varier selon le taux d'humidité, la teneur en matières grasses et les conditions de malaxage **(Lenoir et *al.*, 2000)**. Le beurre traditionnel, fabriqué artisanalement à partir de crème crue ou fermentée, peut présenter une légère granularité naturelle, résultant de l'instabilité de l'émulsion **(Lücke, 2000).**

❖ **Odeur** : Le beurre traditionnel dégage une odeur fraîche, lactée et légèrement acidulée, parfois accompagnée de notes aromatiques complexes dues à la présence de bactéries lactiques comme *Lactococcus lactis ou Leuconostoc mesenteroides*, responsables de la production de composés volatils comme le diacétyle ou l'acétaldéhyde **(Fox et *al*., 2000).**

❖ **Goût :** Le goût est doux, parfois légèrement salé (si du sel est ajouté), avec une saveur acidulée issue de la fermentation. Le diacétyle, métabolite produit par certaines bactéries lactiques, est responsable du goût typique de noisette ou de crème fraîche, très apprécié dans les beurres traditionnels **(Tamime et Robinson, 2007).**

❖ **Flaveur (goût + arôme) :** La flaveur du beurre traditionnel est riche, équilibrée et complexe, combinant des arômes lactés, acidulés et parfois fermentés. Cette flaveur est fortement influencée par la microflore d'origine de la crème, notamment dans les fabrications sans pasteurisation **(Lenoir et *al*., 2000 ; Walstra et *al*., 2006).**

1.4.2.2. Les critères physicochimiques

Le beurre traditionnel présente des caractéristiques physico-chimiques influencées par la qualité de la crème, le procédé de fabrication et les conditions de stockage. Ses propriétés diffèrent légèrement de celles du beurre industriel, comme le montre le tableau suivant de **Lahsaoui (2009).**

Tableau 5 : Caractéristiques physicochimiques du beurre traditionnel Algérien **(Lahsaoui, 2009).**

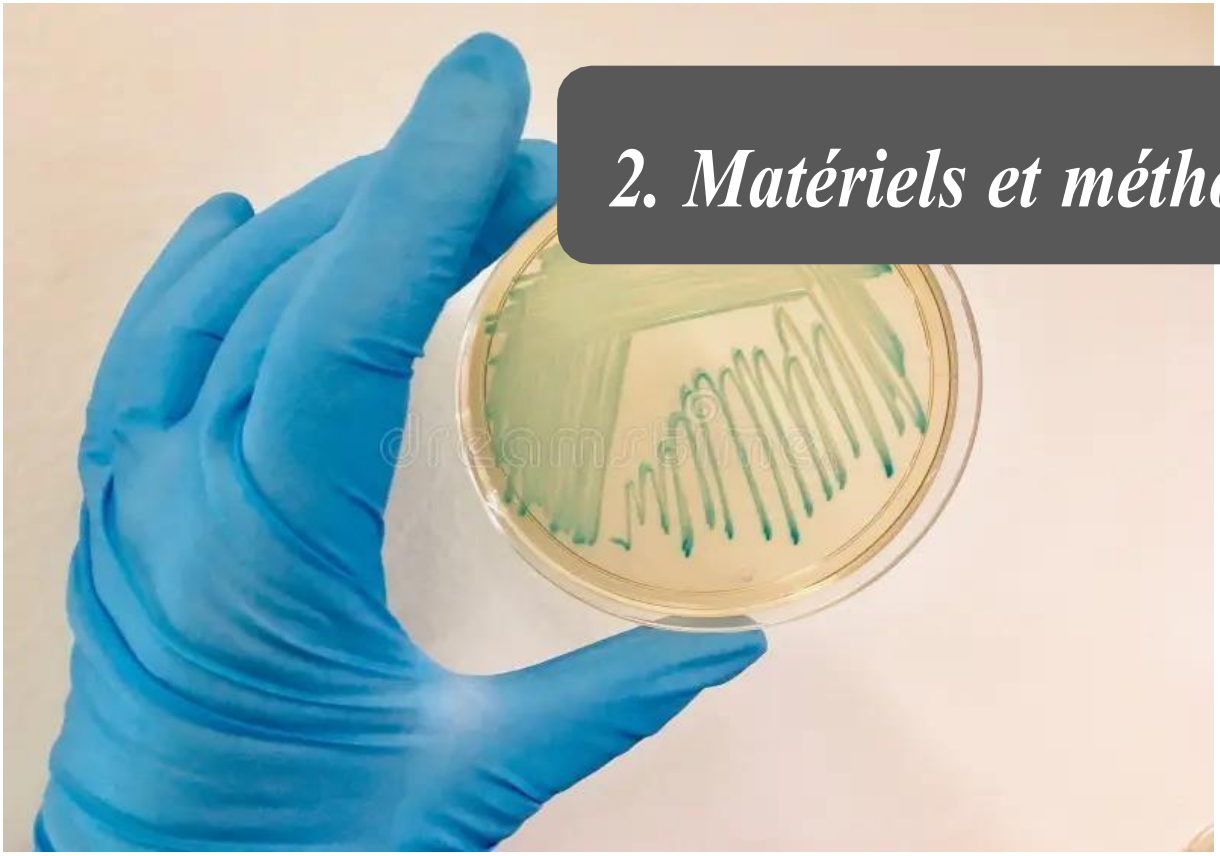
Paramètre	Valeurs moyennes
Humidité	14,0 %
NaCl	1,5 %
Lactose	1,2 g/100g
Matière grasse	81.0 g/100g
Protéines	3,2 g/100g
Lipides insaponifiables	0,3 g/100g
Indice d'acide	52,0 mg KOH/g lipide
Indice peroxyde	3,7mg KOH/g lipide

1.4.2.3. Microflore du beurre

Le beurre est un produit laitier obtenu par barattage de la crème, séparée du lait. Comme tout produit issu du lait cru ou peu transformé, il peut contenir une microflore complexe et variée, influencée par la qualité du lait d'origine, les conditions de traite, la méthode de fermentation de la crème, les équipements, et l'hygiène durant la fabrication **(Lenoir et *al.*, 2000 ; Walstra et *al.*, 2006).**

- **La Flore originale**

Guessas et ces collaborateurs **(2012)**, ont rapporté que les bacteries lactiques dominent la microflore du dhan en particulier le genre *Leuconostoc spp (Leuconostoc mesenteroides subsp. Dextranicum), Lactococcus* (*Lactococcus lactis* subsp. *Lactis, Lactococcus lactis subsp.crémoris),* et *Lactobacillus (Lactobacillus delbruekii subsp. Lactis* et *Lactobacillus plantarum)*. D'autres groupes identifiés comprenaient des streptocoques pyogènes et des entérocoques.



2. Matériels et méthodes

2.1. Objectif de l'étude

L'objectif principal de cette étude est d'isoler des souches de bactéries lactiques à partir d'échantillons de lait cru de chèvre et de Beurre (Dhan) de vache de la région de relizane (Ouest algérien), de les identifier en se basant sur leurs caractéristiques phénotypiques, physiologiques et biochimiques et les caractériser sur le plan technologique.

2.2. Lieu et période d'étude

L'ensemble des travaux ont été réalisés au sein du laboratoire de microbiologie de la faculté des sciences de la nature et de la vie, Université Ahmed ZABANA de RELIZANE pendant 3 mois.

2.3. Echantillonnage

L'étude a été conduite en utilisant des échantillons de lait et de beurre collectés dans différentes fermes de la wilaya de Relizane. Il s'agit d'un échantillon de lait de chèvre qui a été prélevé en mois de Février de la région de Souk El-Had et recueilli aseptiquement dans un flacon en verre stérile (après avoir éliminé quelques jets) et de deux échantillons de beurre de vache fabriqués de façon artisanale prélevés de la région de Ouled Ali et Souk El-Had.

Les trois échantillons soigneusement étiquetés (lieu et date de prélèvement…) ont été transportés dans une glacière et acheminés directement au laboratoire pour analyse.

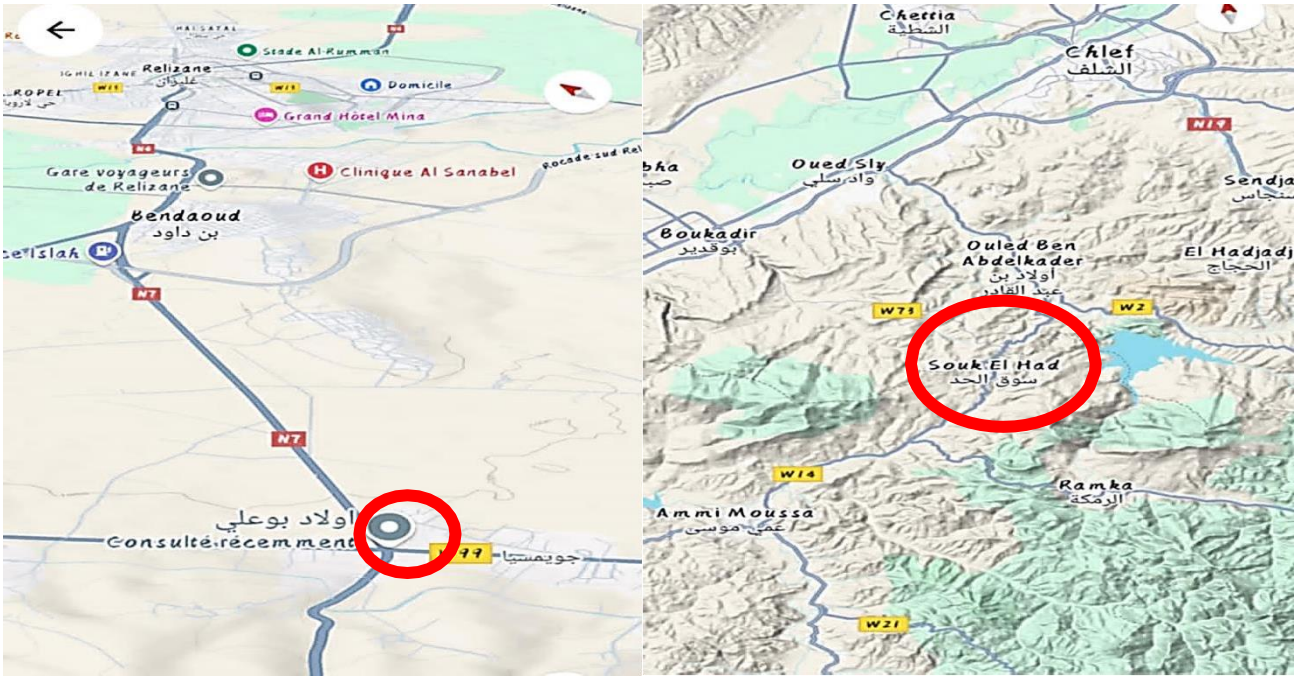


Figure 15 : localisation des deux régions ou les échantillons de lait et de beurre ont été prélevés **(Google maps)**

2.4. Isolement et purification des souches

2.4.1. Préparation de la solution mère et les dilutions décimales

La solution mère a été préparé en ajoutant aseptiquement 1ml de lait sinon 1g de beurre à 9 ml d'eau physiologique; c'est ainsi qu'on obtient la première dilution10^{-1} ,à partir de cette dernière ;des séries de dilutions décimales ont été préparées de la même manière jusqu'à la dernière dilution10^{-6} (f i g u r e 1 6) **(Leveau e*t al.*, 1991).**

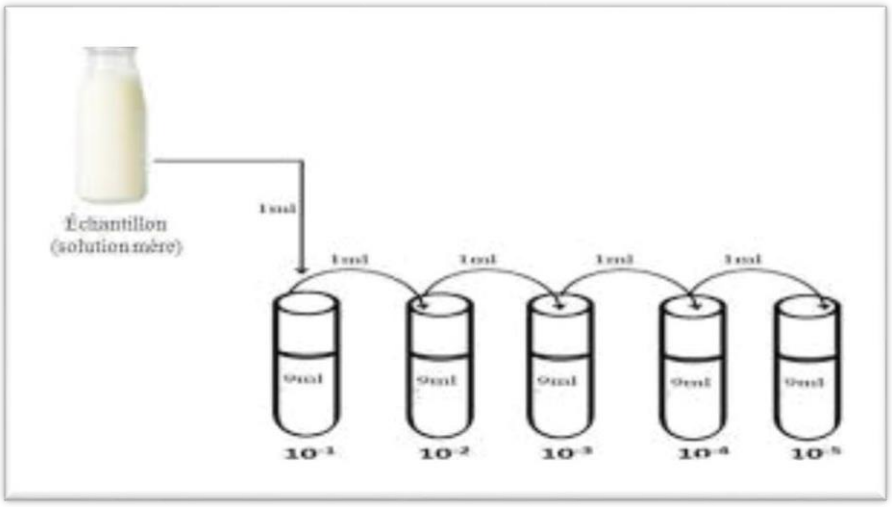


Figure 16 : préparation des dilutions décimales

2.4.2. Isolement des bactéries lactiques

Les trois dernières dilutions ont servi pour l'ensemencement des milieux gélosés MRS et MRS acidifié (par de l'acide acétique à pH=5.4) préalablement coulés et solidifiés dans des boites de Pétri, par étalement de 0.1ml de la dilution à la surface du milieu. Les boites ont été par la suite, portés à incubation à 37°C pendant 24h à 48h ; durée nécessaire pour l'apparition des colonies de souches bactériennes **(Tortora et *al*., 2003).**

