



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



UNIVERSITE ABBES LAGHROUR - KHENCHELA
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE MOLECULAIRE ET CELLULAIRE

MEMOIRE

Présenté pour l'obtention du diplôme de

MASTER ACADEMIQUE

Domaine : **Sciences de la Nature et de la Vie**

Filière : **Biologie**

Option : **Microbiologie appliquée**

Thème :

Fonctionnalité du microbiote du « *smen* » de lait de chèvre : mise en évidence des activités antifongiques et lipolytique de la flore lactique et levuriènne.

Présenté par :

CHEKHAB Sara et HOUHA Radhia

Jury de soutenance :

Présidente : Dr. **DEROUICHE F.** (MCB) Univ. Abbès Laghrou - Khenchela
Encadrante : Dr. **MERABTI R.** (MCB) Univ. Abbès Laghrou - Khenchela
Examinatrice : Dr. **LEULMI N.** (MCB) Univ. Abbès Laghrou - Khenchela

2018 - 2019

Remerciement

Pour tous ceux qui ont participé de près ou de loin à l'élaboration de ce travail. Je tiens, en premier lieu, à saluer l'aimable contribution de l'ensemble des membres du jury.

Particulièrement au Dr. Merabti Ryma pour tous ses bons conseils et sa disponibilité, qui, en tant qu'encadrante, s'est toujours montrée à l'écoute, ainsi pour l'inspiration, l'aide et le temps qu'elle a bien voulu nous consacrer et sans qui, ce mémoire n'aurait jamais vu le jour.

Tous les professeurs qui ont eu à nous enseigner et à nous prodiguer de bons conseils durant notre parcours universitaire.

A tous ceux qui directement ou indirectement nous ont soutenues durant notre cursus universitaire scolaire.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail

A

Nos très chers pères et nos très chères mères

En témoignage de notre reconnaissance envers le soutien, les
Sacrifices et tous les efforts qu'ils ont fait pour notre éducation ainsi que
a notre formation.

Nos chers frères et sœurs pour leur affection, compréhension et patience.

Nos oncles, tantes, cousins et cousines

Vous avez de près ou de loin contribué à notre
formation.

Nos amis, Hayet, Nouha, Maroua, pour leur soutien moral. .

Tous nos enseignants qui ils ont contribué à notre formation.

TABLE DES MATIERES

Liste des abréviations.....	
Liste des figures.....	
Liste des tableaux.....	
Résumé.....	
Abstract.....	
المخلص.....	
Introduction générale.....	01
Chapitre I : Revue bibliographique	
1. Généralités.....	03
2. Caractères généraux.....	03
3. Origine et habitat.....	04
4. Taxonomie des bactéries lactiques.....	04
5. Physiologie et voies métaboliques de BL.....	08
5.1. La fermentation des carbohydrates.....	08
5.1.1. La voie homofermentaire.....	08
5.1.2. La voie hétérofermentaire.....	08
5.1.3. La voie bifide.....	09
5.2. Le métabolisme du citrate.....	10
6. Caractéristiques biotechnologiques.....	11
6.1. Activité acidifiante.....	11
6.2. Activité protéolytique.....	11
6.3. Activité lipolytique.....	12
6.4. Activité aromatisante.....	12
6.5. Aptitude texturante.....	12
6.6. Activité antimicrobienne.....	13
6.6.1. Les acides organiques.....	13
6.6.2. Le peroxyde d'hydrogène.....	13
6.6.3. Le dioxyde de carbone.....	14
6.6.4. Le diacétyl.....	14
6.6.5. La reutérine.....	14
6.6.6. Bactériocines.....	14
6.7. Activité autolytique.....	15
7. Intérêt des bactéries lactiques.....	15

7.1. Dans le domaines alimentaire.....	15
7.2. Dans le domaine thérapeutique.....	15

Chapitre II : Lait et produits laitiers

1. Lait	17
1.1. La Microbiologie du lait.....	17
1.1.1. La microflore indigène ou originelle.....	18
1.1.2. La flore de contamination.....	18
1.1.2.1. Flore pathogène.....	19
1.1.2.2. Flores d'altération.....	19
2. Produits laitiers fermentés.....	19
2.1. Les produits laitiers en Algérie.....	20

Matériel et méthodes

1. Echantillonnage.....	24
2. Mesure du pH des échantillons.....	24
3. Isolement de la flore lactique et fongique.....	24
3.1. Isolement de la flore lactique.....	24
3.1.1. Purification et sélection présomptive des BL.....	25
3.1.2. Conservation des isolats.....	25
3.1.3. Identification partielle des bactéries lactiques.....	25
a) Examen macroscopique.....	25
b) Examen microscopique (coloration de Gram).....	25
c) Test catalase.....	26
3.2. Isolement des levures.....	26
3.2.1. Purification et sélection présomptive des levures.....	26
3.2.2. Identification partielle des levures.....	26
a) Examen macroscopique.....	26
b) Examen microscopique (coloration au bleu de méthylène).....	26
3.2.3. Conservation des levures.....	27
3.3. Isolement et dénombrement des moisissures.....	27
3.3.1. Purification et sélection présomptive des moisissures.....	27
3.3.2. Identification partielle des moisissures.....	27
a) Examen macroscopique.....	27
b) Examen microscopique.....	28

3.3.3. Conservation des isolats.....	28
4. Détermination du pouvoir antifongique des bactéries lactiques.....	28
4.1. Préparation des pré-cultures des souches fongiques test.....	28
4.2. Criblage in vitro des activités antifongiques.....	28
5. Détermination du pouvoir antagonisme des levures.....	29
6. Détermination du pouvoir lypolitique des isolats sélectionnés.....	29

Résultats et discussions

1. pH des échantillons.....	30
2. Isolement et identification.....	30
2.1. Dénombrement de la flore lactique.....	30
2.1.1. Identification macroscopique et microscopique.....	31
2.2. Dénombrement des levures.....	34
2.2.1. Identification macroscopique et microscopique.....	34
2.3. Dénombrement des moisissures.....	36
2.3.1. Identification macro et microscopique des moisissures.....	36
3. L'activité antifongique des BL.....	37
4. Pouvoir d'antagonisme des levures.....	39
5. L'activité lipolytique.....	40
	42
Conclusion et perspectives	
	44
Références bibliographiques.....	

Annexe

LISTE DES ABREVIATION

BL	: Bactérie lactique
%	: Pourcent
°C	: Degré Celsius
pH	: potentielle d'Hydrogène
ARN	: Acide ribonucléique
ADN	: Acide désoxyribonucléique
d	: dilution
µm	: micromètre
CO₂	: Dioxyde de carbone
ATP	: Adénosine triphosphate
g	: Gramme
ml	: Millilitre
H₂O₂	: L'eau oxygénée
min	: minute
h	: heure
E	: échantillon
L	: Levure
MRS	: Man Rogosa Sharp
Σ	: Somme
PDA	: Potato Dextrose Agar
MA	: Malt agar
Gr	: grossissement
etc	: Etcetera
l	: litre
µl	: microlitre
cm	: centimètre
UFC	: unités formant colonie
ADP	: Adénosine diphosphate
Pi	: monophosphate
ADH	: Arginine dihydrolase
EMP	: Embiden-Meyerhof-Parnas
FBA	: Fructose-1,6 biphosphate aldolase
PTS	:Système phosphotransferase phosphoénolpyruvate dépendant
GAP	: glycéraldéhyde-phosphate
FPC	: Les entérobactéries productrices de carbapénémases
EPS	: Exopolysaccharide
Lb	: <i>Lactobacillus</i>
NaCl	: Chlorure de sodium

sp	: espèce non précisée
<i>A. flavus</i>	: <i>Aspergillus flavus</i>
<i>Lb. delbrueckii</i>	: <i>Lactobacillus delbrueckii</i>
<i>Lb. sakei</i>	: <i>Lactobacillus sakei</i>
<i>Lb. curvatus</i>	: <i>Lactobacillus curvatus</i>
<i>Lb. casei</i>	: <i>Lactobacillus casei</i>
<i>Lb. plantarum</i>	: <i>Lactobacillus plantarum</i>
<i>Ln. lactis</i>	: <i>Leuconostoc lactis</i>
<i>Ln. cremoris</i>	: <i>Leuconostoc cremoris</i>
<i>Ec. faecium</i>	: <i>Enterococcus faecium</i>
<i>Lc.lactis subsp</i>	: <i>Lactococcus lactis subsp.</i>

LISTE DES FIGURES

Figure 01	: Schéma d'un arbre phylogénétique, sans racines, des BL ; les distances évolutives sont approximative.....	05
Figure 02	: Voies métaboliques homofermentaire, hétérofermentaire et bifide de la dégradation du glucose par les BL.....	09
Figure 03	: Le métabolisme du citrate chez les bactéries lactiques.....	10
Figure 04	: Exemples des produits laitires; (a) : <i>klila</i> ; (b) : <i>jben</i> ; (c) : <i>Bouhezza</i> (Bougherara et Grazza, 2015 ; Djeddar et Dahdouh, 2017 ; Bouadjaib.,2013) ; (d) : <i>Smen</i> ; (e) : <i>Lben</i> (Benderouich, 2009).....	22
Figure 05	: Les valeurs moyennes du pH des quarte échantillons de lait de chèvre.....	30
Figure 06	: Caractéristiques microscopiques et macroscopiques des isolats lactiques. (A) aspect des colonies sur milieu MRS, (B) aspect des colonies sur milieu MRS salé, (C) coques à Gram+ Gr x 100, (D) bacille à Gram+ (Gr x 100).....	32
Figure 07	: Caractéristiques microscopiques et macroscopiques des levures. (A) aspect des colonies sur milieu Sabouraud, (B) aspect sous microscope optique (Gr x 100).....	35
Figure 08	: Exemples du criblage <i>in vitro</i> des activités antifongiques des BL, par la méthode de la double couche, contre : (A); <i>Aspergillus flavus</i> et (B); <i>Penicillium sp. 2</i>	38
Figure 09	: Exemples de l'évaluation, in vitro, de l'antagonism des levures L3, L4, L9 et L11 contre: <i>Penicillium sp. 1</i> (A) et <i>Aspergillus flavus</i> (B). (+): antagonism positif; (-): antagonisme negatif; (Témoin): <i>Penicillium sp. 1</i> et <i>Aspergillus flavus</i> seuls comes témoins negatives.....	40
Figure 10	: Exemples de l'activité lipolytiques des levures L13 et L14 (+) : Activité positive et apparition des précipitations opaques ; L2 et L3 (-) activité négative et absence de la zone opaque.....	41

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 01	: Les différents genres des bactéries lactiques.....	06
Tableau 02	: Variation de la composition du lait d'une espèce animale à une autre.....	17
Tableau 03	: Lait fermenté produit localement.....	20
Tableau 04	: Produits fermentés à base des dérivés laitiers gras.....	21
Tableau 05	: Différents types de fromages traditionnels algériens.....	21
Tableau 06	: Caractéristiques des échantillons du <i>smen</i> de lait de chèvre collectés dans la Wilaya de Khanchela.....	24
Tableau 07	: Les souches fongiques tests et leurs références.....	28
Tableau 08	: Dénombrement de la flore lactique exprimés en UFC/g.....	31
Tableau 09	: Caractéristiques macroscopiques et microscopiques des 13 bactéries sélectionnées.....	33
Tableau 10	: Dénombrement des levures exprimés en UFC/g.....	34
Tableau 11	: Caractéristiques macroscopiques et microscopiques des 15 bactéries isolées.....	35
Tableau 12	: Dénombrement de moisissures exprimées en UFC/g.....	36
Tableau 13	: Caractères macroscopique et microscopique des moisissures isolés.....	37
Tableau 14	: Activité antifongique des isolats lactiques.....	38
Tableau 15	: Antagonisme des levures 14 isolats levuriens.....	39
Tableau 16	: Activités lipolytiques des BL et levures sélectionnées.....	40

Résumé

Les aliments fermentés traditionnels occupent une place primordiale dans l'alimentation de nombreuses populations. Ils participent également à l'identité culturelle, car ils sont souvent liés à de très anciennes habitudes et pratiques alimentaires traditionnelles. L'Algérie se caractérise, comme le reste du monde, par des produits alimentaires de terroir très variés. Le lait est habituellement transformé en produits laitiers, par des méthodes traditionnelles, en L'ben, beurre cru (*zebda, smen ou dhan*), klila, bouhezza et autres. Dans la présente étude, nous nous sommes intéressés aux propriétés antifongiques et lipolytiques des bactéries lactiques et des levures isolées à partir de 4 échantillons de *smen* de lait de chèvre commercialisés au niveau de la wilaya de Khenchela. Sur la base de l'apparence macroscopique, 13 isolats ont été présélectionnés comme bactéries lactiques, 14 comme levures, et 2 comme champignons filamenteux. L'identification et la caractérisation partielles, nous ont permis de sélectionner 20 isolats: 4 bactéries lactiques (BL2, BL5, BL9 et BL10), 14 levures (de L1 à L14) et 02 moisissures (*Penicillium sp.* (1) et *Penicillium sp.* (2)). L'évaluation du pouvoir antifongique des 4 BL retenues à l'égard de trois souches fongiques ; *Aspergillus flavus* (UBOCC-A-106028), *Penicillium sp.* (1) et *Penicillium sp.* (2), a montré que BL2, BL5 et BL10 ont la capacité d'inhiber la croissance d'au moins deux des souches fongiques tests. D'autre part, l'évaluation de l'antagonisme des levures contre ces mêmes souches tests a montré que, dans l'ensemble, les levures ont une bonne activité antifongique. Cependant l'activité lipolytique a été négative pour les 04 isolats lactiques testés. Par contre, chez certaines des levures étudiées (L1, L10, L11, L13 et L14) les activités ont été positives. Les résultats obtenus montrent que nos produits laitiers traditionnels constituent un véritable réservoir de flore fermentaire avec des fonctionnalités d'intérêt technologique.

Mots clés : BL, levures, *smen*, antagonisme, activité antifongique, activité lipolytique.

Abstract

Traditional fermented foods are an important part of many people's diets. They also participate in cultural identity because they are often linked to very old habits and traditional dietary practices. Algeria, like the rest of the world, is characterized by very varied local food products. Milk is usually processed into dairy products, by traditional methods, to Lben, raw butter (*zebda*, *smen* or *dhan*), Klila, Bouhezza and others. In the present study, we were interested in the antifungal and lipolytic properties of bacteria, lactic and yeasts isolated from 4 samples of goat's milk smen marketed in the wilaya of Khenchela. On the basis of macroscopic appearance, 13 isolates were preselected as lactic acid bacteria, 14 as yeasts, and 2 as molds. Partial identification and characterization allowed us to select 20 isolates: 4 lactic acid bacteria (BL2, BL5, BL9 and BL10), 14 yeasts (L1 to L14) and 02 molds (*Penicillium sp.* (1) and *Penicillium sp.* (2)). The evaluation of the antifungal power of the 4 BL retained with respect to three fungal strains; *Aspergillus flavus* UBOCC-A-106028, *Penicillium sp.* (1) and *Penicillium sp.* (2) showed that BL2, BL5 and BL10 have the ability to inhibit the growth of at least two of the test fungal strains. On the other hand, the evaluation of the yeast antagonism against these same test strains showed that, on the whole, the yeasts have a good antifungal activity. About the lipolytic activity, it was negative for the 04 lactic isolates tested. On the other hand, in some of the studied yeasts (L1, L10, L11, L13 and L14), the activities were positive. The results obtained show that our traditional dairy products constitute a veritable reservoir of fermental flora with functionalities of technological interest.

Key words : LAB, yeasts, *Smen*, antagonism, antifungal activity, lipolytic activity.

الملخص

الأطعمة المخمرة التقليدية هي جزء مهم من الوجبات الغذائية للعديد من الشعوب. يشاركون أيضاً في الهوية الثقافية لأنهم يرتبطون غالباً بالعادات القديمة والممارسات الغذائية التقليدية. وتتميز الجزائر ، مثل بقية العالم ، بمنتجات غذائية محلية متنوعة للغاية. ادة ما يتم تحويل الحليب الى منتجات لبنية بالطرق التقليدية , الى لبن، زبدة، الدهان، كليلة، بوهزة و غيرها. في هذه الدراسة اهتمنا بالخصائص المضادة للفطريات و المحللة للدهون البكتيريا اللبنية و الخمائر المعزولة من 4 عينات من سمن حليب الماعز و التي يتم تسويقها في ولاية خنشلة. على اساس المظهر العلياني، تم اختيار 13 عزلة بكتيريا حمض اللاكتيك، 14 عزلة خميرة و 2 من الفطريات. سمح لنا التعرف والتوصيف الجزئي باختيار 20 عزلة: 4 بكتيريا حمض اللاكتيك (BL2, BL5, BL9, BL10), 14خميرة (من L1 الى L14) و 2 من الفطريات ((1) *Penicillium sp.* و (2) *Penicillium sp.*).تقييم القوة المضادة للفطريات ل 4 بكتيريا حمض اللاكتيك المحتفظ بها فيما يتعلق بالثلاث سلالات الفطرية اظهر أنBL2 ، BL 5 و BL 10 لديهم القدرة على تثبيط نمو اثنين على الاقل من السلالات الفطرية المختبرة(2) *Penicillium sp.* (1) *Penicillium sp.* UBOCC-A-106028, *Aspergillus flavus* . من ناحية اخرى، اظهر تقييم التضاد لدى الخميرة ضد سلالات الاختبار نفسها انه ،على العموم، للخميرة نشاط ضد فطري جيد. اما بالنسبة لنشاط تحليل الدهون فقد كان سلبيا بالنسبة للبكتيريا الحمضية المعزولة الاربعة، بعكس ما هو لدى بعض الخمائر المدروسة(L1, L10, L11, L13 و L14) حيث أن النتائج كانت ايجابية. النتائج المتحصل عليها تبين أن منتجات الالبان التقليدية لدينا تشكل مستودعا حقيقيا للكائنات المخمرة ذات الميزات التكنولوجية.

الكلمات المفتاحية : البكتيريا اللبنية، الخميرة، سمن، التضاد، النشاط المضاد فطري، نشاط تحليل الدهون.

Abstract

Traditional fermented foods are an important part of many people's diets. They also participate in cultural identity because they are often linked to very old habits and traditional dietary practices. Algeria, like the rest of the world, is characterized by very varied local food products. Milk is usually processed into dairy products, by traditional methods, to Lben, raw butter (*zebda*, *smen* or *dhan*), Klila, Bouhezza and others. In the present study, we were interested in the antifungal and lipolytic properties of bacteria, lactic and yeasts isolated from 4 samples of goat's milk smen marketed in the wilaya of Khenchela. On the basis of macroscopic appearance, 13 isolates were preselected as lactic acid bacteria, 14 as yeasts, and 2 as molds. Partial identification and characterization allowed us to select 20 isolates: 4 lactic acid bacteria (BL2, BL5, BL9 and BL10), 14 yeasts (L1 to L14) and 02 molds (*Penicillium sp.* (1) and *Penicillium sp.* (2)). The evaluation of the antifungal power of the 4 BL retained with respect to three fungal strains; *Aspergillus flavus* UBOCC-A-106028, *Penicillium sp.* (1) and *Penicillium sp.* (2) showed that BL2, BL5 and BL10 have the ability to inhibit the growth of at least two of the test fungal strains. On the other hand, the evaluation of the yeast antagonism against these same test strains showed that, on the whole, the yeasts have a good antifungal activity. About the lipolytic activity, it was negative for the 04 lactic isolates tested. On the other hand, in some of the studied yeasts (L1, L10, L11, L13 and L14), the activities were positive. The results obtained show that our traditional dairy products constitute a veritable reservoir of fermental flora with functionalities of technological interest.

