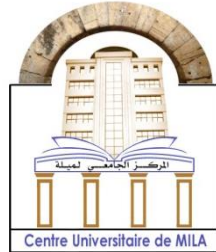


الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de L'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

N° Ref :.....



Centre Universitaire Abdelhafid BOUSSOUF- Mila

Institut des Sciences de la Nature et de la Vie

Département des Sciences Biologiques et Agricoles

**Mémoire préparé en vue de l'obtention du diplôme de
Master**

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Microbiologie Appliquée

Thème:

**Etude dynamique des populations bactériennes
lactiques du lait cru réfrigéré dans la région de Mila**

Présentée par:

- **LEMMOUSSI Chourouk**
- **DERGHAMI Rania**

Devant le jury:

BOUCHEKRIT Moufida

M.C. A

Présidente

BOUSBIA Sabri

M.C.A

Examineur

BOUCHAIR Khadidja

M.C.B

Promotrice

Année Universitaire: 2024/2025





Remerciement

Je tiens tout d'abord à exprimer ma profonde gratitude à Madame **BOUCHAIR Khadidja** mon encadrante et promotrice, pour son accompagnement, sa disponibilité, ses conseils avisés et son soutien constant. Son encadrement rigoureux et bienveillant a été d'une grande importance dans la réalisation de ce travail, que j'ai mené seule avec détermination.

J'adresse mes sincères remerciements à Madame **BOUCHEKRIT Moufida**, présidente du jury, pour l'intérêt qu'elle a porté à ce mémoire et le temps consacré à son évaluation.

Je remercie également Monsieur **BOUSBIA Sabri** examinateur, pour ses observations pertinentes et enrichissantes, qui ont contribué à valoriser ce travail.

Je n'oublie pas de remercier le laboratoire de l'Université de Mila pour l'accueil, le soutien technique et les facilités accordées durant la phase expérimentale de cette étude.





Dédicace

Je dédie ce travail à ceux qui occupent une place précieuse dans mon cœur.

À ma chère mère et à mon père, pour leur amour inconditionnel, leurs sacrifices et leur soutien constant.

À mon frère, à ma sœur et à Sarah, son épouse, pour leur tendresse et leurs encouragements.

À mes cousins et cousines pour leur affection sincère.

À mes oncles maternels, pour leur présence bienveillante.

À Rania, Ilham, Soumaya, Asma, Dhekra, Oumaima, Nesrine et Arij, pour leur amitié précieuse.

À toutes mes amies, qui ont su m'accompagner, me motiver et me faire sourire tout au long de ce parcours.

Ce mémoire est le fruit d'un travail personnel, mais il est aussi nourri de tout l'amour, le soutien et l'énergie positive que vous m'avez transmis. Merci du fond du cœur.

Chourouk





Dédicace

Je dédie ce travail à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce projet.

À ma chère maman, pour son amour inconditionnel, ses prières, son soutien moral et sa présence rassurante à chaque étape de ma vie.

À mon frère bien-aimé, pour sa tendresse, ses encouragements et sa confiance en moi.

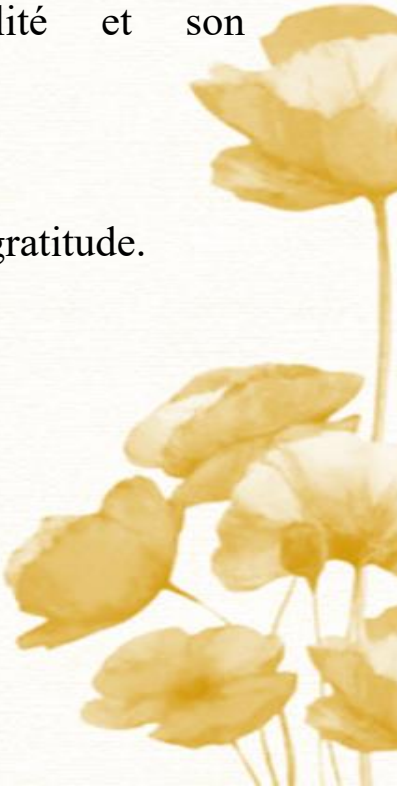
À toute ma famille du côté maternel, pour leur affection sincère et leurs encouragements constants.

À mes précieuses amies Zina, Chourouk et Asma, pour leur amitié fidèle, leurs mots réconfortants et leur soutien dans les moments les plus difficiles.

Et enfin, un grand merci à Amina, la technicienne de laboratoire, pour son aide précieuse, sa disponibilité et son professionnalisme.

À vous tous, je vous exprime ma profonde gratitude.

Rania



Résumé

Afin d'évaluer la dynamique des bactéries lactiques dans le lait cru réfrigéré collecté dans la région de Mila (Algérie). Les échantillons ont été conservés à 4 °C pendant 10 jours, La flore microbienne du lait a été cultivée selon les méthodes de culture dépendante. L'identification des isolats bactériens a été réalisée en utilisant des méthodes phénotypiques basées sur les critères culturels, morphologiques et biochimiques. Les variations du nombre des bactéries lactiques et les paramètres cinétiques de la croissance microbienne ont été analysées durant la réfrigération à l'aide du logiciel origine 06 Le compte microbien initial dans l'échantillon de lait cru prélevé dans le ferme du bassin était de 3,21 log UFC/mL. La croissance maximale a atteint 7,17 log UFC/mL. La vitesse maximale de croissance a été de 0,56 log UFC/mL, et le temps de génération variait entre 1,78 jours dans la ferme du bassin. Les populations Bactérienne ont été identifiées comme *Acinetobacter*, *Pseudomonas*, *streptococcus*, *Lactococcus*, *Enterococcus*, et *Lactobacillus*. Ces résultats confirment que, bien que la réfrigération limite la croissance microbienne, elle favorise la sélection d'une flore adaptée au froid, notamment les bactéries lactiques, qui peuvent influencer la qualité technologique du lait cru.

Mots-clés : Lait cru vache, réfrigération, populations bactéries lactiques, paramètres croissance microbienne, durée de conservation.

Abstract

The microbial flora of milk was cultured using dependent culture methods. The identification of bacterial isolates was carried out using phenotypic methods based on cultural, morphological, and biochemical criteria. The variations in the number of lactic bacteria and the kinetic parameters of microbial growth were analyzed during refrigeration using Origin 06 software. The initial microbial count in the raw milk sample collected from the farm basin was 3.21 log CFU/mL. The maximum growth reached 7.17 log CFU/mL. The maximum growth rate was 0.56 log CFU/mL, and the generation time varied between 1.78 days in the farm basin. The lactic bacteria populations identified were *Acinetobacter*, *Pseudomonas*, *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Enterococcus*, and *Lactobacillus*. These results confirm that although refrigeration limits overall microbial growth, it promotes the selection of cold-adapted flora, notably lactic acid bacteria, which can influence the technological quality of raw milk.

Keywords: Raw cow's milk, refrigeration, microbial growth parameters, lactic bacteria populations, shelf life.

الملخص

من أجل تقييم ديناميكية البكتيريا اللبنية في الحليب الخام المبرد الذي تم جمعه من منطقة ميلة (الجزائر)، تم حفظ العينات عند درجة حرارة 4 °C لمدة 10 أيام. تم استزراع الفلورا الميكروبية للحليب باستخدام طرق الزرع المعتمدة. وقد تم تحديد العزلات البكتيرية باستخدام الطرق الفينوتيبية المعتمدة على الخصائص الزراعية والمورفولوجية والكيميائية الحيوية. تم تحليل التغيرات في عدد البكتيريا اللبنية ومعاملات النمو الميكروبي خلال فترة التبريد باستخدام برنامج Origin 6.0. كانت الحمولة الميكروبية الأولية في عينة الحليب الخام المأخوذة من مزرعة الحوض 3.21 لوغ وحدة تشكيل مستعمرات/مل. وبلغ النمو الأقصى 7.17 لوغ وحدة تشكيل مستعمرات/مل. أما السرعة القصوى للنمو فكانت 0.56 لوغ وحدة تشكيل مستعمرات/مل، وتفاوت وقت التوليد حيث سجل 1.78 يومًا في مزرعة الحوض. وقد تم تحديد الأنواع البكتيرية على أنها *Acinetobacter* و *Pseudomonas* و *Streptococcus* و *Lactococcus* و *Enterococcus* و *Lactobacillus*. تؤكد هذه النتائج أنه، رغم أن التبريد يحد من النمو الميكروبي عمومًا، إلا أنه يشجع على انتقاء فلورا متكيفة مع البرودة، خصوصًا البكتيريا اللبنية، التي يمكن أن تؤثر على الجودة التكنولوجية للحليب الخام.

الكلمات المفتاحية: الحليب الخام من الأبقار، التبريد، معلمات نمو الميكروبات، تجمعات البكتيريا اللبنية، مدة الصلاحية.

La liste des figures

Numéro	Intitulé	Page
Figure 1	<i>Lactobacillus</i> au microscope électronique (Bernardeau et al., 2008)	8
Figure 2	<i>Lactococcus lactis</i> , au microscope électronique (Corrieu et Luquet, 2008)	9
Figure 3	<i>Streptococcus</i> (Lemos, M. 2023)	10
Figure 4	Aspect microscopique des <i>Enterococcus</i> (Acosta-Gnass, S. I. 2005)	11
Figure 5	Courbe de croissance d'une culture bactérienne et ses différentes phases. x représente la densité ou la biomasse de la culture. Les phases sont : (1) phase stationnaire initiale ou de latence, (2) phase d'accélération de la croissance, (3) phase de croissance à vitesse constante, (4) phase de ralentissement de la croissance, (5) phase stationnaire maximale, (6) et (7) phases de décroissance (Augustin, 2005).	24
Figure 6	Les principales phases de la courbe de croissance bactérienne et paramètres qui la caractérisent : lag est le temps de latence, μ_{max} est le taux de croissance maximum, X_0 et X_{max} sont les densités cellulaires initiales et maximales (Delhalle et al., 2012).	25
Figure 7	La région d'Aïn El Hamra	29
Figure 8	Les vaches laitières prélevées dans l'étude (photo personnelle)	30
Figure 9	Suivi de la cinétique de croissance microbienne durant la réfrigération du lait	31
Figure 10	Étapes opératoires de l'évaluation de la flore totale aérobie mésophile	32
Figure 11	Mode opératoire pour l'isolement des bactéries spécifiques	33
Figure 12	Mode opératoire de l'isolement des bactéries lactiques	34
Figure 13	Ajout de colonnes	36
Figure 14	Insertion des données expérimentales	36
Figure 15	Renommage des colonnes	37
Figure 16	Tracé des courbes	37
Figure 17	Personnalisation des axes	38
Figure 18	Modélisation de la courbe de croissance	38
Figure 19	L'utilisation de l'option "tools"	38
Figure 20	Modélisation de la courbe de croissance	39

Figure 21	Variations du pH pendant la conservation à froid du lait cru à 4 °C durant 10 jours, dans une ferme Bassin, avec les principaux genres bactériens isolés	44
Figure 22	Courbes de croissance du nombre des bactéries lactiques obtenues par le logiciel Origin 06 dans le lait réfrigéré pendant 10 jours à 4 °C, provenant de ferme laitière du bassin dans la région de Mila, Algérie	46

Liste des tableaux

Numéro	Intitulé	Page
Tableau 1	Classification de genre <i>Lactobacillus</i> (Garrity et al., 2004)	8
Tableau 2	Classification de genre <i>Lactococcus</i> (Garrity et al., 2004 ; Salvetti et al., 2012)	9
Tableau 3	Classification de genre <i>Streptococcus</i> (Garrity et al., 2004 ; Whiley et Hardie, 2009)	10
Tableau 4	Classification de genre <i>Enterococcus</i> (Euzéby, 2008)	12
Tableau 5	Activité antimicrobienne des souches de bactéries lactiques (LB) contre <i>Listeria monocytogenes</i>	14
Tableau 6	Description macroscopique des colonies bactériennes sur gélose nutritive et MRS	41
Tableau 7	Les caractéristiques microscopiques des bactéries isolées à partir des échantillons positifs	42
Tableau 8	Caractérisation macroscopique et microscopique des isolats bactériens du lait cru réfrigéré	43
Tableau 9	Evolution de la croissance microbienne en log UFC·mL ⁻¹ des bactéries lactiques du lait à 4 °C durant 10 jours	46
Tableau 10	Paramètres de croissance microbienne obtenus par logiciel Origin 06 des données de comptage moyen de bactéries lactiques durant le stockage réfrigéré des échantillons de lait, provenant de ferme laitière du bassin dans la région de Mila, Algérie	47

Liste d'abréviations

BL : Bactéries lactiques

BS : Bactéries spécifiques

CSP : *Cold shock proteins*

E. coli : *Escherichia coli*

GC : Guanine + cytosine

GN : Gélose Nutritive

G : Temps de génération (temps pour un doublement de population)

λ (lambda) : Phase de latence (*lag phase*)

Log UFC·mL⁻¹ : Logarithme des Unités Formant Colonie par millilitre

mL de MRS : Millilitres de milieu MRS reconstitué à partir de poudre

MRS : Man Rogosa et Sharpe

$\mu_{\max}$: Vitesse maximale de croissance (*mu max*)

pH : Potentiel hydrogène

X_{max} : Concentration bactérienne maximale atteinte

Table des matières

Liste des Abréviations.....	I
Liste des Tableaux.....	III
Liste des Figures.....	IV
Introduction.....	1

Partie I : Recherche Bibliographique

Chapitre 1. Bactéries lactiques

1.Bactéries lactiques.....	6
1.1. Définition des bactéries lactiques	6
1.2. Caractères morphologiques.....	6
1.3. Caractérisation biochimique et physiologique.....	6
1.3.1. Test de catalase	6
1.4. Classification des bactéries lactiques.....	7
1.4.1. Le genre <i>Lactobacillus</i>	7
1.4.2. Le genre <i>Lactococcus</i>	8
1.4.3. Le genre <i>Streptococcus</i>	9
1.4.4. Le genre <i>Enterococcus</i>	10
1.5. Activité antimicrobienne des bactéries lactiques	12
1.6. L'effet du froid sur la croissance des bactéries lactiques	14
1.7. Le rôle des bactéries lactiques	16

