REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE DE TISSEMSILT
INSTITUT DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DEPARTEMENT DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

Mémoire de fin d'études pour l'obtention du diplôme de Master Académique en

Filière : **Sciences Biologiques**

Spécialité : **Microbiologie appliqué**

Thème

Isolement et pré-identification des bactéries lactique du lait de vache de la wilaya de Tissemsilt

Présentée par : Mr. **TRARI Abd El Hamid**
Mr. **METTOUI Abd El Krim**

Soutenu le, 24/06/2025

Devant le Jury

RABAH Fadlallah Hocine	Président	M.C.B.	Univ-Tissemsilt
SENOUCI Djamel Eddine	Encadrant	M.C.B.	Univ-Tissemsilt
BEDDAL Amira	Examinatrice	M.C.B.	Univ-Tissemsilt

Année universitaire : 2024-2025

Remerciements

Nous remercions Allah de nous avoir donné le courage d'aller au bout de nos objectifs.

Au terme de la réalisation de ce mémoire, nous tenons à

Présenter nos remerciements les plus sincères à notre promoteur Dr. ***SENOUCI Djamel Eddine*** *pour avoir dirigé ce modeste travail, ainsi que pour sa patience avec nous, son aide, ses conseils précieux et sa disponibilité entière toute au long de la période de l'expérimentation.*

Nous remerciements vont également à Dr. **RABAH Fadlallah Hocine** *de nous avoir fait l'honneur de présider le jury.*

Nous exprimons aussi nos reconnaissances à Dr. **BEDDAL Amira**
pour avoir accepté d'examiner ce mémoire.

Nous n'oublions pas de remercier Mr Le directeur et tout le personnel de Le CACQE de Tissemsilt pour leurs aides précieuses sans oublier les ingénieurs de laboratoire .

Nous témoignons notre reconnaissance à toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de notre mémoire.

Dédicace1

Je remercie tout d'abord, Allah, le tout puissant et clément de m'avoir aidé à réaliser ce travail.

Je dédie ensuite ce fameux travail aux plus exceptionnels qui existent dans le
Mes parents

Je dédie également à tous ceux qui m'aiment sœurs

A toute la famille ***Trari*** *sans exception.*
A mon encadreur Mr ***Senouci ,*** *qui méritent tous mon respect et tribut.*

A mes collègues dans ce travail, mes amis et mes
Pour Mes Très Chers Amis :

A ma promotion

Enfin, je dédie ce travail à toute personne qui m'a aidé de le réaliser de près ou de loin sans exception.

Abdelhamid.

Dédicace 2

Je remercie tout d'abord, Allah, le tout puissant et clément de m'avoir aidé à réaliser ce travail.

Je dédie ensuite ce fameux travail aux plus exceptionnels qui existent dans le
Mes parents.

Je dédie également à tous ceux qui m'aiment

A toute la famille ***Mettoui*** *sans exception.*

A mon encadreur Mr ***Senouci ,*** *qui méritent tous mon respect et tribut.*
A mes collègues dans ce travail, mes amis et mes freres

A ma promotion

Enfin, je dédie ce travail à toute personne qui m'a aidé de le réaliser de près ou de loin sans exception.

Abdelkrim Mettoui.

Résumé

Le lait de vache est un microbiote riche et diversifié qui contribue à des fonctions enzymatiques et probiotiques essentielles. Son microbiote, composé de divers micro-organismes, joue un rôle dans la digestion, le renforcement du système immunitaire et la santé globale.

Notre étude visait à isoler et à identifier de façon préliminaire des bactéries lactiques à partir de lait cru de vache recueilli dans la wilaya de Tissemsilt. Les échantillons ont été prélevés de manière aseptique dans des fermes locales, transportés à 4 °C, puis soumis à des analyses physico-chimiques. Ils ont ensuite été dilués en série (10^{-1}-10^{-7}) et ensemencés sur milieux MRS et M17 afin de dénombrer et récupérer les BL. Après incubation à 30 °C sur milieux M17 et MRS, les colonies isolées ont été purifiées par ensemencements successifs.

L'analyse physico-chimique du lait cru a révélé un pH de 6,7, une acidité Dornic de 17 °D, une teneur en matière grasse de 3,6 g/100 mL et une densité de 1,029, tous conformes aux normes de qualité usuelles.

Dix (10) isolats distincts ont été retenus pour pré-identification. La coloration de Gram a confirmé qu'il s'agissait de cocci ou de bacilles Gram-positifs, et le test à la catalase a attesté que sont tous catalase (-) négatifs. L'identification phénotypique préliminaire a inclus : Profil de fermentation (homo vs. hétérofermentaire) via tubes de Durham en milieu MRS, hydrolyse de l'arginine sur gélose M16.BCP, et les Tests de croissance sur MRS supplémenté en lait écrémé, MRS supplémenté en amidon et la croissance sur milieu BEA

Ces essais ont permis de regrouper les isolats en divers groupes : bacilles homofermentaires, cocci homofermentaires.

Ce travail établit une collection de référence de bactéries lactique locales issues du lait de vache à Tissemsilt. Des caractérisations moléculaires ultérieures (séquençage du gène 16S rRNA) confirmeront l'affectation des espèces et évalueront leur potentiel en tant que cultures starter pour les fermentations laitières traditionnelles algériennes.

Mots-clés : lait cru de vache, bactéries lactiques, Tissemsilt, pré- identification, analyse physico-chimique.

Abstract

Cow's milk is a rich and diverse microbiota that contributes essential enzymatic and probiotic functions, his microbiota, composed of various microorganisms, plays a role in digestion, immune system support, and overall health.

Our study aimed to isolate and preliminarily identify lactic acid bacteria (LAB) from raw cow's milk collected in the wilaya of Tissemsilt. Samples were aseptically gathered from local farms, transported at 4 °C, physico-chemical analyses of raw milk are performed, then serially diluted (10^{-1}–10^{-7}) and plated on MRS and M17 media to enumerate and recover LAB. After incubation at 30 °C under aerobic (*Lactococcus*/M17) or anaerobic (*Lactobacillus*/MRS) conditions, individual colonies were purified by successive streaking.

Physico-chemical analysis of the raw milk revealed pH 6.7, Dornic acidity 17 °D, fat content 3.6 g/100 mL, and density 1.029, all within normal quality standards.

A total of ten distinct isolates were selected for characterization. Gram staining confirmed they were Gram-positive cocci or rods, and catalase testing verified their fermentative nature (all catalase-negative). Preliminary phenotypic identification included: Fermentation profile (homo- vs. heterofermentative) via Durham tubes in MRS broth, Arginine hydrolysis on M16.BCP agar, Growth assays on milk-supplemented MRS, starch-amended MRS, and BEA medium.

These tests allowed grouping of isolates into putative groups: homofermentative rods, and homofermentative cocci, and *Enterococcus*-like isolates (positive arginine hydrolysis).

This work establishes a baseline collection of local LAB from cow milk in Tissemsilt. Future molecular characterization (16S rRNA gene sequencing) will confirm species identities and assess their potential as starter cultures for traditional Algerian dairy fermentations.

Keywords: raw cow's milk, lactic acid bacteria, Tissemsilt, preliminary identification, physicochemical analysis

ملخص

يعتبر حليب البقر وسطا طبيعيا غنيا بالكائنات الدقيقة والمتنوعة التي تساهم في الوظائف الأنزيمية والحيوية الأساسية، وتلعب ميكروباته، المكونة من الكائنات الحية الدقيقة المختلفة، دورًا فعالا في عملية الهضم ودعم الجهاز المناعي.

هدفت دراستنا إلى عزل وتحديد البكتيريا اللبنية بشكل أولي من حليب البقر الطازج لمنطقة تيسمسيلت. جُمعت العينات بطريقة معقمة محليا من أحد المزارع، ونُقلت في درجة حرارة 4°م، ثم خضعت لتحاليل الفيزيائية والكيميائية. بعدها، تم تخفيف العينة تخفيفًا عشريا متسلسلًا (10^{-1}–10^{-7}) وزُرعت في الأوساط المغذية MRS و M17 وهذا لعزل البكتيريا اللبنية. تمت حضانة الاوساط المغذية المذكورة عند درجة حرارة 30°م ، نَقّيت المستعمرات المعزولة عن طريق عمليات زرع متعاقبة.

أظهرت التحاليل الفيزيائية و الكيميائية للحليب أن قيمة الأس الهيدروجيني (pH) كانت 6.7، ودرجة الحموضة 17°D، ومحتوى الدهون 3.6 جم/100 مل، والكثافة 1.029، وجميعها مطابقة لمعايير جودة الحليب المعروفة.

اختيرت عشرة (10) عزلات مختلفة للتشخيص المبدئي. أكدت صبغة غرام أنها اما كروية أو عصوية موجبة الغرام، وأظهر اختبار الكاتالاز أنها جميعًا سلبية (–). شملت دراسة الهوية الظاهرية الأولية: تقييم نمط التخمر (homo vs heterofermentaire) بواسطة أنابيب دورهام في وسطMRS ، والقدرة على هدم الأرجينين في الوسط المغذي M16.BCP، واختبارات النمو على MRS المضاف اليه بحليب منزوع الدسم، و MRSالمضاف اليه النشاء، والنمو في الوسط المغذي.BEA

مكنت هذه الاختبارات من تجميع المعزولات في مجموعتين مختلفتين: عصيات وكريات ذات تخمر لبني صرف .homofermntaire

تؤسس هذا الدراسة لمجموعة مرجعية من البكتيريا اللبنية المحلية المستخرجة من حليب البقر في تيسمسيلت.التي مستقبلا ستؤكد التحليلات الجزيئية (تسلسل جين ال rRNA 16. S بغية تصنيفها مستوى الجنس والنوع وكذا تقييم إمكانياتها كسلالات بادئة ولما لا استخدامها للعمليات التخميرية التقليدية للألبان في الجزائر.

الكلمات المفتاحية: حليب البقر الطاجز، البكتيريا لبنية، تيسمسيلت، التعريف المبدئي، التحليل الفيزيائي، التحليل الكيميائي.

Liste des abréviations

°D:Dornic

pH: Potentiel d'hydrogène

BL :les bactéries lactiques .

UHT : Ultra Haute Température.

l'ADN : Acide Désoxyribonucléique.

l'ARN : Acide Ribonucléique.

LC *:* *Lactococcus.*

H_2O_2 : Peroxyde d'hydrogène.

NaOH : Hydroxyde de sodium.

MRS : Man, Rogosa et Sharpe.

O_2 : Dioxygène.

NaCl : Chlorure de sodium.

ADH : arginine dishydrolase ..

BEA : Bile Esculine Azide.

CACQE : Centre Algérien du Contrôle de la Qualité et de l'Emballage.

Liste des figures

Figure 1. Représentation de la micelle de caséine avec sous-unités selon le modèle de (Schmidt *et al.*, 1980). 7
Figure 2. Dendrogramme consensus reflétant les relations phylogénétiques de l'ordre des «Lactobacillales» au sein de la classe «Bacilli» (Vos *et al.*, 2011) 16
Figure 3. Galerie API50 CHL. 19
Figure 4. Mesure du PH 22
Figure 5.Mesure d'acidite tetrable 23
Figure 6. les etapes de mesure de matière grasse 24
Figure 7.méthode de mesure la densité 24
Figure 8. Diagramme représentatif du protocole de l'étude 25
Figure 9. Dilution en cascade de10^{-1} à 10^{-7}. 26
Figure 10. Observation macroscopique des souches sur MRS et M17 27
Figure 11.Les étapes de la coloration de Gram (de gauche-droite). Accessible En ligne :https://microbiologie-clinique.com/Coloration-Gram.html 28
Figure 12.Teste de catalase. 28
Figure 13. Diagramme d'isolement des bactéries lactiques. 29
Figure 14 : milieux utilisés 30
Figure 15.Observation macroscopique des isolats sur MRS et M17 33
Figure 16. Observation microscopique après la coloration de gram des isolats au grossissement (10X100) a) isolat TF1 forme bacille, b) isolat TF5 cocci en amas c) isolat TF3 cocci isolées ou en diplocoque 33

Liste des tableaux

Tableau 1.Composition globale du lait en g/l de lait (Gelebart *et al.*, 2019)..... 5
Tableau 2.Composition de la matière grasse du lait de vache (Mathieu, 1998)..... 6
Tableau 3.composition de lait en mineraux (Lapointe-Vignola, 2002)..... 8
Tableau 4. Résultats des différents Testes physico-chimique de lait de vache cru..... 31
Tableau 5.critères morphologique des bactéries lactiques isolées à partir de lait de vaches 34
Tableau 6. Résultats des tests biochimiques appliqués. 34
Tableau 7. Résultats des tests a) test d'esculine sur milieu BEA b) test de profile fermentaire..... 35

Table de matières

Remerciements i

Dédicace1 ii

Dédicace 2 iii

Résumé iv

Abstract v

ملخص vi

Liste des abréviations vii

Liste des figures viii

Liste des tableaux ix

Introduction 1

CHAPITREI : Synthèse bibliographique 3

1. Situation de l'élevage bovin dans la wilaya de Tissemsilt 3

1.1- Race locale (BLL) 3

1.2- Bovins laitiers croisés (BLA) 3

1.3- Bovins laitiers modernes 4

2.1. Composition générale du lait 4

2.2. Composition chimique du lait 5

2.2.1- L'eau 5

2.2.2- Les glucides 5

2.2.3- Matière grasse 6

2.2.4- Protéines 6

2.2.5- Vitamines 7

2.2.6- Les minéraux 7

2.2.7- Les enzymes 8

2.3. Caractéristiques physico-chimiques du lait 8

2.3.1- Le pH 8

2.3.2- Acidité triturable ou acidité Dornic 8

2.3.3- Densité 9

2.3.4- Point de congélation 9

2.3.5- Point d'ébullition 9

3.1- Le yaourt 9

3.2- Le fromage 10

3.3- Le beurre 10

3.4- Le Lben 10

3.5- Le kéfir 10

4.1- Caractéristique générale des bactéries lactiques 11

4.2- Habitat 12

4.3- Taxonomie des Bactéries lactiques 12

4.3.1- Genre *Aerococcus* 13

4.3.2- Genre *Carnobacterium* 13

4.3.3- Genre *Enterococcus* 13

4.3.4- Genre *Lactobacillus* 14

4.3.5- Genre *Lactococcus* 14

4.3.6- Genre *Leuconostoc* **14**

4.3.7- Genre *Oenococcus* **14**

4.3.8- Genre *Pediococcus* **15**

4.3.9- Genre *Streptococcus* **15**

4.3.10- Genre *Vagococcus* **15**

4.3.11- Genre *Tetragenococcus* **15**

4.3.12- Genre *Weissella* **16**

4.4- Intérêt des bactéries lactiques **17**

4.4.1- Dans l'industrie alimentaire **17**

4.4.2- Rôle dans la Formation de l'arôme et de la saveur **17**

4.4.3- Préservation et innocuité de l'aliment **17**

4.4.4- Dans le domaine de la santé **17**

4.5- Identification et caractérisation des isolats **18**

4.5.1- Identification phénotypique **18**

4.5.2- Identification génotypique **19**

II. Partie expérimentale **21**

1. Matériel et méthodes **21**

1.1- Lieu et période d'étude **21**

1.2- Origine de l'échantillon **21**

1.3- Les milieux des cultures **21**

1.4- Analyses physico-chimiques des échantillons de lait de vache **22**

1.4.1- Mesure du pH **22**

1.4.2- Détermination de l'acidité titrable 22

1.4.3- La température de congélation ..... Error! Bookmark not defined.