Key words : LAB, yeasts, *Smen*, antagonism, antifungal activity, lipolytic activity.

الملخص

الأطعمة المخمرة التقليدية هي جزء مهم من الوجبات الغذائية للعديد من الشعوب. يشاركون أيضاً في الهوية الثقافية لأنهم يرتبطون غالباً بالعادات القديمة والممارسات الغذائية التقليدية. وتتميز الجزائر ، مثل بقية العالم ، بمنتجات غذائية محلية متنوعة للغاية. ادة ما يتم تحويل الحليب الى منتجات لبنية بالطرق التقليدية , الى لبن، زبدة ،الدهان، كليلة، بوهزة و غيرها. في هذه الدراسة اهتمنا بالخصائص المضادة للفطريات و المحللة للدهون البكتيريا اللبنية و الخمائر المعزولة من 4 عينات من سمن حليب الماعز و التي يتم تسويقها في ولاية خنشلة. على اساس المظهر العلياني، تم اختيار 13 عزلة كبكتيريا حمض اللاكتيك، 14 عزلة خميرة و 2 من الفطريات. سمح لنا التعرف والتوصيف الجزئي باختيار 20 عزلة: 4 بكتيريا حمض اللاكتيك (BL2, BL5, BL9, BL10), 14خميرة (من L1 الى L14) و 2 من الفطريات (*Penicillium* sp. (1) و *Penicillium* sp. (2)). تقييم القوة المضادة للفطريات ل 4 بكتيريا حمض اللاكتيك المحفوظ بها فيما يتعلق بالثلاث سلالات الفطرية اظهر أن BL2 ، BL 5 و BL 10 لديهم القدرة على تثبيط نمو اثنين على الاقل من السلالات الفطرية المختبرة (*Penicillium* sp. (2) *Aspergillus flavus* UBOCC-A-106028, *Penicillium* sp. (1) من ناحية اخرى، اظهر تقييم التضاد لدى الخميرة ضد سلالات الاختبار نفسها انه ،على العموم، للخميرة نشاط ضد فطري جيد. اما بالنسبة لنشاط تحليل الدهون فقد كان سلبيا بالنسبة للبكتيريا الحمضية المعزولة الاربعة، بعكس ما هو لدى بعض الخمائر المدروسة (L1, L10, L11, L13 و L14) حيث أن النتائج كانت ايجابية. النتائج المتحصل عليها تبين أن منتجات الالبان التقليدية لدينا تشكل مستودعا حقيقيا للكائنات المخمرة ذات الميزات التكنولوجية.

الكلمات المفتاحية : البكتيريا اللبنية، الخميرة، سمن، التضاد، النشاط المضاد فطري، نشاط تحليل الدهون.

Revue Bibliographiques

Bactéries lactiques

1. Généralités

Les bactéries lactiques, sont utilisées pour la fermentation des aliments depuis plus de 4000 ans, sans pour autant comprendre la base scientifique de leur utilisation (Drider et Prevost, 2009). Ce n'est qu'à la fin du 19^{ème} siècle, époque des grandes découvertes de la microbiologie, que le groupe des bactéries lactiques ou bactéries de l'acide lactique a été défini, plus précisément en 1919 par Orla-Jensen. Il a réuni plusieurs genres caractérisés par leur capacité à fermenter les glucides en produisant de l'acide lactique (Tredez et Louise, 2008).

2. Caractères généraux

Les bactéries lactiques sont un groupe de bactéries unies par une multitude de caractéristique morphologiques, métaboliques et physiologiques. En général, elles sont décrites comme des bactéries à Gram positif, non mobiles, en forme de coques ou de bâtonnets, non sporulantes, dépourvues de cytochromes et de catalase, anaérobies micro-aérophiles, strictement fermentatives, aux exigences nutritionnelles complexes (acides aminés, peptides, vitamines, sels, acides gras, glucides fermentescibles) et qui produisent de l'acide lactique comme le principal produit final au cours de la fermentation des carbohydrates. Le terme de bactéries lactiques est intimement associé aux habitats riches en nutriments (lait, viande, végétaux) et aux aliments fermentés, mais d'autres sont aussi associées aux différentes surfaces des muqueuses des mammifères (Axelsson, 2005). La classification des bactéries lactiques repose en grande partie sur la morphologie, l'arrangement, la croissance à des températures différentes, la configuration de l'acide lactique produit, la capacité de croître à des concentrations de sel élevées, et la tolérance acide ou alcaline.

Leur forme peut être coccoïde, cocco bacillaire ou bacillaire, les ferments sont généralement mésophiles avec une température optimale de croissance entre 20°C et 30°C utilisés pour certaines fabrications (fromage, lait fermenté) ou thermophiles entre 40°C et 45°C utilisés pour d'autres fabrications (Yaouret) (Karam, 1995). La majorité des souches se développent à pH 4,0-4,5, certaines sont en activité à pH 9,6 et d'autres à pH 3,2 (Carr *et al.*, 2002 ; Kotelnikova et Gelfand, 2002 ; Jozala *et al.*, 2005).

Les bactéries lactiques encore appelées bactéries de l'acide lactique sont caractérisées par leur aptitude à fermenter les sucres fermentescibles tel que le glucose en produisant principalement l'acide lactique mais aussi d'autres acides organiques (acide acétique, acide

formique.) (Raynaud, 2006). L'acide lactique peut être sous deux formes stéréoisomériques (L moins fréquemment, D ou un mélange des deux).

Les bactéries lactiques sont dites homofermentaires si l'acide lactique est le seul produit formé; par contre elles sont hétérofermentaires lorsque d'autres composés comme l'éthanol et le CO_2 sont produits en même temps. Du point de vue nutritionnel, les bactéries lactiques se caractérisent par des exigences assez complexes, en ce qui concerne les acides aminés, les bases nucléiques, les acides gras, les peptides, les vitamines, les glucides fermentescibles et les sels (Raynaud, 2006).

3. Origine et habitat

Les bactéries lactiques sont ubiquistes, et on les trouve dans différentes niches écologiques comme le lait et les produits laitiers, les végétaux (plantes, fruits, légumes, céréales); la viande, le poisson, les muqueuses humaines et animales (le tractus digestif, les cavités buccales, urogénitales) (Drouault et Corthier, 2001). A titre d'exemple, les espèces du genre *Streptococcus*, *Lactococcus* sont présentes chez l'homme et chez les animaux où elles sont isolées à partir de leurs peaux, de leurs matières fécales et également à partir de l'ensilage du foin et des grains (Dellaglio *et al.*, 1994; Mathara *et al.*, 2004). Par ailleurs, les espèces du genre *Lactobacillus* sont encore plus répandues dans la nature; elles se trouvent sur les végétaux mais également dans l'intestin des animaux et de l'homme. Certaines espèces comme *Lactobacillus acidophilus* entrent en composition au niveau de la flore commensale de l'intestin et du vagin, où sa présence empêche l'invasion par *Candida albicans*. Les espèces du genre *Pediococcus* ne se rencontrent pratiquement que sur les plantes (Guiraud, 1998). D'une façon générale, les bactéries lactiques sont ubiquitaires et se trouvent là où il y a de fortes concentrations de glucides, de produits de dégradation des protéines, de vitamines et peu d'oxygène (Marteau *et al.*, 2005).

4. Taxonomie des bactéries lactiques

La première classification des bactéries lactiques a été établie en 1919 par Orla-Jensen. Elle est basée sur les caractéristiques observables autrement dit les caractéristiques phénotypiques telles que les propriétés morphologiques, le mode de fermentation du glucose, la croissance à différentes températures, l'aptitude de croître à de fortes concentrations de sels (6.5%, 18%), la tolérance aux pH acides, alcalins et à l'éthanol, la configuration de l'acide lactique produit à partir de glucose, l'hydrolyse de l'arginine, la formation d'acétoïne; les

caractères biochimiques, physiologiques et les marqueurs chimiotaxonomiques, comme la composition des acides gras et les constituants de la paroi cellulaire sont pris en considération (Kunene *et al.*, 2000). Le profil électrophorétique des protéines cytoplasmiques solubles est également utilisé pour la classification (Krieg, 2001).

La classification moderne est basée actuellement sur les approches moléculaires, qui s'appuient sur des tests génotypiques telles que le séquençage de l'ARN16 S, le ribotypage et d'autres méthodes de typage basées sur l'ADN. Ces techniques moléculaires permettent une meilleure différenciation des microorganismes à différents niveaux (Hassaine, 2013).

Selon la seconde édition de Bergey's manual of systematic bacteriology (De Vos *et al.*, 2009), les bactéries lactiques sont classées dans le phylum des *Firmicutes*, la classe des *Bacilli* et l'ordre des *Lactobacillales* renfermant trente-cinq genres répartis en six familles: *Aerococcaceae*, *Carnobacteriaceae*, *Enterococcaceae*, *Lactobacillaceae*, *Leuconostocaceae* et *Streptococcaceae*. Seuls douze genres sont utilisés en technologie alimentaire (Figure 01, tableau 01), il s'agit de: *Aerococcus*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Vagococcus*, *Tetragenococcus* et *Weissella* (Vandamme *et al.*, 1996). Parmi tous les genres cités, seulement *Aerococcus*, *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc* et *Pediococcus* répondent aux caractéristiques générales d'une bactérie lactique proprement dit (Salminen *et al.* 2004).

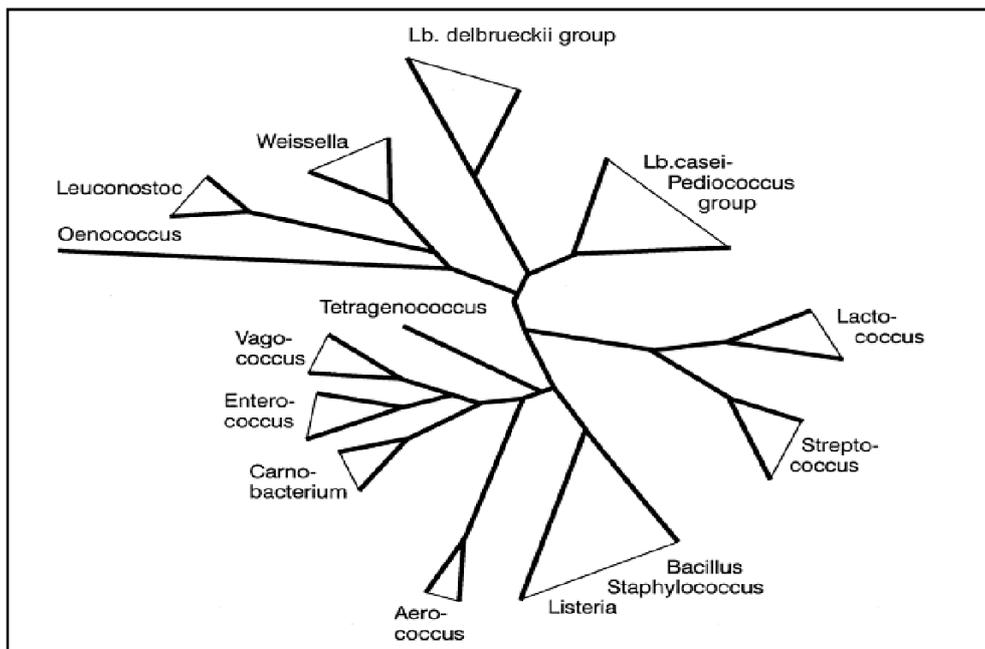


Figure 01 : Schéma d'un arbre phylogénétique, sans racines, des bactéries lactiques ; les distances évolutives sont approximative (Axelsson, 2005).

Tableau 01 : Les différents genres des bactéries lactiques.

Famille	Genre	Caractéristiques	Références
<i>Aerococcaceae</i>	<i>Aerococcus</i>	ovoïde (d=1-2µm), α-hémolytiques, non-gazogènes, arginine(-), pouvant croître à une concentration de 6.5% de NaCl, la division se déroule sur deux plans formant ainsi des tétrades. Des cellules isolées ou en paires peuvent être observées au milieu de la phase exponentielle.	(Benguella, 2015)
<i>Carnobacteriaceae</i>	<i>Carnobacterium</i>	Bâtonnets courts parfois incurvés isolés ou en paires, pouvant se développer à pH 9 et incapables de croître à 8% de NaCl ; quelques espèces sont catalase (+). Ont décrit comme des alcalophiles, catalase négative, oxydase négative, psychrophiles, anaérobies facultatives	(Corrieu et Luquet, 2008)
<i>Enterococcaceae</i>	<i>Enterococcus</i>	Cellules ovoïdes, isolées en paires ou en courtes chaînes, homofermentaires. Quelques espèces sont mobiles par des petits flagelles et d'autres possèdent une pseudo-catalase. Ce genre se caractérise par sa tolérance à 6.5% de NaCl, un pH 9.6 et un intervalle de température compris entre 10°C et 45°C, avec un optimale de croissance de 35°C à 37°C.	(Bergey's manual, 1994)
<i>Lactococcaceae</i>	<i>Lactobacillus</i>	bacilles longs (incurvés) ou des coccobacilles courts isolés, ou forment des chaînes. Généralement immobiles à sauf quelques espèces possèdent des flagelles péritriches. Acidophiles et peuvent croître à un pH optimum variant de 5.5 à 6.2. La température optimale de croissance est de 30°C à 40°C.	(Guiraud <i>et al.</i> , 2003)
<i>Streptococcaceae</i>	<i>Lactococcus</i>	sphériques ou ovoïdes, isolées en paires, ou en chaînes. De type mésophiles, température optimale est comprise entre 10 et 40°C , se développent à 4% de NaCl et à un pH presque neutre, s'arrêtant lorsque le pH du milieu atteint 4,5.	(Teuber <i>et al.</i> , 1995)
<i>Leuconostocaceae</i>	<i>Leuconostoc</i>	Ce genre comprend 10 espèces fastidieuses dans leurs exigences nutritionnelles, de forme ellipsoïdales à sphériques généralement allongées qui s'arrangent en paires ou en chaînes, non acidophiles avec un pH optimum de croissance égal à 6.5. Concernant la température optimale est comprise entre 20°C et 30°C. Capables de produire du dextrane en milieu concentré en saccharose.	(Guiraud <i>et al.</i> , 2003)

Famille	Genre	Caractéristiques	Références
<i>Leuconostocaceae</i>	<i>Oenococcus</i>	Immobilés, asporulantes de forme ellipsoïdale à sphérique, avec un arrangement en paires ou en chaînes, non hémolytiques et généralement non protéolytiques. Exigeantes quant au milieu de culture qui doit être riche en acides aminés et en facteurs de croissance, leur pH optimum étant de 6 à 6,8 et la température optimale de 20°C à 30°C.	(Federighi, 2005)
<i>Lactococcaceae</i>	<i>Pediococcus</i>	Immobilés de forme sphérique parfois ovoïdes, isolés ou en paires qui se divisent en deux directions perpendiculaires formant ainsi les tétrades mais jamais les chaînes. Les cellules sont acidophiles à pH : 5, la température optimale de croissance est comprise entre 25°C à 35°C.	(Guiraud et Rosec, 2004)
<i>Streptococcaceae</i>	<i>Streptococcus</i>	Immobilés, sphériques ou ovoïdes qui ont un diamètre inférieur à 2µm en paires ou en chaînes longues. La fermentation des carbohydrates produit principalement de l'acide lactique mais il n'y a pas de production de gaz. Leur température optimale de croissance est 37°C. Elles sont incapables de se développer à 15°C et à un pH 9.6	(HO ThiNguyet Thu. 2008)
<i>Enterococcaceae</i>	<i>Vagococcus</i>	Ovoïdes isolés, en paires ou en chaînes. La plupart des espèces sont mobiles par des flagelles péritriches. Elles sont capables de croître à 10°C mais non à 45°C sans production de gaz ni d'arginine dihydrolase (ADH).	(Ammor <i>et al.</i> , 2006 ; Endo <i>et al.</i> , 2005)
<i>Enterococcaceae</i>	<i>Tetragenococcus</i>	Cellules sphériques ou ovoïdes avec un diamètre de 0.5-1.0 µm, immobilés, formant des tétrades, comme elles peuvent être isolés ou en paires. Leur température optimale de croissance se situe entre 25°C et 35°C et ne peuvent pas croître à 10°C et à 45°C.	(Masuda <i>et al.</i> , 2008 ; Tosukhowong <i>et al.</i> , 2005)
<i>Leuconostocaceae</i>	<i>Weissella</i>	Ovoïdes ou de courts bâtonnets à extrémités rondes qui s'associent en paires ou en courtes chaînes et sont immobilés. Leur température optimale de croissance est de 15°C, mais quelques espèces peuvent croître entre 42°C et 45°C.	(Collins <i>et al.</i> , 1993)

Suite de tableau 01 : Les différents genres des bactéries lactiques.

5. Physiologie et voies métaboliques des bactéries lactiques.

5.1. La fermentation des carbohydrates

Toutes les bactéries lactiques ont un métabolisme fermentaire qui repose dans sa grande partie sur l'utilisation des glucides (lactose, glucose, fructose et saccharose) (Leonard, 2013; Hassaine, 2013). Selon leur métabolisme, les bactéries lactiques sont homofermentaires ou hétérofermentaires (Figure 2).

5.1.1. La voie homofermentaire

La voie homofermentaire catabolise une mole de glucose (glucose-6 P) par la voie Embden-Meyerhof-Parnas (EMP) pour donner deux moles de pyruvate. Dans la dernière étape de glycolyse, en condition optimale de croissance, il y a production de deux molécules de lactate et deux molécules d'ATP. La voie homofermentaire est généralement associée aux bactéries des genres *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Pediococcus* et *Lactobacillus* (Drider et Prevost, 2009).



5.1.2. La voie hétérofermentaire

Les bactéries lactiques hétérofermentaires utilisent la voie des pentoses phosphates. Elles sont dépourvues d'une enzyme qui est la fructose-1.6 biphosphate aldolase (FBA aldolase) et d'un système de transport phosphotransférerase (PTS). Une mole de glucose-6-phosphate est initialement déshydrogénée en 6 phosphogluconate puis décarboxylée d'une mole de CO_2 (Figure 02). Le résultant des pentoses-5-phosphate est clivé en un phosphate glycéraldéhyde mole (GAP) et en phosphate acétyle. Le GAP est par la suite métabolisé en lactate comme dans l'homofermentation, avec l'acétyl phosphate puis réduits en éthanol par l'intermédiaire de l'acétyl-CoA et acétaldéhyde (Alomar, 2007).

Ce type de fermentation est assurée par certaines bactéries lactiques des genres *Leuconostoc* et *Lactobacillus* (Drider et Prevost, 2009 ; Hadeif, 2012).



5.1.3. La voie bifide

Les génomes des *Bifidobacterium* codent pour un large arsenal d'enzymes impliqués dans le catabolisme des sucres. Plus de 50 carbo-hydrolases ont été identifiés chez les bifidobactéries, ce qui confirme que ce genre est spécialisé dans le métabolisme des sucres (Scuotto, 2015).

