



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



Université des Frères Mentouri Constantine
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة
كلية علوم الطبيعة و الحياة

Département : Microbiologie.

قسم : ميكروبيولوجيا.

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biologie Moléculaire des microorganismes.

Intitulé :

Etude du pouvoir inhibiteur des bactéries lactiques du lait et du yaourt vis-à-vis quelques bactéries pathogènes.

Présenté et soutenu par : BOUABELLOU Halla
BOUZZENIR Meriem

Le : 03/07/2018

Jury d'évaluation :

Président du jury : ARABET D. (MCB - UFM Constantine).

Rapporteur : BOUZERAIB L. (MAA - UFM Constantine).

Examinatrice : MERGOUD L. (MAA - UFM Constantine).

*Année universitaire
2017 - 2018*

Remerciement

Nous tenons à adresser nos profondes gratitudee et nos vifs remerciements en premier lieu à ALLAH, le tout puissant qui nous a accordé le courage, la volonté et la force pour accomplir ce modeste travail. Merci de nous avoir éclairé le chemin de la réussite.

Je dois l'aboutissement de ce mémoire à de nombreuses personnes :

Tous d'abord nous tenons à remercier notre promotrice BOUZERAIB L. MAA UFM-Constantine pour sa patience, ses précieux conseils, la rigueur et l'orientation qu'elles nous a apportée dans la réalisation de ce travail, merci pour votre disponibilité et de la confiance qu'elle nous accordée.

Nous adressons également nos remerciements à :

Dr.) ARABET D. MCB - UFM Constantine, pour l'honneur qu'elle nous fait de présider ce jury.

Mme MAERGHOU D. MAA - UFM Constantine d'avoir accepté d'apporter son jugement à ce travail.

Nous remercions les techniciens des laboratoires tous sans exception à commencer par :

Mr. Yasser, Mme. Mona, Mme. Maya et Mme Samia pour leur aide, leur gentillesse et d'avoir partagé leur savoir-faire avec nous.

Afin de n'oublier personne, nos vifs remerciements s'adressent à tous ceux qui nous ont aidés à la réalisation de ce modeste mémoire.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail

En premier lieu à mes chers parents Sources de mes joies et le secret de ma force.

Ma très chère mère Mme. BENAHMED Aicha

Que ce travail soit pour toi témoignage de mon infinie reconnaissance, pour ton aide précieuse et toutes ces années de compréhension

Mon très cher père Mr. BOUABELLOU Ahmed

Tu es un pilier solide et incontournable pour ma personne et mon parcours, que Dieu te donne santé et te garde pour nous toute la vie.

À mes chers frères et mes chères sœurs surtout Mouh « mon chauffeur »

À Je vous exprime à travers ce travail mes sentiments de Fraternité et d'amour

À mes neveux et mes nièces qui illuminent mes journées en toutes circonstances

À ma cousine Dalila pour ses conseils, son affection et son soutien

À tous les membres de ma famille sans exception

À Mon âme, ma puce, ma chère Soumia

À mes chères copines Manellet, Amira, Sarrat, Amina

À My Best Friend EVER pour ses encouragements

À tous ceux que je porte dans mon cœur qui me sont chers et proches

Halla

DÉDICACES

Au nom du dieu le clément et le miséricordieux louange à ALLAH le tout puissant de m'avoir aidé à arriver au bout de mes études, lui qui m'a accompagné dès le début jusqu'à la fin, il est mon ombre à ma main droit !

Je dédie ce travail :

A ma chère mère BADIA qui a oeuvré pour ma réussite, de par son amour, son soutien, tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils, pour toute son assistannce et sa présence dans ma vie, reçois à travers ce travail aussi modeste soit-il, l'expression de mes sentiments et de mon éternelle gratitude.

A mon cher père MESSAOUD qui peut être fier et trouver ici le résultat de longues années de sacrifices et de privations pour m'aider à avancer dans la vie.

A mes chers et adorable frère et soeurs ZAKARIA, Zeineb et NADA EL IMEN.

En témoignage de mon affection fraternelle, de ma profonde tendresse et reconnaissance, je vous souhaite une vie pleine de bonheur et de succès et que Dieu, le tout puissant, vous protège et vous garde.

A mes amis de toujours: HALLA, CHAIMA, RAYENE, IMEN.

En souvenir de notre sincère et profonde amitié et des moments agréables que nous avons passés ensemble.

A toutes les personnes qui ont participés à l'élaboration de ce travail a tous ceux que j'ai omis de citer.

MERJEM

Résumé

Lactobacillus bulgaricus et *Streptococcus thermophilus* sont des bactéries lactiques spécifiques du yaourt capables de produire différents métabolites antimicrobiens par la fermentation des hydrates de carbone.

Ce travail vise à caractériser morphologiquement par des examens microscopiques et macroscopiques et dénombrer sur milieux MRS et M17 les bactéries lactiques du yaourt Nature et de tester l'effet inhibiteur des bactéries lactiques du lait et de quatre types différents du yaourt : DANNONE et SOUMMAM (Acti +, FORT et Nature).

Les résultats de l'étude morphologique et de dénombrement montrent que le yaourt Nature est riche en bactéries lactiques à Gram positif qui est *Lactobacillus bulgaricus* qui cultivent sur le milieu MRS et donne des petites colonies identiques de couleur blanche crème et en *Streptococcus thermophilus* qui cultivent sur milieu M17 et donne des colonies rondes ou lenticulaires de couleur blanche crème. Les streptocoques et les lactobacilles sont présentés à des proportions variables avec un ratio de 6 : 1.

Les résultats de l'effet inhibiteur de la flore lactique du lait et de quatre yaourts testés montrent une activité antimicrobienne importante vis-à-vis les bactéries pathogènes à Gram positif (*Staphylococcus aureus* et *Bacillus sp.*) et une activité modérée contre les bactéries à Gram négatif (*Escherichia coli*, *Pseudomonas sp.* et *Enterobacter sp.*). L'étude de la résistance des souches pathogènes testées aux différents antibiotiques montre que les bactéries à Gram négatif sont plus ou moins résistantes aux antibiotiques notamment *Enterobacter sp.* qui est résistante à tous les antibiotiques ainsi *Streptococcus aureus* qui montre une résistance à céfazoline.

Nos résultats ont permis de confirmer l'effet inhibiteur des bactéries lactique du yaourt vis-à-vis quelques bactéries pathogènes.

Mot clés : Bactéries lactique, lait, yaourt, activité antimicrobienne, effet inhibiteur, bactéries pathogènes.

Abstract

Lactobacillus bulgaricus and *Streptococcus thermophilus* are yogurt-specific lactic acid bacteria capable of producing different antimicrobial metabolites by fermentation of carbohydrate.

This work aims to characterize morphologically by microscopic and macroscopic examinations and to count on lysing lactic acid bacteria on MRS and M17 media and to test the inhibitory effect of lactic acid bacteria of four different types of yogurt: DANNONE and SOUMMAM (Acti +, FORT and Nature).

The results of the morphological and enumeration study show that Nature yoghurt is rich in Gram-positive *Lactobacillus bulgaricus* lactic acid bacteria which grows on MRS medium and gives small identical colonies of creamy white color and *Streptococcus thermophilus* which grows on M17 medium and gives round or lenticular colonies of creamy white color. *Streptococci* and *lactobacilli* are presented in varying proportions with a ratio of 6: 1.

Results of the inhibitory effect of lactic flora of milk and four yoghurts tested showed significant antimicrobial activity against Gram-positive pathogenic bacteria (*Staphylococcus aureus* and *Bacillus sp.*) And moderate activity against Gram negative (*Escherichia coli*, *Pseudomonas sp.*, And *Enterobacter sp.*). The study of the resistance of pathogenic strains tested to different antibiotics shows that Gram negative bacteria are more or less resistant to antibiotics including *Enterobacter sp.* which is resistant to all antibiotics and *Streptococcus aureus* which shows cefazolin resistance Our results have confirmed the inhibitory effect of yeast lactic acid bacteria on some pathogenic bacteria.

Key words : Lactic acid bacteria, milk, yogurt, antimicrobial activity, inhibitory effect, pathogenic bacteria.

ملخص

تنتمي *Lactobacillus bulgaricus* و *Streptococcus thermophilus* الى بكتيريا حمض اللاكتيك الخاصة بالياؤورت القادرة على افراز عدد من نواتج الأيض المختلفة المضادة للميكروبات الممرضة عن طريق تخمير الكربوهيدرات.

عملنا يهدف الى الوصف المورفولوجي لبكتيريا حمض اللاكتيك الخاصة بالياؤورت الطبيعي عن طريق دراسة مجهرية و أخرى عينية بالإضافة الى احصاء المستعمرات المحصل عليها بعد زراعة هذه البكتيريا في الوسطين MRS و M17. ومن جهة أخرى اختبار التأثير المثبط لبكتيريا حمض اللاكتيك الخاصة بالحليب وأربعة أنواع مختلفة من الياؤورت (DANNONE و SOUMMAM (Acti +, FORT et Nature).

النتائج المحصل عليها للوصف المورفولوجي وللإحصاء تبين أن الياؤورت الطبيعي غني بنوعين من البكتيريا ذات Gram (+) متمثلة في *Streptococcus thermophilus* المزروعة في الوسط M17 و أعطت مستعمرات ذات شكل دائري أو عدسي و ذات لون أبيض أو كريمي، و *Lactobacillus bulgaricus* التي نمت في وسط MRS و أعطت مستعمرات صغيرة متشابهة ذات لون كريمي و لقد ظهرت بنسب متفاوتة 1:6.

نتائج اختبار التأثير المثبط لبكتيريا حمض اللاكتيك تثبت أن هناك نشاط كبير مضاد للبكتيريا الممرضة خاصة ذات Gram + (*Staphylococcus aureus* and *Bacillus sp.*) و نشاط معتدل ضد البكتيريا الممرضة ذات Gram (-) (*Escherichia coli*, *Pseudomonas sp.*, And *Enterobacter sp.*).

دراسة مقاومة البكتيريا المسببة للأمراض لمختلف المضادات الحيوية بينت أن البكتيريا Gram (-) تتميز بمقاومة كبيرة خاصة *Enterobacter sp.* التي قاومت كل المضادات الحيوية بالإضافة الى *Staphylococcus aureus* المقاومة للمضاد الحيوي céfalozoline .

هذه النتائج المحصل عليها تسمح لنا بتأكيد التأثير المثبط لبكتيريا حمض اللاكتيك الخاصة بالحليب والياؤورت ضد بعض البكتيريات المسببة للأمراض.

كلمات مفتاحية : بكتيريا حمض اللاكتيك، حليب، ياؤورت، نشاط مضاد للميكروبات، نشاط مثبط، بكتيريا مسببة للأمراض.

Table de matière

Introduction	1
Synthèse bibliographique	
Chapitre 1 : Les bactéries lactiques.....	3
I. Historique.....	3
II. Caractères généraux.....	3
III. Habitat	4
IV. Identification des bactéries lactiques.....	4
V. Classification des bactéries lactiques.....	5
V.1 Les principaux genres des bactéries lactiques.....	6
V.1.1 Le genre <i>Lactobacillus</i>	6
V.1.2 Le genre <i>Streptococcus</i>	6
V.1.3 Les genres <i>Leuconostoc</i> , <i>Oenococcus</i> et <i>Weissella</i>	6
V.1.4 Le genre <i>Enterococcus</i>	7
V.1.5 Les genres <i>Pediococcus</i> et <i>Tetragenococcus</i>	7
V.1.6 Le genre <i>Bifidobacterium</i>	8
VI. Métabolisme	10
VI.1. Métabolisme des sucres.....	10
VI.1.1. Voie homofermentaire (EMP) ou la glycolyse.....	10
VI.1.2. Voie hétérofermentaire.....	11
VI.1.3. La voie bifide.....	12
VI.2. Métabolisme du citrate.....	12
VI.3. Métabolisme azoté.....	12
VI.4. L'activité lipolytique.....	13
VII. Fonctions et effets bénéfiques des bactéries lactiques.....	15
VII.1 Bioconservation et la biopréservation.....	15
VIII. L'intérêt des bactéries lactiques sur la santé.....	16
Effet inhibiteur des bactéries lactiques.....	17
Les composés antibactériens produits par les bactéries lactiques	17
Les acides organiques	17
Les acides gras	18
Peroxyde d'hydrogène.....	18
Dioxyde de carbone (CO ₂).....	18

Acétaldéhyde.....	18
Bactériocines.....	18
Chapitre 2 : le lait et le yaourt.....	21
Le lait.....	21
I. Définition du lait.....	21
II. Composition du lait.....	21
II.1 L'eau.....	21
II.2 Matière grasse.....	21
II.3 Protéines.....	21
II.4 Matières azotées non protéiques (ANP)	22
II.5 L'hydrate de carbone.....	22
II.6 Minéraux.....	22
II.7 Vitamines.....	23
II.8 Enzymes.....	24
III. Caractéristiques organoleptiques et physico-chimiques du lait.....	25
III.1 Caractéristiques organoleptiques.....	25
III.1.1 Couleur.....	25
III.1.2 Odeur.....	25
III.1.3 Saveur.....	25
III.1.4 Viscosité.....	25
III.2 Caractéristiques physico-chimiques.....	25
III.2.1 Densité.....	25
III.2.2 Acidité.....	25
III.2.3 Stabilité à la chaleur.....	26
III.2.4 Ecrémage du lait.....	26
IV. Microbiologie du lait.....	26
IV.1 Flore indigène.....	26
IV.2 Flore de contamination.....	26
IV.2.1 Flore d'altération.....	27
IV.2.2 Flore pathogène.....	27
Le yaourt.....	28
I. Définition de yaourt.....	28
II. Fabrication du Yaourt.....	28
III. Composition de yaourt	28

III.1 Les glucides.....	29
III.2 Les protéines.....	29
III. 3 Les lipides.....	29
III. 4 Les minéraux.....	29
III. 5 Les vitamines.....	29
IV. Caractéristiques physico-chimiques du yaourt.....	30
IV.1 L'acidité titrable.....	30
IV.2 Texture.....	30
IV.3 L'aspect.....	30
V. Microbiologie du yaourt.....	30
V.1 La microflore originale.....	30
V.1.1 <i>Streptococcus thermophilus</i>	30
V.1.2 <i>Lactobacillus bulgaricus</i>	31
V.2 La flore d'altération et pathogène du yaourt.....	31
V.2.1 La flore totale aérobie mésophile.....	31
V.2.2 Les coliformes totaux et fécaux.....	32
V.2.3 <i>Staphylococcus aureus</i>	32
V.2.4 Les Salmonelles.....	32
V.2.5 <i>Clostridium</i> sulfito-réducteurs.....	32
V.2.6 Les levures et moisissures.....	32

Partie expérimentale

Matériel et méthodes.....	34
I. Présentation du lieu de travail.....	34
II. Matériels.....	34
II.1 Matériels biologiques.....	34
II.1.1 Produits laitiers.....	34
II.1.1.1 Yaourt.....	34
II.1.1.2 Lait cru de vache.....	34
II.1.2 Les bactéries pathogènes.....	34
II.2 Le Matériel.....	35
III. Méthodes.....	36
III.1 Etude morphologique.....	36
III.1.1 Examen microscopique.....	36

III.1.2 Examen macroscopique.....	36
III.2 Activité inhibitrice (Interaction bactéries lactiques / bactéries pathogènes)...	37
III.3 Antibiogramme des bactéries pathogènes.....	38
Résultats et discussion	39
Résultats.....	39
III .1 Etude morphologique.....	39
III.2 Dénombrement des bactéries lactique isolées de yaourt.....	42
III.3 L'effet inhibiteur des bactéries lactique du lait et du yaourt.....	43
VI. L'antibiogramme.....	45
V. Discussion.....	49
V.1 Etude morphologique.....	49
V.2 Dénombrement des bactéries lactique de yaourt	49
V.3 Effet inhibiteur.....	49
V.4 Antibiogramme.....	51
Conclusion	52
Références bibliographiques	53
ANNEXES	

Liste des abréviations

ADN: Acide désoxyribonucléique.

AMX: Amoxicilline.

AMC: Amoxicilline + acide clavulanique.

ARN: Acide ribonucléique.

ARNr: Acide ribonucléique ribosomique.

ATP: Adénosine triphosphate.

AW: Activity of water.

BCP: Gélose lactosée au bromocrésol pourpre.

c: Chloramphénicol.

°C: Degré Celsius.

CLSI: Clinical Laboratory Standards Institute.

CO₂: Dioxyde de carbone.

CTX: Céfotaxime.

°D: Degré dornic.

DHAP: Dihydroxyacétone phosphate.

DO: Densité optique.

EMP: Embden-Meyerhof-Parnas.

FAO: Food and Agriculture Organization.

FBA: Fructose-1,6-Biphosphate Aldolase.

FBP: fructose 1-6 biphosphate.

FOX: Céfoxitine.

GAP: Glycéraldéhyde phosphate.

G+C : Guanine et Cytosine.

GRAS: Generally Regarded As Safe.

H₂O₂: Peroxyde d'hydrogène.

HLG: Gentamicine.

I: Intermédiaire.

ISO: International Organization for Standardization.

KZ: Cefazoline.

Lb : *Lactobacillus*.

M17: Milieu de tarzaghi.

MF: Mac Ferland.

Mpb : Méga paire de bases.

MRS: Milieu de Man Rogosa et Sharpe.

NO: Nitroxoline.

OMS: Organisation Mondiale de la Santé.

PA: Sipémidique.

PEF: Péfloxacine.

pH: Potentiel hydrogène.

PI: Pipéracilline.

PTS: Phosphotransférase.

R: Résistante.

S: Sensible.

St. : *Streptococcus*.

SARM : *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline

SXT: Triméthoprim + Sulfaméthoxazole.

UFC: Unité formant colonies.

Liste des tableaux

Tableau 01 : Principaux genres de bactéries lactiques.....	9
Tableau 02 : Composition du lait en minéraux.....	22
Tableau 03 : Teneur moyenne des principales vitamines du lait.....	23
Tableau 04 : Caractéristique des principaux enzymes du lait.....	24
Tableau 05 : La teneur moyenne pour 100 grammes de produit.....	29
Tableau 06 : Les bactéries pathogènes testées et leur origine.....	34
Tableau 07 : Matériels, milieux, réactifs utilisés.....	35
Tableau 08 : Les abréviations, les charges des disques et les diamètres critiques (mm) des antibiotiques utilisés.....	annexe 3
Tableau 09 : Caractères morphologiques de <i>Streptococcus thermophilus</i> et <i>Lactobacillus bulgaricus</i>	42
Tableau 10 : Nombre des colonies sur milieu M17 et MRS dans le yaourt Nature.....	42
Tableau 11 : Résultats de l'observation des tubes 1 et 2 après incubation.....	44
Tableau 12 : Dénombrement des colonies des bactéries pathogènes avant incubation des tubes 1 et 2.....	44
Tableau 13 : Dénombrement des colonies des bactéries pathogènes après incubation des tubes 1 et 2.....	45
Tableau 14 : Antibiogramme des bactéries pathogènes testées.....	46
Tableau 15 : Classification des bactériocines de bactéries lactiques.....	19

Liste des figures

Figure 01 : Arbre phylogénétique des principaux genres de bactéries lactiques et des genres associés, obtenu par analyse des ARNr 16S.....	9
Figure 02 : principales étapes du métabolisme du citrate chez les bactéries lactiques.....	14
Figure 03 : La voie glycolyse et la voie bifide.....	14
Figure 04 : Schéma représentant la réalisation des dilutions décimales.....	36
Figure 05 : Schéma des dilutions décimales et de dénombrement.....	38
Figure 06 : Coloration de Gram du yaourt Nature (G x100).....	39
Figure 07 : Coloration de Gram du yaourt Soummam (Gx100).....	39
Figure 08 : Coloration de Gram du yaourt Danone (Gx100).....	40
Figure 09 : Coloration de Gram du yaourt Acti + (G x100).....	40
Figure 10 : Isolement des colonies de <i>Lactobacillus bulgaricus</i> sur milieu MRS.....	41
Figure 11 : Isolement des colonies de <i>Streptococcus thermophilus</i> milieu M17.....	41
Figure 12 : L'antibiogramme de <i>Bacillus sp.</i>	47
Figure 13 : L'antibiogramme d' <i>E. coli</i>	47
Figure 14 : L'antibiogramme d' <i>Enterobacter sp.</i>	48
Figure 15 : L'antibiogramme de <i>Pseudomonas sp.</i>	48
Figure 16 : L'antibiogramme de <i>Staphylococcus aureus</i>	48

Introduction

INTRODUCTION

Les bactéries lactiques ou "bactéries de l'acide lactique", désignent les bactéries produisant de l'acide lactique par fermentation des hydrates de carbones. [6][7]

Ce sont des micro-organismes de morphologie et de physiologie assez hétérogène qui ont en commun leurs aptitudes à produire de l'acide lactique en quantité importante à partir du lactose. [22]

Elles interviennent dans l'industrie laitière et dans la fermentation de nombreux autres produits alimentaires. Elles contribuent à la texture, à la saveur des aliments ainsi qu'à la production de composés aromatiques. La diminution du pH par l'effet acidifiant de ces bactéries est favorable à la bio conservation des denrées alimentaires. [79]

Le lait est une source importante de protéines de très bonne qualité, riche en acides aminés essentiels, ses lipides, caractérisés par rapport aux autres corps gras alimentaires par une forte proportion d'acides gras à chaîne courte. Ils véhiculent par ailleurs des quantités appréciables de cholestérol et de vitamine A ainsi que de faibles quantités de vitamine D et E. [100]

Il est à la fois aliment et boisson à un grand intérêt nutritionnel grâce à son hétérogénéité.

À partir du lait, on peut obtenir un produit laitier coagulé qui est « Le yaourt » par fermentation lactique à la chaleur (45°C) grâce à l'action des bactéries lactiques spécifiques *Lactobacillus delbrueckii* subsp *bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus*.