1.4.4- La teneur en matière grasse 23

1.4.5- Densité 24

1.5- Analyses microbiologiques 25

1.5.1. Préparation de l'échantillon 26

1.5.2. La recherche de flore mésophile totale 26

1.5.3. Isolement et purification 26

Isolement 26

1.5.4. Etude morphologique 27

1.6- Conservation des souches 29

1.6.1. Conservation à courte durée 29

1.6.2. Conservation longue durée 29

III. Résultats et discussion 31

Conclusion 38

Références bibliographies 39

Annexes 46

Introduction

Introduction

Le lait était un aliment blanchâtre produit par les cellules sécrétoires mammaires des femelles pendant la lactation ; c'était l'une des caractéristiques spécifiques des mammifères. Le lait et ses produits laitier sont faits partie de l'alimentation humaine pendant des milliers d'années, comme le fromage fabriqué il y a plus de 7000 ans. Le lait, aliment complet pour les nourrissons, contient les éléments nutritifs nécessaires à leur croissance et à leur développement, notamment le lactose, les matières grasses et les protéines, Le lait contenait du lactose, des protéines et des minéraux lipidiques. Ses composants fournissaient les éléments nutritionnels essentiels, une protection immunologique et des substances biologiques actives aux adultes comme aux nouveau nés.

Le lait était un liquide très varié. Ses principaux composants étaient les matières grasses, l'eau, le lactose, les acides organiques, les minéraux, les protéines, ainsi que de nombreux composes secondaires du lait, tels que des hormones, des vitamines, des anticorps, des enzymes et divers composés.

Le lait était une source importante de protéines, généralement divisées en caséines et en protéines de lactosérum. Les caséines et les protéines de lactosérum constituent respectivement environ 80% et 20% des protéines totales du lait **(Hussein *et al.*, 2015).**

Depuis l'Antiquité, on sait que la fermentation est un processus naturel. Procédé de conservation et de conservation des matières premières sur de longues périodes, les bactéries lactiques (LAB) étant l'un des principaux groups microbiens impliqués dans cette transformation.

En Algérie, les produits laitiers fermentés traditionnels, issus de pratiques artisanales, sont consommés depuis longtemps en lien avec les traditions ethniques berbères. Les fromages («Klila », « Bouhezza », « Kamaria » et « Jben »), les laits fermentés («Lben», «Raib » ou «Rayeb ») et certains produits à base de matières grasses (« Smen » et beurre) sont principalement fabriqués artisanalement dans les zones rurales d'Algérie **(Bachtarzi *et al.*, 2019).**

Les bactéries lactiques sont un groupe hétérogène de bactéries utilisées comme cultures starter pour les produits laitiers, la viande et les fermentations végétales. Elles contribuent également à diverses applications industrielles dans les aliments et les boissons fermentées, en vrac et la production de produits chimiques finis ainsi que dans la fabrication de produits pharmaceutiques **(Sadi *et al.*, 2017) .**

Introduction

Dans cette étude en va baser sur l'étude physico-chimiques de lait de vache localement collecté et sur la pré-identification des bactéries lactiques dans le lait de vache dans la wilaya de Tissemsilt.

Ce travail est devisé en deux chapitre, le premier chapitre est une synthèse bibliographique sur le lait de vache et les bactéries lactiques et le deuxième chapitre est la partie pratique qui été réalisé sur ce sujet dans le laboratoire de la C.Q.A.Q.U.E et le laboratoire de pédagogie de l'institut des sciences de la nature et de la vie de l'université de Tissemsilt

CHAPITREI

Synthèse bibliographique

CHAPITREI : Synthèse bibliographique

1. Situation de l'élevage bovin dans la wilaya de Tissemsilt

L'élevage bovin joue un rôle important dans l'économie agricole algérienne. Il contribue à la couverture des besoins nationaux en protéines d'origine animale (viande et lait). C'est le même cas au niveau de la wilaya de Tissemsilt ou la production laitière orientée vers (l'autoconsommation, collecte malgré qu'il est faible par rapport au nombre des vaches laitière qui dépasse 8000 têtes (9941 têtes en 2019) **(DSA-TISSMESILT, 2020),** mais aussi à la création d'emplois en milieu rural. Cette diversité des produits bovins favorise la diversité des revenus et par conséquent la durabilité des systèmes de production. Le développement de l'élevage bovin au niveau de la wilaya de Tissemslt subi une amélioration de point de vue technicité et moyens (synchronisation, machine de traite, importation des vaches à haute production laitière dans le cadre de l'ANSEJ, CNAC exemple pie rouge, pie noir, Haulchin , Montbéliard, soutien de l'état en alimentation ….) **(DSA-TISSMESILT, 2020).**

Les races exploitées dans la wilaya de Tissemsilt : les bovin de la wilaya de Tissemsilt , étaient classés en 03 type : Race importées (BLM), Population locale (BLL), et les produits de croissement

1.1- Race locale (BLL)

La race locale est représenté par la brun d'atlas et ces rameaux avec un nombre élevé par rapport au race importées surtout dans les zones montagneuses et forestières avec forte concentration dans les commune TEH. Sidi Boutouchent, Youssefia, Bordj Emir Aek il est représentées par la brune d'atlas, la gualmoise. et la race Djarba dans les communes Lardjem, Sidi Lantri, Maacem, race chélifienne à bordj bounaama , lazharia. Boucaide ,..). La race locale menacée par les croisements anarchiques surtout pour l'élevage extensif **(DSA-TISSMESILT, 2020).**

1.2- Bovins laitiers croisés (BLA)

Les race croisés est l'origine de croissement anarchique entre différentes races importées ou entre les races importées et les races locales ils existent dans les régions de (Tissemsilt, Laayoune, Khemisti , Ammari , Lardjem ….) et aussi par quelques inséminations autorisées (la brune d'atlas inséminé par les paillet de la brune des alpes (French Brown)) **(DSA-TISSMESILT, 2020)**

1.3- Bovins laitiers modernes

Ces vaches sont les races pures qui ont été importées principalement d'Europe (France, Hollande, Allemagne) et génétiquement sélectionnées pour leur forte production laitière.

Au niveau de la wilaya de Tissemsilt, les race importées existantes (pie rouge , pie noire , Holstein) pour la production laitière, et pour la production mixte (la Montbéliarde , normande ,Flekchvieh ,brune des alpe et l'allaitante) (Charolaise) les éleveurs de la wilaya préfèrent la montbéliarde et la Flekchvieh grâce à la résistance aux conditions climatiques et d'élevage et aussi pour des raisons économiques concernant le poids des veaux par contre l'Holstein est sensible. La plupart de cheptel BLM au niveau de la wilaya orienté vers le programme de la collecte, et le reste menacé par l'abattage, les maladies contagieuses, et le manque d'alimentation le cheptel concentré à Tissemsilt ,Khemisti ,Ammari ,O/bessem, Sidi Abed **(DSA-TISSMESILT, 2020)**

2. Généralités sur le lait :

Le lait est un liquide clair produit par les glandes mammaires. Il constitue la principale source de nutrition des jeunes mammifères avant qu'ils ne soient capables de digérer d'autres aliments. Il contient de nombreux autres nutriments, notamment des protéines et du lactose

De plus, le lait lui-même est connu pour être l'un des habitats naturels des bactéries lactiques (BAL) **(Misganaw wassie and Teketay wassie. (2016**).

2.1. Composition générale du lait

Le lait de vache est depuis longtemps considéré comme un aliment hautement nutritif et précieux, consommé quotidiennement par des millions de personnes dans le monde entier **(Maijala, 2000).**

Le lait est une ressource considérable de produits dont la composition est variable. Quatre composants dominants quantitativement : l'eau, les matières grasses, les protéines et le lactose **(Mathieu, 1998)** ainsi les minéraux, les enzymes, les vitamines et les gaz dissous sont des composants mineurs. Il répond à la demande du consommateur, toujours enquête de produits innovants et de qualité constante. L'industrie laitière doit exploiter toutes les richesses de cette matière première, à la fois simple en apparence et complexe en composition **(Tableau 1).**

Tableau 1.Composition globale du lait en g/l de lait (Gelebart *et al.*, 2019).

Eau	87.2
Matières grasses	4.0
Protéines	3.4
Lactose	4.5
Cendres	0.9

2.2. Composition chimique du lait

Les compositions de lait de chèvre, de brebis, de chamelle, de buffle et de vache sont différentes. Elles variant selon le régime alimentaire, la race, les individus, la parité, la saison, l'alimentation, les conditions environnementales, la localité, le stade de lactation et l'état de santé du pis Le lait est une sécrétion de la glande mammaire, dont les caractéristiques physiques et la composition variant selon les espèces. Il s'agit d'une émulsion complexe contenant des graisses, des protéines, du lactose, des minéraux, des enzymes, des hormones, des immunoglobulines et des vitamines. Les protéines sont principalement classes en protéines insolubles (caséines) et en protéines solubles (protéines de lactosérum) présentes dans le lactosérum **(Ketrouci, 2021)**.

Les principaux constituants du lait sont donc par ordre décroissant :

De l'eau, très majoritaire, des glucides, principalement représentés par le lactose, des lipides, essentiellement des triglycérides rassemblés en globules gras, des protéines : caséines rassemblées en micelles, albumines et globulines solubles, des sels et minéraux à l'état ionique et moléculaire, des éléments à l'état de traces mais au rôle biologique important : enzymes, vitamines, oligoélément.

2.2.1- L'eau

Pour tous les animaux, l'eau est le nutriment le plus nécessaire Le lait de vache contient une grande quantité d'eau (87,2 %). Cette quantité d'eau est contrôlée par la quantité de lactose synthétisée par les cellules sécrétoires de la glande mammaire.

2.2.2- Les glucides

Le lactose ou le glucide, ou l'hydrate de Carbonne le plus important de lait puisqu'il constitue environ40% de solides totaux.

D'autres glucides peuvent être présent en faible quantité comme le glucose et la galactose

proviendraient de l'hydrolyse de lactose ,le lait contient 4,8% de lactose **(Lapointe-Vignola, 2002).**

2.2.3- Matière grasse

La matière grasse laitière est disperse dans la phase aqueuse du lait sous forme de globules gras de diamètre compris entre 2 et 12µm avec un diamètre moyen de 4µm. La matière grasse laitière contient essentiellement des triglycérides (esters de glycérol, formés par condensation de trois molécules d'acides gras sur une molécule de glycérol, 96%) et également d'autres glycérides partiels (di glycérides et mono glycérides) et des acides gras libres (AGL), qui sont considérés comme des constituants mineurs **(Lapointe-Vignola, 2002)**. Le tableau 2 illustre la composition en matière grasse de lait de vache.

Tableau 2.Composition de la matière grasse du lait de vache (Mathieu, 1998)

Matière grasse		g/100g des matières grasses totales
Glycérides	**Triglycérides**	**96**
	Diglycérides	2
	Monoglycérides	0,1
Glycérophospholipides et sphingolipides		**1**
Acides gras libres		0,6
Cholestérol		0,15
Autres composés		0,4

D'autres composes comme les phospholipides et les stérols sont également présents en faible quantité. La composition en lipides du lait de vache est résumée dans le tableau

2.2.4- Protéines

Les protéines du lait sont d'excellente qualité, c'est à dire qu'elles contiennent tous les acides amines essentielles et des éléments que notre corps ne peut produire. On distingue 2 grands groupes de protéines : les protéines des caséines et les protéines du lactosérum.

Les caséines et la micelle de caséines ; elles représentent la partie protéique la plus intéressante en technologie laitière et notamment fromagère **(Pougheon, 2001).**

Les caséines

Se présentement en suspension colloïdale et se regroupent sous forme de micelles (les micelles sont constituées de 92% de protéine et de 8% de minéraux) représentent près de 80% de toutes les protéines du lait **(Mathieu, 1998).**

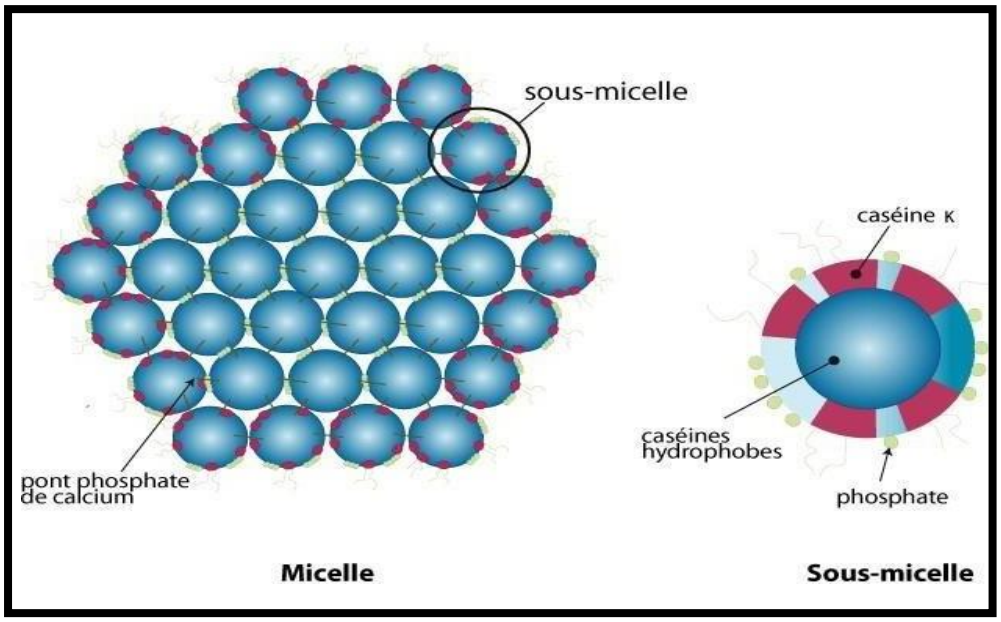

Figure 1**. Représentation de la micelle de caséine avec sous-unités selon le modèle de (Schmidt *et al.*, 1980).**

Les protéines du sérum

Les protéines du lactosérum sont définies es comme des protéines solubles dans le lactosérum après précipitation des caséines à pH 4,6 et à 20 °C. Les protéines sériques comprennent une première fraction protéique (80 %) composée de β- lacto globuline (β-LG) et de β lactalbumine β-LA Da), albumine sérique bovine (BSA) et immunoglobuline. Une deuxième fraction non protéique (20%) est composée de protéase, de peptone et de composés azotés **(Guetouache *et al.*, 2014).**

2.2.5- Vitamines

Le lait contient des vitamines liposolubles et des vitamines hydrosolubles : Les vitamines liposolubles sont : vitamines A, D, E et K, ces vitamines sont soit associées à la matière grasse soit au centre du globule gras et d'autres à sa périphérie.

Les vitamines hydrosolubles du groupe B et vitamine C ;ce sont les vitamines de la phase aqueuse du lait **(Lapointe-Vignola, 2002).**

2.2.6- Les minéraux

Les quantités des minéraux contenus dans le lait après incinération varie de 0,60% a 0,90% ils prennent plusieurs formes, ce sont les plus souvent des sels, des bases, des acides (Tableau 3).

Tableau 3.composition de lait en mineraux (Lapointe-Vignola, 2002).

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

2.2.7- Les enzymes

Le lait contient principalement trios groupes des enzymes : les hydrolases, les déshydrogénases (ou oxydases), et les oxygénases. Les deux principaux facteurs qui influences les activités enzymatiques sont le pH et la température, en effet chaque enzymes possède une pH et une température d'activités maximale **(Lapointe-Vignola, 2002).**

2.3. Caractéristiques physico-chimiques du lait

Les propriétés physico-chimiques du lait sont plus ou moins stables ; elles de pendent soit de l'ensemble des constituants, soit des substances en solution ou encore des concentrations en ions. Les principales propriétés physico-chimiques utilisées

Dans l'industrie laitières ont la densité, le PH, l'acidité, le point de congélation et le point d'ébullition **(Lapointe-Vignola, 2002).**

2.3.1- Le pH

L'acidité actuelle s'apprécie par le pH et renseigne sur l'état de fraîcheur du lait. A la traite, le pH du lait est compris entre 6,6 et 6,8 et reste long temps à ce niveau. Toute valeur située en dehors de ces limites indique un cas anormal **(Benyahia-mostefaou et Lamri-Senhadji, 2020)**

2.3.2- Acidité triturable ou acidité Dornic

Des a sortie de pis de la vache, le lait démontre certaine acidité. Cette acidité due principalement à la présence de certaines protéines surtout la caséines et lactalbumine, des substances minérales tell que le phosphate et CO_2 et l'acides organiques, les plus souvent l'acide citrique. On appelle acidité apparent ou acidité naturelle de lait elle varie entre 0,13 et 0,17%d'équivalent d'acide lactique, à la sortie de pis de vache, le lait frais non contient qui environ0,002% de l'acide lactique, en se développent les bactéries lactiques qui former l'acide lactique par fermentation de lactose . Cette nouvelle acidité nomme acidité développe, c'est cette acidité qui conduit a dénaturation des protéines **(Lapointe-Vignola, 2002)**.