Le métabolisme du genre *Bifidobacterium* est assez particulier, en effet il s'agirait de la voie fermentaire bifide ou voie de la fructose-6-P phosphocétolase (FPC) (Figure 02). Le fructose-6-P est scindé par la fructose-6- phosphate phospho-cétolase en érythro-4-phosphate et en acétyl-phosphate et du glycéraldéhyde-3-phosphate afin de former de l'acétyl-phosphate et du glycéraldéhyde-3-phosphate (Drider et Prevost, 2009).

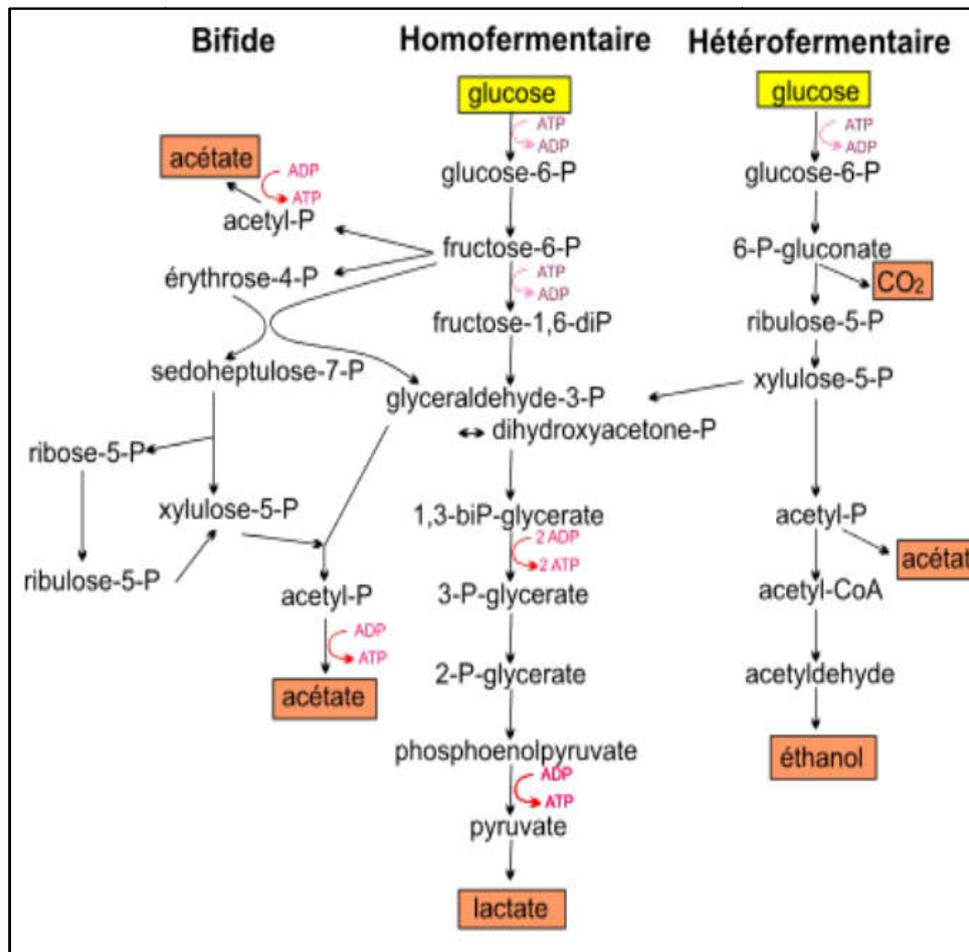


Figure 02 : Voies métaboliques homofermentaire, hétérofermentaire et bifide de la dégradation du glucose par les bactéries lactiques (Drider et Prevost, 2009).

5.2. Le métabolisme du citrate

L'acide citrique est utilisé par de nombreuses espèces des genres *Streptococcus* (*Streptococcus thermophilus*), *Lactococcus* (*Lc. Lactis* subsp. *lactis* biovar *diacetylactis*), *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 (Leveau et Bouix, 1993).

Le citrate est transporté à l'intérieur des cellules par une citrate-perméase, où il est scindé en acétate (en majeure partie excrétés) et en oxaloacétate par le complexe enzymatique citrate-lyase. L'oxaloacétate est ensuite converti en pyruvate et en CO_2 par une oxaloacétate décarboxylase. Des transformations successives du pyruvate aboutissent à la formation de composés aromatisants et le produit fini est le 2,3-butylène-glycol (2,3-butanediol) (Figure 03) (Cogan *et al.*, 1982).

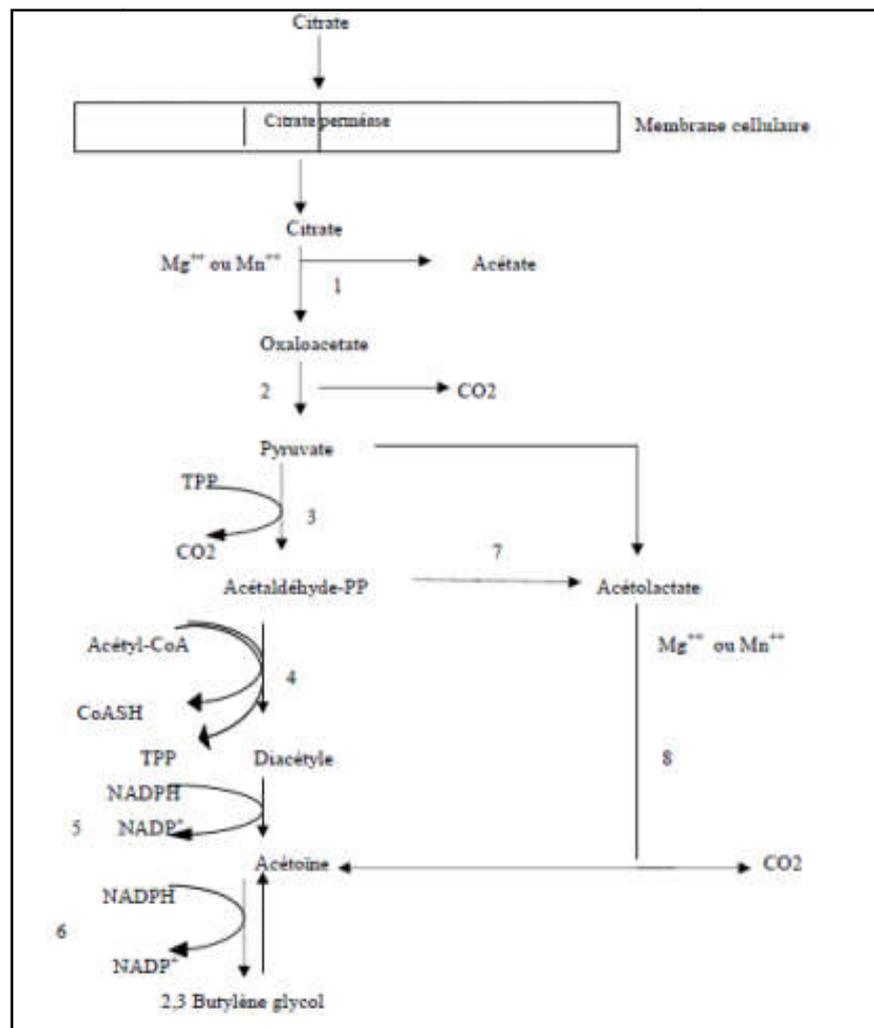


Figure 03 : Le métabolisme du citrate chez les bactéries lactiques (Bekhouche, 2006).

6. Caractéristiques biotechnologiques

6.1. Activité acidifiante

La fonction acidifiante constitue la propriété métabolique la plus recherchée des bactéries lactiques utilisées dans les industries alimentaires. Elle se manifeste par la production de l'acide lactique à partir de la fermentation des hydrates de carbone au cours de la croissance bactérienne (Mäyrä-Mäkinen et Bigret, 2004 ; Monnet *et al.*, 2008). Les conséquences, d'ordre physico-chimique et microbiologique, peuvent se résumer ainsi par (Béal *et al.*, 2008) :

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

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

6.2. Activité protéolytique

La croissance jusqu'à des densités cellulaires permettant aux bactéries lactiques d'assurer les fonctions de fermentation repose sur un système protéolytique capable de satisfaire tous les besoins en acides aminés en hydrolysant les protéines. Les bactéries lactiques démontrent des potentialités différentes, liées à leur équipement enzymatique, pour l'utilisation de la fraction azotée. Les lactobacilles présentent généralement une activité protéolytique plus prononcée que les lactocoques (Donkor *et al.*, 2007 ; Monnet *et al.*, 2008 ; Roudj *et al.*, 2009).

En général, les bactéries lactiques ont une faible propriété protéolytique sur les protéines myofibrillaires. Toutefois, certaines souches de *Lb. casei*, *Lb. plantarum*, *Lb. curvatus* et *Lb. sakei* participent à l'hydrolyse des protéines sarcoplasmiques et par conséquent, contribuent à la décomposition des peptides en acides aminés (Drosinos *et al.*, 2007 ; Dalmiş *et al.*, 2008; Scannell *et al.*, 2004 ; Larrouture *et al.*, 2000). Des peptidases issues de ces bactéries lactiques hydrolysent des oligopeptides et de ce fait, produisent les substances responsables de la flaveur et de la texture des produits fermentés (Ammor *et al.*, 2006; Papamanoli *et al.*, 2003).

6.3. Aptitude lipolytique

Les propriétés lipolytiques sont généralement faibles chez les bactéries lactiques, les lactocoques sont considérés comme plus lipolytiques que les streptocoques et les lactobacilles. Elles peuvent cependant présenter un intérêt pour certaines applications fromagères (Béal *et al.*, 2008).

D'une manière générale on distingue les estérases qui hydrolysent de façon préférentielle les esters formés avec les acides gras à chaîne courte (C 2 -C 8) et les lipases qui sont actives sur des substrats émulsifiés contenant des acides gras à chaîne longue (>C 8). Ces enzymes sont impliquées dans l'hydrolyse de mono, di, et triglycérides (Béal *et al.*, 2008 ; Serhan *et al.*, 2009).

Certains micro-organismes, grâce à leurs lipases, peuvent décomposer les matières grasses et les acides gras libres du lait, entraînant l'apparition d'odeurs rances dans le produit laitiers. Les produits laitiers à haute teneur en matières grasses sont plus sensibles à la dégradation par les micro-organismes lipolytiques (Lamontagne *et al.*, 2002).

6.4. Aptitude aromatisante

La production de composés aromatiques est liée à l'activité microbienne. Plusieurs espèces de bactéries lactiques, telles que *Lactococcus lactis ssp. Biovar diacetylactis* et *Loconostoc mesenteroides ssp. cremoris* sont capables de synthétiser, à partir du citrate notamment et du lactose, des acides aminés et des matières grasses, divers composés tels que le diacétyle, l'acétoïne, l'acétate, l' α -acétolactate, l'acétaldéhyde, 2,3-butanediol, l'éthanol et le formiate.

Cette fonctionnalité est particulièrement importante lors de l'élaboration des laits fermentés, des fromages frais, crèmes et beurre, dont l'arôme principal est lié à cette activité microbienne (Leveau et Bouix, 1993 ; Bourgeois et Larpent, 1996 ; Gerrit *et al.*, 2005 ; Cholet, 2006).

6.5. Aptitude texturante

La capacité des bactéries lactiques à synthétiser des exopolysaccharides (EPS) joue un rôle important pour la consistance et la rhéologie des produits transformés. La présence de ces souches productrices d'EPS dans les produits fermentés présente un intérêt technologique important pour les différentes industries de la fermentation notamment laitière (Ricciardi et Clement, 2000). Les *Lb. delbrueckii ssp. bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus* produisant

des EPS sont utilisés dans la fabrication des yaourts, ceci afin d'améliorer la texture, éviter la synérèse et augmenter la viscosité des produits finis. L'utilisation des EPS produits par les souches *Lc. lactis ssp. cremoris* est très prometteuse pour la structure et la viscosité des produits laitiers fermentés (Leroy et De Vuyst, 2004 ; Ho *et al.*, 2007).

La majorité des études portant sur la production d'EPS par les bactéries lactiques concernent les genres *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc* et *Pediococcus* (Ruas et de Los Reyes, 2005; Badel *et al.*, 2011) .

6.6. Activité antimicrobienne

Les bactéries lactiques sont connues et utilisées pour les effets antagonistes qu'elles peuvent avoir. Ceux-ci résultent de la production de différents composés organiques et non-organiques capables d'inhiber ou de limiter la croissance de certains germes pathogènes (Strus *et al.*, 2006).

6.6.1. Les acides organiques

Qu'elles soient homofermentaires ou hétérofermentaires, les bactéries lactiques produisent différents types d'acides organiques. Grâce à cette production, le pH du milieu dans lequel les bactéries lactiques se multiplient diminue, permettant ainsi l'inhibition d'une partie de la flore qui s'y développe et qui pourrait être indésirable dans l'aliment sur le plan hygiénique (Ammor *et al.*, 2006).

6.6.2. Le peroxyde d'hydrogène

La catalase, enzyme nécessaire à la dégradation du peroxyde d'hydrogène en oxygène et en eau, est absente chez les bactéries lactiques. Il en résulte une accumulation de ce composé qui peut être inhibiteur de différents micro-organismes (Zalan *et al.*, 2005). En effet, son action peut se manifester aussi bien sur les germes indésirables que sur ceux indispensables au bon déroulement de la fermentation. L'inhibition, se fait par l'oxydation des lipides membranaires des souches cibles et/ou par la destruction des structures protéiques cellulaires (Zalan *et al.*, 2005). Certaines bactéries lactiques synthétisent la catalase hexamérique ou tétramérique, on parle de pseudocatalases. Celles-ci contiennent du manganèse, ce qui permet de protéger ces bactéries contre leur propre peroxyde d'hydrogène (Strus *et al.*, 2006).

6.6.3. Le dioxyde de carbone

Il est formé essentiellement, au cours de la fermentation hétérolactique. En créant un environnement anaérobie, il inhibe les microorganismes aérobies. Son accumulation dans la bicouche lipidique peut causer un dysfonctionnement de la perméabilité membranaire (Ammor *et al.*, 2006).

6.6.4. Le diacétyl

Le diacétyl est un composé aromatique essentiel. Plusieurs bactéries des genres *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Lactobacillus* et *Pediococcus*, peuvent le synthétiser (Leveau et Bouix, 1993). Sa capacité inhibitrice se manifeste vis-à-vis des levures, des bactéries à Gram-négatif. Les bactéries à Gram-positif non lactiques sont quant-à elles moins sensibles (El-Ziney *et al.*, 1998).

6.6.5. La reutérine

La reutérine (ou 3-hydroxypropionaldehyde) est un métabolite intermédiaire qui possède un effet antimicrobien. Il est produit lors de la fermentation anaérobie du glycérol par certaines espèces de *Lactobacillus* ainsi que par d'autres genres bactériens non lactiques tels que *Bacillus*, *Klebsiella*, *Citrobacter*, *Enterobacter* et *Clostridium* (El-Ziney *et al.*, 1998). La reutérine possède un large spectre d'activité et a des applications aussi bien dans le domaine médical que dans le domaine alimentaire (Vollenweider, 2004). Elle interfère avec la réplication de l'ADN chez les procaryotes (Gram-positif ou Gram-négatif), les eucaryotes, les virus, les champignons et les protozoaires.

6.6.6. Bactériocines

Les bactéries lactiques produisent des substances antimicrobiennes de nature protéique appelées bactériocines. Cette caractéristique est utilisée industriellement pour la destruction des bactéries indésirables et pathogènes dans la fabrication d'aliment comme la nisine produite par les *lactocoques* dirigée contre *Bacillus* et *Clostridium*, la plantaricine et la sakacine produites toutes les deux par les lactobacilles actives sur *E.coli*, *Listeria* et certaines levures (Zambunelli et Chiavari, 2002 ; Ogunbanwo *et al.*, 2003).

6.7. Activité autolytique

Le phénomène d'autolyse a été observé chez beaucoup de bactéries Gram négatives et positives. Il arrive généralement dans des conditions qui aboutissent à la cessation de la synthèse de peptidoglycane. L'autolyse bactérienne spontanée ou induite, résulte de la dégradation enzymatique du constituant majeur de la paroi cellulaire, le peptidoglycane par des peptidoglycanes hydrolases endogènes nommées « autolysines ». Les autolysines sont définies comme des enzymes bactériennes endogènes capables d'hydrolyser le peptidoglycane. Dans le cas des bactéries lactiques utilisées dans la fabrication des produits laitiers fermentés, l'autolyse des cellules, permettant de libérer leur contenu enzymatique intracytoplasmique, apparaît comme un moyen d'obtenir un développement plus rapide des qualités organoleptiques, une intensification de certains arômes (Shockman et Hôltje, 1994).

7. Intérêt des bactéries lactiques

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

7.1. Dans le domaine alimentaire

L'implication des bactéries lactiques dans la fermentation et la bioconservation des aliments est connue depuis la nuit des temps. Ainsi, les souches de *Lactobacillus bulgaricus* et *Sterptococcus thermophilus* sont utilisées pour la production du yaourt, des fromages et des laits fermentés (Yateem *et al.*, 2008). Le vin, les poissons, les viandes, les charcuteries, le pain au levain sont entre autres des produits de fermentation des bactéries lactiques (Badis *et al.*, 2005). L'utilisation de ces dernières a pour but l'amélioration des caractéristiques organoleptiques des produits fermentés et par conséquent augmenter la durée de leur conservation sans pour autant utiliser de conservateurs chimiques, et ce grâce aux substances antimicrobiennes qu'elles produisent. Les souches utilisées en industrie alimentaire doivent répondre à certains critères : absence de pathogénicité ou activité toxique, capacité d'améliorer les caractéristiques organoleptiques, innocuité, facilité de culture, de conservation, et maintenance des propriétés désirables lors du stockage.

7.2. Dans le domaine thérapeutique

Certaines bactéries lactiques spécifiques sont utilisées comme probiotique c'est-à-dire des microorganismes 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 ssp. bulgaricus* (Salminen *et al.*, 2004).

Les probiotiques, lorsqu'ils sont ingérés en quantité suffisante, exercent un effet théoriquement bénéfique sur la santé de l'hôte. Les probiotiques sont des bactéries ou levures, ajoutées comme compléments à certains produits alimentaires, comme les yaourts ou les céréales par exemple, et qui aident à la digestion des fibres, stimulent le système immunitaire et préviennent ou traitent la diarrhée (Isolauri *et al.*, 2001).

Les bactéries lactiques, considérées comme tant des probiotiques, confèrent des bénéfices à l'hôte en maintenant une balance de la microflore intestinale. Différentes études ont démontré aussi bien le rôle préventif que curatif de ces bactéries sur différents types de diarrhées. D'autres ont cité leur capacité à diminuer les allergies liées aux aliments grâce à leur activité protéolytique.

Cependant depuis quelques années l'usage des bactéries lactiques dans d'autres écosystèmes (vaginal, mammaire) est évalué, ouvrant ainsi de nouvelles perspectives thérapeutiques (contre les métrites ou les mammites), également dans l'élaboration des vaccins. Il a été démontré que la capacité des souches de *Lactobacillus crispatus*, utilisées sous forme de suppositoires à 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, ainsi que des problèmes liés aux infections urinaires (Zergoug, 2017).

