



MEMOIRE

Présenté

A LA FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE (SNV)

Pour obtenir

Le Diplôme des Etudes Supérieures en Biologie (DES)

OPTION : **MICROBIOLOGIE**

Par

BOUREZG I., FILALI S. et MOHAMED SEGHIR I.

THEME :

**L'instabilité des Bactéries Lactiques ayant un effet bénéfique
en industrie agro-alimentaire**

GATTOUACHE Mourad

M.A. Classe A

Encadreur

BOULMAIZ Sara

M.A. Classe A

Examinatrice

Promotion : 2009 / 2010

Remerciements:

Il nous tient au cœur d'exprimer toute nos reconnaissances à notre Dieu qui nous a permises à réaliser ce modeste travail.

Nous remercions les plus profonds et sincères vont:

A Mr GUETTOUACHE Mourad notre encadreur.

A l'expert agréé à la cour, en industries chimiques et alimentaires Mr FILALI Smail, pour son précieux aide.

A Mr MOHAMMED SEGHIR Azzedine pour tous ses efforts fournis pour la réalisation de ce travail.

A M^{lle} Radia qui nous a aidées par l'emprunt des livres de l'université de Boumerdes.

A M^{me} BOUBKEUR Hafsa professeur au département de biologie.

En fin, à tous ceux qui nous ont soutenues de près ou de loin durant toute la préparation de cette mémoire.

A tous

Nous vous disons, merci.

Dédicace:

Je dédie cette mémoire:

A ceux qui me sont les plus chers, mes parents:

A mon père qui m'encourage et me pousse toujours vers l'avant et qui toujours préoccupé de mon avenir.

A ma mère qui m'aider beaucoup pour ma réussite.

A mes chers frères: Mouhamed, Soufyane.

A mes chères sœurs: Hanane, Fatima, Feryale, Amina, Sarra, Samahe.

A mes cousines: Yamina, Samira.

A toute ma famille.

A mes chères amies surtout: Ismahane, Souaad, Samia, Fouzia.

A tous mes enseignants et les administrateurs du département de biologie.

A tous les personnes pour leur aide.

A tous ceux ou celles qui m'ont aidé soit de près ou de loin ont participé à la réalisation de cette mémoire.

IBTISSAM

Dédicace:

Je dédie ce modeste travail:

A ceux qui ont été toujours pour moi l'ensemble de fierté et qui m'ont soutenue:

Mon très cher père, dont je suis très fière de lui, qui m'a toujours témoignée ses sacrifices et pour toutes les peines qu'il s'est donné dans, cette vie, pour nous voir grandir et réussir avec l'aide de Dieu moi et mes frères.

Ma très généreuse mère qui a été chaleureusement présente avec beaucoup d'amour et de tendresse dans les moments les plus difficiles.

A ma sœur Mariem.

A mes frères: Abdelmalek, Mohammed, Waïl, Sohaïb et à mon benjamin frère Saber.

A mes deux cousines Wafa et Houda.

A mes deux collaboratrices Ibtissam et Ismahane et ses deux respectables familles.

A mon amie Soria.

A tous les professeurs et les administrateurs du département de biologie.

A toute la promotion de Microbiologie 2009/2010.

SOUAAD

Dédicace:

Je dédie ce mémoire:

*A ceux qui ont contribué par leurs conseils ou leur aide à la réalisation de ce travail:
A mes très chers parents qui ont toujours été là pour moi et qui m'ont donné un magnifique modèle
de labeur et de persévérance et qui m'ont encouragé et supporté avec bonté et patience pendant
toutes ces années, sans que ce mémoire n'aurait pas eu tout leur charme. J'espère qu'ils trouveront
dans ce travail toute ma reconnaissance et tout mon amour.*

A ma petite sœur Zineb.

A mes chers frères: Ilyas, Oussama, Ishak,

A ma cousine Radia.

A mes amies: Asma, Linda, Soumia, Elkayma.

*A mes deux collaboratrices Ibtissam et Souaad par leurs collaborations inestimables, leurs grandes
rigueurs scientifiques, leurs bonnes humeurs quotidiennes et pour tant d'autres choses encore.*

A toute ma famille.

A tous les professeurs et les administrateurs du département de biologie.

A toute la promotion de microbiologie 2009/2010.

*Les mots sont faibles pour exprimer la force de mes sentiments et la reconnaissance que je vous
porte.*

ISMAHANE

SOMMAIRE

Liste des abréviations	I
Liste des tableaux.....	II
Liste des figures	III
Résumé	IV
Summary	IV
Introduction	1
<u>CHAPITRE I : GENERALITES SUR LES BACTERIES LACTIQUES</u>	

1/ Définition.....	2
2/Les principaux caractéristiques des bactéries lactiques	2
3/Position systématique	3
4/Les différents genres des bactéries lactiques	3
4-1/Lactobacillus	3
4-2/Leuconostoc	3
4-3/Pediococcus.....	4
4-4/Bifidobacterium	4
4-5/Streptococcus	4
4-6/Lactococcus (anciennement Streptococcus lactis)	4
5/L'habitat des bactéries lactiques	5
6/Principales propriétés métaboliques chez les bactéries lactiques	5

CHAPITRE II : GENERALITES SUR LA GENETIQUE ET LE GENIE GENETIQUE DES BACTERIES LACTIQUES

1-La génétique et le génie génétique des bactéries lactiques	6
1-1/Technique de biologie moléculaire.....	6
1-1-1/ Analyse de la diversité des espèces	6
1-1-2/ Analyse de la diversité des souches	7
1-2/ Techniques de modification des bactéries lactiques	7
1-2-1/Vecteurs et hôtes.....	7
1-3/Génomomes et évolution	7
1-3-1/Génome des bactéries lactiques.....	7
1-3-1-1/Plasmides.....	8
1-3-1-2/Eléments intégratifs.....	8
2/Les mutations.....	9
2-1/Transduction.....	10
2-2/Plasmides	10
3/Effet des facteurs opératoires sur l'aptitude à la stabilisation.....	11
3-1/Effet du milieu de culture	11
3-2/Effet de la température de culture	12
3-3/Effet du pH de culture.....	12

3-4/Effet de l'aération	12
3-5/Effet des conditions de refroidissement.....	13
4/Adaptation des cellules préalablement à la stabilisation.....	13
4-1/Adaptation thermique.....	13
4-2/Adaptation acide	14
4-3/Adaptation nutritionnelle	14
4-4/Adaptation osmotique	14
4-5/Adaptation oxydative	14

CHAPITRE III : L'INTERET AGROALIMENTAIRE DES BACTERIES

LACTIQUES

1-Les bactéries lactiques et l'alimentation	17
1-1/Les produits laitiers.....	17
A/Fabrication de fromage.....	17
A-1/Définition	17
A-2/Les étapes de fabrication.....	17
A-3/Les différents types de fromage	18
A-3-1/Fromages frais.....	18
A-3-2/Fromages à pâte molle	18
A-3-3/Fromage à pâte persillée ou bleus.....	18
A-3-4/Fromage à pâte pressée non cuite	18
A-3-5/Fromages à pâte pressée cuite	19
A-4/Rôle des bactéries lactiques dans la fabrication de fromages.....	19
B/Fabrication de yaourt.....	19
B-1/Définition.....	19
B-2/Les étapes de fabrication du yaourt.....	19
B-3/Les différents types de yaourts.....	19
B-4/Rôles des bactéries lactiques dans la fabrication de yaourt	20
C/ La fabrication de beurre.....	22
C-1/Définition.....	22
C-2/Les étapes de fabrication	22
C-3/Les différents types de beurre	22
D/La fabrication de crème	24
D-1/Définition	24
D-2/Les étapes de fabrication.....	24
D-3/Les différents types de crèmes	24
D-4/Rôles des BL dans la fabrication de la crème	24
1-2/Conservation des aliments.....	25
1.2.1-Conservation par fermentation	25
1-3/Autres rôles des bactéries lactiques.....	27
Conclusion.....	28

Liste des abréviations:

BL: bactéries lactiques.

L: Lactococcus.

Lb: Lactobacillus.

Lc: Leuconostoc.

S: Streptococcus.

AND: adenosine désoxy ribonucléotide.

K Da: Kilo Dalton.

°C: Degrée Cellcius.

EPS: Exopolysaccharide

MG: matière grasse.

Pa: Pascal.

CEE: communauté économique européenne.

Liste des tableaux:

Chapitre II:

Tableau N°1: Exemples de distribution et de tailles des plasmides chez différents espèces de bactéries lactiques 15

Tableau N°2: Exemple de fonctions portées par des plasmides de bactéries lactiques 16

Tableau N°3: Relation entre présence ou absence de plasmides et du caractère lactose ou protéase chez: *S.lactis* 11

Chapitre III:

Tableau N°4: Caractérisation des différentes espèces de BL utilisées pour la maturation en crèmerie..... 24

Liste des figures:

Chapitre III:

Figure 1: Les étapes de fabrication du yaourt.....21

Figure2: Les étapes de fabrication du beurre.....23

Résumé:

Les BL sont des bactéries à Gram-positives ont la capacité de fermenter des sucres pour produire l'acide lactique, anaérobies aérotolérantes, considérées comme des organismes exigeants ou point de vue nutritionnel. Suivant les genres ou espèces, elles utilisent l'une des trois voies suivantes du métabolisme des sucres: la voie homofermentaire, la voie hétérofermentaire et la voie bifide. Elles ont bien survécu dans des environnements spécifiques.

Les BL sont des bactéries instables génétiquement à cause d'une organisation particulière du matériel génétique de ces bactéries, sont aptes à être exposées à des diverses mutations portées par les clones vivants.

Les BL sont très importantes en microbiologie alimentaire et laitières, dans la fabrication des produits commerciaux comme les yoghourts, les fromages, les beurres,... par la fermentation du lait et comme agent de conservation et de vinification, ainsi que, dans l'agriculture.

Mots clefs: Bactéries lactiques, *Lactococcus lactis*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus thermophilus*, gène et génome, mutation, plasmide, produits laitiers, conservation, vin, instabilité.

Summary:

Lactic bacteria are bacteria with positives- Gram have capacity to ferment sugars for production lactic acid, anaerobia aerotolerants, considering like exigent organisms. According to kinds or especes, they use one of the three sugars metabolism ways: homofermentaire way, heterofermentaire way and bifide way.

They have survived in specifics environnements.

Lactic bacteria are bacteria genetically unstable because of particularity organization of genetic material of these bacteria, are apt to be showing to diverse mutations bearing through life clones.

Lactic bacteria are very important in alimentary microbiology and dairyman ; to fabricate dairymen products like yoghurts, cheese, butters,...by fermentation of milk, as preservation agent and in wining as well as, in agriculture.

Keywords:

Lactic bacteria, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactococcus lactis*, instability, variability, gene, genome, mutation, lactic fermentation, dairymen products, yoghurt, cheese, butter, wining, preservation.

Introduction

Introduction:

Les bactéries lactiques appartiennent à un groupe de bactéries bénéfiques, dont les vertus se ressemblent, et qui produisent de l'acide lactique comme produit final du processus de fermentation. Elles sont partout dans la nature, et se trouvent aussi dans le système digestif de l'homme. Si elles sont surtout connues pour le rôle qu'elles jouent dans la préparation des laitages fermentés, elles sont utilisées également dans le saumurage des légumes, la boulangerie, la fabrication du vin, le saurissage des poissons, des viandes et des salaisons.

Nul besoin d'explication scientifique pour de nombreux peuples qui, depuis des milliers d'années, se servent des bactéries lactique pour produire des aliments. Ils en améliorent ainsi la conservation, et agissent sur les textures et les saveurs qui se révèlent différentes de celles de l'aliment à son état originel.

Aujourd'hui, les " bons amis " probiotiques sont utilisés aussi dans un grand choix de laitages fermentés qui vont du kéfir (boisson liquide) jusqu'au yaourt (plus consistant). Leur " fabrication " implique une fermentation, processus microbien par lequel le lactose (le sucre du lait) est transformé en acide lactique. En s'accumulant dans le lait, l'acide lactique modifie les protéines et, par conséquent, la texture du lait. Les qualités et les aspects particuliers qui caractérisent les différents produits sont dus à d'autres variables telles que la température ou la composition du lait.

C'est l'acide lactique qui donne aux laitages fermentés cette saveur légèrement aigrelette caractéristique. D'autres sous-produits des bactéries lactiques donnent saveurs et arômes supplémentaires. Par exemple, l'acétaldéhyde donne au yaourt son arôme si caractéristique ; le diacétyl donne une saveur crémeuse à d'autres laitages fermentés. On peut rajouter aux cultures d'autres micro-organismes, comme la levure lactique, pour leur donner des saveurs uniques. Par exemple, l'alcool et le CO₂ produits par la levure lactique contribuent au goût mousseux si rafraîchissant du kéfir, du koumis et du leben. D'autres techniques qui consistent à enlever le petit-lait ou à ajouter des saveurs différentes servent aussi à créer une gamme de produits très variés qu'on trouve sur le marché.

Le yaourt est le résultat de la symbiose de deux types de bactéries lactiques qui répondent au doux nom de *Streptococcus thermophilus* et de *Lactobacillus bulgaricus*. Chacune des deux bactéries stimule la croissance de l'autre. Ce lien symbiotique donne un produit différent des produits obtenus par les bactéries simples, prises séparément. Grâce à la symbiose des deux bactéries, la fermentation a lieu plus rapidement que s'il n'y avait qu'une seule espèce de bactérie.