Chapitre 2. Dynamique et paramètres de croissance microbienne

2. Dynamique de croissance des populations microbiennes.....	19
2.1. Définition.....	19
2.2. Cinétique de croissance des populations microbiennes.....	19
2.2.1. Description de la cinétique de croissance microbienne	19
2.2.2. Paramètres de croissance	24

2.3. Dynamique de la croissance microbienne à froid.....	25
--	----

Partie II: Recherche Expérimentale

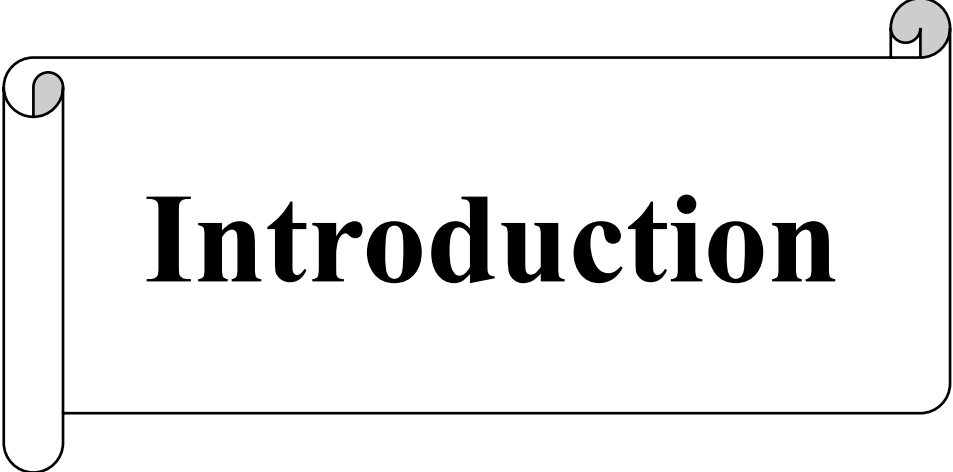
1. Matériel et Méthode

1.1. Echantillonnage du lait cru	29
1.2. Culture bactérienne	30
1.3. Contrôle de l'évolution de la bactéries lactiques du lait cru.....	30
1.4. Préparation des dilutions décimales.....	31
1.5. Ensemencement et incubation	31
1.6. Recherche des bactéries spécifiques	32
1.7. Isolement des bactéries lactiques	33
1.8. Suivi du pH.....	34
1.9. Observation macroscopique et microscopique	35
1.9.1. Coloration de Gram	35
1.10. Test enzymatique	35
1.11. Analyse biomathématique.....	35
1.11.1. Les données de la croissance microbienne	35
1.11.2. Manipulation du logiciel ORIGIN 6	35

2. Résultats et Discussion

2.1. Identification phénotypique des isolats bactériens	41
2.1.1. Aspect culturel et macroscopique	41
2.2. Evolution du pH.....	43
2.3. Dynamique de la croissance microbienne	45
2.4. Traitement biomathématique	46
2.4.1. Niveau de croissance initiale	47
2.4.2. Niveau de croissance maximale.....	48
2.4.3. Phase de latence	49

Conclusion.....	51
Référence	54
Annexe	70



Introduction

Introduction générale

Le lait cru, produit alimentaire fondamental dans de nombreuses régions du monde, est une source précieuse de nutriments essentiels tels que les protéines, les lipides, le lactose, ainsi que divers minéraux et vitamines. Sa composition complexe en fait un milieu idéal pour la prolifération microbienne. Cependant, cette richesse nutritionnelle constitue également un terrain propice au développement rapide de diverses populations bactériennes, pouvant altérer la qualité et la sécurité du lait (Hassan et al., 2020).

Dès la traite, le lait est exposé à une contamination microbienne variée, issue notamment de l'animal (flore mammaire), des équipements, de l'environnement ambiant et des conditions d'hygiène appliquées. La flore bactérienne présente dans le lait cru est hétérogène et comprend des bactéries mésophiles, psychrotrophes, pathogènes potentiels, mais aussi des bactéries bénéfiques telles que les bactéries lactiques (BL) (Dave et Ghaly, 2011).

La conservation du lait cru repose principalement sur la réfrigération, qui vise à ralentir la multiplication bactérienne par le maintien du produit à des températures proches de 4 °C. Cette technique est largement adoptée dans les filières laitières, car elle permet d'augmenter la durée de conservation du lait sans altérer ses qualités organoleptiques et nutritionnelles. Cependant, il est bien établi que la réfrigération ne détruit pas les micro-organismes, mais les inhibe temporairement. Certaines bactéries psychrotrophes, telles que des espèces de *Pseudomonas*, sont capables de croître à basse température, entraînant des modifications biochimiques défavorables, comme la production d'enzymes protéolytiques qui dégradent les protéines du lait, affectant ainsi sa qualité (Puniya et al., 2017).

Par ailleurs, les bactéries lactiques jouent un rôle ambivalent dans la microbiologie du lait cru. Ces microorganismes, qui incluent des genres comme *Lactobacillus*, *Lactococcus*, et *Streptococcus*, fermentent le lactose en acide lactique, contribuant à la coagulation du lait et à la production de nombreux produits laitiers fermentés (yaourt, fromage). Leur activité est souvent bénéfique pour la conservation, car la baisse du pH inhibe la croissance de bactéries indésirables et pathogènes. Toutefois, leur développement dans du lait cru mal conservé peut également être un indicateur de dégradation avancée (Santos et al., 2021).

Ainsi, bien que la réfrigération soit une étape cruciale pour ralentir la prolifération bactérienne, elle ne garantit pas la qualité microbiologique du lait cru sur le long terme, particulièrement si les conditions d'hygiène lors de la traite et du transport sont insuffisantes. Une meilleure compréhension des dynamiques microbiennes, et notamment du comportement des bactéries lactiques sous froid, est donc essentielle pour optimiser la gestion de la chaîne du

lait cru, réduire les risques sanitaires et améliorer la qualité finale du produit (Dave et Ghaly, 2011 ; Hassan et al., 2020).

La courbe de croissance bactérienne est une représentation essentielle de la dynamique des populations microbiennes, concept clé en microbiologie. Elle permet d'analyser et de suivre l'évolution des populations bactériennes, avec des applications dans divers domaines tels que la conservation des aliments, la microbiologie industrielle et l'étude des maladies infectieuses (Tortora et al., 2010). Des recherches ont révélé des changements dynamiques dans la flore psychrotrophique du lait au cours de 24 heures de réfrigération (Lafarge et al., 2004) ainsi que dans du lait provenant de différentes régions géographiques (Franciosi et al., 2011). Vyletřlova et al. (2000) ont étudié la dynamique de la croissance microbienne des mésophiles dans le lait cru de vache en fonction du temps de stockage et des températures. Gargouri et al. (2013) ont confirmé que la dynamique des bactéries psychrotrophes dans le lait cru stocké à 4°C était influencée par le temps de conservation et la contamination initiale. De plus, des relations intéressantes ont été établies entre l'origine géographique du lait, sa diversité génétique et l'activité antimicrobienne, suggérant une corrélation profonde entre la région géographique et certaines caractéristiques génotypiques et métaboliques du microbiote laitier (Silvetti et al., 2014).

Les microorganismes disposent d'un ensemble de mécanismes de défense remarquables pour préserver leur existence ou leurs niches écologiques contre les concurrents et les infections. La production de peptides antimicrobiens constitue une première ligne de défense. Ces peptides ont un effet direct sur les microorganismes, en perturbant par exemple la membrane bactérienne, virale ou fongique, ou en agissant sur d'autres cibles (Djadouni, 2013). De nombreuses études ont démontré l'activité inhibitrice des bactéries lactiques vis-à-vis des bactéries pathogènes (Rodrigues et al., 2005 ; Reis et al., 2012 ; Mercha et al., 2020). Les propriétés antimicrobiennes de ces bactéries peuvent être attribuées à plusieurs facteurs. Elles résultent de l'effet combiné de différents éléments biologiques provenant de leurs activités métaboliques. Ces bactéries synthétisent des molécules aux propriétés bactéricides et/ou bactériostatiques, telles que l'acide, des acides organiques, le diacétyle, le dioxyde de carbone, etc. (Chentouf, 2015 ; Bouzaid et al., 2016).

Dans ce contexte, les objectifs principaux du présent travail sont :

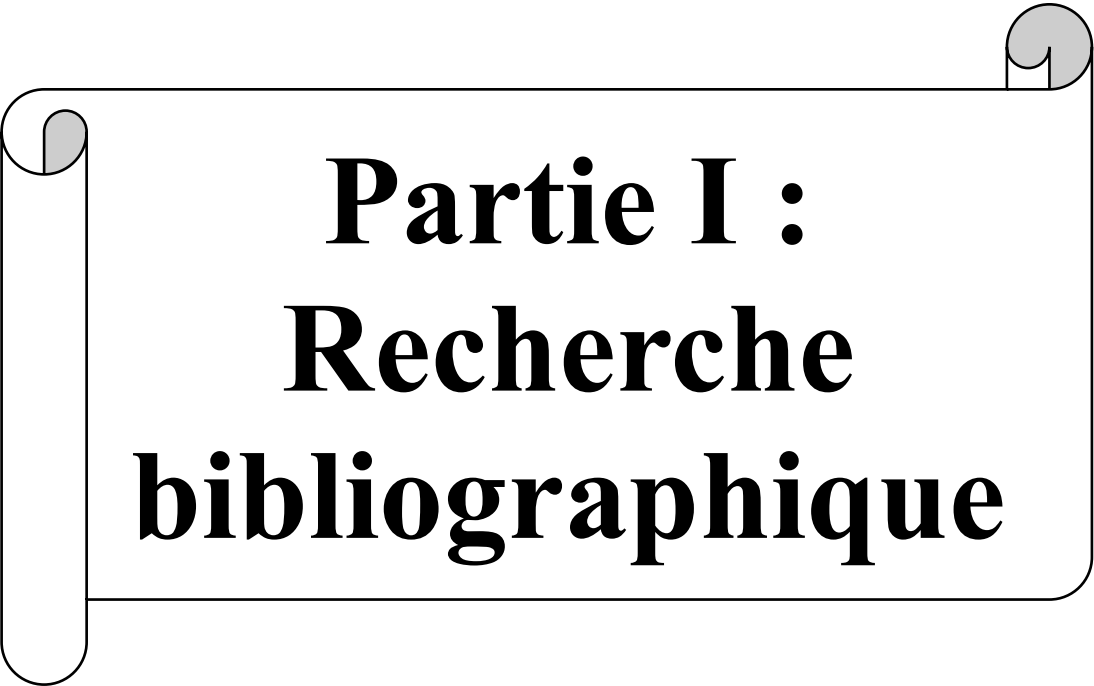
Objectif 1 :

Évaluer la dynamique des bactéries lactiques durant la période de réfrigération du lait dans une ferme laitière située dans la région de Mila, en Algérie. Pour atteindre cet objectif, les étapes suivantes ont été réalisées :

- Prélèvement d'échantillons de lait cru provenant d'une ferme laitière située dans la zone du bassin de la région de Mila.
- Conservation des échantillons à 4 C°, avec un suivi à intervalles réguliers.
- Analyse de l'évolution des bactéries lactiques totales au cours du temps.
- Étude des caractéristiques culturelles et de la morphologie des colonies bactériennes.
- Observation microscopique à l'état frais et après coloration de Gram.
- Élaboration de courbes cinétiques de croissance bactérienne et analyse des principaux paramètres de croissance.
- Application d'un modèle biomathématique afin de décrire et interpréter la dynamique de développement des bactéries lactiques au cours de la réfrigération.

Objectif 2 :

Suivre le pH du lait cru



Partie I : Recherche bibliographique



Chapitre I

1. Bactéries lactiques

1.1. Définition des bactéries lactique

Les bactéries lactiques constituent un groupe de micro-organismes procaryotes, hétérotrophes et chimio-organotrophes. Elles présentent une diversité morphologique, physiologique et métabolique notable. Ce groupe comprend des bactéries à Gram positif, généralement non mobiles, non sporulées, et de forme coccique ou bacillaire. De plus, elles sont dépourvues de catalase, nitrate réductase et oxydase (Drouault et Corthier, 2001 ; Drider et Prévost, 2006). Dépourvues de chaîne respiratoire fonctionnelle, ces bactéries tirent leur énergie par phosphorylation au niveau du substrat. Elles jouent un rôle clé dans de nombreuses fermentations spontanées d'aliments, ce qui leur a valu le statut GRAS (Generally Recognized As Safe). En fonction du type de fermentation prédominant, les bactéries lactiques se divisent en deux catégories : homofermentaires et hétérofermentaires (Axelson, 2004 ; Carine et Philippe, 2009).

1.2. Caractères morphologiques

Les bactéries lactiques (BL) ont été initialement définies par leur capacité à fermenter et coaguler le lait, ce qui incluait à l'époque aussi bien les bactéries coliformes que les bactéries lactiques. En 1901, Beijerinck a mis en évidence que les lactobacilles sont des bactéries à Gram positif, distinction qui a permis de différencier clairement les bactéries lactiques des coliformes (Mechai, 2009). Les BL sont donc caractérisées comme des bactéries à Gram positif, non pigmentées, immobiles et incapables de former des spores (HO et al., 2007). Elles forment un groupe hétérogène constitué de coques et de bacilles ou bâtonnets (Badis et al., 2005 ; Khalisanni, 2011).

1.3. Caractérisation biochimique et physiologique

1.3.1. Test de catalase

Une goutte de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) est déposée sur une lame. À l'aide d'une pipette Pasteur, un échantillon d'une colonie bien isolée, âgée de 24 heures, est prélevé puis appliqué sur la goutte (Reiner, 2010). Si l'enzyme catalase est présente, elle décompose le peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène. La libération d'oxygène se manifeste par l'apparition de bulles, formant une mousse visible. Cette réaction indique la présence de l'enzyme catalase, dont l'activité peut être représentée par l'équation suivante :



1.4. Classification des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques (BL) appartiennent au phylum des Firmicutes, à la classe des *Bacilli* et à l'ordre des *Lactobacillales*. Cet ordre comprend six familles principales : *Streptococcaceae*, *Enterococcaceae*, *Carnobacteriaceae*, *Lactobacillaceae*, *Leuconostocaceae* et *Aerococcaceae*. Au total, il regroupe 38 genres, dont 10 sont étroitement liés aux aliments : *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Tetragenococcus*, *Carnobacterium* et *Weissella* (Vandamme et al., 2014 ; Papadimitriou et al., 2016). À ce jour, plus de 400 espèces de bactéries lactiques ont été répertoriées, avec plus d'une centaine appartenant au genre *Lactobacillus*, qui représente le groupe le plus diversifié (Papadimitriou et al., 2016 ; Mokoena, 2017).