2.3.3- Densité

La densité du lait varie entre 1,028 et 1,034. Elle doit être supérieure ou égale à 1,028 à 20°C. La densité du lait de grand mélange de la laiterie est de1,032 à 20°C. Celle des laits écrémés est supérieure à 1,035. Un lait à la fois écrémé et mouillé peut avoir une densité normale **(Labioui *et al.*, 2009).**

La densité, est le paramètre le plus recherché en industrie car il permet la détection de fraudes **(Gaddour *et al.*, 2014).**

2.3.4- Point de congélation

Le point de congélation de lait et légèrement inférieur à celui de l'eau puisque la présence de solides solubilises abaisse le point de congélation. Il peut varie de - 0,535°c jusqu'à -0,575°c, avec un moyenne de a -0,555°c.un point de congélation supérieur a -0,535°c permet de soupçonne rune addition d'eau au lait. on vérifier le point de congélation de lait a l'aide de cryoscopie **(Lapointe-Vignola, 2002).**

2.3.5- Point d'ébullition

On définit le point d'ébullition comme la température atteinte la pression de vapeur de la substance ou de la solution et égale à la pression applique. Ainsi comme le point de congélation, le point de l'ébullition subit l'influence de la présence des solides solubilises, il est légèrement supérieur au point d'ébullition de l'eau, soit 100,5°c, cette propriété physique diminuant avec la pression, on applique ce principe dans la procèdes de concentration de lait **(Lapointe-Vignola, 2002).**

3. Les dérives de lait de vache

A partir du lait et par plusieurs procédés, divers types de produits laitiers très variés aussi bien au niveau de leur présentation que de leurs qualités organoleptiques sont obtenus et dont la liste ne cesse de s'allonger avec l'essor de la technologie(Fredot, 2009).

3.1- Le yaourt

La dénomination yaourt est réservée au lait fermenté uniquement par *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *Bulgaricus* et en matière de viabilité, la norme précise que la somme des microorganismes constituant le levain doit être au moins de 107 UFC g-1. Les normes Juridiques existant ou les règlements provisoires sur le yaourt définissent le produit sur la base de la composition chimique ou teneur en matière grasse (entier, semi-écrémé/moyen ou écrémé/faible**) (Tamime et Robinson, 2007)**

Au début du XXe siècle, Metchnikoff, collaborateur de Pasteur, montre que le yaourt

traditionnel provient de la fermentation du lait sous l'action de deux ferments, *Streptococcus thermophilus* et une souche de *Lactobacillus*, généralement *Lactobacillus bulgaricus* ou *Lactobacillus acidophilus* **(Tamime et Robinson, 2007; Savadogo et Traore, 2011).**

3.2- Le fromage

« Le fromage est le produit frais ou affiné, solide ou semi-solide, dans lequel le rapport protéines de lactosérum/caséine n'excède pas celui du lait, obtenu: par coagulation du lait, lait écrémé, lait partiellement écrémé, crème de lactosérum ou babeurre, seul ou en combinaisons, grâce à l'action de la présure ou d'autres agents coagulants appropriés, et par égouttage partiel du lactosérum résultant de cette coagulation; par l'emploi de techniques de fabrication entraînant la coagulation du lait et/ou des matières obtenues à partir de lait, présentant des caractères physiques, chimiques et organoleptiques similaires à ceux du produit défini plus haut.» **(Hemme et Delacroix-Buchet, 2002).**

3.3- Le beurre

La dénomination « beurre » est réservé au produit de type émulsion d'eau dans la matière grasse dont les constituants, d'origine laitière, sont obtenus par des procédés physiques. Il doit présenter pour 100g de produit fini 82g de matière grasse laitière au minimum,2gde matière sèche non grasse au maximum et 16g d'eau au maximum »**(Bouras et Djareche, 2020).**

3.4- Le Lben

Le «Lben» est une boisson lactée préparée par la fermentations spontanée et la coagulation du lait cru entier, suivi de barattage, d'addition d'eau et d'élimination du beurre. Les streptocoques lactiques et les *Leuconostoc* sont les principaux agents responsables de l'acidification et de la conversion du lait en « Lben» **(Lairini *et al.*, 2014)**

3.5- Le kéfir

Le kéfir est un lait fermenté originaire de l'Europe de l'Est et est considéré comme étant le yaourt du 21ème siècle Le kéfir est fait à l'aide d'une microflore unique appelé grain de kéfir, de couleur blanche ou jaune, gélatineuse et de forme irrégulière, ces grains de kéfir ont une composition microbiologique complexe et variable comprenant des espèces de levures, de bactéries lactiques et de moisissures. Le kéfir est produit par l'éventail diversifié des espèces microbiennes présentes, les Lactobacilles représentent la plus grande portion (65- 80%) de la population microbienne; les Lactocoques et les levures constituent le reste des microorganismes présents dans le grain de kéfir **(Savadogo et Traore, 2011)**

4. Les bactéries lactiques

C'est une flore à intérêt technologique, les bactéries lactiques sont des cocci ou des bâtonnets Gram+, catalase- . Elles synthétisent leur ATP grâce à la fermentation lactique des glucides **(Daoudi et Khelef, 2018).**

Les bactéries lactiques sont un groupe hétérogène de microorganismes produisant de l'acide lactique comme produit principal du métabolisme **(Bennani *et al.*, 2017).** Les bactéries lactiques contenues dans ce lait jouent un rôle important dans le développement des caractéristiques organoleptiques (saveurs et qualities nutritionnelles) des produits laitiers fermentés comme le lait fermenté et le fromage **(Bennani *et al.*, 2017).**

Les bactéries lactiques, de très anciens micro-organismes, utilisés pour la fermentation des aliments depuis plus de 4000 ans, sans pour autant comprendre la base scientifique de leur utilisation **(Zergoug, 2017).**

Les aliments fermentés avec des bactéries lactiques présentement une part importante de l'alimentation humaine. Ces bactéries jouent un rôle essentiel dans la conservation des aliments ce qui a entraîné un intérêt scientifique de leur étude au cours des dernières décennies alors quel concept de bactéries lactiques a été mis au point au début des années 1900. La première culture pure de *Bacterium lactis*, maintenant connue sous le nom *Lactococcus lactis*, a été obtenue en 1873 par Lister **(Ketrouci, 2021)**

4.1- Caractéristique générale des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques sont des microorganismes relativement hétérogènes d'un point de vue morphologique et physiologique. Leurs principales caractéristiques sont :

Les bactéries lactiques sont un groupe de bactéries à Gram positives, immobiles, a sporulées anaérobies mais Aero tolérantes, dépourvues de catalase (certaines souches possèdent une pseudo catalase sur des milieux riches en hème) de nitrate réductase, et de cytochrome oxydase. Ces bactéries forment un groupe relativement divers, ayant des caractéristiques physiologiques et métaboliques communes. Leur forme peut être cocci, cocco-bacillaire ou bacillaire, elles sont généralement mésophiles avec une température optimum de croissance entre 20°Cet 30°Cou thermophiles entre 40°C et 45°. 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 **(Zergoug, 2017)**

Les LAB appartiennent au groupe des Firmicutes ,ordre des Lactobacillales et les genres les plus representatives sont *Aerococcus* ,*Alloiococcus* , *Carnobacterium*, *Enterococcus*,

Lactobacillus, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Symbiobacterium*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus* et *Weissella*, ainsi que dans l'embranchement des Actinobactéries avec les genres *Atopobium* et *Bifidobacterium* **(Gutiérrez-Cortés *et al.*, 2017)**

4.2- Habitat

Les bactéries lactiques sont des bactéries ubiquistes. Elles sont pour habitat de nombreux milieux naturels. Elles se trouvent généralement associées à des aliments riches en sucres simples. Elles peuvent être isolées du lait, des fromages, de la viande et des végétaux **(Zergoug, 2017)** .

4.3- Taxonomie des Bactéries lactiques

De nombreux changements ont eu lieu dans la classification ou la taxonomie des bactéries au cours des deux dernières décennies. De nombreux nouveaux taxons ont été créés à la suite de l'utilisation de méthodes de génétique moléculaire, seul ou en combinaison avec certaines des méthodes plus traditionnelles.

La première classification des bactéries lactiques a été établie en 1919 par Or la-Jensen sur divers critères morphologiques et physiologiques (activités catalase et nitrite réductase, type de fermentation) **(Orla-Jensen, 1919).**

Les méthodes phénotypiques permettant la classification des bactéries se sont ensuite étendues à la composition de la paroi, le type d'acides gras cellulaires, le type de quinones (accepteur d'électrons).Ce pendant ces méthodes phénotypiques ne rendent pas compte des relations phylogénétiques entre les groupes.

Dès 1974, selon le Bergey's manual , les bactéries lactiques se retrouvent dissociées en deux familles : celle des Streptococcacea et celle des Lactobacillacea. **En 1985**, **Schleifer** *et al.,* ont proposé la division des streptocoques en 4 genres génétiquement distincts : *Streptococcus*, *Enterrococcus*, *Vagococcus* et *Lactococcus*, ces deux derniers regroupant les streptocoques lactiques **(Carr *et al.*, 2002)**

En **1977**, **Woese et Fox** introduisent la phylogénie moléculaire basée sur la séquence des ARN ribosomiques. Cette méthode va révolutionner la taxonomie des bactéries ,et la classification des BL va être profondément modifiée .D'autres méthodes génotypiques (basées sur les acides nucléiques) sont aussi utilisées en classification, comme le pourcentage en GC ou l'hybridation ADN/ADN**) (Penaud, 2006).**

L'identification des espèces de bactéries lactiques peut être réalisée par l'analyse de leur profil fermentaire des carbohydrates à l'aide du système API 50CH **(Makete *et al.*, 2017)**

L'analyse comparative des séquences d'ARN ribosomal 16S a entrainé des changements importants dans la taxonomie des bactéries lactiques **(Salminen et Von Wright, 2004).**

Selon la dernière édition de Bergey'smanual of systematic bacteriology **(Vos *et al.*, 2011)** ,les bactéries lactiques sont classées dans le Phylum des Firmicutes, la Classe des Bacilli et l'ordre des Lactobacillales renfermant trente-cinq genres répartis sur six familles Parmi ces genres, seulement douze sont utilisés dans la biotechnologie alimentaire,
Il s'agit de:

4.3.1- Genre *Aerococcus*

Les cellules de ce genre sont de forme ovoïde (1-2µmdediamètre), αhémolytiques, non-gazogènes, arginine (-), pouvant croitre à une concentration de 6.5% de NaCl, la division se déroule sur deux plans formant ainsi des têtards. Cependant, des cellules isolées ou en paires peuvent être observées au milieu de la phase exponentielle. Ces bactéries peuvent être des pathogènes opportunistes **(Saishu *et al.*, 2015)**

4.3.2- Genre *Carnobacterium*

Ce genre est constitué de bâtonnets courts parfois incurves isolés ou en paires, psychro tolérants, pouvant se développer à pH:9 et incapables de croitre à 8% de NaCl ;quelques espèces sont catalase (+) en présence d'hème **(Evangelista *et al.*, 2023).**

4.3.3- Genre *Enterococcus*

Le genre *Enterococcus* regroupe plus de 14 espèces, ce sont des cocci à Gram positif, ovoïdes se présentant en paires ou en courtes chaînettes. La composition de leur paroi, leurs caractères morphologiques, enzymatiques, antigéniques, et leur aptitude à se développer dans des milieux hostiles, se trouvent essentiellement dans l'intestin et passent dans l'environnement **(Savadogo et Traore, 2011)**

4.3.4- Genre *Lactobacillus*

Les lactobacillus sont des bactéries lactiques (LAB) Gram-positives qui peuvent être trouvées dans les plantes, les animaux et les niches alimentaires. Certaines espèces associées au tractus gastro-intestinal (GI) sont considérées comme des probiotiques, qui confèrent des avantages de santé à l'hôte. Le genre *Lactobacillus* est le plus large parmi les bactéries lactiques avec plus de 145 espèces reconnues(Savadogo et Traore, 2011).

Le genre *Lactobacillus* peut être divisé en trios groups: homo fermentaires stricts, hétéro fermentaires facultatifs et hétéro fermentaires stricts(Carr *et al.*, 2002).

4.3.5- Genre *Lactococcus*

Les cellules de ce genre sont sphériques ou ovoïdes isolés, en paires, ou en chaines. De type mésophiles, leur température optimale varie de 10 à 40°C mais sont incapables de se développera 45°C. Celles-ci se développent généralement à 4% de NaCl et à un pH proche de la neutralité, leur croissance s'arrêtant lorsque le pH du milieu atteint 4,5.Ce genre est un habitant typique des plantes, des animaux et de leurs produits **(Carr *et al.*, 2002; Salminen et Von Wright, 2004; Evangelista *et al.*, 2023)**.

4.3.6- Genre *Leuconostoc*

Les bactéries du genre *Leuconostoc* sont des bactéries lactiques mésophiles et hétéro fermentaires. Ce sont des cocci ovoïdes ou sphériques Gram positif, catalase négative, anaérobies facultatifs et produisant une capsule dans les milieux riches en sucre. Ce genre partage avec le genre Lactobacillus plusieurs points communs et on le trouve dans les mêmes types d'aliments. Plusieurs de ses caractéristiques sont très important es en alimentation : production d'une saveur agréable, tolérance au sel, habileté à démarre rapidement la fermentation des produits végétaux (ce qui permet d'inhiber la croissance des bactéries indésirables). La présence de *Leuconostoc* stimuli également la croissance des *Lactococcus*. Ces deux raisons expliquent pourquoi on inclut les *Leuconostoc* dans les démarreurs de fermentation pour la production de beurre ou de fromages.

Les *Leuconostoc* peuvent également détériorer certains produits alimentaires, en particulier ceux qui sont riches en sucres, avec production de grandes quantités de substances visqueuses. Le genre *Leuconostoc* s'est enrichi récemment d'un groupe d'espèces appartenant antérieurement au genre *Lactobacillus* **(Savadogo et Traore, 2011; Zarour *et al.*, 2024).**

4.3.7- Genre *Oenococcus*

Les bactéries du genre *Oenococcus* adoptent une forme ellipsoïdale à cocci, mesurant 0,2-

0,4×0,5- 0,8 µm, généralement en paires ou en chaînettes, et leur morphologie peut être influencée par les conditions de croissance et l'âge de la culture. Les bactéries *Oenococcus* ssp., sont des bactéries acidophiles à croissance lente, elles produisent très peu de biomasse, ce qui nécessite des milieux de culture riches et complexes en acides aminés et en vitamines. Elles sont mésophiles et leur température de croissance est entre 20 à 30 °C, elles sont aussi anaérobies facultatives **(Bartowsky, 2017; Zhang *et al.*, 2022)**

4.3.8- Genre *Pediococcus*

Ce genre est représenté par neuf espèces ayant un métabolisme homo fermentaire. Il rassemble des cellules immobiles de forme sphérique parfois ovoïdes, isolées ou en paires qui se divisent dans deux directions perpendiculaires formant ainsi les têtards mais jamais les chaines. Certaines espèces produisent une catalase ou une pseudo catalase. Les cellules sont acidophiles mais non halophiles et croissent à pH5 mais pas à pH 9, la température optimal de croissance varie de 25°C à 35°C(Porto *et al.*, 2017).