Lait et produits laitiers

1. Le lait

Le lait est le produit intégral de la traite totale ininterrompue d'une femelle laitière, vache, jument, chèvre, brebis, etc..., bien portante, bien nourrie et non surmenée (Debry, 2001). Il apparaît comme un liquide opaque, blanc mat, plus moins jaunâtre selon sa teneur en β -carotènes et en matière grasse, il a une odeur peu marquée mais reconnaissable (Cniel, 2006).

Le lait est un aliment nutritif pour les êtres humains, indispensable pour le nouveau-né, comme il s'avère très bénéfique pour l'adulte. Il constitue un milieu propice pour la croissance de nombreux micro-organismes, en particulier les bactéries pathogènes (Chye *et al.*, 2004).

Comparativement aux autres aliments, il constitue un élément de haute valeur nutritionnelle (tableau 02) (Cheftel *et al.*, 1984 ; Leroy, 2004).

- une source de protides d'excellente valeur biologique ;
- la principale source de calcium ;
- une source de matière grasse ;
- une bonne source de vitamines ; Vitamines A, D, E (liposolubles) et Vitamines B1, B2, B3 (hydrosolubles).

La haute qualité nutritionnelle des protéines du lait repose sur leur forte digestibilité et leurs compositions particulièrement bien équilibrée en acides aminés indispensables. Pour les nouveau-nés, les protéines du lait constituent une source protéique adaptée aux besoins de croissance durant la période néonatal (Derby, 2001).

Tableau 02 : Variation de la composition du lait d'une espèce animale à une autre (Alais, 1984 ; Amiot *et al.*, 2002).

Eléments en g/l	Vache	Chèvre	Brebis	Chamelle
Eau	900-910	900	860	902
Extrait sec total	125-135	140	190	140
Matière grasse	35-45	45-50	70-75	46
Matière protéique	30-36	35-40	55-60	36
Caséines	27-30	30-35	45-50	28
Protéines solubles	4-5	6-4	8-10	8
Matière minérale	7.5-8.2	8-10	10-12	7.2
Lactose	40-50	40-45	45-50	50

1.1. La Microbiologie du lait

Le lait contient peu de micro-organismes lorsqu'il est prélevé dans des bonnes conditions, à partir d'un animal sain (Larpen, 1997). Il est stérile dans les cellules du pis, cependant la glande mammaire, la peau du pis, le matériel de traite, la litière, la qualité de l'air, la manutention et la température de conservation du lait et les pratiques des éleveurs sont des sources de contamination (Tolle, 1980; ; Robinson, 2002 ; Ménard *et al.*, 2004).

Le lait est un aliment dont la durée de vie est très limitée. En effet, son pH voisin de la neutralité, le rend très facilement altérable par les microorganismes et les enzymes (Gosta, 1995), principalement, les bactéries et parfois des levures, des moisissures ou des virus. De très nombreuses espèces bactériennes sont susceptibles de se développer dans le lait qui constitue, pour elles, un excellent substrat nutritif. Au cours de leur multiplication dans le lait, elles libèrent des gaz (oxygène, hydrogène, gaz carbonique, etc.), des substances aromatiques, de l'acide lactique (responsable de l'acidification en technologie fromagère), diverses substances protéiques, voire des toxines pouvant être responsables de pathologie chez l'homme (Institut de l'élevage, 2009).

1.1.1. La microflore indigène ou originelle

Lorsqu'il est prélevé dans de bonnes conditions, et provient d'un animal sain. Le lait, devrait contenir moins de 5000UFC/ml (Guiraud, 1998). La flore originelle des produits laitiers se définit comme l'ensemble des microorganismes retrouvés dans le lait à la sortie du pis. Les genres dominants sont essentiellement des mésophiles, microcoques, mais aussi streptocoques lactiques et lactobacilles (Vignola, 2002).

Ces microorganismes, plus ou moins abondants, sont en relation étroite avec l'alimentation et n'ont aucun effet significatif sur la qualité du lait et sur sa production (Guiraud, 2003).

1.1.2. La flore de contamination

Cette flore est l'ensemble des microorganismes contaminant le lait, de la collecte jusqu'à la consommation. Elle peut se composer d'une flore d'altération, qui causera des défauts sensoriels ou qui réduira la durée de conservation des produits, et d'une flore pathogène dangereuse du point de vue sanitaire (Vignola, 2002).

Le lait se contamine par des apports microbiens d'origines diverses (Guiraud, 2003) :

- fèces et téguments de l'animal : Coliformes, Entérocoques, *Clostridium* et éventuellement les Entérobactéries pathogènes (*Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia* etc.) ;
- sol : *Streptomyces*, *Listeria*, bactéries sporulées, spores fongiques ;
- litières et aliments : flore banale variée, en particulier lactobacilles, *Clostridium butyriques* (ensilages) ;
- air et eau : flores diverses dont, *Pseudomonas*, bactéries sporulées ;
- équipement de traite et de stockage du lait : microcoques, levures et flore lactique avec lactobacilles, Streptocoques (*Streptococcus*, *Lactococcus*, *Enterococcus*), *Leuconostoc* ;
- manipulateurs : Staphylocoques dans le cas de traite manuelle, mais aussi germes provenant d'expectorations et de contaminations fécales ;
- vecteurs divers (insectes en particulier) : flore de contamination fécale. Parmi ces micro-organismes, il en est d'inoffensifs, d'autres de dangereux du point de vue sanitaire, d'autres capables d'entraîner la détérioration du lait.

1.1.2.1. Flore pathogène

Sa présence dans le lait est due à l'animal, à l'environnement ou à l'homme. Les bactéries pathogènes sont responsables des affections reliées à la santé des manipulateurs et des consommateurs.

Cette contamination peut être d'origine endogène, suite à une excrétion mammaire de l'animal malade et peut aussi être d'origine exogène, il s'agit alors d'un contact direct avec des troupeaux infectés ou d'un apport de l'environnement ou bien liées à l'homme (Brisabois *et al.*, 1997 ; Lamontagne *et al.*, 2002). Une fois ingérées, elles dérèglent le système digestif. Il s'agit de *Salmonella* spp., *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Clostridium perfringens* et *Campylobacter* spp. et les bactéries toxigène responsable de l'intoxication de consommateur *Staphylococcus* spp. et *Clostridium botulinum* (Vignoola, 2002).

1.1.2.2. La flore d'altération

La flore d'altération causera des défauts sensoriels de goût, de l'arôme, de l'apparence ou de la texture. Par exemple, texture visqueuse à la surface du fromage, présence de longs filaments dans le lait, caillage du lait, production de mauvaises odeurs (soufrée, ammoniacale, fruitée et atypique) dues à certaines activités métaboliques telles que la protéolyse ou la lipolyse et gazéification du lait provoquant des trous involontaires ou des gonflements durant l'affinage du fromage (Essalhi, 2002).

Les principaux genres identifiés comme flore d'altération sont: *Pseudomonas* spp, *Proteus* spp., Coliformes principalement *E.coli* et *Enterobacter*, les sporulés, tels que *Bacillus* spp. et *Clostridium* et certaines levures et moisissures (Vignoola, 2002).

Le lait peut être contaminé aussi par des bactéries capables de se développer au-dessous de 15-20°C appelle bactéries psychrophiles (Guiraud. 2003). Il s'agit essentiellement de : *Acinetobacter*, *Clostridium*, *Pseudomonas* et *Flavobacterium* qui se développent à une température allant de 3 à 7°C (Leveau et Bouix, 1993). *Listeria monocytogenes* capable de se multiplier à une température comprise entre 0°C et 10°C est qualifiée de ce fait de psychrotrophe (Rosset, 2001).

2. Produits laitiers fermentés

La production traditionnelle constitue l'essentiel de la production internationale. Elle est très difficile à évaluer, d'autant que le cheptel est lui-même difficile à estimer. La consommation de produits laitiers en équivalent lait entier par habitant dépend des habitudes et du contexte socio-économique du pays. En Europe elle est, par exemple, plus élevée au nord que dans les régions méditerranéennes. Au niveau mondial, les Américains et les Européens ont pris l'habitude d'en consommer régulièrement. A l'inverse, globalement, toutes les populations asiatiques n'en consommaient jusqu'à présent pas ou très peu (Soltesz *et al.*, 2007).

Les pays d'Afrique du Nord (Algérie, Maroc, Tunis, Lybie et Egypte) ont une tradition très riche en technologie alimentaire, et de nombreux aliments traditionnels d'origine animale ou végétale sont encore largement consommés et même très appréciés. En fait, ces aliments jouent un rôle important dans l'économie et la sécurité alimentaire dans ces pays. Pourtant, ils sont encore principalement établis au niveau domestique dans des conditions sanitaires déplorable et commercialisés par des voies informelles. La variété des centaines de produits laitiers sont connus et toujours très appréciés par les consommateurs de ces pays. Le plus populaire d'entre eux sont *rayeb*, *jben* Marocan, *lben*, *klila* et *smen* (Benkerroum et Tamime, 2004 ; Abd-Elsalam et Benkerroum, 2006 ; Mechai *et al.*, 2014)

2.1. Les produits laitiers en Algérie

L'Algérie a une tradition bien établie sur les produits laitiers, transmise d'une génération à une autre, qui a un aspect important de la culture Algérienne. Le lait, abondant durant certains moments de l'année, est facilement périssable et difficile à conserver, surtout dans les zones à climat très chaud Dans n'importe quelle culture, il a été toujours traité pour augmenter la

durabilité et la valeur nutritive pour une consommation domestique et au même temps de permettre la commercialisation du surplus (Bencharif, 2001). Les femmes algériennes, comme chez toutes les cultures pastorales, s'occupent des travaux ménagers, en plus des activités agricoles et pastorales qui se déroulent à l'intérieur et à l'extérieur de l'habitat rural, comme la collecte et la transformation du lait (Medouni *et al.*, 2005).

Il existe un grand nombre de produit laitiers fermentés provenant de plusieurs Wilayas algériennes et qui diffèrent par leur matière première, leur flore microbienne, leur technologie, leur texture, leur goût et leur durée de conservation (tableau 03, 04 et 05).

Tableau 03 : Lait fermentés produit localement.

Boisson	Définition et caractéristique
Le <i>rayeb</i> ou lait caillé	Les levains lactiques dégradent le lactose en acide lactique et confèrent par la suite, une acidité favorable à la conservation du produit et à la coagulation de la caséine qui forme un gel avec très peu d'exsudation du lactosérum (Dieng, 2001). La fermentation varie selon la saison entre 24 heures et 72 heures (Guerzani, 2003).
<i>Lben</i>	Le lait est laissé coagulé à température ambiante (de 24 à 48 h suivant la saison) (figure 04). Le barattage qui lui succède dure 30 à 40 min. A la fin du barattage, on ajoute généralement un certain volume d'eau (environ 10 % du volume du lait), chaude ou froide, suivant la température ambiante, de façon à ramener la température de l'ensemble à un niveau convenable au rassemblement des grains de beurre (Bendanou, 1981; Tantaoui-Elaraki <i>et al.</i> , 1983).

Tableau 04 : Produits fermentés à base des dérivés laitiers gras.

Dérivés laitiers gras	Définition et caractéristiques
La crème, la <i>zabda</i> ou beurre frais	Elle est obtenue après barattage du <i>rayeb</i> . Ce dernier est occasionnellement augmenté d'une quantité d'eau tiède (40-50°C) à la fin du barattage pour favoriser l'agglomération des globules lipidiques et accroître le rendement en beurre (Bouadjaib, 2013 ; Oucherif et Sellema, 2015). La crème est la fraction riche en garnisse qui s'élève et se rassemble à la surface du lait, elle contient au moins 30% de matière grasse. Elle ne contient au maximum que 18% de matières non lipidiques dont 16 % d'eau (Guiraud, 2012).
<i>Smen</i> ou <i>dehan</i>	Le terme <i>smen</i> désigne généralement des produits préparés de façon artisanale à partir du beurre cru par lavage et salage, puis conditionnement dans des pots en terre et conservation à l'abri de l'air et de la lumière pour une durée variable d'au moins six mois (El Marrakchi <i>et al.</i> , 1986) (figure 04).

Tableau 05 : Différents types du fromages traditionnels algériens.

Fromage	Définition et caractéristique
<i>Jben</i> (Frais)	C'est un fromage frais, traditionnel, obtenu par acidification spontanée à une température ambiante, pendant 24 à 72h selon la température (figure 04). Il est fabriqué avec le lait cru de brebis ou de chèvre, acidifié spontanément et coagulé des enzymes coagulantes d'origine végétale issue des fleurs de chardon (Nouani, 2009).
<i>Bouhazza</i> (affiné)	Bouhezza est un fromage fabriqué et consommé par les populations des chaouia, qui vivent dans la région d'Aurès (figure 04) (Belbeldi, 2013 ; Abid, 2015). Il est fabriqué à partir de lait cru non ensemercer (Bouadjaib, 2013 ; Belbeldi, 2013).
<i>Klila</i> ou caséine desséchée	En Algérie, la <i>klila</i> est préparée à partir du lben chauffé sur feu doux pendant 12 minutes environ pour favoriser la séparation du caillé et du lactosérum et accélérer le processus d'égouttage (figure 04). Le lait caillé est ensuite égoutté dans un tissu fin (Touati, 1990).



Figure 04 : Exemples des produits laitiers; (a) : *klila* ; (b) : *jben*; (c) : *Bouhezza* (Bouadjaib.,2013 ; Bougherara et Grazza, 2015 ; Djeddar et Dahdouh, 2017) ; (d) : *Smen* ; (e) : *Lben* (Benderouich, 2009).

A côté des produits précédents, il existe des préparations locales circonscrites à certaines régions de l'Algérie (Kabylie, Hoggar, Aurèsetc) tel que :

- *Takammart* : fromage traditionnel à la base de lait de chèvre (Nouani *et al.*, 2009).
- *Ighounane* : fromage fabriqué en kabylie à partir du colostrum ou de lait de vache (Agroligne, 2001 ; Mahamedi, 2015).
- *Méchouna* : est un fromage largement fabriqué à Tébessa, essentiellement dans la région rurale El Kouif (El-Baradei *et al.*, 2008).
- *Ibakhbakhane* : originaire de la région des Aurès, l'*Ibakhbakhane* est produit à partir d'une mixture de Frik d'orge (Marmaz) et de *lben* soumis à une fermentation à des températures inférieures à 20 °C par immersion dans un puits pendants 2 à 5 jours (Bendimerad, 2013).

- *Imadhghass* : produit dans la région des Aurès, ce fromage est connu dans la zone du Chaouia coté l'Imdhgheghass est produit à partir d'une mixture de *klila* fraiche et de lait frais. Le produit est consommé comme un dessert (Lahsaoui, 2009).
- *Adhghass* : fabriqué à partir d'un mélange de colostrum et d'œufs qui est ensuite cuit, Produit dans la région des Aurès (Mahamedi, 2015).
- *Aghoughlou* : fromage fabriqué en Kabylie, il est obtenu à partir de lait frais de vache ou de chèvre coagulé par la sève du figuier (Mahamedi, 2015).
-

Matériel et Méthodes

1. Echantillonnage

Quatre échantillons de *smen* de lait de chèvre sont analysés dans la présente étude. Leurs caractéristiques sont présentées dans le tableau 06. Les échantillons de *smen* (100g) sont prélevés dans des sacs en plastiques et conservés à 4 ° C au réfrigérateur.

Tableau 06: Caractéristiques des échantillons de *smen* de lait de chèvre collectés dans la Wilaya de Khenchela

Echantillon	Durée de conservation (mois)	Origine
E 1	12	El-hamma
E 2	7	El-hamma
E 3	3	Chechar
E 4	1	El-mahmel

2. Mesure du pH des échantillons

Une quantité de 10g de chaque échantillon de produits a été homogénéisés avec 90 ml d'eau péptonée tamponnée. Le pH des échantillons a été déterminé avec trois répétitions directement en utilisant un pH-mètre (HANNA Instrument) (Owusu-Kwarteng, 2012).

3. Isolement de la flore lactique et fongique

10 g de chaque échantillon *smen* sont ajoutés à 90 ml d'eau péptonée à 1% et homogénéisés pendant 45 min sur la plaque d'agitation. A partir de cette dilution 10^{-1} des dilutions décimales sont réalisées de 10^{-2} à 10^{-4} .

3. 1. Isolement de la flore lactique

100 μ l (0.1 ml) de chaque dilution préparée est ensemencé en surface par la technique d'étalement en râteau en utilisant une pipette pasteur dans des boites de Pétri stérile préalablement couler par des milieux de culture sélectifs :

- Le milieu MRS agar (De Man *et al.*, 1960) incubé en anaérobiose (créé par le biais d'une bougie) à 30° C pendant 48 h.
- Le milieu MRS agar salé (5%) incubé en anaérobiose à 30° C pendant 48 h utilisé pour l'isolement de la flore halophiles.

Les dénombrements sont effectués sur les boîtes contenant entre 10 et 300 colonies. Le nombre de microorganisme est calculé par ml ou gramme d'échantillon suivant l'équation (moyenne pondérée):

$$Nc = \frac{\sum c}{(N1+0.1N2) * d}$$

- Σc : somme des colonies comptées dans toutes les boîtes retenues
- N1 : nombre de boîtes comptées à la première dilution retenue.
- N2 : nombre de boîtes comptées à la deuxième dilution.
- d : facteur de dilution de la première dilution retenue.

3. 1.1.Purification et sélection présomptive des bactéries lactiques

Les colonies bien individualisées et supposées représentatives des bactéries lactique à savoir leur apparence macroscopique (l'aspect de la colonie : forme, taille, pigmentation, contour, viscosité) sont sélectionnées aléatoirement à partir des boites contenant un nombre des différents milieux de cultures utilisés (MRS agar, MRS salé). Les isolats ont été purifiés par des repiquages successifs sur leurs milieux de culture sélectifs. La pureté des isolats a été vérifiée par l'observation de l'homogénéité de la morphologie ; jusqu'à l'obtention des colonies de même taille, même forme et même couleur.

3. 1.2. Conservation des isolats

La conservation des isolats à court terme est faite sur gélose MRS (Badis *et al.*, 2005). Après croissance à la température optimale, les cultures sont maintenues à +4°C.

3.1.3. Identification partielle des bactéries lactiques

a) Examen macroscopique

Cette étude est basée sur l'observation visuelle de la culture sur son milieu solide ; pour caractériser la taille, la forme, le diamètre, la pigmentation et l'aspect des colonies (Badis *et al.*, 2005).

b) Examen microscopique (coloration de Gram)

Les isolats ont été soumis à la coloration de Gram qui a été effectuée selon le protocole décrit par Prescott *et al.*, (2003). Cette coloration permet de différencier les bactéries en deux

groupes, les bactéries Gram positif se colorant en violet et les bactéries Gram négatif se colorant en rose. Elle permet aussi d'observer la morphologie des cellules bactériennes (les bâtonnets et les coques) et l'arrangement cellulaire (mode d'association).

c) Test catalase

La catalase est une enzyme contenant du fer, qui catalyse la décomposition du peroxyde d'hydrogène ($H_2 O_2$) en eau et en oxygène. Synthétisée par la plupart des bactéries aérobies, elle élimine le peroxyde d'hydrogène produit au cours du métabolisme aérobie.

Cette activité a été réalisée selon le protocole expérimental décrit par Prescott *et al.*, (2003). Ce test consiste à mettre une colonie prélevée du milieu MRS gélosé à l'aide d'une anse stérile dans de l'eau oxygénée. Le dégagement gazeux abondant (dû à un dégagement de dioxygène) sous forme de mousse traduit la décomposition de l'eau oxygénée et ça signifie qu'il y'a production de l'enzyme catalase et que le test est positif.