1.4.1. Le genre *Lactobacillus*

Les cellules de cet organisme sont des bâtonnets longs et fins, courts aux *coccobacilles* à Gram positif, groupés en paires ou en chaînes au niveau macroscopiques les colonies des *lactobacilles* sont généralement de petites tailles, lisses, brillantes non pigmentées et souvent opaques, toutes les espèces sont négatives pour la catalase et l'oxydase (Guiraud et al., 2004 ; Denis et al., 2007). Le genre *Lactobacillus* est très diversifié, selon les estimations les plus récentes, il comprend 174 espèces différentes et 27 sous-espèces. Les *lactobacilles* peuvent être trouvés dans des niches riches en glucides, y compris celles associées aux plantes, aux animaux, à l'ensilage et au lait cru (Bernardeau et al., 2008). Selon Lafarge et al. (2004), *L. lactis* était l'espèce la plus fréquemment détectée dans les échantillons de lait cru français. Les espèces appartenant à *Lactobacillus* ont déjà été signalées être hautement protéolytique (Marroki et al., 2011). Ces bactéries peuvent également sécréter certaines molécules antimicrobiennes, comme l'éthanol, d'acide gras, peroxyde d'hydrogène et de bactériocines pour exercer l'activité antimicrobienne (Chen et al., 2019), cet effet peut avoir un potentiel applications via l'utilisation des souches de *Lactobacillus* comme cultures de départ dans les aliments fermentés ou comme conservateurs alimentaires (Chen et al., 2019).

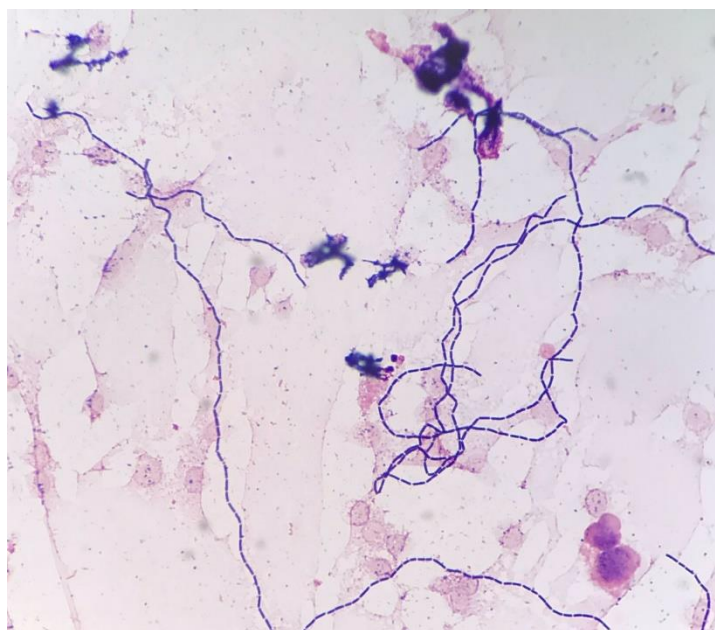


Figure 1. *Lactobacillus* au microscope électronique (Bernardeau et al., 2008)

1.4.1.1. Taxonomie

Le genre *Lactobacillus* appartient au phylum Firmicutes, classe des bacilles, ordre des *Lactobacillales*, famille des *Lactobacillaceae* (Tableau 01) (Garrity et al., 2004).

Tableau 1. Classification de genre *lactobacillus* (Garrity et al., 2004)

Règne	Bacteria
Embranchement	<i>Firmicutes</i>
Classe	<i>Bacilli</i>
Ordre	<i>Lactobacillales</i>
Famille	<i>Lactobacillaceae</i>
Gener	<i>Lactobacillus</i>

1.4.2. Le genre *Lactococcus*

Lactococcus est une bactérie lactique à faible teneur en GC, de forme ovoïde, qui se regroupe en paires ou en chaînettes de longueur variable. C'est une espèce mésophile dont la température optimale de croissance est de 30 °C. Son métabolisme est anaérobie facultatif, mais elle peut également se multiplier en conditions aérobies en présence d'hème. La surface de *Lactococcus* est recouverte d'une couche de polysaccharides, liée de manière covalente au peptidoglycane de la paroi cellulaire. La structure de ces polysaccharides varie selon les souches. Cette bactérie est naturellement présente dans la flore uro-génitale féminine, ainsi que dans divers végétaux tels que les céréales, la pomme de terre, les pois et les haricots. On la

retrouve en grande quantité dans le lait cru de bovins, où elle est largement utilisée comme levain pour les fermentations laitières (Teuber, 2015 ; Yu et al., 2017).

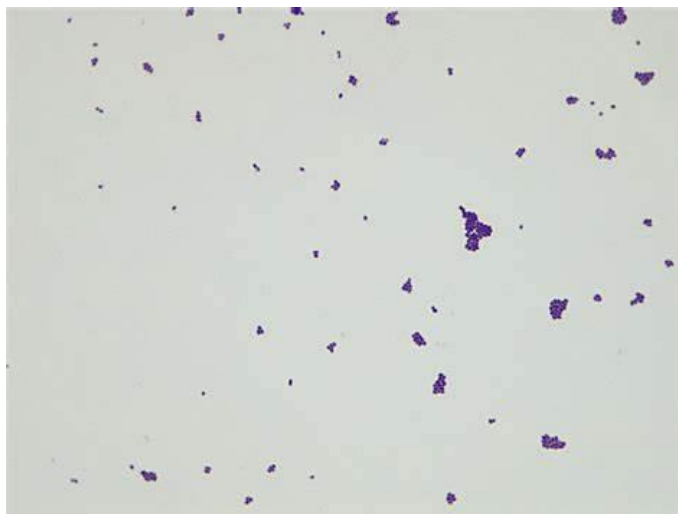


Figure 2. *Lactococcus lactis*, au microscope électronique (Corrieu et Luquet, 2008)

1.4.2.1. Taxonomie

Le genre *Lactococcus* appartient également au phylum *Firmicutes*, classe des *Bacilli*, ordre des *Lactobacillales*, mais à la famille des *Streptococcaceae* (Garrity et al., 2004 ; Salvetti et al., 2012).

Tableau 2. Classification de genre *Lactococcus* (Garrity et al., 2004 ; Salvetti et al., 2012)

Règne	Bacteria
Embranchement	<i>Firmicutes</i>
Classe	<i>Bacilli</i>
Ordre	<i>Lactobacillales</i>
Famille	<i>Streptococcaceae</i>
Genre	<i>Lactococcus</i>

1.4.3. Le genre *Streptococcus*

Le genre *Streptococcus* regroupe des bactéries lactiques de forme coque ou bacilles courts, organisées en longues chaînes. Elles sont à Gram positif, catalase négative, non mobiles et asporogènes, avec un métabolisme homofermentaire. La plupart des espèces sont des pathogènes opportunistes colonisant les muqueuses des humains et des animaux, et se retrouvent fréquemment sur la peau, dans la gorge et les voies respiratoires supérieures (Krzyściak et al., 2013). L'espèce type, *Streptococcus salivarius*, se développe dans une plaque

de températures allant de 10°C à 45°C et tolère un chauffage de 30 minutes à 60°C. Elle peut également croître à un pH de 9,6 ainsi qu'en présence de 6,5 % de NaCl et 0,1 % de bleu de méthylène. Une caractéristique notable de ces bactéries est leur capacité à provoquer une réaction hémolytique sur gélose au sang (Hardie et Whiley, 1997).

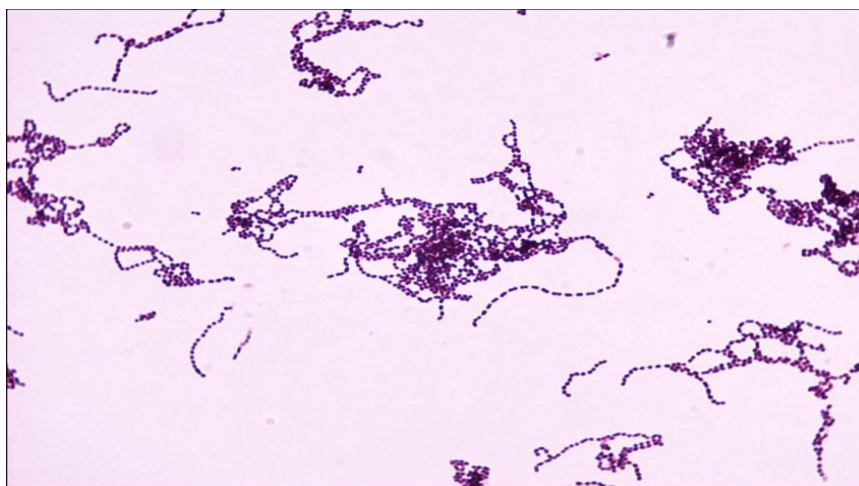


Figure 3. *Streptococcus* (Lemos, M. 2023)

1.4.3.1. Taxonomie

Le genre *Streptococcus* appartient au phylum *Firmicutes*, classe des *Bacilli*, ordre des *Lactobacillales*, famille des *Streptococcaceae* (Garrity et al., 2004 ; Whiley et Hardie, 2009).

Tableau 3. Classification de genre *Streptococcus* (Garrity et al., 2004 ; Whiley et Hardie, 2009).

Règne	Bacteria
Embranchement	<i>Firmicutes</i>
Classe	<i>Bacilli</i>
Ordre	<i>Lactobacillales</i>
Famille	<i>Streptococcaceae</i>
Genre	<i>Streptococcus</i>

1.4.4. Le genre *Enterococcus*

Les bactéries appartenant à *Enterococcus* sont à Gram-positives, catalases négatives, non sporulées et facultativement anaérobies. Elles poussent de manière optimale à 35 °C, mais tolèrent des températures comprises entre 10 et 45 °C (Bouchair, 2021). Ce sont des cocci ovoïdes, isolés en paires ou en chaînes courtes. Les colonies d'entérocoques apparaissent

translucides avec un diamètre inférieur à 1 mm, et certaines souches sont β -hémolytiques sur géloses au sang (Bouchair, 2021). Dans une étude, le taux de résistance de *Enterococcus* était très élevé pour l'ampicilline, la streptomycine, la tétracycline, l'érythromycine et la ciprofloxacine, et modéré pour la pénicilline. Les entérocoques sont présents dans les légumes, matières végétales et denrées alimentaires, en particulier d'origine animale comme les produits laitiers (Bouchair, 2021). En Turquie, *E. faecalis* a été identifié comme le principal *Enterococcus* dans le lait cru. La présence de *E. faecalis* et *E. faecium* dans le lait cru a également été enregistrée. *Enterococcus* est reconnu pour prolonger la durée de conservation et améliorer la sécurité sanitaire des aliments car il produit des substances antimicrobiennes, comme l'acide lactique, les bactériocines (entérocoques) et le peroxyde d'hydrogène. Les bactériocines suscitent une grande attention en étant couramment actives contre de nombreux pathogènes d'origine alimentaire à Gram positif tels que *Clostridium botulinum*, *L. monocytogenes* et *S. aureus* (Bouchair, 2021).

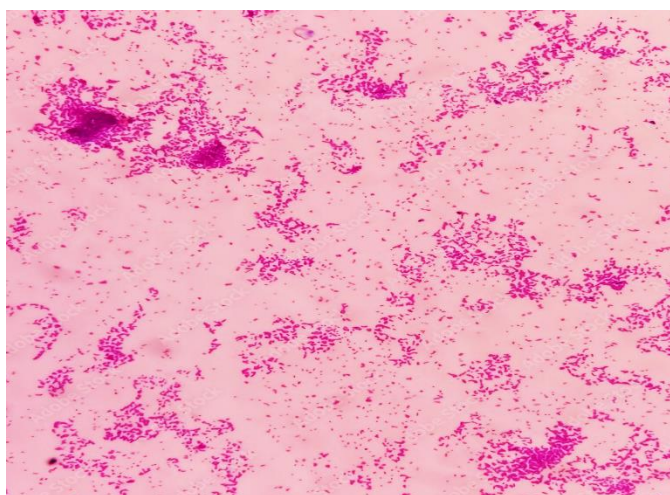


Figure 4. Aspect microscopique des *Enterococcus* (Acosta-Gnass, S. I. 2005)

1.4.4.1. Taxonomie

Genre *Enterococcus* appartient au phylum *Firmicutes*, classe des *bacilles* ordres *Lactobacillales*, famille *Enterococcaceae* (Euzéby, 2008).

Tableau 4. Classification de genre *Enterococcus* (Euzéby, 2008)

Règne	Bacteria
Embranchement	<i>Firmicutes</i>
Classe	<i>Bacilli</i>
Ordre	<i>Lactobacillales</i>
Famille	<i>Enterococcaceae</i>
Genre	<i>Enterococcus</i>
Espèce	<i>Enterococcus faecalis</i>

1.5. Activité antimicrobienne des bactéries lactiques

Dans l'industrie laitière, les agents pathogènes bactériens tels que *Listeria monocytogenes* représentent une menace importante, en raison de leur capacité à survivre dans les produits laitiers crus ou à se développer après une contamination post-pasteurisation. L'efficacité des bactéries lactiques (BL) à inhiber plusieurs pathogènes a été largement démontrée, notamment dans les fromages, les viandes et les légumes (Hammami et al., 2019). Par exemple, l'utilisation d'une souche de *Lactococcus lactis ssp. Lactis* productrice de bactériocines dans du lait fermenté a permis de réduire *L. monocytogenes* à des niveaux indétectables (Benkerroum et al., 2002). Des résultats similaires ont été observés dans différents types de fromages frais, dans lesquels des souches productrices de bactériocines ont permis une réduction significative de *L. monocytogenes* (Galvez et al., 2008 ; Coelho et al., 2014).