4.3.9- Genre *Streptococcus*

Les streptocoques sont des cocci à Gram positif non mobiles, appartenant à la famille des Streptococcaceae. Actuellement, 66 espèces et 12 sous-espèces sont reconnues comme membres du genre *streptococcus thermophilus* est perçue comme une bactérie alimentaire qui a récemment émergée et qui a évolué à partir d'un ancêtre commensal par la perte et le gain de fonctions *Streptococcus thermophilus* est une bactérie lactique d'importance économique majeure provenant des produits laitiers **(Hutkins et Goh, 2014)**. Cette espèce est généralement reconnue comme sûre pour les produits alimentaires et le statut de présomption d'innocuité reconnue en Europe lui a été accordé **(Iyer *et al.*, 2010)**. Elle est historiquement largement utilisée pour la fabrication de yaourt et de fromage en association avec d'autres bactéries lactiques tels que *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* et *Lactococcus lactis* **(Savadogo et Traore, 2011)**

4.3.10- Genre *Vagococcus*

Ce genre appartient aux bactéries gram-positives .Ce sont des coques mobiles ou non mobiles qui ne forment pas de spores, isolées, en paires ou en chaines. La plupart des espèces sont mobiles possédant des flagelles péritriches. Elles sont capables de croitre à 10°C mais non à 45°C sans production de gaz ni d'arginine dihydrolase (ADH) **(Savadogo et Traore, 2011)**.

4.3.11- Genre *Tetragenococcus*

Ce genre rassemble des cellules immobile, sphériques ou ovoïdes avec un diamètre de 0.5-1.0 µm formant des tetrads après leur division dans deux directions perpendiculaires ;comme elles

peuvent être isolées ou en paires. Le métabolisme des Tétragenococcies thermo fermentaire. Ils ne produisent pas de CO2 à partir de glucose comme ils sont incapables de réduire les nitrates ni d'hydrolyser l'arginine. Leur température optimale de croissance se situe entre 25°C et 35°C et ne peuvent pas croitre à 10°C et à 45°C **(Holzapfel *et al.*, 2006; Ketrouci, 2021).**

Les espèces de *Tetragenococcu* sont un rôle crucial dans la fabrication des produits alimentaires à concentration élevée en sel comme les sauces de soja **(Yoo *et al.*, 2023).**

4.3.12- Genre *Weissella*

Les cellules de ce genre sont ovoïdes ou de courts bâtonnets à extrémités rondes qui s'associent en paires ou en courtes chaines.

Elles sont immobile et hétéro fermentaires .La température optimal de croissance est de 15°C ,mais quelques espèces peuvent croître entre 42°C et 45°C Parmi tous ces genres cités, seulement cinq (*Aerococcus, Lactobacillus, Streptococcus, Leuconostoc et Pediococcus*) répondent aux caractéristiques générales d'une bactérie lactique typique **(Savadogo et Traore, 2011).**

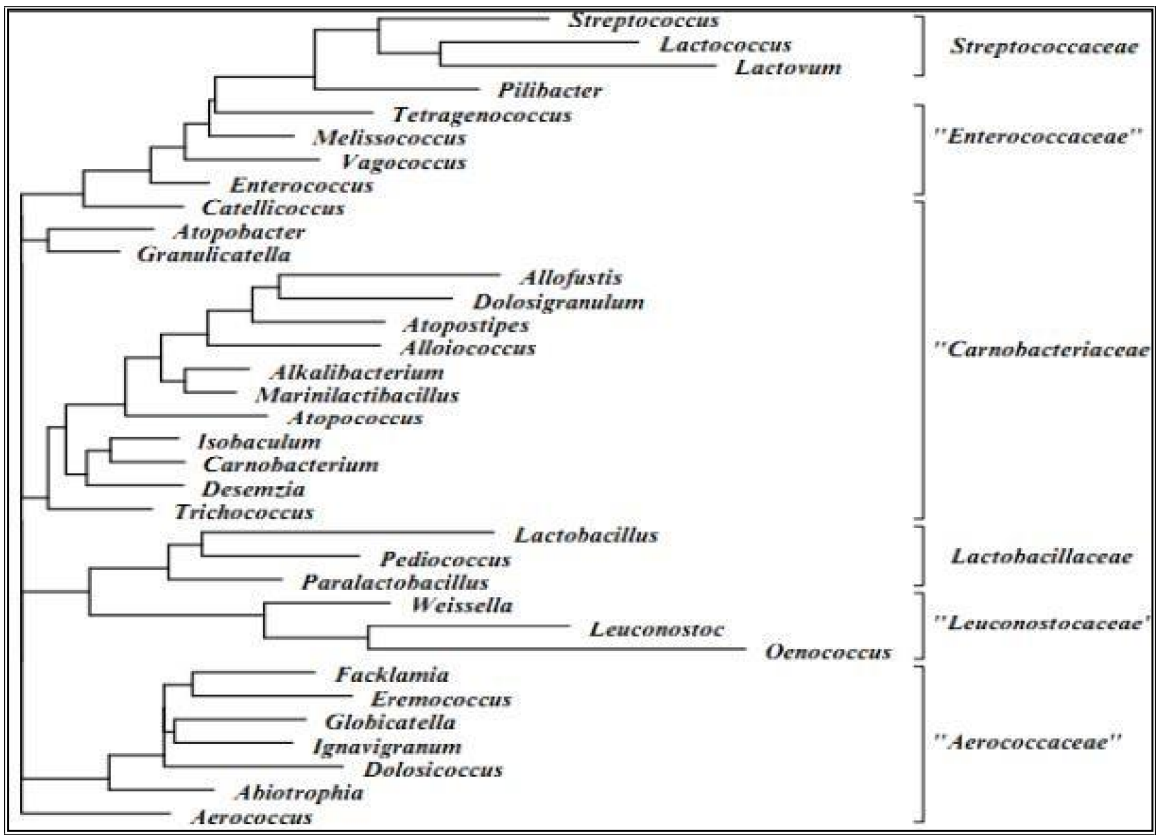

Figure 2. Dendrogramme consensus reflétant les relations phylogénétiques de l'ordre des «Lactobacillales» au sein de la classe «Bacilli» (Vos *et al.*, 2011)

4.4- Intérêt des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques sont depuis des millénaires un moyen de bio conservation efficace de nombreux produits alimentaires et ce grâce à leur métabolisme. Ce pendant leur rôle s'est étendu dans plusieurs secteurs, tel que le domaine alimentaire et thérapeutique (Zergoug, 2017)**.**

4.4.1- Dans l'industrie alimentaire

Rôle important dans la fermentation et la bio conservation de différents aliments. Les souches de *Lactobacillus bulgaricus* , *Sterptococcus thermophilus* sont utilisées pour la production du yaourt , des fromages et des laits fermentés **(Kahiwa *et al.*, 2022).**

4.4.2- Rôle dans la Formation de l'arôme et de la saveur

L'acétoïne et ses dérivés ainsi que certains composés aromatiques (1-propanol, acétated'isoamyle, acétated'éthyle, 3-methyl-1-butanol, acétoïne), les principaux composés volatils identifiés, respectivement, dans la pâte de maïs fermentée, proviendraient de l'action des bactéries lactiques et donneraient au produit ses caractéristiques organoleptiques **(Kayitesi *et al.*, 2023)**

4.4.3- Préservation et innocuité de l'aliment

La fermentation est une méthode de conservation des aliments. Les bactéries lactiques produisent plusieurs composés antimicrobiens naturels, savoir : des acides organiques (lactique, acétique, formique, phényllactique, caproïque), le dioxyde de carbone, le peroxyde d'hydrogène, le diacétyle , l'éthanol et des bactériocines **(Wafula *et al.*, 2022)**

4.4.4- Dans le domaine de la santé

En 2001, un comité d'experts de l'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'Agriculture (Food and Agricultural Organisation, FAO) et de l'Organisation mondiale de la Santé (OMS) définissait les probiotiques comme des micro-organismes vivants, qui, lorsqu'ils sont consommés en quantité suffisante dans l'alimentation, ont un effet bénéfique sur la santé de l'hôte **(Siong et Sum, 2021)**

Les pro biotiques apportent un réel bénéfice pour le consommateur. Les souches de bactéries lactiques probiotiques proviennent des aliments et appartiennent principalement aux genres *Lactobacillus* et *Bifidobacterium* . Les effets bénéfiques de ces souches probiotiques sur la santé du consommateur, l'amélioration de la digestion du lactose, permettent l'équilibre de la microflore intestinale **(Markowiak et Śliżewska, 2017).** La prévention la diarrhée, la diminution du risque d'allergie alimentaire, la stimulation et la modulation du système immunitaire ,l'amélioration de la maladie inflammatoire intestinale, leurs mécanismes reposent sur certaines activités

microbiennes spécifiques (production de certaines enzymes ou facteurs de croissance), des interactions microbiennes (production de peroxyde d'hydrogène, acides organiques et peptides antibactériens), des interactions avec l'épithélium intestinal (concurrence pour les récepteurs situés sur l'épithélium intestinal) et des interactions avec le système immunitaire **(Szajewska *et al.*, 2006; Oelschlaeger, 2010; Zendeboodi *et al.*, 2020; Joshi *et al.*, 2024; Nandi et Mandal, 2025).**

Si certains de ces effets sur la santé sont déjà largement établis, d'autres ne le sont pas du tout encore **(Savadogo et Traore, 2011)**

4.5- Identification et caractérisation des isolats

L'approche classique de la taxonomie des BL a toujours été basée sur les caractéristiques morphologiques phénotypiques, biochimiques et physiologiques **(Carr *et al.*, 2002)**. Cette identification a été élargie en incluant des marqueurs chimio-taxonomiques (acides gras cellulaires), analyse des protéines totales de la cellule et autres caractéristiques de la cellule. Une identification fiable est dépendante de l'information génotypique. Les méthodes génotypiques telles que le séquençage de l'ADNr16S, ribotypage, Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD), rep-PCR et autres constituent aujourd'hui une partie importante de la taxonomie moderne des BL **(Sun *et al.*, 2014).**

Les principales méthodes utilisées pour la classification et l'identification des BL sont données ci-dessous.

4.5.1- Identification phénotypique

Les colonies isolées sur les milieux de dénombrement peuvent être identifiées au moyen de méthodes phénotypiques (tests physiologiques et biochimiques). Cette étude est basée sur l'observation macroscopique et microscopique ainsi les tests physiologiques et biochimiques.

Examen macroscopique

Ce test permet de mettre en évidence la morphologie de colonie obtenue sur boîtes de Pétri et à l'aide d'une loupe binoculaire. Les colonies isolées sont soumises à une observation macroscopique à fin de déterminer les caractères culturaux (forme, aspect, taille, couleur, disposition et contour) **(Zergoug, 2017).**

Examen microscopique

L'observation microscopique par coloration différentielle nous permet de distinguer les isolats selon le type de Gram (positif ou négatif), leur morphologie (bacille ou coque) et leurs modes d'associations (isolés, enchaînettes ou en tétrades). Les bactéries lactiques sont à Gram+ **(Carr *et al.*, 2002).**

Recherche de la production de gaz (type fermentaire)

Ce test permet de déterminer le type de métabolisme à partir de la dégradation du glucose et la production du gaz (CO2) (Hansal *et al.*, 2024).

Cela nous permet de classer les bactéries lactiques en homofermentaires ou en hétérofermentaires.

Métabolisme des carbohydrates par la galerie API50 CHL

L'identification des souches lactiques, par le système API bioMérieux en utilisant la galerie API 50CH avec API 50 CHL medium (bioMérieux, Marcy l'étoile, France). Le microorganisme à tester est mis en suspension dans le milieu puis inoculé dans chaque tube de la galerie. Pendant l'incubation, le catabolisme des glucides conduit à des acides organiques qui provoquent le virage de l'indicateur de pH. Les résultats obtenus constituent le profil biochimique permettant l'identification du microorganisme à l'aide du logiciel d'identification **APILAB (bioMérieux, Marcy l'étoile, France) (Tamminen *et al.*, 2004).**

Figure 3. Galerie API50 CHL.

4.5.2- Identification génotypique

Ces deux dernières décennies ont vu le développement d'un large éventail de méthodes d'identification et de détection basées sur l'ADN. L'un des principaux avantages de ces

méthodes réside sans aucun doute dans leur indépendance vis-à-vis des variations des conditions de croissance des micro-organismes. Les techniques génotypiques présentent différents niveaux de pouvoir discriminant, de l'espèce à la différenciation des souches individuelles (typage). De nombreuses méthodes génotypiques reposent sur le principe de la réaction en chaîne par polymérase (PCR), qui permet l'amplification sélective de fragments d'ADN spécifiquement ciblés grâce à l'utilisation d'amorces Oligo nucléotidiques dans des conditions de réaction contrôlées **(Tamminen *et al.*, 2004) (tableau 1)**

Table 1 : Liste des techniques moléculaires utilisées pour l'identification des bactéries lactiques (Tamminen *et al.*, 2004) (F : faible ; M : modérée ; E : élevée)

Technique	Principe	Difficulté	Pouvoir discriminatoire	Reproductibilité
Amorces spécifiques	PCR avec des amorces spécifiques de groupe	F	En fonction de primer	E
séquençage	Détermination des séquences de gènes (ADNr 16S.. .)	E	Du niveau du genre à l'espèce	E
RFLP	Enzymes de restrictions Analyse (REA) d'amplicons d'ADN ou PCR	E	Du niveau du l'espèce A la souche	E
AFLP	Combinaison d'amplification REA et PCR	E	Du niveau du l'espèce A la souche	E
RAPD-PCR	PCR amorcée de manière aléatoire	F	Du niveau du l'espèce A la souche	F
PFGE	REA et électrophorèse sur gel en champ pulsé	E	souche	E
Sondes d'hybridation	Hybridation ADN-ADN à l'aide de sondes marquées	E	Du niveau du genre à l'espèce	E

Chapitre II

Matériel et Méthodes

II. Partie expérimentale

1. Matériel et méthodes

1.1- Lieu et période d'étude

Ce travail a été mené au sein des laboratoires pédagogiques de microbiologie de l'Institut des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université de Tissemsilt, ainsi qu'au Centre Algérien de Contrôle de la Qualité et de l'Emballage (C.A.C.Q.E) de Tissemsilt. L'étude physico-chimique de lait de vache, s'est déroulée dans les laboratoires du C.A.C.Q.E. Quant à la seconde phase, portant sur l'isolement et la pré-identification des caractéristiques phénotypiques et biochimiques des bactéries lactiques, elle a été réalisée au laboratoire de l'institut universitaire.

1.2- Origine de l'échantillon

L'échantillon de lait de vache cru utilisé pour cette étude provient de la commune de tissemsilt, wilaya de tissemsilt. Cet échantillon nous a été fourni par un éleveur de la région.

Les échantillons ont été collectés de manière aseptique dans des bouteilles stériles (500mL), conservés dans un récipient de type glacière à (4°C) et transportés au laboratoire pour des analyses physico-chimiques et microbiologiques**.**

1.3- Les milieux des cultures

Les milieux de cultures utilisés sont sous forme liquide ou gélose. Les milieux utilisés sont les suivants :

MRS milieu spécifique aux *lactobacilles*

MRS: La gélose MRS (de Man *et al.*, 1960) est utilisée pour la culture et le dénombrement des *Lactobacillus* dans les produits laitiers et les autres produits alimentaires ainsi que dans les produits destinés à l'alimentation animale. Ce milieu permet de cultiver des germes à croissance ralentie tels que *Lactobacillus brevis* et *Lactobacillus fermentum*. Acidifié à pH 5,4, il permet également de dénombrer *Lactobacillus bulgaricus* dans les yaourts. D'après la norme NF ISO 15214 pour le dénombrement des bactéries lactiques mésophiles, la gélose MRS doit être utilisée à pH 5,7.

M17 milieu spécifique aux *lactocoques* et aux *streptocoques*

M17 (Terzaghi et Sandine, 1975), La gélose M17 est utilisée pour le dénombrement des lactocoque*s* (particulièrement *Lactococcus lactis*) et de *Streptococcus thermophilus* dans les produits laitiers et notamment dans les yaourts natures ou aromatisés (brassésou non), ainsi que dans les yaourts contenant des morceaux de fruits. Ce milieu permet également l'étude de la

sensibilité de ces microorganismes aux bactériophages. La formule-type répond à la composition définie dans les normes FIL-IDF 149A et ISO 7889.