Le yaourt et d'autres laitages fermentés nous donnent l'occasion de nous servir des bactéries lactiques comme de cultures probiotiques. Les cultures probiotiques favorisent le bon fonctionnement de notre flore intestinale. Le marché mondial de ces produits se développe de plus en plus, pour répondre aux besoins d'un public de plus en plus à l'écoute de sa forme et de sa santé. Les bactéries lactiques se comportent comme d'excellents ambassadeurs d'un monde microbien souvent calomnié. Elles ne se réduisent pas à leur importance économique, mais jouent un rôle important dans l'entretien et l'amélioration de la santé de l'homme.

Chapitre I

Généralités sur les bactéries lactiques

1/Définition:

Comme leur nom l'indique, les BL sont connues pour leur capacité à fermenter des sucres pour produire de l'acide lactique (Perry et al., 2004). Toutes les

BL sont des Gram positives, généralement immobiles, asporulées (De Roissard et al., 1994), anaérobies mais aérotolérantes; c'est-à-dire qu'elles se développent en présence d'oxygène mais, ne l'utilisant pas pour respirer. Par contre, elles produisent de l'énergie en fermentant les sucres (Perry et al., 2004), catalase négatives (mais certaines souches ont un pseudo-catalase), ni nitrate réductase, ni cytochrome oxydase (De Roissard et al., 1994).

2/Les principales caractéristiques des bactéries lactiques:

***Physiologie:**

Les BL sont incapables de synthétiser certaines vitamines indispensables à leur croissance. Celles-ci doivent alors être fournies par le milieu de culture. Les exigences des BL portent souvent sur des vitamines du groupe B tel que la niacine, la riboflavine et l'acide pantothénique.

L'exigence en bases azotées provient de l'absence d'enzymes impliquées dans le métabolisme des pyrimidines et des purines. Les bases azotées peuvent également être stimulantes pour la croissance des BL.

Le magnésium est le principal cation divalent présent dans les cellules vivantes. Il a de multiples fonctions, parmi lesquelles le rôle de cofacteur de réaction enzymatique et participation à la stabilisation des acides nucléiques, il permet aussi, chez certaines espèces, de mieux tolérer l'oxygène (élimination de l'ion superoxyde) (Corrieu et Luquet., 2008), en outre, elles ne liquéfient pas la gélatine, ne produisent ni indole ni hydrogène sulfureux et quelques souches ont une activité caséinolytique (Novel, 1993). Ces bactéries sont nutritionnellement exigeantes par rapport aux acides aminés, vitamines, certains acides gras.

Leur croissance, mais surtout leur métabolisme sont stimulés par la présence de l'extrait de levure dans le milieu de culture (Chazaud et Larpent, 1980). Elles fermentent les glucides en donnant presque exclusivement de l'acide lactique chez les homofermentaires et outre l'acide lactique, d'autres métabolites chez les hétérofermentaires (Martineau, 1996).

3/Position systématique:

Les BL sont contenues dans deux phylums, selon l'analyse de séquences, le phylum des **Firmicutes** contient des bactéries à Gram positives à faible %en GC que la majorité des BL l'appartiennent. Au contraire, les **Actinobacteria** comportent de nombreuses espèces filamenteuses, multicellulaires dont l'ADN présente un fort %en GC, qui contient un seul genre des BL, c'est le *Bifidobacterium* (Perry et al., 2004).

4/Les différents genres des bactéries lactiques:

4-1/Lactobacillus:

Ce sont des bâtonnets ou coccobacilles, isolées ou en chaînes, quelque fois très longues, typiquement non mobiles. Anaérobies, microaérobies ou aérobie facultatifs. Habituellement catalase négatives, chimioorganotrophes. Métabolisme fermentatif caractéristique formation d'acide lactique à partir du glucose, via la fermentation homolactique ou la fermentation hétérolactique, la teneur en GC(%GC=32-53) (Singleton, 2004).

Ces bactéries croissent à des pH plus bas que les streptocoques, elles ne se développent pas pendant les premiers stades de la fermentation, mais seulement quand le pH atteint 5,5 à 6,0. A leur tour elles continuent à produire de l'acide lactique et à abaisser le pH au moins dessous de 5,0. Ceci élimine efficacement le genre *Streptococcus*, ce cas est un exemple de succession écologique bactérienne (Perry et al., 2004).

4-2/Leuconostoc:

Catalase négatives, leurs cellules sont de forme lenticulaire (Lqnsing Prescott et al., 2002) ($\approx 1\mu\text{m}$ de diamètre), par paires ou en chaînettes, non mobiles, anaérobies facultatifs, métabolisme fermentatif et respiratoire, en anaérobies fermentant le glucose principalement en acide lactique, éthanol et CO_2 (Singleton, 2004).

C'est la seule bactérie en forme de coque à avoir un métabolisme hétérofermentaire (Lqnsing Prescott et al., 2002). % en GC=38-44. Elles sont particulièrement connues comme producteurs de dextrane (α -1-6glucanes), matériel capsulaire forme pendant la fermentation du saccharose, un disaccharide composé de glucose et de fructose.

Saccharose $\longrightarrow$ dextrane + fructose (Perry et al., 2004).

Ils sont généralement capsulés, cette propriété entraîne fréquemment l'apparition d'une viscosité; ce genre est utile dans certains fromages où ils facilitent l'ouverture par la production de CO_2 .

4-3/Pediococcus:

Ce sont des coques, sous forme des cellules sphériques disposées en tétrades, catalase négative, ayant un métabolisme homofermentaire, non mobiles et microaérophiles (Guiraud, 1998).

Leur faible activité protéolytique est chez la plus part des espèces. Ils sont incapables d'utiliser le lactose et donc ne peuvent pas acidifier et coaguler le lait (De Roissard et al., 1994).

Les espèces de *Pediococcus* réalisent aussi d'importantes fermentations lactiques (Perry et al., 2004).

4-4/Bifidobacterium:

Ils ont une grande variété de formes: cocoïde, allongée avec des protubérances et des bifurcations "forme bifide en Y", à l'extrémité spatulée; les cellules sont souvent disposées en chaînes étoilées en V ou en palissades. Ces bactéries sont immobiles, non sporulées, anaérobies, et catalase négatif (De Roissard et al., 1994).

Bien que Bifidobacterium ne soit pas un organisme mycélien, sa phylogénie le situe tout près d'Actinomyces. C'est un genre de bactérie anaérobie en forme de bacilles irréguliers fermentant les sucres en acides acétiques et lactiques (Perry et al., 2004).

4-5/*Streptococcus*:

Ce sont des coques (1µm de diamètre) disposées en paire ou en chaînettes, non sporulant, immobiles, capsulés, souvent présente anaérobies facultatif, chimioorganohétérotrophes, métabolisme habituellement fermentatif, les sucres sont consommés le plus souvent sans formation de gaz (SINGLETON P, 2004), ont des exigences nutritives parfois complexes, avec un métabolisme homofermentaire (De Roissard et al., 1994).

4-6/*Lactococcus* (anciennement *Streptococcus lactis*)

Leurs cellules sont sous formes de bâtonnets ou de coccobacilles, qu'on trouve isolent en paires ou en chaînettes. Ils croissent à 10°C, mais pas à 45°C, fermentatifs (Singleton, 2004).

5/L'habitat des bactéries lactiques:

Un des principaux habitats des BL est le matériel végétal en décomposition. Ces bactéries fermentent les hexoses et les pentoses qui prédominent dans les produits en décomposition.

Les BL jouent un rôle clé dans l'industrie alimentaire: (laitier: comme agent naturel d'acidification ou de surmûrissement dans la fabrication des fromages, des beurres et des yaourts ...; et l'industrie des conserves : cornichons, choucroute, viandes fermentées, poissons, produits carnés, les saucissons, les cervelots). En boulangerie dans la préparation du pain.

Un autre habitat des BL est le tractus intestinal des animaux. Elles se développent dans la cavité orale où elles fermentent les sucres comme le saccharose avec la formation d'acide lactique, ces bactéries colonisent le tractus intestinal de l'homme et d'autres animaux où elles sont des hôtes habituels de l'intestin grêle. Un dernier habitat important des BL est le vagin des mammifères femelles (Perry et al., 2004).

6/Principales propriétés métaboliques chez les bactéries lactiques:

La fermentation a toujours été un moyen commun de conservation et de transformation des aliments (Bousseboua, 2002). Notre étude s'intéresse à la fermentation lactique; c'est la plus simple des fermentations. Elle se résume à la réduction du pyruvate en acide lactique, par l'oxydation de coenzymes réduits produits en amont.

On distingue deux types de fermentation lactique:

La fermentation homolactique qui a pour produit essentiel l'acide lactique, ce qui entraîne une rapide baisse du pH du milieu. Elle est principalement réalisée par les bactéries du genre *Streptococcus*, de plusieurs espèces de *Lactobacillus* et certaines *Bacillus*.

Dans **la fermentation hétérolactique**, seule une partie de substrat est transformée en acide lactique, l'autre partie étant consacrée à d'autres voies fermentaires. Elle est effectuée par le genre *Leuconostoc* et de nombreuses *Lactobacillus*.

Il existe également une fermentation dite **fermentation acétolactique** spécifique pour du genre *Bifidobacterium* et caractérisée par la production d'un mélange d'acide lactique et d'acide acétique.

-Fermentation homolactique: hexoses $\longrightarrow$ lactate

-Fermentation hétérolactique: 2hexoses $\longrightarrow$ lactate+éthanol+CO₂

-Fermentation acétolactique: hexoses $\longrightarrow$ acétate+lactate (Boussebouda, 2002).

Chapitre II

Généralités sur la génétique et le génie génétique des bactéries lactiques

1/ La génétique et le génie génétique des bactéries lactiques:

Les BL sont largement utilisées dans les procédés de fermentation permettant la conservation de produits alimentaires.

La fermentation lactique est principalement le fait de quelques groupes de bactéries Gram-positives dont les représentants les plus connus sont *L. lactis*, *S. thermophilus*, et quelques espèces de lactobacilles et de Leuconostocs. La plupart des études de génétique ont porté sur ces quelques espèces, bien que de très nombreuses autres espèces existent, en particulier, dans les produits traditionnels où les flores sont "naturelles".

Dans une première partie, nous présentons un ensemble de méthodes principalement basées sur des techniques de biologie moléculaire qui peuvent être appliquées pour étudier les BL.

La seconde partie est consacrée à l'organisation de l'information génétique et à l'évolution des génomes.

La troisième partie est dédiée à l'adaptation des BL aux conditions environnementales (Corrieu et Luquet., 2008).

La plupart de ces micro-organismes ont un rôle technologique, bien entendu sur le plan industriel (Larpent, 1997).

1-1/Techniques de biologie moléculaire

1-1-1/Analyse de la diversité des espèces:

Le premier point qu'il est nécessaire d'éclaircir lorsque l'on aborde l'étude d'un écosystème est de déterminer sa composition en espèces, voire, plus finement, en souches ayant des propriétés biologiques particulières. D'autant que possible, d'utiliser des méthodes ne requérant pas de cultiver et d'isoler représentants de cette flore avant d'en déterminer la taxonomie.

***Séparation sur gel des ADN_r:**

Il y'a plusieurs techniques: les techniques dites "Température Gradient Gel Electrophoresis" (TGGE) , "Denaturing Gradient Gel Electrophoresis" (DGGE) (Corrieu et Luquet., 2008) et la technique dite "Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism" (T-RFLP) analyse le polymorphisme de restriction des ADN_r (Liu et al., 1997).

1-1-2/Analyse de la diversité des souches:

La plupart des travaux, concernant la diversité de souches appartenant à la même espèce au sein des écosystèmes, ont été réalisés après l'isolement de clones et leur analyse individuelle. Donc il est possible de distinguer les souches clonales par des techniques classiques de typage comme le "Pulse Field Gel Electrophoresis" (PFGE), la "Random Amplified Polymorphic DNA(RAPD), l'"Arbitrary Primed PCR" (AP-PCR), l'"Amplification Fragment Length Polymorphism" (AFLP).

1-2/Techniques de modification des bactéries lactiques:

1-2-1/Vecteurs et hôtes:

Les premiers développements de couples hôte-vecteur chez les BL ont été réalisés chez *L.lactis*. D'un point de vue général, il est recherché, d'un coté un hôte dont le phénotype restera stable dans les milieux de laboratoire, et de l'autre part, un vecteur qui pourra être sélectionné dans cet hôte et s'y maintiendra de manière stable, sans modifier de manière significative ses caractéristiques (Corrieu et Luquet., 2008).

Les souches de *L.lactis*, contiennent naturellement de nombreux plasmides. Des souches curées de leurs plasmides ont été construites pour faciliter le développement de méthodes génétiques (Gasson, 1983; Chopin et al., 1984).

1-3/Génomes et évolution:

1-3-1/Génome des bactéries lactiques:

Les données concernant le génome des BL ont considérablement progressé ces dernières années, en particuliers grâce aux programmes de séquençage génomique. Avant ces travaux, la taille des génomes des BL avait été estimée entre 1,8 et 3,4 Mb, selon les espèces, par des techniques d'électrophorèses en champ pulsé (le Bourgeois et al., 1993; Davidson et al., 19996).