Par ailleurs, d'autres espèces telles que *Lactobacillus plantarum*, *Streptococcus spp.*, et *Enterococcus spp.* Se sont révélées efficaces contre *L. monocytogenes* et *Staphylococcus aureus* dans des produits laitiers variés (Galvez et al., 2008 ; Mills et al., 2017 ; Ribeiro et al., 2017). Martinez et De Martinis (2005, 2006) ont montré que *Lactobacillus sakei*, produisant de la bactériocine, pouvait réduire la croissance de *L. monocytogenes* à 8 °C, tandis que la bactériocine de *Leuconostoc mesenteroides* 11 était partiellement efficace à cette température, mais inefficace à 15 °C. Amezcuita et Brashears (2002) ont identifié *Pediococcus acidilactici* comme une souche potentiellement productrice de bactériocine ayant une activité antilistérienne.

Comme l'indique le tableau 5, parmi 19 souches de BL isolées du lait de bufflonne, trois ont montré une activité inhibitrice marquée contre *L. monocytogenes*, notamment la souche TD 7.2 (19 mm d'inhibition) isolée de Tanah Datar. D'autres souches, telles que celles provenant

du Dadih de Solok, ont également démontré un effet antimicrobien, avec des zones claires de 8 à 14 mm. Ces résultats suggèrent que certaines souches indigènes de BL présentent un potentiel probiotique et antimicrobien intéressant contre *L. monocytogenes* (Mojgani et al., 2015 ; Zhang et al., 2016 ; Purwati et al., 2016).

Une étude a montré que l'ajout de *Lactobacillus acidophilus* au lait contaminé par *Escherichia coli* a entraîné une réduction significative du nombre des bactéries pathogènes, atteignant jusqu'à 99 % après 48 heures, grâce à la production d'acides organiques et de bactériocines inhibant la croissance des germes pathogènes (Sengun et Karagöz, 2007). Les microorganismes développent divers mécanismes de défense pour préserver leur survie et leur niche écologique face aux compétiteurs et aux infections. Parmi ces mécanismes, la production de peptides antimicrobiens constitue une ligne de défense essentielle. Ces peptides exercent une action directe sur les microorganismes en perturbant leur membrane cellulaire, qu'elle soit bactérienne, virale ou fongique, ou en ciblant d'autres structures cellulaires (Djadouni, 2013). De nombreuses recherches ont mis en évidence le potentiel inhibiteur des bactéries lactiques contre des bactéries pathogènes (Rodrigues et al., 2005 ; Reis et al., 2012 ; Mercha et al., 2020). Leurs propriétés antimicrobiennes résultent de divers facteurs biologiques liés à leur métabolisme, notamment la production de molécules à effet bactériostatique ou bactéricide, telles que l'acide lactique, certains acides organiques, le diacétyl et le dioxyde de carbone (Chentouf, 2015 ; Bouzaid et al., 2016).

Dans une étude portant sur la conservation du yaourt à 4 °C, complétée par un test accéléré de contamination fongique, l'incorporation de 2 % (v/v) de *Lactobacillus casei* AST18 a permis d'inhiber totalement la croissance de *Penicillium sp.*, utilisé comme champignon indicateur (Lee et al., 2009). Cette souche produit de l'acide lactique ainsi que le cyclo-(Leu-Pro), deux composés reconnus pour leur activité antifongique. L'ajout de *L. casei* AST18 a entraîné une augmentation de la population de *lactobacilles* tout en réduisant celle de *Streptococcus lactis* d'environ 1,0 Log UFC/mL par rapport au témoin (Lee et al., 2009). L'utilisation directe de souches LB antifongiques comme cultures protectrices suscite ainsi un intérêt croissant dans l'industrie agroalimentaire (Gerez et al., 2009).

Par ailleurs, des souches de bactéries lactiques isolées du lait cru de vache, de chèvre et de brebis ont montré une activité antifongique notable contre quatre champignons responsables d'altérations : *Penicillium expansum*, *Mucor plumbeus*, *Kluyveromyces lactis* et *Pichia anomala* (Lavermicocca et al., 2000). Le lait cru de vache et de chèvre semble constituer un

réservoir important de BL présentant des propriétés antifongiques. Les souches les plus actives appartenaient majoritairement au genre *Lactobacillus*. Cette activité antifongique serait en grande partie attribuable à la production d'acides organiques, notamment l'acide acétique, ainsi qu'à l'éthanol, substances auxquelles les champignons testés se révèlent particulièrement sensibles (Magnusson et Schnürer, 2001).

Tableau 5. Activité antimicrobienne des souches des bactéries lactiques (BL) contre *Listeria monocytogenes*.

N°	District	Souche de BL	Zone d'inhibition (mm)
1	50 Kota	P 1.1	17
2		P 1.2	17
3		P 3.1	12
4		P 3.2	14
5	Agam	A 1.2	17
6		A 3.1	12
7		A 3.2	18
8		A 3.3	19
9		A 3.4	15
10	Tanah Datar	TD 2.2	17
11		TD 2.3	12
12		TD 3.1	12
13		TD 3.2	15
14		TD 6.1	13
15		TD 6.3	15
16		TD 7.1	15
17		TD 7.2	15
18	Solok	S1.1	11
19		S1.3	11

Les valeurs représentent la moyenne $\pm$ écart-type, n = 3

1.6. L'effet du froid sur la croissance des bactéries lactiques

L'exposition des bactéries lactiques (BL) à des températures froides influence considérablement leur capacité à croître et à produire de l'acide lactique, ce qui est crucial pour leur rôle dans la conservation, la fermentation et le stockage des produits laitiers (Adamberg, K. et al., 2003). Les BL, qui sont principalement des bactéries mésophiles, ont une température optimale de croissance autour de 30°C, mais certaines souches ont développé des stratégies pour survivre à des températures proches de 0°C (Kato et al., 2000 ; Adamberg, K. et al., 2003).

Par exemple, *Lactobacillus rhamnosus* présente une tolérance modérée au froid, bien qu'une diminution significative de sa croissance soit observée après 24 heures à 4°C. En revanche, *Lactobacillus casei* montre une meilleure capacité à croître à des températures sub-optimales, atteignant de fortes concentrations de lactate même à 10°C. Cette résistance au froid de *L. casei* est attribuée à sa capacité à maintenir la fluidité de ses membranes à basse température, un mécanisme clé pour sa survie dans des environnements froids (Fujisawa et al., 2000).

Un autre exemple est *Leuconostoc mesenteroides*, une bactérie lactique Hétérofermentaire, qui est capable de se développer à des températures aussi basses que 4°C. Cette capacité est particulièrement avantageuse dans la production de choucroute et d'autres aliments fermentés réfrigérés. Des études ont montré que *L. mesenteroides* adapte la composition lipidique de sa membrane pour maintenir son activité enzymatique et sa viabilité à basse température (Yamamoto et al., 1993).

De plus, une étude menée par Matamoros (2008) a caractérisé des souches de bactéries lactiques psychrotrophes isolées de produits de la mer, notamment *Leuconostoc gelidum* et une nouvelle espèce de *Lactococcus*. Ces souches ont démontré une capacité à croître à des températures aussi basses que 5°C, avec une surproduction de protéines de choc froid identifiée par analyse protéomique. Cette adaptation au froid est particulièrement utile pour la biopreservation des aliments réfrigérés, comme les crevettes cuites emballées sous vide et le saumon fumé, en inhibant efficacement des pathogènes tels que *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* et *Vibrio cholerae*.

Les différences dans la tolérance au froid parmi les BL sont liées à des stratégies cellulaires spécifiques, comme la modification de la fluidité de la membrane, la synthèse de protéines de choc froid (CSP), et l'ajustement de la structure de l'ARN messager pour maintenir une traduction efficace à des températures basses (Wouters, J. A et al., 2000). Par exemple, *Lactococcus lactis* n'entre pas en phase de latence lorsqu'il est transféré de 30°C à 20°C, mais présente une latence de 6 heures à 10°C avant une croissance ralentie (Wouters et al., 1999a). De même, *Streptococcus thermophilus* montre une phase de latence de 1 à 2 heures lorsqu'il subit un choc thermique en passant de 42°C à 20°C (Wouters et al., 1999b).

L'adaptation au froid des BL repose sur des mécanismes complexes qui permettent de maintenir la fonctionnalité des bactéries à des températures basses, et ce, en ajustant leur membrane cellulaire, en produisant des protéines de choc froid et en régulant leur transcription. Ces réponses physiologiques sont essentielles pour garantir la qualité et la sécurité des produits

alimentaires conservés à basse température, notamment dans les processus de fermentation et de conservation des produits laitiers. Ces stratégies d'adaptation permettent aux BL de continuer à jouer leur rôle clé dans l'industrie agroalimentaire, même dans des conditions de froid extrême (van de Guchte et al., 2002 ; Adamberg, K. et al., 2003).

1.7. Le rôle des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques (BL) sont des microorganismes d'importance industrielle majeure, largement utilisées dans la production de lait fermenté et de produits dérivés tels que le yaourt, le fromage, le babeurre et le kéfir. Ces espèces appartiennent généralement au groupe des bactéries à Gram positif, regroupant les genres *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* et *Streptococcus*. Elles sont principalement reconnues pour leur capacité fermentaire, ce qui permet d'améliorer la sécurité alimentaire, les qualités organoleptiques, la valeur nutritionnelle et les effets bénéfiques sur la santé (Steele, Jet al., 2013).

En raison de la nature hautement périssable du lait, la fermentation par les BL vise principalement à prolonger sa durée de conservation tout en maintenant ses propriétés nutritives. Elle permet également d'obtenir des produits de qualité, caractérisés par des saveurs et des textures agréables. Ces fermentations peuvent être spontanées ou initiées par des cultures de départ (starters), le lait constituant lui-même un habitat naturel des BL (Panesar, 2011).

Les bactéries lactiques sont généralement classées selon leur température de croissance optimale en deux groupes : les mésophiles (20–30°C), fréquentes en Europe de l'Ouest et du Nord, et les thermophiles (30–45°C), dominantes dans les régions subtropicales. Elles se distinguent aussi selon leur métabolisme fermentaire : les homofermentaires (comme *Lactococcus*, *Streptococcus* et *Pediococcus*) produisent uniquement de l'acide lactique à partir du glucose, tandis que les hétérofermentaire (comme *Leuconostoc* et *Weissella*) génèrent également du dioxyde de carbone et de l'éthanol (Wouters, J. T. M et al., 2002).

Outre leur rôle acidifiant, les BL possèdent un système protéolytique essentiel qui leur permet d'utiliser les protéines du lait, notamment la caséine. Cette activité est cruciale pour leur croissance et participe activement au développement des arômes et des textures typiques des produits laitiers fermentés tels que le yaourt ou le fromage (Ayad, E. H. et al., 2004). En milieu industriel, des souches spécifiques de BL sont sélectionnées pour leur aptitude à produire des produits standardisés, avec des caractéristiques bien définies (Kuipers, O. P et al., 2000).

Ainsi, l'utilisation des bactéries lactiques dans la fermentation du lait est non seulement indispensable pour la conservation et la sécurité du produit, mais elle contribue également à sa

valorisation nutritionnelle et sensorielle (Mäyrä-Mäkinen, A., et Bigret, M. 2004 ; Moulay, M et al., 2013).



Chapitre II

2. Dynamique de croissance des populations microbiennes

2.1. Définition

La croissance bactérienne correspond à l'ensemble des processus métaboliques hautement organisés par lesquels les micro-organismes augmentent en nombre ou en masse. Elle résulte d'une série de réactions chimiques de synthèse (anabolisme) et de dégradation (catabolisme) qui conduisent à la division cellulaire (Pepper, I.L et al., 2015).

Dans des conditions de culture idéales (milieu nutritif riche, température et environnement contrôlés), une cellule bactérienne peut se diviser en aussi peu que 10 minutes. Toutefois, dans les environnements naturels, la croissance est souvent très lente à cause du manque de nutriments, de l'isolement des cellules et de la complexité de l'environnement (Pepper, I.L et al., 2015).

La croissance des bactéries est influencée par divers éléments environnementaux tels que la température, la disponibilité des nutriments, le pH et le taux d'oxygène (Madigan et al., 2018). Ce processus de multiplication est généralement divisé en quatre étapes principales : d'abord, la phase de latence où les bactéries se préparent à se multiplier ; ensuite, la phase logarithmique ou exponentielle durant laquelle leur croissance s'accélère ; puis vient la phase stationnaire, où la population bactérienne reste stable à cause d'un manque de ressources ou de toxines accumulées ; enfin, la phase de déclin, où les bactéries meurent parce que l'environnement devient trop défavorable. Une température adéquate (environ 37°C pour la majorité des bactéries) et un pH compris entre 6,5 et 7,5 favorisent une croissance rapide, alors que tout changement dans ces paramètres peut ralentir ou arrêter leur développement (Prescott, Harley et Klein, 2017). Certaines recherches indiquent qu'à température ambiante, sous de bonnes conditions nutritives comme la présence de glucose, les bactéries peuvent doubler leur taille en aussi peu que quelques heures (Willey, Sherwood et Woolverton, 2017).

2.2. Cinétique de croissance des populations microbiennes

2.2.1. Description de la cinétique de croissance microbienne

Depuis les travaux pionniers de Buchanan en 1918, il est devenu habituel de segmenter la croissance des cultures bactériennes en plusieurs étapes distinctes. Chaque étape est définie par un rythme spécifique de multiplication cellulaire. De manière conventionnelle, on distingue

sept phases successives, chacune correspondant à des variations caractéristiques de la vitesse de croissance de la population bactérienne.

➤ **La phase stationnaire initiale ou phase de latence (λ)**

La phase de latence, également appelée phase stationnaire initiale, est une période critique au cours de laquelle les cellules bactériennes, fraîchement introduites dans un nouvel environnement, ne se divisent pas immédiatement. Durant cette phase, les bactéries s'adaptent aux nouvelles conditions environnementales, synthétisant des enzymes spécifiques et réparant d'éventuels dommages subis pendant leur transfert. Cette phase ne représente pas une absence d'activité, mais plutôt une phase d'intense préparation métabolique (Morita, 1997). Divers facteurs influencent la durée de la latence, notamment l'état physiologique des cellules, la composition du milieu et les conditions environnementales (Shimizu, 2014). Chez certains micro-organismes, cette période est aussi marquée par une grande hétérogénéité phénotypique permettant à certaines sous-populations de mieux survivre à des environnements hostiles (Reyes-Ruiz et al., 2020).