Tous les milieux de culture utilisés dans cette étude sont stérilisés à 120°C pendant 20mn. La composition des différents milieux de cultures est présentée en annexes

1.4- Analyses physico-chimiques des échantillons de lait de vache

Les analyses ont été effectuées, sur les échantillons de lait de vache déjà collecté, afin de déterminer les principales propriétés physiques et chimiques ainsi que la valeur nutritionnelle.

L'ensemble des paramètres analysés sont :

1.4.1- Mesure du pH

La valeur du pH aune importance exceptionnelle par l'abondance des indications quelle donne sur la richesse du lait de certains constituants sur l'état de fraicheur ou sur sa stabilité Le pH des échantillons de lait a été mesuré, à l'aide d'un pH-mètre (type PHSJ-3F), par trempage dans un volume (30ml) de lait prélevé dans un bécher.

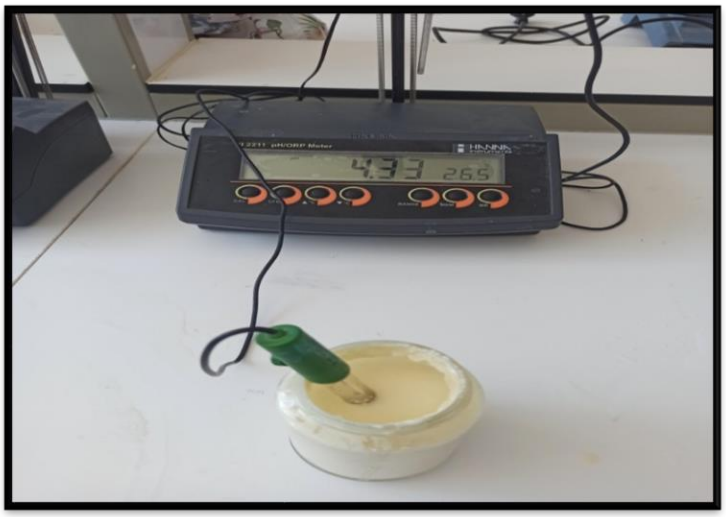

Figure 4. Mesure du PH

1.4.2- Détermination de l'acidité titrable

Des méthodes de titrage plutôt que des mesures de pH sont utilisées pour vérifier l'équilibre acido-basique, qui est généralement appelé acidité titrable du lait.

Pour quantifier le degré d'acidité d'un lait, on utilise un titrage acido-basique par la soude Dornic. La procédure comprend les étapes suivantes :

Un volume de 10 ml de lait est placé dans un bécher de 100 ml en présence de 0,1 ml de phénolphtaléine à 1% dans l'alcool à 95%, la soude Dornic (N/9) est rajoutée jusqu'auvirage

au rose. La coloration rose doit persister au moins 10 secondes **(Labioui *et al.*, 2009).**

L'acidité du lait est exprimée en degré Dornic. Un degré Dornicé qui vaut à une teneur de 0,1g d'acide lactique par litre de lait.

°D: Acidité =VNaOH * 10

V_{NaOH} est le volume dessoudée coulé pour titrer 10 ml de lait, et 1°D=0.1g/l de lactate.

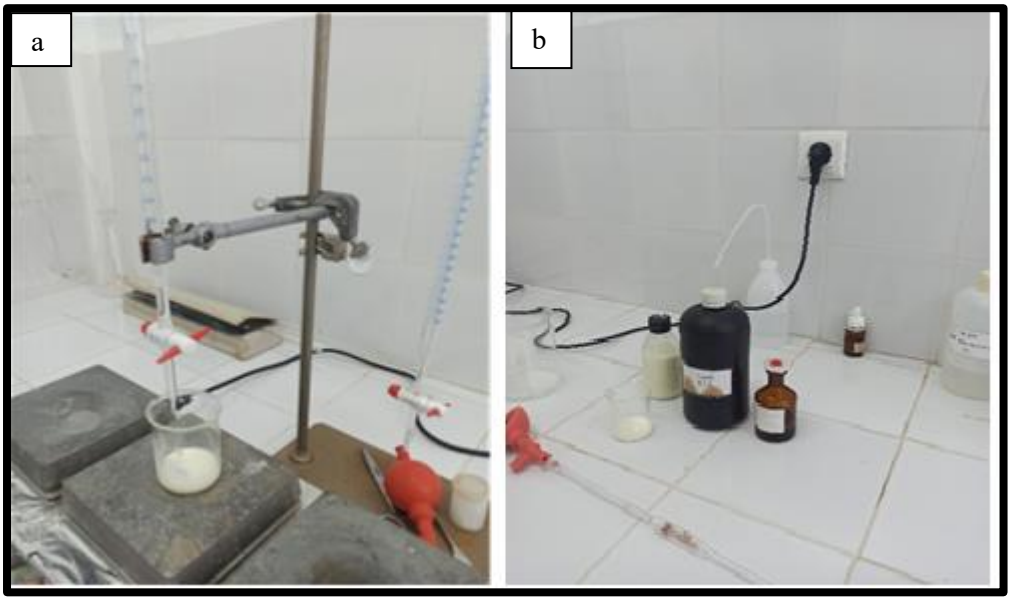

Figure 5. Mesure d'acidite tetrable a) titrage de l'acidité b) reactifs utilisées

1.4.3- La teneur en matière grasse

1) Utiliser la méthode acido-butyrométrique de Gerber.

   Attaquer le lait avec de l'acide sulfurique.

2) Faire couper par centrifugation en présence d'alcool isoamylique pour séparer la matière grasse libérée.

3) Estimation de la teneur en matière sèche :

   Évaporer un échantillon de 10 ml au bain-marie à 70°C.

   Sécher l'échantillon pendant 3 heures à l'étuve à 103 ± 2°C ,(Labioui *et al.*, 2009).

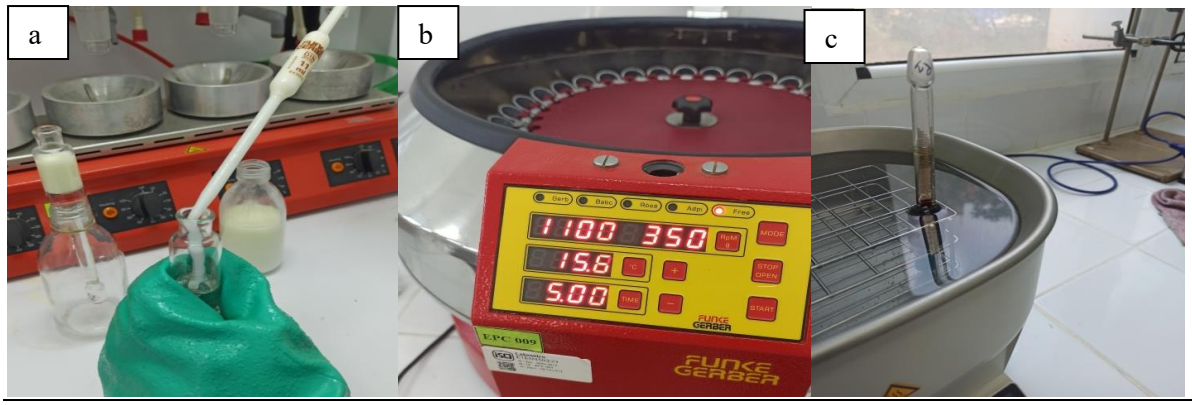

Figure 6. les etapes de mesure de matière grasse a) ajout de l'acide sulfirique b) centrifigation c) evaporation au bain marie

1.4.5- Densité

La densité de lait de vache varie entre 1,028 jusqu'à 1,035. (VIGNOLA ,2002). On a mesure la densité avec lactodensimètre

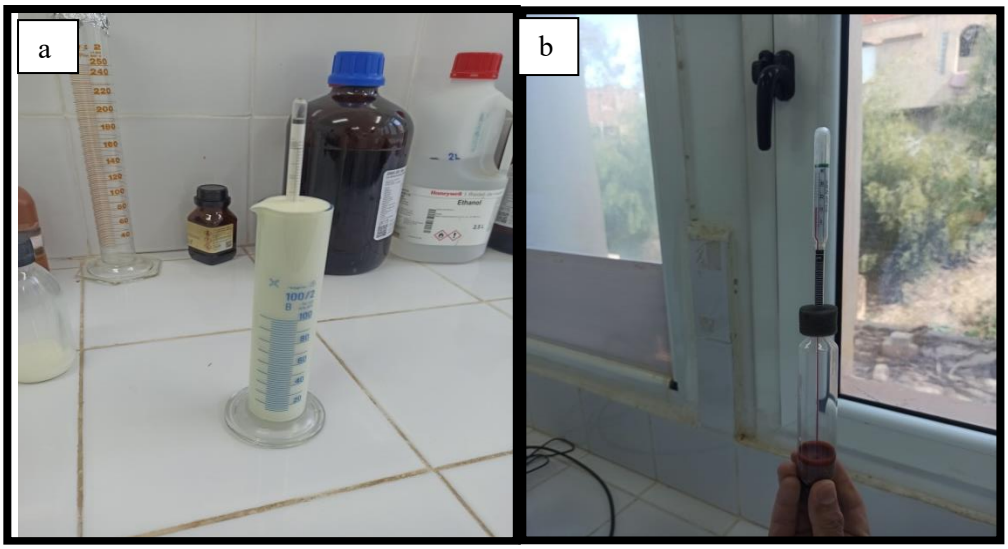

Figure 7.méthode de mesure la densité a) le lactodensitometre b) mesure de la densité

1.5- Analyses microbiologiques

Pour l'analyse microbiologique l'échantillon de lait de vache cru déjà collecté à été préparer et utilisé selon le protocole d'étude suivant

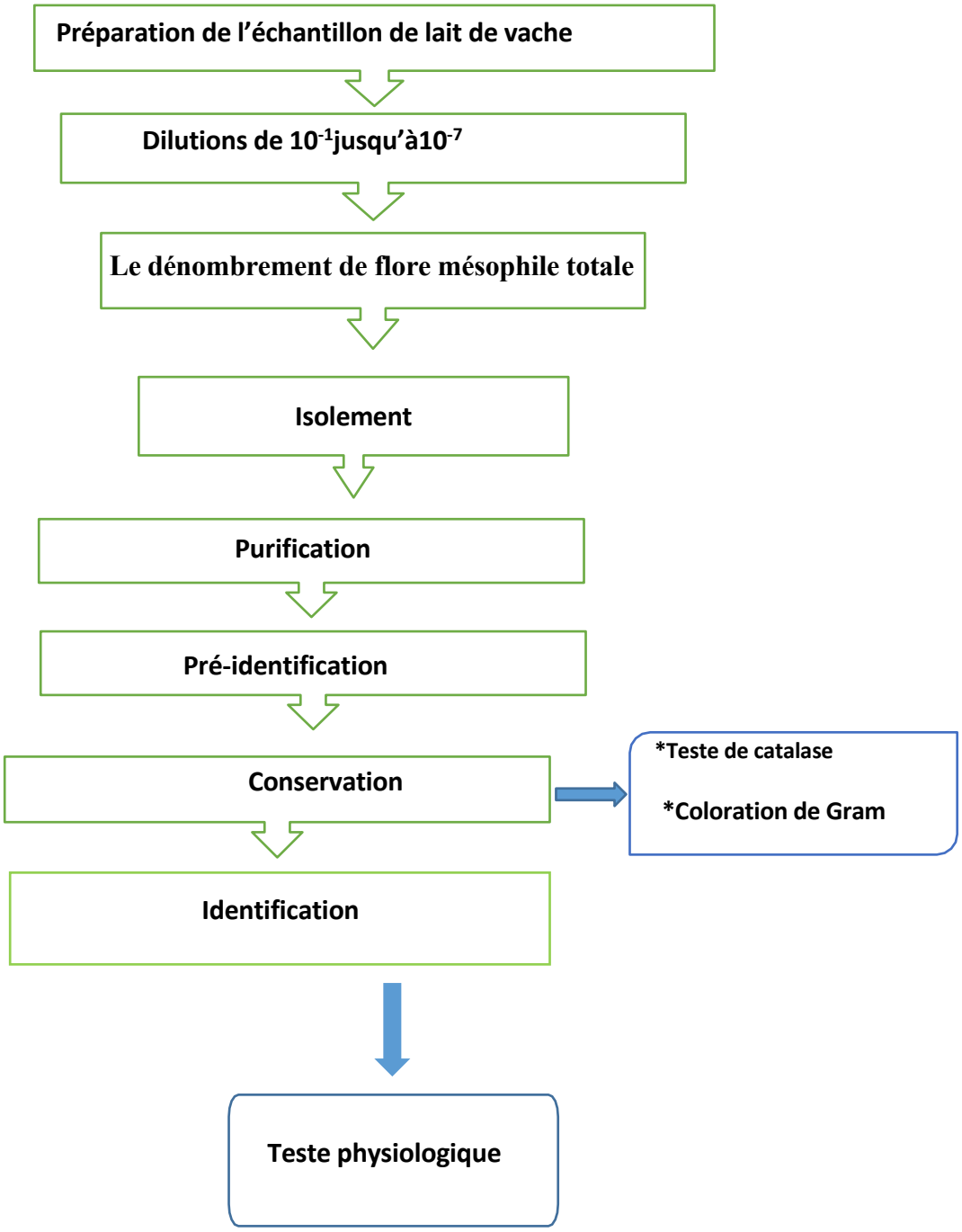

Figure 8. Diagramme représentatif du protocole de l'étude

1.5.1. Préparation de l'échantillon

La dilution décimale en cascade

Pour chaque prélèvement, 01 ml d'échantillon à analyser ont été ajoutés dans un tube à essai à 9 ml d'eau physiologique stérile. On obtient ainsi une dilution mère de10^{-1} à partir de laquelle on réalise des dilutions décimales jusqu'à 10^{-7}**.(Labioui *et al.*, 2009).**

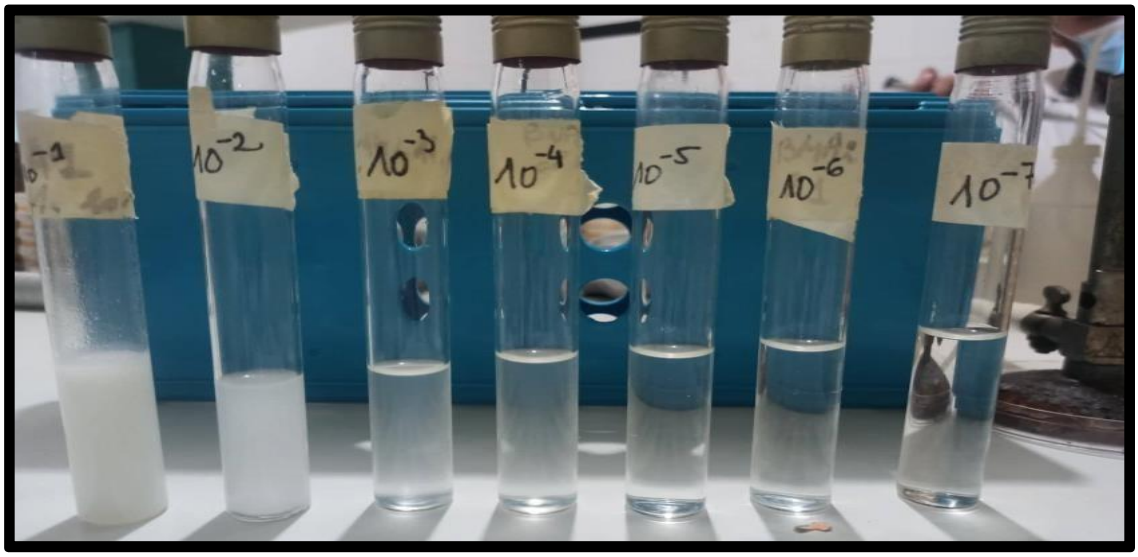

Figure 9. Dilution en cascade de10^{-1} à 10^{-7}.