***Chromosome:**

La taille du génome étant corrélée au nombre de gènes, et donc aux capacités métaboliques de la cellule, les BL auraient donc des capacités moyennes, reflétant leur adaptation à des niches écologiques relativement riches, et un environnement ne nécessitant pas une très forte flexibilité pour faire face à des situations très diverses (Corrieu et Luquet., 2008).

1-3-1-1/Plasmides:

Les plasmides résidents des BL:

Faire l'inventaire des plasmides présents dans une souche est une nécessité pour le généticien et pour le physiologiste. Il permet d'identifier les génomes présents à l'extérieur du chromosome et de déterminer leur fonction dans la vie cellulaire et dans les relations de ces bactéries avec les autres micro-organismes du milieu (Leveau et Bouix; 1993).

La distribution des plasmides est très variables, tant au niveau des souches au sein d'une espèce, que plus globalement au niveau des genres. Le tableau N°1 illustre cette variabilité.

Les plasmides ne sont en général pas des éléments indispensables à la vie cellulaire. Ils peuvent donc se perdre spontanément lors de cultures au laboratoire ou à l'aide de différentes techniques faisant appel à des agents mutagènes (acriflavine, novobiocine...), des chocs électriques, la croissance à des températures élevées, la protoplastisation.

En fin, il ne faut pas conclure que la rareté ou l'absence de plasmides chez certaines bactéries, comme *S.thermophilus*, indiquent que ces espèces n'acquièrent pas d'éléments d'adaptation. En effet, ces bactéries peuvent utiliser de manière privilégiée d'autres vecteurs et d'autres mécanismes de transfert de gène comme des éléments intégratifs ou des recombinaisons avec le chromosome (Corrieu et Luquet., 2008).

1-3-1-2/Eléments intégratifs:

***Séquences d'insertion:**

L'un des éléments intégratifs les plus simples est l'IS (pour "insertion séquence"). Ces petits éléments, d'une taille généralement inférieure à 2,5 Kb, codent seulement pour les protéines dont la fonction est requise pour leur mortalité. Ces éléments ont un rôle essentiel dans l'évolution des génomes et leur activité est fortement contrôlée afin de ne pas perturber le fonctionnement de la cellule (Nagy et Chandler, 2004).

***Introns:**

Les introns sont des éléments génétiques particuliers qui passent par un état sous forme d'ARN lors de leur dissémination. Les introns sont en général insérés à l'intérieur des gènes et ils mènent à leur inactivation s'ils ne sont pas excisés (Corrieu et Luquet., 2008).

2/Les mutations:

Les modifications du génome qui en résultent entraînent une diversification et une évolution des micro-organismes.

Il est important de signaler que les éléments mobiles sont sujets à de nombreuses modifications par des différents mécanismes. En ce qui concerne les BL, les études les plus détaillées, montrant que leurs génomes sont sujets à d'importantes variations, ont été réalisées d'abord chez *L.lactis* et, dans une moindre mesure, chez *S.thermophilus*. Ces premiers travaux ont fait l'objet de deux revues (Davidson et al., 1996; campo et al., 2002).

***Bactériophage de *S.lactis* et *S.cremoris*:**

La sensibilité de *S.lactis* et *S.cremoris* au bactériophage reste le problème numéro un en technologie fromagère.

Les cellules bactériennes se lysent après la multiplication interne du bactériophage. Ce qui entraîne un ralentissement ou même un arrêt de l'acidification.

La grande sensibilité de *S.lactis* et *S.cremoris* au bactériophage interdit l'emploi d'une seule souche.

****Mutants *Lac*⁻ et *Prt*⁻ de *S.lactis* et *S.cremoris*:**

L'apparition de mutants de *S.lactis* et *S.cremoris* acidifiant lentement le lait est un phénomène observé couramment au laboratoire. Ces mutants appartiennent à deux catégories distinctes: les mutants *Lac*⁻ qui ont une anomalie dans le métabolisme du lactose conduisant à la réduction de la production d'acide lactique et les mutants *Prt*⁻ à activité protéolytique restreinte. Dans ce dernier cas, le ralentissement de l'acidification est dû à celui de la croissance (Dardenne, 1977).

2-1/Transduction:

La réversion des mutants *Lac*⁻ dans le type sauvage *Lac*⁺ a été obtenu par transduction, c'est-à-dire le transfert des gènes correspondants par un bactériophage (Mc Kay et al., 1973).

Le lysat de la souche C₂ de *S.lactis*, obtenu par irradiation UV, donc passage d'un phage de l'état latent à l'état virulent, a une fréquence élevée de transduction du caractère *Lac*⁺ chez des mutants *Lac*⁻ de *S.lactis* ou même de *S.cremoris*. Cette fréquence élevée indique donc une liaison permanente du gène bactérien *Lac*⁺ au génome d'un phage spécifique, ce dernier n'a pas encore été

complètement identifié car la souche C₂ est lysogène multiple, c'est-à-dire qu'elle héberge plusieurs phages à l'état latent (Corrieu et Luquet., 2008).

2-2/Plasmides:

La fréquence des mutants spontanés Prt⁻ est élevée, soit de l'ordre de 1-2% et la réversion spontanée en Prt⁺ n'est pas observée. D'autre part des mutants Prt⁻ sont facilement obtenus par traitement par l'acridine ou par incubation à température élevée. Ces faits amènent donc à supposer que le ou les gènes Prt⁺ sont portés par un plasmide, c'est-à-dire un fragment de DNA indépendant du chromosome bactérien.

Des analyses de plasmides ont été effectuées sur des mutants Lac⁻ et Prt⁻. Les résultats les plus démonstratifs (Efsthiov et Mc Kay, 1976) sont reportés dans le tableau N°3. La souche sauvage contient 5 plasmides différents par leur masse moléculaire qui va de 2.10⁶ à 27.10⁶ daltons. Ici on a une corrélation rigoureuse entre la perte d'un caractère et celle d'un plasmide: le caractère lactose serait porté par le plasmide de 18.10⁶ daltons et le caractère protéase par le plasmide de 10.10⁶ daltons.

Cependant, ces résultats sont en contradiction avec les expériences de transduction pour le caractère lactose, qui, comme on l'a vu plus haut conduisent à supposer que le gène Lac⁺ est porté par le chromosome bactérien ou alors il faut supposer qu'il y a recombinaison entre le prophage et le plasmide. De plus le gène Prt⁺ est transféré avec le gène Lac⁺ par transduction, ce qui signifierait que les deux gènes correspondants sont portés par le même fragment de DNA. On peut cependant objecter que les mutations Lac⁻ observées peuvent porter sur différents points de la chaîne du métabolisme du lactose et donc que les mutants Lac⁻ sont hétérogènes; d'autre part la réversion de la double mutation Lac⁻-Prt⁻ peut être expliquée par un effet pleiotropique au niveau de la membrane perturbant le système transporteur du lactose et l'activité d'une protéase membranaire (Dardenne, 1977).

Caractères		Plasmides (masse molaire)				
Lactose	Protéase	2.10 ⁻⁶	4.10 ⁻⁶	10.10 ⁻⁶	18.10 ⁻⁶	27.10 ⁻⁶
+	+	+	+	+	+	+
-	-	+	+	-	-	+
-	+	+	+	+	-	+
+	-	+	+	-	+	+

Tableau N°3: Relation entre présence ou absence de plasmides et du caractère lactose ou protéase chez: S.lactis (Efsthiov et Mc Kay, 1976).

3/Effet des facteurs opératoires sur l'aptitude à la stabilisation:

La capacité des cellules à restaurer leur viabilité et leurs propriétés technologiques, à l'issue des traitements de conservation, est influencée par un grand nombre de facteurs. Parmi ceux-ci, le type

de microorganismes considéré, ainsi que les conditions de production (fermentation, récolte, conditionnement), de stabilisation (congélation, lyophilisation), de stockage et d'utilisation, ont été étudiés.

3-1/Effet du milieu de culture:

Différents éléments composant les milieux de culture des BL et probiotiques ont un effet sur la résistance des cellules à la congélation et à la lyophilisation.

Certaines molécules sont défavorables au maintien de la viabilité et de l'activité cellulaire. C'est notamment le cas du chlorure de sodium (1à1, 25mol/L) qui diminue l'activité résiduelle de *Lb plantarum* après séchage (Linders et al., 1997). Selon ces auteurs, c'est le choc osmotique, provoqué par l'addition du sel, qui explique cet effet défavorable. Cet effet défavorable du Na Cl favorise sa résistance ultérieure au stockage à l'état lyophilisé de *Lb bulgaricus*, en présence de 0,1mol/L. Cette faible concentration en sel pourrait favoriser l'accumulation intracellulaire de solutés compatibles.

A l'opposé, l'addition de certains composés influence positivement la viabilité et/ou l'activité cellulaire après congélation. Ainsi l'apport de calcium (0,2à 0,4g/L) dans le milieu de culture induit une amélioration de la résistance à la congélation de *Lb bulgaricus* et *Lb acidophilus*. Selon Bozoglu et Gurakan 1989, le calcium n'aurait pas d'effet sur la résistance à la lyophilisation de *Lb acidophilus*, alors que les travaux de King et al. (1998) montrent un effet positif de l'addition de carbonate de calcium sur la survie au séchage et à la lyophilisation de *Lb acidophilus*.

3-2/Effet de la température de culture:

Une température de culture inférieure à la température optimale de croissance est favorable à la survie après congélation. Ainsi, Hong et Marshall (2001) montrent qu'une température de culture de 37°C est plus favorable que les températures comprises entre 40 et 45°C pour la survie de *S thermophilus*, même si la croissance est plus importante aux températures élevées.

La perte d'activité acidifiante au cours de la congélation (dtf) augmente avec la température de culture alors que l'activité acidifiante initiale est la meilleure (faible) à 37°C.

3-3/Effet du pH de culture:

Il importe de tenir compte de l'effet du pH de culture sur la viabilité et l'activité des bactéries à l'issue de l'étape de fermentation. Les travaux de Linders et al. (1997) montrent que le contrôle automatique du pH (pH 6,3) Pendant la croissance de *Lb plantarum* permet d'atteindre une activité résiduelle plus élevée. Cet effet favorable d'un contrôle du pH est associé à l'effet positif observé sur les concentrations bactériennes finales.

Par ailleurs plusieurs auteurs mettent en évidence un effet positif d'un pH de fermentation acide sur la reprise d'activité de ferments lactiques, après réfrigération, congélation ou lyophilisation. C'est notamment le cas chez *S. thermophilus* à pH 5,5 (Beal et al., 2001). La meilleure cryotolérance observée chez *Lb acidophilus* à pH 5, est expliquée par une teneur accrue en certains acides gras (C₁₆:0 et cyc C₁₉:0) et une valeur élevée du rapport entre acides gras insaturés et saturés.

3-4/Effet de l'aération:

Si quelques travaux ont été conduits pour évaluer l'effet de l'oxygène sur la croissance des BL et probiotiques, lors de l'étape de fermentation, aucun ne démontre l'influence de l'atmosphère lors de la culture sur la survie des cellules après stabilisation. Seuls Hong et Marshall (2001) montrent que la survie de *S. thermophilus*, après congélation sous air ou sous azote, n'est pas affectée par la composition gazeuse.

3-5/Effet des conditions de refroidissement:

Une première étude, datant de 2001, a permis de montrer que le maintien de BL thermophiles pendant 2 heures à 15°C, avant leur concentration par centrifugation, influence négativement la résistance de *S. thermophilus* et *Lb. bulgaricus* à la congélation. Ce résultat s'explique par la relativement faible valeur de température à laquelle les cellules ont été maintenues. Plus récemment, les travaux de Wang et al. (2005) démontrent l'existence de conditions de refroidissement optimales. Pour *Lb. acidophilus*, le refroidissement des cellules à 28°C pendant une durée de 8h, avant leur refroidissement final à 15°C et leur récolte, permet d'améliorer notablement leur résistance au stockage sous-forme congelée, puisque la vitesse de perte d'activité acidifiante diminue d'un facteur 3. Ce résultat est expliqué, à la fois par la synthèse de 4 protéines spécifiques et par l'accroissement des teneurs en acides gras insaturés et cycliques dans la membrane. Il reste cependant à généraliser à d'autres espèces de BL et probiotiques.

4/Adaptation des cellules préalablement à la stabilisation:

Des réponses physiologiques adaptatives peuvent être volontairement recherchées, en soumettant les BL et probiotiques à des conditions de stress modéré, au cours desquelles, elles peuvent s'adapter. Plusieurs études ont démontré que l'adaptation permet d'améliorer la résistance des bactéries soumises à des conditions défavorables. Les travaux publiés concernant des adaptations réalisées en cours de culture, ou effectuées après la culture, en appliquant, soit des stress homologues, de même nature que le stress ultérieur, soit des stress hétérologues, traduisent ainsi des phénomènes de protection croisée.