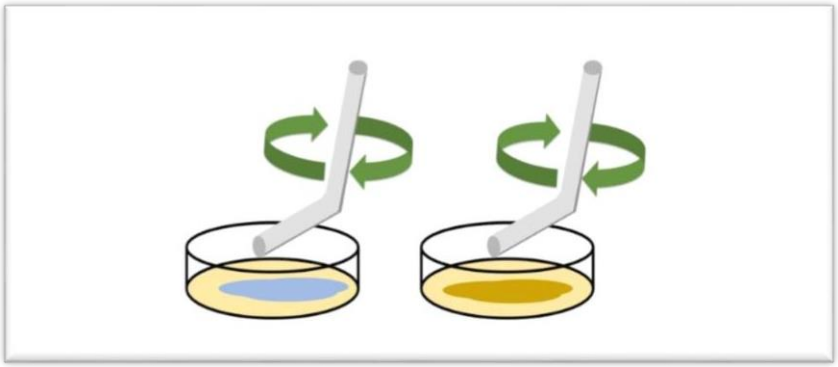


Figure 17 : Ensemencement des milieux de culture par étalement

2.4.3. Purification des isolats

La purification des isolats a été effectuée en réalisant un ensemencement par stries d'épuisement sur les mêmes milieux suivis d'une incubation à 37°C pendant 24h. Cette manipulation a été répétée trois fois pour chaque échantillon.

2.4.4. Analyse des isolats

Elle consiste en la réalisation des tests de vérification suivants :

2.4.4.1. Examen macroscopique

La détermination des propriétés macroscopiques, se fait à l'œil nue. Cette analyse renseigne sur la forme, la couleur, l'aspect, la taille, la consistance, l'opacité et le contour des colonies.

2.4.4.2. Examen microscopique

Cet examen permet de décrire la forme et le mode d'association des cellules des isolats sous microscope optique après coloration de Gram **(Singleton,1999) (annex2).**

2.4.4.3. 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 :

$$H_2O_2 \longrightarrow 1/2\ O_2 + H_2O$$

La méthode de recherche de la catalase consiste à mettre en contact une colonie de la bactérie à tester en présence d'une goutte d'eau oxygénée. Un dégagement gazeux abondant (dû à un dégagement de dioxygène) sous forme de mousse traduit la décomposition de l'eau oxygénée sous l'action de l'enzyme à tester **(Belyagoubi, 2014 ; Kassas, 2017).**

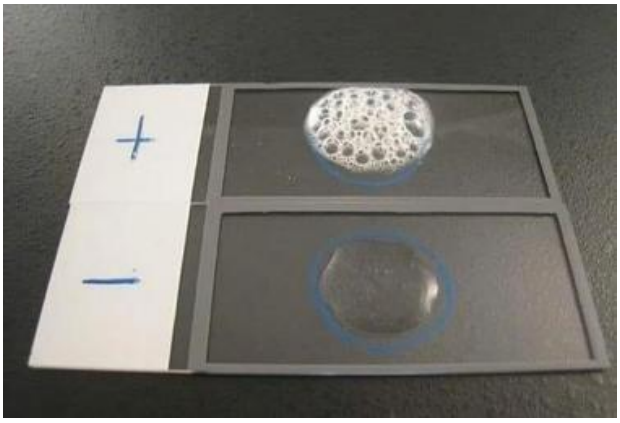


Figure 18 : test de la catalase

Seuls les isolats à Gram positif, Catalase négatifs ont été retenus et sont considérés comme étant des bactéries lactiques.

2.4.5. Conservation des souches

Pour une conservation de longue durée, les souches ont été placées dans des tubes eppendorfs contenant du milieu de culture additionné de glycérol à (80%) et conservées au congélateur à -20°C pendant plusieurs mois.

2.5. Identification des isolats

Les isolats Gram positifs, Catalase négatifs ont fait l'objet d'une identification biochimique au moyen des galeries API Biomérieux en utilisant la galerie API 20 Strep (biomerieux,sa), associant 20 tests biochimiques qui présentent un grand pouvoir discriminant. Cette galerie est composée de microtubes contenant des substrats déshydratés pour la mise en évidence d'activités enzymatiques ou de fermentation de sucres.

L'ensemencement des galeries a été réalisé selon les instructions du fabricant, les tests enzymatiques sont inoculés avec une suspension bactérienne dense, réalisée à partir d'une culture pure, qui reconstitue les milieux et les tests de fermentation sont inoculés avec un milieu enrichi (contenant un indicateur de pH) qui réhydrate les sucres. Après incubation à 30°C pendant 24 à 48h, les réactions enzymatiques produites se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs et la fermentation des sucres entraîne une acidification se traduisant par un virage spontané de l'indicateur coloré. La lecture de ces réactions se fait à l'aide du tableau de lecture (présenté en **annexe 3**) et l'identification des souches est obtenue à l'aide du logiciel d'identification API Web data base **(API Strept V7.0 2007/02 bio Mérieux sa).**

2.6. Caractérisation technologique des souches

2.6.1. Réalisation de la première préculture

A partir des colonies obtenues sur le milieu gélosé en boites, des tubes à essai contenant chacun 5 ml de bouillon MRS ont été inoculés puis incubés à 37°C pendant (18 à 24) heures.

2.6.2. Réalisation de deuxième préculture

Une seconde préculture a été réalisée par ensemencement de 200 µl de la première préculture dans 5ml de lait écrémé stérile puis incubation à 37°C pendant (18 à 24h).

Après incubation, des flacons contenants 150ml de lait écrémé stérile ont été inoculés chacun par la seconde préculture à raison de 1% et incubés à 37°C pendant (18 à 24h).

2.6.3. Étude de la croissance

La croissance des souches a été déterminée au point initial 0h (t_0) et au point final après 24h d'incubation (t_{24}) ; par mesure de la densité optique à une longueur d'onde de 600nm au spectrophotomètre après clarification du lait par une solution d'EDTA (1%, pH=12) comme décrit par **(Boutrou *et al*.,1998).**

2.6.4. Étude de l'activité acidifiante

La mesure de l'activité acidifiante consiste à suivre d'une part l'évolution du pH de différentes cultures en fonction du temps et d'autre part à doser l'acidité titrable par la soude (NaOH, 1/9N) en présence d'un indicateur coloré de pH la phénolphtaléine **(Larpent, 1997).** L'acidité titrable mesurée est assimilée à des degrés Dornic (°Dornic) où 1°Dornic équivaut à 0.1g d'acide lactique/l de lait.

Ce test est réalisé comme suit : à 10 ml de lait prélevé aux temps t_0 et t_{24}, ont été ajouté quelques gouttes de phénolphtaléine et titré avec une solution de soude placée dans une burette, avec agitation jusqu'au virage de la couleur au rose pâle correspondant à la zone d'équivalence. On note le volume de la solution de NaOH (Veq). L'acidité est déterminée par la formule :

Acidité (°D) = V NAOH ×10

Où : V NaOH est le Volume de NaOH utilisé pour titrer l'acide lactique contenu dans 10ml de lait.

2.6.5. Étude de l'activité aromatisante

La capacité des souches à produire des composés aromatiques (précisément du diacétyle) au cours du processus de fermentation est mise en évidence sur lait écrémé stérile. Chaque tube contenant 5ml de lait écrémé stérile est inoculé par une culture jeune de 18h de la souche lactique à tester. Après incubation pendant 24h à 37°C, les réactifs de Vogues-Proskauer VPI (KOH à 16% d'alcool) et VPII (alpha-naphtol à 1% d'alcool) sont ajoutés aux cultures et le mélange est incubé au bain marie à 37°C pendant 10min avant de lire la réaction **(Avril et *al.*, 1992).** La production du diacétyle se traduit par l'apparition d'un anneau rouge à la surface du milieu.

2.7. Étude de l'antibiorésistance des souches

2.7.1. Réalisation de l'antibiogramme

La résistance des souches de BL a été testée vis-à-vis de quatre antibiotiques, par diffusion sur milieu solide en utilisant des disques d'antibiotiques.

Des précultures des souches ont servi pour l'ensemencement du milieu de culture (MRS solide) par étalement. Par la suite, les disques de quatre antibiotiques à savoir : Tétracycline **(TE)**, Érythromycine **(E)**, Ceftazidime **(CAZ)** et Ampicilline **(AM)** ont été déposés stérilement à la surface du milieu, à l'aide d'une pince stérile une légère pression a été appliqué afin d'assurer un contact complet du disque avec le milieu. Après incubation à 37 ° pendant 24 à 48 heure, la lecture de l'antibiogramme a été faite en mesurant à l'aide d'une règle graduée les diamètres des zones d'inhibition autour des disques (**Leroy et *al.*, 2007).**

3. Résultats et discussion

3.1. Isolement des bactéries lactiques

3.1.1. Caractérisation macroscopique

Quatre souches de bactéries lactiques ont été isolées dans notre étude. Elles ont poussé uniquement sur milieu MRS solide -ordinaire-. L'examen macroscopique a permis de décrire l'aspect des colonies de ces souches qui apparaissent de petite taille d'environ 0.5 mm à 1mm de diamètre, de forme ronde à contour régulier, légèrement bombées et de couleur blanchâtre avec une surface lisse ; comme présenté dans la **figure 19.**

Une absence totale des colonies de bactéries lactiques sur milieu MRS solide -acidifié- a été noté sachant que ce dernier a été utilisé pour sélectionner les souches de lactobacilles. L'absence des lactobacilles est probablement due à la saison de la collecte des échantillons, la région géographique, la période de lactation, ou l'état physiologique de l'animale. En revanche une présence remarquable des colonies des levures sur ce milieu a été noté, ces dernières ont été écarté.

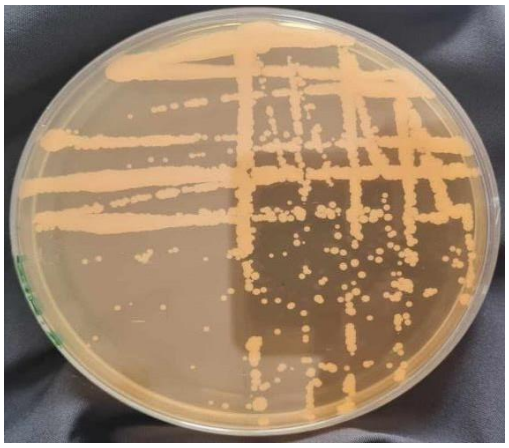


Figure 19 : Aspect macroscopique des colonies des souches sur milieu MRS solide.

3.1.2. Caractérisation microscopique

L'examen microscopique, après coloration de Gram, a montré que les cellules des souches isolées sont à Gram positif (apparaissent de couleur violet sous microscope optique), de différentes formes : coques et coccobacilles, associées en paires (diplocoques) ou en courtes et longues chaînettes **(figure 20)**.