Les bactéries les plus fréquemment utilisées comme probiotiques sont des *Lactobacillus* et des *Bifidobacterium*. [88]

Étant des probiotiques, elles apportent des bénéfices à l'hôte en conférant une balance de la microflore intestinale, et en jouant également un rôle important dans la maturation du système immunitaire. [83]

Différentes études ont démontrés le rôle préventif aussi bien que curatif de ces bactéries sur plusieurs type de diarrhées. [90] D'autre ont cité leur capacité de diminuer les allergies liées aux aliments grâce à leur activité protéolytique. [94] [95]

Ces dernières années les bactériocines produites par les bactéries lactiques ont attiré une grande attention due à leur application dans les aliments comme conservateur contre certains micro-organismes indésirables.

Les propriétés antimicrobiennes des bactéries lactiques fonctionnelles permettent de réduire le nombre d'autres micro-organismes indésirables dans les produits laitiers. [77]

Introduction

L'origine de l'effet inhibiteur des bactéries lactiques peut être : la production d'acides organiques ; en effet, les lactobacilles sont connus pour une grande résistance aux pH acides (jusqu'à un pH voisin de 3,5) contrairement aux autres genres de bactéries lactiques qui sont plus sensibles. [79] Les bactéries lactiques produisent une autre substance inhibitrice (type bactériocine) active sur de nombreuses espèces. [87]

Vu que la résistance bactérienne est devenue sans doute un des gros défis que la médecine moderne doit surmonter. Sachant que les bactéries évoluent beaucoup plus rapidement que le rythme auquel de nouveaux antibiotiques sont conçus, y a-t-il d'autres avenues qui pourraient être exploitées pour combattre la résistance bactérienne ? Le but de notre travail est à consiste à vérifier l'effet inhibiteur des bactéries lactiques vis-à-vis quelques bactéries pathogènes.

Les objectifs de notre travail sont :

La caractérisation morphologique, le dénombrement et l'étude de l'effet inhibiteur des bactéries lactiques du lait et du yaourt vis à vis quelques souches des bactéries pathogènes.

Notre manuscrit comporte trois parties en premier la synthèse bibliographique ayant pour but se situer le travail dans son contexte scientifique et une deuxième présente le matériel et les différentes méthodes mise en œuvre afin d'étudier morphologiquement, dénombrer et tester l'effet inhibiteur des bactéries lactiques du yaourt et une troisième présente et discute les résultats obtenus. Enfin cette partie se termine par une conclusion finale et soulignera les perspectives de ce travail.

Synthèse
Bibliographique

Chapitre 01 :
Les bactéries lactiques

I. Historique

Les bactéries lactiques sont des 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. [1]

Elles ont été utilisées pour la fermentation des aliments depuis 4000 ans. Ce n'est qu'à la fin du 19^{ème} siècle, époque des grandes découvertes de la microbiologie, que certaines chercheurs ont isolé un streptocoque. [2]

Les bactéries lactiques ont été isolées pour la première fois à partir du lait. [3] [4] [5]

La production des cultures de bactéries et l'emploi de ferment se développent au début du 20^{ème} siècle. [1]

II. Caractères généraux

Les bactéries lactiques ou "bactéries de l'acide lactique", ce terme désigne les bactéries produisant de l'acide lactique par fermentation des hydrates de carbones. [6][7]

Les bactéries lactiques sont des cellules procaryotes organotrophes formant un groupe hétérogène constitué de *cocci* et *bacilli*, le genre *Weissella*, est le seul genre qui comporte à la fois des bacilles et des coques. [8][9]

Ces bactéries ont la capacité de fermenter les sucres (glucose, fructose, mannose, galactose, saccharose et lactose) en acide lactique. [10]

Elles rassemblent un certain nombre de genres qui se caractérisent par la production ; liées à un métabolisme exclusivement fermentaire ; de quantités importantes d'acides lactique à partir des sucres. La fermentation est dite :

- Homolactique si l'acide lactique produit constitue plus de 90% des produits de fermentation.
- Hétérolactique facultative si elles produisent de l'acide lactique et de l'acide acétique.
- Hétérolactique stricte si elles produisent de l'acide lactique, de l'acide acétique ou de l'éthanol et du CO₂. [11] [12] [13] [14]

Bactéries à Gram positif, immobiles, asporulées, catalase et oxydase négative, l'absence de catalase est caractéristique, mais certaines espèces acquièrent cette activité sur des milieux riches en hème, anaérobies ou aérotoles et nitrate réductase négative. [15] [16] [17] [18]

Elles sont protéolytiques, ne liquéfient pas la gélatine, et ne forment pas d'indole ni de l'hydrogène sulfureux, ces bactéries sont également incapables de fermenter le glycérol. [19] [20] [21]

Elles sont généralement mésophiles certaines sont psychrotolérantes ou thermotolérantes, capables de croître à des températures comprises entre 10°C et 45°C. [20] [22]

Elles se développent majoritairement à pH compris entre 4 - 4,5 et certaines sont même actives à pH = 3,2 – 9,6 et ont des exigences nutritionnelles complexes pour les acides aminées, les peptides, les vitamines, les sels, les acides gras et les glucides. Elles peuvent survivre dans des milieux à faible AW et peuvent aussi résister à l'éthanol (10 – 15 %) et au CO₂. [23] [24]

Leur ADN présente un pourcentage de G+C compris entre 30 et 60 % et une taille du génome comprise entre 1,8 et 3,3 Mpb. [25] [14]

Les bactéries lactiques utilisées dans l'alimentation sont considérées comme non pathogènes et se font attribuer le qualificatif anglo-saxon d'organismes GRAS (*Generally Regarded As Safe*). [26] [27]

III. Habitat

Grace à leur souplesse d'adaptation physiologique, les bactéries lactiques sont généralement associées aux habitats riches en nutriments, comme divers produits alimentaires. Elles sont associées aux produits laitiers, céréaliers et carnés, aux poissons, à la bière, aux vins, aux fruits, aux légumes marinés, à la choucroute, et aux ensilages. [28] [29]

Les genres principaux de bactéries lactiques associées aux aliments sont *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* et *Streptococcus*. [30]

Les bactéries lactiques sont présentes à l'état libre dans l'environnement ou vivent en association avec un hôte, tel que l'homme ou l'animal, dans un écosystème bactérien comme le tractus gastro-intestinal ou génital des mammifères. [30]

IV. Identification des bactéries lactiques

Généralement, il existe plusieurs critères pour identifier les bactéries lactiques au niveau phénotypique : la forme des cellules bactériennes, la température de la croissance, la fermentation des sucres, les activités physiologiques et biochimiques, la production des exopolysaccharides. [31]

Schillinger et Lucke ont été les premiers à proposer une clef d'identification des bactéries lactiques basée sur la comparaison des caractéristiques physiologiques et biochimiques

typiques des différentes espèces. Néanmoins cette clef permettait uniquement d'orienter l'identification et non une identification précise. [32]

V. Classification des bactéries lactiques

La systématique est en évolution permanente. Il n'y a jamais eu de règles unanimement reconnues sur la façon dont deux bactéries différentes devraient être phénotypiquement classées. Par exemple, quelles caractéristiques sont importantes dans la définition des sous-espèces, des espèces et du genre ? La littérature scientifique suit généralement les recommandations des comités de taxonomie qui opèrent sous les auspices de l'Union internationale de Sociétés Microbiologiques. [33]

Depuis la description du *Bacterium lactis* (actuellement *Lactococcus lactis*), la taxonomie des bactéries lactiques est en évolution permanente. Le nombre de nouvelles espèces a augmenté énormément au cours de ces dernières années. Les réorganisations effectuées ont contribué à fusionner des espèces en une seule, ou identifier une espèce comme un nouveau genre. [34]

La première classification des bactéries lactiques a été établie en 1919 par Orla-Jensen, basée sur le phénotype (morphologie, biochimie et physiologie). [36]

Les bactéries lactiques impliquées dans la production des laits fermentés sont distribuées en plusieurs groupes phénotypiques et génotypiques. Ces groupes sont caractérisés par des différents besoins nutritionnels, métaboliques et propriétés technologiques. [35]

La composition en acide gras et les constituants de la membrane cellulaire peuvent aussi être utilisées pour la classification. [37]

Une autre classification basée sur les différents modèles de fermentation du glucose définit 3 groupes :

- *Le groupe I* renferme les bactéries réalisant exclusivement l'homofermentation. Ce groupe comporte majoritairement des *Lactobacillus*.
- *Le groupe II* inclut les bactéries réalisant l'hétérofermentation et regroupe *Leuconostoc*, les *Oenococcus*, les *Weissella* et quelques espèces appartenant au genre *Lactobacillus*.
- *Le groupe III* regroupe quant à lui quelques espèces apportant au genre *Lactobacillus* et la majorité des espèces apportant au genre *Enterococcus*, *Lactococcus* et *Streptococcus*.

Ce groupe présente une position intermédiaire entre les groupes 1 et 2 réalisant ainsi l'homofermentation ou l'hétérofermentation selon les conditions environnementales. [38]

Les études d'hybridation ADN/ADN, puis des structures et des séquences d'ARN ribosomiaux sont aussi devenues depuis quelques années des éléments essentiels permettant l'identification et ainsi la classification taxonomique des bactéries lactiques. [39] [40] [13] [41]

La nouvelle classification est basée sur l'homologie des séquences de l'ARN ribosomique (16S) a été établie par Bergey's manual turst et cité par Amrouche. [42]

Du point de vue phylogénétique, les bactéries lactiques appartiennent à la branche Clostridiale des bactéries Gram positives. [43]

D'après Ludwig et al. (2008), Les bactéries lactiques appartenant au phylum Firmicutes et à la classe des *Bacilli* sont divisées en trois familles :

Famille des *Lactobacillaceae* comportant les *Lactobacillus*, *Paralactobacillus* et *Pediococcus*.

Famille des *Leuconostocaceae* contenant les *Leuconostoc*, *Oenococcus* et *Weissella*.

Famille des *Streptococcaceae* comprenant les *Streptococcus*, *Lactococcus* et *Lactovum*. [42]

V.1 Les principaux genres des bactéries lactiques

V.1.1 Le genre *Lactobacillus*

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 ou qui sont rencontrées comme contaminants. Il s'agit de bacilles longs et fins (parfois incurvés) souvent groupés en chaînes, immobiles, asporulés, catalase négative, se développent à un optimum de température situé entre 30 et 40°C. Les lactobacilles ont des exigences nutritionnelles très complexes en acides aminés, en vitamines, en acides gras, en nucléotides, en glucides et en minéraux. [45]

Les lactocoques se présentent sous forme de coques en paire ou en chaînes de longueur variable. Ce sont des bactéries anaérobies facultatives homofermentaires ne produisant que de l'acide lactique L(+), seul *Lactococcus lactis ssp. Lactis biovar. diacetylactis* produit le diacétyl. Leur température optimale de croissance est proche de 30°C, capable de se développer à 10°C mais pas à 45°C. Quelques espèces produisent des exopolysaccharides et des bactériocines. Elles sont capables de se développer à 3% de bleu de méthylène et d'hydrolyser l'arginine. [46]

V.1.2 Le genre *Streptococcus*

La seule espèce de streptocoques qui soit utilisée en technologie alimentaire est *Streptococcus thermophilus*. [25]

Streptococcus thermophilus se différencie par son habitat (lait et produits laitiers) et son caractère non pathogène. La résistance à la température, la capacité de croître à 52°C et le nombre limité des hydrates de carbones permettent de distinguer les *St. thermophilus* de la plupart des autres streptocoques. [47] [12]

Streptococcus thermophilus est un coque à Gram positif, anaérobie facultatif, non mobile. On le trouve dans les laits fermentés et les fromages. [19] [48]

C'est une bactérie dépourvue d'antigène du groupe D, thermorésistante, sensible au bleu de méthylène (0,1%) et aux antibiotiques. Elle est aussi résistante au chauffage à 60°C pendant 30min. [19]

Elle est isolée exclusivement du lait et des produits laitiers sous forme de coques disposés en chaînes de longueurs variables ou par paire. Sa température optimale de croissance varie entre 40 et 50°C et son métabolisme est du type homofermentaire. [49]

V.1.3 Les genres *Leuconostoc*, *Oenococcus* et *Weissella*

Ils ressemblent les coques lenticulaires en paires ou en chainettes mésophiles, qui possèdent un caractère hétérofermentaire marqué, avec production d'acide lactique (isomère D), de CO₂ et d'éthanol. Les caractéristiques telles que l'hydrolyse de l'esculine, la formation de dextrans, les conditions de croissance, la capacité à croître à différents pH et température, l'assimilation de citrate et/ou malate permettent la différenciation entre les genres *Leuconostoc* et *Weissella*. [50] [9]

Le développement des *Leuconostoc* entraîne souvent l'apparition d'une viscosité dans le milieu grâce à la production des exopolysaccharides. Les *leuconostoc* principalement *Ln. mesenteroides ssp.*, *Ln. cremoris* et *Ln. lactis* sont utilisés en association avec les lactocoques dans l'industrie laitière pour produire en plus de l'acide lactique et le CO₂, des substances aromatiques telles que le diacétyle et l'acétoïne à partir des citrates du lait. [51] [52] [53]

V.1.4 Le genre *Enterococcus*

Ce genre regroupe les streptocoques fécaux. Ce sont des commensaux de l'intestin. Les espèces rencontrées dans l'alimentation sont essentiellement *En. faecalis* et les espèces proches. Les entérocoques sont des coques qui peuvent être mobiles, homofermentaires, généralement différenciés par la fermentation de l'arabinose et le sorbitol, ils croissent entre 10°C et 45°C. [46] [9]

V.1.5 Les genres *Pediococcus* et *Tetragenococcus*

Les *Pediococcus* sont des coques homofermentaires dont la particularité est le regroupement en tétrade. Ils sont mésophiles, le plus souvent incapable d'utiliser le lactose, et leur développement nécessite la présence de divers facteurs de croissance. Certaines espèces se distinguent par leur capacité à se développer à des teneurs en sels très élevées, comme *Pediococcus halophilus*, renommé *Tetragenococcus halophilus* et *Tetragenococcus muriaticus* qui tolère jusqu'à 18% de NaCl. [12]

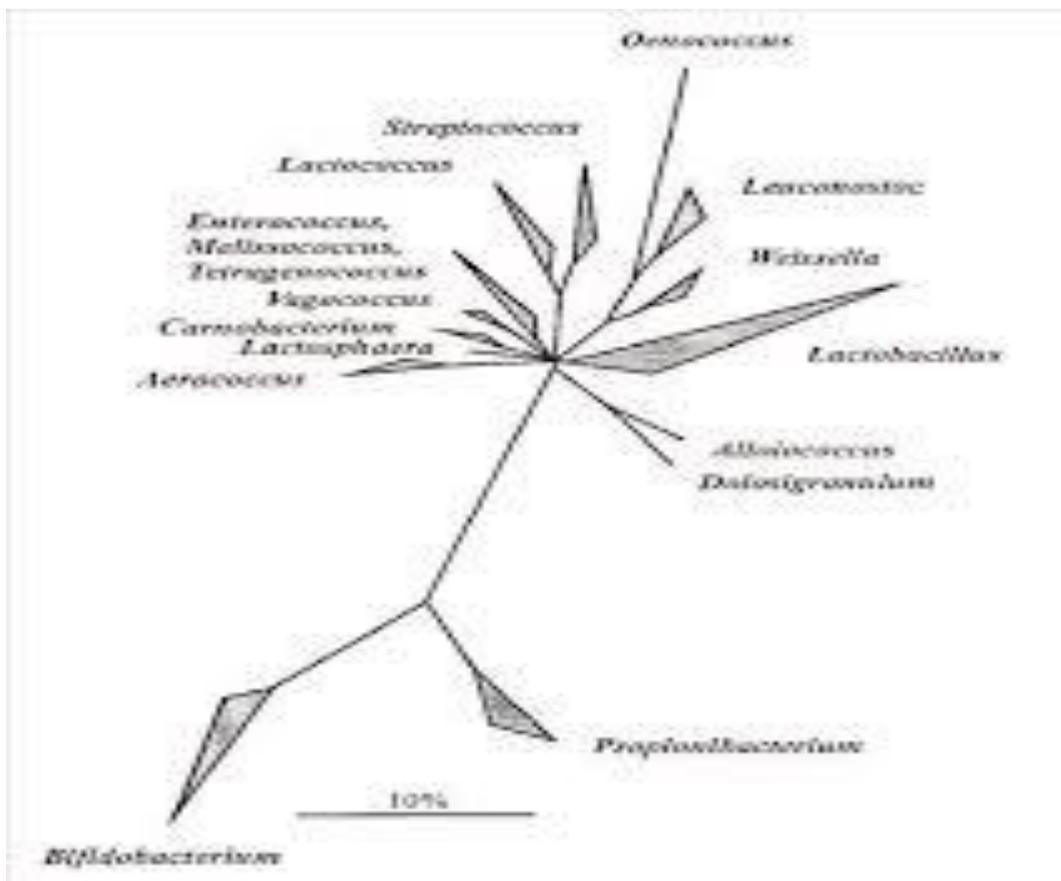
V.1.6 Le genre *Bifidobacterium*

Le genre *Bifidobacterium* était aussi 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. Dans le manuel de Bergey publié en 1957, les *Bifidobacterium* étaient répertoriées comme étant des *Lactobacillus bifidum*. Ces microorganismes, considérés souvent comme de véritables bactéries lactiques, sont phylogéniquement sans rapport avec ces dernières. [30] [54]

Les *Bifidobacterium* sont phylogéniquement proches des actinomycètes alors que les autres bactéries lactiques sont proches des clostridies. Il s'agit des bacilles arrangés en chaînes ou en groupes, non-sporulés, immobiles, catalase (-) et non-filamenteux). [52] [55] [56]
Ils sont davantage liés au phylum *Actinobacteria* (anciennement Actinomycètes). [54]

Tableau 1. Principaux genres de bactéries lactiques [57]

Genre	Forme de la cellule	Type de fermentation	Configuration de l'acide lactique	Espèce type
<i>Aerococcus</i>	Coques	Homofermentaire		<i>Ac. viridans</i>
<i>Carnobacterium</i>	Bacilles	Hétérofermentaire	L(+)	<i>Cb. divergens</i>
<i>Enterococcus</i>	Coques	Homofermentaire	L(+)	<i>Ec. faecalis</i>
<i>Lactobacillus</i>	Bacilles	Homo ou hétérofermentaire	D(-), L(+) ou D/L	<i>Lb. delbrueckii</i>
<i>Lactococcus</i>	Coques	Homofermentaire	L(+)	<i>Lc. lactis</i>
<i>Leuconostoc</i>	Coques	Hétérofermentaire	D(-)	<i>Ln. mesenteroides</i>
<i>Oenococcus</i>	Coques	Hétérofermentaire	D(-)	<i>Oe. oeni</i>
<i>Pediococcus</i>	Coques	Homofermentaire	D/L ou L(+)	<i>Pc. damnosus</i>
<i>Streptococcus</i>	Coques	Homofermentaire	L(+)	<i>Sc. salivarius</i>
<i>Tetragenococcus</i>	Coques	Homofermentaire	L(+)	<i>Tc. halophilus</i>
<i>Vagococcus</i>	Coques ovoïdes	Homofermentaire	L(+)	<i>Vc. fluvialis</i>
<i>Weissella</i>	Petits bacilles	Hétérofermentaire	D/L ou D(-)	<i>We. viridescens</i>

**Figure 1.** Arbre phylogénétique des principaux genres de bactéries lactiques et des genres associés, obtenu par analyse des ARNr 16S. [25]

VI. Métabolisme

Toute croissance nécessite la production d'énergie et les bactéries lactiques ne font pas exception à la règle. Parce qu'elles ne possèdent pas un système respiratoire fonctionnel, elles doivent obtenir leur énergie par phosphorylation au niveau du substrat. [58] [59]

Toutes les bactéries lactiques possèdent un métabolisme fermentaire, leur permettant en utilisant des sucres fermentescibles, de produire principalement de l'acide lactique mais aussi d'autres acides organiques (acide acétique, acide formique). [60] [61]

Les sucres peuvent être des monosaccharides tels que les hexoses (glucose, galactose), des pentoses (xylose, ribose, arabinose), des sucres alcools (mannitol, sorbitol, xylitol) ou des dissaccharides (lactose, saccharose, cellobiose, maltose, tréhalose). [62]

VI.1 Métabolisme des sucres

La fermentation des sucres s'effectue essentiellement en trois étapes : [58]

- Le transport du sucre à travers la membrane cellulaire ;
- Le catabolisme intracellulaire du sucre ;
- La formation et expulsion extracellulaire des métabolites terminaux.

Le catabolisme des sucres fournit l'énergie nécessaire à l'anabolisme sous forme d'ATP et génèrent des coenzymes réduits sous forme de NADH essentiellement. [62]

Deux systèmes de transport actifs des sucres sont présents chez les bactéries lactiques : le système phosphotransférase phosphoénolpyruvate dépendant (PTS), qui couple le transport et la phosphorylation du glucide et le système perméase énergie dépendant, qui fait pénétrer les glucides sous forme de sucres libres. [63]

Selon le genre ou espèce, les bactéries lactiques utilisent principalement l'une des deux voies majeurs du métabolisme des sucres, il s'agit des voies homofermentaires Embden-Meyerhof-Parnas (EMP) et hétérofermentaire (voies des pentoses-phosphates). [58]

VI.1.1 Voie homofermentaire (EMP) ou la glycolyse

Les bactéries lactiques homofermentaires comprennent les espèces de lactocoques, pédiocoques, ainsi que certains lactobacilles. [64]

Les bactéries appartenant aux genres *Streptococcus* et certaines espèces de *Lactobacillus* comme *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus caucasicus*, *Lactobacillus lactis* et *Lactobacillus plantarum* et par *Thermobacterium yoghurti*. [14]

Cette voie conduit dans des conditions optimales de croissance à la production de deux molécules de lactate et deux molécules d'ATP par molécules de glucose consommée. [64]

Des sucres autres que le glucose peuvent également être fermentés via cette voie : monosaccharides, dissaccharides, hexitols. Ces microorganismes présentent un métabolisme de type homolactique lorsque le lactate représente plus de 90% des produits de fermentation. Dans certaines conditions de croissance (certains sucres, limitation carbone ...etc.), le métabolisme de ces bactéries se diversifie vers un métabolisme mixte avec production en plus du lactate, de formiate, de CO₂, d'acétate et d'éthanol. [62]

Toutes les bactéries lactiques à l'exception des genres : *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Weissella* et certaines espèces du genre *Lactobacillus*, entravent la voie de la glycolyse pour dégrader les hexoses (ex : glucose).