3. 2. Isolement des levures

A partir des dilutions décimales, 10^{-1} à 10^{-4} de chaque échantillon, 100 μ l sont étalé aseptiquement à l'aide d'un râteau dans une boîte de Pétri contenant le milieu Sabouraud, puis incubées en aérobiose à 30 ° C pendant 3 à 5 jours.

3.2.1. Purification et sélection présomptive des levures

Des colonies bien individualisées et supposées représentatives des levures (l'aspect de la colonie : forme, taille, pigmentation, contour, viscosité) sont sélectionnées aléatoirement selon le même protocole décrit précédemment pour les bactéries lactiques.

3.2.2. Identification partielle des levures

a) Examen macroscopique

L'étude de l'aspect macroscopique consiste en une observation à l'œil nue de la taille (petite, moyenne, grande), de la forme de la colonie (ronde, irrégulière, etc.), de la transparence, de l'élévation de la colonie, du type de la colonie et de son relief (Camille, 2007).

b) Examen microscopique (Coloration au bleu de méthylène)

Cet examen repose sur la méthode classique; les frottis utilisés sont étalés à l'aide d'une anse sur des lames en verre propres. Les lames sont ensuite séchées à l'air, à proximité d'un bec

bunsen, puis fixées par la chaleur en les passant deux ou trois fois sur la flamme. Les frottis préparés sont colorés pendant 2 minutes au bleu de méthylène puis ils sont décolorés par lavage à l'eau du robinet, séchés par le papier filtre et examinés au microscope (Guiraud, 1998).

3.2.3. Conservation des levures

La méthode de conservation des souches la plus utilisée et la plus simple consiste à repiquer les levures sur gélose Sabouraud, les cultures sont incubées pendant 3 à 5 jours, pour permettre une croissance maximale, puis elles sont stockées à 4°C pour favoriser leur viabilité et limiter les possibilités de variations (UI-Haq *et al.*, 2002).

3.3. Isolement et dénombrement des moisissures

A l'aide d'une pipette pasteur on a prélevé 0.1 µl de chaque dilution de chaque échantillon et on a l'ensemencé sur le milieu PDA et l'incubé à 28°C pendant 5 jours, l'aspect cultural des colonies est observé et le diamètre est mesuré chaque 24h d'incubation (Botton *et al.*, 1990; Samson, 2007).

3.3.1. Purification et sélection présomptive des moisissures

Les colonies bien individualisées et supposées représentatives des moisissures selon leurs caractères macroscopiques sont sélectionnées à partir des boîtes contenant entre 10 à 300 colonies. Après incubation, les souches obtenues sont repiquées par touche sur le PDA (Potato Dextrose Agar) jusqu'à obtention de souches pures.

3.3.2. Identification partielle des moisissures

a) Examen macroscopique

Les caractères morphologiques et culturaux sont déterminés après ensemencement des souches pures sur milieu de culture PDA. L'identification se fait à l'œil nu et elle se base essentiellement sur les caractères décrits par Botton, 1990:

- La texture des colonies ;
- La couleur des colonies ;
- La couleur du revers de la culture.

b) Examen microscopique

L'observation microscopique est effectuée par la technique de Scotch, Cette technique consiste à adhérer à l'aide d'un bout de scotch une fraction mycélienne à partir d'une culture jeune et de la coller sur une lame contenant quelques gouttes d'eau distillée (Chabasse *et al.*, 2002). Après nous avons identifié le champignon par une simple coloration (au bleu de méthylène) et observation microscopique à l'objectif x 100 (Botton, 1990).

3.3.3. Conservation des isolats

Les moisissures purifiées sont conservées à 4°C après être ensemencées sur gélose PDA inclinées et incubées à 28°C pendant 7 jours.

4. Détermination du pouvoir antifongique des bactéries lactiques

Dans cette partie, l'activité antifongique des isolats lactiques sélectionnés a été recherchée contre 3 souches fongiques mentionnées dans le tableau 07.

Tableau 07 : Les souches fongique tests et leurs références.

Souches test	Références
<i>Aspergillus flavus</i>	UBOCC-A-106028
<i>Penicillium</i> sp.	1
<i>Penicillium</i> sp.	2

Penicillium sp. (1) ; *Penicillium* sp. (2) : Contaminants

4.1. Préparation des pré-cultures des souches fongiques test

Les moisissures test qui ont déjà été pré-cultivées sur l'extrait de malt agar (MA) rajouté de 5 à 15 ml d'eau distillée stérile selon la concentration de la suspension (afin de faciliter le dénombrement) et on effectue un frottement légère afin de dissocier les spores, cette suspension est filtrée sur papier Wathman N°=100 mm et dénombrée par cellule de Malassez.

4.2. Criblage *in vitro* des activités antifongiques

Pour la recherche de l'activité antifongique, la méthode de la double couche ou de recouvrement, décrite par Magnusson *et al.* (2003), a été utilisée pour les bactéries lactiques. Les isolats ont été d'abord ensemencés en une seule strie de 2 cm de longueur sur MRS agar, puis incubés à 30°C pendant 48h. Les colonies obtenues ont été ensuite recouvertes par 10 ml de

milieu d'extrait de malt agar (0.5 % d'agar) avec une concentration finale de 10^6 spores/ml de chaque souche test. Après 72 h d'incubation à 30°C, les zones d'inhibition ont été évaluées autour des stries de bactéries selon les critères suivants : absence ou présence de zones d'inhibition autour des BL testées.

5. Détermination du pouvoir d'antagonisme des levures

Le pouvoir d'antagonisme des levures a été recherché suivant la méthode de Chen *et al.*, (2018) légèrement modifiée. Brièvement, les isolats ont été d'abord ensemencés en une seule strie de 2 cm de longueur sur milieu malt agar, puis incubés à 28° C pendant 72 h. Après l'obtention des colonies une goutte de chaque suspension sporale est mise dans un coté de la boîte Pétrie suivie d'une incubation de 7 h à 30°C. Les activités ont été évaluées autour des levures cultivées sur MA selon les critères l'absence ou la présence de la zone d'inhibition entre la levure et la moisissure testée.

6. Détermination du pouvoir lypolitique des isolats sélectionnés

Le principe de cette méthode est la précipitation des phospholipides sous l'influence d'une lipase. Si les isolats testés possèdent une enzyme lipolytique, la précipitation des phospholipides sera visible sous forme d'un halo opaque autour des colonies. En outre, si l'activité lipasique est intense, la précipitation apparait sous forme de cristaux visible à l'œil nu (Guiraud et Galzy, 1980).

La production de lipase a été testé sur un milieu solide selon la méthode décrite par Ortansa *et al.*, (2015). Les isolats de BL et de levures ont été cultivés sur milieu MRS et MA respectivement, puis une seule colonie de chaque isolat a été étalée sur boîte de Pétri contenant le milieu suivant : peptone à 1%, NaCl à 0,5 %, $CaCl_2$ à 0.4 %, agar à 2 % et Tween 80 à 0.5 %.

Résultats et discussion

1. pH des échantillons

Les valeurs moyennes du pH des échantillons du *smen* sont situées entre 6.00 à 6.22 (figure 05), ce qui est supérieur à celles rapportés par Kacem et Karam, (2006) où les analyses de pH du *smen* de lait de chamelle de quatre wilayas d'Algérie, présentent des valeurs de pH qui varient entre 3,10 et 4,87. Nos résultats peuvent être expliqués par l'âge des échantillons qui varient entre 1 à 12 mois ce qu'influence la charge de la flore lactique et cette dernière influence à son tour le pH; plus la charge est élevée plus il y a une augmentation de la production d'acide lactique et par la suite abaissement de pH (Park *et al.*, 2014).

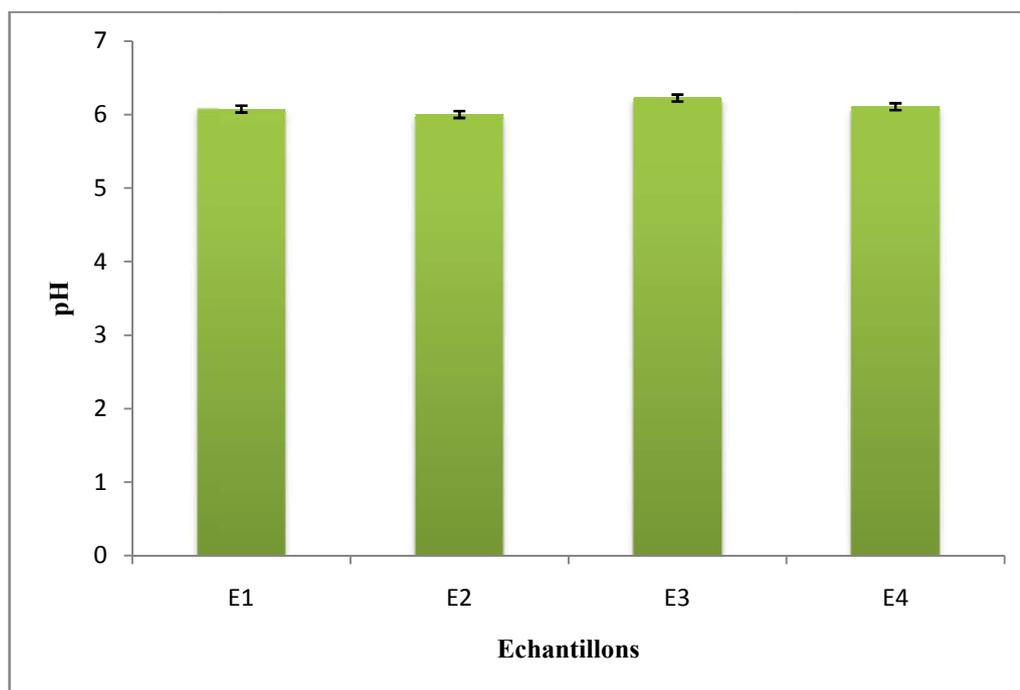


Figure 05 : Les valeurs moyennes du pH des quatre échantillons de *smen* de lait de chèvre.

2. Isolement et identification

2.1. Dénombrement de la flore lactique

L'isolement de la flore lactique a été ciblé par l'utilisation de deux milieux de culture sélectifs ; MRS agar et MRS salé. Un développement de deux ou plusieurs aspects morphologiques sur un même milieu a été clairement observé. Les dénombrements sont présentés dans le tableau 08.

Tableau 08 : Dénombrement de la flore lactique exprimé en UFC/g.

Echantillons	E1	E2	E3	E4
MRS agar	9.70×10^6	1.45×10^4	3.25×10^4	1.75×10^5
MRS salé	3.80×10^4	1.30×10^4	2.11×10^4	1.86×10^4

Le dénombrement de la flore, présumée lactique, est très différent d'un échantillon à l'autre. Dans la présente étude, les échantillons de *smen* possèdent une charge moyenne de bactéries lactiques allant de 130×10^4 jusqu'à 9.70×10^6 UFC/g sur les deux milieux. Ces résultats sont en accord avec ceux rapportés par de nombreux auteurs, qui ont montré que l'écosystème de ce type de beurre traditionnel ou de produits similaires, est dominé par la flore lactique indigène Belyagoubi et Abdelouahid, (2013) ont montré que la *zebda* de la région d'Adrar à une charge lactique de 5×10^4 UFC/g sur les milieux MRS et M17 respectivement.

2.1.1. Identification macroscopique et microscopique

Les tests macroscopiques et microscopiques de la flore lactique isolée à partir des échantillons de *smen* nous ont permis de sélectionner 4 isolats sur 13, présentant des caractères similaires aux bactéries lactiques (Gram+, catalase-) (figure 06 et tableau 09).

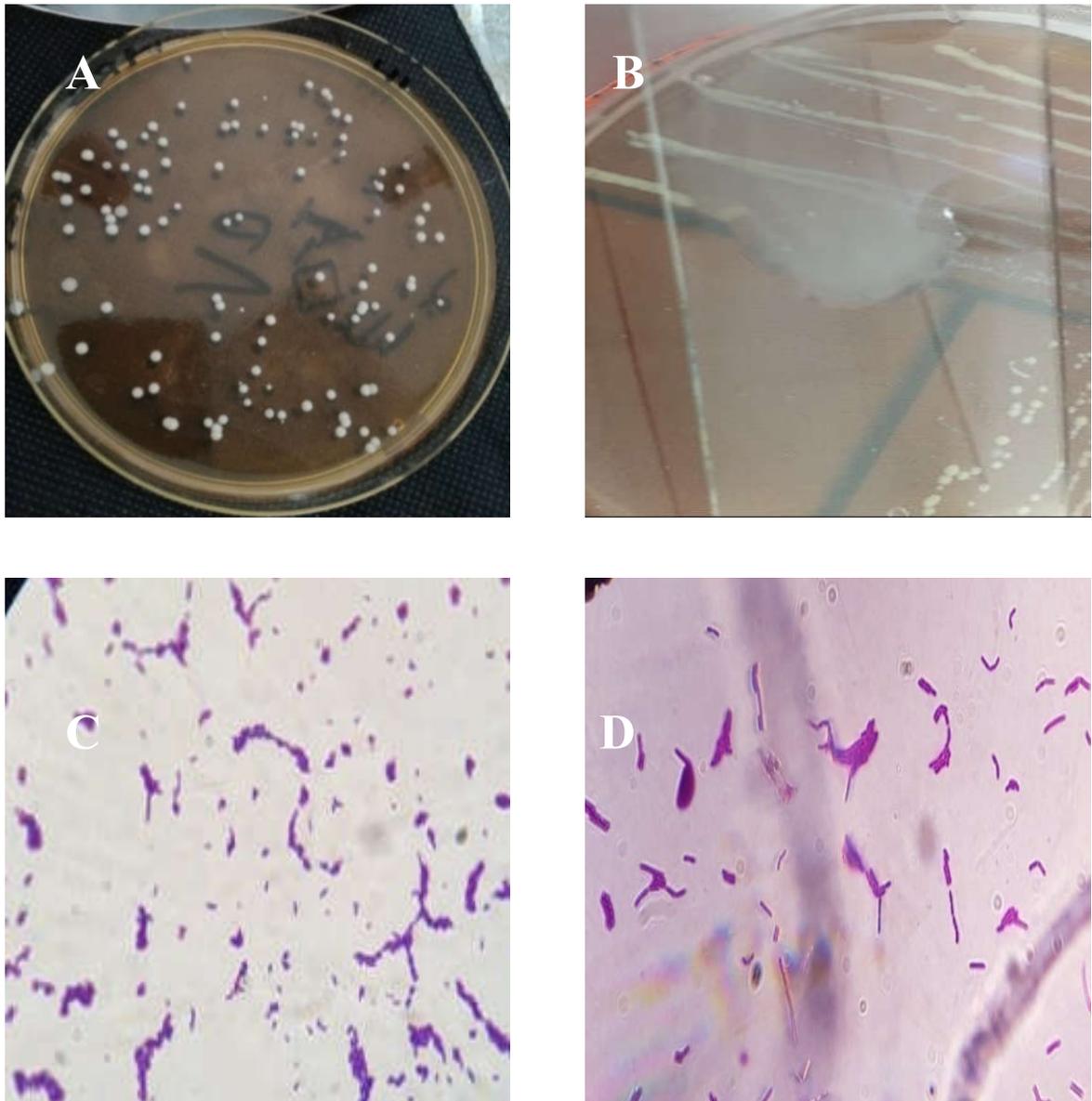


Figure 06: Caractéristiques microscopiques et macroscopiques des isolats lactiques. (A) aspect des colonies sur milieu MRS, (B) catalase négative, (C) coques à Gram + Gr x100, (D) bacille à Gram + (Gr x100)

Tableau 09 : caractéristique macroscopiques et microscopiques des 13 bactéries sélectionnées.

Isolats	Caractéristiques macroscopiques	Caractéristiques microscopiques				Echantillons
	Aspect et couleur de la colonie	Forme des cellules	Mode de regroupement	Gram	Catalase	
BL1	Crémeuse, petite	Bacille	En amas, en chaînettes ou isolées.	-	-	E1
BL2	Blanche, petite	Bacille	Isolés, diplots, en chaînettes	+	-	E3
BL3	Blanche, petite	Bacille	En amas, en chaînettes ou isolées.	-	-	E1
BL4	Blanche, très petite	bacille	En chaînette, diplots ou isolées.	-	-	E1
BL5	Blanche, petite	bacille	Isolées, diplots ou en chaînettes.	+	-	E2
BL6	Crémeuse, bombée,	Bacille	En chaînettes	+	+	E1
BL7	Blanche, petite	coccobacille	. Diplots ou en chaînettes	-	-	E1
BL8	jaune, petite	coccobacille	En amas ou en chaînettes	-	+	E1
BL9	Blanche, petite	Bacille	Isolées, diplots, en chaînettes ou en amas.	+	-	E2
BL10	Blanche, grand	Bacille	En amas ou en chaînettes	+	-	E2
BL11	Blanche, très petite	Coccobacille	Isolées ou diplots	-	-	E1
BL12	Transparente, petite	Long bacille	Isolées ou diplots	-	-	E1
BL13	Blanche, bombée	Cocci	En chaînettes	+	+	E1

(+) test positif ; (-) test négatif

Les cultures obtenues sur boîtes de Pétri sont observées à l'œil nu, ils montrent divers aspects de colonies. Nous avons remarqué des colonies lenticulaires de couleur jaune claire, transparente ou blanche, soit de taille variable allant de petite jusqu'à très petite pour certaines, parmi lesquelles on trouve des colonies à contour régulier ou non.

04 isolats seulement, à Gram positif et catalases négatifs (BL2, BL5, BL9 et BL10) sur les 13 présélectionnées sont retenus pour les analyses suivantes. Cela est probablement dû au procédé de fabrication et la longue conservation de produit qui entraînent une diminution considérablement de la flore microbienne étudiée. L'inhibition des microorganismes résulte de l'action conjuguée des acides gras libres et du chlorure de sodium (Abdelmoumen, 2015).

2.2. Dénombrement des levures

Les résultats du dénombrement des levures par échantillon sont mentionnés dans le tableau ci-dessous :

Tableau 10 : Dénombrements des levures exprimés en UFC/g.

Echantillons	E1	E2	E3	E4
Dénombrement	00	6.90×10^3	5.80×10^6	6.30×10^6

Le dénombrement des levures sur milieu Sabouraud montre que 3 échantillons de *smen* (E2, E3 et E4) se caractérisent par la présence des levures. Cependant, aucune levure n'a été détectée au niveau de l'échantillon E1. La présence des levures dans des produits laitiers fermentés, a été rapporté par un nombre aussi important dans la *klila* marocaine décrite par Mennane *et al.*, (2007) et Rhiat *et al.*, (2013), et dans le beurre de Djelfa étudié par Guetouache et Guessas, (2018).

La charge notée en levures est la conséquence, probablement de l'exposition prolongée des produits à l'air libre; soit au cours de la préparation, soit au moment de la conservation. Les contaminations peuvent être véhiculées par le matériel utilisé à la fabrication. Ainsi ce résultat peut être lié à leur caractère acidophile et à leur faible sensibilité aux bactéries lactiques antagonistes. En effet, les levures présentes dans cet écosystème peuvent appartenir soit au microbiote fermentaire ou à la flore d'altération (Benkerroum *et al.*, 2013).