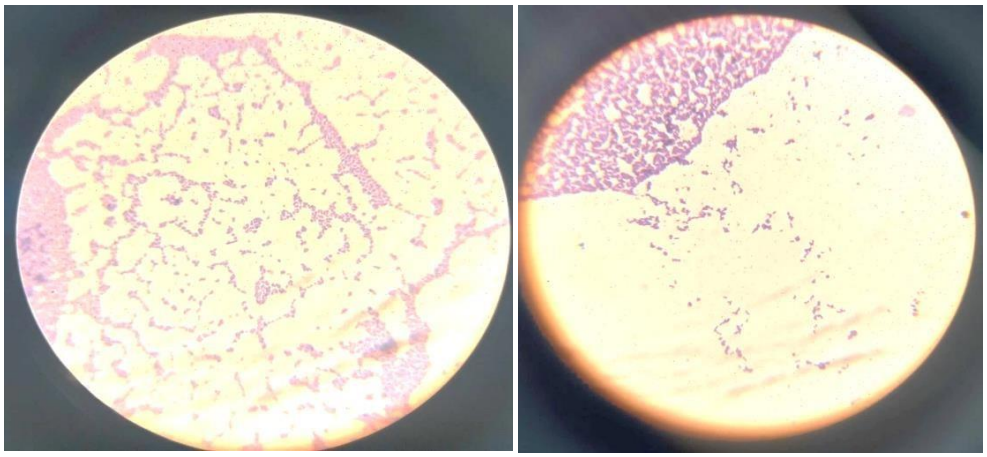


Figure 20 : Aspect microscopique des cellules des souches sur milieu MRS solide

3.1.3. Test de la Catalase

Le test de catalase a révélé que les souches sont catalase négatives. En effet, les quatre souches ne représentaient aucune effervescence lors de l'ajout d'une goutte de H_2O_2 **(Figure 21).**

Figure 21 : Résultat du test de la catalase

Les résultats relatifs aux examens macroscopique et microscopique des souches et du test de la catalase confirment l'appartenance de ces dernières au groupe des bactéries lactiques.

3.2. Identification des souches

L'identification des souches a été réalisée au moyen du logiciel API web database **(API Strept V7.0 2007/02 bioMerieux sa)** et la lecture de leurs profils biochimiques à l'aide du tableau de lecture présenté en **(Annexe 3)**. Ainsi les quatre souches ont été rattachées aux genres suivant présentés dans **le tableau 6** :

Tableau 6 : identification biochimique des souches isolées.

Souches (codes)	L'identification
B1	*Leuconostoc spp*
B2	*Leuconostoc spp*
B3	*Lactococcus lactis spp cremoris*
B4	*Enterococcus avium*

L'analyse des résultats obtenus au moyen des galeries API a permis d'établir les profils métaboliques des quatre souches présentées dans le tableau suivant :

Tableau 7 : Profils métaboliques des quatre souches

Souches / Tests	**B1**	**B2**	**B3**	**B4**
VP	+	+	+	+
ESC	-	-	+	+
ADH	-	-	-	-
RIB	+	-	-	-
ARA	+	+	-	-
MAN	-	-	-	-
SOR	-	-	-	+
LAC	-	-	-	+
TRE	-	-	+	-
INU	-	-	-	-
RAF	-	-	-	-
AMD	-	-	-	-
GLYG	-	-	-	-

+ : Réaction positif **- :** Réaction négative

VP : Vogues-Proskauer ; **ESC** : Esculine ; **αGAL :** Galactose ; **ADH** : Arginine dihydrolase ; **RIB** : D-Ribose ; **ARA** : L-Arabinose; **MAN** : D- Mannitol; **SOR**: D-Sorbitol; **LAC**: D- Lactose (origine bovine); **TRE**: D-Tréhalose; **INU**: Inuline; **RAF**: D-Raffinose; **AMD**: Amidon; **GLUG**: Glycogène.

L'analyse comparative des profils biochimiques des quatre souches isolées, codées B1 à B4, a permis leur identification et leur rattachement à différents genres de bactéries lactiques.

L'étude s'est appuyée sur une série de tests biochimiques, notamment le test de Voges-Proskauer (VP), l'hydrolyse de l'arginine (ADH), la production d'esculine (ESC), ainsi que la capacité de fermentation de divers glucides.

Les souches B1 et B2 ont présenté un profil biochimique presque identique, à l'exception de la fermentation du Ribulose par la souche B1 ; Elles sont toutes deux VP positives, ESC et ADH négatives, et incapables d'utiliser la majorité des sucres à savoir le mannitol (MAN), le sorbitol (SOR), le lactose (LAC), le tréhalose (TRE), l'inuline (INU), le raffinose (RAF) et l'amidon (AMD). Sur la base de ces résultats, ces deux souches ont été rattachées au genre *Leuconostoc.*

Ce genre est connu pour ses caractéristiques hétérofermentaires, incluant la production simultanée d'acide lactique, d'éthanol/acétate et de dioxyde de carbone à partir du glucose. Les *Leuconostoc spp.* sont également reconnus pour leur sensibilité à des conditions extrêmes, notamment une incapacité à croître à 45 °C ou à pH 9,6, ce qui les distingue des autres genres de bactéries lactiques. L'absence d'hydrolyse de l'arginine, observée chez B1 et B2, est également une caractéristique typique de ce groupe.

Figure 22 : Profil fermentaire de la souche B1 sur la galerie Api 20 Strep après 24h d'incubation (l'espèce *Leuconostoc spp)*

Figure 23: Profil fermentaire de la souche B2 sur la galerie Api 20 Strep après 24h d'incubation (l'espèce *Leuconostoc spp)*

La souche B3, identifiée comme *Lactococcus lactis ssp. cremoris*, a présenté un profil différent par-rapport aux deux souches précédentes (**figure24)**. Elle est VP positive, ESC positive, mais ADH et RIB négative. Elle est la seule à fermenter le tréhalose (TRE) parmi les quatre souches testées. L'absence de fermentation des autres glucides tels que le lactose, le sorbitol ou l'inuline traduit une capacité métabolique restreinte, ce qui est conforme aux propriétés de *Lactococcus lactis*, notamment la sous-espèce *cremoris*. Ces bactéries sont homofermentaires strictes, sensibles aux températures élevées (croissance inhibée à 45 °C), et incapables de se développer à pH 9,6. Elles jouent un rôle central dans les fermentations laitières, notamment dans la production de fromages à pâte fraîche.

Figure 24: Profil fermentaire de la souche B3 sur la galerie Api 20 Strep après 24h d'incubation (l'espèce *Lactococcus lactis spp cremoris)*

La souche B4 a été identifiée comme *Enterococcus avium*, appartenant au groupe des entérocoques. Elle présente un profil biochimique distinct (**figure25)**, caractérisé par une positivité aux tests VP, ESC, SOR (sorbitol) et LAC (lactose). En revanche, elle est négative pour les tests ADH, RIB et pour la fermentation de la plupart des autres glucides testés. Ce profil suggère une certaine diversité métabolique, compatible avec celle généralement observée chez les entérocoques. Ces derniers sont reconnus pour leur robustesse environnementale, avec une capacité de croissance à des températures élevées (jusqu'à 45 °C), à pH alcalin (9,6) et une tolérance à la chaleur (survie à 60 °C pendant 30 minutes). Bien que la souche B4 ne présente pas toutes les caractéristiques typiques des entérocoques les plus étudiés (comme *E. faecalis),* son profil reste compatible avec les spécificités de *E. avium,* une espèce moins fréquente mais documentée dans les environnements laitiers.

Figure25: Profil fermentaire de la souche B4 sur la galerie Api 20 Strep après 24h d'incubation (l'espèce *Enterococcus avium*)

3.3. Caractérisation technologique des souches

- La première préculture des souches

La croissance des quatre souches s'est manifestée dans le bouillon MRS par la présence d'un trouble, comme présenté dans la **figure 26.**

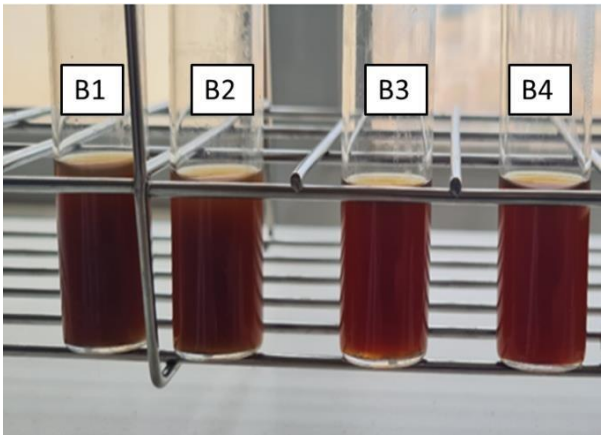


Figure 26 : première préculture des souches réalisée sur milieu MRS

- La deuxième préculture des souches

La croissance des souches lors de leur culture sur lait écrémé stérile s'est manifestée par une coagulation du lait, comme présenté dans la figure ci-dessous :

Figure 27 : deuxième préculture des souches réalisée sur milieu lait écrémé.

3.3.1. Étude de la croissance bactérienne

L'évolution de la croissance des quatre souches sur lait écrémé stérile a été déterminée par suivi de l'évolution de la densité optique mesurée après clarification du lait par l'EDTA à t_0 et t_{24} à une longueur d'onde λ= 600nm.Les résultats sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau 8 : Évolution de la croissance des souches en fonction du temps

Les souches	0h	24h
Leuconostoc spp **(B1)**	0,042	0,133
Leuconostoc spp **(B2)**	0,039	0,119
Lactococcus lactis spp cremoris **(B3)**	0,031	0,105
Enterococcus avium **(B4)**	0,004	0,125

D'après les résultats obtenus, l'ensemble des souches étudiées (*Leuconostoc spp.* B1 et B2, *Lactococcus lactis spp. cremoris* B3, *Enterococcus avium* B4) ont présenté une croissance optimale sur le milieu lait.

La souche *Enterococcus avium* (B4) a présenté un ΔDO égal à 0,121, supérieur par rapport aux autres souches, ce qui indique qu'elle est potentiellement la mieux adaptée à croître dans le lait. Elle est suivie par *Leuconostoc spp.* B1 (ΔDO = 0,091) et B2 (ΔDO = 0,080), dont la croissance reste significative. En revanche, *Lactococcus lactis spp. cremoris* (B3) a montré une croissance plus modeste avec un ΔDO de 0,074.

Ces résultats suggèrent que la croissance varie d'une souche à l'autre, probablement en fonction de leur capacité à utiliser les composants nutritionnels du lait. La souche B4 semble particulièrement bien adaptée à ce milieu.

La croissance des bactéries lactiques dépend fortement des conditions de culture, notamment la température, le pH et la disponibilité en oxygène **(Saelee et Sriroth, 2014).** Par conséquent, la détermination d'un milieu de culture optimal est complexe. Plusieurs études ont été menées afin d'optimiser les milieux pour la croissance des bactéries lactiques **(Gaudreau et *al*., 2002 ; Gao et *al*., 2009 ; Aguirre-Ezkauriatza et *al*., 2010 ; Hwang et *al*., 2012)**.

En effet, le type de milieu joue un rôle fondamental dans l'activation de la croissance et la production de biomasse. Divers milieux comme le MRS, le bouillon M17, le bouillon Eliker, le lait écrémé ou encore le perméat de lactosérum sont couramment utilisés. Pour sélectionner un milieu de culture adapté, plusieurs critères doivent être considérés, tels que le coût, la capacité à générer une forte densité cellulaire et la facilité de récupération de la biomasse ou des métabolites produits **(Georgieva et *al.*, 2009).**

3.3.2. Étude de l'activité acidifiante

L'activité acidifiante est l'une des principales fonctions des bactéries lactiques. C'est également l'une des critères technologiques les plus recherchés en technologie laitière **(Hassaine, 2013).** En effet, la production d'acide organique permet de concentrer et de conserver la matière sèche du lait, en intervenant comme agent coagulant et antimicrobien. Afin d'évaluer l'acidification chez les souches étudiées, un dosage de la quantité d'acide lactique produite en fin de croissance (après 24h d'incubation) a été effectué. Les résultats obtenus sont illustrés en histogrammes, dans la figure suivante :

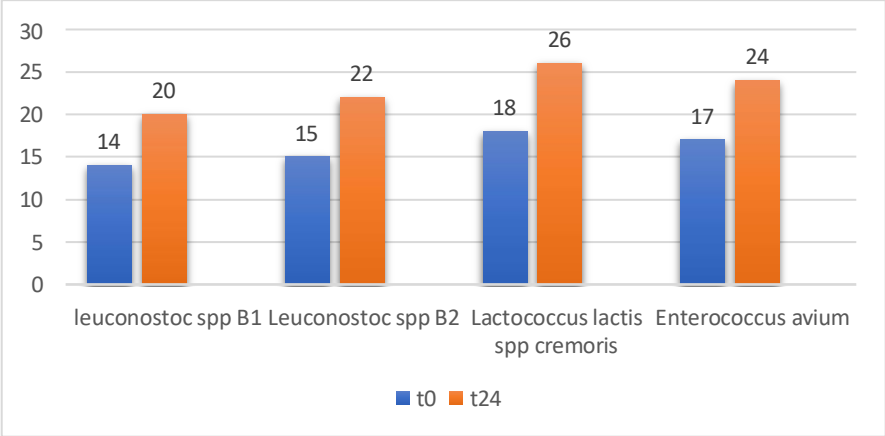


Figure 28 : Quantité d'acide lactique produite par les souches au début et en fin de croissance.