➤ **La phase de croissance à vitesse constante maximale ou phase de croissance exponentielle**

La phase exponentielle est caractérisée par une division cellulaire rapide et régulière, où toutes les cellules de la population croissent à une vitesse maximale constante. Durant cette phase, les conditions environnementales — telles que la disponibilité des nutriments et l'absence de stress — sont optimales pour la croissance bactérienne (Bergkessel, Basta, et Newman, 2016). Les bactéries exploitent pleinement leurs ressources génétiques et métaboliques pour se multiplier, et la croissance suit une progression logarithmique. Cependant, cette phase n'est pas uniquement définie par une multiplication rapide ; elle est aussi marquée par une grande sensibilité aux perturbations environnementales, car les bactéries sont entièrement dépendantes de l'abondance des nutriments (Shimizu, 2014). De plus, certains systèmes de régulation, comme le système SOS de réparation de l'ADN, peuvent être activés en cas de stress inattendu pour maintenir la viabilité de la population (Maslowska, Makiela-Dzubska, et Fijalkowska, 2019).

➤ La phase de diminution de la vitesse de croissance (décélération)

À mesure que les nutriments s'épuisent et que les déchets s'accumulent, la vitesse de croissance des bactéries commence à diminuer. C'est la phase de décélération, marquant la transition entre la croissance exponentielle et la phase stationnaire. Les cellules ralentissent leur activité métabolique et commencent à activer des mécanismes de survie sophistiqués pour faire face à des conditions défavorables (Navarro-Llorens, Tormo, et Martínez-García, 2010). Certains mutants, développant une meilleure capacité d'adaptation, peuvent prendre l'ascendant dans la population, phénomène connu sous le nom de GASP ("Growth Advantage in Stationary Phase") (Zambrano et al., 1993 ; Bacun-Druzina, Cagalj, & Gjuracic, 2007). La capacité à survivre dans cette phase dépend fortement des stratégies de conservation énergétique et de gestion du stress, des aspects essentiels de la dynamique microbienne dans les environnements naturels ou industriels (Joergensen et Wichern, 2018).

➤ La phase stationnaire

La phase stationnaire dans une culture en batch est caractérisée par une absence de croissance nette, ce qui peut être exprimé par l'équation suivante :

$$\frac{dX}{dt} = 0$$

À ce stade, bien que la population totale semble stable, les cellules continuent à croître et à se diviser, mais dans la même proportion que celles qui meurent. Plusieurs raisons expliquent l'entrée en phase stationnaire (Madigan et al., 2018).

L'une des principales causes est l'épuisement des nutriments essentiels, notamment des sources de carbone ou d'énergie. Cependant, la disparition du substrat ne signifie pas l'arrêt total de la croissance : les cellules mortes se lisent, libérant des nutriments réutilisables, processus connu sous le nom de métabolisme endogène (Pelczar et al., 2001). Ce métabolisme, qui est présent tout au long du cycle de croissance, devient particulièrement notable en phase stationnaire, lorsque la croissance est évaluée par la consommation d'oxygène ou la production de dioxyde de carbone (Shuler et Kargi, 2017).

Ainsi, sur certaines courbes de croissance, une légère augmentation peut être observée pendant la phase stationnaire, résultant de l'utilisation des composants libérés par les cellules

mortes. Une autre cause fréquente de l'entrée en phase stationnaire est l'accumulation de produits toxiques issus du métabolisme cellulaire. À forte densité, ces substances peuvent inhiber la croissance ou être directement toxiques pour les cellules (Prescott et al., 2022).

En phase stationnaire, la croissance est dite déséquilibrée, car la synthèse de certains constituants cellulaires devient plus difficile que celle d'autres. Sous contrainte nutritionnelle, les cellules poursuivent leur division de manière limitée, ce qui se traduit par une morphologie modifiée : les cellules deviennent généralement plus petites et plus arrondies comparées à celles de la phase exponentielle (Atlas, 2010).

Finalement, étant donné que le recyclage des constituants cellulaires n'est pas entièrement efficace, la mortalité dépasse progressivement la croissance, conduisant à l'entrée en phase de déclin (Madigan et al., 2018).

➤ La phase de début de décroissance

Après la phase stationnaire, les bactéries entrent dans une période critique appelée début de décroissance, marquée par l'épuisement progressif des nutriments et l'accumulation des déchets métaboliques. Cette situation entraîne la mort de nombreuses cellules, tandis que d'autres survivent en utilisant les ressources libérées par la lyse cellulaire (Zambrano et al., 1993 ; Zambrano et Kolter, 1996). Durant cette phase, une forte hétérogénéité physiologique apparaît, chaque cellule réagissant différemment selon son état métabolique et génétique (Jöers et Tenson, 2016 ; Reyes-Ruiz, Williams, et Tamayo, 2020).

Pour faire face à ces conditions défavorables, les bactéries activent des réponses moléculaires complexes, notamment l'induction du système SOS en cas de dommages à l'ADN (Maslowska, Makiela-Dzubska, et Fijalkowska, 2019) et la régulation par le facteur sigma alternatif RpoS, essentiel pour l'adaptation aux stress nutritionnels et environnementaux (Shimizu, 2014). C'est également durant cette phase qu'émergent les mutants dits GASP (Growth Advantage in Stationary Phase), capables de surpasser la population initiale grâce à des mutations favorables, notamment dans le gène *rpoS* (Zambrano et al., 1993 ; Zambrano et Kolter, 1996 ; Bacun-Druzina, Cagalj, et Gjuracic, 2007).

Ces mutants présentent une capacité accrue à exploiter les nutriments issus des cellules mortes et à dominer la culture bactérienne sur de longues périodes. Ce phénomène démontre la

plasticité adaptative impressionnante des bactéries, renforçant leur résilience même dans des environnements extrêmement hostiles (Joergensen et Wichern, 2018).

➤ La phase de décroissance

Lorsque les ressources deviennent complètement épuisées et que les mécanismes d'adaptation ne suffisent plus, la culture bactérienne entre dans une phase de déclin définitif. À ce moment-là, la mortalité des cellules dépasse leur capacité à se renouveler, ce qui entraîne une chute importante du nombre de bactéries vivantes (Jaishankar et Srivastava, 2017).

Néanmoins, cette étape ne signifie pas un effondrement total : elle est aussi marquée par l'apparition de stratégies de survie très élaborées. Certaines bactéries entrent dans un mode de vie minimaliste, réduisant leur métabolisme au strict minimum pour limiter leur consommation d'énergie (Morita, 1997 ; Kempes et al., 2017). D'autres, comme les bactéries Gram-positives du genre *Bacillus*, créent des spores hautement résistantes, capables de supporter des conditions extrêmes pendant plusieurs décennies (Cho et Chung, 2020 ; Zhang et al., 2021).

Par ailleurs, certaines bactéries Gram-négatives, qui ne peuvent pas former de spores, peuvent entrer dans un état appelé VBNC (Viable But Non-Culturable). Dans cet état, elles restent vivantes mais ne peuvent pas être détectées par les méthodes de culture conventionnelles. Ce mode de survie leur permet de rester présentes jusqu'à ce que les conditions deviennent favorables à leur croissance. (Maalej et al., 2004 ; Zhang et al., 2021)

Au niveau moléculaire, les réponses adaptatives sont régulées par des systèmes complexes impliquant des changements profonds dans l'expression génétique et la signalisation cellulaire (Navarro-Llorens, Tormo, et Martínez-García, 2010 ; Bergkessel, Basta, et Newman, 2016 ; Jaishankar et Srivastava, 2017).

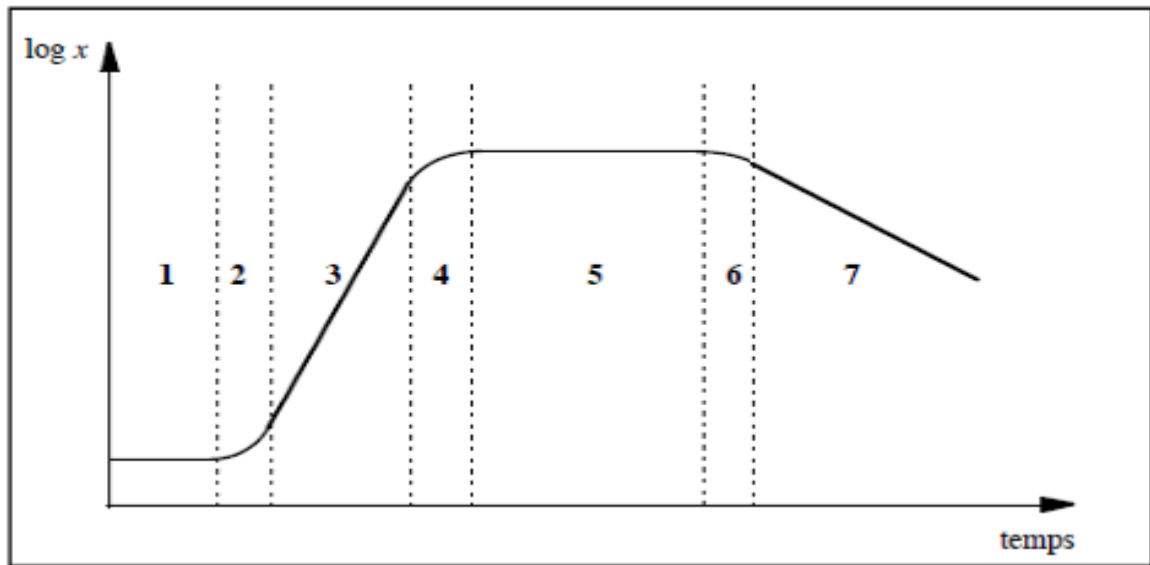


Figure 5. Courbe de croissance d'une culture bactérienne et ses différentes phases. x représente la densité ou la biomasse de la culture. Les phases sont : (1) phase stationnaire initiale ou de latence, (2) phase d'accélération de la croissance, (3) phase de croissance à vitesse constante, (4) phase de ralentissement de la croissance, (5) phase stationnaire maximale, (6) et (7) phases de décroissance (Augustin, 2005).

2.2.2. Paramètres de croissance

La croissance microbienne se caractérise par une succession de phases : une phase de latence, suivie d'une phase exponentielle, puis d'une phase stationnaire (Baranyi et Pin, 1999). Pour décrire ces différentes phases, les microbiologistes utilisent généralement plusieurs paramètres : la densité cellulaire initiale (X_0), le temps de latence (λ), la vitesse maximale de croissance ($\mu_{\max}$), le temps de génération (G), ainsi que la densité cellulaire maximale atteinte ($X_{\max}$) (Augustin et Carlier, 2000).

- Le temps de génération (G) correspond à l'intervalle de temps entre deux divisions cellulaires successives. Il est exprimé par la formule : $G = t/n$ (Guezlane-Tebibel et al., 2010).
- Le taux de croissance (μ), ou vitesse spécifique de croissance, représente la vitesse de multiplication (dX/dt) rapportée à la biomasse présente (X), et s'exprime en h^{-1} (Baranyi et Pin, 1999 ; Guiraud, 2004).

Une relation simple existe entre le taux de croissance et le temps de génération (Augustin et al., 1999) :

- Le temps de latence (λ) est défini conventionnellement comme le point d'intersection entre la droite représentant la phase exponentielle et la ligne horizontale passant par la concentration initiale X_0 (Baranyi et Pin, 1999).
- La vitesse maximale de croissance ($\mu_{\max}$) correspond à la pente de la courbe de croissance durant la phase exponentielle, lorsqu'elle est représentée en coordonnées semi-logarithmiques (Baranyi et Pin, 1999).

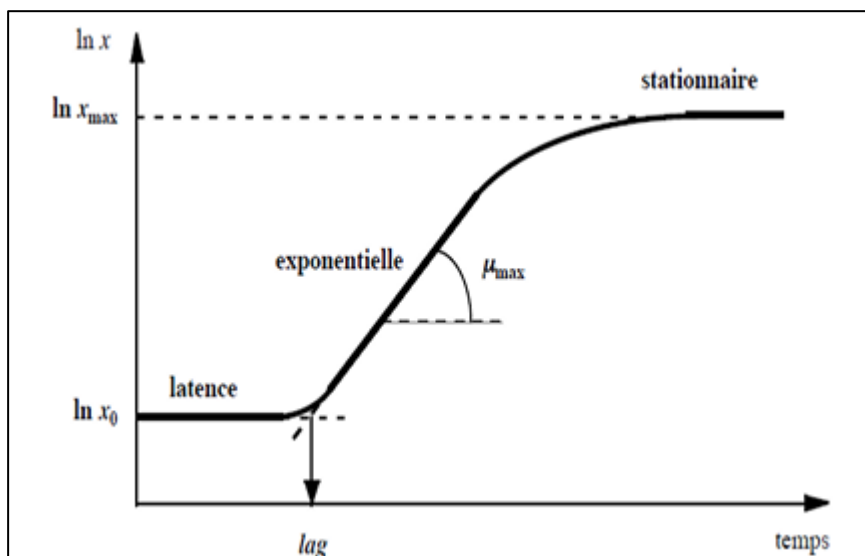


Figure 6: Les principales phases de la courbe de croissance bactérienne et paramètres qui la caractérise : lag est le temps de latence, $\mu_{\max}$ est le taux de croissance maximum, X_0 et $X_{\max}$ sont les densités cellulaires initiales et maximales (Delhalle et al., 2012).

2.3. Dynamique de la croissance microbienne à froid

La température est l'un des facteurs les plus influents sur la croissance microbienne. À basse température, la majorité des microorganismes voient leur activité métabolique fortement ralentie. Cependant, certaines espèces, qualifiées de psychrophiles ou psychrotrophes, possèdent des capacités d'adaptation leur permettant de survivre et de se multiplier dans des environnements froids. Cette dynamique est particulièrement pertinente dans le contexte de la conservation alimentaire, où le froid est censé limiter la prolifération microbienne, mais où certaines bactéries persistent malgré tout (Zhou et Wang, 2021).