La fructose-1,6-biphosphate aldolase (FBA), est une enzyme clé présente chez toutes les espèces homofermentaires et indispensable au fonctionnement de la voie EMP.

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 biphosphate (FBP) puis clivé en dihydroxyacétone phosphate (DHAP) et glycéraldéhyde phosphate (GAP). Ces deux derniers sont convertis en pyruvate.

Le pyruvate est dans une dernière étape réduit en acide lactique qui est le produit unique : c'est la fermentation homolactique. [65]

VI.1.2 Voie hétérofermentaire

Les bactéries lactiques qui fermentent le glucose en produisant, en plus de l'acide lactique (moins de 1.8 moles par mole de glucose), de l'acétate, de l'éthanol et du CO₂ sont dites hétérofermentaires. [64]

La voie hétérofermentaire, communément appelée voie des pentoses phosphate (transcétolases) se produit chez les espèces appartenant à *Lactobacillus*, telles que *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus fermenti* et chez *Leuconostoc*, telles que *Leuconostoc mesenteroides* et *Leuconostoc pentosaceus*. Ces bactéries dégradent les hexoses avec formation quasi stœchiométrique d'une molécule d'acide lactique, d'une molécule de CO₂ et d'une molécule d'éthanol. Les sucres à cinq atomes de carbone ou pentoses, peuvent parfois être fermentés et donnent alors une molécule d'éthanol et une molécule d'acide lactique. Outre ces produits, qui représentent plus de 80% des métabolites obtenus, on obtient également de l'acide acétique et du glycérol. [14]

VI.1.3 La voie bifide

Il existe aussi une voie de fermentation particulière au genre *Bifidobacterium* appelée voie bifide. Le bilan net de cette voie bifide est 1,0 mole de lactate, 1,5 mole d'acétate et 2,5 moles d'ATP par mole d'hexose, ce qui est légèrement supérieur au rendement de la glycolyse en terme énergétique. [64]

VI.2 Métabolisme du citrate

L'acide lactique est utilisé par nombreuses espèces des genres *Streptococcus* (*Streptococcus thermophilus*), *Lactococcus* (*Lc. lactis* subsp. *lactis* biovar *diaceylactis*), *Enterococcus* (*Ec. faecium*), *Pediococcus*, *Leuconostoc* (*Ln. lactis*, *Ln. cremoris*) et *Lactobacillus* (*Lb. plantarum*, *Lb. casei*). Cependant il ne peut être dégradé qu'en présence d'un substrat fermentescible et d'une source d'azote. [11]

Le citrate est transporté à l'intérieur de la cellule grâce à un citrate perméase, puis scindé en acétate et oxaloacétate grâce à une citrate lyase. L'oxaloacétate est décarboxylé par la suite en pyruvate. Le flux du pyruvate provenant du métabolisme est principalement transformé en lactate via la lactate déshydrogénase afin de réoxyder le $\text{NADH} + \text{H}^+$ produit lors du catabolisme du glucose. [66]

VI.3 Métabolisme azoté

Les bactéries lactiques sont incapables de synthétiser un certain nombre d'acides aminés pour lesquels elles sont donc auxotrophes. Ces besoins en acides aminés sont cependant variables d'une souche à une autre. [67]

Les bactéries lactiques sont incapable de synthétiser plusieurs acides aminés, mais sont pourtant bien adaptées à un environnement riche en protéines et pauvre en acides aminés libres ; comme le lait ; grâce à un système protéolytique complexe. [68] [69]

Les bactéries du yaourt doivent dégrader la fraction protéique du lait constituée de caséine et de protéines sériques, *Lactobacillus bulgaricus* dégrade la majorité des caséines notamment la caséine β , les Lactocoques hydrolysent les caséines κ et β avant la caséine α s. [70]

Le catabolisme des acides aminés est une voie majeure de formation de molécules aromatiques (alcool, aldéhydes, acides organiques, ...), comme il peut être une source d'énergie pour certaines bactéries lactiques en cas de limitation en nutriments. [71]

Dans la plupart des germes de bactéries lactiques (Lactobacilles, Lactocoques), le système protéolytique met en œuvre une protéase liée à la paroi cellulaire grâce aux ions Ca^{2+} qui réalise la première étape de processus de dégradation des protéines, les peptides résultant seront

hydrolysés en acides aminés par différents peptidases membranaires et cytoplasmiques après leur transport dans le cytoplasme. [67]

VI.4 L'activité lipolytique

L'activité lipolytique des bactéries lactiques est importante dans l'industrie laitière car elle contribue à la saveur des produits laitiers fermentés. Les bactéries lactiques peuvent effectuer des réactions de transformation d'acides gras comprenant l'isomérisation, l'hydratation, la déshydratation et la saturation. Ces activités peuvent être utilisées dans l'industrie alimentaire et à des fins probiotiques. Par exemple, la réaction de saturation peut être utilisée dans la fabrication d'huiles partiellement hydrogénées. [72]

Cependant, la capacité des bactéries lactiques à décomposer les lipides ou à déshydrater les acides gras diffère largement entre les espèces et même les souches. Les bactéries lactiques ne sont pas très lipolytiques comparativement à d'autres espèces bactériennes comme les *Pseudomonas*. [73]

Néanmoins, des activités d'hydrolyse d'esters ont été mesurées chez ce groupe de bactéries. L'estérase de *Lactococcus lactis* est capable d'hydrolyser la matière grasse du lait une fois que celle-ci a été préhydrolysée par d'autres lipases ou estérases. [74]

Trois points communs se dégagent pour les estérases de bactéries lactiques :

- Elles hydrolysent préférentiellement des esters comportant des chaînes d'acides gras en C4 et C6.
- Elles sont inhibées par des inhibiteurs d'enzymes à sérine ce qui permet de les classer dans la famille des hydrolases possédant une sérine dans leur site actif.
- Elles sont très majoritairement décrites comme étant des enzymes localisées à l'intérieur de la bactérie.

Les estérases sont des enzymes clés dans le développement de la saveur du produit fermenté. [58]

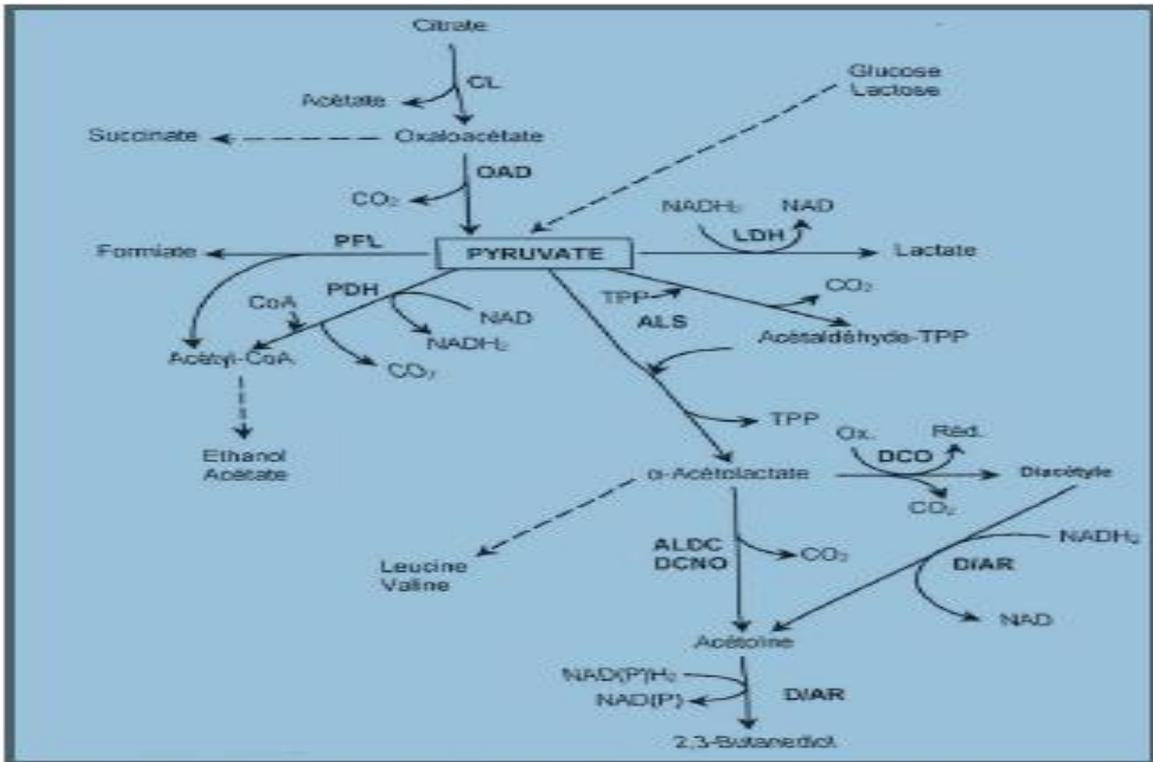


Figure 2 : principales étapes du métabolisme du citrate chez les bactéries lactiques. [66]

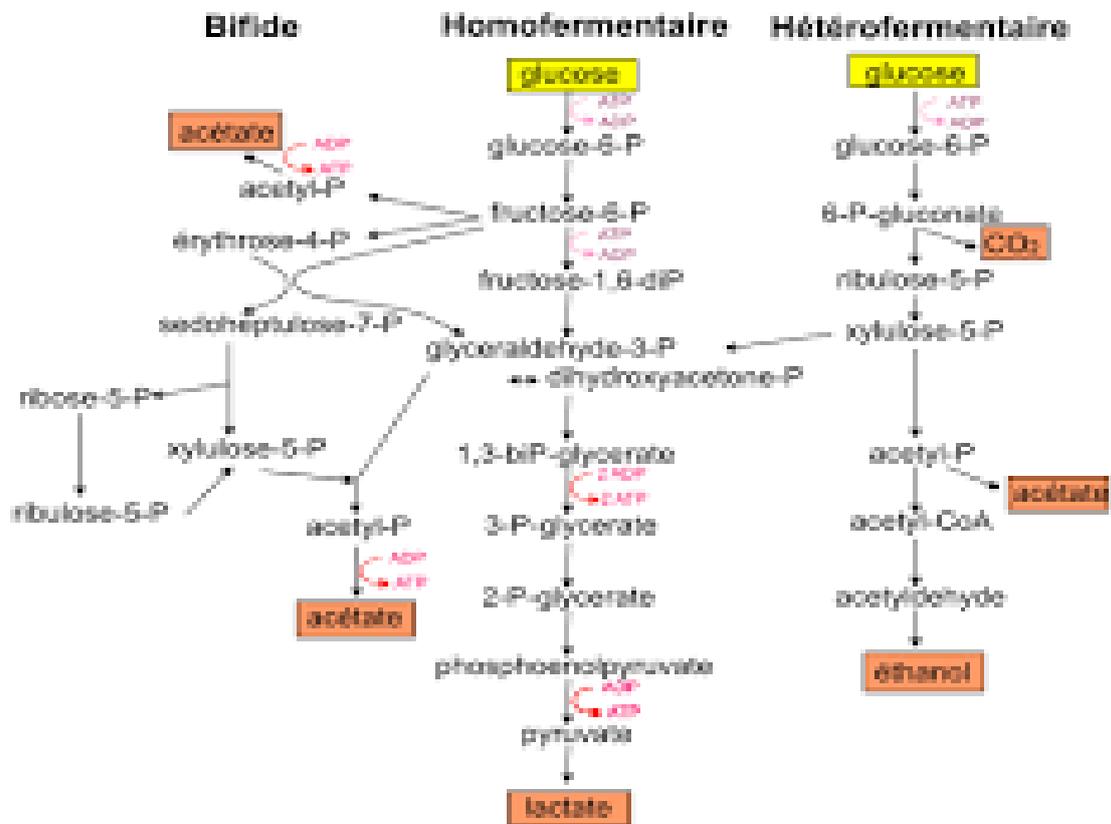


Figure 3 : La voie glycolyse et la voie bifide.

VII. Fonctions et effets bénéfiques des bactéries lactiques

La production d'acide lactique est une des principales fonctions des bactéries lactiques en technologie laitière, car cet acide organique permet de concentrer et conserver la matière sèche du lait, en intervenant comme coagulant et antimicrobien. [75]

La présence de bactéries lactiques est responsable de l'acidification du lait et de la maturation de la crème. [76]

Elles sont principalement utilisées en tant que starter dans les produits alimentaires fermentés où elles permettent de développer certaines caractéristiques organoleptiques et d'augmenter la durée de conservation. [77] [78]

Les bactéries lactiques interviennent dans l'industrie laitière et dans la fermentation de nombreux autres produits alimentaires, en contribuant à la texture, à la saveur des aliments et à la production des composés aromatiques. Ils fermentent les glucides en acide lactique d'où une diminution du pH favorable à la bio conservation des denrées alimentaires. [79]

Les bactéries lactiques forment actuellement un groupe d'organismes utilisés pour l'enrichissement de certains yaourts et laits. [80]

Cette utilisation est due aux effets nutritionnels et thérapeutiques de ces bactéries car elles enrichissent le milieu où elles se trouvent en vitamines (B et K), acides aminés, composés organiques (acide lactique et acétique), enzymes (lactase) et bactériocines responsables de l'inhibition des bactéries pathogènes. [81]

VII.1 Bioconservation et la biopréservation

La bioconservation, comme toute autre méthode de conservation doit permettre non seulement de maîtriser la croissance de flores pathogènes ou d'altération, mais également de préserver les qualités organoleptiques et nutritionnelles du produit tout au long de sa durée de vie. [82]

Les bactéries lactiques sont impliquées dans la fermentation et la bio conservation de différents aliments ainsi les souches de *Lactobacillus bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus* sont utilisées pour la production du yaourt, des fromages et des laits fermentés. [83]

Le champ d'application des bactéries lactiques est large et plusieurs de leurs propriétés sont importantes et influentes sur la qualité finale des produits alimentaires. Il permet d'assurer la qualité sensorielle des produits et de mieux maîtriser le processus de fermentation. [84] [85]

La biopréservation ou bioprotection est une méthode de conservation des aliments faisant appel à des microorganismes ou des à «composés naturels» en opposition à l'utilisation de

conservateurs dits « chimiques ». Cette thématique a fait l'objet de nombreux travaux ces deux dernières décennies.

Il existe différentes voies permettant la biopréservation. Ainsi, il est possible d'utiliser des micro-organismes tels que les bactéries lactiques.

Pour pouvoir utiliser ces bactéries il faut démontrer leur innocuité pour le consommateur et la qualité des produits alimentaires.

Les modes d'action de cette flore sont variés :

- Acidification de l'aliment par production d'acides organiques comme l'acide lactique ou l'acide acétique,
- Production de bactériocines comme la pédiocine, la nisine, et divers autres métabolites,
- Compétition vis à vis des nutriments,
- Production de dioxyde de carbone (CO₂),
- Production de peroxyde d'hydrogène (H₂O₂). [82]

VIII. L'intérêt des bactéries lactiques sur la santé

L'intérêt des bactéries lactiques en matière de santé humaine a été initialement proposé au début du 20^{ème} siècle, en 1907, par le russe Metchnikoff. [86]

Certaines bactéries lactiques spécifiques sont utilisées comme probiotiques c'est-à-dire des micro-organismes vivants dont l'application à l'homme ou à l'animal exercent un effet bénéfique sur ce dernier par amélioration des propriétés de la flore intestinale. Les espèces couramment utilisées sont *Lb. acidophilus*, *Lb. casei*, *Lb. johnsonii*, *Lb. reuteri*, *Lb. delbruecki subsp bulgaricus*. [87]

Etant des probiotiques, les bactéries lactiques apportent des bénéfices à l'hôte en conférant une balance de la microflore intestinale, et en jouant également un rôle important dans la maturation du système immunitaire. [83]

Les bactéries les plus fréquemment utilisées comme probiotiques sont des *Lactobacillus* et des *Bifidobacterium*. [88]

Les bactéries lactiques utilisées dans l'alimentation sont consommées quotidiennement et en grande quantité par des populations très importantes. Dans les yaourts, par exemple, deux espèces de bactéries lactiques (*Lactobacillus bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus*) sont présentes à 10⁸–10⁹ germes par gramme. [89]

Différentes études ont démontré le rôle préventif aussi bien que curatif de ces bactéries sur plusieurs type de diarrhées. [90]

Des études cliniques ont démontré que des infections gastro-intestinales causées par *Helicobacter pylori*, la diarrhée du voyageur, diarrhée due aux rotavirus, diarrhée-associée aux antibiotiques comme celle causée par *Clostridium difficile*, peuvent être contrecarrées avec succès par l'utilisation de probiotiques. [91] [92] [93]

D'autres ont cité leur capacité de diminuer les allergies liées aux quelques aliments grâce à leur activité protéolytique. [94] [95]

Les effets bénéfiques potentiels cités sont nombreux et variés. Certains sont maintenant bien établis tels que l'amélioration de la digestion du lactose et le traitement des désordres diarrhéiques, d'autres restent encore controversés tels que la diminution du cholestérol sérique ou encore la réduction de la formation de tumeurs. [89]

Jiang *et al.*, (1996) ont démontré que la consommation de lait contenant des souches de *Bifidobacterium longum* réduit les symptômes du mal absorption de lactose chez des sujets humains suite à une élévation de la sécrétion de β - galactosidase.

UEHARA *et al.* (2006) ont démontré la capacité des souches de *Lactobacillus crispatus*, utilisées sous forme de suppositoires pour empêcher la colonisation du vagin par les bactéries pathogènes et de prévenir ainsi les rechutes chez les femmes qui souffrent d'inflammations fréquentes et répétées de la vessie.

Effet inhibiteur des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques peuvent empêcher l'adhésion de plusieurs bactéries pathogènes par la sécrétion d'inhibiteurs d'adhérence. Cette capacité se retrouve chez plusieurs bactéries lactiques telles que les *Lactobacillus*, *Streptococcus thermophilus* et Bifidobactéries. [197]

Les bactéries lactiques produisent de nombreux métabolites aux propriétés antimicrobiennes tels que les acides organiques, le peroxyde d'hydrogène, le dioxyde de carbone, la reutérine, le diacétyl et les bactériocines. [198] et les composés antifongiques [199]

Certaines souches présentent une activité antibactérienne et l'application de souches lactiques bactériocinogéniques peut être considérée comme un outil complémentaire pour prévenir le développement des bactéries pathogènes. [200]

Les composés antibactériens produits par les bactéries lactiques

Les acides organiques

Les bactéries probiotiques produisent l'acide lactique, l'acide acétique, l'acide propionique ainsi qu'une faible quantité d'acide formique, d'acide succinique, et d'éthanol. En général, la production d'acides organiques permet une acidification du milieu qui peut limiter la

croissance de certaines bactéries entre autres les bactéries indésirables. Des expositions prolongées dans un milieu acide peuvent entraîner la mort de plusieurs bactéries, y compris les ferments lactiques. [201]

Les acides gras

L'activité antimicrobienne des acides gras a été identifiée pendant plusieurs années.

Les acides gras insaturés présentent une activité contre les bactéries à Gram+, et l'activité antifongique des acides gras dépend de la composition, de la concentration, et du pH du milieu. [202]

Peroxyde d'hydrogène

Dans les conditions d'aérobiose [29]. En général, les bactéries lactiques sont capables de transformer l'oxygène moléculaire (O_2) en superoxyde excité (O_2^-), en peroxyde (H_2O_2) ou en eau (H_2O). Ces réactions sont catalysées par des enzymes spécifiques généralement en présence d'un substrat à oxyder. Ces enzymes ont été trouvées chez des souches de *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc* et *Pediococcus*. L'effet antimicrobien de H_2O_2 peut résulter de l'oxydation des groupes sulfhydryliques causant la dénaturation d'un certain nombre d'enzymes, et de la peroxydation des lipides de membrane ; de ce fait provoque l'augmentation de la perméabilité de la membrane. [203]

Dioxyde de carbone (CO_2)

Le mécanisme précis de son action antimicrobienne est toujours inconnu. Il crée un milieu anaérobique, qui empêche les décarboxylations enzymatiques, l'accumulation de CO_2 peut causer un dysfonctionnement de la perméabilité, il est principalement produit par les bactéries lactiques hétérofermentaires. [204]

Acétaldéhyde

L'acétaldéhyde empêche la croissance de *Staphylococcus aureus*, de *Salmonella typhimurium* et d'*E. coli* à une concentration de 10 à 100 ppm dans les produits laitiers. [28]

Bactériocines

Les bactériocines sont des familles de peptides ou protéines 20 à 60 acides aminés.

Synthétisées naturellement par un très nombre de souches de bactéries lactiques comme bactéries à Gram positif [17]. La définition qui était la plus acceptée donnée aux bactériocines est celle de Klaenhammer qui les définit en tant que protéines ou complexes de protéines ayant une activité bactéricide contre les espèces étroitement liées à la souche productrice. [205]

Les bactériocines représentent une large classe de substances antagonistes qui varient considérablement du point de vue de leur poids moléculaire, de leurs propriétés biochimiques, de leur spectre d'action et de leur mode d'action. [206]

Cependant, des études récentes ont démontré qu'il existe certaines qui sont actives également contre des bactéries à Gram négatif. [207]

Les souches les produisant peuvent donc également être utilisées dans des produits non fermentés en tant que culture protectrice. Une culture protectrice est une culture antagoniste ajoutée à un produit alimentaire pour inhiber les bactéries pathogènes et/ou altérantes et ainsi prolonger sa durée de vie en changeant ses propriétés organoleptiques le moins possible.