4-1/Adaptation thermique:

Des adaptations thermiques ont permis d'améliorer significativement la cryotolérance de BL, selon les différentes modalités:

- Par l'usage de température non optimale pendant la fermentation, les principaux résultats indiquent qu'il est préférable de cultiver les bactéries à une température inférieure à leur température optimale de croissance.
- Par réalisation d'un pallier de refroidissement à basse température après la phase de fermentation (par exemple 28°C pendant 8 heures pour *Lb. acidophilus*) améliore de façon très significative la cryotolérance des bactéries.
- Par utilisation de "haute température" après la fermentation. Ce phénomène de protection croisée a été démontré par Broadbent et Lin (1999), qui indique que la résistance à la congélation et à la lyophilisation est améliorée chez *Lb. lactis* et *L. cremoris* après un choc chaud de 25min à une température de 39 ou 42°C. Les travaux de Wang et al., (2005) contredisent toutefois ces résultats,

en montrant qu'une température de culture de 42°C diminue la résistance à la congélation et au stockage de *Lb acidophilus*, par comparaison à 37°C.

4-2/Adaptation acide:

La mise en place d'un stress acide modéré pendant la culture permet aux cellules de mieux résister à la congélation ultérieure ou à la lyophilisation. C'est ainsi que la cryotolérance à -20°C de *Lb. acidophilus* est améliorée lorsque la culture est conduite à pH 5 plutôt qu'à pH 6. Un travail récent montre qu'une acidification (pH 5, 25 pendant 30min) améliore significativement la cryotolérance de *Lb. bulgaricus*.

4-3/Adaptation nutritionnelle:

La limitation en substrat constitue un stress nutritionnel qu'il peut être intéressant d'exploiter. Pour réaliser une adaptation nutritionnelle, il convient de pour suivre suffisamment la culture jusqu'à l'obtention d'une concentration insuffisante en substrat. Selon Hartke et al. (1994), le maintien des cellules dans ces conditions leur permet de mieux résister à divers stress (acide, hyperthermique, chimique, suivie en phase stationnaire).

4-4/Adaptation osmotique:

Une adaptation osmotique est obtenue en provoquant une augmentation modérée de l'osmolarité du milieu. Selon Panoff et al. (2000), une telle adaptation, réalisée en fin de fermentation, favorise la survie de *Lb bulgaricus* à la congélation à -20°C.

4-5/Adaptation oxydative:

Une adaptation oxydative a été obtenue après traitement des suspensions bactériennes par du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) à faible concentration. Le traitement au peroxyde d'hydrogène (0,003 mol/L) permet à *Lb paracasei* de mieux résister à un stress hyperthermique. Toutefois, les travaux actuellement publiés ne donnent aucune information sur les effets d'une telle adaptation sur la cryotolérance (Corrieu et Luquet, 2008).

Espèce	Nombre	Taille(Kb)	Référence
<i>L.lactis</i>	2 à 11	2,1 à 60	Davies et Gasson, 1981.
<i>S.thermophilus</i>	0 à 2	2 à 9	Herman et Mc Kay, 1985; Turgeon et Moineau, 2001; Solow et Somkuti, 2001; Geis et al., 2003.
<i>L.plantarum</i>	3 à16	2 à 80	Nes, 1984; Ruiz-Barba et al., 1991;Xanthopoulos et al., 2000.
<i>Lb.helveticus</i>	0 à 5	2,3 à 31	Ricci et al., 2006.
<i>Lb.acidophilus</i>	0 à 5	2,5 à 20	Klaenhammer et Sutherland, 1980; Vescovo et al., 1982.
Leuconostoc	1 à 7	/	Orberg et Sandine, 1984; Sgorbati et al., 1985.
Pediococcus	0 à 6	/	Perez Pulido et al., 2006;Gonzalez et Kunka, 1987; Graham et Mc Kay, 1985.

Tableau N°1: Exemples de distribution et de tailles des plasmides chez différents espèces de bactéries lactiques (Corrieu et Luquet., 2008).

Espèces	Plasmides	Fonctions (hors réplication-conjugaison, transposition)	Références
Plasmides caractérisé par des méthodes traditionnelles.			
<i>L.lactis</i>		Utilisation du lactose	Mc Kay et al, 1972.
<i>Lb. casei</i>		Utilisation du carbohydate	Smiley et Fryder, 1978; Chassy et Alpert, 1989.
<i>Lb.plantarum</i>		Résistance à des antibiotiques.	Nes, 1984; West et Warner, 1985.
<i>Lb.fermentum</i>		Résistance à des antibiotiques.	Iwata et al., 1986.
<i>Lb. delbrueckii</i> ssp. <i>bulgaricus</i> <i>Lb.helveticus</i>		Résistance à des antibiotiques.	Vescovo et al, 1982.
Plasmides et fonctions plasmidiques caractérisés par analyse de leur séquence			
<i>L.plantarum</i>	Pmd5057 10,877Kb	Résistance à la tétracycline.	Danielsen, 2002.
<i>S.thermophilus</i>	p ER 35 9,531Kb	Résistance aux chocs thermiques, système de restriction-modification.	Solow et Somkuti, 2000; Geis et al., 3003.
<i>L.fermentum</i> ROT1	p LME300 19,3Kb	Résistance à l'érythromycine et à la dalfopristine.	Gfeller et al., 2003.
<i>Leuconostoc spp</i>		Perméase au citrate.	Vaughan et al., 1995.

Tableau N°2: Exemple de fonctions portées par des plasmides de bactéries lactiques (Corrieu et Luquet., 2008).

Chapitre III

L'intérêt agro-alimentaire des bactéries lactiques

1/Les bactéries lactiques et l'alimentation:

1-1/Les produits laitiers:

Les produits laitiers (ou laitages) sont des produits alimentaires ou industriels produits à partir du lait. Parmi les laits utilisés, le principal est de loin le lait de vache (généralement appelé « lait » sans plus de précision). La consommation de produits laitiers a connu une croissance considérable au niveau mondial depuis le début des années 1950, et continue toujours de s'étendre. Les produits laitiers sont essentiellement utilisés dans l'alimentation humaine, soit directement, soit comme ingrédients dans la pâtisserie, la biscuiterie, la charcuterie, en fromagerie, mais aussi dans l'alimentation animale (lait en poudre pour les veaux, lactosérum pour les porcs). Les produits laitiers sont, en général, des denrées périssables et du producteur au consommateur.

Ces produits proviennent pour l'essentiel de l'industrie laitière . Les principales formes sont: fromage, yaourt, beurre, crème (1).

A/Fabrication de fromage:

A-1/Définition:

Le fromage, denrée alimentaire solide ou semi solide(2), affiné ou non, obtenu à partir des matières premières suivantes: lait, lait partiellement ou totalement écrémé, crème, matière grasse, babeurre, utilisées seules ou en mélange (Gillis et Eck, 1997), en séparant l'élément solide du lait, le caillé, de sa partie liquide, le petit lait, salée et vieillie pendant un temps plus ou moins long.

Quelle que soit la méthode utilisée pour l'obtenir, le fromage conserve une grande partie des éléments nutritifs du lait, en particulier des matières grasses, des minéraux, des sucres et des vitamines.

A-2/Les étapes de fabrication:

Caillage "coagulation", égouttage , salage et l'affinage.

A-3/Les différents types de fromage:

A-3-1/Fromages frais:

Ces fromages n'ont pas de croûte, sont blancs et leur pâtes est molle(2), de type petit suisse, moulés en faisselle (Corrieu et Luquet, 2008); Aucune présure n'est ajoutée pour favoriser leur caillage. On les nomme: brocq (moselle), bibelskäs (alsace), bourgogne (montrachet), cervelle de canut ricotta ou mozzarella, feta(2); mais aussi de nombreux fromages de chèvre comme le crottin, le picodon, le saint maure, le valencay, le saint marcellin ou le saint félicien.

A-3-2/Fromages à pâte molle:

Ce sont pour la plupart des fromages au lait de vache, en forme de disque, leur croûte est blanche de duveteuse, par fois veinée de brun, ce qui provient de l'ensemencement d'un mycélium (*Penicillium candidum*) au moment du salage du caillé(2). On les nomme: le camembert, le brie, le neufchâtel, l'époisse, le munster, le livarot et le pont l'évêque.

A-3-3/Fromage à pâte persillée ou bleus:

Technologiquement, ces fromages sont assez largement assimilables aux fromages à pâte molle; cependant, ils, s'en distinguent par la pratique du "desérumage" avant moulage qui a pour objectif, par le raffermissement et le dessèchement superficiel du caillé, d'obtenir une texture ouverte, dont les cavités servent d'habitat au, ce desérumage peut être obtenu par extraction du lactosérum de la *Penicillium roqueforti* cuve ou par dépôt du caillé dans une toile suspendue ou posée sur une table d'égouttage. On les nomme: le roquefort, le bleu des causses, le bleu d'Auvergne, la fourme d'Ambert, ça sont des lactocoques qui constituent la base de l'ensemencement. Le pH final du fromage est de 4,6 à 4,8.

A-3-4/Fromage à pâte pressée non cuite:

Ce sont des fromages issus de caillé présure et action lactique faible et moulés après un travail de caillé assez fort (Dardenne, 1997).

L'utilisation conjointe des lactocoques et de *Streptococcus thermophilus* se généralise dans la fabrication de nombreux fromages à pâte pressée. Ils sont communément appelés Tomme de Savoie ou du premont: reblochon, fontine, fromage à raclette ou le vacherin fribourgeois, cheddar (Chamba, Prostf, 1989).

A-3-5/Fromages à pâte pressée cuite:

Fromages issus de caillé fortement présuré et moulés après un travail et une cuisson du caillé très prononcés (Dardenne, 1997).

La température de ces fromages au cours de la meule se maintient à une valeur supérieure à 40°C pendant plusieurs heures, de l'ordre de 10 à 18h. Il faut donc faire appel aux BL thermophiles pour assurer leur acidification: *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *L. helveticus* (Elattar et al., 2000). On les compte: beaufort, comté, parmigiano (Jeanson, 2000).

A-4/Rôle des bactéries lactiques dans la fabrication de fromages:

Acidification et égouttage, fermentation des citrates, production d'EPS, protéolyse, lipolyse, interaction: activation et inhibition.

B/Fabrication de yaourt:

B-1/Définition:

Le yaourt est le lait fermenté (Lupien, 1995) le plus apprécié par les consommateurs (Simon et al., 2002). Il résulte selon les usages loyaux et constants, par le développement des seules BL, *Lb. Bulgaricus*, *S. thermophilus*, qui doivent êtreensemencées simultanément et se trouvent vivantes dans le produit à raison d'au moins 10^7 B.g⁻¹ (Mahaut et al., 2000). La quantité d'acide lactique libre ne doit pas être inférieure à 0,7g.100g⁻¹ lors de la vente au consommateur (Simon et al., 2002). Cette fermentation conduit à la prise en masse du lait. Le coagulum obtenu est ferme, sans exsudation de lactosérum. Il peut être consommé en l'état ou après brassage lui donnant une consistance crémeuse ou liquide. Il peut aussi être congelé et consommé comme une glace (Lupien, 1995).

B-2/Les étapes de fabrication du yaourt:

Les étapes de fabrication du yaourt sont résumées dans la figure1.

B-3/Les différents types de yaourts:

Il existe deux types de yaourts:

*Yaourts fermes, dont la fermentation a lieu en pots: ce sont généralement les yaourts nature et aromatisés.

*Yaourts brassés, dont la fermentation a lieu en cuve avant brassage et conditionnement: c'est le cas des yaourts veloutés nature ou aux fruits.

La fabrication de ces deux types de yaourts peut être réalisée soit à partir de lait entier, soit à partir de lait partiellement ou totalement écrémé (3,5%; 1,0%; 0,0% de matière grasse).

B-4/Rôles des bactéries lactiques dans la fabrication de yaourt:

*Amélioration de l'absorption du lactose.

*Activité antimicrobienne.

*Stimulation du système immunitaire.

*Action préventive contre les cancers de la sphère digestive:

*Accroissement des vitesses de croissance et des concentrations bactériennes finales.

* Diminution du pH final du produit en culture mixte (Corrieu et Luquet, 2008) de façon à former un gel (Lupien, 1995).

*Stimulation de la production des composés d'arômes: acétaldéhyde principalement, cétone, acétoïne, diacétyl).

*Accroissement de l'activité protéolytique.

*Amélioration de la stabilité physique du produit (réduction des problèmes de synérèse) et de sa consistance (Corrieu et Luquet, 2008).