La **Figure 29**ci-dessous ; représente le virage de la couleur du lait ; au rose pâle après titration par une solution de soude.

Figure 29 : virage de la couleur du lait après titration.

Pour *Leuconostoc spp* B1, la quantité d'acide lactique produite est passée de 14 à 20 °D, accompagnée d'une baisse de pH de 6,6 à 5,5. Cette variation reflète une acidification modérée du milieu, témoignant d'une activité acidifiante appréciable.

De même, *Leuconostoc spp* B2 a montré une augmentation de l'acidité de 15 à 22 °D, avec un abaissement du pH de 6,7 à 5,5. Cette souche présente une activité acidifiante légèrement plus

élevée que B1, ce qui pourrait être attribué à une meilleure adaptation ou à un métabolisme plus actif en condition lactée.

Lactococcus lactis spp cremoris (B3) a affiché la plus forte activité acidifiante parmi les souches testées. En effet, l'acidité passe de 18 à 26 °D, soit un gain de 8 °D, tandis que le pH chute fortement de 6,8 à 4,6. Cette chute importante du pH traduit une acidification très marquée du milieu, mettant en évidence une excellente aptitude acidifiante. Cette caractéristique est particulièrement favorable pour les applications technologiques en fermentation lactée, où une acidification rapide est souvent recherchée.

Enfin, *Enterococcus avium* (B4) montre une évolution de l'acidité de 17 à 24 °D, avec un pH qui passe de 6,5 à 4,9. Bien que légèrement moins acidifiante que *Lactococcus lactis,* cette souche présente néanmoins une bonne efficacité acidifiante. Ainsi, les quatre souches présentent une aptitude variable à acidifier le milieu, avec une efficacité nettement plus marquée chez *Lactococcus lactis spp cremoris* (B3), suivie par *Enterococcus avium* (B4), puis *Leuconostoc spp* B2 et B1. La baisse du pH observée est inversement proportionnelle à la production d'acide lactique, confirmant que l'acidification du milieu est directement liée à l'activité métabolique des souches. Ces observations corroborent les travaux antérieurs qui ont mis en évidence une hétérogénéité dans le pouvoir acidifiant des bactéries lactiques **(Zadi-Karam, 1998 cité par Hassaïne, 2012 ; Hassaïne et *al*., 2007).** Cette diversité est essentielle pour sélectionner des souches spécifiques selon les objectifs technologiques souhaités (vitesse d'acidification, profil aromatique, stabilité...).

3.3.3. Étude de l'activité aromatisante

La production des composés d'arômes est une fonctionnalité technologique importante lors de l'élaboration des produits laitiers fermentés. Le développement d'arôme dans le lait résulte aussi des activités métaboliques des bactéries lactiques (glycolyse, lipolyse et protéolyse**) (Marilley et Casey, 2004).**

D'après les résultats obtenus présentés dans **la figure30**. Les souches se sont révélées comme capable de produire le diacétyle d'où la formation d'un anneau rouge à la surface du milieu. La coloration traduit la formation d'acétylméthylcarbinol cette substance se transforme en diacétyle sous l'action du KOH et se combine avec l'α-naphtol en donnant un complexe rouge **(Boulouf ,2017).**

Selon (**franciosi et *al*., 2009)** la production de diacétyle par les bactéries lactiques du lait est dépendante de la souche et précisément de l'espèce ; car différents niveaux (élevé ; moyen et faible) ont été détectés et certaines souches ne produisent pas de diacétyle.

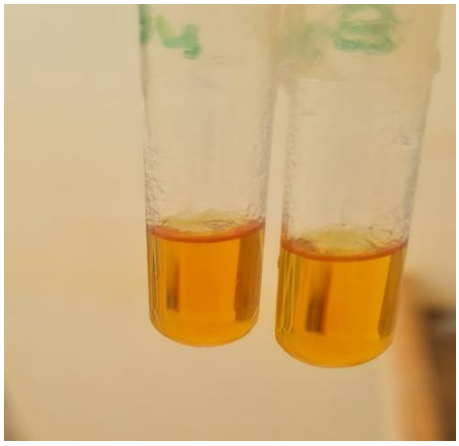


Figure 30 : mise en évidence de la production du diacétyle.

3.4. Détermination de l'antibiorésistance des souches

- **L'antibiogramme**

La résistance et la sensibilité des souches aux antibiotiques représentent une préoccupation majeure pour les chercheurs car ces propriétés peuvent limiter les applications des cultures à l'échelle industrielle. Nous avons testé la résistance de quatre souches de bactéries lactiques vis–à-vis des quatre ATB à tester, à savoir l'AMPICILINE (AM), CEFTAZIDIME(CAZ), TETRACYCLINE (TE)et l'ERYTHROMICINE(E). L'inhibition se traduit par la formation, après incubation, de zones claires autour des disques déposés aseptiquement **(Figure 31)**. Une caractérisation des souches comme étant sensibles ou résistantes a été réalisée. Nous avons considéré que le diamètre de la zone d'inhibition (Zi) :

Zi >15 mm (Sensible). **14mm <Zi>12mm (**intermédiaire**)** et **Zi<11 mm** (Résistante) **(karam et karam,1994).**

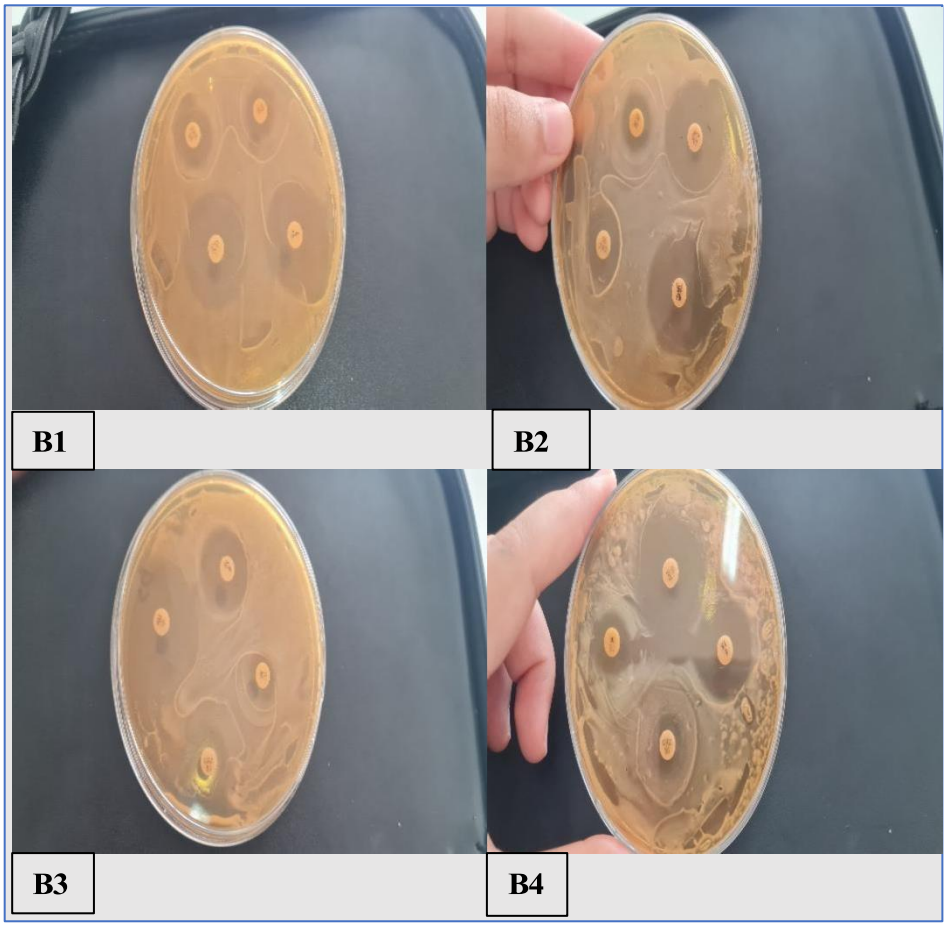


Figure 31 : Résultats de l'antibiogramme des souches de bactéries lactique : **B1, B2, B3 et B4.**

Le tableau suivant rassemble les résultats obtenus concernant les diamètres des zones d'inhibition mesurés et cela pour les quatre souches.

Tableau 9 : Résultats et interprétation de l'antibiogramme des souches isolées.

Antibiotiques	Abréviations	*d(Zi) B1*	*d(Zi) B2*	*d(Zi) B3*	*d(Zi) B4*
AMPICILINE	AM	23 **(S)**	25**(S)**	30**(S)**	25**(S)**
CEFTAZIDIME	CAZ	17**(S)**	14**(I)**	11**(R)**	0**(R)**
ERYTHROMICINE	E	31**(S)**	27**(S)**	20**(S)**	20**(S)**
TETRACYCLINE	TE	13**(I)**	12**(I)**	10**(R)**	13**(I)**

d(Zi) : diamètre de la zone d'inhibition en (mm)

R : Résistante **S** : Sensible **I** : intermédiaire

Une présentation des résultats en histogrammes a été également réalisée **(figure32).**

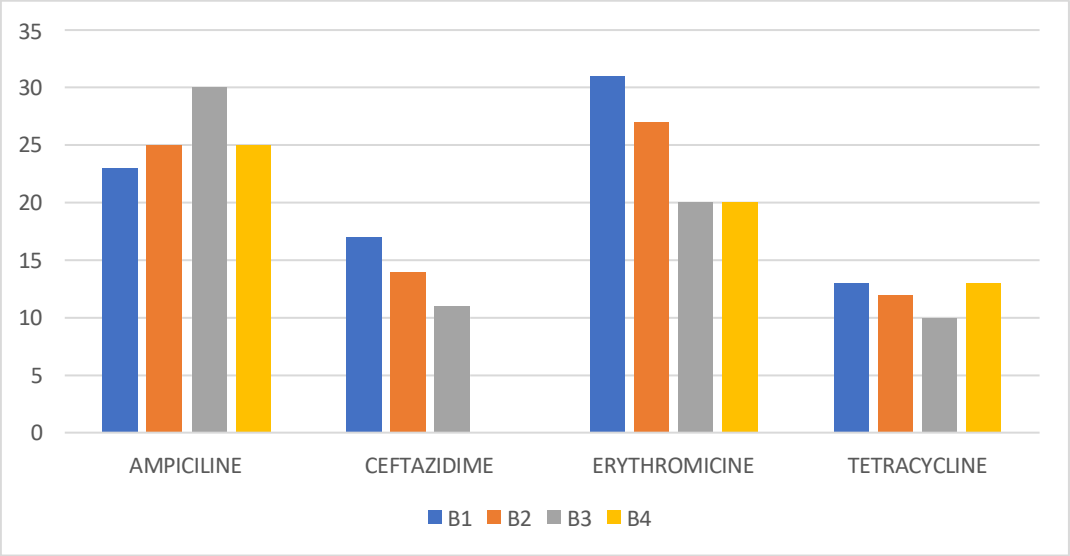


Figure 32 : variation des diamètres des zones d'inhibition selon les souches vis-à-vis des ATB testés.

Les résultats obtenus ont permis d'évaluer la sensibilité des quatre souches vis-à-vis de quatre antibiotiques : l'ampicilline, la ceftazidime, l'érythromycine et la tétracycline.

1. Ampicilline **(AM)** Toutes les souches se sont révélées sensibles à l'ampicilline, avec des diamètres des zones d'inhibition allant de 23 à 30 mm. Cette sensibilité élevée suggère l'absence de mécanismes de résistance tels que la production de bêta-lactamases. Ceci est en accord avec les caractéristiques des *Leuconostoc spp* et *Lactococcus lactis*, qui sont généralement peu exposées à des pressions de sélection antibiotique dans leur environnement naturel **(Giraffa, 2003).**

2. Ceftazidime **(CAZ)** Les résultats montrent une variabilité importante.
   - *Leuconostoc spp* (B1) : sensible (17 mm).
   - Leuconostoc spp (B2) : intermédiaire (14 mm).
   - *Lactococcus lactis* (B3) : résistante (11 mm).
   - *Enterococcus avium* (B4) : résistante (9 mm).