2.2.1. Identification macroscopique et microscopique

14 isolats de levures sont sélectionnés pour l'étude macroscopique et microscopique à partir du *smen* de lait de chèvre (tableau 11 et figure 07). Après la réalisation des tests préliminaires tous ont été retenus pour les analyses suivantes :

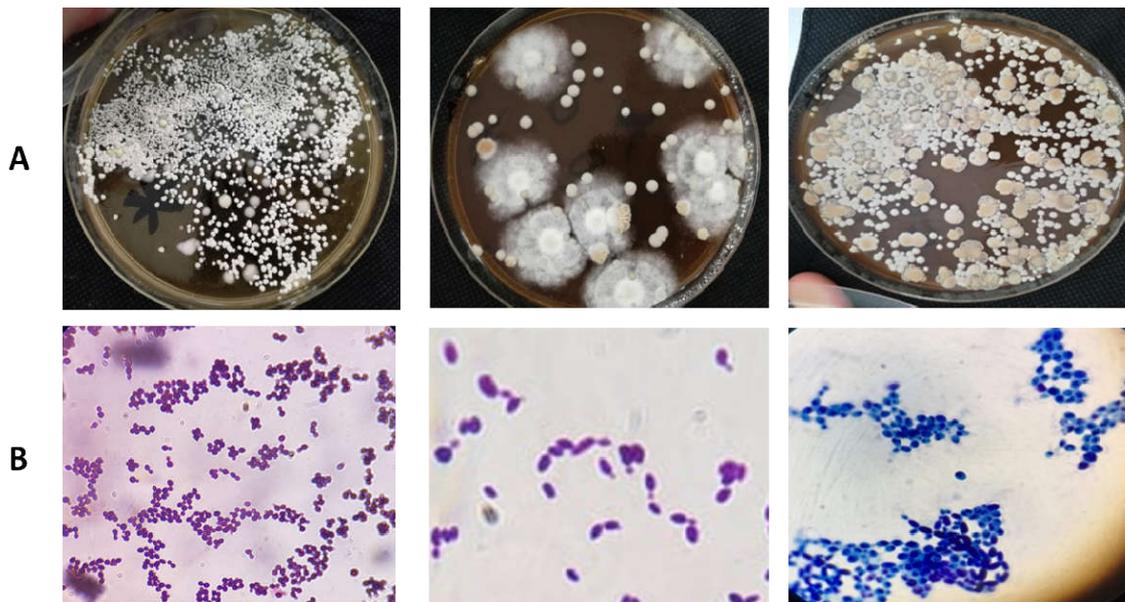


Figure 07 : Caractéristiques microscopiques et macroscopiques des levures. (A) aspect des colonies sur milieu Sabouraud, (B) aspect microscopique (Gr x 100).

Tableau 11 : caractéristiques macroscopiques et microscopiques des 15 bactéries isolées.

Isolats	Caractéristiques macroscopiques	Caractéristiques microscopiques		Origine
	Aspect et couleur de la colonie	Forme	Mode de regroupement	
L1	Crémeuse, grande	Cocci bourgeonné	Diplots ou en amas.	E2
L2	Crémeuse, grande	Cocci bourgeonné	Diplots ou en chainettes	E2
L3	Crémeuse, grande	Cocci bourgeonné	Isolées, diplots ou en amas	E2
L4	Crémeuse, grande	Cocci bourgeonné	Isolées, diplots ou en chainettes	E2
L5	Crémeuse, grande	Cocci bourgeonné	En amas ou en chainettes	E2
L6	Crémeuse, grande	Cocci bourgeonné	Isolées ou diplots	E2
L7	Crémeuse, grande	Cocci bourgeonné	En amas	E3
L8	Crémeuse, grande	Cocci bourgeonné	Isolées, diplots, en amas ou en chainettes	E3
L9	Crémeuse, moyenne	Cocci	Isolées, diplots ou en chainettes.	E3
L10	Crémeuse, grande	Cocci bourgeonné	Isolées ou en amas.	E3
L11	Crémeuse, grande	Cocci bourgeonné	Isolées, diplots ou en chainettes.	E4
L12	Crémeuse, moyenne	Cocci bourgeonné	Isolées, diplots ou en amas.	E4
L13	Crémeuse, grande	Cocci bourgeonné	Isolées, diplots ou en amas.	E4
L14	Crémeuse, grande	Cocci bourgeonné	Isolées ou en amas	E4

2.3. Dénombrement des moisissures

Les résultats du dénombrement des moisissures sur milieu PDA sont mentionnés dans le tableau 12:

Tableau 12 : Dénombrement de moisissures exprimées en UFC/g.

Echantillon	E1	E2	E3	E4
Dénombrement	3.59 x 10 ²	00	00	00

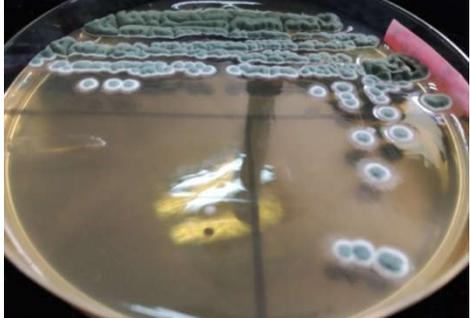
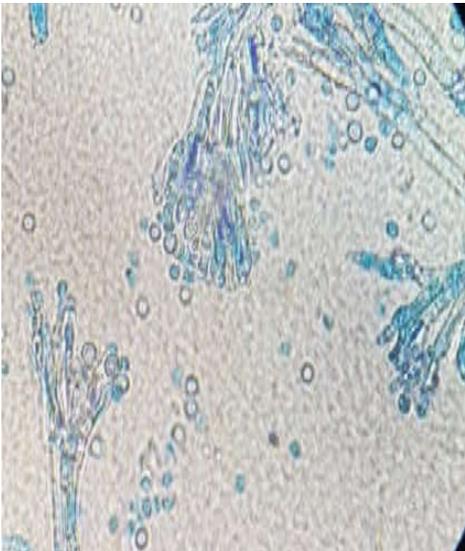
Ces résultats sont similaires à ceux rapportés par Sagdic *et al.*, (2004). Leurs échantillons de beurres comportaient une moyenne de 5,6 x 10² UFC /g de flore fongique. Mennane *et al.*, (2007) ont montré également la présence d'une charge de moisissure estimée à 8,7 x 10⁵ UFC/g.

La flore fongique dans le beurre, provient généralement des mauvaises conditions de conservation et de stockage lors des manipulations, lors du stockage mais surtout de l'air ambiant (El Marnissi *et al.*, 2013).

2.2.2. Identification macro et microscopique des moisissures

L'isolement des moisissures sur milieu PDA a permis l'obtention de 2 isolats fongiques à partir de l'échantillon le plus ancien (E1). Selon les clés décrites par Botton, (1990), l'analyse microscopique et macroscopique par l'observation des structures caractéristiques des isolats fongiques a permis de les assigner au genre *Penicillium* (tableau 13). La présence des moisissures dans l'échantillon de 12 mois (E1) est probablement liée à une contamination ou un processus d'altération. En effet, leur détection dans le beurre est souvent associée à sa détérioration du beurre, et causent la décoloration de ce dernier (Wilbey, 2002):

Tableau 13 : caractères macroscopique et microscopique des moisissures isolées.

Genre	<i>Penicillium sp. 1</i>	<i>Penicillium sp. 2</i>
Aspect macroscopique	Mycélium cloisonné, Conidies rondes ou ovoïdes, lisses ou rugueuses, en longues chaînes	
		
Aspect microscopique (G x 100)		
Origine	E1 (12 mois)	E1 (12 mois)

3. L'activité antifongique des BL

04 isolats ont été testés contre trois souches fongiques. L'inhibition de la diffusion des mycéliums, sur l'ensemble des boîtes, sous l'action des $\frac{3}{4}$ des bactéries lactiques testées révèle que ces bactéries sont capables d'inhiber la croissance d'au-moins deux des moisissures test (tableau 14 et figures 08).

Tableau 14 : Activité antifongique des isolats lactiques.

Isolats	Souches tests		
	<i>Penicillium</i> sp 1	<i>Aspergillus flavus</i>	<i>Penicillium</i> sp 2
BL 2	+	-	-
BL 5	+	+	+
BL 9	-	-	-
BL10	+	+	-

(-) pas d'inhibition, (+) présence d'inhibition.

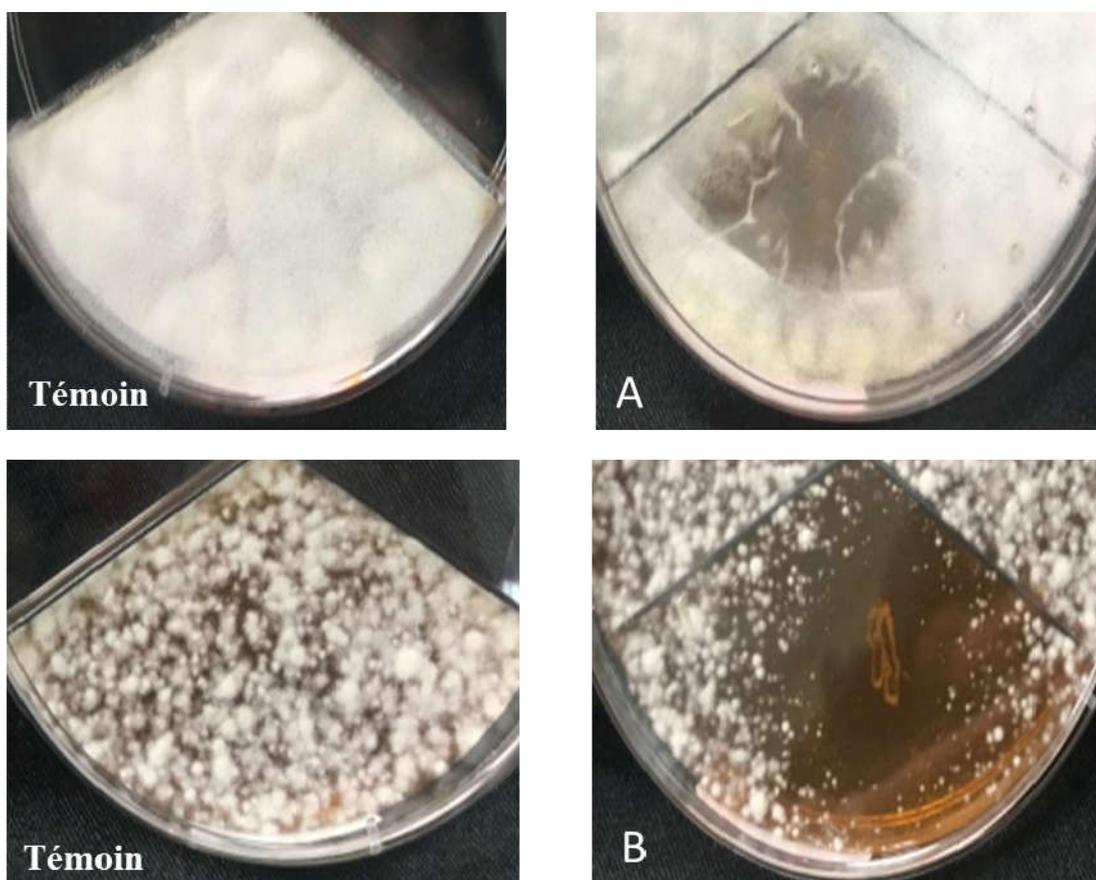


Figure 08 : Exemples du criblage *in vitro* des activités antifongiques des BL, par la méthode de la double couche, contre : (A); *Aspergillus flavus* et (B); *Penicillium* sp. 2

Yousef *et al.*, (2008) et Belal *et al.*, (2011), ont rapporté des résultats similaires aux nôtres. Ils ont trouvé que des isolats du genre *Lactobacillus* possédaient des activités contre *Aspergillus flavus* et *Penicillium* sp. Ces résultats sont en accord aussi avec ceux de Morisset *et al.*, (2002) qui ont décrit des activités antifongiques des souches lactiques contre les espèces fongiques testées. Les bactéries lactiques exercent un antagonisme par la production de

substances antifongiques, largement démontrée dans de nombreux travaux de recherche (Mandal *et al.*, 2013 ; Crowley *et al.*, 2013).

4. Pouvoir d'antagonisme des levures

L'ensemble des résultats des activités d'antagonisme des levures est résumé dans le tableau 15 et la figure 09 .14 isolats ont été testés contre trois cibles fongiques. Les isolats L2, L9 et L14 montrent les meilleurs résultats et ont pu inhiber la croissance des trois souches fongiques. Aucun antagonisme n'a été exercé, sur les trois souches fongiques par L5, L7 et L12. Le reste des isolats testés (L1, L3, L4, L6, L8, L10, L11 et L13) sont capables d'inhiber la croissance d'au-moins une des moisissures test. Chen *et al.*, (2018) ont rapportés des résultats proches aux notre. Ils ont démontrés que certaine souches de levure peuvent inhiber la croissance mycélienne. Ils ont expliqués cette activité par divers mécanismes, tels que la dégradation enzymatique des parois cellulaires et la production des métabolites diffusibles. Parafati *et al.*, (2015) ont trouvé des résultats similaires et ils ont été liés cette activité au besoin du fer et la capacité à former un biofilm des levures.

Tableau 15 : activité antifongiques des 14 isolats levuriens.

Isolats	Echantillon	Antagonisme		
		<i>Penicillium sp. 1</i>	<i>Aspergillus flavus</i>	<i>Penicillium sp. 2</i>
L1	E2 (9 mois)	-	+	-
L2	E2	+	+	+
L3	E2	+	-	-
L4	E2	-	-	+
L5	E2	-	-	-
L6	E2	+	+	-
L7	E3 (3 mois)	-	-	-
L8	E3	+	-	+
L9	E3	+	+	+
L10	E3	+	-	-
L11	E4 (1 mois)	+	-	-
L12	E4	-	-	-
L13	E4	+	-	+
L14	E4	+	+	+

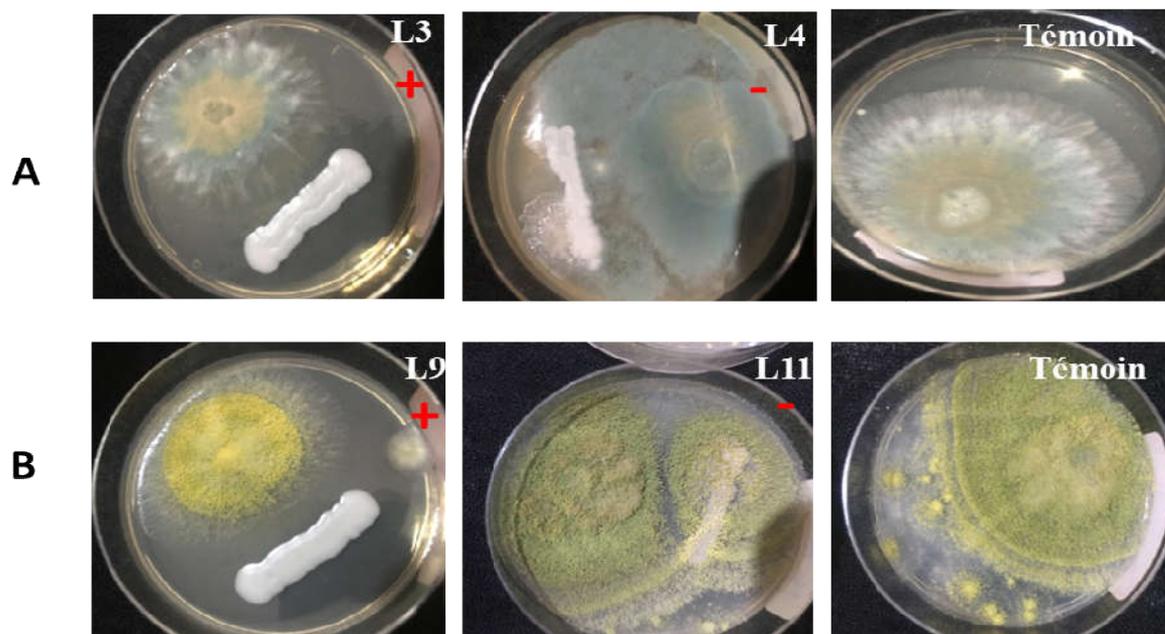


Figure 09 : Exemples de l'évaluation , in vitro, de l'antagonisme des levures L3, L4, L9 et L11 contre : *Penicillium sp. 1* (A) et *Aspergillus flavus* (B). (+): antagonism positif; (-) :antagonisme négatif; (Témoin): *Penicillium sp. 1* et *Aspergillus flavus* seuls comme témoins négatifs.

5. L'activité lipolytique

Les résultats de l'activité lipolytique de l'ensemble des isolats (figure 10); 04 bactéries lactiques et 14 levures, sont résumés, respectivement, dans le tableau 16.

Tableau 16 : Activités lipolytique des BL et levures sélectionnées.

Isolats	BL 2	BL 5	BL 9	BL 10	L 1	L 2	L 3	L 4	L 5	L 6	L 7	L 8	L 9	L 10	L 11	L 12	L 13	L 14	
Activité lipolytique	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	
Echantillon	E3	E2	E2	E2	E2	E2	E2	E2	E2	E2	E2	E3	E3	E3	E3	E4	E4	E4	E4

BL : bactéries lactique ; L : levure.

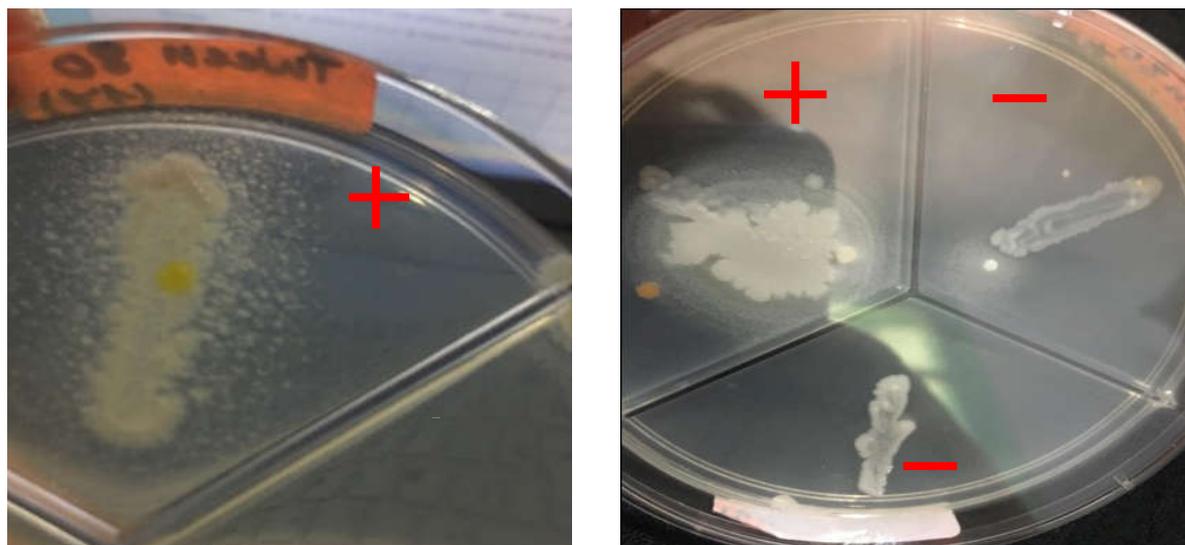


Figure 10 : Exemples de l'activité lipolytiques des levures L13 et L14 (+) : Activité positive et apparition des précipitations opaques ; L2 et L3 (-) activité négative et absence de la zone opaque.