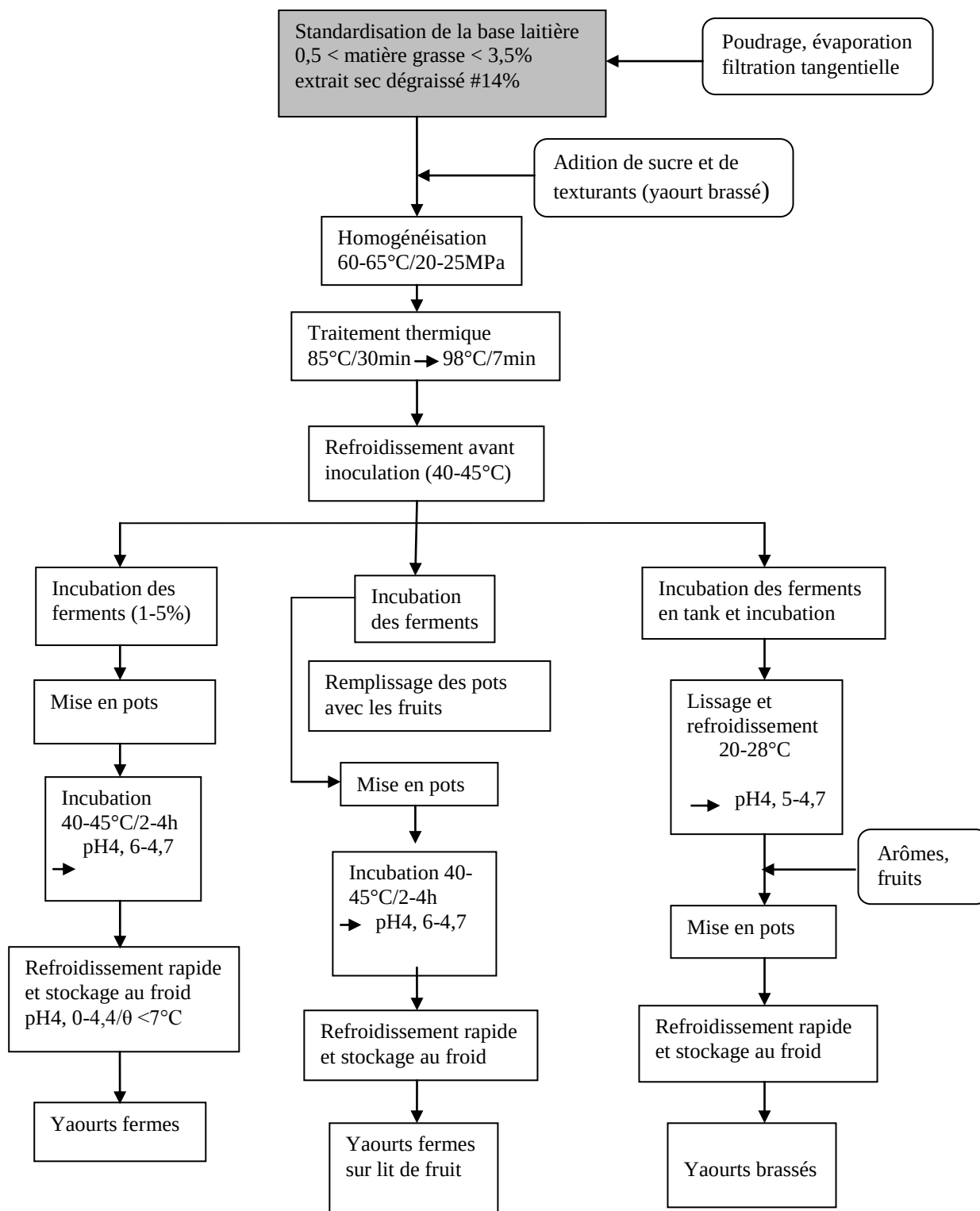


Figure 1: Les étapes de fabrication du yaourt (Lucey, 2004).

C/ La fabrication de beurre:

C-1/Définition:

Beurre: produit laitier peu fermenté. Ce produit à humidité faible (15%) et à teneur en lipide élevé (80%), est microbiologiquement stable. L'eau est présente dans la phase lipidique sous forme de fine gouttelettes en émulsion (Bourgeois et al., 1996).

C-2/Les étapes de fabrication:

***Principe:**

La fabrication du beurre consiste en une concentration de la matière grasse du lait, réalisée en deux étapes. Dans la première, la matière grasse est extraite du lait par centrifugation ou par écrémage spontané. On obtient alors du lait écrémé, dont la teneur en graisse est inférieure à 0,05%, et de la crème d'une consistance réglable à volonté (Fluckier et al., 1969). Les étapes de fabrication sont résumées dans la figure2.

C-3/Les différents types de beurre:

Produits à teneur allégé en MG, beurre concentré, beurre aromatisé, beurre en poudre.

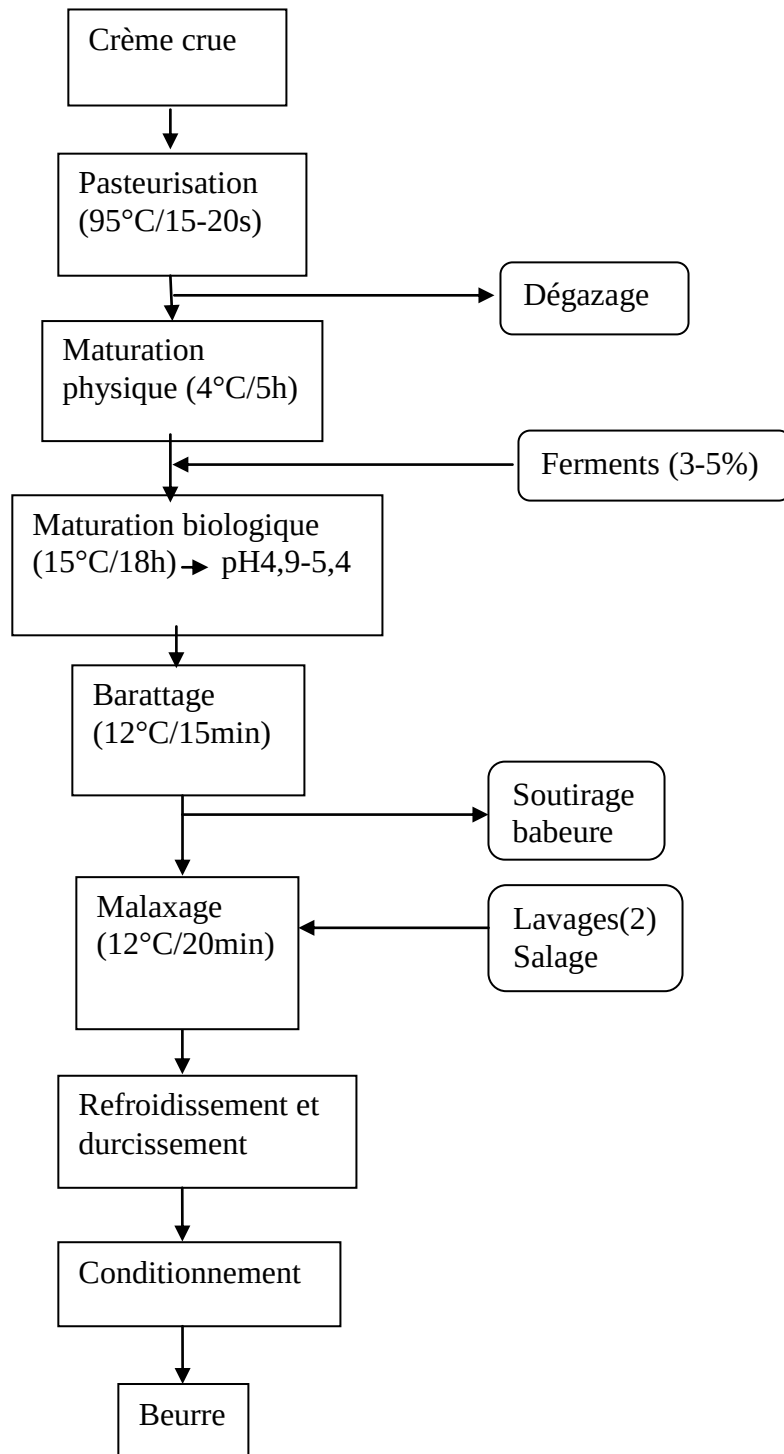


Figure2: Les étapes de fabrication du beurre (Mahaut et al., 2000).

D/La fabrication de crème:

D-1/Définition:

La dénomination "crème" est réservée au lait contenant au moins 30g de matière grasse pour 100g de poids total provenant exclusivement du lait (Simon et al., 2002).

D-2/Les différents types de crèmes:

Les crèmes de consommation se distinguent par leur richesse en matière grasse, par le traitement thermique qui leur est appliqué et par les traitements spécifiques liés à leur utilisation: crème douce, acide, légère, épaisse, à fouetter, etc.

D-3/Rôles des BL dans la fabrication de la crème:

Pour l'ensemencement et la maturation, des souches de BL mésophiles (tableau N°4) acidifiantes, aromatiques et parfois épaississantes sont utilisées à 0,5% pour rendre la crème plus aromatique (transformation du citrate ionisé en diacétyle par les leuconostocs) et lui conférer une meilleure protection par production d'acide lactique et de bactériocines (nisine, diplococcine) (Mahaut et al., 2000). En outre, la maturation due au développement de BL acidifiantes et aromatisantes fait baisser le pH et, à partir de 5,2 provoque la floculation de la caséine (Lupien, 1995).

Organisme	Type fermentaire		Acide lactique	Utilisation du citrate	Acétoïne à partir du citrate
	Homo-	Hétéro-			
L.lactis ssp. lactis	+	-	L(+)	-	-
L.lactis ssp. cremoris	+	-	L(+)	-	-
Lc.lactis	-	+	D(-)	v	-

Tableau N°4: Caractérisation des différentes espèces de BL utilisées pour la maturation en crèmerie (Paquot et al., 1994).

1-2/ Conservation des aliments:

1-2-1/Conservation par fermentation:

Procédé de conservation très ancien consistant à utiliser la fermentation qui se produit de façon spontanée dans certains produits en la guidant éventuellement de façon à obtenir un produit ayant de bonnes qualités organoleptiques.

-Fermentation alcoolique: préparation de vin, cidres, bières.

-Fermentation acétique: préparation des vinaigres.

-Fermentation lactique: les laits contiennent des ferments lactiques associés à d'autres germes moins indésirables.

Ce principe de base associé au chauffage, au salage et à l'ensemencement superficiel avec des cultures spécialisées est utilisé pour la préparation des fromages. Les yaourts et autres laits

fermentés sont préparés avec des laits pasteurisés ou stérilisés ensemencés avec des ferments lactiques sélectionnés en fonction de l'acidité que l'on veut obtenir. C'est en somme l'acidité développée qui assure la conservation des produits. C'est également la fermentation lactique qui intervient pour assurer la conservation et le développement des qualités organoleptiques des salaisons, de la choucroute, des olives, des anchois, etc....

En ce qui concerne l'anchois, la fermentation lactique associée au salage favorise de ferments enzymatiques contenus dans la chair des poissons et aboutit à une véritable digestion spontanée (autolyse) des tissus qui confère aux anchois leurs caractères gustatifs spécifiques (Rochefrette, 1974).

En ce qui concerne la choucroute, la conservation est obtenue par fermentation lactique naturelle provoquée par plusieurs espèces microbiennes. Cette fermentation doit s'effectuer dans des conditions bien déterminées (Leraillez, 1955).

*** Les antibiotiques:**

Les antibiotiques (substances chimiques secrétées par certains microorganismes et ayant des propriétés provoquant la destruction d'autres microorganismes) ont été préconisés sans résultats très probants pour la conservation des poissons et des volailles. Leur utilisation est actuellement interdite en différents pays (en raison des possibilités de création chez les consommateurs de germes résistant aux antibiotiques). Une seule exception a été faite pour la nisine (Rochefrette, 1974), qui est produite par *Streptococcus lactis*, utilisée pour inhiber les bactéries du genre *Clostridium* dans les fromages affinés et dans les fromages fondus ainsi que les gâteaux à base de semoule (Vierling, 1998), son spectre d'action relativement restreint limite son champ d'application; elle est notamment inefficace contre les *Pseudomonas*, et, tout comme la subtiline sécrétée par *Bacillus subtilis*, elle peut être détruite par différents microorganismes. Cependant, à la dose de 0,00025%, la nisine est susceptible d'empêcher la germination de spores bactériennes thermophiles pouvant subsister dans les boîtes de conserve, par exemple de *Clostridium* spp, mais cette possibilité ne doit, en aucun cas, être mise à profit pour limiter une stérilisation par la chaleur (Miche, 1974). Elle agit en empêchant le développement de certains germes butyriques qui provoquent le gonflement des fromages fondus. La nisine est également employée dans différents pays du marché commun pour le lait chocolaté, le lait stérilisé, le lait concentré, les conserves de légumes, les jambons, les pâtes et les potages. Elle présente un intérêt pour la stabilisation de ces produits en tant qu'auxiliaire de protection.

Oligo-éléments:

Sel de fromagerie:

Le sel destiné à la fabrication et à la maturation des fromages peut être additionné des substances suivantes exemptes de tout élément toxique: carbonate de calcium, carbonate de magnésium ou leur mélange dans une proportion ne dépassant pas 4 % dont 2 % au max de carbonate de magnésium.

Additifs divers:

Les ferments lactiques vivants:

(Streptocoques lactiques ou lactobacilles) dont l'emploi est toléré dans la préparation de certains produits de charcuterie sur support de lactose, de sucres alimentaires ou de poudre de lait écrémé (Rochefrette, 1974).

1-3/Autres rôles des bactéries lactiques:

***Lors de la fabrication de choucroute:**

La transformation de chou en choucroute est réalisée par deux fermentations successives, faisant intervenir des BL hétérofermentaires (espèce *Leuconostoc*) puis homofermentaires (espèce, *Pediococcus*).

Plusieurs mécanismes d'interaction prennent place. Des phénomènes de compétitions et d'amensalisme, ont été observés entre ces différentes espèces.

***Lors de l'élaboration des vins:**

Au cours de la phase malolactique, qui correspond à la phase de déclin des levures, les BL sont stimulées par les levures. Le mécanisme évoqué est lié à la lyse des levures, qui libère une fraction azotée assimilable (peptides et acides aminés) et des vitamines qui stimulent les BL.