[197]

Selon KLAENHAMMER, 1993 [206], les bactériocines sont réparties en trois classes :

Les bactériocines de classe I ou lantibiotiques

Les bactériocines de classe II : La classe II peut être subdivisée en quatre sous classes IIa à IId

Les bactériocines de classe III

Tableau 15 : Classification des bactériocines de bactéries lactiques. [207]

Classe	Sous-catégorie
Classe I : l'antibiotique	Type A : molécules linéaires Type B : molécules globulaires
Classe II : bactériocines non-modifiées thermostables	Classe : anti-listeria Classe : bactériocines à deux composants Classe : autres bactériocines
Classe III : bactériocines de grande taille, sensibles à la chaleur.	

Classe I « Les lantibiotiques » : peptides de taille inférieure à 5 kDa, stables à la chaleur et qui contiennent des acides aminés inhabituels soufrés formés post-traditionnellement, c'est-à-dire la lanthionine, la β -méthyl lanthionine, la déhydrobutyrine et la déhydroalanine. Ils peuvent être divisés en deux types : la classe Ia qui comprend des peptides cationiques hydrophobes allongés contenant jusqu'à 34 acides aminés et la classe Ib qui comprend les peptides globulaires chargés négativement ou sans charge nette et contenant jusqu'à 19 acides aminés. Dans cette classe on retrouve la nisine A et Z produites par *Lactococcus lactis*. [208]

Chapitre 02 :

Le lait

et

le yaourt

Le lait

I. Définition du lait

La dénomination du lait a été définie en 1908 lors du congrès international de la répression des fraudes à GENEVE comme étant « le produit intégral de la traite totale et ininterrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée. Le lait doit être recueilli proprement et ne doit pas contenir de colostrum ». [99]

Selon Le code FAO/OMS « la dénomination lait est réservée exclusivement au produit de la sécrétion mammaire normale obtenue par une ou plusieurs traites sans addition ou soustraction. Le lait, à la fois aliment et boisson à un grand intérêt nutritionnel grâce à son hétérogénéité. [100] [101]

II. Composition du lait

II.1 L'eau

L'eau est un élément quantitativement le plus important, elle représente environ 9 /10 (81 à 87%) du lait. Le lait est riche en eau : 1/2 litre de lait apporte 450 ml d'eau. Il participe donc à la couverture des besoins hydriques de l'organisme. [137] [102]

II.2 Matière grasse

Elle se présente sous forme de globules gras d'un diamètre variant entre 0,1 et 15 microns, ses dimension dépendent de la race de l'animale et de son régime alimentaire, on constate une albumine absorbée sur une sous couche de lécithine. La complexité des matières grasses du lait est plus grande car celles-ci comprennent outre triglycérides, du cholestérol, des esters du cholestérol, des phospholipidesetc. [103]

II.3 Protéines

Elles constituent avec les sels la partie la plus complexe du lait. Leur importance tient à plusieurs raisons :quatrième groupe de substances par son abondance après l'eau le lactose et les matières grasses. [104]

On distingue deux grands groupes de protéines dans le lait : les caséines et les protéines. [99]

Les caséines ont une teneur de 27 g / l : elles se répartissent sous forme micellaire de phosphocasinat de calcium et elles sont facilement dégradées par toutes les enzymes protéolytiques.

Les protéines solubles du lactosérum se répartissent, entre [104] :

Les albumines : β - lactoglobuline : 3g

Lactalbumine : 1,2 g

Sérum albumine : 0,4 g

Les globulines : Immunoglobulines : 0,7 g

Lacto-transferine : 0,3 g [104]

II.4 Matières azotées non protéiques (ANP)

Il représente chez la vache 5% de l'azote total du lait, il est essentiellement constitué par l'urée (33 à 79% de l'azote non protéique du lait). On y trouve également et par ordre d'importance les acides aminés, l'acide urique, l'ammoniac, la créatinine. Il y a une corrélation étroite entre la teneur en urée du lait et celle du sang. [106]

II.5 L'hydrate de carbone

Le lactose, ou l'hydrate de carbone, le plus important du lait puisqu'il constitue environ 40% des solides totaux. D'autres glucides peuvent être présents en faible quantité, comme le glucose et le galactose qui proviendraient de l'hydrolyse du lactose. [63]

II.6 Minéraux

La quantité des minéraux contenue dans le lait après incinération varie de 0,60 à 0,90 %, ils prennent plusieurs formes : ce sont le plus souvent des sels, des bases, des acides. [107]

Les minéraux du lait se trouvent sous deux formes principales, surtout sous forme de sels ionisés et solubles dans le sérum et sous forme micellaire insoluble. Les éléments basiques majeurs comme le calcium, le potassium, le magnésium et le sodium forment des sels avec les constituants acides que sont les protéines, les citrates, les phosphates et les chlorures. En outre, le calcium, le magnésium, les citrates et les phosphates se trouvent sous forme colloïdale dans les micelles de caséines. [107]

Tableau 2 : Composition du lait en minéraux [107]

Minéraux	Teneur (mg /kg)	Minéraux	Teneur (mg/kg)
Sodium (Na)	445	Calcium (Ca)	1180
Magnésium (Mg)	105	Fer (Fe)	0,50
Phosphore (P)	896	Cuivre (Cu)	0,10
Chlore (Cl)	958	Zinc (Zn)	3,80
Potassium (K)	1500	Iode (I)	0,28

II.7 Vitamines

Les laits et ses dérivés sont des sources notables en vitamines A, B12, B2, dans une moindre mesure en vitamines B1, B6, PP.

En revanche ils ne contiennent que peu de vitamines E, acide folique et biotine. Les vitamines sont classées en deux grandes catégories :

- Les vitamines liposolubles associées à la matière grasse.
- Les vitamines hydrosolubles de la phase aqueuse du lait. [98]

Tableau 3 : teneur moyenne des principales vitamines du lait. [108]

Vitamines	Teneur moyenne
Vitamine liposolubles :	
Vitamine A (+ Carotènes)	40 ug /100ml
Vitamine D	2,4 ug/100ml
Vitamine E	100 ug/100ml
Vitamine K	5 ug/100ml
Vitamine hydrosolubles :	
Vitamine C (acide ascorbique)	2 mg/100ml
Vitamine B1 (thiamine)	45 ug/100ml
Vitamine B2 (riboflavine)	175ug/100ml
Vitamine B6 (pyridoxine)	50 ug/100ml
Vitamine B12 (cyanocobalamine)	0,45 ug/100ml
Niacine et niacinamide	90 ug/100ml
Acide pantothénique	350 ug/100ml
Acide folique	5,5 ug/100ml
Vitamine H (biotine)	3,5 ug/100ml

II.8 Enzymes

Environ 60 enzymes principales ont été répertoriées dans le lait, Les enzymes : Lipase, protéase, phosphatase alcaline, xanthine –oxydase, lactoperoxydases. [105]

Elles peuvent jouer un rôle très important soit par la lyse des constituants originaux du lait soit assurant un rôle antibactérien (protection au lait), soit des indicateurs de qualité hygiénique, de traitement thermique et d'espèce [98]. Les deux principaux facteurs qui influent sur l'activité enzymatique sont le pH et la température. [109]

Tableau 4 : Caractéristique des principaux enzymes du lait. [109]

		Activité maximale		
Groupe d'enzymes	Classe d'enzymes	pH	Température (°C)	substrat
Hydrolases	Estérases -Lipases	8.5	37	Triglycérides Esters Phosphoriques
	-Phosphatase alcaline -Phosphatase acide	9-10 4.0-5.2		
	Protéases -Lysozymes -Plasmine	7.5 8	37	Parois cellulaires microbiennes Caséine
Déshydrogénases ou oxydases	Sulphydryle oxydase Xantine oxydase	7 8.3	37	Protéines peptidiques Bases puriques
Oxygénases	Lactoperoxydase catalase	6.8 7	20	Composés réducteurs+H ₂ O ₂

III. Caractéristiques organoleptiques et physico-chimiques du lait

III.1 Caractéristiques organoleptiques

III.1.1 Couleur

Le lait est un liquide blanc mat, opaque à cause des micelles de caséinates, ou parfois bleuté ou jaunâtres du fait du β carotène ou de la lactoflavine contenue dans la matière grasse. [110]

III.1.2 Odeur

Elle est toujours faible et variable en fonction de l'alimentation de la femelle productrice. Le lait n'as pas d'odeur propre, il s'en charge facilement au contact de récipients mal odorants, mal lavés. C'est surtout la matière grasse qui réalise fortement ces fixations. Lors de l'acidification du lait L'odeur devient aigrelette sous l'influence de la formation d'acide lactique. [111]

III.1.3 Saveur

La saveur normale d'un bon lait est agréable et légèrement sucré, ce qui est principalement due à la présence de matière grasse, la saveur du lait se compose de son goût et de son odeur. [112]

III.1.4 Viscosité

Elle est fonction de l'espèce, on distingue :

- Un lait visqueux chez les monogastriques (jument, ânesse et carnivores).On parle de lait albumineux.
- Un lait moins visqueux chez les herbivores (lait de brebis plus visqueux que celui de la vache), le lait est dit caséineux. [113]

III.2 Caractéristiques physico-chimiques

III.2.1 Densité

Le poids d'une substance par unité du volume est la masse volumique, tandis que la densité est le rapport de la masse volumique avec celle de l'eau. Etant donné que la masse volumique de toute substance varie avec la température.

La densité du lait à 15°C est en moyenne 1,032 (1,028-1,035). Elle est la résultante de la densité de chacun des constituants du lait et aussi donnée que la matière grasse est le seul constituant qui possède une densité inférieur de 1. [114]

III.2.2 Acidité

Normalement l'acidité du lait est proche de la neutralité (pH = 7). Il est légèrement acide et son pH varie normalement de 6,6 à 6,8. Cependant, lorsque le lait n'est pas refroidi rapidement à 4°C après la traite, les bactéries lactiques y croissent rapidement. Ces bactéries produisent

l'acide lactique qui diminue le pH (augmente l'acidité) du lait. Lorsque l'acidité est suffisamment forte à température ambiante (un pH inférieur à 4,7) la caséine du lait coagule. Si la température est plus élevée, la coagulation de la caséine du lait se produit en présence de moins d'acide (un pH plus élevé). [115]

III.2.3 Stabilité à la chaleur

Le lait frais peut maintenir sa structure normale lorsqu'il est exposé à de courtes périodes de chaleur intensive. Cependant, l'exposition prolongée à la chaleur dégrade la structure des micelles de caséines et modifie la structure du lactose qui tend à réagir avec les protéines. La stabilité à la chaleur peut donc indiquer la qualité d'un lait. Un lait acide se déstabilise plus rapidement à la chaleur qu'un lait normal. [115]

III.2.4 Ecrémage du lait

Quelle que soit l'utilisation de la matière grasse, celle-ci est d'abord séparée du lait au cours de l'opération d'écémage qui donne deux catégories de crème :

-Crème de consommation : Utilisée directement, notamment en cuisine, pâtisserie et dans la préparation des crème glacées,...etc.

-Crème de transformation : Destinée à la fabrication du beurre et d'autres produits. [110]

IV. Microbiologie du lait

Le lait, même provenant d'une traite effectuée dans des conditions de propreté et d'hygiène normale renferme de nombreux germes dont le développement rapide est assuré par sa température à la sortie de la mamelle (35°C) ainsi que par sa richesse en eau et en glucides.

Les micro-organismes du lait sont répartis selon leur importance en deux grandes classes : la flore indigène ou originale et la flore de contamination, cette dernière est subdivisée en deux classes : la flore d'altération et la flore pathogène. [101][114]

IV.1 Flore indigène

Le lait contient peu de micro-organismes lorsqu'il est prélevé dans des bonnes conditions à partir d'un animal sain (moins de 10^3 germes /ml). [116]

Cette flore se définit comme l'ensemble des micro-organismes qui se retrouvent dans le lait à la sortie du pis, il devrait contenir moins de 5000 UFC/ml, les principales flores sont *Micrococcus* 30-90 %, *Lactobacillus* 10-30 %, *Streptococcus* et *Lactococcus* < 10%. [104]

IV.2 Flore de contamination

La flore de contamination est l'ensemble des micro-organismes dans le lait de la récolte jusqu'à la consommation. Elle se compose d'une flore d'altération et d'une flore pathogène. [117]

IV.2.1 Flore d'altération

Elles sont des espèces bactériennes du lait cru capables de dégrader le lactose, les protéines ou les lipides de cette matière première. [118]

Les principaux genres identifiés comme flore d'altération sont *Pseudomonas sp*, *Proteus sp*, les coliformes, soit principalement *Escherichia*, *Enterobacter*, les *Bacillus sp*, et *Clostridium*, certains levures et moisissures, ils causeront des défauts sensoriels de goût, d'arômes. [117]

IV.2.2 Flore pathogène

Parmi les bactéries pathogènes pouvant être retrouvées dans le lait, certaines ont peu de chance de se développer (Bacille de koch, *Campylobacter fetus* et *Salmonella*). D'autre peuvent se multiplier, c'est le cas des bactéries mésophiles : *E. coli* et *Staphylococcus aureus*. [42]

Le yaourt

I. Définition de yaourt

Le yaourt est un produit laitier coagulé obtenu par fermentation lactique grâce à l'action de *Lactobacillus delbrueckii* subsp *bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus* à partir du lait (pasteurisé, concentré, partiellement écrémé enrichi en extrait sec). [135]

II. Fabrication du Yaourt

Le lait est standardisé au taux de matière grasse requis pour le produit fini et peut être enrichi en extrait sec laitier.

Il est homogénéisé pour favoriser la dispersion de la matière grasse et traité à 90°C pendant quelques minutes. Ce traitement thermique entraîne notamment la destruction de germes pathogènes, l'inactivation des enzymes, la fixation de la plus grande partie des protéines solubles sur les molécules de caséine.

Le lait est ensuite refroidi pour atteindre la température optimale de fermentation (vers 45°C). L'ensemencement (taux de 1 à 5 %) se fait le plus souvent à partir d'un levain déjà préparé en cuve.

La fermentation se fait en 2 à 3 heures : pour les yaourts fermes, le laitensemencé est directement mis en pots ; dès formation du caillé, ceux-ci sont stockés à 4°C, de façon à stopper l'acidification ; pour les yaourts brassés, le laitensemencé fermente en tanks où il sera brassé en fin de fermentation. Le mélange est ensuite refroidi puis mis en pot et stocké à 4°C.

Suivant le type de yaourt, l'adjonction de fruits, de sucres, d'édulcorants et d'arômes se fait avant ou après fermentation. [136]

III. Composition de yaourt

Le yaourt diffère d'un type à un autre selon la composition en : protéine, lipide, glucide, calcium, sodium, potassium et phosphore. [119]

Tableau 5 : la teneur moyenne pour 100 grammes de produit. [120]

	Teneur moyenne pour 100 gramme de produit							Valeur énergétique
	protéine	lipide	Glucide	calcium	sodium	Potassium	phosphore	KJ
Yaourt nature	4,15	1,2	5,2	174	57	210	114	201
Yaourt aromatisé	3,2	3,2	12	140	50	190	106	372
Yaourt brassé	4,3	1,8	5,2	165	40	205	115	230

III.1 Les glucides

La fermentation du lait conduit principalement à la baisse de la teneur en lactose de 20 à 30% après être de l'ordre de 4,5g pour 100 g, pour cela, la dégradation du lactose sous l'action de β -galactosidase où lactase conduit à la formation de glucose, galactose. [121]

III.2 Les protéines

Les bactéries lactiques produisent des enzymes qui hydrolysent partiellement les protéines du lait, de plus leur équilibre en acides aminés est excellent, ce qui leur confère une bonne valeur biologique. [121]

III. 3 Les lipides

Il existe une hydrolyse très modérée des triglycérides pendant la fermentation du yaourt qui n'a pas d'incidence nutritionnelle observable [122].

III. 4 Les minéraux

C'est surtout la richesse en calcium du yaourt et du lait fermentés qui est essentielle. La poudre de lait ajoutée lors de la fabrication du yaourt augmente en effet la teneur en calcium essentiellement par rapport au lait d'origine.

Un pot de yaourt de 125 g apporte 180 à 200 mg de calcium. [121]

III. 5 Les vitamines

La composition des vitamines du yaourt dépend principalement de celle du lait utilisé de plus, elle sera modulée au cours de la fermentation par les bactéries lactiques. La composition en vitamines varie en fonction de leur teneur dans le lait utilisé (entier ou

partiellement écrémé) par contre les vitamines du groupe B présente en quantités intéressantes proviennent du lait utilisé. [123]

IV. Caractéristiques physico-chimiques du yaourt

IV.1 L'acidité titrable

L'acidité normale du yaourt est comprise entre 75 et 100° D.

IV.2 Texture

La texture est influencée par deux majeurs problèmes :

Manque de fermeté : un des défauts qui peut être dû à un lait de mauvaise qualité (forte compétition bactérienne, présence d'inhibiteurs, produits de lavage, bactériophages), à une faible teneur en protéines lors de la standardisation, à une mauvaise activité des ferments filants ou à un brassage du gel avant la fin de la coagulation.

Caillé trop fermenté : ce défaut peut être dû à une teneur trop élevée en protéines, en stabilisants ou à un mauvais choix du stabilisant.

IV.3 L'aspect

On constate la présence de :

Synérèse : ce défaut est dû à un traitement (homogénéisation et traitement thermique) inadéquat entraînant une mauvaise ouverture de la structure et un manque en groupements hydrophiles, ou encore à une sur acidification (déséquilibre des souches, température trop élevée, taux d'inoculation trop élevée, qualité du ferment).

Mousse à la surface : Ce défaut est dû à l'usage d'une pression trop forte au cours de l'homogénéisation ou à une contamination du lait par des micro-organismes gazogènes (bactéries lactiques hétéro-fermentaires, coliformes ou levures).

V. Microbiologie du yaourt

V.1 La microflore originale

V.1.1 *Streptococcus thermophilus*

C'est une coque à Gram positif, anaérobie facultatif, non mobile, on le trouve dans les laits fermentés et les fromages. [124] [48] C'est une bactérie dépourvue d'antigène du groupe D, thermorésistante, sensible au bleu de méthylène (0,1%) et aux antibiotiques. Elle est aussi résistante au chauffage à 60°C pendant 30 minutes [124]. Elle est isolée exclusivement du lait et des produits laitiers sous forme de coques disposés en chaînes de longueurs variables ou par paires. Sa température optimale de croissances varie entre 40 et 50°C Et son métabolisme est du type homofermentaire. [125].

Le rôle principal de *St. thermophilus* est la fermentation du lactose du lait en acide lactique. En plus de son pouvoir acidifiant, elle est responsable de la texture dans les laits fermentés. Elle augmente la viscosité du lait par production de polysaccharides (composés de galactose, glucose, ainsi que de petites quantités de rhamnose, arabinose et de mannose). [126]

V.1.2 *Lactobacillus bulgaricus*

Lactobacillus bulgaricus est un bacille Gram positif, immobile, asporulé, microaérophile. Il est isolé sous forme de bâtonnets ou de chainettes. Il possède un métabolisme strictement fermentaire avec production exclusive d'acide lactique comme principal produit final à partir des hexoses de sucres par voie d'Embden Meyerhof. Il est incapable de fermenter les pentoses. *Lb. bulgaricus* est une bactérie thermophile, très exigeante en calcium et en magnésium et sa température optimale de croissance est d'environ de 42°C. Cette bactérie a un rôle essentiel dans le développement des qualités organoleptiques et hygiénique du yaourt. [127]

Ces deux bactéries lactiques tolèrent de petites quantités d'oxygène. Ceci peut être probablement relié au peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) qui est produit dans les cellules en présence d'air. Le système le plus efficace pour éliminer le peroxyde d'hydrogène est l'utilisation d'une enzyme, la catalase, dont les bactéries lactiques sont déficientes. Ces dernières possèdent plutôt une peroxydase (pseudo catalase) qui est moins efficace que la catalase. Comme les bactéries lactiques n'éliminent pas facilement le peroxyde, elles sont dites microaérophiles. [128]

V.2 La flore d'altération et pathogène du yaourt

V.2.1 La flore totale aérobie mésophile

Il s'agit de l'ensemble des micro-organismes (pathogène ou d'altération variés) capables de se multiplier en aérobie à des températures optimales de croissance comprises entre 20°C et 45°C. Le dénombrement de la flore totale aérobie mésophile reste la meilleure méthode permettant d'estimer l'indice de salubrité et de qualité des aliments dans le contrôle industriel. Un aliment dont la flore totale est trop élevée montrera de mauvaises conditions de conservation et sera considéré comme impropre à la consommation. [129]

V.2.2 Les coliformes totaux et fécaux

Selon la norme ISO 4831 de Juillet 1991, le terme coliforme correspond à des micro-organismes en bâtonnets, non sporulés, Gram négatif, oxydase négative, aéro-anaérobies facultatives. Leur température de croissance est de 37°C.

On entend par le terme "coliformes thermotolérants" (coliformes fécaux), l'ensemble des coliformes fermentant le lactose avec production de gaz à 44°C. Ils sont des micro-organismes indicateurs d'une pollution d'origine fécale humaine ou animale. [130]

V.2.3 *Staphylococcus aureus*

Les bactéries du genre *Staphylococcus* appartiennent à la famille des *Staphylococcaceae*, elles sont des coques à Gram positif, immobiles, non sporulés, catalase positive et oxydase négative, leur température optimale de croissance est de 37°C. L'espèce *Staphylococcus aureus* doit être recherchée dans la majorité des produits laitiers. Le pouvoir pathogène de *Staphylococcus aureus* est dû à des toxines (hémolysine, leucocidines et entérotoxines) causant des intoxications alimentaires. Donc leur recherche permet de savoir si le produit alimentaire présente un risque ou non pour le consommateur. [131][132][116]

V.2.4 Les Salmonelles

Le genre *Salmonella*, qui appartient à la famille des *Enterobacteriaceae* est caractérisé par des bacilles à coloration de Gram négative, non sporulé, la plupart du temps doués d'une mobilité grâce à des flagelles péritriches (à l'exception de *Salmonella gallinarum*). Ils sont aéro-anaérobies facultatifs, fermentent le glucose en acide et produisent du gaz à partir du glucose (sauf *Salmonella typhi*), elles sont catalase positive et oxydase négative. Elles provoquent des toxi-infections alimentaires, elles sont responsables des salmonelloses. [132]

V.2.5 *Clostridium* sulfito-réducteurs

Ils font partie de la famille des *Clostridiaceae*, Gram positif anaérobies stricts et catalase négative, leur présence dans l'aliment est un indicateur de contamination fécale éventuellement ancienne. Leur présence dans les produits laitiers cause des intoxications alimentaires. [130]

V.2.6 Les levures et moisissures

La présence de levures à la surface des yaourts sont l'indice d'une pollution qui déprécie l'aspect et le goût des produits. [134]

Partie
expérimentale

Matériel
Et
méthodes

I. Présentation du lieu de travail

Notre travail a été effectué au niveau de laboratoire de zoologie de la faculté des sciences de la nature et de la vie de l'Université frères Mentouri- Constantine, dans lesquels nous avons :

- Caractériser morphologiquement et dénombrer les bactéries lactiques du yaourt.
- Tester l'effet inhibiteur des bactéries lactiques de quatre marques du yaourt vis-à-vis quelques souches des bactéries pathogènes.