Les souches lactiques isolées partagent toutes la même propriété, à savoir l'absence de l'activité lipolytique. Ces résultats sont en accord avec la littérature, car les BL sont considérées comme peu ou pas lipolytiques. En effet, Fox *et al.*, (2004), De Roissart, (1994) et Guessas *et al.*, (2012) ont montré que les lactobacilles isolés du beurre traditionnel n'ont aucune activité lipolytique. Malgré le faible pouvoir lipolytique des bactéries lactiques, cette activité demeure essentielle pour développer l'arôme et la flaveur spécifique de *smen*. Cela est expliqué selon El Marrakchi *et al.*, (1988) par la présence d'une flore caséinolytique et lipolytique autre que les bactéries lactiques, qui diminuent sensiblement au cours de la maturation du *smen* marocain. En effet, notre étude a montrée par la présence de l'activité lipolytique chez certaines levures testées (L1, L10, L11, L13 et L14) qui ont données des activités positives en formant un halo opaque autour des spots. En comparant nos résultats avec d'autres études telles que celles de Ortansa *et al.*, (2015) qui ont testés la capacité de *Candida rugosa* à produire les lipases en utilisant six différents milieux de culture contenant des différentes concentration de $CaCl_2$ et Tween 80, il s'avère que nos souches ont une activité lipolytique très intéressante.

Conclusion

L'objectif de cette étude était d'isoler des bactéries lactiques et des levures à partir d'un produit laitier traditionnel élaboré localement (*smen*) et de tester leur antagonisme vis-à-vis des souches fongiques impliquées dans l'altération des aliments, ainsi que la mise en évidence de leur pouvoir lipolytique.

Quatre échantillons, de *smen* de lait de chèvre, provenant de trois régions différentes de la wilaya de Khenchela, ont fait l'objet d'isolement des différentes flores lactiques et fongiques. Selon l'apparence macroscopique, 13 isolats ont été présélectionnés préemptivement comme bactéries lactiques, 14 comme levures, et 2 comme des champignons filamenteux (moisissures).

L'identification et la caractérisation partielles basées sur les caractères microscopiques et biochimiques nous ont permis de sélectionner 20 isolats : 4 bactéries lactiques (Gram positif, catalase négative), 14 levures (cellules de grande taille avec des bourgeons) et 2 moisissures. L'observation des structures microscopiques caractéristiques de ces dernières ont permis de les assigner au genre *Penicillium* (désignées par *Penicillium sp.*(1) et *Penicillium sp.*(2) pour la réalisation des tests antifongiques).

L'évaluation du pouvoir antifongique des 4 bactéries lactiques retenues à l'égard des trois souches fongiques; *Aspergillus flavus* UBOCC-A-106028, *Penicillium sp.* (1) et *Penicillium sp.* (2), a montré que les BL2, BL5 et BL10 ont la capacité d'inhiber la croissance d'au moins deux des souches fongiques tests. D'autre part l'évaluation de l'antagonisme des levures contre ces mêmes souches tests a montré que dans l'ensemble les levures possèdent une activité antifongique intéressante particulièrement (L2, L6, L8, L9 et L14).

Cependant l'activité lipolytique était négative pour les 4 isolats lactiques testés. Par contre certaines des levures étudiées (L1, L10, L11, L13 et L14) ont donnés des résultats positifs en formant un halo opaque autour des spots.

Cette étude sur la fonctionnalité de la flore lactique et levuriènne isolée à partir du *smen*, de lait de chèvre, a permis d'atteindre les objectifs fixés au départ, à savoir la mise en évidence du pouvoir antifongique et lipolytique des isolats sélectionnés. Au terme de ce travail, plusieurs perspectives pourraient être envisagées :

- Caractériser les molécules à l'origine des activités antifongiques et lipolytiques ;
- Réaliser des challenge test in vitro afin de sélectionner les isolats les plus performants ;
- Identifier les isolats par les techniques moléculaires ;

- S'intéresser à d'autres fonctionnalités : le pouvoir acidifiant, la production de substances aromatiques, tester d'autres activités enzymatiques... etc.

Références Bibliographiques

-A-

Abd-El Salam M. et Benkerroum N., (2006). North African cheeses. **In:** Tamime AY, editor. Brined cheeses. London : Willey Blackwell Publishing. p 139–87.

Abdelmoumene W., (2015). Etude de l'activité antimicrobienne des souches de bactéries lactiques isolées de produits laitiers traditionnels Algériens (*Zebda, Lben* et *Dhan*). Memoire master : Faculté des Sciences de la Nature et de la vie Et science de la Terre et de l'Univers, Département de Biologie. Université Abou Bekr Belkaid-Tlemcen, Algérie. P32-33.

Agroligne., (2011). Revue Algérienne d'information en continu sur l'agriculture, Alger.

Alais C., (1984). Science du lait. Principe des techniques laitières. Edition sepaic, Paris.

Alomar J., (2007). Étude de propriétés physiologiques de *Lactococcus lactis* et *Lactococcus garvieae* pour la maîtrise de *Staphylococcus aureus* en technologie fromagère. Thèse de doctorat INPL. Laboratoire de Sciences et Génie Alimentaires, Nancy. Pp 3-5.

Amiot J., Fournier S., Lebeufy L., Paquin P., Simpson R. et Tur Geon H., (2002). Composition, propriétés physico-chimiques valeur nutritive, qualité technologique Edition ISBN, Canada.

Ammor S., Tauveron G., Dufour E. et Chevallier I., (2006). Antibacterial activity of lactic acid bacteria against spoilage and pathogens bacteria isolated from the same meat small-scale facility. Food Control. Vol. 17 : 454-468.

Axelsson L., (2005). Lactic acid bacteria: Microbiological and functional aspects . 3e. Édité par S Salsinen, A.V Wright, & A. Ouwehand. Vol. 633. New York, USA: Marcel Dekker, andamme, P, B Pot, M Gillis, P de Vos, K Kersters, and J Swings. "Polyphasic taxonomy, a consensus approach to bacterial systematics." Microbiol Rev60 (1996): 407-438.

-B-

Badel S., Bernardi T. et Michaud P., (2011). New perspectives for *Lactobacilli* exopolysaccharides. Biotechnology Advances. Vol. 29 : 54–66.

Badis A., Guetarni D., Kihal M. et Ouzrout R., (2005). Caractérisation phénotypique des Bactéries lactiques isolées à partir de lait de chèvre de deux populations locales « Arabia et Kabyle». *Scienceset Technologie*. Vol. 23 : 30-37.

Béal C., Marin M., Fontaine E., Fonseca F. et Obert J.P., (2008). Production et conservation des ferments lactiques et probiotiques. **In** : Bactéries lactiques, de la génétique aux ferments (Corrieu G. et Luquet F.M.). *Technique& Documentation*, Lavoisier. Paris. 661-765

Bekhouche F., (2006). Bactéries lactiques du lait cru de vache et Microorganismes pectinolytiques des olives noires et vertes : 1. Isolement et Identification biochimique. 2. Evaluation et Optimisation de la production d'enzyme polygalacturonase. Thèse : Génie alimentaire. Institut de la nutrition de l'alimentation et des technologies agro-alimentaires, Université Mentouri. Constantine, Algérie. P 29-31.

Belal Jamal M.etHassen Z., (2011). Departement of Science and Technology, University Sains Islam Malaysia Bandar Baru Nilai, 71800 Nilai Negeri Sembilan, Malaysia. *Applied Science*. American. Vol. 8 (5) : 447-451.

Belbeldi A.,(2013). Contribution à la caractérisation du fromage *Bouhezza* : Contenu lipidique et vitamines. Mémoire de magister. Université Constantine.

Belyagoubi L. et Abdelouahid D.E.,(2013). Isolation, identification and antibacterial activity of lactic acid bacteria from traditional algerian dairy products. *Advances in Food Sciences*. Vol.35 (1) :84- 85

Bencharif A., (2001). Stratégies des acteurs de la filière lait en Algérie: états des lieux et problématiques. Options Méditerranéennes Série B. *Etudes et Recherches*. Vol. 32: 25-45.

Bendanou., (1981). L'industrie beurrière chez les pasteurs nomades du sud-Algérien. Communication faite à l'Office Colonial de l'Algérie, 570-580.

Bendimerad N.,(2013). Caractérisation phénotypique technologique et moléculaire d'isolats de bactéries lactiques de laits crus recueillis dans les régions de l'Ouest Algérien essai de fabrication de fromage frais type « *Jben* ». Thèse doctorat. Université de Tlemcen. P 149.

Benguella N., (2015). Recherche de bactériocines produites par les bactéries lactiques isolées du lait de chamelle. Mémoire de Master : Technologie des Industrie Agro-alimentaires,

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et de l'Univers, Algérie.
p17.

Benkerroum N. et Tamime A.Y., (2004). Technology transfer of some Moroccan traditional dairy products (*lben, jben, smen*) to small industrial scale. *Food Microbiology*. Vol.21: 399–314.

Benkerroum N., (2013).Traditional Fermented Foods of North African Countries: Technology and Food Safety Challenges With Regard to Microbiological Risks. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. Vol. 12:5489.

Bensalah F., Labtar A., Delorme C. et Renault P., (2011). Occurrence, isolation and DNA identification of involved in Algerian traditional butter „Smen“. *African journal of biotechnology*.Vol. 10 : 17251-7.

Bereda A., Eshetu M. & Yilma Z. (2014). Microbial properties of Ethiopian dairy products : A review. *African Journal of Microbiology Research* 8, 2264-71.

Bergy's manual. (2009). Systematic of bacteriology. Second Edition. Volume three the fermicutes. Edition springe.

Botton B., Breton A., Fèvre M., Gauthier S., Guy P., Larpent J.P., Reymond P., Sanglier J.J., Vayssier Y. et Veau P., (1990). Moisissures utiles et nuisibles, Importance industrielle, Edition Masson, Paris. 512p

Bouadjaib S.,(2013). Etude physico chimique du produit laitier traditionnel du Sud algérien «*Jben*» recherche du pouvoir antimicrobien des bactéries lactiques. Mémoire Master. Université de Tlemcen. P 80.

Bougherara N. et Grazza N., (2015). Suivi des paramètres physicochimiques au cours de la fabrication du fromage traditionnel algérien *Bouhezza* au lait de chèvre. Mémoire Master, Université Larbi Ben M'hidi Oum El Bouaghi . Pp1-8. 36p.

Bourgeois C.M. etLarpent J.P.,(1996). Microbiologie alimentaire, Tome 1. 2^{ème} édition. Technologie et Documentation. P 12, 321, 323,355.

Brisabois A., Lafarge V., Brouillard A., de Buyser M.L., Collette C., Garin-Bastuji B. et Thorel M.F., (1997). Les germes pathogènes dans le lait et les produits laitiers: situation en France et en Europe. *Sciences and Technology*. Vol. 16 (1) : 452-471.

-C-

Camille D., (2007). Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyse ou de contrôle sanitaire. Edition Lavoisier. p 128-129.

Caplice E. et Fitzgerald G., (1999). Food fermentations : role of microorganisms in food production and preservation. *Food microbiology*. Vol. 50 : 131-149.

Carr FJ., Hill D. et Maida N., (2002). The lactic acid bacteria: A literature survey. *Critical Reviews Microbiology*. Vol. 28 : 281-370.

Chabasse D., Bouchara J.P., Gentile L., Brun S., Cimon B., et Penn P., (2002). Les moisissures d'intérêt médical. Edition Bioforma. Paris.160p.

Chammas G.I., Saliba R. et Béal C. (2006). Characterization of the fermented milk-Laban with sensory analysis and instrumental measurements. *Food Science*. Vol. 71: S156–S162.

Cheftel J.C., Cheftel H. et Besancon P., (1984). Introduction à la biochimie et à la technologie des aliments. Edition Lavoisier, Paris. *Technique et Documentation*. Vol. 2 : 167-198,201-204,210.

Chen K., Escott C., Loira I., Fresno J. M., Morata A. et Tesfaye W., (2018). Use of non-Saccharomyces yeasts and oenological tannin in red winemaking: Influence on colour, aroma and sensorial properties of young wines. *Food Microbiology*. Vol. 69 : 51–63.

Chye F.Y., Abdullah A. et Ayob M.K., (2004). Bacteriological quality and safety of raw milk in Malaysia. *Food Microbiology*. Vol. :21.

Cholet O., (2006). Etude de l'écosystème fromager par une approche biochimique et moléculaire. Institut National Agronomique Paris-Grignon. Ecole Doctorale ABIES. UMR de Génie et Microbiologie des Procédés Alimentaires INRA, INA.

Cniel., (2006). Produit laitier. Maison de lait.

Cogan T.M., (1982). Acetoin production and citrate metabolism in *Streptococcus lactis* subsp. *lactis*. *Food Science and Technology*. Vol. 6 : 69-78.

Collins MD., Samelis J., Metaxopoulos J. et Wallbanks S., (1993). Taxonomic studies of some Leuconostoc-like organisms from fermented sausages, description of a new genus *Weissella* for the Leuconostoc paramesenteroides group of species. *Applied Bacteriology*. Vol. 75 : 595 - 603.

Corrieu G. et Luquet F.M., (2008). Bactéries lactiques et probiotiques, Edition *Technology et Documentation*. Lavoisier, Paris France, p9, 10, 25, 51.

Crowley S., Mahony J. et Van Sinderen D., (2013). Current perspectives on antifungal lactic acid bacteria as natural bio-preservatives. *Trends in Food Science & Technology*. Vol. 33 : 93-109.

-D-

Dalmis Ü. et Soyer A., (2008). Effect of processing methods and starter culture (*Staphylococcus xylosum* and *Pediococcus pentosaceus*) on proteolytic changes in Turkish sausages (sucuk) during ripening and storage. *Meat Science*. Vol. 80 : 345-354.

Debry G., (2001). Lait, nutrition et santé technique et documentation, Lavoisier Paris.

Dellaglio F., De Roissart H., Torriani S., Curk M. C. et Janssens D., (1994). Caractéristiques générales des bactéries lactiques. In *Bactéries Lactiques*,. Edited by H. de Roissart & F. M. Luquet. Paris: Lavoisier. Pp. 25-116.

De Man J. C., Rogosa M. et Sharpe M. E., (1960). A medium for the cultivation of lactobacilli. *Applied Bacteriology*. Vol. 23 : 130-135.

De Roissart H. et Luquet F.M., (1994). Bactéries Lactiques II. Edition Loric. Pp. 39-45.

De Vos P., Garrity G.M., Jones D., Krieg N.R., Ludwig W., Rainey F.A., Schleifer K.-H. et Whitman W.B., (2009). Volume Three. The Firmicutes. In G.M. Garrity (ed.), *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Second Edition Springer-Verlag, New York: [I]-XXVI, 1-1422.

Dieng M., (2001). Contribution à l'étude de la qualité microbiologique des laits caillés industriels commercialisés sur le marché Dakarois. Thèse Docteur vétérinaire, Université de Dakar Sénégal.

Djeddar W. et Dahdouh M., (2017). Caractéristiques physicochimiques des fromages traditionnels « Klila » et « Jben » préparés à partir du lait de vache et de chèvre. Mmoire master, Université Larbi Ben Mhidi. Oum El Bouaghi. Pp 20. 58p

Donkor O.N., Henriksson A., Vasiljevic T. et Shaha N.P., (2007). Proteolytic activity of dairy lactic acid bacteria and probiotics as determinant of growth and in vitro angiotensin converting enzyme inhibitory activity in fermented milk. INRA, *EDP Sciences*. Vol. 86 : 21-38.

Drosinos E.H., Paramithiotis S., Kolovos G., Tsikouras I. et Metaxopoulos I., (2007). Phenotypic and technological diversity of lactic acid bacteria and staphylococci isolated from traditionally fermented sausages in Southern Greece. *Food Microbiology*. Vol. 24 : 260-270.

Drouault S. et Corthier G., (2001). Effets des bactéries lactiques ingérées avec des laits fermentés.

Dridjer Dj. Et Prevost H., (2009). Bactéries lactiques : Physiologie, Métabolisme, Génomique et Applications industrielles. Edition ECONOMICA, France. p1, 35, 36, 51, 53, 99

-E-

El-Baradei G., Delacroix-Buchet A. et Ogier J.C., (2008). Bacterial biodiversity of traditional Zabady fermented milk. *Food Microbiology* Vol. 121: 295–301.

El Marnissi B., Belkhou R., El Ouali lalami A. et Bennani L., (2013). Caractérisation microbiologique et physicochimique du lait cru et de ses dérivés traditionnels Marocains (*Lben et Jben*). *Les technologies de laboratoire*. Vol. 8 (33) :100-111.

El Marrakchi A., Berrada M., Chahboun M. et Benbouhou M., (1988). Etude chimique du *smen* marocain. *Le Lait*. Vol. 66 : 117-33.

El-Ziney M.G., Uyttendaele M., Debevere J. et Jakobsen M., (1998). «Characterization of growth and metabolite production of *Lb. reuteri* during glucose/glycerol cofermentation in batch and continuous cultures. *Biotechnology Letters*. Vol.20 : 913-916.

Endo T., Fukunaga T., Yoshimura T., et Esumi K., (2006). Scavenging DPPH radical catalysed by binary noble metal-dendrimer nanocomposites. *Science*. Vol.302 :516-21.

Essalhi M., (2002). Relation entre les systèmes de production bovine et les caractéristiques du lait .Mémoire d'ingénieurs. Institut Agronomique et vétérinaire, Hasan II, Rabat .104p.

-F-

Federighi M., (2005). Bactériologie alimentaire compendium d'hygiène des aliments. 2ème. édition : Economica. Paris. p 220-224.

Fox Patrik F., Mcsweeney Paul L.H., Cogantimothy M. et Guinee timothy P., (2004). Cheese : chemistry, physic and microbiology third edition vol 2 Major cheese groups. Third Edition. Elsevier Ltd.

-G-

Gerrit S., Bart A.S. et Wim J.M.E., (2005). Flavour formation by lactic acid bacteria and biochemical flavour profiling of cheese products. *FEMS. Microbiology Reviews*. Vol. 29 : 591-610.

Gould I.M., (2000). A review of the role of antibiotic policies in the control of antibiotic resistance. *Antimicrobial Chemotherapy* Vol. 43 : 459-465.

Gosta, (1995). Les composants de traitement du lait. **In** : Manuel de transformation du lait. Sweden: Edition Tétra pak processing system A. B.

Guerzani J., (2003). Health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic bacteria in (fermented milk). Pp 1-11.

Guessas B., Adjoudj F., Hadadji M. et K., (2012). Isolation and Identification of Lactic Acid Bacteria from Dhan, a Traditional Butter and Their Major Technological Traits. *WorldApplied Sciences Journal*. Vol.17 (4): 480-488.

Guetouache M.et Guessas B., (2018). Characterization of Lactic Acid Bacteria Isolated from Traditional Butter Produced in Djelfa Province of Algeria. *Biosciences Biotechnology Research Asia*. Vol. 15(3) : 737-746.

Guiraud J.P., (2003). Microbiologie Alimentaire. Edition DUNOD. Paris. Pp:136-139.