***Lors de l'élaboration de la pâte à pain:**

Le phénomène le plus remarquable est la protocoopération entre la flore levurienne et la flore bactérienne lactique conduisant à des pains riches en arômes, acides et capables d'être conservés plus longtemps.

***Rôles des exopolysaccharides sur la santé:**

Les EPS sont aujourd'hui associées aux propriétés probiotiques et prébiotiques attribuées aux BL. Plusieurs études réalisées ont montrées que les EPS des BL ont des activités potentielles d'agent diminuant le cholestérol, anti-ulcère, anti-tumorale ou encore immunostimulantes: activation des macrophages ou de la production de cytokines, activation de lymphocyte b et/ou la production d'interleukines et d'interféron γ .

Ainsi, dès 1861, Pasteur découvrait que la gélification du sirop de sucre de canne était le résultat d'un micro-organisme, isolé en 1878 par Van Tieghem et dénommé *Leuconostoc mesenteroides* (Corrieu et Luquet, 2008).

Conclusion

Conclusion:

Ce travail qui traite un domaine particulièrement important, à savoir:

-Les BL et leur utilisation dans le domaine de l'industrie agro-alimentaire, est enfin réalisé en prenant en considération deux aspects de ce sujet:

*L'aspect caractéristique des BL, c'est-à-dire pour montrer leur instabilité vis-à-vis les conditions du milieu où elles vivent (pH, T°, déprivation nutritionnelle et l'espèce bactérienne).

*L'aspect technologique des BL, pour montrer qu'elles sont à l'origine de fabrication d'une gamme variée des produits alimentaires (yaourt, fromage, beurre, crème, vin,...), ainsi que dans le domaine de la conservation.

En guise de conclusion nous disons que ce travail présenté nous a été bénéfique selon que:

Les BL présentent un caractère déterminant pour leur utilisation: un important polymorphisme qui se traduit par l'existence au sein des espèces de nombreuses souches possédant des propriétés technologiques différentes et par l'instabilité des souches elles-mêmes. Cette variabilité due à une organisation particulière du matériel génétique des bactéries, accroît la gamme des utilisations, mais aussi les risques d'instabilité technologique.

Références bibliographiques

- 1-Accolas J.P, Veaux M, Vassal L, Mocquot G**(1978). Evolution de la flore lactique thermophile au cours de pressage des fromages à pâte cuit. Lait, 58: 118-132.
- 2-Alais C**(1984). Science du lait, principe des techniques laitières. Spaic Paris, France.
- 3-Bourgeois C.M, Mescle J F, Zucca J**, 1996. Microbiologie alimentaire. Aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments. Tome 1. Techniques et documentation, Paris, 2^{ème} édition p: 129.
- 4-Bousseboud H.**, Janvier 2002. Eléments de microbiologie générale, édition de l'Université MENTOURI, CONSTANTINE(ALGERIE) p: 100, 227.
- 5-Campo N, Dias MJ, Daveran-Mingot ML, Ritzenthaler P et Le Bourgeois P**(2002). Genome plasticity in *Lactococcus lactis*. Antonie Van Leeuwenhoek, 82(1-4):123-132.
- 6-Chamba J, Prost F**(1989). Mesure de l'activité acidifiante des bactéries lactiques thermophiles utilisées pour la fabrication de fromages à pâte cuite. Lait, 69:417-431.
- 7-Chassy BM et Alpert CA** (1989). Molecular characterization of the plasmid encoded lactose. PTS of *Lactobacillus casei*. FEMS Microbiol Rev, 5(1-2): 157-165.
- 8-Chazaud M.T, et Larpent J.P**, 1980: Stimulation de l'activité des ferments lactiques par l'extrait de levure, Extrait de la levure laitière française N°383, Sciences et techniques.
- 9-Chopin A, Chopin MC, Moillo-Batt A et Langella P** (1984). Two plasmid-determined restriction and modification systems in *Streptococcus lactis*. Plasmid, 11: 260-263.
- 10-Corrieu Georges; Luquet François-Marie**. Bactéries lactiques de la génétique aux ferments. Lavoisier 2008. Editions TEC et DOC. p: 153-243, 297, 328-329, 438-439, 444-446, 528-529, 622-623, 738-747, 790-805.
- 11-Danielsen M** (2002). Characterization of the tetracycline resistance plasmid p MD5057 from *Lactobacillus plantarum* 5057 reveals a composite structure. Plasmid, 48(2): 98-103.
- 12-Dardenne Guy**, 1977. Génétique et industries alimentaires. Paris, (129-136).
- 13-Dardenne Guy** (1997), Génétique et industrie alimentaires, association pour la promotion industrie agriculture.
- 14-Davidson BE, Kordias N, Dobos M et Hillier AJ**(1996). Genomic organization of lactic acid bacteria. Antonie Van Leeuwenhoek, 70(2-4): 161-183.
- 15-Davies F L et Gasson M J** (1981). Reviews of the progress of dairy science: genetics of lactic acid bacteria. J. Dairy Res, 48: 363-376.
- 16-De Roissart H., Dellaglion. F., Torriat S., Curk M. C., Janssen D.**, 1994. Caractéristiques générales des bactéries lactiques. Bactéries lactiques, Loric. Chemin de Saint Georges, volume1, p: 25-116.
- 17-Desmazeaud M. J, De Roissart H.**, 1994. Métabolisme général des bactéries lactiques. Bactéries lactiques Loric (1): 198.
- 18-Efstathiou J. D et Mc Kay L. L.** (1976). Appl. Env. Microbiol., 32, 38-44.
- 19-Elattar A, Monnet C, Corrieu G** (2000). Method for the selection of *Lactococcus lactis* mutants producing excess carbon dioxide J Dairy Res, 67: 641-646.
- 20-Fluckier E, Greminger W, Hostettler H, Ingold. P**(1969). Le lait, ouvrage publié par l'association suisse des ingénieurs agronomes à l'usage des écoles d'agriculture et des agriculteurs. PAYOT LAUSANNE-diffusion en France, la maison rustique. Paris.
- 21-Gasson MJ**, 1983. Plasmid complements of *Streptococcus lactis*. NC DO 712 and other lactic. *Streptococci* after protoplast-induced curing, J. Bacteriol, 154: 1-9.
- 22-Geis A, El Demerdash H A et Heller K J** (2003). Sequence analysis and characterization of plasmids from *Streptococcus thermophilus*. Plasmid, 50(1): 53-69.
- 23-Gfeller KY, Roth M, Meile L et Teuber M** (2003). Sequence and genetic organization of the 19,3-Kb erythromycin-and dalfopristin-resistance plasmid p LME300 from *Lactobacillus fermentum* ROT1. Plasmid, 50(3): 190-201.
- 24-Gillis Jean-Claude, Eck. André**, (1997), le fromage dans la science à l'assurance qualité 3^{ème} édition. Lavoisier TEC and DOC. Paris. P. 42, 78, 86, 101, 257, 447, 468, 599, 605, 691, 711, 724, 758, 847.
- 25-Gonzalez C F et Kunka B S** (1987). Plasmid-associated Bacteriocin Production and Sucrose Fermentation in *Pediococcus acidilactici*. Appl Environ Microbiol, 53(10): 2534-2538.
- 26-Graham D C et Mc Kay LL** (1985). Plasmid DNA in Strains of *Pediococcus cerevisiae* and *Pediococcus pentosaceus*. Appl Environ Microbiol, 50(2) 532-534.
- 27-Guiraud J. P.** 1998. Microbiologie alimentaire. Dunod. Paris p : 90-139.

- 28-Guittonneau G** (1923) Les principes d'une technique notionnelle en industrie laitière. Le rôle des micro-organismes en laiterie, Ed. Le lait, Lyon.
- 29-Herman R E et Mc Kay LL** (1985). Isolation and partial characterization of plasmid DNA from *Streptococcus thermophilus*. *Appl Environ Microbiol*, 50(4): 1103-1106.
- 30-Iwata M, Mada M et Ishiwa H** (1986). Protoplast fusion of *Lactobacillus fermentum*. *Appl Environ Microbiol*, 52(2): 392-393.
- 31-Jean Paul Larpent**; 1997: Microbiologie alimentaire. Technique de laboratoire. Technique-Dokumentation. LONDRES NEW YORK. PARIS. P 199-230.
- 32-Jeanson S**(2000). La maturation du lait dans la fabrication de fromages à pâte pressée cuite: le rôle des lactocoques, thèse de l'université de Bourgogne, 2434.
- 33-Jeantet Romain .Croguennec Thomas. Mahaut Michel. Schuck Pierre. Brule Gérard.**2008. Les produits laitiers. Edition TEC&DOC. 2^{ème} édition. Lavoisier. Paris. p: 24-27,61-68, 78.
- 34-Klaenhammer T R et Sutherland S M** (1980). Detection of plasmid deoxyribonucleic acid in an isolated of *Lactobacillus acidophilus*. *Appl Environ Microbiol*, 39(3): 671-674.
- 35-Le Bourgeois P, Lautier M et Ritzenthaler P** (1993). Chromosome mapping in lactic acid bacteria. *FEMS Microbiol Rev*, 12(1-3): 109-123.
- 36-Le Raillez Paul.** 1955. La conservation industrielle des légumes. Nouvelle bibliothèque professionnelle. Editeurs J-B. BAILLIERE et Fils. Paris. P: 39-40, 432.
- 37-Leveau JY et Bouix M**; 1993: Microbiologie industrielle. Les micro-organismes d'intérêt industriel. Technique-Dokumentation-LAVOISER, 1993, P 248-250.
- 38-Liu CQ, Khunajeakt N, Chia LG, Deng YM, Charoen Chai P et Dunn NW**(1997). Genetic analysis of regions involved in replication and cadmium resistance of the plasmid p ND302 from *Lactococcus lactis*. *Plasmid*, 38(2): 79-90.
- 39-Liu. M. Van En Kevort FH et Sienzen RJ** (2005). Crenome update: lactic acid bacteria. Genome sequencing is bvoing. *Microbiology*, 155(pt 12): 3811-3814.
- 40-Lqnsing. M. Prescott, John. P. Harley, Donald. A. Klein,** 2002. Microbiology. 5^{ème} édition, A business unit of the MC Grow-Hill companies. Inc. p 931.
- 41-Lucey JA**(2004). Cultured dairy products: an overview of their gelation and texture properties. *Int. J. Dairy Technol* 57: 77-84.
- 42-Lupien John**(1995), le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine, archives de documents de la FAO.
- 43-Mahaut Michel. Jeantet Romain. Brule Gérard. Schuck Pierre.** 2000. Les produits industriels laitiers. Editions TEC&DOC. Lavoisier. Paris. LONDRES-PARIS-NEW YORK. p: 27-34, 93-107.
- 44-Martineau B,** 1996: Systématique bactérienne, Décarie, éditeur, Montréal, p 11-45.
- 45-Mc Kay LL, Baldwin KA et Zottola EA** (1972). Loss of lactose metabolism in lactic streptococci. *Appl Microbiol*, 23(6): 1090-1096.
- 46-Mc KAY LL, CORDSB. R et BLDWIN K.A.,** 1973. J, *Bacteriol*, 115, 810-815.
- 47-MICHE Jean-Claude.** 1974. Techniques vivantes. Conservation des aliments: composition, qualité, biodégradation. PRESSES universitaires de France. Paris. p: 127, 130-131, 134-136.
- 48-Nagy Z et Chandler M** (2004), Regulation of transposition in bacteria *Res Microbiol*. 155(5): 387-398.
- 49-Nes IF** (1984). Plasmid profiles of ten strains of *Lactobacillus plantarum*. *FEMS Microbiol Lett*, 21: 359-361.
- 50-Novel G,** 1993. Les bactéries lactiques in: les microorganismes d'intérêt industriel. Ed Tec et Doc, Paris, pp167-248.
- 51-Orberg P K et Sandine W E** (1984). Common occurrence of plasmid DNA and vancomycin resistance in *Leuconostoc* spp. *Appl Environ Microbiol*, 48(6): 1129-1133.
- 52-Paul Singleton.** , 2004. Bactériologie pour la médecine, la biologie et les biotechnologies 6^{ème} édition Dunod (Paris), P: 517, 522,523.
- 53-Paquot M, Eustache JM, Roblain et al.** (1994). In: Les bactéries lactiques. Lorica, 38410 Uriage, France. Volume II, 155-167.