II. Matériels

II.1 Matériels biologiques

II.1.1 Produits laitiers

II.1.1.1 Yaourt

➤ Echantillonnage de yaourt

Pour l'étude des bactéries du yaourt, nous avons choisi quatre échantillons de yaourt fabriqués et commercialisés en Algérie, il s'agit de la firme SOUMMAM de Constantine et de la firme DANONE. (Annexe 4)

- Nature « SOUMMAM »
- Acti+ « SOUMMAM »
- FORT « SOUMMAM »
- Yaoumi « DANONE » de Tizi ouazou

Et ceci pour tester l'effet inhibiteur des bactéries du yaourt vis-à-vis quelques bactéries pathogènes.

II.1.1.2 Lait cru de vache

Prélever de la ferme BOUABELLOU Ahmed à Beni Hamidene.

Il s'agit d'étudier l'effet inhibiteur de la flore lactique du lait vis-à-vis les bactéries pathogènes.

II.1.2 Les bactéries pathogènes

Les bactéries pathogènes à testées et leur origine sont citées dans le tableau 6 ci-dessous.

Tableau 6 : Les bactéries pathogènes testées et leur origine.

Les souches pathogènes	origine
<i>Pseudomonas sp.</i>	Laboratoire des analyses microbiologique de l'hôpital pédiatrique El Mansourah.
<i>Bacillus sp.</i>	
<i>Escherichia coli</i>	
<i>Enterobacter sp.</i>	
<i>Staphylococcus aureus</i>	

Ces souches sont purifiées et conservées sur gélose nutritive inclinée à 4°C.

II.2 Le Matériel

Le matériel, les milieux de culture, d'isolement et d'identification et les réactifs utilisés sont cités dans le tableau 7.

Tableau 7 : Matériel, milieux réactifs utilisés

Appareils et matériel	Petit matériel	Milieux d'isolement et d'identification et réactifs
Bain Marie MEMMERT	Tubes à essai	L'eau oxygénée (H ₂ O ₂)
Balance	boîtes de pétri	Ethanol
Autoclave SYSTEC	Pipettes graduées (10ml)	L'eau physiologique stérile
pH HANNA	pipettes pasteurs	Les réactifs de la coloration de Gram 'Cristal violet, lugol, l'alcool 95% et la fuschine'
Plaques chauffantes FISHER SCIENTIFIC	Micropipettes à 100µl et 1000µL	
Vortex VELP	Portoirs	Eau distillée
Réfrigérateur FRIGOR	Bec bunsen	Bouillon nitrate
Microscope optique TOPIC	Ecouillons stériles	Bouillon nutritif
Four Pasteur PROLABO	Embouts stériles	Disques d'oxydase
Etuves (37°C et 44°C) MEMMMERT	Anse de platine	Disques d'antibiotique
	Entonnoirs	Gélose nutritive inclinée
	Flacons	Gélose MRS
	Béchers	Gélose M17
	Lames	Gélose BCP
	lamelles	Gélose CHAPMAN

III. Méthodes

III.1 Etude morphologique

III.1.1 Examen microscopique

Pour déterminer l'aspect morphologique, nous avons réalisés la coloration de Gram pour les quatre types de yaourt étudiés. (Annexe 02)

III.1.2 Examen macroscopique

➤ Préparation de la solution mère

Pour la préparation de la solution mère, 10 g de l'échantillon est transversés dans un flacon contenant 100 ml d'eau physiologique stérile, le mélange est ensuite agité au vortex.

➤ Préparation des dilutions décimales

La dilution est un processus consiste à réduire la concentration d'une substance dans une solution.

Pour faire la première dilution 10^{-1} , 1 ml de la solution mère est mis dans un tube contenant 9 ml d'eau physiologique stérile, le mélange est agité au vortex.

On effectue en suite, des dilutions décimales jusqu'à la dilution 10^{-7} . (Figure 4)

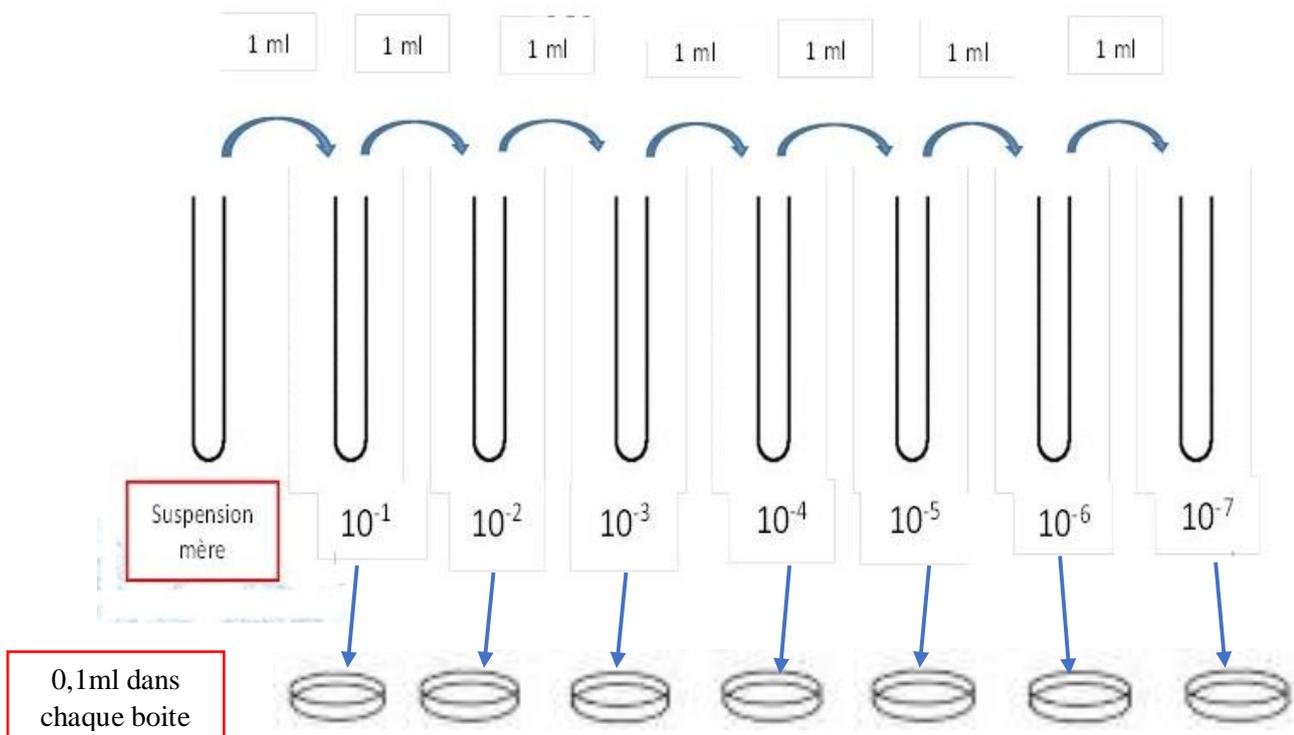


Figure 4 : Schéma représentant la réalisation des dilutions décimales.

➤ **Ensemencement**

0,1 ml de chaque dilution est ensemencé sur différents milieux de culture spécifiques aux bactéries lactiques : le milieu MRS (Man Rogosa Sharp) solide spécifique pour les lactobacilles et le milieu M17 spécifique aux streptocoques.

L'ensemencement se fait dans la masse et l'incubation à 44°C pendant 4 à 5 jours.

III.2 Activité inhibitrice (Interaction bactéries lactiques / bactéries pathogènes)

➤ **Préparation des précultures des bactéries tests (pathogènes)**

Les bactéries pathogènes sont initialement cultivées dans leurs milieux spécifiques :

Pseudomonas sp, *Escherichia coli* et *Enterobacter sp* sont ensemencées sur milieu BCP, le *Staphylococcus aureus* sur milieu Chapman et *Bacillus sp.* sur milieu gélose nutritif.

Les boîtes sont alors incubées à 37°C pendant 24H.

➤ **Détection de l'activité inhibitrice des bactéries lactiques**

L'activité inhibitrice des bactéries lactiques du lait cru de vache et de quatre yaourts différents a été testée pour chaque bactérie pathogène, comme le montre la figure 5.

10 ml du lait sont transvasés dans deux tubes stériles.

Tube 1 : l'ajout de 0,1 ml de suspension de bactéries pathogène.

Tube 2 : l'addition d'une spatule de yaourt et 0,1 ml de suspension de bactéries pathogène.

Ensuite on mesure le pH initial du lait.

On prélève 1 ml du produit obtenu dans les tubes 1 et 2 après homogénéisation au vortex et on réalise les dilutions jusqu'à 10^{-4} .

On étale 0,1 ml à partir des dilutions 10^{-1} jusqu'à 10^{-4} sur le milieu spécifique pour chaque bactérie pathogène.

Après incubation des tubes à 37°C pendant 24H, l'observation de deux tubes et la mesure du pH à l'aide d'un papier pH sont réalisées.

Ensuite, on agite les deux tubes, et on prélève l'équivalent d'un gramme de chaque tube et on réalise les dilutions jusqu'à 10^{-4} .

0,1 ml à partir de chaque dilution est ensemencé en surface sur différents milieux de culture BCP, Chapman et MRS ; après incubation à 37°C pendant 48H, l'observation des boîtes et le dénombrement des colonies obtenues sont réalisés.

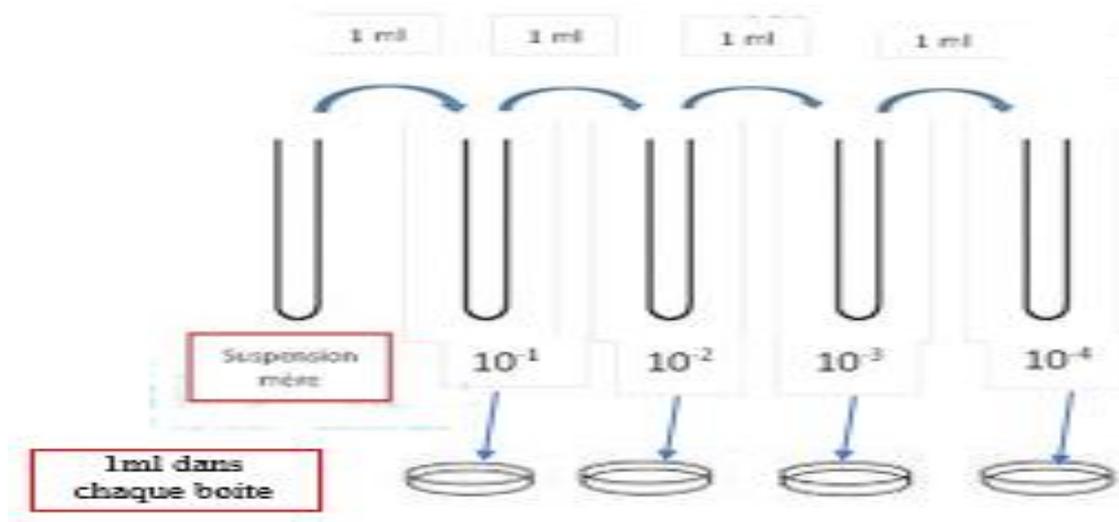


Figure 5 : Schéma des dilutions décimales et de dénombrement

III.3 Antibiogramme des bactéries pathogènes

L'antibiogramme permet d'étudier la sensibilité des souches à tester vis-à-vis des antibiotiques. Cette sensibilité a été testée par la méthode de diffusion (méthode de disques) préconisées par le CLSI (Clinical Laboratory Standards Institute) sur milieu Muller-Hinton en utilisant plusieurs antibiotiques. Les boîtes sontensemencées par une suspension bactérienne préparée dans l'eau physiologique stérile à partir d'une culture jeune de 18H et pure sur milieu d'isolement approprié ; la densité de l'inoculum est ajustée avec une suspension calibrée à 0,5 MF ou à une D.O. de 0,08 à 0,10 lue à 625 nm contenant environ 10^8 bactéries par ml.

L'ensemencement est réalisé sur gélose Muller-Hinton par écouvillonnage sur lequel sont disposés les disques d'antibiotiques. Les boîtes sont laissées sur paillasse pendant 15 minutes. L'incubation s'effectue à 37°C pendant 24 heures. La lecture des résultats s'effectue par la mesure avec précision des diamètres de la zone d'inhibition apparue à l'aide d'un pied à coulisse ou une règle.

Les diamètres des zones d'inhibition mesurés seront comparés aux diamètres critiques donnés par le CLSI afin de classer la bactérie dans l'une des catégories résistante (R), sensible (S) et intermédiaire (I). (Annexe 3)

Résultats
Et
discussion

III. Résultats et discussion

III .1 Etude morphologique

➤ L'examen microscopique

Le yaourt « Nature » : l'observation microscopique (la coloration de Gram) a montré la présence des bacilles longs et des coques à Gram positif, isolées ou disposées en chainettes. (Figure 6)

Les yaourts « Soummam » et « Danone » : l'observation microscopique a montré la présence seulement des coques à Gram positif disposés en paire ou en chainettes. (Figure 7, 8)

Par contre pour le yaourt « Acti + » la coloration de Gram a révélé la présence des bifides (bacilles polymorphes) et des coques à Gram positif isolées. (Figure 9)

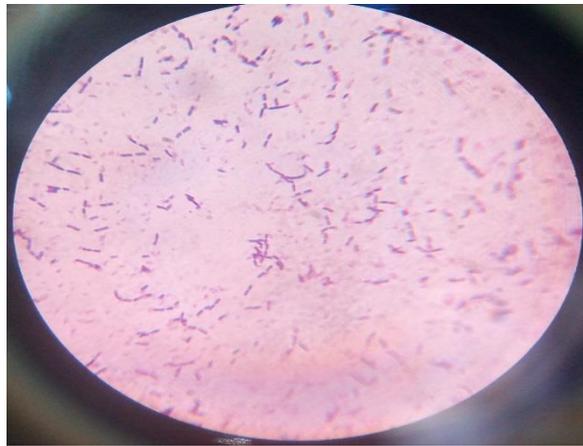


Figure 6 : Coloration de Gram du yaourt Nature (G x100)



Figure 7 : Coloration de Gram du yaourt Soummam (G x100)

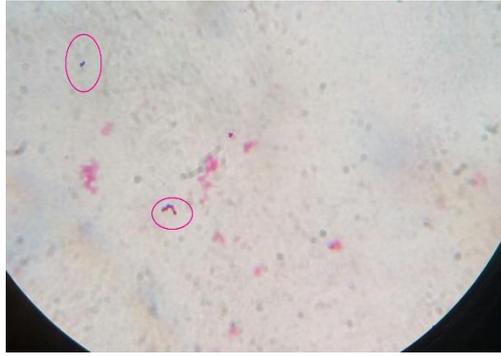


Figure 8 : Coloration de Gram du yaourt Danone (G x100)

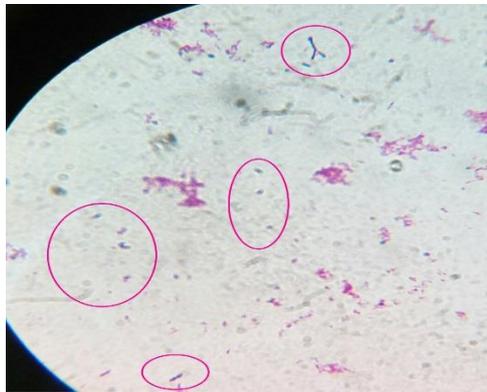


Figure 9 : Coloration de Gram du yaourt Acti + (G x100)

➤ **L'examen macroscopique**

L'observation macroscopique des colonies de *Streptococcus thermophilus* apparues sur milieu M17 a montré des colonies de couleur blanchâtre, crème à jaune, de forme circulaire ou lenticulaire avec un contour régulier ou irrégulier. (Figure 10)

L'observation macroscopique des colonies de *Lactobacillus bulgaricus* apparues sur milieu MRS a montré des colonies de couleur blanchâtre, de formes rondes, à contour régulier. (Figure 11)

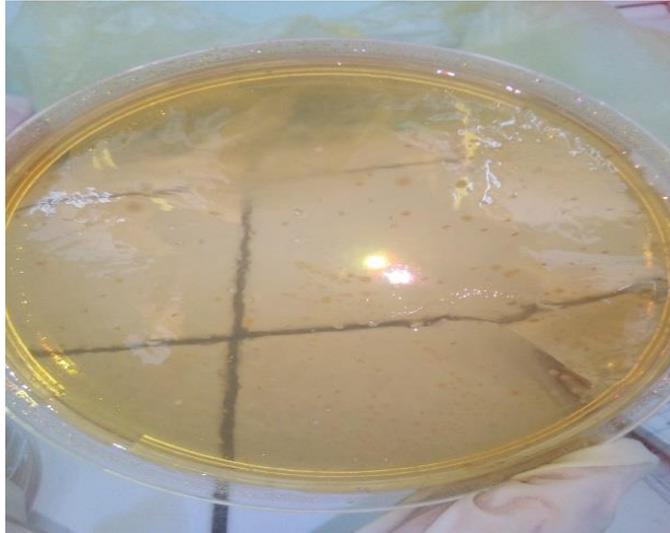


Figure 10 : Isolement des colonies *Streptococcus thermophilus* sur milieu M17

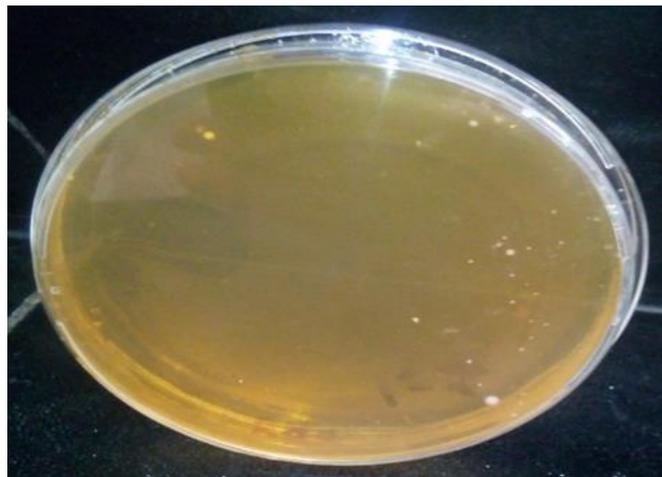


Figure 11 : Isolement des colonies de de *Lactobacillus bulgaricus* sur milieu MRS

Les résultats récapitulatifs des examens microscopiques et macroscopiques sont résumés dans le tableau 9 ci-dessous :

Tableau 9 : Caractères morphologiques de *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus*.

Souche lactique	Tests étudiés	<i>Streptococcus thermophilus</i>	<i>Lactobacillus bulgaricus</i>
Etude morphologique	Aspect macroscopique	Colonies rondes ou lenticulaires de couleur blanche crème	Petites colonies identiques de couleur blanche crème.
	Aspect microscopique	Des coques Gram positif (+) groupés en paires ou en chaînes	Des bacilles Gram positif (+) groupés en paires ou en chaînes.

III.2 Dénombrement des bactéries lactique isolées de yaourt

Le dénombrement des colonies obtenus sur le milieu MRS spécifique aux *Lactobacillus bulgaricus* et M17 spécifique aux *Streptococcus thermophilus* après incubation à 44°C a montré que le yaourt Nature contient une charge microbienne importante, notamment en *Streptococcus thermophilus*, le tableau 10 ci-dessous représente le dénombrement des colonies isolées de yaourt Nature.

Tableau 10 : Nombre des colonies sur milieu M17 et MRS dans le yaourt Nature.

	<i>Streptococcus thermophilus</i>	<i>Lactobacillus bulgaricus</i>
Nombre de colonies	3.10^6 UFC/ml	5.10^2 UFC/ml

Constatation :

Tous les yaourts testés contiennent des streptocoques sauf le yaourt Nature qui contient les streptocoques et les lactobacilles à des proportions variables avec un ratio de 6 : 1.

Après incubation des boîtes nous avons calculés le nombre de colonies UFC en appliquant la formule suivante :

$$N = \frac{\sum C}{(n_1 + n_2) \cdot d}$$

$\sum C$: est la somme des colonies comptées sur les boîtes retenues (30 à 300).

n_1 : est le nombre de boîtes comptées à la dilution la plus faible.

n_2 : est le nombre de boîtes comptées à la dilution la plus élevée.

d : est la valeur correspondante à la dilution à partir de laquelle les premiers dénombrements ont été retenus.

N : la concentration cellulaire exprimée en UFC/ml Unité Formant colonie.

III.3 L'effet inhibiteur des bactéries lactique du lait et du yaourt

➤ La mesure du pH du lait

La valeur du pH du lait cru de vache mesurée est de 6,8 avant l'ajout de la suspension bactérienne.

➤ Interaction bactéries lactiques bactéries pathogènes

L'évaluation du pouvoir inhibiteur des bactéries lactiques a été étudiée vis-à-vis cinq souches pathogènes à savoir *Escherichia coli*, *Pseudomonas sp.*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus sp.* et *Enterobacter sp.*

Après incubation à 37°C pendant 24H, les valeurs du pH mesurées des tubes 1 et 2 sont de 4,5 et 4,2 respectivement.