Les microorganismes psychrophiles sont capables de croître à des températures proches de 0°C , avec une température optimale située autour de 15°C . On les retrouve dans les environnements naturels froids comme les eaux profondes ou les régions polaires. En revanche, les psychrotrophes peuvent croître à $0-4^{\circ}\text{C}$, mais leur optimum de croissance se situe entre 20 et 30°C . Ces derniers sont les plus problématiques dans le secteur alimentaire, car ils sont

capables de se développer dans les aliments réfrigérés, causant leur dégradation ou des risques sanitaires (Ray et Bhunia, 2013).

Les bactéries qui croissent à basse température présentent plusieurs adaptations physiologiques. Elles modifient la composition de leurs membranes cellulaires en incorporant davantage d'acides gras insaturés, ce qui permet de maintenir la fluidité membranaire nécessaire au transport des nutriments (Russell, 2002). De plus, elles produisent des protéines de choc froid (cold shock proteins) qui facilitent la transcription et la traduction à des températures suboptimales. Certaines enzymes spécifiques, dites enzymes froid-actives, possèdent une structure plus flexible, leur conférant une activité catalytique à basse température (D'Amico et al., 2006).

La dynamique de croissance microbienne à froid suit les mêmes étapes que celle à température optimale : phase de latence, phase exponentielle, phase stationnaire, et phase de déclin. Toutefois, le temps de latence est allongé du fait de l'adaptation nécessaire. La phase exponentielle est plus lente en raison de la réduction du métabolisme et du ralentissement de la division cellulaire. La phase stationnaire peut également durer plus longtemps, car la consommation des ressources est ralentie (Madigan et al., 2018).

En agroalimentaire, la croissance de bactéries psychrotrophes comme *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas spp.* ou *Brochothrix thermosphacta* à 4 °C constitue une menace pour la sécurité sanitaire des aliments réfrigérés. Ces microorganismes sont capables de se développer durant le stockage, entraînant une dégradation de la qualité organoleptique ou, pire, des risques de toxi-infections alimentaires (Zhou et Wang, 2021). Il est donc crucial de compléter la réfrigération par d'autres méthodes de conservation comme le conditionnement sous vide, l'ajout d'additifs antimicrobiens ou l'utilisation d'emballages actifs.

Dans les environnements naturels froids, les bactéries psychrophiles participent à la dégradation de la matière organique et au recyclage des nutriments. Leur étude présente aussi un intérêt biotechnologique, notamment dans la production d'enzymes froid-actives pour des applications industrielles (détergents, bioremédiation, bioconversion à basse température) (Gerday et Glansdorff, 2007).



Partie II : Recherche Expérimental



Matériel et Méthodes

1. Matériel et Méthode

1.1. Echantillonnage du lait cru

La zone concernée par le prélèvement est située dans la région d'Aïn El Hamra, relevant de la commune de Ferdjioua, wilaya de Mila (Figure 07).

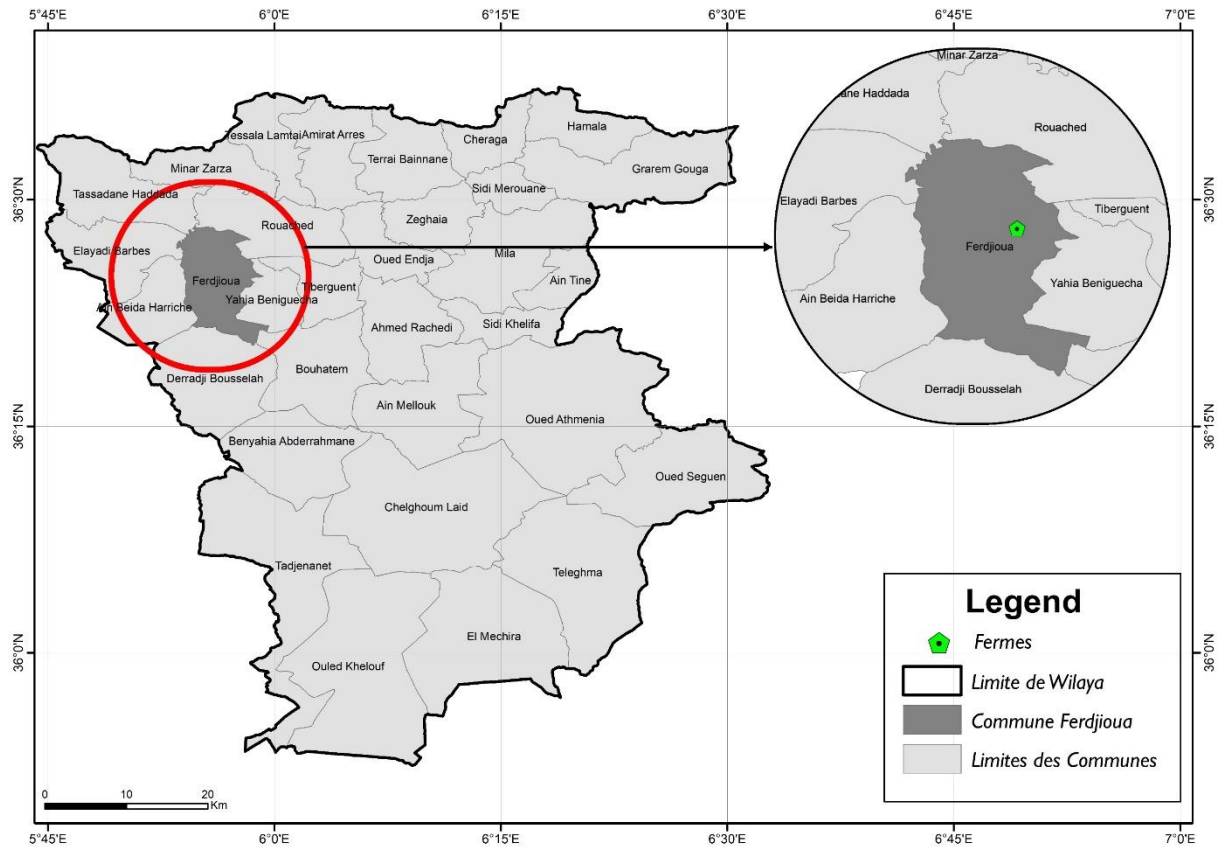


Figure 7: la région d'Aïn El Hamra

Les échantillons de lait ont été prélevés sur une seule vache en bonne santé de race importée (Figure 8). Elle a environ quatre ans et sa nourriture est représentée par, l'ensilage, d'orge, d'avoine et de foin

A chaque prélèvement, les extrémités des trayons ont été nettoyées par essuyage à l'aide de serviettes en papier sec et stérile ; les premiers jets sont éliminés et 25 mL de lait cru sont collectés directement des quatre pis de chaque vache et transférés dans des flacons stériles. Les échantillons sont transportés au laboratoire à 4 °C dans une glacière.



Figure 8. Les vaches laitières prélevées dans l'étude (photo personnel)

1.2. Culture bactérienne

Les milieux de culture employés dans les analyses microbiologiques sont :

➤ **Gélose nutritive** pour l'évaluation de la flore totale aérobie mésophile. Peser 23 g de la poudre de gélose, dissoudre cette masse dans un volume de 1000 mL d'eau distillée avec agitation sur plaque chauffante agitée. Répartir le milieu dans des flacons en verre et placer directement à l'autoclave pour la stérilisation à une température de 121 °C pendant 10 min.

➤ **Gélose MRS** (Man Rogosa et Sharpe) pour l'isolement des bactéries lactiques : Pour préparer ce milieu mélanger 55,4g de MRS en poudre avec 15 g d'agar agar dans 1000 mL d'eau distillée. Répartir le milieu dans des flacons en verre et placer directement à l'autoclave pour la stérilisation.

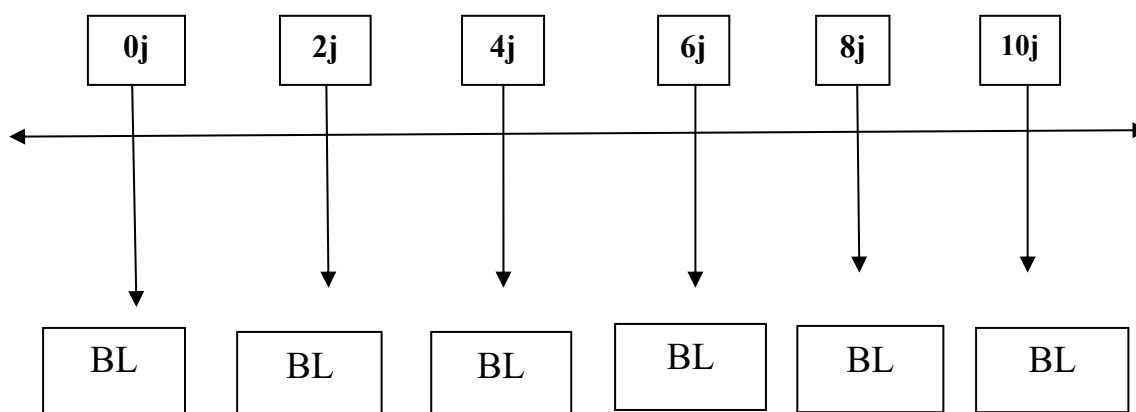
➤ **Gélose nutritive au sang cuit additionnée de céfazoline.** La céfazoline est un antibiotique appartenant à la famille des céphalosporines de première génération, pour lequel *Listeria*, *Staphylococcus* et d'autres bactéries sont résistantes. Le sang est additionné lorsque le milieu gélosé est en surfusion. Les flacons sont ensuite portés au bain-marie à 75-80 °C pendant 10 minutes. La gélose nutritive est additionnée de 5 % de sang frais de cheval et d'un volume de l'antibiotique en solution. L'addition de l'antibiotique de cheval se fait au voisinage de 45-50 °C.

1.3. Contrôle de l'évolution de la bactéries lactiques du lait cru

Grâce à sa richesse nutritionnelle, le lait cru constitue un environnement idéal pour la prolifération de divers micro-organismes. Il peut être facilement contaminé, notamment par des bactéries d'altération, lors de la manipulation, du stockage, du transport et de la transformation (Yuan, L et al., 2017). Dans l'industrie laitière, le stockage du lait cru au réfrigérateur à moins

de 10 °C avant transformation, pendant 2 à 5 jours, est une pratique courante afin de ralentir la croissance des bactéries mésophiles et thermophiles pathogènes

Les cinétiques de croissance microbiennes des bactéries lactiques ont été suivies à des Intervalles de temps réguliers : 0, 2, 4, 6, 8, 10 jours.



J : jour

BL : Bactéries lactiques

Figure 9. Suivi de la cinétique de croissance microbienne durant la réfrigération du lait.

1.4. Préparation des dilutions décimales

- Selon Guiraud et Rosec (2004) et Dellarras (2007), des dilutions stériles jusqu'à 10^{-5} sont préparées.
- 1 mL d'échantillon est transféré dans 9 mL d'eau physiologique pour obtenir 10^{-1} , puis cette procédure est répétée jusqu'à 10^{-5} .

1.5. Ensemencement et incubation

- Trois boîtes de Pétri ont été préparées pour chaque dilution.
- 1 mL de dilution est versé au centre de chaque boîte.
- Ajout de gélose fondue à 45 °C, homogénéisation en 8.
- Solidification à température ambiante (15 min).
- Incubation à 37 °C pendant 48 h, boîtes retournées.
- Seules les boîtes présentant des colonies entre 30 et 300 ont été prises en compte pour le dénombrement (Figure 08) (Guiraud et Rosec, 2004).

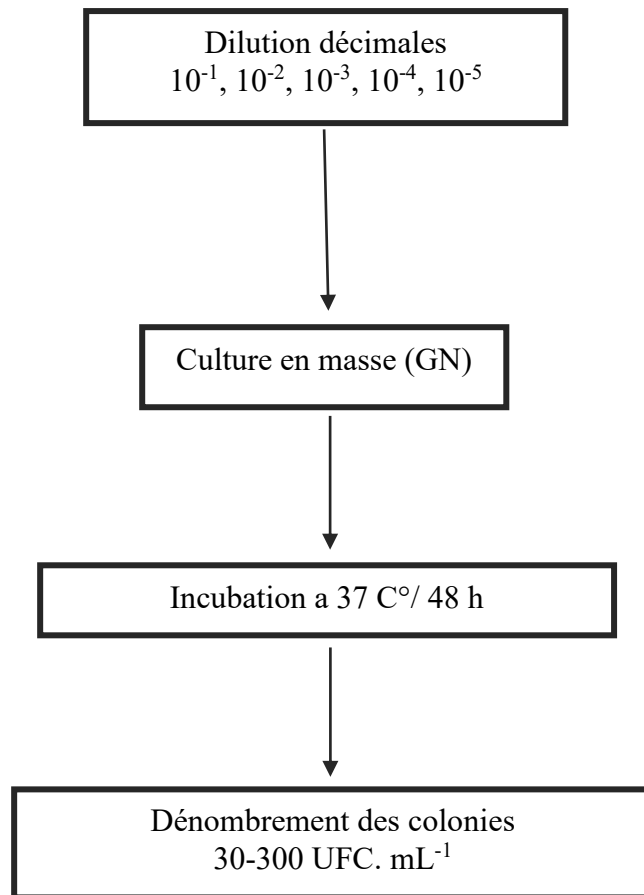


Figure 10. Etapes opératoires de l'évaluation de la flore totale aérobie mésophile.

1.6. Recherche des bactéries spécifiques

Des volumes de 0,1 ml des dilutions 10⁻¹ ont été étalés en surface sur la gélose au sang cuit additionnée de Céfazoline. L'organigramme suivant (Figure 11) représente le mode opératoire adopté.