- 54-Perez Pulido R, Abriouel H, Ben Omar N, Lucas Lopez R, Martinez Camamero M et Galvez A** (2006). Plasmid profile patterns and properties of pediococci isolated from caper fermentations. *J Food Prot*, 69(5): 1178-1182.
- 55-Perry Jerome J., James T., Staley Stephen Lory.**, 2004. Microbiologie. Dunod(Paris), p: 471-479, 499, 576, 806-812.
- 56-Ricci G, Borgo F et Fortina M G**(2006). Plasmids from *Lactobacillus helveticus*: distribution and diversity among natural isolates. *Lett Appl Microbiol*, 42(3): 254-258.
- 57-Rochefre TT Marcel.** 1974. Généralités sur les produits alimentaires. Les produits alimentaires d'origine animale. Documentation technique et réglementations française et communautaire. Editions Eyrolles. Paris. P: 13-16, 20-38, 48-49.
- 58-Ruiz-Barba J L, Piard J C et Jimenez Diaz R** (1991). Plasmid profiles and curing of plasmids in *Lactobacillus plantarum* strains isolated from green olive fermentations. *J Appl Bacteriol*, 71(5): 417-421.
- 59-Sgorbati B, Palenzona D et Sozzi T** (1985). Plasmidograms in some heterolactic bacteria from alcoholic beverage and their structural relatedness. *Microbiologie-Aliment-Nutrition*, 3.
- 60-Simon Daniel, Françoise Martine, Dudez Philippe,** E ducogri éditions(2002). Transformer les produits laitiers frais à la ferme. Comment fabriquer les produits laitiers frais. Hygiène, qualité et chaîne du froid. La réglementation en vigueur, p: 41-49, 105-109, 93-95.
- 61-Smiley MM et Fryder V** (1978). Plasmids, lactic acid production, and N-acetyl-D-glucosamine fermentation in *Lactobacillus helveticus* subsp. *Jugurti*. *Appl Environ Microbiol*, 35: 777-781.
- 62-Solow B T et Somkuti G A** (2001). Molecular properties of *Streptococcus thermophilus* plasmid p ER35 encoding a restriction modification system. *Curr Microbiol*, 42(2): 122-128.
- 63-Solow BT et Somkuti GA** (2000). Comparison of low-molecular-weight heat stress proteins encoded on plasmids in different strains of *Streptococcus thermophilus*. *Curr Microbiol*, 41(3): 177-181.
- 64-Thompson J, Gentry-Weeks CR**(1994). Métabolisme des sucres par les bactéries lactiques, In: Bactéries lactiques, vol. 1. éditeurs: De Roissart H, Luquet F, Lorica M, Uriage, France, 239-290.
- 65-Turgeon N, Frenette M et Moineau S** (2004). Characterization of a theta-replicating plasmid from *Streptococcus thermophilus*. *Plasmid*, 51(1): 24-36.
- 66-Turgeon N et Moineau S** (2001). Isolation and characterization of a *Streptococcus thermophilus* plasmid closely related to the p MV158 Family. *Plasmid*, 45(3): 171-183.
- 67-Van den Bogaard PT, Kleerebezen M, Kuipers OP et de Vos WM**(2000). Control of lactose transport, beta-galactosidase activity, and glycolysis by CcpA in *Streptococcus thermophilus*: evidence of carbon catabolite repression by a non-phosphoenolpyruvate-dependent phosphotransferase system *syar*. *J Bacteriol*, 182(21): 5982-5989.
- 68-Vaughan EE, David S, Harrington A, Daly C, Fitzgerald GF et De Vos WM** (1995). Characterization of plasmid-encoded citrate permease (cit P) genes from *Leuconostoc* species reveals high sequence conservation with the *Lactococcus lactis* cit P gene. *Appl Environ Microbiol*, 61(8): 3172-3176.
- 69-Vescovo M, Morelli L et Bottazzi V**(1982). Drug resistance plasmids in *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus reuteri*. *Appl Environ Microbiol*, 43: 50-56.
- 70-Vierling Elisabeth.** 1998. Aliments et boissons. Technologies et aspects réglementaires. Doin éditeurs, Centre de Documentation Pédagogique. p p:59, 61, 121.
- 71-West CA et Warner PJ** (1985). Plasmid profiles and transfert of plasmid-encoded antibiotic resistance in *Lactobacillus plantarum*. *Appl Environ Microbiol*, 50: 1319-1321.
- 72-Xanthopoulos V, Hatzikamari M, Adamidis T, Tsakalidou E, Tzanetakis N et Litopoulou-Tzanetaki E**(2000). Heterogeneity of *Lactobacillus plantarum* isolates from feta cheese throughout ripening. *J Appl Microbiol*, 88(6): 1056-1064.

Sites utilisés:

1- Source documentaire : cahier nutrition-diététique 1979 – E.Vieling, cours de nutrition 2002 – Dr JM Cohen - 2003; Base de données constituées avec ces ressources et les emballages alimentaires français 2005.

2-Encyclopédie Encarta, 2008

الدكتور محمد بن إبراهيم السربل (الشرف العام). العلوم و التقنية.-3
محملة فصلية تصدرها مدينة الملك عبد العزيز للعلوم و التقنية. السنة 22 العدد 87 يوليو 2008. الصناعات الغذائية(الجزء الأول
ص33).

4-SPECIFICATION TECHNIQUE DE L'ACHAT PUBLIC. LAITS ET PRODUITS LAITIERS.
Groupe d'étude des marches de restauration collective et de nutrition (GEM RCN). Juillet 2009. P:
12-13.

Annexes

LABORATOIRE PHYSICO-CHIMIE
NORMES PHYSICO-CHIMIQUES DES PRODUITS LAITIERS
HODNA LAIT

1-Yaourt étuvé aromatisé(Bifidus)

Critères physico-chimiques	Lait reconstitué	Lait pasteurisé	Produit fini
Densité (mg/cm ³)	1.067- 1.070	1.067- 1.070	/
Matière grasse(%)	2.3- 2.5	2.3- 2.5	2.3- 2.5
Acidité (D°)	16- 21	16-21	80- 95
Extrait sec(%)	21.5± 0.5	21.5± 0.5	21.5± 0.5
p ^H	6.50- 6.65	6.50- 6.65	4.40- 4.60

2-Yaourt étuvé aromatisé(Light)

Critères physico-chimiques	Lait reconstitué	Lait pasteurisé	Produit fini
Densité (mg/cm ³)	1.040-1.044	1.040-1.044	/
Matière grasse(%)	2-2.3	2-2.3	2-2.3
Acidité (D°)	18-23	18-23	80-95
Extrait sec(%)	13.4±0.5	13.4±0.5	13.4±0.5
p ^H	6.50-6.65	6.50-6.65	4.45-4.75

3-Yaourt à boire

Critères physico-chimiques	Lait reconstitué	Lait pasteurisé	Produit fini
Densité (mg/cm ³)	1.067-1.070	1.067-1.070	/
Matière grasse(%)	1.1-1.3	1.1-1.3	1.1-1.3
Acidité (D°)	16-21	16-21	80-95
Extrait sec(%)	20.5±0.5	20.5±0.5	20.5±0.5
p ^H	6.50-6.65	6.50-6.65	4.40-4.60

4-Yaourt brassé aromatisé

Critères physico-chimiques	Lait reconstitué	Lait pasteurisé	Produit fini
Densité (mg/cm ³)	1.072-1.075	1.072-1.075	/
Matière grasse(%)	2.0-2.2	2.0-2.2	2.0-2.2
Acidité (D°)	17-22	17-22	80-95
Extrait sec(%)	25± 0.5	25± 0.5	25±0.5
p ^H	6.45-6.60	6.45-6.60	4.40-4.60

5-Yaourt brassé fruité (cœur fruité/ gourmand)

Critères physico-chimiques	Lait reconstitué	Lait pasteurisé	Produit fini
Densité (mg/cm ³)	1.070-1.072	1.070-1.072	/
Matière grasse(%)	2.0-2.2	2.0-2.2	2.0-2.2
Acidité (D°)	17-22	17-22	80-95
Extrait sec(%)	22.5±0.5	22.5±0.5	22.5±0.5
p ^H	6.45-6.60	6.45-6.60	4.35-4.55

6-Lait acidifié (l'ben)

Critères physico-chimiques	Lait reconstitué	Lait pasteurisé	Produit fini
Densité (mg/cm³)	1.033-1.035	1.033-1.035	/
Matière grasse(%)	1.4-1.6	1.4-1.6	1.4-1.6
Acidité (D°)	15-18	15-18	80-90
Extrait sec(%)	10.7±0.5	10.7±0.5	10.7±0.5
p^H	6.55-5.65	6.55-6.65	4.40-4.60

7-Lait caillé (raib)

Critères physico-chimiques	Lait reconstitué	Lait pasteurisé	Produit fini
Densité (mg/cm³)	1.028-1.030	1.028-1.030	/
Matière grasse(%)	2.2-2.4	2.2-2.4	2.2-2.4
Acidité (D°)	14-17	14-17	65-75
Extrait sec(%)	10.9±0.5	10.9±0.5	10.9±0.5
p^H	6.55-6.65	6.55-6.65	4.40-4.50

8-Crème dessert (Chocolat: Hodny/Fury)

Critères physico-chimiques	Lait reconstitué	Lait pasteurisé	Produit fini
Densité (mg/cm³)	1.075-1.090	1.075-1.090	/
Matière grasse(%)	3.0-3.3	3.0-3.3	3.0-3.3
Acidité (D°)	/	/	/
Extrait sec(%)	28.5±0.5	28.5±0.5	28.5±0.5
p^H	6.65-6.85	6.65-6.85	6.65-6.85

Tableau N°2: Modalités de coagulation et d'égouttage des grandes classes de fromages.

Coagulation	Pâtes fraîches	Pâtes molles	Pâtes pressées	Pâtes dures
-Température (°C)	18-28	28-36	30-38	30-42
-B. lactiques (UFC/ml)	5.10 ⁶	5.10 ⁶	5.10 ⁵	5.10 ⁵
-P ^H emprésurage	6,00-6,70	6,5-6,45	6,55-6,70	6,60-6,75
-Enzyme coagulante	1-5	18-30	20-35	25-40
(ml/100l)	6-16	0,15-3	0,1-0,4	0,1-0,3
-Temps floculation(h)	14-48	0,3-4	0,2-0,8	0,2-0,6
-Temps coagulation totale(h)				
Egouttage	≤4,60	5,80à6, 40	>6,5	>6,55
	10-15	1,5-10	0,5-1,0	0,3-0,2
-P ^H début	nul	Nul ou discontinu	0,3-0,9	0,5-2
-Tranchage (cm)	4,3-4,5	4,5-4,8	4,8-5,2	5,0-5,5
-Brassage(h)	15-35	37-45	40-60	65-70
-P ^H fin	16-20	21-24	28-32	25-4
-Matière sèche totale(%)	0,3-0,5	0,6-2,3	2,6-3,0	2,9-3,5
-Matière sèche dégraissée				
-Ca/Mat. Sèche dégraissée				

Tableau N3° : Températures optimales de croissance des bactéries lactiques

Genre ou espèce	T° optimales
Leuconostoc	18-30°C
Lactococcus	27-32°C
Pediococcus	25-40°C
Lactobacillus (mésophiles)	30-35°C
Enterococcus	30-40°C
Streptococcus thermophilus	42-43°C
Lactobacillus (thermophiles)	40-45°C

Tableau N°4 : Les colorants d'origine naturelle autorisés pour les différents groupes de produits alimentaires.

<i>Denrées alimentaires</i>	<i>Colorants utilisés</i>
1-Vins, vins mousseux, vins de liqueur, eaux de vie naturelles, bières. 2-Cidres, poirés, vermouths, apéritifs à base de vin. 3-Hydromels. 4-Vinaigres. 5-Moutardes (autres que moutardes vertes). 6-Thés verts. 7-Sucre. 8-Poissons salés et séchés. 9-Beurres, fromages, laits aromatisés, laits fermentés aromatisés, huiles, graisses (à l'exception des margarines), bouillons et potages, condiments, sauces (à l'exception de la mayonnaise), produits de charcuterie et salaisons, confitures, gelée, marmelades, eaux de vie (autres que naturelles), boissons alcoolisées non comprises dans d'autres rubriques de ce tableau, présures. 10-Produits de pâtisserie frais ou secs, biscuiterie, préparations pour desserts instantanés (entremets et flans), desserts instantanés prêts à la vente, assaisonnements d'usage ménager pour riz. 11-Croûte de fromage	1-Caramel (produit de carbonisation du sucre). 2-Caramel, cochenille. 3-Cochenille, orseille. 4-Cochenille, orseille, caramel. 5-Curcumine, chlorophylles. 6-Curcumine, indigotine. 7-Bleu anthraquinonique. 8-Tartrazine, jaune orangé S, cochenille, rouge-cochenille A, caroténoïdes. 9-Curcumine, lactoflavine, cochenille, indigotine, chlorophylle, caramel, charbon végétal médicinal, caroténoïdes, xanthophylles, rouge de betterave, anthocyanes. 10-Tous les colorants cités rubrique 9 plus tartrazine, jaune orangé S et rouge-cochenille A. 11-Tous les colorants cités ci-dessus à la rubrique 14 et, en outre, pigment rubis et terre d'ombre brûlée.

Tableau N°5: Numération C.E.E. des agents conservateurs

Numéros C.E.E.	Dénominations	Numéros C.E.E.	Dénominations
	1-Conservateurs		
E 200	Acide sorbique	E 231	Orthophénylphénol
E 201	Sorbate de sodium	E 232	Orthophénylphénate de sodium
E 202	Sorbate de potassium	E 233	Thiabendazole
E 203	Sorbate de calcium	E 236	Acide formique
E 210	Acide benzoïque	E 237	Formiate de sodium
E 211	Benzoate de sodium	E 238	Formiate de calcium
E 212	Benzoate de potassium	E 239	Hexaméthylénetétramine
E 213	Benzoate de calcium		
E 214	P. Hydroxybenzote d'éthyle	E 240	Acide borique
E 215	P. Hydroxybenzote de sodium	E 241	Borax
E 216	P. Hydroxybenzote de propyle		} Pour le caviar exclusivement
E 217	Dérivé sodique du précédent		
E 220	Anhydride sulfureux	E 250	Nitrite de sodium
E 221	Sulfite de sodium	E 251	Nitrate de sodium
E 222	Sulfite acide de sodium	E 252	Nitrate de potassium
E 223	Disulfite de sodium	E 260	Acide acétique
E 224	Disulfite de potassium	E 261	Acétate de potassium
E 225	Disulfite de calcium	E 262	Diacétate de sodium
E 226	Sulfite de calcium	E 263	Acétate de calcium
E 230	Diphényle	E 270	Acide lactique
		E 280	Acide propionique
		E 281	Propionate de sodium
		E 282	Propionate de calcium
		E 290	Anhydride carbonique

Tableau N°6 : Les espèces de BL utilisées en technologie fromagère.