Guiraud J.P., (2003). Microbiologie alimentaire. Dunod – RIA., 696.

Guiraud J.P., (1998). Microbiologie alimentaire, Dunod, p.390.

Guiraud J P., (2012). Microbiologie alimentaire. Dunod. 651p. Paris.

Guiraud J.Y., et Galzy P., (1980). L'analyse microbiologique dans les industries alimentaires. Edition de l'usine. 39 p.

Guiraud JP.etRosec M., (2004). Pratique des normes en microbiologie alimentaire, Edition AFNOR, France. p 93, 129.

Guyot J.-P., (2012). Cereal-based fermented foods in developing countries: ancient foods for modern research: Cereal-based fermented foods. *Food Science Technology*. Vol 47: 1109–1114.

-H-

Hadef S., (2012). Evaluation des aptitudes technologiques et probiotiques des bactéries lactiques locales Magister : Microbiologie Appliquée, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et d'Université KasdiMerbah-Ouargla, Algérie. p 11.

Hassaine O., (2013). Caractéristiques d'intérêts technologiques de souches de bactéries lactiques isolées de lait camelin du sud algérien. Thésé : Microbiologie appliqué, Université d'Oran, Algérie. p 06-07, 11.

HO Thi Nguyet T., (2008). Étude de la flore lactique du NEM CHUA, produit carné fermenté cru traditionnel du sud Vietnam et maîtrise du processus de fermentation par ajout

de souches lactiques sélectionnées spécifiques du produit. Thèse de doctorat, Université BORDEAUX 1, spécialité : sciences des aliments et nutrition. 201p.

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

Humblot C. et Guyot J.P., (2008). Other Fermentations, in: *Molecular Techniques in the Microbial Ecology of Fermented Foods*, Food Microbiology and Food Safety Series. Springer, New York. p. 280.

-I-

Idoui T., Rechak H. et Zabayou N., (2013). Microbial quality, physicochemical characteristics and fatty acid composition of a traditional *butter* made from goat milk. *Annals, Food Science and Technology*. Vol. 4 : 108-14.

Institut de l'élevage, (2009). Traite des vaches laitière. Matériel. Installation. Entretien. 1ere édition France Agricole. Produire mieux. Pp:55-506.

Isolauri E., Sütas. Y., Kankaanpää P., Arvilommi H. et Salminen S., (2001) : Probiotics : Effects on immunity. *Clinical Nutrition*. Vol. 73(2) :444450.

-j-

Jozala A. F., De Lencastre Novaes L. C., Cholewa O., Moraes D. et Penna T. C. V., (2005). Increase of nisin production By *Lactococcus lactis* in different media. *Afr. Biotechnology*. Vol.4 : 262-26.

-K-

Kacem M. et Karam N.E.,(2006). Physicochemical and microbiological studyof “shmen”, a traditional butter made from camel milk in the Sahara (Algeria):isolation and identification of lactic acid bacteria and yeasts. *Grasas y Aceites*. Vol. 57 : 198–204.

Karam N., (1995). Constitution d'un soucier de bactéries lactiques a intérêt biotechnologique : Etude biochimique et moléculaire. Thèse de doctorat d'Etat, Université d'Oran.

Kotelnikova E.A. et Gelfand M.S., (2002). Bacteriocin Production by Gram-Positive Bacteria and the Mechanisms of Transcriptional Regulation. Russian *.Genetics*. Vol 38: 6, 628-641. *Translated from Genetika*. Vol.38: 6, 758-772.

Krieg N.R.,(2001).The Archaea and the deeplybranching and phototrophicbacteria - Identification of procaryotes. In Bergey'sManual of systematicBacteriology. Garrity G. M., Boone D. R., Castenholz R. W. Williams and Wilkins, Baltimore. 721, 33 - 38.

Kunene N.F., Geornaras I., von Holy A. et Hastings J.W.,(2000).Characterizationand determination of origin of lactic acid bacteria from a sorghum-basedfermented weaningfood by analysis of soluble protein and amplifiedfragment, length polymorphism fingerprinting.*Applied and Environmental Microbiology*. Vol.66 (3) : 1084-1092.

-L-

Lahsaoui S., (2009). Etude du proceed de fabrication d'un produit laitier traditionnel Algérien (*kilila*).Thèse. Déoartements d'agronomie, Université de Batna, Algérie.

Lamontagne M., Claude P. C., Joëlle R-A., Sylvain M., Nancy G., Maryse L., Julie J. et Ismaïl F., (2002). Microbiologie de lait. In Vignola CL. Sience et technologie du lait. *Technology& Documentation*. Lavoisier; Montréal, pp. 75-146.

Larpent J.P., (1997).Microbiologiealimentaire.*Technology& documentation*,Lavoisier. Paris 10-72.

Larrouture C., Ardaillon V., Pepin M. et Montel M.C., (2000).Ability of meat starter cultures to catabolize leucine and evaluation of the degradationproducts by using an HPLC method. *Food Microbiology*. Vol. 17 : 563-570.

Léonard L., (2013). Evaluation du potentiel bioprotecteur de bactéries lactiques confinées dans une matrice polymérique, Thèse : Sciences de l'Alimentation, Université de Bourgogne, France. p8-10, 13-15, 17-18.

Leroy F. et De Vuyst L., (2004).Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry. *Trends in Food Science and Technology*. Vol.15: 67-78.

Leveau J.Y. et Bouix M., (1993).Microbiologie industrielle : les microorganismes d'intérêt industriel, edited by *Technology & Documentation*. Lavoisier, Paris. Pp. 85-87.

-M-

Mahamedi A.E., (2015). Etude des qualités hygiénique, physicochimique et microbiologique des ferments et des beurres traditionnels destinés à la consommation dans différentes régions d'Algérie. Mémoire de Magister en Biologie, Université d'Oran, Algérie.

Magnusson P., Matthing J. et Kristensson P., (2003),Managing user involvement in service innovation, *Service Research*. Vol. 6 (2) : 111-24.

Mandal V., Sen S.k. et Mandal N.C.,(2013). Production and partial characterisation of an inducer-dependent novel antifungal compound(s) by *Pediococcus acidilactici* LAB 5. *Science of Food and Agriculture*. Vol. 93 : 2445-2453.

Marteau P. et Seksik P., (2005). Place des probiotiques dans la prévention et le traitement des diarrhées postantibiotiques. *Re. Fran. Laboratoire*. 73-76.

Masuda S., Yamaguchi H., Kurokawa T., Shitakami T., Tsuji R.F. et Nishimura I.,(2008). Immunomodulatory effect of *halophilic lactic acid bacterium Tetragenococcus halophilus* Th221 from soy sauce moromi grown in high-salt medium. *Food Microbiology*. Vol. 121 : 245-252.

Mathara J.M., Schillinger U., Kutima P.M., Mbugua S.K. et Holzappel W.H., (2004). Isolation, identification and characterisation of the dominant microorganisms of kulenaoto: the Maasai traditional fermented milk in Kenya. *Food Microbiology*. Vol. 94(3): 269-278.

Mäyrä-Mäkinen A. et Bigret M., (2004). Industrial use and production of lactic acid bacteria. In : Lactic acid bacteria: microbiology and functional aspects (Salminen S., Wright A.V. et Ouwehand A.). 3 e Edition Marcel Dekker, Inc. New York. 73-102.

Mechai A., Debabza M. et KiraneD., (2014). Screening of technological and probiotic properties of lactic acid bacteria isolated from Algerian traditional fermented milk products. *International Food Research*. Vol.21(6): 2451-2457.

Medouni Y., Boulahchiche N. et Brahimi R., (2005). Rôle de la femme rurale dans le système de production agropastorale. Cas de la fraction Ouled-Baida de la zone d,El Guedid Région de Djelfa (steppe centrale).Option : Méditerranéennes, Série A, n°70.

Menard J. L., ChampagneD. L. et Meaney, M. J., (2004). Variations of maternal care differentially influence “fear” reactivity and regional patterns of cFos immunoreactivity in response to the shock-probe burying test. *Neuroscience*. Vol. 129 : 297–308.

Mennane Z., Khedid K., Zinedine A., Lagzouli M., Ouhssine M. et Elyachioui, M.,(2007). Microbial characteristics of Klila and Jben traditional Moroccan cheese from raw cow’s milk. *World. Dairy & Food Sciences*. Vol. 2 : 23–27.

Monnet V., Latrille E., Béal C. et Corrieu G., (2008). Croissance et propriétés fonctionnelles des bactéries lactiques. In : Bactéries lactiques de la génétique aux ferments (Corrieu G. et Luquet F.M.). *Technologie & Documentation*, Lavoisier. Paris. 512-592.

Morisset D.,(2002). Etude des relations structure/fonction d’une bactériocine anti-*listeria*, la mésentéricine Y105. These de Doctorat, Université de Poitiers U.F.R. 247 P.

Mozzi f.,Raya R.R. et Vignolo G.M.,(2010). Biotechnology of lactic acid bacteria :Novel applications. Blachwell. Publishing. 13.

-N-

Nouani A., Dako E., Morsli A., Belhamiche N., Belbraouet S., Bellal M.M. et Dadie A., (2009). Characterization of the purified coaguland extracts derived from artichoke flowers (*Cynarascolymus*) and from the fig tree latex (*Ficuscarica*) in light of their use in the 41 manufacture of traditional cheeses in Algeria. *Food Technology*. Vol.7: 20 29.

-O-

Ogunbanwo ST., Sanni A.I. et Omilude A.A., (2003).Characterization of lactobacilli in cheese. *Dairyresearch*. Vol. 25 :431-438.

Orla-Jensen S., (1919). The Lactic Acid Bacteria. Dairy Bacteriology, Fred Host and Son, Copenhagen

Ortansa C., Ileana S., Tatiana V.,(2015). Lipolytic activity of a new yeast strain *Candida rugosa* CMGB-CR6 isolated from oil-polluted soil. *Romanian Biotechnological Letters*. Romania. Vol. 20 (3).

Oucherif K. et Sellema M.,(2015). Etude des substances Antimicrobiennes (type bactériocine) des bactéries lactiques isolées à partir d'un produit laitier fermenté traditionnel (*Jben*). Mémoire de master, Université Kasdi Merbah. Ouargla.

Owusu-Kwarteng, J., Akabanda F., Nielsen D.S., Tano-Debrah K., Glover R.L. et Jespersen L.,(2012). Identification of lactic acid bacteria isolated during traditional fura processing in Ghana. *Food Microbiology*. Vol. 32 : 72–78.

-P-

Papamanoli E., Tzanetakis N., Litopoulou-Tzanetaki E., Kotzekidou P., (2003). Characterization of lactic acid bacteria isolated from a Greek dry-fermented sausage in respect of their Technol and probiotic properties. *Meat Sciences*. Vol.65: 859–867.

Parafati L., Vitale A. et Restuccia C., (2015). Biocontrol ability and action mechanism of food-isolated yeast strains against *Botrytis cinerea* causing post-harvest bunch rot of table grape. *Food Microbiology*. Vol.47:85–92.

Park J.M., Shin J.H., Bak D.-J., Kim N.-k., Lim K.S., Yang C.Y. et Kim J.M., (2014). Determination of shelf life for *butter* and cheese products in actual and accelerated conditions. Korean. *Food Science of Animal Resources*. Vol. 34 : 245.

Chen P., Chen R. et Chou J., (2018). Screening and Evaluation of Yeast Antagonists for Biological Control of *Botrytis cinerea* on Strawberry Fruits. *Mycrobiology*. Vol. 46(1) : 33–46 . Department of Biology, National Changhua University of Education, Changhua, Taiwan

Prescott L.M., Harley J.P. et Donald A., (2003). Microbiologie, De boeck université, 2eme édition française. 128 : 28-29.

-R-

- Raynaud S.,(2006).**Régulation, métabolisme et Transcriptionnelle de l'auto-acidification chez *Lactococcus Lactis*.
- Rhiat M., Labioui H., Driouich A., Mennane Z. et Ouhssine M., (2013).** Preparation of the starter Trial productionof cheese (*Jben*) and *Klilat* laboratory scale. *Food Science and Quality Management*. Vol. 13.
- Ricciardi A. etClement F., (2000).** Exopolysaccharidesfromlacticacidbacteria : Structure, production and technological applications. Ital. *Food Sciences*. Vol. 12: 23-45.
- Robinson R.K., (2002).**Dairy microbiology handbook. The microbiology of milk and milk products. Third edition. Edition JohnWiley and sons, INC. New York.780p.
- Ross R. P., Morgan S.et Hill C., (2002).** Preservation and fermentation : past, present and future. *food microbiology*. Vol. 79 : 3-16.
- Rosset, R. 2001.** Etude du cas particulier de *Listeria monocytogenes*, croissance microbienne et froid.
- Roudj S., Belkheir K., Zadi-Karam H. et Karam NE., (2009).** Protéolyse et autolyse chez deux lactobacilles isolés de lait camelin du Sud-Ouest Algérien. Européen. *ScienceResearch*.Vol. 34(2): 218-227.
- Ruas M.P.et De Los Reyes G.C., (2005).**Methods for the screening, isolation and characterization of exopolysaccharidesproduced by Lactic Acid Bacteria. *DairyScience*. Vol. 88: 843-856.

-S-

- Sagdic O., Donmez M. et Demirci M., (2004).** Comparison of characteristics and fatty acid profiles of traditional Turkish yayik *butters* produced from goats', ewes' or cows' milk. *Food Control*.Vol. 15 : 485–490.
- Salminen S., Gorbach S., Yuan-Kun L. et Benno Y., (2004).**HumanStudies on probiotics: What is scientifically proven today. In : lactic Acid bacteria: Microbiological and functional

Aspects. Edssalimen, S., von Wright, A. and Ouwerhand A., New york Dekker M, pp. 515-530.

Samson R.A., Noonim P., Meijer M., Houbraken J., Frisvad J.C. et Varga, J., (2007). Diagnostic tools to identify black Aspergillus. *StudyMycology*. Vol. 59: 129–145.

Scannell A.G.M., Kenneally P.M. et Arendt E.K., (2004). Contribution of starter cultures to the proteolytic process of a fermented non-dried whole muscle ham product. *Food Microbiology*. Vol. 93 : 219-230.

Scuotto A., (2015). Contribution à l'étude des agrégats bifides : sélection, caractérisation, mécanisme et prévention du diabète de type 1, Médecine humaine et pathologie, Université du droit et de la santé, Lille II, France, p30-31.

Serhan M., Cailliez-Grimal C., Borges F., Revol-Junelles A.M., Hosri C. et Fanni J., (2009). Bacterial diversity of Darfiyeh, a Lebanese artisanal raw goat's milk cheese. *Food Microbiology*. Vol. 26 : 645-652.

Shockman GD. Et Hältje JV., (1994). Microbial peptidoglycan (murein) hydrolases. In: *New Comprehensive Biochemistry*. 27. Bacteria/ Cell Wall (JM Ghuyesen and R Hakenbeck Eds) Elsevier, Amsterdam. P 131-166.

Soltész G., Patterson C.C. et Dahlquist G., (2007). Worldwide childhood type 1 diabetes incidence – what can we learn from epidemiology ?. *Pediatric Diabetes*. Vol. 8 (6): 6-14.

Strus M., Gosiewski T., Kochan P. et Heczko P.B., (2006). The in vitro effect of hydrogen peroxide on vaginal microbial communities. *FEMS Immuno. Medical Microbiology*. Vol. 48 : 56- 63.

-T-

Tantaoui-Elaraki A., Berrada M., El Marrakchi A. et Berramou A., (1983). Préparation de *leben* Marocain à l'aide de souches bactériennes sélectionnées. *Agronomiques et Vétérinaires*. Vol. 3 : 49–58

Teuber M., (1995). The genus *Lactococcus*. In *The genera of lactic acid bacteria*. Wood B.J.B., Holzappel W.H. Chapman & Hall., Pp 420, 173 - 234.

Tolle A., (1980). The microflora of the udder. **In** factors influencing the bacteriological quality of raw milk. *Bulletin of the International Dairy Federation*. Vol. 4 : 120.

Tosukhowong A., Nzkzyzma J., Mizunoe Y., Sugimoto S., Fukuda D. et Sonomoto K., (2005). Reconstitution and function of Tetragenococcus halophilechaperonin 60 tetradecamer. *Bioscience and Bioengineering*. Vol. 99 : 30-37.

Touati K., (1990). Contribution à l'étude microbiologique et physico-chimique d'un fromage artisanal algérien "la klila". Mémoire d'ingénieur, INATAA, Constantine, Algérie. 83p.

Tredez M. et Louise H., (2008). Méta- analyse des effets protecteurs des probiotiques sur la cancérogenèse colorectale chez les rongeurs. Thèse pour obtenir le grade de Docteur vétérinaire. Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse. P 38-39.

-U-

UI-Haq I., Roheena A., Ashraf H. et Shah A.H., (2002). Isolation and screening of fungus for the biosynthesis of α - amylase. *Biotechnology*. Vol. 2 (4): 61- 66.

-V-

Vandamme P., Pot B., Gillis M., DeVos P., Kersters K. et Swings J., (1996). Polyphasic taxonomy, a consensus approach to bacterial systematics. *Microbiology Reviews*. Vol 60: 407.

Vignola C., (2002). Science et Technologie du Lait Transformation du Lait. Edition Presses Internationales Polytechnique, Canada. Pp 3-75.

Vollenweider S., (2004). 3-hydroxypropionaldehyde: applications and perspectives of biotechnological production. *Applied Microbiology Biotechnology*. Vol. 64 : 16-27.

-W-

Wilbey R.A., (2002). Microbiology of cream and butter. **In** Dairy Microbiology Handbook 3rd edn, edited by R.K. Robinson. Wiley, New York. Pp 123-174.

-Υ-

Yousef I., Hassan L. et Bullerman B., (2008). Food Science and Technology Department, university of Nebraska-linco, 349 Food industry Complex, Lincoln, USA Received 30 October 2006 ; received in revised form 24 August 2007 ; accepted 2 November 2007. *International Journal of Food Microbiology*. Pp 112-115.

Yateem A., Balba M.T., AL-Surrayai T., Al-Mutairi B. et Al-Daher R., (2008). Isolation of lactic acid bacteria with probiotic potential from camel milk. *Dairy Science*. Vol. 3(4): 194-199.

-Ζ-

Zalan Z., Barath A. et Halasz A.,(2005).Influence of growth medium on hydrogen peroxide and bacteriocin production of *Lactobacillus* strains. *Food Technology Biotechnology*. Vol. 43 : 219-225.

Zambunelli C. et Chiavari C., (2002).Effect of lactic acid bacteria autolysis on sensorial characteristics of fermented food. *Food Technology and biotechnology*. Vol.40 : 347-351.

Zamfir M., Vancanneyt M., Makras L., Vaningelgem F., Lefebvre K., Pot B., Swings J. et De Vuyst L., (2006). Biodiversity of lactic acid bacteria in Romanian dairy products. *Systeme Applied Microbiology*. Vol. 29: 487–495.

Zergoug A., (2017). Antibacterial activity of lactic acid bacteria isolated from goat's raw milk of Mostaganem (West Algeria) against Gram negative bacteria responsible for urinary tract infections. Laboratory of Microbiology and Plant Biology : Faculty of Natural Sciences and Life, University of Mostaganem.

Site Web

<https://www.worldcat.org/title/bergeys-manual-of-determinative-bacteriology/oclc/28183643>