Ces résultats indiquent la présence possible de mécanismes de résistance aux céphalosporines, comme la production de β-lactamases à spectre étendu (ESBL) ou la modification de la perméabilité membranaire **(Paterson et Bonomo, 2005).** La résistance des entérocoques aux céphalosporines est également bien documentée.

3. Érythromycine (E) Les quatre souches ont présenté une bonne sensibilité :
   - *Leuconostoc spp* (B1) : sensible (31 mm).
   - *Leuconostoc spp* (B2*) :* sensible (27mm).
   - *Lactococcus lactis (*B3) : sensible (20 mm).
   - *Enterococcus avium* (B4): sensible (20 mm).

Cela reflète l'efficacité de l'érythromycine contre les bactéries à Gram positif. L'absence de résistance suggère que les gènes codant ces mécanismes tels que **erm** (modification du ribosome) ou **mef** (efflux actif) ne sont pas présents au niveau de ces souches **(Roberts, 2008).**

4. Tétracycline **(TE)** Les résultats indiquent une résistance modérée à élever :
   - *Leuconostoc spp* (B1) : intermédiaire (13 mm).
   - *Leuconostoc spp (*B2) : intermédiaire (12 mm).
   - *Lactococcus lactis* (B3): résistante (10 mm).
   - *Enterococcus avium* (B4): intermédiaire (13 mm).

La résistance à la tétracycline est souvent associée à des gènes comme tet(M) ou tet(A), qui confèrent une protection ribosomique ou un mécanisme d'efflux actif **(Chopra et Roberts, 2001).** Ces résultats sont cohérents avec les données précédentes concernant les LAB, notamment les entérocoques, connus pour leur capacité à acquérir des gènes de résistance.

L'ampicilline et l'érythromycine montrent une efficacité importante contre toutes les souches testées. La ceftazidime et la tétracycline sont moins efficaces, notamment contre *Lactococcus lactis* et *Enterococcus avium*, suggérant des résistances spécifiques. Ces résultats soulignent l'importance de tester la sensibilité des souches avant leur eventuelle utilisation en industrie alimentaire, comme ferments, afin d'éviter les risques de transfert horizontal des gènes de résistance à la flore digestive.

Conclusion

Les bactéries lactiques ont un intérêt primordial dans l'alimentation, il y'a au moins quatre mille ans que l'homme se sert de ces bactéries. Elles ont un intérêt industriel tout particulier, où elles sont utilisées pour améliorer les caractères organoleptiques de différents produits alimentaires (le gout, la saveur, la texture, l'arôme de produits par exemple le lait fermenté, le yaourt, le fromage, le pain et les produits carnées…etc.), elles jouent également un rôle important dans l'entretien et l'amélioration de la santé de l'homme.

A travers cette étude, nous avons tenté d'apporter une contribution à la caractérisation et l'identification des souches lactiques à partir de lait de chèvre et de dhan provenants de la wilaya de relizane ; région de Souk elhad.

Après isolement, purification et détermination des caractéristiques morphologiques, physiologiques et biochimiques (identification). Nous avons pu obtenir différentes espèces : *Leuconostoc spp, Lactococcus lactis spp cremoris, Enterococcus avium.*

Les souches isolées ont présenté des capacités variables en termes d'acidification, d'aromatisation et de croissance, éléments clés pour leur usage comme levains. De plus, l'étude de l'antibiorésistance a mis en évidence des profils intéressants qui pourraient orienter leur sélection, tout en respectant les critères de sécurité fixés par les autorités européennes **(Temmerman *et al.*, 2003 ; Donohue, 2004).**

Ces résultats confirment le potentiel biotechnologique élevé des bactéries lactiques indigènes issues des produits laitiers traditionnels algériens. Leur valorisation pourrait constituer une alternative locale aux cultures industrielles importées, en contribuant à la promotion de produits fermentés typiques et à forte valeur ajoutée.

Références :

A

- **Aissaoui, O., Zitoun, M., Zidoune, N. (2006)**. Le fromage traditionnel algérien «Bouhezza». Séminaire d'animation régional. *Téchnologie douce et procédés de séparation au service de la qualité et de l'innocuité des aliments. INSAT-Tunis, Tunisie.*
- **Ait-Belgnaoui, A., Lamine, F., Han, W., Eutamene, H., Fioramonti, J., Bueno, L. et Theodorou, V.(2005).** A probiotic strain (Lactobacillus farciminis) prevents stress-induced increase of colonic permeability and visceral sensitivity to distension in rats. Nutr. Ali. *Fonct. 3 : 59-63.*
- **Alais,C. (1984).** Sciences du lait : principes des techniques laitières, 4éme Edition, *Paris, 814p.*
- **Ammor, M.S. et Mayo, B. (2007)**. Selection criteria for lactic acid bacteria to be used as functional starter cultures in dry sausage production. *Meat. Science.* 76 : 138-146.
- **Ammor, S., Tauveron, G., Dufor, E., et Chevalier, I. (2006).** Antibacterialactivity of lactic acid bacteria against spoilage and pathogenic bacteria isolated from the same meat small- scale facility 1- Screening andcharacterization of antibacterial compound. *Food Control. 17*
  : 454- 461.
- **Atlan, D., Béal, C., Champonier-Vergès ,M.C., Chapot-Chartier, M.P., Chouayekh ,H., Cocaign- Bousquet ,M., Deghorain, M., Gadu, P., Gilbert, C., Goffin ,P., Guédon ,E., Guillouard, I., Guzzo, J., Juillard ,V., Ladero ,V., Lindley ,N., Lortal ,S., Loubière ,P.,Maguin, E., Monnet, C., Monnet ,V., Rul ,F., Tourdot-Maréchal ,R., Yvon ,M. (2008).** Métabolisme et ingénierie métabolique. In : Bactéries lactiques de la génétique aux ferments (Corrieu ,G., Luquet F-M.). *Tec & Doc, Lavoisier. Paris, 271-447.*
- **Avril, D., and Denis, M. (1992)**. Biopreservation by lactic acid bacteria. *Antonie leeuwenhoek. J. 70: 331-345*. bacteriocins produced by Lactobacillus acidophilus. *Appl. Environ. Microbiol. 45:1808.*
- **Axelsson, L. (2004)**. Classification and physiology. In: Lactic acid bacteria: Microbiological and functional aspects ((Salminen S., Wright A.V. et Ouwehand A.). *3e Ed., Marcel Dekker, Inc. New York. 1-66.*
- **Axelsson, L. (1993).** Lactic acid bacteria: classification and physiology. In: Lactic acid bacteria. Salminen S. and von Wright A., *pp: 1-63. Marcel Dekker Inc. New York.*

B

- **Badis, A., Guetarni, D., Delorme, C ., Renaut, P.(2004).**Identification par séquençage de l'ADN correspondant àL'ARN 16S des souches de Streptocoques thermophiles isolées à partir de lait cru des zones oasiennes de l'Algérie .*revue des régions arides.ns.p :31-35.*
- **Badis, A.N., Laouabdia-Sellami, D., Guetarni,M., Kihal. and Ouzrout, R. (2005).** Caractérisation phénotypique des bactéries lactiques isolées à partir de lait cru de chèvre de deux populations caprines locales «Arabia etKabyle». *Sci. Technol 23: 30-37.*

- **Béal, C., Marin, M., Fontaine, E., Fonseca, F. et Obert, J.P. (2008)**. Production et conservation des ferments lactiques et probiotiques. In : Bactéries lactiques, de la génétique aux ferments (Corrieu G.et Luquet F. M.*). Tec & Doc, Lavoisier. Paris. 661-765.*
- **Belyagoubi, L. (2014**). Antibiotiques produits par des bactéries (actinomycètes et bactéries lactiques) issus de différents écosystèmes naturels algériens. *Thèse de doctorat en biologie. université aboubakr belkaïd-tlemcen. 170p.*
- **Bendimerad, N.(2013).** Caractérisation phénotypique technologique et moléculaire d„isolats de bactéries lactiques de laits crus recueillis dans lesrégions de l„Ouest Algérien. Essai de fabrication de fromage frais type «Jben».*Thèse de Doctorat, Université de Tlemcen. Algérie. P 05.*
- **Benkerroum, N. and Tamime, A.Y. (2004).** Technology transfer of some Moroccan traditional dairy products (lben, jben, smen) to small industrialscale. *Food Microbiol. 21: 399–314*
- **Berradia, A ,.(2016)**.Isolement, purification et identification des bactéries lactiques à partir de lait cru de chèvre. - Mostaganem *: memoire de master Université Abdelhamid Ibn Badis.*
- **Blaya, J., Barzideh, Z., and Lapointe, G.(2018).** Symposium review : Interaction of starter cultures and nonstarterlactic acid bacteria in the cheese environment1. *Journal of Dairy Science, 101(4), 3611 3629. https://doi.org/10.3168/jds.2017-13345*
- **Boullouf, A. (2017)**. Etude du pouvoir technologique de quelques bactéries lactiques du fromage traditionnel Bouhezza, *thèse de Magister. Université des frères Mentouri Constantine, institut de la nutrition, de l'alimentation et des technologies agro-alimentaires (I.N.A.T.A.A.),135p*
- **Bouton, Y. (1992).** Caractérisation approfondie sur minifromages de l'activité protéolytique de souches et associations de souches de bactéries lactiques thermophiles utilisées en fabrication de Comté. *Relation avec les caractéristiques organoleptiques (Doctoral dissertation).*
- **Boutrou, R., Sepulchre, A., Gripon, J.C. et Monnet, V. (1998)**. Simpletests for predicting the lytic behaviour and proteolytic activity of lactococcal strains in cheese. *Journal ofDairy Science. 81, 2321-2328.*
- **Boyaval, P., Deborde, C.,Corre C., Blanco, C et Begue, E. (1999).** Le Lait, P:79.
- **Brusetti, L., Malkhazova, I.,Mora, D., Borin, S., Merabishvili, M., Zaccaria, A., Colnago, D., Chanishvili, N., Daffonchio, D. (2008).** Fluorescent-Box-PCR, an improved tool forresolving bacterial genetic diversity and biogeography studies. *BMC Microbiol, vol. 8,*
  p. 220-232
- **Buchanan, R.E. (1918).** Life phases in abacterial culture. *Journal of Infections diseases. 98, 1271-1273.*

C

- **CardotMartin, E., Dumitrescu, O., & Lesprit, P. (2019)**. La résistance aux antibiotiques.

- **Carminatid., Giraffa, G., Quiberoni, A., Binetti, A., Suárez, V. Et Reinheimer, J. (2010).** Advances and trends in starter cultures for dairy fermentations. *In: Biotechnologyof lactic acid bacteria: Novel Applications (Mozzi F., Raya R.R. ET Vignolo G. M.). 177-192.*
- **Casaburi, A., Di Monaco, R., Cavella, S., Toldrá, F., Ercolini, D., & Villani, F. (2008).** Proteolytic and lipolytic starter cultures and their effect on traditional fermented sausages ripening and sensory traits. *Food Microbiology, 25(2), 335-347.*
- **Chamba, F.J. (2008).** Application des bactéries lactiques lors des fabrications fromagères. In: Bactéries lactiques de la génétique aux ferments (Corrieu G. et Luquet F. M.). Tec & Doc, Lavoisier. Paris. 787-813.
- **Champagne, C. P., Laing, R. R., Roy, D., Mafu, A. A. (1994).** Characterization of lactic acid bacteria isolated from butter made in Dairies using traditional methods. *Journal of Dairy Science, 77(12), 3267–3274.*
- **Chen,C., Zhao, S., Hao, G., Yu, H., Tian, H., and Zhao, G. (2017).** Role of lactic acid bacteria on the yogurtflavour : A review. *International Journal of Food Properties, 20(sup1),S316 S330. https://doi.org/10.1080/10942912.2017.1295988*
- **Chopra, I., & Roberts, M. (2001).** Tetracycline antibiotics: mode of action, applications, molecular biology, and epidemiology of bacterial resistance. *Microbiology and Molecular Biology Reviews, 65(2), 232–260.*
- **Corcy, J.C. et Lepage, M. (1991).** Fromage Fermiers. Lamaison Rustique, *Paris,P.134135.*
- **Corrieu, G., Luquet, F. M. (2008).** Bactéries lactiques : de la génétique au ferment. *Paris : Edition Tec et Doc p. 849*
- **Cuq, J.L. (2007).** Microbiologie Alimentaire. Edition Sciences et Techniques du Languedoc. *Université de Montpellier. pp: 20-25.*