1.5.2. Le dénombrement de flore mésophile totale

La flore mésophile aérobie totale (FMAT), bon indicateur de contamination ,est dénombrée sur gélose PCA incubée 24 h à 30°C **(Labioui *et al.*, 2009).**

1.5.3. Isolement et purification

Isolement

Technique d'isolement et purification des bactéries lactiques Après coagulation des échantillons de laits, 1ml de la solution mère a été additionné à 9ml d'eau physiologique (NaCl à raison de 0.9%), une série de dilutions décimales a été préparé (10^{-1} à 10^{-7}) et homogénéisé. 1 ml de chaque dilution est ensuit Ensemencé en profondeur des milieux de cultures spécifiques à savoir MRS ou M17. Après solidification des boites de Pétri sont incubées à 30°C pendant 48h en aérobiose (pour les Lactocoques) et anaérobiose (pour les Lactobacilles) **(Zergoug, 2017).**

Purification

Elle consiste à effectuer des repiquages successifs sur milieu MRS solide et M17 utilisé alternativement jusqu'à l'obtention des colonies bien distinctes et homogènes **(Ketrouci, 2021).**

La purification des souches sur milieu gélosé se fait par la méthode des stries, Suivi d'une observation microscopique. Pour chaque échantillon 5 à 10 colonies sont prélevées et repiquées sur milieu MRS et M17 pour la purification des colonies.

1.5.4. Etude morphologique

L'étude morphologique est basée sur l'observation macroscopique et microscopique

Observation macroscopique :

L'examen macroscopique permet de déterminer l'aspect des colonies (la couleur, la forme, l'aspect et la taille des colonies).

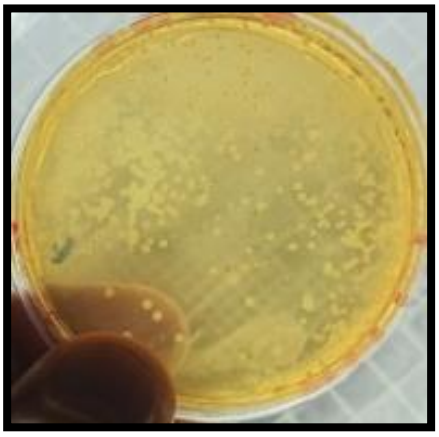

Figure 10. Observation macroscopique des souches sur MRS et M17

Observation microscopique : la coloration de Gram est utilisée pour classer les bactéries selon leur Gram, leur morphologie et leur mode d'association.

Coloration de Gram :

Un frottis fixé à la chaleur est coloré pendant une minute au violet de gentiane, puis traité pendant une minute par une solution de lugol ensuite il est rincé. On soumet alors le frottis coloré à une étape de décoloration en le traitant avec l'éthanol à 95%. Il s'agit de l'étape critique : la lame est maintenue inclinée et on fait couler le solvant sur le frottis pendant 2 à 3 secondes seulement jusqu'àce que le colorant cesse de s'échapper librement du frottis. Celui-ci est alors immédiatement rincé à l'eau. On soumet ensuite le frottis à une contre coloration de 30 secondes à la fuchsine. Après un bref rinçage, on sèche le frottis au buvard et on l'examine à l'objectif à

immersion (grossissement X 1000). Toutes les bactéries lactiques sont à Gram positif.

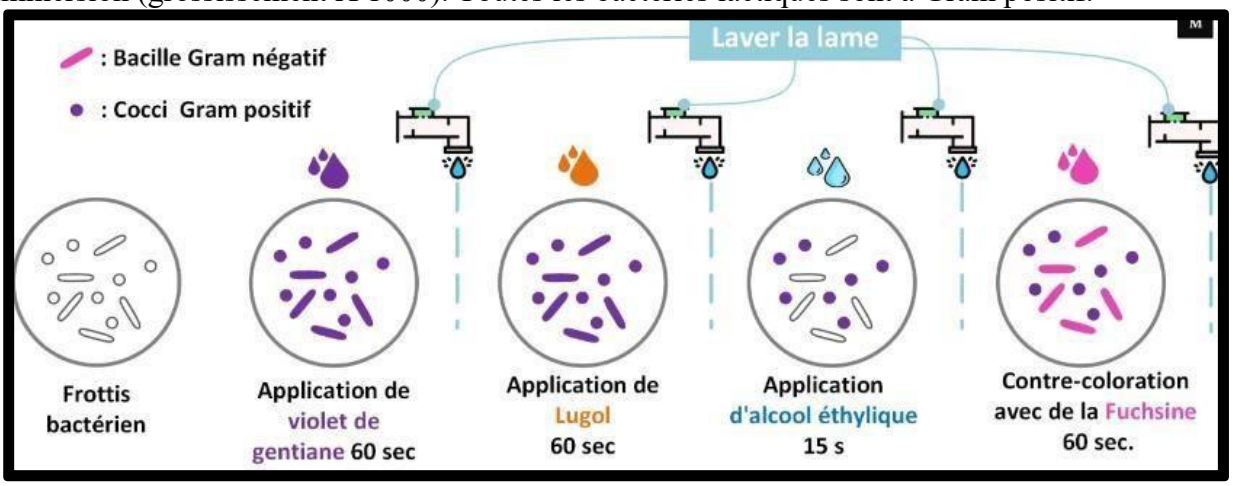

Figure 11.Les étapes de la coloration de Gram (de gauche-droite). Accessible En ligne :https://microbiologie-clinique.com/Coloration-Gram.html

Test catalase

L'objectif de ce test de différencier les bactéries lactiques des non lactiques**.** Les bactéries lactiques sont catalase négative **(Carr *et al.*, 2002).**

la catalase est une enzyme qui dégrade l'eau oxygénée (H_2O_2) en eau métabolique (H_2O) et oxygène (O2). Une colonie est mise en suspension avec une ou deux gouttes de solution de peroxyde d'hydrogène (10 volumes) sur une lame, déposée sur une lame propre, la réaction chimique de dégradation d'eau oxygénée. La catalase s'exprime aussi tôt par l'apparition des bulles d'air (dégagement gazeux d'O2) aisément discernable

Seules les bactéries à Gram positif et catalase négative ont été retenues.

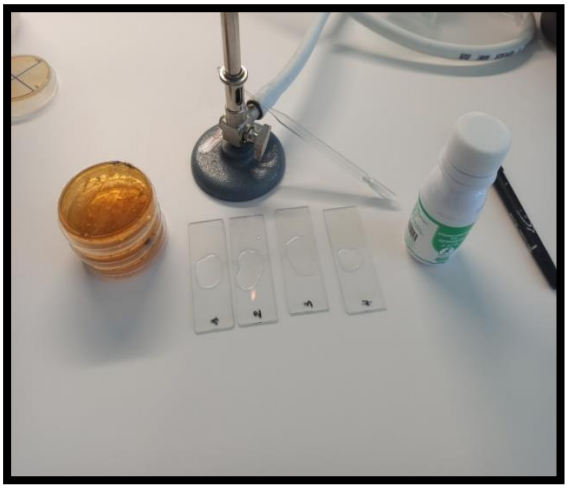

Figure 12.Teste de catalase.

1.6- Conservation des souches

1.6.1. Conservation à courte durée

La conservation des souches à courte durée a été effectuée à 4°C dans des tubes à essais en géloses inclinées à raison d'un repiquage toutes les quatre semaines.

1.6.2. Conservation longue durée

Pour des périodes de conservation plus prolongées, les souches sont gardées à -20°C dans un milieu liquide (bouillon MRS) supplémenté avec 30% de glycérol comme cryoprotecteur **(Ketrouci, 2021).**

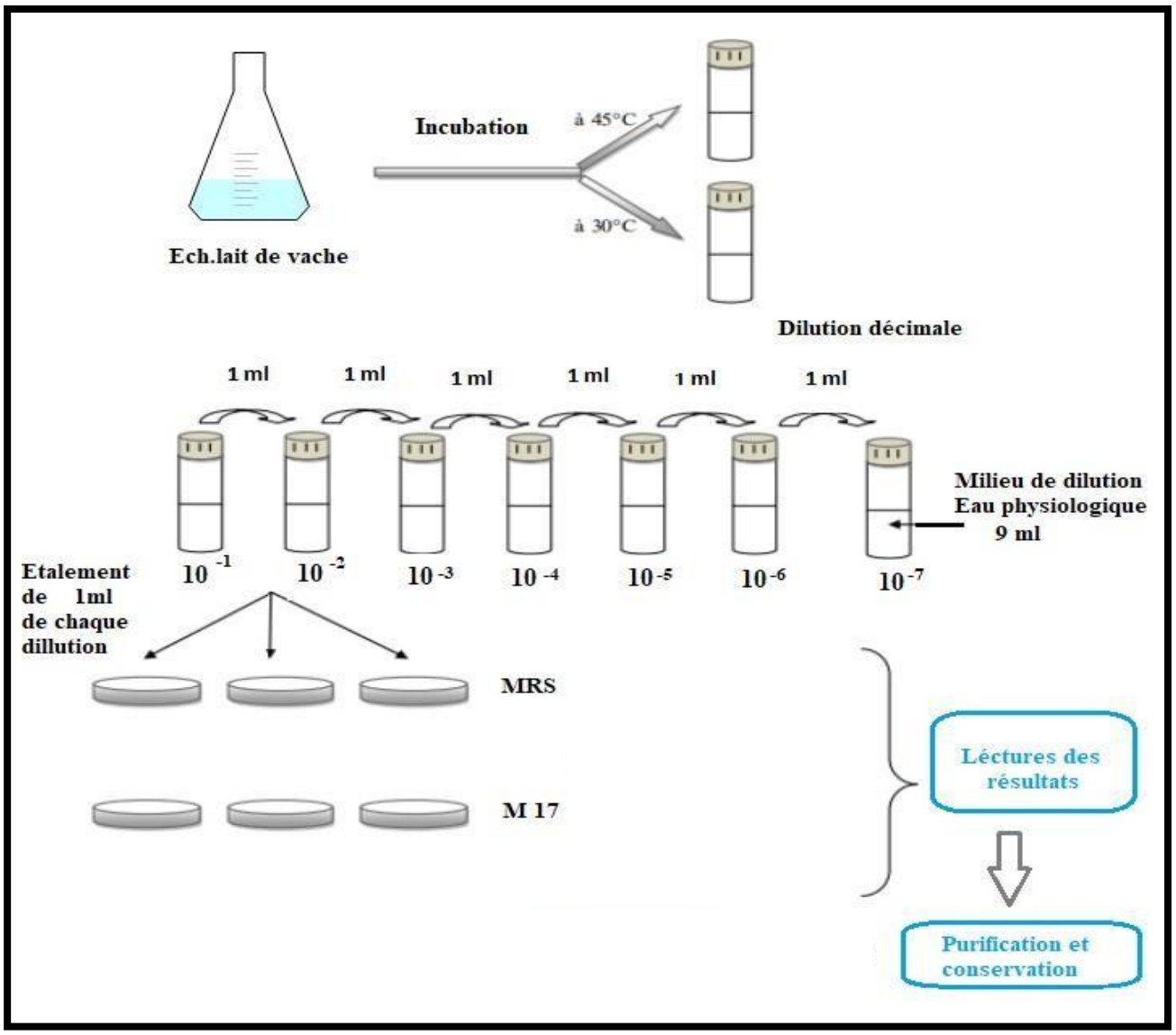

Figure 13. Diagramme d'isolement des bactéries lactiques.

Tests biochimiques

Recherche de type fermentaire

L'objectif de ce test est de connaitre le type de métabolisme (hétéro fermentaire Ou homo fermentaire)

On incube la souche à tester dans le milieu MRS liquide contenant la cloche de Durham à 30 et 37°C pendant 24h, le développement des bactéries hétérofermentaires se manifeste par l'apparition du gaz dans la cloche de Durham comme indiqué dans la **Figure 14** , et qui est absent chez les bactéries homofermentaires

Hydrolyse de l'arginine :

La dégradation d'arginine en ammoniac se fait par l'intervention d'un enzyme appelé Arginine dishydrolase (ADH) et l'identification des souches qui ont cet enzyme se fait sur milieu M16.BCP qui est un milieu d'étude des métabolismes protidiques **(Thomas, 1973).** Il existe des bactéries lactiques pouvant acidifiées le milieu en utilisant le lactose et elle s'apparaissent sous forme des colonies jaunâtres et n'ont pas la capacité de dégrader l'arginine, par contre d'autres bactéries lactiques sont capables d'utiliser l'arginine ce qui rend le milieu alcalinisé et la couleur des colonies est blanchâtre, le pH de l'indicateur coloré demeure in changé**.** La réalisation de ce test a été fait par une ensemencement à partir des cultures jeunes sur gélose M16.BCP, puis incubation à 30°C pendant 48h **(Hansal et al., 2024).**

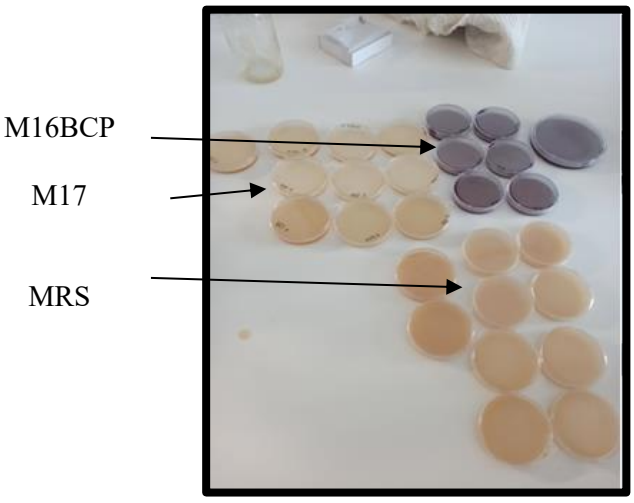

Figure 15 : milieux utilisés

Test de croissance sur un milieu MRS lait:

Tester la croissance des souches sur un milieu MRS additionné du lait écrémé, pour évaluer la capacité des isolats de dégradés les protéines de lait

Chapitre III :

Résultats et Discussions

III. Résultats et discussion

Les principaux facteurs de variation de la composition chimique du lait sont bien connus. Ils sont liés à l'animal (facteurs génétiques, stade physiologique, état sanitaire) ou au milieu (saison, alimentation, traite). Parmi ces facteurs, certains agissent dans le même sens sur les taux butyreux et protéique (stade physiologique, saison) et peuvent entraîner des variations entre les mois extrêmes selon les situations **(Coulon *et al.*, 1991).**

Nous avons donc de déterminer la composition de l'echntillion de lait de vache collecter dans la région de Tissmsilt et d'étudier quelques caractères physicochimiques afin de déterminer la qualité de ce dernier. La composition globale du lait ne fait apparaître que les grandes catégories de ses constituants et les valeurs données sont des valeurs moyennes. Les résultats des analyses physico-chimiques sont trouvant dans le tableau (4).

Tableau 4. Résultats des différents Testes physico-chimique de lait de vache cru

Les paramètres physico-chimiques	**Valeur**
Ph	6.64
Acidité Dornic	17,00 **°D**
Matière grasse F	3,6 **g/mL**
Densite	1,029 **g/mL**

Chaque mesure de ces paramètres a été répétée trois fois pour chaque échantillon, les résultats obtenus sont le calcul de la moyenne des résultats des trois échantillons. D'après les résultats obtenus, le lait cru de vache étudié de bonne qualité physico-chimique. En effet, toutes les valeurs des paramètres recherchés sont conformes aux normes.

Les valeurs de pH rapportés dans cette étude sont situées dans l'intervalle de 6,6 et 6,8 une moyenne de 6,64 cela signifie que le lait étudié est normal et stable **(Vignola,2002)** le résultat obtenu se rapproche de celui rapportées par certains au tour tels que avec un pH égal à 6,7 **(Brunner, 1981; Gemechu et Amene, 2021; Tadesse *et al.*, 2023).**

L'acidité Dornic est le deuxième paramètre physico-chimique important à contrôler après le pH, elle nous renseigne sur la fraicheur du lait. Pour l'échantillon du lait de vache l'acidité a une valeur moyenne de 17°D. Cette valeur d'acidité se rapproche des valeurs trouvées par **Colinet *et al.* (2010)** et **Troch *et al.* (2017)**

La densité, est le paramètre le plus recherché en industrie car il permet la détection de fraudes.