Les résultats de l'observation macroscopique des tubes après ensemencement cités dans le tableau 11.

Tableau 11 : Résultats de l'observation des tubes 1 et 2 après incubation.

		Bactéries				
		<i>E. coli</i>	<i>Pseudomonas sp.</i>	<i>S. aureus</i>	<i>Bacillus sp.</i>	<i>Enterobacter sp.</i>
Observation	Lait	coagulé	Coagulé	coagulé	coagulé	coagulé
	Yaourt	Plus coagulé que le tube de lait				

On a observé que le produit des tubes qui contiennent le lait et le yaourtensemencés par les bactéries pathogènes est plus solide et plus coagulé que le produit des tubes qui contiennent le lait seulementensemencer par les bactéries pathogènes.

Les résultats de l'observation des boitesensemencées par à partir des tube 1 et 2 avant incubation et le dénombrement des colonies obtenues sont représentés dans le tableau 12.

Tableau 12 : Dénombrement des colonies des bactéries pathogènes avant incubation des tubes 1et 2.

Bactéries pathogènes	<i>E. coli</i>	<i>Pseudomonas sp.</i>	<i>S. aureus</i>	<i>Bacillus sp.</i>	<i>Enterobacter sp.</i>
Nombre de colonies en UFC/ml	> 300	> 300	> 300	> 300	> 300

Les résultats de l'observation des boitesensemencées par le produit obtenu après incubation des tubes 1 et 2 et le dénombrement des colonies obtenues sont représentés dans le tableau 13 ci-dessous.

Tableau 13 : Dénombrement des colonies des bactéries pathogènes après incubation des tubes 1 et 2

		Dilution	Bactéries				
			<i>E. coli</i>	<i>Pseudomonas sp.</i>	<i>S. aureus</i>	<i>Bacillus sp.</i>	<i>Enterobacter sp.</i>
Tube 1	Lait	10 ⁻¹	> 300	> 300	0	0	> 300
		10 ⁻²	> 300	> 300	0	0	> 300
		10 ⁻³	0	> 300	0	0	> 300
		10 ⁻⁴	0	0	0	0	> 300
Tube 2 « Yaourt »	Nature	10 ⁻¹	> 300	> 300	0	0	> 300
		10 ⁻²	> 300	> 300	0	0	> 300
		10 ⁻³	> 300	0	0	0	> 300
		10 ⁻⁴	> 300	0	0	0	> 300
	FORT	10 ⁻¹	> 300	0	0	0	> 300
		10 ⁻²	> 300	0	0	0	> 300
		10 ⁻³	> 300	0	0	0	> 300
		10 ⁻⁴	> 300	0	0	0	> 300
	ACTI+	10 ⁻¹	> 300	0	0	0	> 300
		10 ⁻²	0	0	0	0	> 300
		10 ⁻³	0	0	0	0	> 300
		10 ⁻⁴	0	0	0	0	> 300
	DANONE	10 ⁻¹	> 300	0	0	0	> 300
		10 ⁻²	> 300	0	0	0	> 300
		10 ⁻³	0	0	0	0	> 300
		10 ⁻⁴	0	0	0	0	> 300

D'après ces résultats obtenus, on a observé une activité inhibitrice très importante vis-à-vis les bactéries à Gram positif (*Staphylococcus aureus* et *Bacillus sp.*).

Ces résultats indiquent que nos bactéries lactiques sont capables de synthétiser des substances inhibitrices ayant une activité antibactérienne.

On a observé une activité inhibitrice moins importante vis-à-vis *Pseudomonas sp*, traduite par la présence des charges microbiennes dans les boites correspondantes aux dilutions du lait et de yaourt FORT.

Par contre, on a remarqué l'absence de cette activité inhibitrice vis-à-vis *Enterobacter sp* et *E. coli*, ce qui traduit par la présence des charges microbiennes très importantes dans tous les boites

VI. L'antibiogramme

Le tableau ci-dessous (tableau 14) représente les résultats d'inhibition sur milieu solide Muller-Hinton de nos souches pathogènes vis-à-vis différents antibiotiques testés.

Les diamètres des zones d'inhibition mesurés seront comparés aux diamètres critiques donnés par le CLSI afin de classer la bactérie dans l'une des catégories résistant (R) sensible (S) intermédiaire (I).

Tableau 14 : Antibiogramme des bactéries pathogènes testées.

Antibiotique	<i>E. coli</i>	<i>Pseudomonas sp.</i>	<i>S. aureus</i>	<i>Bacillus sp.</i>	<i>Enterobacter sp.</i>
AMX	R	I	R	R	R
FOX	S	S	S	S	R
CTX	S	S	S	R	R
KZ	I	S	R	S	R
PI	R	I	S	S	R
AMC	R	I	S	I	R
HLG	S	S	S	S	R
c	S	S	S	R	R
SXT	S	S	S	I	R
PA	S	S	S	S	S
PEF	I	S	I	I	R
NO	I	I	I	I	R

R : résistance

I : intermédiaire

S : sensible

D'après les résultats de l'antibiogramme, on a remarqué :

Une résistance chez *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus sp.* et *Enterobacter sp.*, par contre une résistance intermédiaire chez *Pseudomonas sp.* vis-à-vis l'antibiotique amoxicilline (AMX).

Une résistance chez *Enterobacter sp.*, par contre une sensibilité chez *E. coli*, *Pseudomonas sp.*, *Staphylococcus aureus* et *Bacillus sp.* vis-à-vis l'antibiotique céfoxitine (FOX).

Une résistance chez *Bacillus sp.* et *Enterobacter sp.* par contre une sensibilité chez *E. coli*, *Pseudomonas sp.* et *Staphylococcus aureus* vis-à-vis l'antibiotique céfotaxime (CTX).

Une résistance chez *Enterobacter sp.* et *Staphylococcus aureus*, une résistance intermédiaire chez *E. coli*, par contre une sensibilité chez *Pseudomonas sp.* et *Bacillus sp.* vis-à-vis l'antibiotique cefazoline (KZ).

Une résistance chez *E. coli*, *Bacillus sp.* et *Enterobacter sp.* et une résistance intermédiaire de *Pseudomonas sp.*, *Staphylococcus aureus* vis-à-vis l'antibiotique pipéracilline (PI).

Une résistance chez *E. coli* et *Enterobacter sp.* une résistance intermédiaire de *Pseudomonas sp.*, *Bacillus sp.* par contre une sensibilité chez *Staphylococcus aureus* vis-à-vis

l'antibiotique amoxicilline + acide clavulanique (AMC).

Une résistance chez *Enterobacter sp.*, une sensibilité chez *E. coli*, *Pseudomonas sp.*, *Staphylococcus aureus* et *Bacillus sp.* vis-à-vis l'antibiotique gentamicine (HLG).

Une résistance chez *Bacillus sp.* et *Enterobacter sp.* par contre une sensibilité chez *E. coli*, *Pseudomonas sp.* et *Staphylococcus aureus* vis-à-vis l'antibiotique chloramphénicol (C).

Une résistance chez *Enterobacter sp.* et une résistance intermédiaire chez *Bacillus sp.*, par contre une sensibilité chez *E. coli*, *Pseudomonas sp.* et *Staphylococcus aureus* vis-à-vis l'antibiotique triméthoprime + sulfaméthoxazole (SXT).

Une sensibilité de toutes les souches testées vis-à-vis l'antibiotique Acide sipémidique (PA).

Une résistance chez *Enterobacter sp.*, une résistance intermédiaire chez *E. coli*, *Staphylococcus aureus* et *Bacillus sp.* par contre une sensibilité chez *Pseudomonas sp.* vis-à-vis l'antibiotique péfloxacin (PEF).

Une résistance chez *Enterobacter sp.*, par contre une résistance intermédiaire chez *E. coli*, *Pseudomonas sp.*, *Staphylococcus aureus* et *Bacillus sp.* vis-à-vis l'antibiotique nitroxoline (NO).

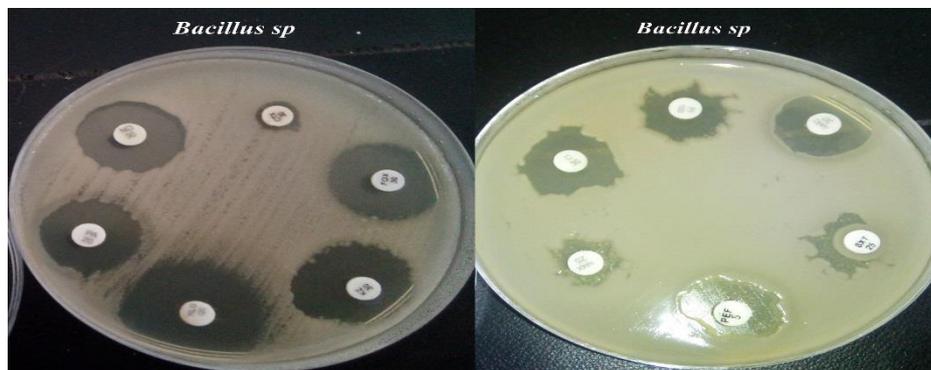


Figure 12 : L'antibiogramme de *Bacillus sp.*



Figure 13 : L'antibiogramme d'*E. coli*.

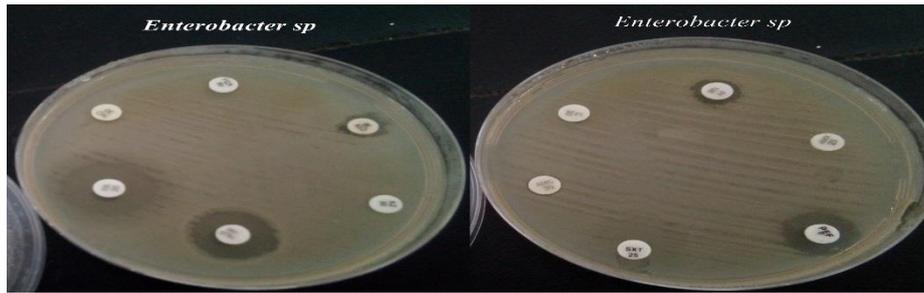


Figure 14 : L'antibiogramme d'*Enterobacter sp.*

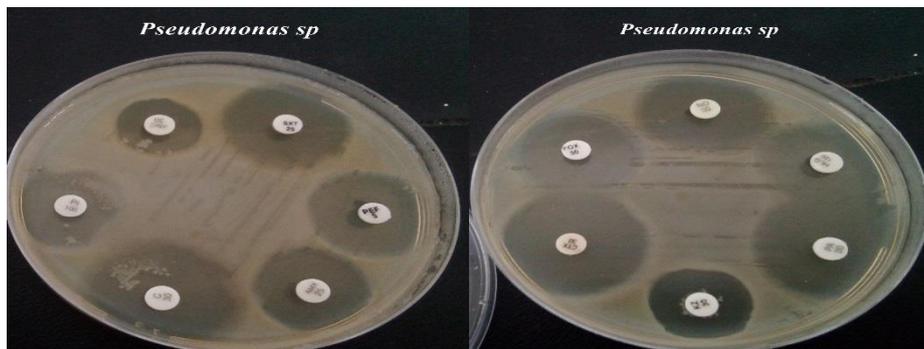


Figure 15 : L'antibiogramme de *Pseudomonas sp.*

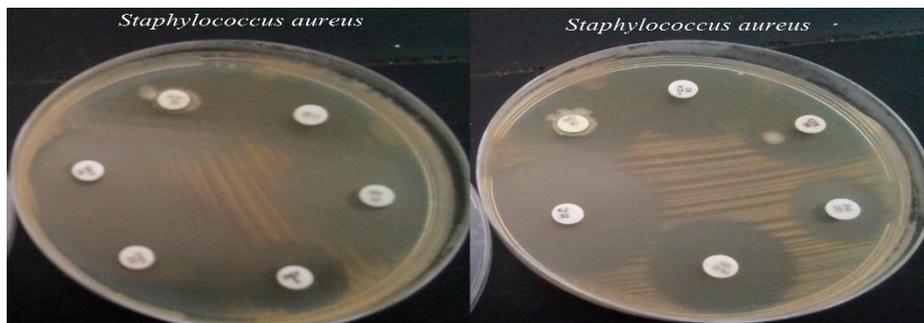


Figure 16 : L'antibiogramme de *Staphylococcus aureus.*

V. Discussion

V.1 Etude morphologique

D'après l'observation macroscopique faite sur les colonies de *Lactobacillus sp* développée sur milieu MRS solide, on a remarqué que les colonies sont de couleurs blanches, petites, bien isolées, et l'observation sous microscope après coloration de Gram, indique qu'il s'agit de bacilles bien apparents Gram positif. Ces résultats sont en accord aux travaux [169] [160]

Selon l'observation macroscopique faite sur les colonies de *Streptococcus* développée sur milieu M17, elle a démontré que les streptocoques sont des petites colonies à contour régulier de couleur blanchâtre, lisses et légèrement bombées, microscopiquement, ce sont des Gram positives, de forme cocci sphérique, associées en paires, groupées en chaînettes plus aux moins longues. [161]

V.2 Dénombrement des bactéries lactique de yaourt

Les produits fermentés renferment plusieurs souches probiotiques, les plus dominantes sont les *Lactobacilles*, les *Streptocoques* et les *Bifidobacterium*. [170] [171] [162]

Les milieux utilisés pour l'isolement et le dénombrement des bactéries de yaourt sont spécifiques, adoptés aux exigences nutritionnels de ces bactéries, le MRS pour les Lactobacilles et le M17 pour les Streptocoques.

Les résultats du dénombrement des bactéries de yaourt obtenus montrent la prédominante des Streptocoques par rapport aux Lactobacilles avec des valeurs de l'ordre de 3.10^6 UFC/ml pour Streptocoques et de 5.10^2 UFC/ml pour les Lactobacilles.

La variabilité des résultats de dénombrement peut être expliquée par la nature du produit et la sélectivité des milieux utilisés MRS et M17 pour ce type de bactéries. [163]

V.3 Effet inhibiteur

Ces dernières années les bactériocines produites par les bactéries lactiques ont attiré une grande attention due à leur application dans les aliments comme conservateur contre certain micro-organismes indésirables. [164]

Dans la présente étude, afin de vérifier les propriétés antimicrobiennes des bactéries lactiques du yaourt, nous avons mis en évidence une interaction microbienne entre bactéries pathogènes / flore lactique du lait cru de vache et du yaourt.

Il existe divers mécanismes d'inhibition des micro-organismes entre eux. Si l'inhibition intervient par la production de substances inhibitrices et si un seul des deux micro-organismes

est inhibé par l'autre, il convient de parler d'amensalisme. En revanche, si les mécanismes d'inhibition sont réciproques, il s'agit alors d'un phénomène de compétition. Cette compétition peut s'exercer vis-à-vis de l'espace disponible (inhibition de contact) et/ou de la disponibilité en substrats. L'antagonisme désigne une lutte réciproque des deux populations par la production de molécules inhibitrice, généralement spécifiques. [182] [183]

D'après nos résultats obtenus, l'inhibition des bactéries pathogènes par l'activité inhibitrice des bactéries du yaourt est très importante et elle indique que nos bactéries sont capables de synthétiser des substances inhibitrices ayant une activité antibactérienne inhibent les bactéries notamment les bactéries à Gram positif (*Staphylococcus aureus* et *Bacillus sp.*). Ces résultats sont en accord aux travaux d'Onda *et al.*, [165] Aslam et Qazi [166] et Dubois *et al.*, [167].

L'effet inhibiteur des lactobacilles [172] [168] peut avoir deux origines : la première est la production d'acides organiques ; en effet, les lactobacilles sont connus pour une grande résistance aux pH acides (jusqu'à un pH voisin de 3,5) contrairement aux autres genres de bactéries lactiques qui sont plus sensibles. [173] [174] La deuxième est que les lactobacilles produisent une autre substance inhibitrice (type bactériocine) active sur de nombreuses espèces. [175]

Ceci suggère que les propriétés antimicrobiennes des bactéries lactiques fonctionnelles permettent de réduire le nombre d'autres micro-organismes indésirables dans les produits laitiers ainsi d'effectuer un rôle essentiel dans la préservation de produits destinés à la consommation humaine. [177]

L'activité inhibitrice des bactéries lactiques sur les bactéries pathogènes testées à Gram négatif est modérée, elle est moins importante de celle des bactéries à Gram positif ce qui montre un effet bactériostatique et/ou bactéricide, ceci est remarqué chez *Pseudomonas sp.* Ces résultats sont en accord avec ceux de Desmazeaud [7] et Savdogo et Traore [178]. Par contre ils ne correspondent plus les travaux de Mameche [18].

Une absence définitive vis-à-vis d'*Enterobacter sp.* et d'*E. coli*, traduite par la présence des charges microbiennes importantes dans tous les boîtes. Ce qui est contradictoire aux résultats obtenus par Belarbi [179].

Ces résultats peuvent indiquer que nos bactéries lactiques exercent uniquement une activité inhibitrice vis-à-vis des bactéries taxonomiquement proches de la souche productrice. Ces résultats se rapprochent de ceux cités dans la littérature Itoh *et al.*, [180] Tahara et Kanatani. [181]

➤ **Le pH**

D'après nos résultats, la diminution du pH après l'incubation des tubes 1 et 2 indique la présence d'un effet acidifiant en produisant des acides organiques qui sont les facteurs d'inhibition. [193] [194] [195]

L'acide lactique et acétique sont produits pendant la fermentation des hexoses par les lactobacilles et bifidobactéries. Ces acides organiques peuvent diffuser passivement à travers la membrane bactérienne sous leur forme non dissociée, ils acidifient le cytoplasme après dissociation et inhibent l'activité enzymatique cellulaire des pathogènes acidosensibles. Cette diminution du pH peut donc affecter la viabilité des pathogènes bactériens. [190] [191] [192]

V.4 Antibiogramme

La résistance bactérienne est sans doute un des gros défis que la médecine moderne doit surmonter. Les infections causées par des pathogènes résistants augmentent le taux de maladies. *S. aureus* est devenue de plus en plus résistante aux antibiotiques ; en effet, la résistance à la pénicilline a rapidement atteint les 90% des souches. Ses isolats résistants à la méthicilline (SARM) sont résistants à toutes les pénicillines disponibles et autres β -lactamines. [184]

Il est important de noter que plusieurs bactériocines notamment la lacticine 3147, la mersacidine et la leucocine ont montré une activité efficace contre des souches bactériennes résistantes aux antibiotiques telles que les entérocoques vancomycine résistants et les *Staphylococcus aureus* résistants à la méthicilline. [176]

La résistance des entérobactéries aux antibiotiques a été signalée par plusieurs auteurs Marshall *et al.*, [187] Manges *et al.*, [188] Guenot *et al.*, [189].

L'interaction positive, entre les bactéries lactiques et entérobactéries, indique l'inhibition de la croissance des entérobactéries, et elle montre une activité d'inhibitrice élevée, qui est traduite par l'apparition des halos d'inhibition dans les souches isolées *E. coli*, *S. typhi* et *K. oxytoca*. [196]

En revanche, les métabolites antimicrobiens produits par les bactéries lactiques ont une activité inhibitrice importante vis-à-vis les Gram négatifs, et les entérobactéries particulièrement. [179]

Conclusion
et
perspectives

Conclusion

Les objectifs de ce travail étaient d'une part, la caractérisation morphologique et le dénombrement des bactéries lactiques du yaourt et d'autre part la vérification de l'effet inhibiteur de ces bactéries lactiques vis-à-vis quelques bactéries pathogènes.

La caractérisation morphologique est réalisée par un examen microscopique qui montre des colonies à Gram positif et par un examen macroscopique qui révéla l'apparition des colonies rondes ou lenticulaires de couleur blanche crème sur milieu M17 chez *Streptococcus thermophilus* et des petites colonies identiques de couleur blanche crème sur milieu MRS chez *Lactobacillus bulgaricus* à partir du yaourt Nature. Les streptocoques et les lactobacilles sont présentés à des proportions variables avec un ratio de 6 : 1.

L'étude de l'effet inhibiteur des bactéries lactiques de quatre types de yaourts DANONE, ACTI+, FORT et NATURE et du lait montre une activité antimicrobienne importante vis-à-vis les bactéries pathogènes à Gram positif (*Staphylococcus aureus* et *Bacillus sp.*) indique que nos bactéries lactiques sont capables de synthétiser des substances inhibitrices ayant une activité antibactérienne. Par contre une activité modérée contre les bactéries à Gram négatif (*Escherichia coli*, *Pseudomonas sp.* et *Enterobacter sp.*) indique une activité antimicrobienne faible ou absente définitivement contre ces bactéries pathogènes. La comparaison des résultats obtenus dans ce travail avec ceux des autres travaux similaires permet de conclure que le yaourt est efficace pour traiter certaines infections bactériennes surtout celles causées par les bactéries à Gram positif.

Les perspectives de la recherche :

Isoler les bactéries lactiques et tester l'effet antagoniste vis-à-vis de germes pathogènes.

Identifier la nature de l'agent inhibiteur.

Tester les bactéries pathogènes vis-à-vis d'une large gamme d'antibiotiques utilisés en thérapeutique.