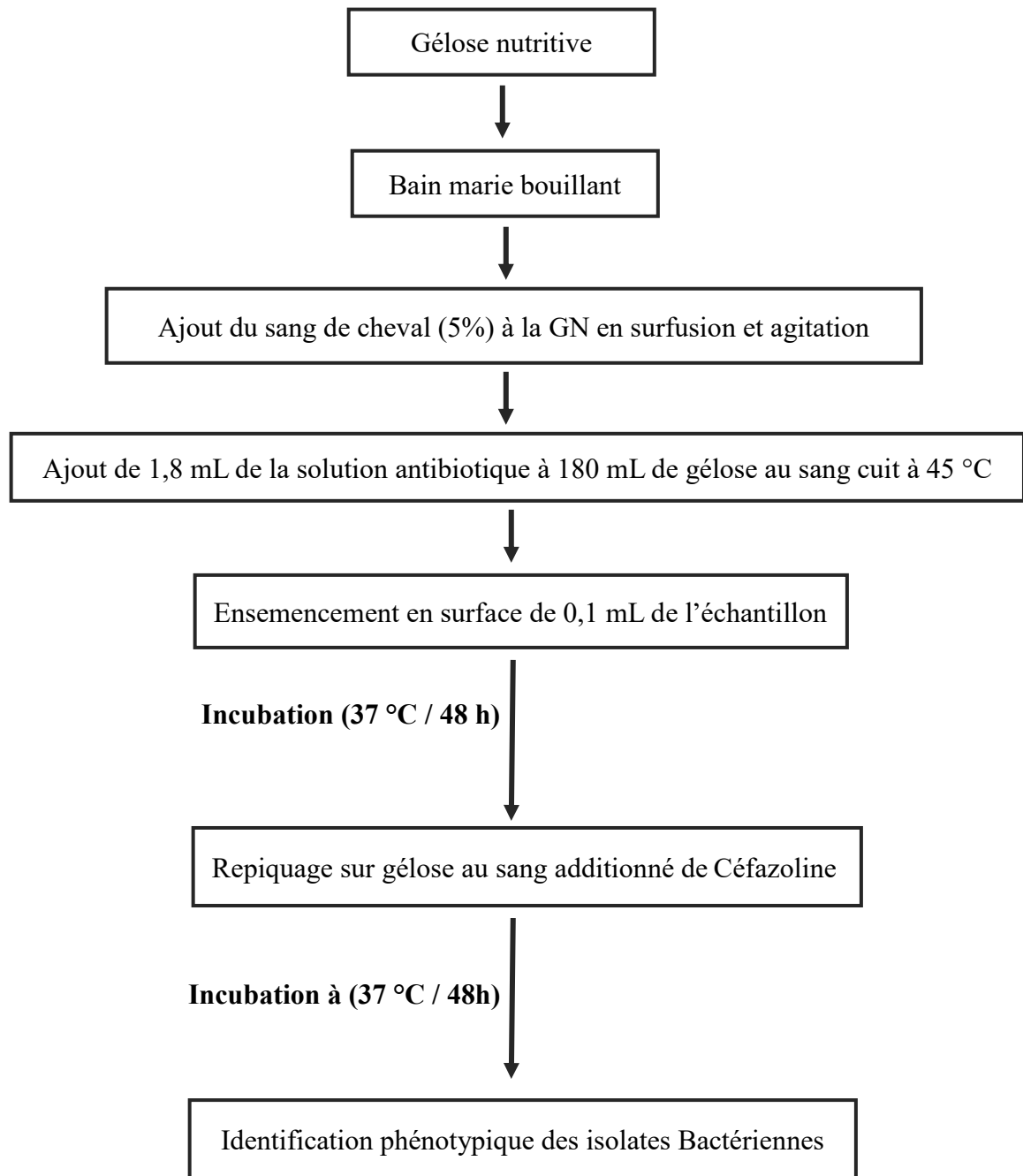


Figure 11. Mode opératoire pour l'isolement des bactéries spécifiques.

1.7. Isolement des bactéries lactiques

À partir de la dilution 10^{-1} , un étalement de 1 mL sur gélose MRS a été effectué. Les cultures ont été incubées à 37 °C pendant 48 h (Badis et al., 2004). Les souches ont été purifiées par repiquages successifs sur le même milieu jusqu'à obtention de colonies pures (Idoui et al., 2009).

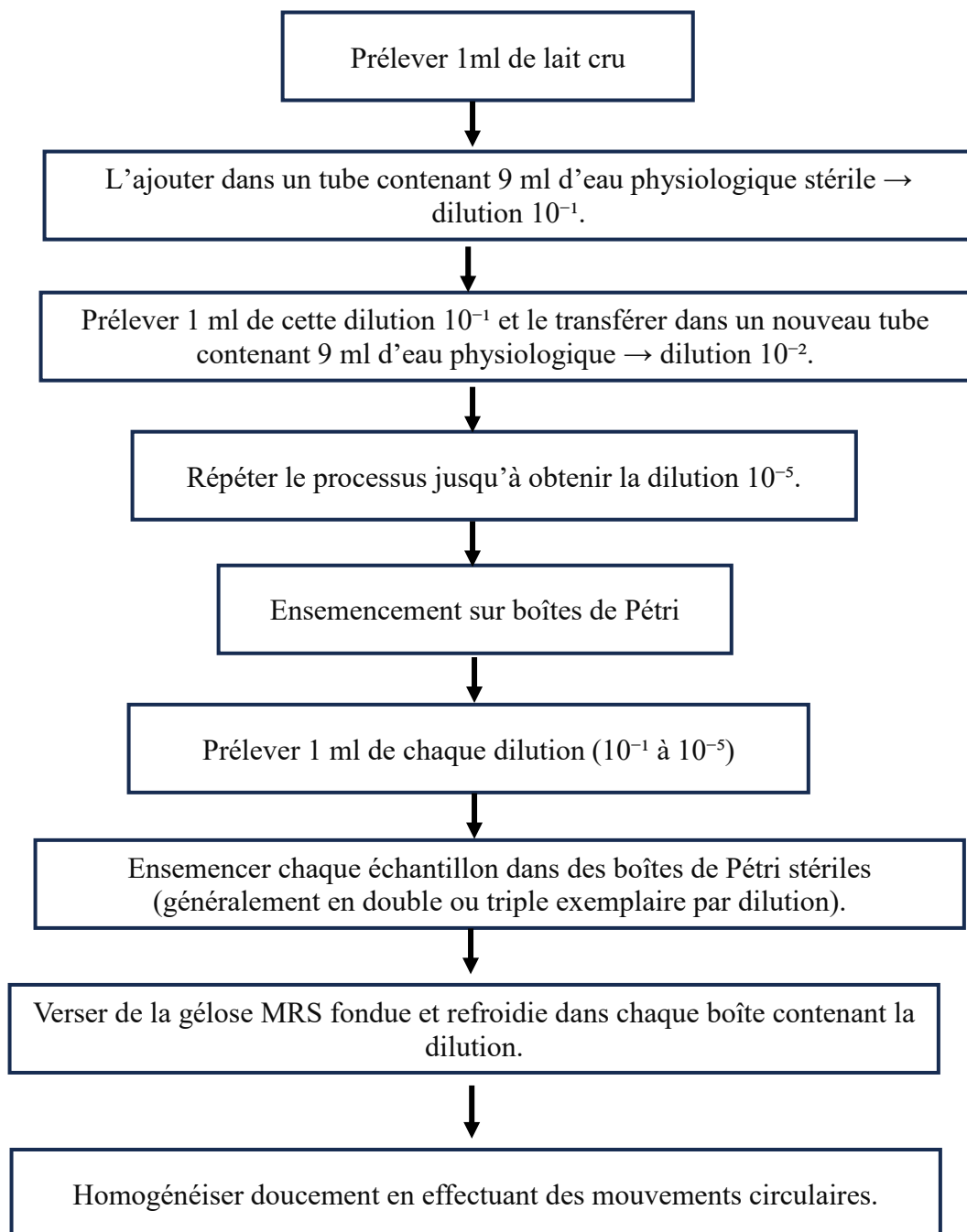


Figure 12. Mode opératoire de l'isolement des bactéries lactiques

Le pH du lait a été mesuré toutes les 48 heures pour suivre les modifications dues à l'activité microbienne.

1.9. Observation macroscopique et microscopique

Après culture sur gélose MRS, une observation macroscopique des colonies (forme, couleur, bord, taille) a été réalisée. Seules les colonies aux caractéristiques compatibles avec les bactéries lactiques ont été retenues.

1.9.1. Coloration de Gram

Ce test a été réalisé sur des cultures jeunes de moins de 24 h. Un frottis fixé à la chaleur est coloré pendant une minute au violet de Gentiane ; il est ensuite rincé rapidement à l'eau courante, traité pendant une minute par une solution de Lugol, et de nouveau rincé rapidement. On soumet alors le frottis coloré à une étape de décoloration en le traitant avec l'éthanol 95%. La lame est maintenue inclinée et on fait couler le solvant sur le frottis pendant 2 à 3 secondes seulement, jusqu'à ce que le colorant cesse de s'échapper librement du frottis. Celui-ci est alors immédiatement rincé à l'eau courante. On soumet ensuite le frottis à une contre coloration de 30 secondes à la Fushine. Après un bref rinçage, on sèche le frottis au papier buvard et on l'examine à l'objectif (grossissement X 100) en ajoutant quelques gouttes d'huile à immersion. Les isolats ayant une coloration violette sont à Gram positif (+) tandis que ceux présentant une coloration rose sont à Gram négatifs (-) (Guetouache et al., 2021)

1.10. Test enzymatique

➤ **Catalase** : Ce test différencie les bactéries catalase-positives et catalase-négatives. Une colonie est déposée sur lame stérile, et une goutte de H₂O₂ est ajoutée. La formation immédiate de bulles traduit une réaction positive (Karen, 2010).

1.11. Analyse biomathématique

1.11.1. Les données de la croissance microbienne

Les données de la croissance microbienne sont exprimées en Log UFC. ml⁻¹, le Tableau Suivant est utilisé pour traiter les données à l'aide du logiciel ORIGIN 6 ; il y a deux variables à savoir les jours (X) et les valeurs de croissance (Y)

1.11.2. Manipulation du logiciel ORIGIN 6

➤ L'ouverture de programme

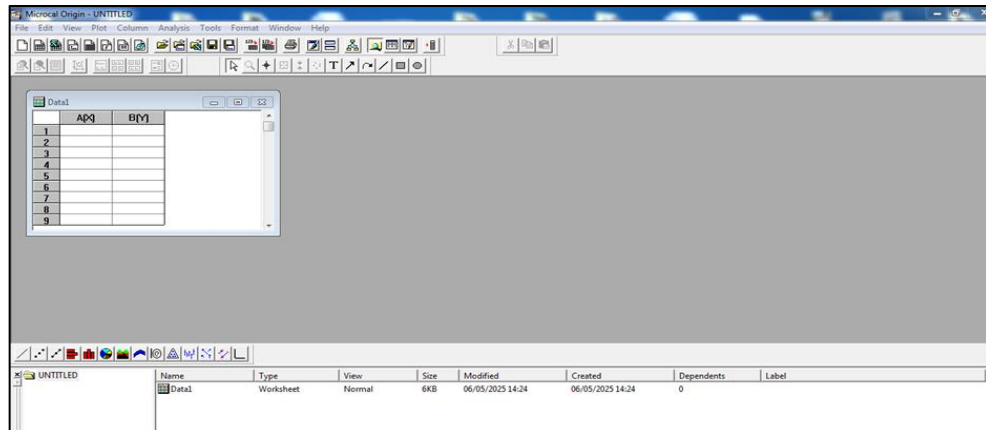


Figure 13. Ajout de colonnes

- Insertion des données expérimentales dans les cellules correspondantes à chaque variable (temps, UFC, pH, etc.).

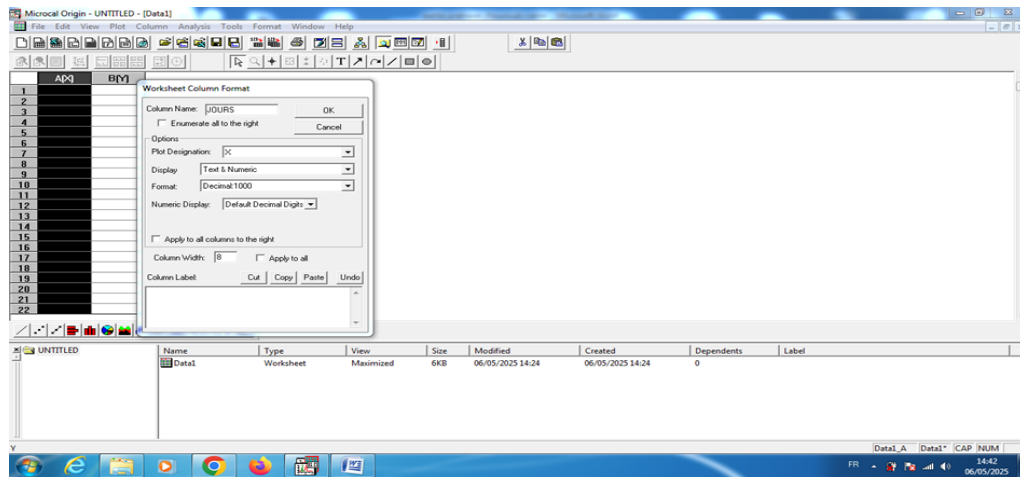


Figure 14. Insertion des données expérimentales

- Renommage des colonnes

Par double-clic sur l'intitulé de la colonne (ex. : A(x), B) dans la zone "Column Name", puis saisie du nom adapté (ex. : Temps, UFC, etc.).

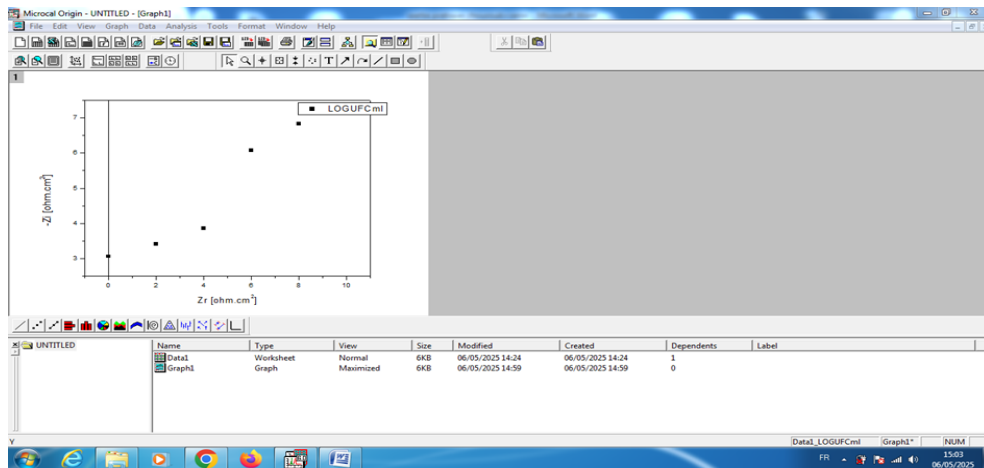


Figure 15. Renommage des colonnes

➤ Tracé des courbes

Par sélection des colonnes de données, puis clic sur l'icône "Scatter" dans la barre d'outils pour générer un graphique de dispersion.