La densité du lait est une grandeur sans dimension qui désigne le rapport entre la masse d'un volume donné de lait à 20°C et la masse du même volume d'eau. Dans notre étude, nous avons trouvé une valeur moyenne de 1.029 pour les échantillons du lait de vache. Cette valeur moyenne se situe dans l'intervalle de 1,028 à 1,032, ceci indique que le lait est dans son état normal et qu'il n'est pas dilué **(Debouz *et al.*, 2014; Tameur *et al.*, 2021)**.

La teneur en matière grasse nous renseigne sur la valeur nutritionnelle et énergétique du produit. Les résultats obtenus montrent que la teneur en matière grasse du lait de vache (3.6 %), dans la littérature, nous trouvons des valeurs très proches enregistrés par. Cette variabilité peut s'expliquer par la différence de la nature de l'alimentation **(Rulquin *et al.*, 2007; Bencherik *et al.*, 2013)** ainsi l'age de la vache **(Auriol et Grosclaude, 1960)**.

Pour le dénombrement, les boites contentant de 15 à 300 colonies sont retenues pour le dénombrement. Le dénombrement des colonies est réalisé selon la formule suivante :

$N=\Sigma c/(n1+0.1n2)d$

Σc : somme des colonies de toutes les boites. d : le facteur de dilution à partir duquel les premiers comptages ont été obtenus.

n1:nombre de boites positives de la première

n2: nombre de boites positives de la deuxième dilution.

Le dénombrement de la flore lactique sur gélose MRS et M17 est effectué selon de. Une charge très importante en bactéries lactiques a été enregistrée.

10 isolats bactérien sont été isolés à partir de nos échantillons de lait vache cru de la région de tissemsilt. Ces isolements ont été réalisés sur milieu solide MRS et M17. Les colonies ont été d'abord purifiées et ont subi un premier screening basé sur la coloration de Gram et le test de catalase.

Les isolats bactériens sont désignés par les lettres TF , Ten référence à L'origine de l'échantillon de « Tissemsilt» et codés F « Flore lactique ».

L'étude morphologique consiste à décrire l'aspect des colonies, la couleur et la taille sur milieux gélosées. Elle est ensuite suivie par une coloration différentielle de Gram pour écarter les bactéries Gram négatif. L'observation au microscope optique permet de définir les formes, coques ou batônnets ainsi que leurs modes de regroupements **(Carr *et al.*, 2002; Badis *et al.*, 2004).**

Les cultures obtenues sur les boites de Petri sont observées à l'œil nu pour caractériser la forme, la taille, l'aspect ainsi que la couleur des colonies. Ces colonies sont apparues de petite taille, de forme circulaire ou lenticulaire, avec une couleur blanchâtre et d'un pour tour régulier ou irrégulier. La figure montre l'aspect macroscopique des colonies de bactéries lactiques cultivées sur gélose MRS et M17

Figure 16.Observation macroscopique des isolats sur milieu MRS

Après l'observation microscopique des cellules et de la coloration de Gram, on trouve que les souches isolées sont Gram-positif, en formes coques et des bacilles, l'arrangement cellulaire est variable : paires, chaînettes et en amas, qui sont les caractéristiques morphologiques des bactéries lactiques. La figure 16 repressente les observation microscopiques de quelque isolats.

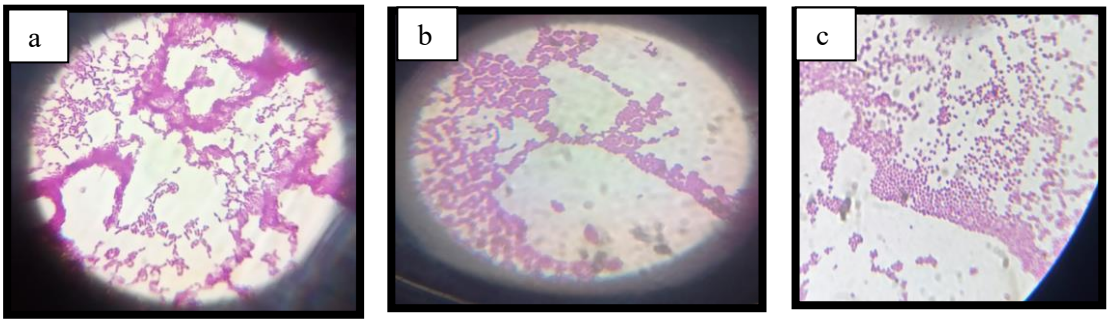

Figure 17. Observation microscopique après la coloration de gram des isolats au grossissement (10X100) a) isolat TF1 forme bacille, b) isolat TF5 cocci en amas c) isolat TF3 cocci isolées ou en diplocoque

Tableau 5.critères morphologique des bactéries lactiques isolées à partir de lait de vaches

code de souche	coloration de gram	test catalase	milieux d'incubation	la forme	mode d'association
TF01	+	−	MRS	Bacille	Enchaine et en Diplo
TF02	+	−	MRS	Bacille	Petites chainettes
TF03	+	−	MRS	Bacille	Enchaine et en Diplo
TF04	+	−	MRS	Bacille	En diplo
TF05	+	−	M17	Coque	En amas
TF06	+	−	M17	Coque	Enchaine
TF07	+	−	M17	Coque	Isolées
TF08	+	−	M17	Coque	Enchaine et en Diplo
TF09	+	−	M17	Coque	Isolées
TF10	+	−	M17	Coque	Enchaine et diplo

Les isolats lactiques ont été isolée à partir du lait de vache on a obtenu 10 isolats différents, sur l'aspect microscopique des souches (Gram positif) et sur le test de catalase (négative) (tableau 5). Ces résultats confirme que ces isolats sont des bactéries lactiques **(Carr *et al.*, 2002; Badis *et al.*, 2004)**

Tableau 6. Résultats des tests biochimiques appliqués.

Souche	Hydrolyse d'arginine	Croissance sur MRS lait	Croissance sur milieu BEA	Croissance sur MRS amidon
Tf1	+	-	+	-
Tf2	+	-	+	-
Tf3	+	-	+	-
Tf4	+	-	+	-
Tf5	+	-	+	-

Selon le Tableau 7 , On a remarqué que 3 souches (TF1,TF2 ,TF3) sont de type de fermentation homofermentaire et les deux isolats sont heterofermentaire

Apres l'incubation des souches dans le milieu M16 .bcp on observer des colonies de couleur blanchâtre qui signifié que cette derniers dégradant l'arginine

Dans le milieu MRS a amidon on observe aucun développement sur les boites qui signifie que les souches ne dégradent pas l'amidon

.

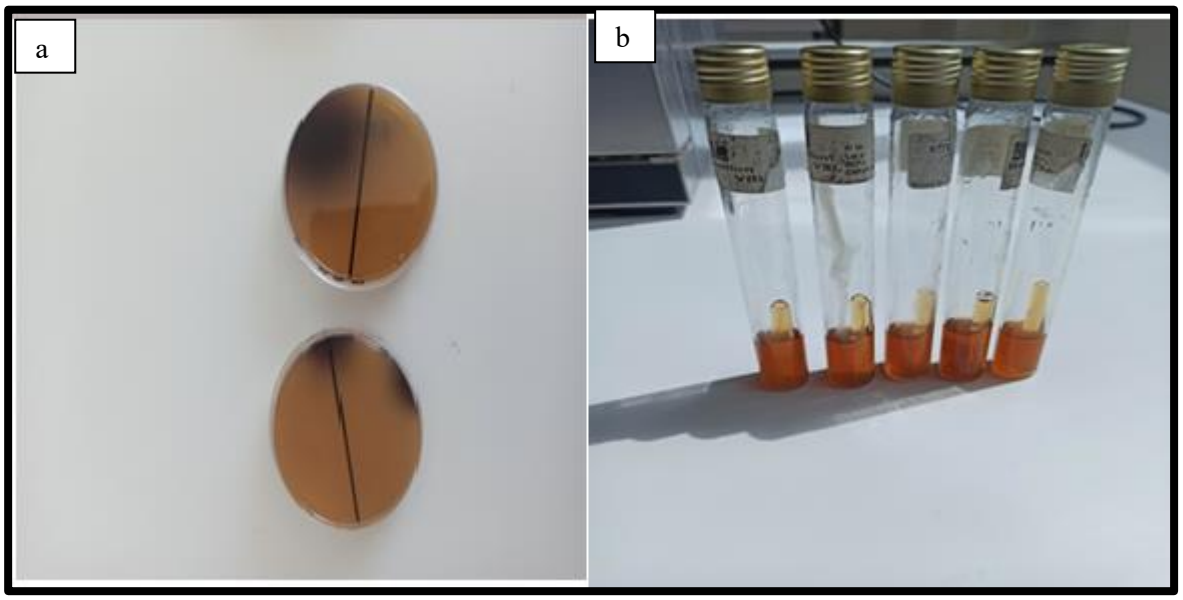

Figure 8. Résultats des tests a) test d'esculine sur milieu BEA b) test de profile fermentaire.

la croissance des isolats sur milieu MRS, l'aspect macroscopique des colonies lenticulaire, crémeuse, blanchâtre à crème**.** L'absence de l'enzyme la catalase, la coloration de Gram (+) **(Badis *et al.*, 2004)**, ces résultats obtenus nos permis de classer ces isolats comme des bactéries lactiques.

Les isolat TF1, TF2, TF3 et TF4 sont des Gram (+), de forme bacille est catalase (-) et possède l'enzyme de l'arginine d'hydrolase (ADH+), selon Carr *et al.* (2002), les bacille à ADH+ appartient au genre *lactobacillus* et plus précisément au *lactobacillus* hétérofermontaire, pour l'identification au niveau de l'espèce d'autres testes distinctifs sont requis pour cette identification, comme le métabolisme des sucres, la croissance a différentes températures, la production de sucre a partir le gluconate ..etc **(Carr *et al.*, 2002)**

Les lactobacilles ont été initialement classés par Orla-Jensen (1919) en homofermentaires et hétérofermentaires, selon la quantité d'acide lactique formée lors de la fermentation du glucose. Orla-Jensen (1919) à également divisé les lactobacilles en trois groupes (thermobactéries, streptobactéries et bêtabactéries) en fonction de la température de croissance et des réactions biochimiques. Bien que ces trois groupes aient été remplacés pour la plupart, les trois noms restent d'usage courant et sont définis selon la température de croissance, la capacité à fermenter les pentoses, la capacité à produire du dioxyde de carbone à partir du glucose ou du gluconate, le besoin en thiamine, la formation d'acide lactique comme produit principal de la fermentation, le type de fermentation homofermentaire ou hétérofermentaire, la réduction du fructose en mannitol et l'hydrolyse de l'arginine **(Axelsson, 2004; Senouci *et al.*, 2018).**

Les bêtabactéries sont hétérofermentaires et se distinguent des autres lactobacilles par la formation de dioxyde de carbone par fermentation du glucose et la plupart hydrolysent l'arginine. Les bêtabactéries et les streptobactéries fermentent le ribose, un pentose ; contrairement aux thermobactéries. Les streptobactéries produisent du dioxyde de carbone à partir du gluconate, mais pas à partir du glucose. Les thermobactéries sont thermophiles et homofermentaires. Les thermobactéries ne produisent pas de dioxyde de carbone à partir du glucose ou du gluconate et ne se développent pas à 15 °C, mais à 45 °C. Elles ne peuvent pas non plus à hydrolyser l'arginine. Les thermobactéries se distinguent des bêtabactéries et des streptobactéries par leur croissance à 45 °C ou plus, leur absence de fermentation du ribose et d'hydrolyse de l'arginine, et leur absence de croissance à 15 °C, température optimale pour les streptobactéries et les bêtabactéries **(Carr *et al.*, 2002; Senouci *et al.*, 2018).**

Les bêtabactéries se développent de manière optimale à 15 °C et hydrolysent généralement l'arginine. Contrairement aux bêtabactéries, les streptobactéries sont homofermentaires et produisent du CO2 à partir du gluconate et non du glucose, et leur croissance est optimale à 15°C (mésophiles). Pour mieux différencier les trois sous-groupes, les thermobactéries et les streptobactéries sont toutes deux homofermentaires, tandis que les bêtabactéries sont hétérofermentaires et hydrolysent souvent l'arginine. Les thermobactéries et les streptobactéries se distinguent principalement par leur thermophilie, tandis que les secondes sont mésophiles. Les bêtabactéries, quant à elles, se distinguent non seulement des deux autres groupes par leur hétérofermentation (production de CO2 à partir du glucose), mais aussi par leur capacité à hydrolyser l'arginine et leur besoin de thiamine pour leur croissance **(Carr *et al.*, 2002; Axelsson, 2004).**

Pour les cocci l'identification au niveau du genre demande d'autres tests distinctifs. **Carr *et al.* (2002)** a noté que les cocci Gram-positifs homofermentaires comprennent trois genres : les streptocoques, les entérocoques et les pédiocoques. Les streptocoques et les pédiocoques sont classés dans leurs genres respectifs en fonction de la morphologie à la coloration de Gram, du type et de la quantité d'acide lactique formé (D, L ou DL), de la croissance dans une solution de NaCl à 6,5 %, de l'hydrolyse de l'arginine et de la température optimale. Le genre *Enterococcus* présente la même morphologie à la coloration de Gram que les *lactococcus* et peut être différencié de ces derniers par sa capacité à se développer à 10 °C et 45 °C. Par définition, les entérocoques sont des cocci à Gram positif, anaérobies facultatifs, qui se développent à 10 °C et 45 °C, dans un bouillon contenant 6,5 % de NaCl, à pH 9,6 et avec une réduction de 0,1 % de bleu de méthylène. Les lactocoques se développent de manière optimale à 10 °C et ne peuvent se développer qu'entre 10 °C et 40 °C. Contrairement aux lactocoques et

aux streptocoques, les entérocoques se développent dans un bouillon contenant 6,5 % de sel et à des températures comprises entre 10 °C et 45 °C **(Carr *et al.*, 2002) .**

Conclusion

Conclusion

A travers cette étude, nous avons tenté d'apporter une contribution à la pré-identification des isolats lactiques du lait de vache cru issu de la région de « said » wilaya de tissemsilt. A l'issue de cette étude, Dans sa première partie, l'analyse physicochimique de lait de vache collecté à révèle une bonne qualité physicochimique avec un pH de 6,7, une acidité Dornic de 17 °D, une teneur en matière grasse de 3,6 g/100 ml et une densité de 1,029, tous conformes aux normes de qualité usuelles.

Dix (10) souches ont été isolées, purifiées et pré-identifiées. Cette pré-identification a été réalisée dans un premier temps par la détermination des caractéristiques morphologiques, physiologiques et biochimiques qui nous a permis de réaliser la répartition des isolats en deux (02) groupes dont : les *Lactobacillus* heterofermentaire, et les coques lactiques qui peuvent comprenne les *Enterocccus*, *streptococcus* et les *Leuconostoc*.

Une étude approfondie peut être réaliser ultérieurement pour les identifiées, caractérisées et Identifier leurs aptitudes technologiques.

.

Références Bibliographiques

Références bibliographies

Auriol, P., & Grosclaude, F. (1960). ÉVOLUTION, AVEC L'AGE, DE LA COMPOSITION DU LAIT DE VACHE. Teneurs en matière grasse, matières azotées et calcium des laits de vaches monthéliardes. Annales de zootechnie,

Axelsson, L. (2004). Lactic acid bacteria: classification and physiology. *Food Science and Technology-New York-Marcel Dekker-*, *139*, 1–66.

Bachtarzi, N., Kharroub, K., & Ruas-Madiedo, P. (2019). Exopolysaccharide-producing lactic acid bacteria isolated from traditional Algerian dairy products and their application for skim-milk fermentations. *Lwt*, *107*, 117–124.