*Références
bibliographiques*

Référence bibliographiques

- [1] **Druider .D ; Prévost. H. 2009.** Bactéries lactiques : physiologique, métabolisme, génomique et applications industrielles Edition : Economica
- [2] **Poulain H. 1994.** Evaluation de la préparation commerciale des ferments lactiques les bactéries lactiques T1. Aspects fondamentaux et technologiques. Ed. Loriga. Lavoisier: 604 P.
- [3] **Metchnikoff, 1907.** In the prolongation of life: optimistic studies, in: Chalmers M. (Eds.), William Heinemann, London, 1907.
- [4] **Sandine W.E., Radich, P.C., Elliker, P.R. 1972.** Ecology of lactic streptococci. A review. J Milk Dood Technol. 3 : 176-185
- [5] **Carr F.J., Chill D., Maida N., 2002.** The Lactic Acid Bacteria : A Literature Survey. Critical Reviews in microbiology, 28(4):281-370.
- [6] **DJIDEL A. 2007.** Production d'acide lactique par *Lactococcus casei* subsprhamnosus sur jus de datte: cinétique discontinues semi-continues et continues. Thèse de doctorat. Institut National Polytechnologique de Lorraine. France
- [7] **Desmazeaud M., 1983** Comment les bactéries lactiques se comportent elles dans le lait. Technique laitière: 976 : pp11-14.
- [8] **Badis A ; Laouabdia Sellami. N ; Guetarni ; Ouzrout R., 2005.** Caractérisation phénotypiques des bactéries lactiques isolées à partir de lait cru de chèvre de deux populations caprines locales « arabia et kabyle ». Sciences & technologie C – N° 23 pp 30-37
- [9] **Ho T.N.T., Tuan N.N., Deschamps A., Caubet R. 2007.** Isolation and identification of lactic acid bacteria (LAB) of the Nem Chua fermented meat product of Vietnam. Int. Workshop on Food Safety and Processing Technology. 134-142.
- [10] **Kandler O., Weiss N., 1986.** Genus *Lactobacillus*. In : Bergey's Manual of Systematic Bacteriology., vol 2. P.H.A, Sneath., N.S, Mair., Sharpe, M.E., Holt, J.G (Ed). Williams and Wilkins, Baltimore, M.D.
- [11] **Leveau J.Y. et Bouix M. 1993.** Les levures. Dans : Microbiologie industrielle, les microorganismes d'intérêt industriel. Eds.Tech. et Doc. Lavoisier. Paris, pp : 2-39.
- [12] **Pilet M.F., Magras C., Federigh M. 2005.** Bactéries lactiques. In : bactériologie alimentaire (Federighi M.). 2e Ed., Economica. Paris. 219-240.
- [13] **Vandamme P., Pot B., Gillis M., DeVos P., Kersters K. and Swings J. 1996.** Polyphasic taxonomy, a consensus approach to bacterial systematics. Microbiol. Rev. 60: 407.

- [14] **Makhloufi K. M. 2012.** Caractérisation d'une bactériocine produite par une bactérie lactique *Leuconostoc pseudomesenteroides* isolée du boza. Thèse de doctorat de l'université pierre et marie curie. Spécialité : microbiologie, biochimie (école doctorale iviv)
- [15] **LARPENT J.P., 1997.** Microbiologie alimentaire. *Tec & doc, Lavoisier*. Paris. 10-72.
- [16] **Bourgeois C. M., Larpent J.P. 1996.** Aliments fermentés et fermentation alimentaire, Microbiologie alimentaires. Tome 2. Ed © Technique Documentation Lavoisier, Paris.
- [17] **Lourent Federighi M., Jouve J L., 1998.** Manuel de bactériologies alimentaire, polytechnica. Paris : 308p
- [18] **Mameche Doumandji A. 2008.** Purification et caractérisation de bactériocine produite par des bactéries lactiques autochtones isolées, thèse : sciences alimentaires, institut national agronomique, Algérie, p 14.
- [19] **Dellaglio F., De Roissard H., Torriani S., Curk M.C. ET JANSSENS D., 1994.** Caractéristiques générales des bactéries lactiques. *In : Bactéries lactiques (De Roissard H. et Luquet F.M.). Lorica, Uriage. 1 : 25-116.*
- [20] **ZHANG H. and CAI Y., 2014.** Lactic Acid Bacteria Fundamentals and Practice. *Springer Dordrecht Heidelberg. New York London. 536p.*
- [21] **De Roissart H.B. 1986.** Les bactéries lactiques. Dans : le lait et les produits laitiers.
- [22] **Eck A et Gillis JC. (2006).** Le fromage. Edition : Tec et Doc, Lavoisier, Paris. Pp 891.
- [23] **Baliarda A. 2003.** Evaluation de la réponse au stress chez les bactéries lactiques appartenant aux genres *Pediococcus* et *Tetragenococcus* approche physiologique et génétique, thèse doctorat, sciences des aliments et nutrition, Université Bordeaux, France, p18.
- [24] **Pissang T. D, 1992.** Contribution à l'étude de la qualité microbiologique des laits et produits laitiers commercialisés au Togo. Thèse : Med. Vet. : Dakar (EISMV) ; 9
- [25] **Stiles, M. and Holzapfel, W. 1997.** Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy. *International Journal of Food Microbiology*, 36, pp: 1-29.
- [27] **Aguirre M, Collins MD 1993.** Lactic acid bacteria and human clinical infection. *J. Appl. Bacteriol.* 75 : 95-107.
- [28] **Desmazeaud M. 1992.** Les bactéries lactiques in Hernier, J., Lenoir, J. et Webert, Les groupes microbiens d'intérêt laitier. Lavoisier. p 9-57.
- [29] **Horvath P., Coute Monvoisin AC., Romero DA., Boyaval P., Fremaux C., Barrangou R. 2009.** Comparative analysis of CRISPR loci in lactic acid bacteria genomes. *Int J Food Microbiol*, vol. 131, p. 62–70

- [30] **Klein G., Pack A., Bonaparte C., Reuter G. 1998.** Taxonomy and physiology of probiotic lactic acid bacteria. *Int. J. Food Microbiol.* 41:103-125.
- [31] **Wood, B. J. B. et W. H. Holzapfel (éditeur) 1995.** The Lactic acid Bacteria vol.2 The genera of Lactic Acid Bacteria, Blackie Academic & Professional London.
- [32] **U. Schillinger et F.K. Luke 1989.** Antibacterial activity of *Lactobacillus sake* isolated from meat. *Appl. Environ. Microbiol.* 55 (1989) 1901–1906.
- [33] **Sneath P.H.A. 2001.** The Archaea and the deeply branching and phototrophic bacteria – Bacterial Nomenclature. In *Bergey's manual of systematic bacteriology*. Garrity G.M., Boone D.R., Castenholz R.W. 2^e ED., 721, 83 - 88
- [34] **Pot B. 2008.** The taxonomy of lactic acid bacteria. In: Corrieu G., and Luquet F.M. (Eds). *Bactéries lactiques. De la génétique aux ferments*. Lavoisier. Paris, France pp 1–152.
- [35] **Loones A. 1994.** Les laits fermentés par les bactéries lactiques. *Bactéries lactiques*. Coord. Lorica edition, Paris, 2: 135-154
- [36] **Lahtinen S., Salminen S., Ouwehand A., Wright A.V. 2011.** Lactic acid bacteria, Microbiological and functional aspects. 4^eme édition. Boca Raton : CRC Press.
- [37] **Krieg, M 2001.** *Bergey's Manual of Systematic bacteriology*. originally published by Williams and Wilkins, Volume 1.)
- [38] **McLeod A., Nyquist O. L., Snipen L., Naterstad K., and Axelsson L. 2008.** Diversity of *Lactobacillus sakei* strains investigated by phenotypic and genotypic methods. *Syst Appl Microbiol.* 31: 393-403
- [39] **Mäkelä, P., Schillinger, U., Korkeala, H., and Holzapfel, W. H. 1992.** Classification ofropy slime-producing lactic acid bacteria based on DNA-DNA homology, and identification of *Lactobacillus sake* and *Leuconostoc amelibiosum* as dominant spoilage organisms in meat products. *International Journal of Food Microbiology.* 16: 167-172
- [40] **Stanckebrandt et Teuber, 1988.** Stanckebrandt E., Teuber M., Molecular taxonomy and phylogenetic position of lactic acid bacteria, *Biochimie* 70 (1988) 317–324
- [41] **Woese, C. R., Kandler, O., and Wheelis, M. L. 1990.** Towards a natural system of organisms: proposal for the domains Archaea, Bacteria, and Eucarya. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 87: 4576-4579.
- [42] **Ludwig, W., Schieffer, W 2008.** *Bergey's Taxonomic outlines-Revised Road map to the Phylum Firmicutes*, Volume 3
- [43] **FEDERIGHI M. 2005.** *Bactériologie alimentaire compendium d'hygiène des aliments*. 2^eme Ed, Economica., paris. P 220-224.

- [44] **Khalid N.M., Marth E.H. 1990.** Lactobacilli, their enzymes and role. In: Ripening and spoilage of cheese. Rev. Dairy Sci. 73: 158-167.
- [45] **Leclerc H., Gaillard F.L., Simonet M. 1994.** Les grands groupes de bactéries. In: Microbiologie générale : la bactérie et le monde microbien. DOIN. Paris. 445.
- [46] **Tamine A.Y. 2002.** Fermented milk : a historical Food with modern application, a review. Eu.J. clinical Nut., 56(4) : S2-S15
- [47] **Haddie J.M. 1986.** Other *streptococci*. In : Bergey's manual of systematic bacteriology (Sneath P.H.A., Mair N.S., Sharpe M.E., Holt J.G.W. et Baltimore W.). 1 : 1070.
- [48] **Roussel, Y., M. Pebay, G. Guedon, J. M. Simonet et B. Decaris 1994.** "Physical and genetic map of *Streptococcus thermophilus* A054." J Bacteriol 176(24): 7413-22.
- [49] **Lamoureux L., 2000.** Exploitation de l'activité β -galactosidase de cultures de bifidobactéries en vue d'enrichir des produits laitiers en galacto-oligosaccharides. *National Library of Canada*. 23-47.
- [50] **Pilet M.F., Madras, C. and Federighi M. 1998.** Manuel de bactériologie alimentaire. *Edition polytechnica, Pp* : 240
- [51] **Hassan A.N., 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.
- [52] **Guiraud J.P. 2003.** Microbiologie Alimentaire. Tec & Doc, Dunod. Paris. 90-292.
- [53] **J.C., Casalta E., Farrokh C., Saïhi A. 2008.** Safety assessment of dairy microorganisms : The *Leuconostoc* genus. Int. J. Food Microbiol. 126: 286-290.
- [54] (<http://www.bacterio.cict.fr/bacdico/aa/tactinobacteria.html>)
- [55] **Felis G.E., Dellaglio F. 2007.** Taxonomy of Lactobacilli and Bifidobacteria. Curr. Issues Intestinal Microbiology, vol. 8, p. 44-61
- [56] **Shah T.L., Casas I.A., Chung T.C. et Dobrogosz W.J. 1988.** Production and isolation of reuterin, a growth inhibitor produced by *Lactobacillus reuteri*. Antimicrob. Agents Chemother. 32: 1854-1858.
- [57] **Matamoros S., 2008.** Caractérisation de bactéries lactiques psychrotrophes en vue de leur utilisation dans la biopréservation des aliments. Étude physiologique et moléculaire des mécanismes d'adaptation au froid. Thèse de Doctorat en Microbiologie. Université de Nantes. 189p.
- [58] **Atlan, D., Béal, C., Champonier-Vergès, M.C., Chapot-Chartier, M.P., Chouayekh, H., Coccagn-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. et Yvon M. 2008.** Métabolisme et ingénierie métabolique. In Corrieu, G. et Luquet, F.M., bactéries lactiques de la génétique aux ferments. *Tec & Doc, Lavoisier* : 271-447.
- [59] **Lahtinem H., Gaillard F L. ET Simonet M., 1994.** Les grands groupes de bactéries. In : Microbiologie générale : la bactérie et le monde microbien. *DOIN*. Paris. 445.
- [60] **Dellaglio F., Botazzi V. and Trovatelli L.D. 1973.** Deoxyribonucleic acid homology and base composition in some thermophilic lactobacilli. *Journal of General Microbiology* 74, 289–297
- [61] **Raynaud S., 2006.** Régulation métabolique et transcriptionnelle de l'auto acidification chez *Lactococcus lactis*. Thèse de doctorat. L'institut national des sciences appliquées de Toulouse : 21p.
- [62] **Loubiere P., Coccagn-Bousquet M. 2009.** Métabolisme des bactéries lactiques: devenir du carbone. Dans Bactéries Lactiques. Physiologie, Métabolisme, Génomique et Applications industrielles. Paris, France: Drider, D. and Prévost, H, p. 29-50.
- [63] **Konings W.N., Lolkema J.S., Bolhuis H., van Veen H.W., Poolman B. et AJMI D. 1994.** Mécanisme du transport des nutriments dans bactéries lactiques In : De Roissart, H. et Luquet, F. M., Bactéries lactiques. *Lorica*, uriage 1 : 209-238.
- [64] **Tompson J ., Gentry-Weeks C.R. 1994.** Métabolisme des sucres par les bactéries lactiques. In : Bactéries lactiques (De Roissart H et Luquet F.M). *Lorica*. Uriage. 1 : 239-290.
- [65] **Mozzi F., Raya R. R., Vignolo G.M. 2010.** Biotechnology of lactic acid bacteria: Novel applications. Blackwell publishing. Singapore. p 3-73
- [66] **Bekal S., Belguesmia, Y., Drider D. et Prevost H. 2009.** Métabolisme des bactéries lactiques : le citrate. In Drider, D. et Prévost, H., Bactéries lactiques : physiologie, métabolisme, génomique et applications industrielles. *Economica* : 51-70.
- [67] **Monnet V. 2009.** Métabolisme des bactéries lactiques : les acides aminés. In Drider, D. et Prévost, H., Bactéries lactiques : physiologie, métabolisme, génomique et applications industrielles. *Economica* : 15-26.
- [68] **Shirai et al., 2001 Shirai K., Guerrero I., Huerta S., Saucedo G., Castillo A.O., Gonzalez R., George M. 2001.** Effect of initial glucose concentration and inoculation level of lactic acid bacteria in shrimp waste ensilage *Enzyme and Microbial Technology*, p. 446– 452.

- [69] **François Z.N., Nour El houda, Florance F.A., Paul M.F., Félicite T.M and El soda, M. 2007.** Biochemical properties of some thermophilic lactic acid bacteria stains from traditional fermented milk relevant to their technological performance as starters cultures *Biotechnology*. 6(1) :14-21.
- [70] **Annikka S. ; T. Mrc. 2007.** Antagonistic activity of *Lactobacillus plantarum* C11: two new two-peptide bacteriocins, plantaricins EF and JK, and the induction factor plantaricin A. *Appl. Environ. Microbiol.* 64: 2269-2272.
- [71] **Wililams P., Pot B., Gillis M., Devos P., Keresters K. ET Swings J., 1996.** Polyphasictaxonomy, a consensus approach to bacterial systematic. *Microbiol. Rev.* 60 : 407.
- [72] **Ogawa, J., Kishino, S., Ando, A., Sugimoto, S., Mihara, K. et Shimizu, S. 2005.** Production of conjugated fatty acids by lactic acid bacteria. *Journal of Bioscience and Bioengineering* : 100(4), 355-364.
- [73] **Kalagridou-Vassiliadou, D. 1984.** Lypolitic activity and heat resistance of extracellular lipase of some Grambacteria. *Milchwiss* 84 : 601-603.
- [74] **Holland, R., Liu, S.Q., Crow, V.L., Delabre, M.L., Lubbers, M., Bennett, M. et Norris, G. 2004.** Esterases of lactic acid bacteria and chees flavor: milk fat hydrolysis vs alcoolisis. *International dairy journal* : 711-718.
- [75] **Scmidet J.L., Tourneur C. et Lenoir J. 1994.** Fonction et choix des bactéries lactiques laitières in « bactéries lactiques ». Vol II. De roissart H. et Luquet F.M. Ed. Lorica, paris, pp37-46.
- [76] **De Roissart, H. et Luquet, F.M. 1994.** Les bactéries lactiques. Uriage, Lorica, France, vol. 1. pp. 1-286
- [77] **Abee, T., Krockel, L., Hill, C., 1995.** Bacteriocins: modes of action and potentials in food preservation and control of food poisoning. *Int J Food Microbiol.* 28:169-185.
- [78] **Hugenholtz J. & Kleerebezem M., 1999.** Metabolic engineering of lactic acid bacteria: overview of the approaches and results of pathway rerouting involved in food fermentations. *Curr. Opin. Biotechnol.*, 10(5), 492-497.
- [79] **Requena T et Buist G. 2000.** *Applied and Environmental Microbiologie*, Aug., Pp: 3174-3179.)
- [80] **Klaenhammer T.R., Azcarate-Peril M.A., Altermann E. and Barrangour., 2007.** The influence of dairy environment on gene expression and substrate utilization in lactic acid bacteria. *The Journal of Nutrition Effects of Probiotics and Prebiotics*, 137: 748S-750.

- [81] **Soomro A.H, Masud, T. and Anwaar, K. 2002.** Role of lactic acid bacteria (LAB) in food preservation and human health. *Pakistan Journal of Nutrition*, 1(1): 20-24, 2004.
- [82] **Garry P F. 20010.** *Procedes De Bio-Preservation.*
- [83] **Yateem A., Balba M T., AL-Surrayai T., Al-Mutairi B. and Al-Daher R., 2008.** Isolation of lactic acid bacteria with probiotic potential from camel milk. *International Journal of Dairy. Science* : 3(4): pp 194-199.
- [84] **Casaburi, A., Di Monaco, R., Cavella, S., Toldra, 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 : 335-347.
- [85] **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: 164-169.
- [86] **Metchnikoff E., 1907.** In the prolongation of life : optimistic studies, in: Chalmers M. (Eds.), William Heinemann, London
- [87] **Salminen S., Wright A V., Ouwehand A., 2004 -** Lactic acid bacteria. Microbiological and functional aspects. Marcel. Dekker. Inc., U.S.A
- [88] **KHAN S.H. and ANSARI F.A., 2007.** Probiotics-The friendly bacteria with market potential in global market. *Pak. J. Pharm. Sci.*, 20(1): 76-82.
- [89] **Sophie DROUAULT et Gérard Corthier, 2000.** Effets des bactéries lactiques ingérées avec des laits fermentés sur la santé. *Veterinary Research, BioMed Central*, 2000, 32 (2), pp.101-117.
- [90] **Mkrtchyan, H., Gibbons, S., Heidelberger, S., Zloh, M., Limaki, H.K. 2010.** Purification, characterization and identification of acidocin LCHV, an antimicrobial peptide produced by *Lactobacillus acidophilus* n.v. Er 317/402 strain narine. *Int.J. Antimicrobial Agents.*, 35: 255-260.
- [91] **Mercenier A., Pavan S., and Pot B. 2002 .**Probiotics as biotherapeutic agents : Present knowledge and future prospects. *Current Pharmaceutical Desgn*, 8, 99-110.
- [92] **Wang K. ; BARENSEN P., VAN LOGTESTIJN J.G., MOSSEL D.A.A. ET VAN DER MAREL G.M.1986.** Review: Lactic acid: considerations in favor of its acceptance as a meat decontaminant. *J. Food Technol.* 21: 419-436.
- [93] **Plummer J.C. ET DESMAZEAND M., 1991.** Inhibiting factors produced by lactic and bacteria part L.oxygen metabolites and catabolism end-products. *Lait.* 71: 525-541.

- [94] [101] [109] [111] **Pougheon, S., et Goursaud, J., 2001.** «Le lait et ses constituants caractéristiques physicochimiques » In: DEBRY, G. Lait, nutrition et santé, Tec & Doc, Paris, 342 p.
- [96] **Vierling, E., 1998.** Aliments et boissons: Technologies et aspects réglementaire, Ed .doin, 188 pages.
- [98] **Fredot E., 2005.** Connaissance des aliments-Bases alimentaires et nutritionnelles de la diététique, Tec et Doc, Lavoisier: 10-14 (397pages).
- [102] **Luquet, F.M. 1985.** Lait et produits laitiers: vache, brebis, chèvre. : Les laits de mamelle à la laiterie .Edition: Technique et Documentation, Lavoisier, Paris, France, 397p.
- [103] **Ribadeau-Dumas, B., ET Grappin, 1989.** «Milk protein analysis» Lait, 416p.
- [104] **Hanzen, CH., 1999.** Pathologie de la glande mammaire de la vache laitière: Aspects individuels et d'élevage.4^{ème} Edition Université de Liège, 235p.
- [105] [106] [107] [108] **Juillard, V., Richard, J 1996.** Le lait, P24-26.
- [110] **Veisseyre, R., 1975.** Technologie du lait.3^{ème} édition Paris, La maison rustique, 714p.P25.
- [112][113] **Amiot J., Fournier S., Lebeuf Y., Paquin P., Simpson R .,Turgeon H.2002.** Composition, propriétés physicochimiques, valeur nutritive, qualité technologique et technique d'analyse du lait *In VIGNOLA C.L.* Science et technologie du lait -Transformation du lait, École polytechnique de Montréal, 600p.
- [117] **Alais C .1984.** Science de lait: Principe des techniques laitières. 4^{ème} édition, SEPAIC, Paris, 814p.
- [118][124][126] **Vignola C. 2002.** Science et Technologie du lait Transformation du lait .Edition presses Internationales Polytechnique, Canada. Pp.3-75.
- [119][120] **Wattiaux, M.A. 1997.** *Dairy essentials (1st edition): Nutrition and feeding*, The Babcock Institute Publications, University of Wisconsin-Madison, 1-28.
- [123] **Fredot E., 2006** Connaissance des aliments-Bases alimentaires et nutritionnelles de la diététique, Tec et Doc, Lavoisier: 25 (397pages).
- [125] **Giraud Joseph-Pierre. 1998.** Microbiologie alimentaire. Agro- alimentaire .Edition: Dunod. Paris .Pp 397.
- [127][129] **Lamontagne M. 2002.** Produits laitiers fermentés. In: Vignola CL. Science et technologie du lait: transformation du lait. Edition: Presse Internationale, polytechniques, Montréal, Canada, p 401-469.
- [131] **Theses-Univ-Oran1.dz>document**

- [132] [www.univ-bejaia.dz>bitstream>handle](http://www.univ-bejaia.dz/bitstream/handle)
- [133] Mahaut M, Jeantet R, Schuck P et Brulé G. 2000 .Les produits industriels laitiers .Edition: .Technique et Documentation,Lavoisier,Paris,France,178p.
- [134][135][137] Syndifrais, 2002. Produits laitiers frais. Danone word newsletter. Lettre N°1.
- [136] Symons, 1993. Nutrition value of yogurt and fermented milk. DANONE world newslettre. Ed Donald Robertson at IDEAS.2p1-17.
- [139] Amira MAJDI. Institut national agronomique de Tunisie-2008;
- [141] Dellaglio F., DE Rossart H., Torriani S., Curk M et Janssens D.1994. Caractérisation générale des bactéries lactiques .*Tec & Doc (Eds), Lorica*,I,p :25-116.
- [142] Lamoureux L. 2000. Exploitation de l'activité β -galactosidase de culture de bifidobactéries en vue d'enrichir des produits laitiers en galacto-oligosaccharides.Mémoire de maîtrise .Université de Laval Canada.88p.
- [143] Bergamaier D.2002.Production d'exopolysaccharides par fermentation avec des cellules immobilisée de *Lb.rhamnosus RW-9595M* d'un milieu à base de perméat de lactosérum.Thèse de Doctorat.Université de Laval,Faculté des sciences de l'agriculture et de l'alimentation,Quebec,108p.
- [144] Marty-Teyssset C. De La torre F. And Garel J-R. 2000. Increased production of hydrogen peroxide by *Lactobacillus delbruekii ssp bulgaricus* upon aeration: involvement. *Applied and Environmental microbiology*, 66 (1), 2622267.
- [145] Doleyres, Y. 2003.Production en conteneur du ferment lactique probiotique par la technologie des cellules immobilisées.Thèse Doctorat.Université de Laval.Quebec.167 pages.
- [146] Verne-bourdaï E, Bonnefoy C, Guillet F et Leyral G. 2002.Microbiologie et qualité dans les industries agroalimentaires.
- [147][152] Joffin C et Joffin JN. 2003. Microbiologie alimentaire, Edition: Canopé-CRDP, Bordeaux, France (5ème édition).p213.
- [148] Lebres EA. 2002. Cours national d'hygiène et de microbiologie des aliments «Microbiologie Des laits et produits laitiers», Institut Pasteur d'Algérie, pp704-706.
- [150] Guiraud J.P. 1998. Microbiologie alimentaire .Edition du nod, Paris, p.137.
- [153] Branger A. 2012.Fabrication de produits alimentaires par fermentation: l'ingénierie, Technique de l'ingénieur, Paris, France, p17.
- [154] EL-GHAISH S., AHMADOVA A., HADJI-SFAXI I., EL-MECHERFI K.E., BAZUKYAN I., CHOISET I., RABESONA H., SITOHY M., POPOV Y. G., KULIEV A. A., MOZZI F., CHOBERT J. M., HAERTLE T. 2011. Potential use of lactic bacteria

for reduction of allergenicity and for longer conservation of fermented foods. Food Sci. Technol. Vol. 22. p509-516.