D

- **Dahou, A., Homrani, A., Bensaleh, F., & Medjahed, M. (2015)**. La microflore lactique d'un fromage traditionnel Algérien «type j'ben»: *connaissance des écosystèmes microbiens laitiers locaux et de leurs rôles dans la fabrication des fromages. Afrique SCIENCE, 11(6), 1- 13.*
- **Davis, J. G. (1963).** - The lactobacilli. II. Applied aspects. In*: Progress in Industrial Microbiology, vol. 4, Ed. Hockenhull (D. 1. D.), London*
- **Dellaglio, F., De Roissart, H., Torriani, S., Curk, M.C. Et Janssens, D. (1994)**. « Caratéristiques générales des bactéries lactiques *». P : 25-116. In : De Roissart, Luquet F.M. (ed) Bactéries lactiques.Vol 1. Lorica Uriage, Paris, France.*
- **Desmazaud, M. J. & De Roissart, H. (1994).** Métabolisme générale des bactéries lactiques, *Aspects fondamentaux et technologiques. Uriage, Lorica, France. Pp : 169- 207.*
- **Desmazeaud, (1983)** L'état des connaissances en matière de nutrition des bactéries lactiques. Lait. 63 : 267-316.
- **De Roissart, H.B et Luquet, F.M. (1986).**Les bactéries lactiques, T1. *Lorica, Lavoisier (Ed.).*

- **Donkor, O. N., Henriksson, A., Vasiljevic, T., & Shah, N. P. (2007)**. Proteolytic activity of dairy lactic acid bacteria and probiotics as determinant of growth and in vitro angiotensinconverting enzyme inhibitory activity in fermented milk. Le Lait, 87(1), 21-38.
- **Donohue, D. (2004).** Safety evaluation of food bacteria: toxicity and resistance to antibiotics. *Biotechnology Annual Review*, 10, 353–356.
- **Dortu, C. et Thonart, P. (2009).** « Les bactériocines des bactéries lactiques : caractéristiques et intérêt pour la bioconservation des produits alimentaires ». *Biotechnol.Agron. Soc. Environ. , 13: 143-154.*
- **Drider, D., & Prévost, H. (2009).** Propriétés antibactériennes des bactéries lactiques. *In: Les bactéries lactiques (2e éd.). Lavoisier.*

E

- **El Marrakchi, A., Hamama, A. (1996)**. Aspects hygiéniques du fromage frais de chèvre: Perspectives d'amélioration de la qualité. *FAO ANIMAL PRODUCTION AND HEALTH PAPER, 24-32.*
- **Elmarrakchi, A., Berrada, M.,Chahboun, M. & Benbouhou, M. (1986)**. Etude chimique du smen marocain. *Le Lait,INRA Editions, 66 (2) :117-133.*

F

- **FAO.(1990).** Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine. *Collection FAO/Alimentation et nutrition, 23p.*
- **Farag, M. A.,El Hawary, E. A., And Elmassry, M. M. (2020).** Rediscovering acidophilus milk, its quality characteristics,manufacturing methods, flavor chemistry and nutritional value. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition,60(18), 3024 3041.https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1675584*
- **Finore, I., Didonato, P., Mastascusa, V., Nicolaus, B. Poli, A. (2014).** Fermentation technologies for the optimization of marine microbial exopolysaccharideproduction. Marine drugs, 12: 3005- 3024.
- **Fox, P. F., McSweeney, P. L. H., Cogan, T. M., & Guinee, T. P. (2000)**. Fundamentals of Cheese Science. *Aspen Publishers.*
- **Fox, P.F., Mcsweeney, P.L., Cogan, T.M., Guinee, T.P. (2004).** Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology, Volume *1: General Aspects, Elsevier.*
- **Franciosi, E., Settanni, L., Cavazza, A. et Poznanski, E. (2009).** Biodiversity and technological potential of wildlactic acid bacteria from rawcows' milk. *International dairy journal*, 19(1), 3-11.

G

- **G.K.Y. Limsowtin, M.C. Broome, I.B**. Powell. Lactic acid bacteria, taxonomy. *Encyclopedia of Dairy Sciences.* **(2002).** *1470–1478.*
- **Gagnon D., (2006).** Formulation et propagation de ferments lactiquesmésophiles à haut caractère aromatique. *Thèse doctorat. Université Laval. Québec. 24 p.*
- **Garrity, g.m., timothy, g.l., james, r.c., scott, h.h., euzeby, j. And Tindall b.j. (2007).** Taxonomic Outline of Bacteria and Archeae. Part 9- TheBacteria : phylum " Firmicutes" : class " Bacilli". Release 7.7 march 6

- **Ghazi, D.E., Henni, Z. Benmechernene, M. Kiha .(2009).** Phenotypic and whole cell protein analysis by SDS-PAGE for identification of dominant lactic acid bacteria isolated from Algerian raw milk. *World J Dairy Food Sci 4 (1): 78-87.*
- **Giraffa, G. (2003).** Functionality of enterococci in dairy products. *International Journal of Food Microbiology, 88(2-3), 215–222.*
- **Gosta. (1995**). Lait long conservation. In manuel de transformation du lait. *Edition: Tétra Packs Processing Systems A.B, Sweden. 442p.*
- **Goursaud, J. (1985)** Le lait de vache, composition et priorités physico-chimiques.in : lait et produits laitiers vache-brebis-chèvre. (Tome1).Ed. Masson, *Paris, p: 25-3*
- **Grohs, P. (2017).**Impact politique proactive de surveillance et de gestion des risques infectieux dans un centre hospitalo-universitaire parisien, sur la diffusion des bactériesmultirésistantes aux antibiotiques*: épidémiologie (Thèse de doctorat, Université Paris- Saclay, France).*
- **Guardabassi, L., Courvalin, P.(2006)** Modes of antimicrobial action and mechanisms of bacterial resistance. *In: Aarestrup F.M. (*Ed.), Antimicrobialresistance in bacteria of animal origin. ASM Press: Washington, 1-18.In Muylaert A., Mainil J.G., 2012.Résistances bactériennes aux antibiotiques*: Les mécanismes et leur « contagiosité ». Article. P :113.114.*
- **Guessas, B et Kihal, M** .(**2004)**.Caractérisation des bactéries lactiques isolées de Lait cru de chèvre de la zone aride algérienne . - oran *: Journal Africain de Biotechnologie ,. Vol. 3 (6).pp. 339-342* .
- **Guiraud J.P. (2003)**. Microbiologie Alimentaire. *Tec & Doc,Dunod. Paris. 90-292*
- **Guiraud, J-P., Rosec J-P. (2004).** Pratique des normes en microbiologie alimentaire. *AFNOR, 237-251.*
- **Guiraud.j. joseph. (1998)** :Microbiologie Alimentaire collection science et technique agro-alimentaire, *paris. P90-92.*
- **Guizani,N .,Kasapis,S. ,et Al Ruzeiki,M.(2001)**. Microbial, chemical and rheological properties of laban (cultured milk). *International Journal of Food Science and Technology 36: 199-205.*
- **Guss, (M. L.) and Delwiche(E. A.) (1954).** - Streptococcus thermophilus. l. *Bacteriol., 67, 714-717.*

H

- **Hassaïne, O., Zadi-Karam, H. et Karam, N.E. (2007)**. Technologically important properties of lactic acid bacteria isolated from raw milk of three breeds of Algerian dromedary (Camelus dromedaries). *Afr. J. Biotechnol. 6 (14) : 1720-1727.*
- **Hassaine, O. (2013)**. Caractéristiques d'intérêts technologiques de souches de bactéries lactiques isolées de lait camelin du sud algérien. *Thèse de doctorat en biotechnologie : l'université d'Oran- Essenia, p. 57-102*
- **Hassan, A.N. et Frank J.F. (2001).** Starter Cultures and their use. In: Applied Dairy Microbiology (Marth E.H. et Steele J.L.) 2e Ed., *Marcel Dekker, Inc. New York. 151-205.*
- **Heywood & Co. Whittenbury, R. (1978).** - Biochemical characteristics of Streptococcus species. In: Streptococci. Ed. Skinner (F. A.) and Quesnel (L. B.), *London. Academie Press*

- **Ho T.N.T., N. Tuan N.,Deschamps A. et Caubet R. (2007).** Isolation and identification of lactic acid bacteria (LAB) of the Nem Chua fermented meat product ofVietnam. Int. *Workshop on Food Safety and Processing Technology. 134-142.*

I

- **Idoui, T., Boudjerda, J., Leghouchi, E. ET Karam, N.E. (2009).** Lactic acid bacteria from sheep's Dhan'', a traditional butter from sheep's milk: Isolation, *identification and major technological traits. Gr. Y. Aceites. 60(2): 177-183*

J

- **Jacquet, J. et Veisseyre, R. (1987)**. Le lait matière première de l'industrie laitière. p. 187, 188, 189, 225.
- **Joyandeh, H et Abroumand, A. (2010)**.Physico-chemical, nutritional,heat treatment effects and dairy product aspects of goat and sheep milks. *WordsApplied Science Journal. 11(11), 1316- 1332.*

K

- **Kabir, A. (2015).** Contrainte de la production laitière en Algérie et Evaluation de la qualité des laits dans l'industrie laitière (Constats et perspective*). Thèse de doctorat. Université Ahmed Ben Bella. Oran.p29*
- **Karam,N.E., et Karam,H. (1994).** Isolement et caractérisation des bactéries lactiques de laits crusd'algérie. *In Alimentation, Génétique et Santé de l'enfant .Ed.Desjeux, J.F.etTouhamiM, L'harmattan :257 – 264*.
- **Kassas, Z. (2017).** Croissance de souches de bactéries lactiques dřintérêts technologiques et/ou probiotiques sur MRS végétal modifié. *These de Doctorat En Microbiologie. Universite Badji Mokhtar Ŕ Annaba.*
- **Khue, N. T. H. Ngoc,N. H. (2013).**Exopolysaccharide in Lactobacillus rhamnosus Pn04 after co- culture with LeuconostocmesenteroidesVtcc-B-643. *Journal of Applied Pharmaceutical Science, 3, 14.*
- **König, H. & Fröhlich, J. (2017)**. Lactic acid bacteria. Biology of Microorganisms on Grapes, in Must and in Wine. Springer.

L

- **Lahsaoui, S. (2009)**. Étude du procédé de fabrication d'un produit laitier traditionnel Algérien (Kilila)'. *Thèse de Doctorat: Science Agronomie, université de Batna (Algérie).*
- **Lahtinem, S., Ouwehand, A-C., Salminen, S., Wright, A-V. (2012).** Lactic acid bacteria microbiological and functional aspects fourth. *Edition Taylor and Francis groupe. Boca Raton London New York.*
- **Lamontagne,M., Champagne, C.P., Gardner, N. (2010)**. Microbiologie du lait. Dans : VIGNOLA C.L. Science et technologie du lait. Fondation de technologie laitière. *Québec: Presses internationales polytechniques, p.75-153*.
- **Lanotte, P.,et Pasquier, C. (Eds.). (2022).** Bactériologie virologie : Association des enseignants-chercheurs de microbiologie des facultés de pharmacie (AEMIP).*France: Elsevier Health Science.*
- **Larpent, G. M. , Michaux, O. ,Lrpent J.P,Desmasures, N.,Desmazeaud, M.,Mangin I., Masson, F. ,Montel, M.C. et Tailliez, P.(1997).** Les ferments lactiques et bactéries

apparentées in Microbiologie alimentaire techniques de laboratoire. *Larpent J-P. Tec & Doc. Lavoisier. pp :199-252.*

- **Law, E.A. et Sharpe, M. E. (1978).** - Streptococci in the dairy industry. In: Streptococci. Ed. Skinner (F. A.) and Quesnel (L. B.*), London. Academie Press*
- **Leksir, C. (2018)**. Caractérisation, fabrication et consommation du dérivé laitier traditionnel 'Klila'dans l'Est Algérien. *Université 8 mai 1945 de Guelma*.
- **Lenoir, J., Ollivier, J. M., & Grappin, R. (2000).** Le beurre : Technologie, composition et qualité. In Lait et produits laitiers (pp. 315–336*). Tec & Doc Lavoisier*.
- **Leroy, F et De Vuyst, L. (2004)**.Lacticacidbacteria asfunctional starter cultures for the food fermentation industry. *Trends Food Science. 15: 67-78*
- **Leroy, S., Lebert I., Chacornac, J.P., Chevalier, I. et Talon, R. (2007).** Identification et caractérisation de la flore d'intérêt technologique : bactéries lactiques et staphylocoques a coagulase négative. *Sci. Tec. V. Prod. Carnés. 25(5) : 172.*
- **Leveau, J.Y. et Bouix, M. (1993).** Microbiologie industrielle : les microorganismes d'intérêt industriel. *Tec & Doc, Lavoisier. Paris. 85-87.*
- **Liu, C. F., Pan, T. M. (2010).**In vitro effects of lacticacid bacteria on cancer cell viability and antioxidant activity. *Journal Food Drug Analysis, 18: 77–86*
- **Lücke, F. K. (2000).** Fermented meat products. In Microbiology of fermented foods (pp. 441–483). Springer.