Badis, A., Guetarni, D., Boudjema, B. M., Henni, D., & Kihal, M. (2004). Identification and technological properties of lactic acid bacteria isolated from raw goat milk of four Algerian races. *Food Microbiology*, *21*(5), 579–588.

Bartowsky, E. J. (2017). Oenococcus oeni and the genomic era. *FEMS Microbiology Reviews*, *41*(Supp_1), S84–S94.

Bencherik, A., Bourennane, B., Lattoui, A., & Gaoues, Y. (2013). *Les facteurs de variations du taux butyreux du lait de vache* École Nationale Supérieure Vétérinaire].

Bennani, S., Mchiouer, K., Rokni, Y., & Meziane, M. (2017). Characterization and identification of lactic acid bacteria isolated from Moroccan raw cow's milk. *Greener Journal of Biological Science*, *25*, 4934–4944.

Benyahia-mostefaou, A., & Lamri-Senhadji, M. (2020). Le lait de vache : Composition, efficacité nutritionnelle et effets biologiques et cardio-protecteurs. *Nutr Santé*, *09*(N°01), 1–8. https://doi.org/10.30952/ns.9.1.1

Bouras, Z., & Djareche, l. (2020). *Consommation des produits laitiers et des boissons sucrées. Impact sur la corpulence et l'état de santé des enfants et des adolescents* Universite laarbi tebessi tebessa].

Brunner, J. R. (1981). Cow milk proteins: twenty-five years of progress. *Journal of Dairy Science*, *64*(6), 1038–1054.

Carr, F. J., Chill, D., & Maida, N. (2002). The lactic acid bacteria: a literature survey. *Critical*

reviews in microbiology, *28*(4), 281–370.

Colinet, F., Soyeurt, H., Anceau, C., Vanlierde, A., Keyen, N., Dardenne, P., Gengler, N., & Sindic, M. (2010). Potential estimation of titratable acidity in cow milk using mid-infrared spectrometry. *ICAR Technical Series*, *14*.

Coulon, J. B., Chilliard, Y., & Rémond, B. (1991). Effets du stade physiologique et de la saison sur la composition chimique du lait de vache et ses caractéristiques technologiques (aptitude à la coagulation, lipolyse). *INRAE Productions Animales*, *4*(3), 219–228.

Daoudi, H., & Khelef, C. (2018). *Contribution à l'étude de l'activité antimicrobienne des bactéries lactiques isolées à partir du lait cru* thèse de doctorat. Université Echahid Hamma Lakhdar-El Oued, 104p].

de Man, J. d., Rogosa, d., & Sharpe, M. E. (1960). A medium for the cultivation of lactobacilli. *Journal of applied microbiology*, *23*(1), 130–135.

Debouz, A., Guerguer, L., Oudjana, H., & Hadj Seyd, A. (2014). Etude comparative de la qualité physico-chimique et microbiologique du lait de vache et du lait camelin dans la wilaya de Ghardaïa. 2)7 ,(مجلة الواحات للبحوث و الدراسات, 57–64.

DSA-TISSMESILT. (2020). *statistiques agricoles 2019*.

Evangelista, A. G., Danielski, G. M., Corrêa, J. A. F., Cavalari, C. M. d. A., Souza, I. R., Luciano, F. B., & Macedo, R. E. F. d. (2023). Carnobacterium as a bioprotective and potential probiotic culture to improve food quality, food safety, and human health–a scoping review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *63*(24), 6946–6959.

Fredot, É. (2009). *Connaissance des aliments : bases alimentaires et nutritionnelles de la diététique / Émilie Fredot* (2e édition ed.). Éd. Tec & doc Éd. médicales internationales.

Gaddour, A., Najari, S., Abdennebi, M., Arroum, S., & Assadi, M. (2014). *Local goat milk characterization in Tunisia: Caractérisation physicochimique du lait de chèvre et de vache collectée localement dans les régions arides de la Tunisie.*

Gelebart, P., Riaublanc, A., Famelart, M.-H., Jonchere, C., Beaumal, V., Anton, M., & Garnier, C. (2019). Protein aggregates modulate the texture of emulsified and acidified acid milk gels. *Food Hydrocolloids*, *93*, 176–188.

Gemechu, T., & Amene, T. (2021). Physicochemical properties and microbial quality of raw cow milk produced by smallholders in Bench Maji-Zone, Southwestern Ethiopia. *ESAP P*, *229*.

Guetouache, M., Guessas, B., & Medjekal, S. (2014). Composition and nutritional value of raw milk. ***J Issues Biol Sci Pharm Res*****,** ***2350*****, 1588.**

Gutiérrez-Cortés, C., Suárez, H., Buitrago, G., & Díaz-Moreno, C. (2017). Isolation and evaluation of the antagonist activity of lactic acid bacteria in raw cow milk. ***Agronomía Colombiana*****,** ***35*****(3), 357–364.**

Hansal, N., Benmchernene, Z., & Mebrouk, K. (2024). ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF LEUCONOSTOC MESENTEROIDES ISOLATED FROM RAW GOAT MILK. ***Journal of Applied Biological Sciences*****,** ***18*****(1), 14–32.**

Hemme, D., & Delacroix-Buchet, A. (2002). Fromages et évolution des technologies fromagères. ***Médecine et nutrition*****,** ***38*****(4), 117–130.**

Holzapfel, W. H., Franz, C., Ludwig, W., Back, W., & Dicks, L. M. (2006). The genera pediococcus and tetragenococcus. ***Prokaryotes*****,** ***4*****(1), 229–266.**

Hussein, M. T., Jarallah, E. M., & Hindi, A. K. (2015). Detection of the antibacterial activity of bioactive peptide isolated from fermented buffalo milk in vitro. ***IOSR J. Pharmacy and Biol. Sci*****,** ***10*****(6), 21–24.**

Hutkins, R., & Goh, Y. J. (2014). Streptococcus: Streptococcus thermophilus. In ***Encyclopedia of Food Microbiology: Second Edition*** **(pp. 554–559). Elsevier Inc.**

Iyer, R., Tomar, S., Maheswari, T. U., & Singh, R. (2010). Streptococcus thermophilus strains: Multifunctional lactic acid bacteria. ***International Dairy Journal*****,** ***20*****(3), 133–141.**

Joshi, T. J., Salini, S., Mohan, L., Nandagopal, P., & Arakal, J. J. (2024). Functional metabolites of probiotic lactic acid bacteria in fermented dairy products. ***Food and Humanity*****,** ***3*****, 100341.**

Kahiwa, T. B., Kisambi, F. K., Ruremesha, S. K., & Isaka, J. S. (2022). Essai d'amélioration de la boisson probiotique à base d'arachide par incorporation de la culture Pure Yo-Mix® 495 Lyophilise. ***Annales de l'UNIGOM*****,** ***12*****(2).**

Kayitesi, E., Onojakpor, O., & Moyo, S. M. (2023). Highlighting the impact of lactic-acid-bacteria-derived flavours or aromas on sensory perception of African fermented cereals. ***Fermentation*****,** ***9*****(2), 111.**

Ketrouci, L. (2021). ***Étude physico-chimique et microbiologique du lait de brebis collecté dans différentes régions d'Algérie: détermination de la flore totale et des caractéristiques***

technologiques des bactéries lactiques Université de Mostaganem-Abdelhamid Ibn Badis].

Labioui, H., Elmoualdi, L., Benzakour, A., El Yachioui, M., Berny, E., & Ouhssine, M. (2009). Etude physicochimique et microbiologique de laits crus. *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*, *148*(2009), 7–16.

Lairini, S., Beqqali, N., Bouslamti, R., Belkhou, R., & Zerrouq, F. (2014). Isolement des bactéries lactiques à partir des produits laitiers traditionnels Marocains et formulation d'un lait fermenté proche du Kéfir. *Afrique Science: Revue Internationale des Sciences et Technologie*, *10*(4), 267–277.

Lapointe-Vignola, C. (2002). *Science et technologie du lait: transformation du lait*. Presses inter Polytechnique.

Maijala, K. (2000). Cow milk and human development and well-being. *Livestock Production Science*, *65*(1-2), 1–18.

Makete, G., Aiyegoro, O. A., & Thantsha, M. S. (2017). Isolation, identification and screening of potential probiotic bacteria in milk from South African Saanen goats. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, *9*(3), 246–254.

Markowiak, P., & Śliżewska, K. (2017). Effects of probiotics, prebiotics, and synbiotics on human health. *Nutrients*, *9*(9), 1021.

Mathieu, J. (1998). *Initiation à la physicochimie du lait*.

Nandi, S., & Mandal, S. (2025). Probiotic potentiality, safety profiling and broad-spectrum antibacterial activity of lactic acid bacteria isolated from sour curd (Malda, India). *The Microbe*, *7*, 100297.

Oelschlaeger, T. A. (2010). Mechanisms of probiotic actions–a review. *International journal of medical microbiology*, *300*(1), 57–62.

Orla-Jensen, S. (1919). *The lactic acid bacteria* (Vol. 3). AF Host.

Penaud, S. (2006). *Analyse de la séquence génomique et Etude de l'adaptation à l'acidité de L. delbrueckii ssp. bulgaricus ATCC11842* INAPG (AgroParisTech)].

Porto, M. C. W., Kuniyoshi, T. M., Azevedo, P., Vitolo, M., & Oliveira, R. d. S. (2017). Pediococcus spp.: An important genus of lactic acid bacteria and pediocin producers. *Biotechnology Advances*, *35*(3), 361–374.

Pougheon, S. I. A. (2001). Contribution à l'étude des variations de la composition de lait et leurs conséquences en technologies laitières.

Rulquin, H., Hurtaud, C., Lemosquet, S., & Peyraud, J.-L. (2007). Effet des nutriments énergétiques sur la production et la teneur en matière grasse du lait de vache. *INRAE Productions Animales*, *20*(2), 163–176.

Sadi, F., Bouras, A. D., Ghomari, F., Hallouz, F., & Noui, A. (2017). Phenotypic, molecular and technological characterization of autochthonous lactobacilli strains isolated from cow's milk and goat of Algerian populations. *Journal of Fundamental and Applied Sciences*, *9*(1), 339–353.

Saishu, N., Morimoto, K., Yamasato, H., Ozaki, H., & Murase, T. (2015). Characterization of Aerococcus viridans isolated from milk samples from cows with mastitis and manure samples. *Journal of Veterinary Medical Science*, *77*(9), 1037–1042.

Salminen, S., & Von Wright, A. (2004). *Lactic acid bacteria: microbiological and functional aspects*. CRC press.

Savadogo, A., & Traore, A. S. (2011). La flore microbienne et les propriétés fonctionnelles des yaourts et laits fermentés. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, *5*(5), 2057–2075.

Schmidt, R., Sistrunk, C., Richter, R., & Cornell, J. (1980). Heat treatment and storage effects on texture characteristics of milk and yogurt systems fortified with oilseed proteins. *Journal of Food science*, *45*(3), 471–475.

Senouci, D. E., Yasmine, S., Fatima, G., Amina, Z., Battache, G., & Mebrouk, K. (2018). ANTIFUNGAL AND ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF SOME LACTOBACILLI ISOLATED FROM CAMEL'S MILK BIOTOPE IN THE SOUTH OF ALGERIA. *The Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, *8*(3), 871.

Siong, T. E., & Sum, C. A. S. (2021). Status of probiotic regulations in Southeast Asia countries. *Malaysian Journal of Nutrition*, *27*(3).

Sun, Z., Yu, J., Dan, T., Zhang, W., & Zhang, H. (2014). Phylogenesis and evolution of lactic acid bacteria. *Lactic acid bacteria: fundamentals and practice*, 1–101.

Szajewska, H., Ruszczyński, M., & Radzikowski, A. (2006). Probiotics in the prevention of antibiotic-associated diarrhea in children: a meta-analysis of randomized controlled trials.

Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition, *42*(5), E38–E39.

Tadesse, T., Gure, A., & Kedir, K. (2023). Physicochemical properties and microbial load evaluation of raw cow milks of Jimma Town, Ethiopia. *Bulletin of the Chemical Society of Ethiopia*, *37*(3), 553–563.

Tameur, Y., Taleb, M., & Bouayad, L. D. (2021). *Lait de vache, lait de chamelle. étude comparative des propriétés physico-chimiques et bactériologiques (étude bibliographique)* École Nationale Supérieure Vétérinaire].

Tamime, A. Y., & Robinson, R. K. (2007). *Tamime and Robinson's yoghurt: science and technology*. Elsevier.

Tamminen, M., Joutsjoki, T., Sjöblom, M., Joutsen, M., Palva, A., Ryhänen, E. L., & Joutsjoki, V. (2004). Screening of lactic acid bacteria from fermented vegetables by carbohydrate profiling and PCR–ELISA. *Letters in Applied Microbiology*, *39*(5), 439–444.

Terzaghi, B. E., & Sandine, W. (1975). Improved medium for lactic streptococci and their bacteriophages. *Applied microbiology*, *29*(6), 807–813.

Thomas, T. (1973). Agar medium for differentiation of Streptococcus cremoris from other bacteria.

Troch, T., Lefébure, É., Baeten, V., Colinet, F., Gengler, N., & Sindic, M. (2017). Cow milk coagulation: process description, variation factors and evaluation methodologies. A review. *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*, *21*.

Vos, P., Garrity, G., Jones, D., Krieg, N. R., Ludwig, W., Rainey, F. A., Schleifer, K.-H., & Whitman, W. B. (2011). *Bergey's manual of systematic bacteriology: Volume 3: The Firmicutes* (Vol. 3). Springer Science & Business Media.

Wafula, E. N., Muhonja, C. N., Kuja, J. O., Owaga, E. E., Makonde, H. M., Mathara, J. M., & Kimani, V. W. (2022). Lactic acid bacteria from african fermented cereal-based products: Potential biological control agents for mycotoxins in Kenya. *Journal of Toxicology*, *2022*(1), 2397767.

Yoo, J. Y., Kim, D. S., Kim, T. J., Kang, Y. J., Kim, M. J., & Kim, J. H. (2023). Characteristics of Doenjang (Soybean Paste) Fermented with Multiple Starters Including Tetragenococcus halophilus.

Zarour, K., Zeid, A. F., Mohedano, M. L., Prieto, A., Kihal, M., & López, P. (2024). Leuconostoc

mesenteroides and Liquorilactobacillus mali strains, isolated from Algerian food products, are producers of the postbiotic compounds dextran, oligosaccharides and mannitol. ***World Journal of Microbiology and Biotechnology***, ***40***(4), 114.

Zendeboodi, F., Khorshidian, N., Mortazavian, A. M., & da Cruz, A. G. (2020). Probiotic: conceptualization from a new approach. ***Current Opinion in Food Science***, ***32***, 103–123.

Zergoug, A. (2017). ***Effet des probiotiques et bactériocines vis-à-vis des agents pathogènes responsables des infections urinaires*** **Université de Mostaganem-Abdelhamid Ibn Badis].**

Zhang, S., Xing, X., Chu, Q., Sun, S., & Wang, P. (2022). Impact of co-culture of Lactobacillus plantarum and Oenococcus oeni at different ratios on malolactic fermentation, volatile and sensory characteristics of mulberry wine. ***Lwt***, ***169***, 113995.

Annexes

Milieu MRS (Man, Rogasa et Sharpe) (pH6,5)

Peptone	10g
Extrait de viande	10g
Extrait de levure	5g
Glucose	20g
Tween80	1ml
Phosphate bi potassique	2g
Acétate de sodium	5g
Citrate d'ammonium	2g
Sulfate de magnesium	0,2g
Agar	15g
Eau distillée qsp	1000 ml

Tableau II: Milieu M17(pH7,2) pH7 Autoclavage 120°C/20minutes

Tryptone.	2,5g
Peptone pepsique de viande	2,5g
Peptone papaïnique de soja	5g
Extrait de levure	2,5g
Extrait de viande	5g
Lactose	5g
Glycéro phosphate de sodium	19g
Sulfate de magnésium	0,25g
Acide ascorbique	0,5g
Agar-agar	15g