[155] **UEHARA S., MONDEN K., NOMOTO K., SENO Y., KARIYAMA R., KUMON H. 2006.** A pilot study evaluating the safety and effectiveness of *Lactobacillus vaginal* suppositories in patients with recurrent urinary tract infection. Int. J. Antimicrobial Agents. Vol. 28 .p 30-34.

[156] **Jiang T, Mustapha A, Savaiano DA, 1996** Improvement of lactose digestion in humans by ingestion of unfermented milk containing *Bifidobacterium longum*. J. Dairy Sc., 79: 750- 757.

[157] **UEHARA S., MONDEN K., NOMOTO K., SENO Y., KARIYAMA R., KUMON H., 2006** A pilot study evaluating the safety and effectiveness of *Lactobacillus vaginal* suppositories in patients with recurrent urinary tract infection. Int. J. Antimicrobial Agents. Vol. 28 .p 30-34.

[160] **Carmen Collado M, Hernández M 2007** Identification and differentiation of *Lactobacillus*, *Streptococcus* and *Bifidobacterium* species in fermented milk products with *bifidobacterium*. Microbiol Res 162:86–92.

[161] **Teuber M., Geis A. 2006.** The genus *Lactococcus*. *Prokaryotes* 4: 205-228.

[162] **Abdelmalek A, Bey F, Gheziel Y, Krantar K, Ait Abdessalam A, Meribai A and Bensoltane A, 2008.** (In press), Viability and résistance to acidity of bifidobacteria sp in algerianés bio-yaourt. Egyptian Journal of applied science.

[163] **Reuter G. 1985.** *Int. J. Food Microbiol.*, 2, 55-68.

[164] **Nda SI; Holo H 2003.** Classe II peptides antimicrobiens des bactéries d'acide lactique, biopolymères, e. 55, p.

[165] **Onda. T., 2010.** Time series analysis of aerobic bacterial flora during Miso fermentation: pp: 1000-1046.

[166] **Aslam. A et Qazi. H., 2010.** Matrix Metalloproteinase Inhibitors: Specificity of Binding and Structure pp: 87: 219-225.

[167] **Dubois M., Gilles K.A., Hamilton J.K., Rebers P.A. & Smith F., 1979.** Colorimetric method for determination of sugar and related substances. *Anal. Chem.*, 28, 350-356.

[168] **Saidi N., Hadadji et Guessas B. (2011).** Screening of Bacteriocin-producing lactic Acid Bacteria isolated from west Algerien Goat's Milk. *Global J. Biotechnol. Bioch* 6(3) : 154-16.

- [169] **Felten S. Y., K. S. Madden D. L. Bellinger B. Kruszewska J. A. Moynihan and D. L. Felten. 1998.** The role of the sympathetic nervous system in the modulation of immune responses. *Adv. Pharmacol.* 42:583-587.
- [170] **Fasoli S, Marzotto M, Rizzotti L, Rossi F, Dellaglio F, Torriani S.** Bacterial composition of commercial probiotic products as evaluated by PCR-DGGE analysis. *Int J Food Microbiol* 2003;82(1):59-70.
- [171] **Gueimonde , M., Florez,A.B.,Van Hoek,A.H.A.M.,Stuer-Lauridsen,B.,StrØman,P.,De Los Reyes-Gavilàn,C.G. and Margolles,A.2004.** Genetic basis of tetracycline resistance in *Bifidobacterium animalis subsp.lactis*. *Applied and Environmental Microbiology* 76(10):3364-3369.
- [172] **S.F. Barefoot, T.R. Klaenhammer 1984. Purification and characterization of the *Lactobacillus acidophilus* bacteriocin lactacin B** *Antimicrob. Agents Chemother.*, 26), pp. 28-334.
- [173] **Podolak A., Piotrowska E., Klimek B.A., Kruk J.,Plytycz B.1996.** Effects of metalliferous soil on coelomocytes from ecophysiologically contrasting lumbri-cid species. *Acta Biol.Cracov.Ser.Zool.*52 :5-17.
- [174] **Wilson MA, et al. (2005)** Genetic interactions between [PSI+] and nonstop mRNA decay affect phenotypic variation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 102(29):10244-9
- [175] **Wilson A. J., D.W. Coltman, J.M. Pemberton, A. D. J. Overall K.A.Byrne and L.E.B. Kruuk. 2005.** Maternal genetic effects set the potential for evolution in a free-living vertebrate population. *J.Evol. Biol.*18:*In press*.
- [176] **Kruszewska D, Sahl HG, Bierbaum G, Pag U, Hynes SO and Ljungh A 2004.** Mersacidin eradicates methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in a mouse rhinitis model. *Journal of Antimicrobial chemotherapy* 54:648-653.
- [177] **Joffraud, J.J., Cardinal,M.,Cornet,J.,Chasles,J.S.,Leon,S.,Gigout,F.,&Leroi,F 2006 .**Effect of bacterial interactions on the spoilage of cold-smoked salmon. *International journal of food Microbiology* 112,51-61.
- [178] **Savadogo, A., et Traore, A.S., 2011.** La flore microbienne et les propriétés fonctionnelles des yaourts et laits fermentés. *Int. J. Biol. Chem. Sci.* 5(5): 2057-20 *International Journal of Biological and Chemical Sciences.* Burkina Faso.

- [179] **Belarbi F. 2011.** Isolement et sélection des souches de bactéries lactiques productrices des métabolites antibactériennes, Magistère : Microbiologie alimentaire et industrielle, Faculté des sciences, université d'Oran.
- [180] **T. Itoh, Y. Fujimoto , Y. Kawai et T. Satto ,** Inhibition of food-borne pathogenic bacteria by bacteriocin from *Lactobacillus gasseri*. *Lett. Appl. Microbiol*, 12 (1995) 137–141.
- [181] **T. Tahara. et K. Kanatani 1996.** Isolation, partial characterisation and mode of action of andocin J 1269, a bacteriocin produced by *Lactobacillus acidophilus JCM 1229*. *J. Appl. Bacteriol*, 81 669–677.
- [182] **Cholet O., 2006.** Etude de l'écosystème fromager par une approche biochimique et moléculaire. *Institut National Agronomique Paris-Grignon. Ecole Doctorale ABIÉS. UMR de Génie et Microbiologie des Procédés Alimentaires INRA, INA.* 16.
- [183] **Monnet V., Latrille E., Beal C. et Corrieu G., 2008.** Croissance et propriétés fonctionnelles des bactéries lactiques. *In : Bactéries lactiques de la génétique aux ferments (Corrieu G. et Luquet F.M.). Tec & Doc, Lavoisier. Paris.* 512-592.
- [184] **Elazhari M.** Activité de 16 Antibiotiques vis-à-vis des *Staphylococcus aureus* communautaires à Casablanca (Maroc) et prévalence des souches résistantes à la méthicilline. *Eur Sci Res.* 2009;30(1):128–37
- [185] **Malachowa N, DeLeo FR. 2010.** Mobile genetic elements of *Staphylococcus aureus*. *Cell Mol Life Sci CMLS* 2010;67:3057–71. Doi :10.1007/s00018-010-0389-4.
- [186] <https://www.ficsum.com/dire-archives/volume-22-numero-3-automne-2013/les-bacteriocines-contre-la-resistance-bacterienne-mathieu-lussier-price-departement-de-biochimie-et-medecine-moleculaire/>
- [187] **Marshall-Carlson L. 1991.** Dominant and recessive suppressors that restore glucose transport in a yeast *snf3* mutant. *Genetics* 128(3):505-12.
- [188] **Manges A. R., Natarajan P., Solberg, O. D., Dietrich P. S. & Riley, L. W. 2006.** The changing prevalence of drug-resistant *Escherichia coli* clonal groups in a community: evidence for community outbreaks of urinary tract infections. *Epidemiol Infect* 134, 425–431.
- [189] **Guenot M., Fouratui V., Loiseau B. and Vial C. 2002.** Problemes posés par l'utilisation des antibiotiques en élevage pour la santé humaine .Institut National d'Agronomie – Paris. 213 (15) :1154-1161.
- [190] **Deng Y., Ryu JH. et Beuchat LR. 1999.** Tolerance of acid adapted and non adapted *Escherichia coli* O157:H7 cells to reduced pH as affected by type of acidulant. *J Appl Microbiol.* 88: 203-210.

- [191] **Bruno FA. et Shah NP. 2002.** Inhibition of pathogenic and putrefactive microorganisms by lactic acid bacteria. *Milchwissenschaft*. 57: 617-621.
- [192] **Servin A.L. 2004.** Antagonistic activities of lactobacilli and bifidobacteria against microbial pathogens. *FEMS Microbiol Rev*. 28: 405-440.
- [193] **Asperger. H. 1985.** Produit laitiers fermentés : exemples d'interaction de microorganismes. *Osterreichische Milchwirtschaft*. Pp 19 : 15-31
- [194] **Choisy C, M. Desmazeaud, M. Gueguen, j. Lenoir, j-l. Schmidt et c.Tourneur. 1997.** Les phénomènes microbiens Chapitre 10 In *Le fromage 3ème édition*, Tec & Doc, édition Lavoisier. Pp : (381-429)
- [195] **Mathot. A.G, Beliard. E, Thuault. D 1996.** Propriétés antimicrobiennes des bactéries lactiques In *microbiologie alimentaire tome 2, aliments fermentés et fermentation alimentaire*. Tec & Doc, édition Lavoisier. Pp : 432-447
- [196] **Tabak J, Toporikova N, Freeman ME, Bertram R. 2007.** Low dose of dopamine may stimulate prolactin secretion by increasing fast potassium currents. *J Comput Neurosci*, 22(2):211-222.
- [197] **Matto, J., Alakomi, H., Vaari, A., Virkajarvi, I. and Saarela, M. 2006.** Influence of processing conditions on *Bifidobacterium animalis subsp subtilis* functionality with a special focus on acid tolerance and factors affecting it. *International Dairy Journal* 16: 1029-1037.
- [198] **Rodgers S., 2001.** Preserving non-fermented refrigerated foods with microbial cultures : a review. *Trends in Food Science and Technology* : 12 : pp 276-284.
- [199] **Lavermicocca P., Valerio F., Evidente A., Lazzaroni S., Corsetti A., et Gobbetti M., 2000.** Purification and characterization of novel antifungal compounds from the sourdough *Lactobacillus plantarum* strain 21B. *Appl. Environ. Microbiol* : 66 : pp 4084 - 4090.
- [200] **Todorov S.D. & Dicks L.M., 2004.** Influence of growth conditions on the production of a bacteriocin by *Lactococcus lactis subsp. lactis* ST34BR, a strain isolated from barley beer. *J. Basic Microbiol.*, 44, 305-316.
- [201] **Kostinek, M., Specht, I., Edward, V.A., Schillinger, U., Hertel, C., Holzapfel, W.H., Franz, C.M.A.P., 2005a.** Diversity and technological properties of predominant lactic acid bacteria from fermented cassava used for the preparation of Gari, a traditional African food. *Systematic and Applied Microbiology* 28, 527–540
- [202] **Gould G.W. 1991.** Antimicrobial compound. In : *Biotechnology and Food Ingredients* eds. Goldberg I. et Williams R. Van Nostrand Reinhold, New York. pp. 461-483.

- [203] **Kong S. ET Davison A.J. 1980.** The role of interactions between O₂, H₂, OH and O₂ in free radical damage to biological systems. Arch. Biochem. Biophys. 204: 13-29.
- [204] **Naghmouchi, S., Khouja, M.L., Romero, A., Tous, J., Boussaid, M., 2009.** Tunisian carob (*Ceratonia siliqua* L.) populations : Morphological variability of pods and kernel. Sci. Hortic. Amsterdam 121, 125– 130.
- [205] **Xie X., Qiu WG. et Lipke PN. 2011.** Accelerated and adaptive evolution of yeast sexual adhesins. *Mol Biol Evol* 28(11):3127-37
- [206] **Klaenhammer T.R., 1988.** Bacteriocins of lactic acid bacteria. Biochimie, 70, 337-349.
- [207] **Luquet, F.M. et Corrieu, G. 2005.** Bactéries lactiques et probiotiques. Edition Lavoisier, Paris. 307 pages.
- [208] **De Vuyst, L et Vandamme. J. 1994.** Nisin, a lantibiotic produced by *Lactococcus lactis subsp. Lactis* : properties, biosynthesis, fermentation and application. 151-221 In L. De Vuyst and E. J. Vandamme (eds.), Bacteriocins of Lactic Acid Bacteria : Microbiology, Genetics and applications. Blackie Académie and Professional. London, UK.
- [209] **Nigutova M. 2007.** Sequence and structure of a type A lantibiotic (Nisin), a type B lantibiotic (Mersacidin) and a « two-peptides » lantibiotic (Lacticin 3147 A1 and A2)
- [210] **Nigutova K., 2007.** Production of enterolysin A by rumen *Enterococcus faecalis* strain and occurrence of en IA homologues among ruminal Gram+ cocci. J. Appl. Microbiol., 102(2), 563-569.
- [211] **Héchar, Y., Pelletier, C., Cenatiempo, Y., Frère, J. 2001.** Analysis of sigma(54)-dependent genes in *Enterococcus faecalis* : a mannose PTS permease (EII(Man)) is involved in sensitivity to a bacteriocin, mesentericin Y105. Microbiology, 147 : 1575-1580.
- [212] **Jorger MC, Klaenhammer TR 1986.** Characterization and purification of helveticin J and evidence for a chromosomally determined bacteriocin produced by *lactobacillus heveticus* 481. J Bacterio/167, 439-446
- [213] **Luquet, F.M. et Corrieu, G. 2005.** Bactéries lactiques et probiotiques. Edition Lavoisier, Paris. 307 pages.

Annexes

Annexe 01 : Compositions de milieux de culture

Gélose MRS (pH= 6.2 +/- 0.2)

Extrait de levure	5g/L
Extrait de viande	10g/L
Peptone	10g/L
Acétate de sodium	5g/L
Citrate de sodium	2g/L
Glucose	20g/L
KH ₂ PO	2g/L
MgSO ₄	0,2g/L
MnSO ₄	0,05g/L
Agar	15g/L
Tween80.....	1 ml/L
Eau distillée	1000 ml

Autoclaver à 120°C pendant 20 minutes.

Gélose M17 (pH= 7,2 +/-0,2)

Peptone de soja.....	5g/L
Peptone de viande	5g/L
Peptone de caséine	5g/L
Extrait de viande	5g/L
Extrait de levure	2.5g/L
Lactose	5g/L
di-sodium β glycérophosphate	19g/L
Sulfate de magnésium	0.25g/L
Acide ascorbique	0.5g/L
Agar	11g/L

Autoclaver à 120°C pendant 20 minutes.

BCP (pH=6.8)

Peptone.....	1g/L
Extrait de viande	1g/L
NaCl	5g /L
Pourpre de bromocresol.....	15mg/L

Autoclaver à 121°C pendant 15min.

Chapman (pH = 7,5 +/- 0,2)

Extrait de viande de bœuf.....	1,01 g/L
Peptone.....	10,0 g/L
Mannitol.....	10,0 g/L
Chlorure de sodium.....	75,0 g/L
Rouge de phénol.....	0,025 g/L
Agar.....	15,0g/L

Autoclaver à 120°C pendant 20 minutes.

Gélose nutritive (pH = 7,4)

Extrait de levure.....	2 g/L
Extrait de viande.....	1 g/L
Peptone.....	5 g/L
NaCl.....	5 g/L
Agar.....	15 g/L

Autoclaver à 120°C pendant 20 minutes.

Annexe 02 : Technique de la coloration de Gram

➤ Préparation des frottis

Stériliser le fil de l'anse de platine,
Prendre une anse de platine du yaourt,
Etaler le prélèvement sur toute la surface de la lame,
Laisser sécher pendant 10 min,
Déposer le violet de gentiane pendant 3 min,
Rincer la lame au l'eau de robinet,
Couvrir la lame par le Lugol,
Rincer la lame au l'eau,
Couler l'alcool,
Déposer la fuschine pendant 3 min,
Rincer au l'eau,
Sécher à l'air libre pendant 10 min,
Ajouter l'huile à immersion.

➤ L'observation microscopique

L'observation se fait à grossissement X100.

Annexe 03

Tableau 8 : les abréviations, les charges des disques et les diamètres critiques (mm) des antibiotiques utilisés.

Antibiotique	Abréviation	Charge du disque	Diamètre critique (mm)	
			S	R
Amoxicilline	AMX	25 µg	≥23	<16
Céfoxitine	FOX	30 µg	≥22	<15
Céfotaxime	CTX	30 µg	≥26	<23
Cefazoline	KZ	30 µg	≥18	<12
Pipéracilline	PI	100 µg	≥22	<18
Amoxicilline + acide clavulanique	AMC	30 µg	≥23	<16
Gentamicine	HLG	120 µg	≥21	<19
Chloramphénicol	c	30 µg	≥23	<19
Triméthoprim + Sulfaméthoxazole	SXT	25 µg	≥16	<10
Acide pipémidique	PA	20 µg	≥19	<14
Péfloxacine	PEF	5 µg	≥22	<16
Nitroxoline	NO	30 µg	≥ 30	<12

Annexe 04 : Les différents yaourts utilisés.



Titre : Etude du pouvoir inhibiteur des bactéries lactiques du lait et du yaourt vis-à-vis quelques bactéries pathogènes.

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en Biologie Moléculaire des microorganismes.

Lactobacillus bulgaricus et *Streptococcus thermophilus* sont des bactéries lactiques spécifiques du yaourt capables de produire différents métabolites antimicrobiens par la fermentation des hydrates de carbone.

Ce travail vise à caractériser morphologiquement par des examens microscopiques et macroscopiques et dénombrer sur milieux MRS et M17 les bactéries lactiques du yaourt Nature et de tester l'effet inhibiteur des bactéries lactiques du lait et de quatre types différents du yaourt : DANNONE et SOUMMAM (Acti +, FORT et Nature).

Les résultats de l'étude morphologique et de dénombrement montrent que le yaourt Nature est riche en bactéries lactiques à Gram positif *Lactobacillus bulgaricus* qui cultivent sur le milieu MRS et donne des petites colonies identiques de couleur blanche crème et en *Streptococcus thermophilus* qui cultivent sur milieu M17 et donne des colonies rondes ou lenticulaires de couleur blanche crème. Les streptocoques et les lactobacilles sont présentés à des proportions variables avec un ratio de 6 : 1.

Les résultats de l'effet inhibiteur de la flore lactique du lait et de quatre yaourts testés montrent une activité antimicrobienne importante vis-à-vis les bactéries pathogènes à Gram positif (*Staphylococcus aureus* et *Bacillus sp.*) et une activité modérée contre les bactéries à Gram négatif (*Escherichia coli*, *Pseudomonas sp.* et *Enterobacter sp.*). L'étude de la résistance des souches pathogènes testées aux différents antibiotiques montre que les bactéries à Gram négatif sont plus ou moins résistantes aux antibiotiques notamment *Enterobacter sp.* qui est résistante à tous les antibiotiques ainsi *Streptococcus aureus* qui montre une résistance à céfazoline.

Nos résultats ont permis de confirmer l'effet inhibiteur des bactéries lactique du yaourt vis-à-vis quelques bactéries pathogènes.

Mot clés : Bactéries lactique, lait, yaourt, activité antimicrobienne, effet inhibiteur, bactéries pathogènes.

Mots clés : Bactéries lactique, lait, yaourt, activité antimicrobienne, effet inhibiteur, bactéries pathogènes.

Laboratoire de recherche : Zoologie.

Jury d'évaluation :

Président du jury : ARABET D. (MCB - UFM Constantine),
Rapporteur : BOUZERAIB L. (MAA - UFM Constantine),
Examineur : MERGOUD L. (MAA - UFM Constantine).

Date de soutenance : 03/07/2018