M

- **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 laitièresbovines, *ovines et caprines. Lait, 568, 561-571.*
- **Makhloufi .K. M. (2012)** .«Caractérisation d'une bactériocine produite par une bactérie lactique Leuconostocpseudomesenteroidesisolée du boza *». Thèse de doctorat de l'université pierre et marie curie. Spécialité :microbiologie, biochimie (école doctorale iviv).*
- **Mami, A. (2013)** Recherches des bactéries lactiques productrices de bactériocines à large spectre d'action vis-à-vis des germes appliqués dans les toxi-infections alimentaires en Algérie. *Thèse de Doctorat, Microbiologie Appliqué, p7*
- **Mangin, L. (2016***).*Antibiotiques et résistances enquête sur les connaissances et les comportements du grand public. *Thèse de doctorat, Université de Lorraine.*
- **Marconi,E. ,Sorrentino,E., Mastrocola ,E et Coppola, R. (2000).** Rapid detection of diaminopimelic acid in lactic acid bacteria by microwave cell wall hydrolysis. *J. Agric. Chem.48:3348-3351.*
- **Marshall, V.M.E., Law, B.A.(1984).** « The physiology and growth of dairy lactic acid bacteria ».*P : 153-186. In : De Davies F.L., Law B.A. (ed) Advances in the Microbiology and Biochemistry of Cheese and Fermented Milk. Elsevier Applied Science Publisher*
- **Marth, E. H. et Steele, J. L. (2001).** Applied dairy microbiology. *MarcelDekker, Inc., New York.*
- **Martinez José, L. (2014).** Principaux généraux de la résistance aux antibiotiques chez les bactéries. La découverte de médicaments aujourd'hui *:technologies. Vol 11,33-39.*

- **Mäyrä-Mäkinen, A. et Bigret, M.(2004)**. Industrial use and production of lactic acid bacteria. In: Lactic acid bacteria: *microbiology and functional aspects (Salminen S., Wright A.V. et Ouwehand A.). 3e Ed., Marcel Dekker, Inc. New York. 73-102*
- **Mechai, A., Debabza, M., & Kirane, D. (2014**). Screening of technological and probiotic properties of lactic acid bacteria isolated from Algerian traditional fermented milk products. *International Food Research Journal, 21(6).*
- **Medjoudj, H. (1993) :** Identification des bactéries lactiques, essai de détermination du pouvoir acidifiant de quelques souches. *Thèse d'ingénieur, institut INT AA université de Constantine, 113 p.*
- **Menard, J.L., Roussel, P., Masselin-Silvin, S., Puthod, R., Hetreau, T., Foret, A., Houssin, B., Aracil, C. and Le Guenic, M. (2004).** Contamination bactérienne d'une laitière de stabulation libre paillée : effet de la fréquence de paillage et proposition d'une méthode pour son évaluation. In : Rencontres sur les Recherches autour des Ruminants. *Institut de l'Elevage – INRA, Paris, 11 : 333–336.*
- **Mendey, F. (1982).**Le beurre et nutrition technique laitiére.966P.
- **Menigjin, L., Bayjanov, J-R., Renckens, B., Nauta, A., & Siezen,R-J. (2010).** The proteolytic system of lactic acid bacteria revisited: a genomic comparison. *BMC genomics, 11(1), 36.*
- **Metchnikoff, E. (1907).** The prolongation of life. In Optimistic Studies (Heinemann W., Ed.), *pp. 1-100. G. P. Putnamand Sons, London, UK.*
- **Michel, F. (2005).** Bactériologie alimentaire, Compendium d'hygiène des aliments, *2ètire édition, paris, p292.*
- **Monnet,V., Latrille, E., Béal, C. et Corrieu, G. (2008)**. Croissance et propriétés fonctionnelles des bactéries lactiques. In:Bactéries lactiques de la génétique aux ferments (Corrieu G. et Luquet F.M.). *Tec & Doc, Lavoisier. Paris.512-592.*
- **Mozzi, F., Raya, R. R., Vignolo, G. M. (2010).** Biotechnology of lactic acid bacteria: Novel applications. Blackwell publishing, Singapore. Salminen, S., Wright, A. V., Ouwehand, A. (2004). Lactic acid bacteria. *microbiological and functional aspects. Marcel Dekker. Inc., U.S.A.*
- **Muthukumarasamy, P., & Holley, R. A. (2006**). Microbiological and sensory quality of dry fermented sausages containing alginate-microencapsulated Lactobacillus reuteri. *International Journal of Food Microbiology, 111(2), 164-169.*
- **Muyleart, A et Maenil, J C. (2012).** Résistance bactérienne aux antibiotiques : les mécanismes et leur « contagiosité » Annales de Médecine vétérinaire. 156 pp109-123

O

- **Ouadghiri, M. (2009)** .Biodiversité des bactéries lactiques dans le lait cru et ses dérivés « lben » et « jben » d'origine marocaine. *thèse dedoctorat. université mohammed v – agdal faculté des sciences rabat. 26-28*

P

- **Paterson, D. L., & Bonomo, R. A. (2005)**. Extended-spectrum β-lactamases: a clinical update. *Clinical Microbiology Reviews, 18(4), 657–686.*

- **Penaud,S. (2006**). Analyse de la séquence génomique et Etude de l'adaptation à l'acidité de Lb. Delbrueckii SSP. bulgaricusATCC11842. *Thèse de Doctorat del'Institut National Agronomique de Paris-Grignon, France.*
- **Pilet, M.F., Magras, C., Federigh, M. (2005)**.Bactéries lactiques. In : bactériologie alimentaire (Federighi M.).2e Ed., *Economica. Paris. 219-240.*
- **Pointurier, H. et Adda, J. (1969).** Beurrerie industrielle. Science et technique de la fabrication du beurre. Ed *: la maison rustique. Paris, p459*
- **Pons,S. (2022).** Mon stage infirmier en Maladies infectieuses : *Mes notes de stage IFSI. Elsevier Masson SAS.*
- **Prescott, H., Klein. (2007)** .Microbiologie .2e édition française. P 806

R

- **Randazzo, C., Caggia, C. & Neviani, C. (2009).** Application of molecular approaches to study lactic acid bacteria inartisanal cheeses. J. Microbiol. Methods, 78, 1 -9
- **Roberts, M. C. (2008).** Update on acquired tetracycline resistance genes. *FEMS Microbiology Letters, 282(2), 147–159.*
- **Robinson, R. K. (2002)**. DairyMicrobiology Handbook, third Edition, *New York USA: John Wiley and Sons, p.764.*
- **Roudj, S., Belkheir, K., Zadi Kram, H., & Karam, N. (2009)**. Protéolyse et autolyse chez deux *lactobacilles* isolés de lait camelin du Sud Ouest Algérien. *Eur. J. Sci. Res, 34, 218-227*

S

- **Saelee, N. et Sriroth, K. (2014)**. Optimization of nutrients in fermentative lactic acid production using oil palm trunkjuice as substrate. *Advances in Bioscience and Biotechnology* 5: 957-965.
- **Sakili, D. & Issoual, D. (2003).** Lactic acid bacteria in processing maroccan smen. Université Moulay Ismail, Faculté des Sciences et Techniques, Département de Biologie Errachidia. *Copyright academic d'agriculture de France, Maroc. 18 p.*
- **Salminen, S., Wright, A. V., Ouwehand, A. (2004)**.« Lactic acid bacteria.microbiological and functional aspects *». Marcel Dekker. Inc., U.S.A.*
- **Salvucci, E., LeBlanc, J. G., & Pérez, G. (2016).** Technological properties of Lactic acid bacteria isolated from raw cereal material. *LWT-Food Science and Technology*, 70, 185-191.
- **Singleton, P. (1999)** Bacteria in biology, bacteriology and medicine. Wiley, *Ed Duonod 4ème edition.Paris. France.415p.*
- **ST-Gelais D., Bada Ali O, Turcot S. (2000).** « Composition du lait de chèvre et aptitude à la transformation »*Ministère de l'agriculture et agroalimentairedu Canada*, 78p.
- **Stiles, M.E. et Holzapfel, W.H. (1997)**. Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy. *Int. J. Food Microbiol*. 36 : 1-29.
- **Sun, Z., Harris, H. M., Mccann, A., Guo, C., Argimón, S., Zhang, W., Yang, X., Jeffery, I. B., Cooney, J. C. & Kagawa, T. F. (2015)**. Expanding the biotechnology potential of *lactobacilli* through comparative genomics of 213 strains and associated genera. *Nature communications,6, 8322.*

- **Sutra, L., Federjghi, M., Jouve, J.L. (1998)**: manuel de bactériologie alimentaire. p 235,236, 240,241 242.

T

- **T. Bintsis.** Lactic acid Bacteria as starter cultures: an update in their metabolism and genetics. *AIMS microbiology*. (2018). 4(4): 665–684.
- **Tamime, A.Y. (2002).** Microbiology of startercultures. In: Dairy microbiology handbook (**Robinson R.K.).** 3e Ed.*, John Wiley and Sons, Inc., New York*. 261-366.
- **Tamime, A. Y., & Robinson, R. K. (2007).** Yoghurt: Science and Technology (3rd ed.). *CRC Press*.
- **Tantoui-Elaraki, A. et El Marrakchi, A. (1987)**. Study of Moroccan dairy products: Iben and smen. *MIRCEN Journal*, 3: 211-220
- **Temmerman, R., et al. (2003).** Antimicrobial susceptibility of probiotic lactic acid bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, 81, 1–10.
- **Thierry, A., Collins, Y. F., AbeijónMukdsi, M. C., Mcsweeney, P. L. H., Wilkinson, M. G., and Spinnler, H.E.(2017)**. Lipolysis and Metabolism of Fatty Acids in Cheese. *In Cheese, Chemistry, Physics and Microbiology,4ième édition (p. 1302 p.). Academic Press - Elsevier.https://doi.org/10.1016/B978-0-12-417012-4.00017-X*
- **Tolle, A. (1980)**. The microflora of the udder. Bull*, Int, Dairy Fed, 120 p.*
- **Tortora, G.J., Funke, B.R., Case C.L. (2003)**.Introduction à la microbiologie. Edition durenouveau pédagogique. *Canada.*945p.
- **Turner, P., Pol, S., Soeng,S., Sar, P., Neou, L., Chea, P., Day, N. P., Cooper, B. S., & Turner, C. (2016).** HighPrevalence of Antimicrobial-resistant Gram-negative Colonization in Hospitalized Cambodian Infants. *ThePediatric infectious disease journal, 35(8), 856–861*

V

- **Vignola, C.L. (2002).** Science et technologie du lait, transformationdu lait. *Presses internationales polytechnique, quebec; 608p.*
- **VizosoPinto, M. G., Franz, C. M. A. P., Schillinger, U. eT Holzapfel, W. H., (2006).** *Lactobacillus spp*. with in vitro probiotic properties from human faeces and traditional fermented products. *Int. J. FoodMicrobiol. 109: 205-214.*

W

- **Walstra, P., Wouters, J. T. M., & Geurts, T. J. (2006).** Dairy Science and Technology (2nd ed.). *CRC Press.*

Y

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

Z

- **Zadi, H. (1998).** Bactéries lactiques isolées de lait de Camelus dromedarius: étude microbiologique et biochimique, caractéristiques technologiques, élaboration de ferments

lactiques mésophiles et fabrication de fromages. *Thèse de Doctorat d'Etat. Université de Constantine, Algérie. 205.*

- **Zarour, K., Llamas,M. G., Prieto, A., Ruas-Madiedo, P., Dueñas, M. T., De Palencia, P. F., Aznar, R., Kihal, M. Lopez, P. (2017)**.Rheology and bioactivity of high molecularweight dextranssynthesised by lactic acid bacteria. *Carbohydrate polymers, 174 : 646-657.*
- **Zeller, B. (2005)** .LE fromage de chèvre : Spécificités technologiques et économiques, *thèse de Doctorat de l'universite Paul-sabatier, Toulouse, France*.
- **Zhang, H., Cai, Y. (2014)**.Lactic acid bacteria: fundamentals and practice.Springer,2.
- **Zhu, Y., Zhang, Y. et Li, Y. (2009)**. Understanding theindustrial application potential of lactic acid bacteria throught genomics. *Appl Microbiol Biotechnol. 83: 597-610.*

Annexes

Annexe 1

Les milieux de cultures

- **Eau physiologique**

- Chlorure de sodium.....9 g.