Type levain	Ancien nom	Nouveau nom	Produits
Mésophiles			
	Streptococcus cremoris	Lactococcus lactis ssp cremoris	Fromages frais, cheddar
	Streptococcus lactis	Lactococcus lactis ssp lactis	Féta, mimolette
	Streptococcus cremoris	Lactococcus lactis ssp cremoris	Pâtes molles
	Streptococcus lactis	Lactococcus lactis ssp lactis	Pâtes pressées
	Leuconostoc citrovorum	Leuconostoc mesenteroides ssp cremoris	Beurre
	Leuconostoc lactis	Leuconostoc lactis	
	Streptococcus cremoris	Lactococcus lactis ssp cremoris	Beurre
	Streptococcus lactis	Lactococcus lactis ssp lactis	
	Streptococcus diacetylactis	Lactococcus lactis ssp lactis Biovar diacetylactis	
O L Ou B D LD Ou BD	Streptococcus cremoris	Lactococcus lactis ssp cremoris	Pâtes molles
	Streptococcus lactis	Lactococcus lactis ssp lactis	Pâtes pressées
	Streptococcus diacetylactis	Lactococcus lactis ssp lactis Biovar diacetylactis	Beurre
	Leuconostoc citrovorum	Leuconostoc mesenteroides ssp cremoris	
	Leuconostoc lactis	Leuconostoc lactis	
Thermophile s	Streptococcus thermophilus	Streptococcus salivarius ssp thermophilus	Yaourt
	Lactobacillus bulgaricus	Lactobacillus delbrueckii ssp bulgaricus	Mozzarella
	Streptococcus thermophilus	Streptococcus salivarius ssp thermophilus	
	Lactobacillus helveticus	Lactobacillus helveticus	Emmental
	Lactobacillus lactis	Lactobacillus delbrueckii ssp lactis	Comté

O: homofermentaire acidifiantes stricts.

B ou L: cultures acidifiantes avec Leuconostoc.

D: cultures acidifiantes avec diacetylactis (cit+).

Tableau N°7: Phages de bactéries lactiques dont la séquence génomique est inconnue.

Phage	Espèce-hôte	Mode de vie	Taille du génome(Kb)	Référence
B Il 67	Lactococcus lactis	Virulent	22,2	Schouler et al. (1994)
B IL285	Lactococcus lactis	Tempéré	35,6	Chopin et al. (2001)
adh	Lactobacillus gasseri	Tempéré	43,8	Altermann et al. (1999)
S fi19	Streptococcus thermophilus	Virulent	37,4	Desiere et al. (1998)
S fi21	Streptococcus thermophilus	Tempéré	40,7	Desiere et al. (1998)
A 2	Lactobacillus casei	Tempéré	43,4	Proux et al. (2002)
LL-H	Lactobacillus delbrueckii	Virulent	34,7	Mikkonen et al. (1996b)
gle	Lactobacillus plantarum	Tempéré	42,3	Kodaira et al. (1997)

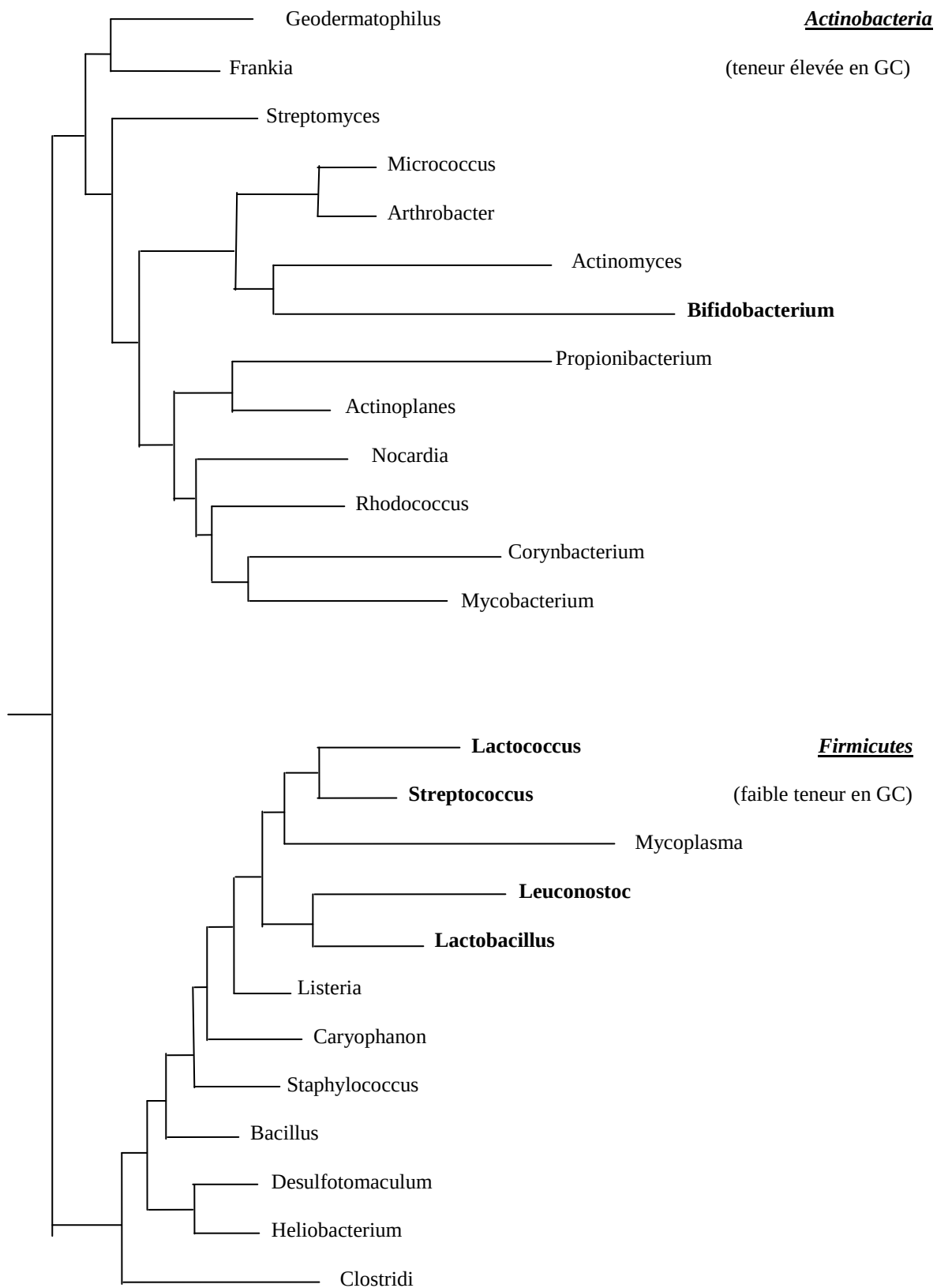
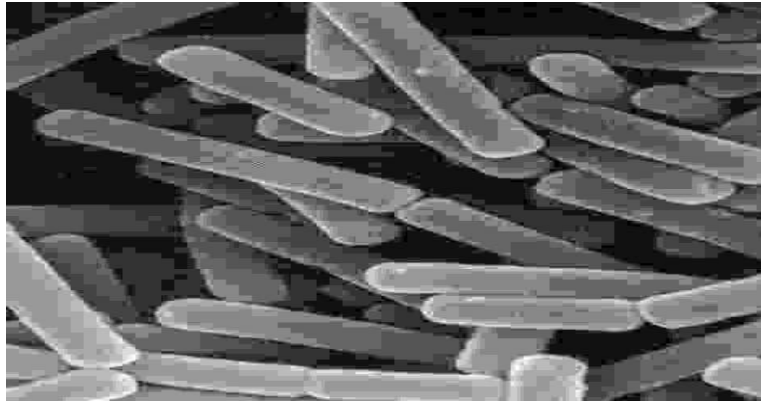
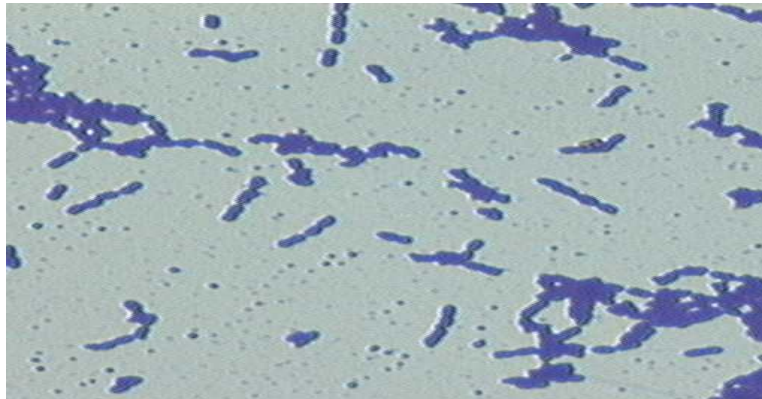


Figure : Position systématique des bactéries lactiques (PERRY J.J et al., 2004).

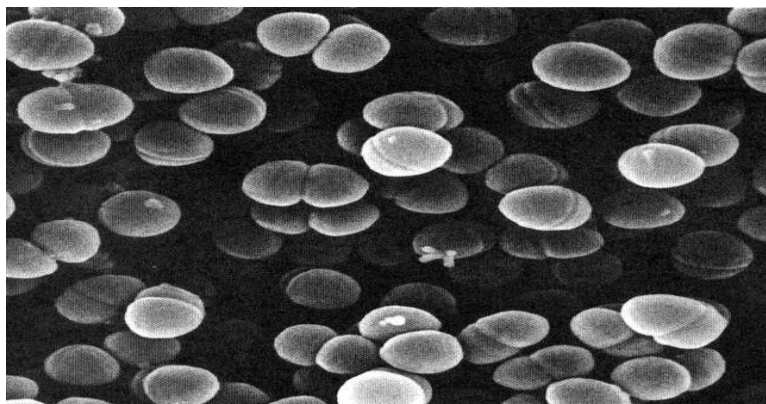


Lactobacillus

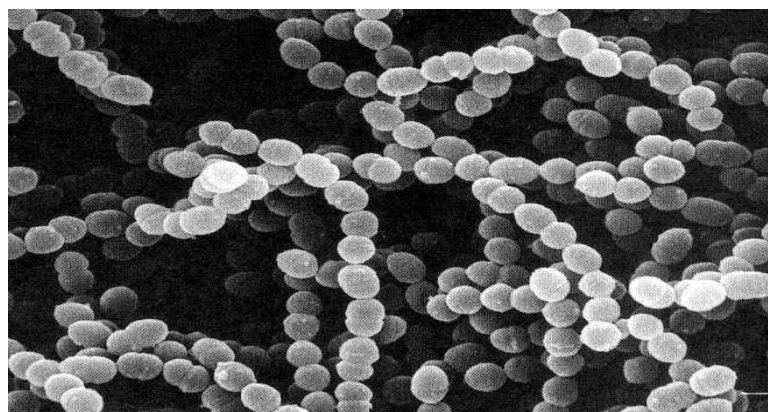
helveticus.



Leuconostoc.



Pediococcus.



Streptococcus thermophilus

ملخص

البكتيريا اللبنية هي بكتيريا إيجابية الغرام لها القدرة على تخمير السكريات لإنتاج حمض اللبن , وهي بكتيريا لا هوائية و يمكنها أن تعيش في الوسط الهوائي , تعتبر من الكائنات الإجبارية. حسب الرتب و الأنواع تستعمل إحدى هذه الطرق الأيضية الطريق متمثل التخمير, الطريق غير متمثل التخمير و الطريق المتشعب, وهي قادرة على العيش في: الثلاث للسكريات التالية بيئات خاصة.

البكتيريا اللبنية من البكتيريات غير المستقرة وراثيا نتيجة الترتيب الخاص لجهازها الوراثي وهي قابلة للتعرض إلى تغيرات جينية متعددة محمولة من طرف "كلونات" حية.

البكتيريا اللبنية لها أهمية في ميدان الميكروبيولوجيا الغذائية والصناعة الحليبية و ذلك في صناعة المنتجات التجارية كالياوورت , الأجبان, الزبدة, الكريمة , بتخمير الحليب وتستعمل كعامل حافظ في المصبرات ولها أهمية في صناعة النبيذ وكذلك في الزراعة.

كلمات مفتاح:

بكتيريا لبنية, تخمر لبني , عدم الإستقرار, تنوع, مورث, تغيرات جينية, مشتقات الحليب , ياوورت , جبن, حفظ , نبيذ.