- Eau distillée stérile .....1000 ml.

Après l'agitation répartir dans des tubes à essai à raison de 9 ml par tube. Autoclavage à 120 °C Pendant 20 min.

C'est une solution isotonique, qui permet de préserver le volume cellulaire.

- **Milieu MRS (DE MAN, ROGOZA, SHARPE, 1960)**

Composition en g/l

Peptone 10

Extrait de levure 8

Extrait de viande 4

Acétate de sodium..... 5

Phosphate bipotassique 2

Citrate d'ammonium.....2

Sulfate de magnésium, 7 H_2.....0.2

Sulfate de manganèse, 4 H_2O..... 0.05

Glucose 20

Tween 80 .....1ml

Agar 15

Eau distillée qsp.....1000 ml

pH =5,4

- **Lait écrémé**

Nous avons utilisé dans de notre travail du lait écrémé commercialisé par la firme **Candia,** sous le nom de silhouette, il s'agit d'un lait stérilisé à ultra haute température (**UHT)** ce milieu a été conçu pour la culture des bactéries.

Annexe 2

Coloration de Gram

- **Préparation du frottis :**

En effectuant une fixation simple à la flamme du bec selon les indications suivantes: sur une lame, déposer une goutte d'eau distillée. Ajouter un fragment de la colonie isolée en utilisant l'anse de platine. Étaler et fixer à la chaleur à environ 40°C pendant 10 à 15 minutes. Poser la lame séchée sur le portoir reposant sur un bac de coloration.

- **Réalisation de la coloration:**

1- Coloration primaire : Coloration par le violet de gentiane. Laisser agir 1 minute. Rincer à l'eau déminéralisée.

2- Mordançage au lugol (solution d 'iode iodo-iodurée): étaler le lugol et laisser agir 60 secondes: Rincer à l'eau déminéralisée. On peut réaliser une deuxième fois l'opération identiquement pour plus de sécurité.

3- Décoloration (rapide) al alcool (+acétone) : verser goutte à goutte l'alcool ou un mélange alcool-acétone sur la lame inclinée obliquement, et surveiller la décoloration (5 à 10 secondes). Le filet doit être clair à la fin de la décoloration. Rincer sous un filet d'eau déminéralisée.

4- Contre-coloration à la fuchsine. Laisser agir 1 minute. Laver doucement à l'eau déminéralisée. Sécher la lame sur une platine chauffante à 40°C, 10 à 15 minutes.

Annexe 3

Tableau de la lecture de la galerie API 20strep

TABLEAU DE LECTURE

TESTS	COMPOSANTS ACTIFS	QTE (mg/cup.)	REACTIONS/ENZYMES	RESULTATS			
				NEGATIF		POSITIF	
VP	sodium pyruvate	1,9	production d'acétoïne (Voges Proskauer)	VP 1 + VP 2 / jusqu'à 10 min (3) Incolore		Rose-Rouge	
HIP	acide hippurique	0,4	hydrolyse (acide HIPpurique)	NIN / jusqu'à 10 min Incolore/Bleu pâle Gris-bleuté		Bleu foncé/Violet	
				4 h	24 h	4 h	24 h
ESC	esculine citrate de fer	1,16 0,152	hydrolyse ß-glucosidase (ESCuline)	Incolore Jaune pâle	Incolore Jaune pâle Gris clair	Noir Gris	Noir
PYRA	acide pyroglutamique-ß-naphtylamide	0,0256	PYRrolidonyl Arylamidase	ZYM A + ZYM B / 10 min (PYRA à LAP) (1) au besoin décoloré par éclairement intense Incolore ou Orange très pâle		Orange	
αGAL	6-bromo-2-naphtyl-αD-galactopyranoside	0,0376	α-GALactosidase	Incolore		Violet	
ßGUR	acide naphtol-ASBI-glucuronique	0,0537	ß-GlUcuRonidase	Incolore		Bleu	
ßGAL	2-naphtyl-ßD-galactopyranoside	0,0306	ß-GALactosidase	Incolore ou Violet très pâle		Violet	
PAL	2-naphtyl phosphate	0,0244	Phosphatase ALcaline	Incolore ou Violet très pâle		Violet	
LAP	L-leucine-ß-naphtylamide	0,0256	Leucine AminoPeptidase	Incolore		Orange	
ADH	L-arginine	1,9	Arginine DiHydrolase	Jaune		Rouge	
				4 h	24 h	4 h	24 h
RIB	D-ribose	1,4	acidification (RIBose)	Rouge	Orange/ Rouge	Orange/ Jaune	Jaune
ARA	L-arabinose	1,4	acidification (ARAbinose)	Rouge	Orange/ Rouge	Orange/ Jaune	Jaune
MAN	D-mannitol	1,36	acidification (MANnitol)	Rouge	Orange/ Rouge	Orange/ Jaune	Jaune
SOR	D-sorbitol	1,36	acidification (SORbitol)	Rouge	Orange/ Rouge	Orange/ Jaune	Jaune
LAC	D-lactose (origine bovine)	1,4	acidification (LACtose)	Rouge	Orange/ Rouge	Orange/ Jaune	Jaune
TRE	D-tréhalose	1,32	acidification (TREhalose)	Rouge	Orange/ Rouge	Orange/ Jaune	Jaune
INU	inuline	5,12	acidification (INUline)	Rouge	Orange/ Rouge	Orange/ Jaune	Jaune
RAF	D-raffinose	3,12	acidification (RAFfinose)	Rouge	Orange/ Rouge	Orange/ Jaune	Jaune
AMD	amidon (2)	2,56	acidification (AMiDon)	Rouge	Orange/ Rouge	Orange/ Jaune	Jaune
GLYG	glycogène	1,28	acidification (GLYcoGène)	Rouge ou Orange		Jaune franc	

(1) Lors d'une deuxième lecture après 24 heures d'incubation, on peut remarquer un dépôt dans les tubes où ont été ajoutés les réactifs ZYM A et ZYM B. Ce phénomène est normal et ne doit pas être pris en considération.
(2) L'acidification de l'amidon est fréquemment moins forte que celle des autres sucres.
(3) Une coloration rose pâle obtenue après 10 minutes doit être considérée négative.

- Les quantités indiquées peuvent être ajustées en fonction des titres des matières premières.
- Certaines cupules contiennent des composants d'origine animale, notamment des peptones.

METHODOLOGIE p. I
TABLEAU D'IDENTIFICATION p. II
BIBLIOGRAPHIE p. III
TABLE DES SYMBOLES p. IV

BIOMERIEUX, le logo bleu, API et apiweb sont des marques utilisées, déposées et/ou enregistrées appartenant à bioMérieux SA ou à l'une de ses filiales.
CLSI est une marque appartenant à Clinical and Laboratory Standards Institute Inc.
ATCC est une marque appartenant à American Type Culture Collection.
Les autres marques et noms de produits mentionnés dans ce document sont des marques commerciales de leurs détenteurs respectifs.

BIOMÉRIEUX

bioMérieux SA
RCS LYON 673 620 399
69280 Marcy-l'Etoile / France
Tél. 33 (0)4 78 87 20 00
Fax 33 (0)4 78 87 20 90
www.biomerieux.com

bioMérieux, Inc
Box 15969,
Durham, NC 27704-0969 / USA
Tél. (1) 919 620 20 00
Fax (1) 919 620 22 11
Imprimé en France

CE

Résumé

Les bactéries lactiques (BL) sont des microorganismes bénéfiques largement utilisés dans la fermentation et la conservation des aliments. Cette étude a porté sur l'isolement, l'identification et la caractérisation technologique de BL à partir d'échantillons de lait cru de chèvre et de beurre de fabrication traditionnelle collectés dans la région de Relizane . Quatre souches ont été isolées et identifiées selon leurs caractéristiques morphologiques, biochimiques et physiologiques. Les analyses ont permis de les rattacher aux genres *Leuconostoc* (B1, B2), *Lactococcus* (B3) et *Enterococcus* (B4). Les souches ont été testées pour leurs aptitudes technologiques, notamment la croissance dans le lait écrémé, le pouvoir acidifiant et la capacité à produire un composé d'arôme (le diacétyle). Les résultats ont montré une variabilité inter-souches en matière des caractères étudiées. Les souches B3 (*Lactococcus lactis*) et B4 (*Enterococcus avium*) ont montré une production significative d'acide lactique et un bon potentiel aromatisant.

Enfin, un test d'antibiorésistance a révélé que certaines souches présentaient une sensibilité à certains antibiotiques, tandis que d'autres montraient des résistances notables. Ces résultats permettent de proposer certaines de ces souches comme ferments potentiels pour la transformation de produits laitiers ,en fonction de leurs performances spécifiques.

Mots clés: bactéries lactiques, isolement, identification, croissance, acidification, aromatisation, antibiotiques.

Abstract

Lactic acid bacteria (LAB) are beneficial microorganisms widely used in the fermentation and preservation of food. This study focused on the isolation, identification, and technological characterization of LAB from raw goat milk and butter samples traditionally made , collected in Relizane region. Four strains were isolated and identified based on their morphological, biochemical, and physiological characteristics. The obtained results allowed them to be linked to the genera *Leuconostoc* (B1, B2), *Lactococcus* (B3), and *Enterococcus* (B4).

The strains were tested for their technological aptitudes, particularly growth in skim milk, acidifying power, and the ability to produce an aroma compound (diacetyl). The results showed inter-strain variability in the studied traits. The strains B3 (*Lactococcus lactis*) and B4 (*Enterococcus avium*) showed significant lactic acid production and good flavoring potential.

Finally, an antibiotic resistance test revealed that some strains showed sensitivity to certain antibiotics, while others exhibited notable resistances. These results allow for the proposal of certain strains as potential ferments for dairy product processing, based on their specific performances.

Keywords: lactic acid bacteria, isolation, identification, growth, acidification, flavoring, antibiotics.

ملخص

البكتيريا اللبنية هي كائنات دقيقة مفيدة تُستخدم على نطاق واسع في تخمير وحفظ الأغذية. تناولت هذه الدراسة عزل، تعريف وتوصيف الخصائص التكنولوجية للبكتيريا اللبنية انطلاقًا من عينات حليب ماعز خام وزبدة مصنوعة تقليديًا، تم جمعها من منطقة غليزان. تم عزل أربع سلالات وتم تعريفها بناءً على خصائصها المورفولوجية، البيوكيميائية والفسيولوجية. وقد أظهرت التحاليل أن هذه السلالات تنتمي
إلى الأجناس : *Leuconostoc* (B1,B2) ; *Lactococcus* (B3)و *Enterococcus* (B4).

تم اختبار السلالات من حيث قدراتها التكنولوجية، خاصةً النمو في الحليب الخالي من الدسم، القدرة على إنتاج الحموضة، والقدرة على إنتاج مركب عطري (الدياسيتيل). أظهرت النتائج وجود تباين بين السلالات فيما يخص الخصائص المدروسة. السلالتان B3 (*Lactococcus lactis*)و (*Enterococcus avium*) B4أظهرتا إنتاجًا كبيرًا لحمض اللاكتيك وقدرة جيدة على إنتاج النكهات . وأخيرًا، أظهر اختبار مقاومة المضادات الحيوية أن بعض السلالات كانت حساسة لبعض المضادات، في حين أظهرت أخرى مقاومة ملحوظة. تسمح هذه النتائج باقتراح بعض هذه السلالات كمخمّرات محتملة لتحويل المنتجات اللبنية، وذلك حسب أدائها الخاص.

الكلمات المفتاحية: البكتيريا اللبنية، العزل، التعريف، النمو، إنتاج الحموضة، إنتاج النكهة، المضادات الحيوية