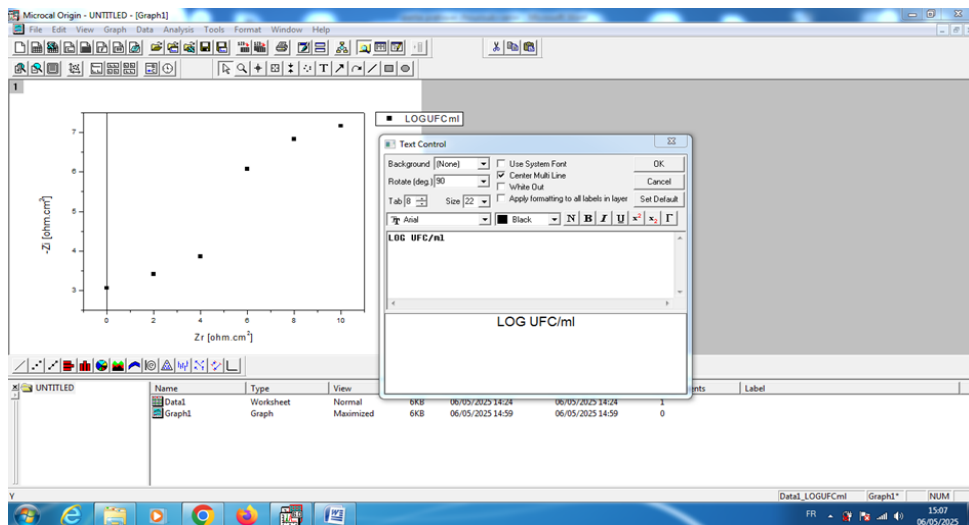


Figure 16. Tracé des courbes

➤ Personnalisation des axes

Double-clic sur les titres des axes (abscisses et ordonnées) pour les modifier selon les variables étudiées (ex. : Temps (j), UFC/mL, pH...). Une fenêtre de configuration apparaît pour permettre cette modification.

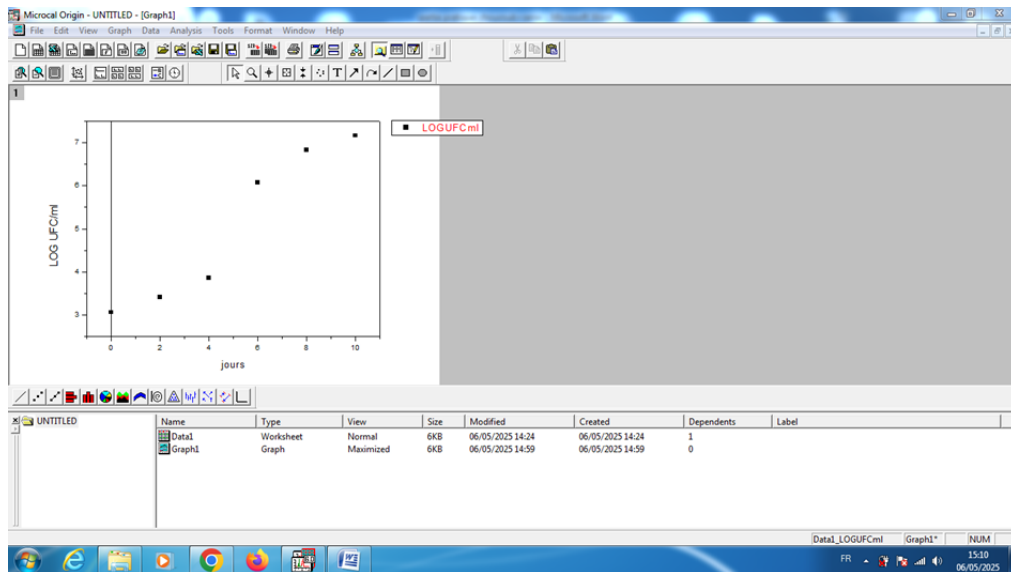


Figure 17. Personnalisation des axes

➤ Modélisation de la courbe de croissance

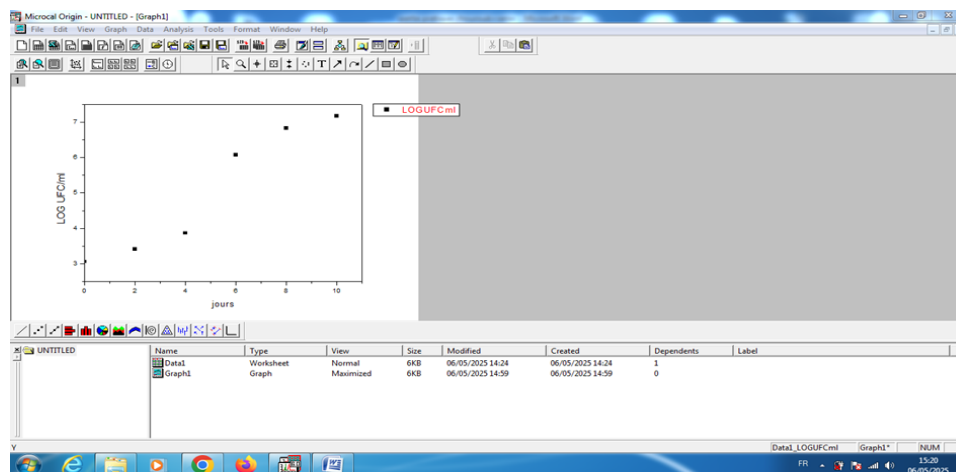


Figure 18. Modélisation de la courbe de croissance

- Par l'utilisation de l'option "tools" "sous le titre" sigmoidal fit "

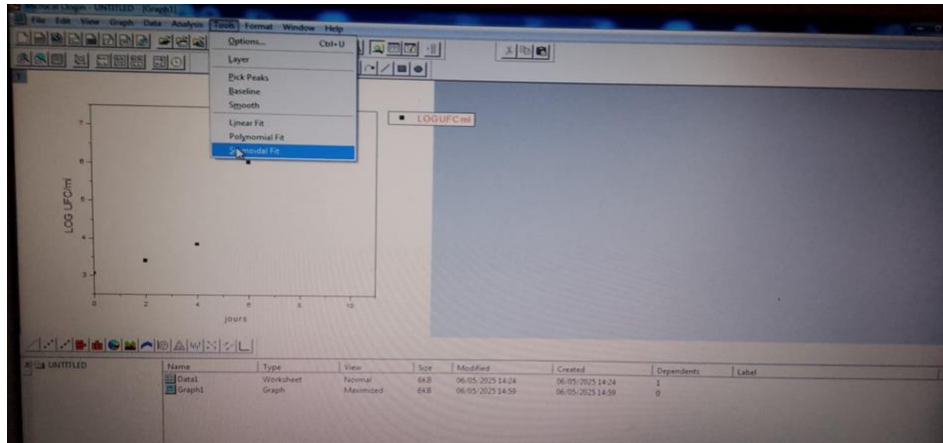


Figure 19. l'utilisation de l'option "tools"

- On obtient la modélisation suivant en cliquant sur "Fit"

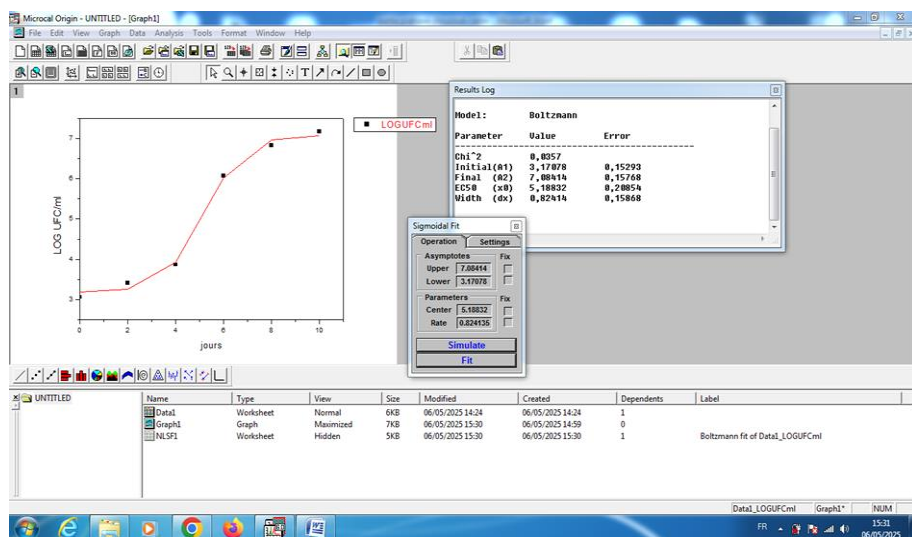


Figure 20. Modélisation de la courbe de croissance



Résultats Et Discussions

1. Résultats et Discussion

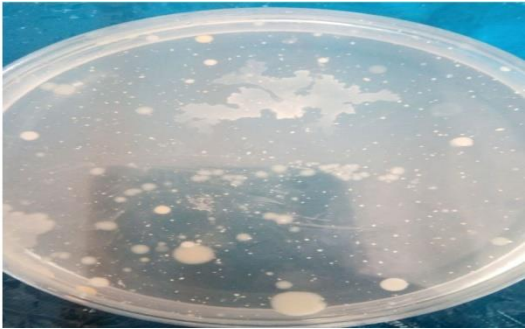
Cette étude vise principalement à contrôler l'évolution des bactéries lactiques dans le lait cru conservé à 4 °C pendant une période de 10 jours, ainsi qu'à explorer la diversité bactérienne présente dans le lait cru de vache collecté dans la région de Mila, en Algérie. L'identification des isolats bactériens a été réalisée à l'aide de méthodes phénotypiques.

2.1. Identification phénotypique des isolats bactériens

2.1.1. Aspect culturel et macroscopique

Une diversité notable de colonies bactériennes a été observée sur les différents milieux de culture utilisés, traduisant la richesse microbienne du lait cru. Ces observations ont été réalisées sur gélose nutritive, MRS, gélose au sang cuit additionnée de céfazoline. Les caractéristiques morphologiques des colonies présentent une grande variabilité (Tableau 06) constitue que le lait est un environnement favorable au développement des bactéries (d'intérêt technologique) (Gargouri et al., 2013).

Tableau 6. Description macroscopique des colonies bactériennes sur gélose nutritive , MRS et sur gélose au sang cuit + céfazoline

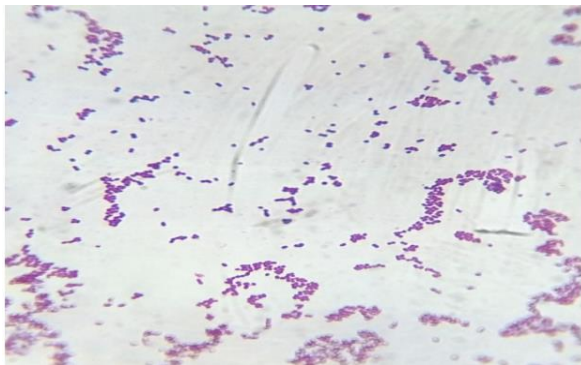
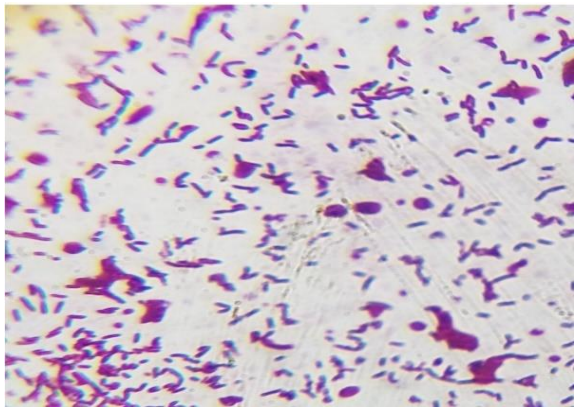
Flore totale aérobie mésophile sur gélose nutritive		Les colonies sont de tailles différentes de 1 à 3 mm. La plupart des colonies apparaissent blanches et rondes à contour régulier
Sur Gélose au sang cuit + céfazoline		Diminution notable du nombre de colonies ; Présence de bactéries résistantes ou tolérantes.

Sur milieu MRS		Les colonies sont de forme ronde, grande ou petite de couleur blanchâtres
----------------	--	---

L'ensemble des caractéristiques microscopiques des bactéries isolées est présenté dans le Tableau 07.

Ces isolats ont été cultivés sur une gélose au sang supplémentée en céfazoline.

Tableau 7. Les caractéristiques microscopiques des bactéries isolées

<i>Enterococcus</i>	
<i>Lactobacillus</i>	

Les résultats de la caractérisation macroscopique et microscopique de quelques isolats

bactériens son résumé dans le Tableau 08:

Tableau 8. Caractérisation macroscopique et microscopique des isolats bactériens du lait cru réfrigéré

Souche	Aspect macroscopique	Aspect microscopique
<i>Enterococcus</i>	Colonies de ~1 mm, opaques, semi Bombées, rondes, à bords nets.	Cocci Gram +, isolés, en diplocoques ou en chaînettes (0,6–1 μm).
<i>Lactobacillus</i>	Colonies petites, lisses, brillantes, Non pigmentées.	Bâtonnets coccobacilles Gram +, souvent en paires ou en chaînettes.

2.2. Evolution du pH

Dans cette étude, le suivi de l'évolution du pH du lait cru réfrigéré à 4 °C a révélé deux phases métaboliques distinctes. Le pH était initialement de 6,95 au jour 0, puis a diminué progressivement pour atteindre 6,82 au jour 2, 6,70 au jour 4 et 6,40 au jour 6, ce qui reflète une activité croissante des bactéries lactiques. Par la suite, une légère augmentation du pH a été observée, atteignant 6,53 au jour 8 et 6,61 au jour 10, probablement en raison d'un effet tampon des constituants du lait ou d'un ralentissement temporaire de l'activité microbienne. Cependant, des observations supplémentaires après 48 heures ont montré une nouvelle baisse du pH à 6,20, indiquant une reprise de l'activité fermentaire.

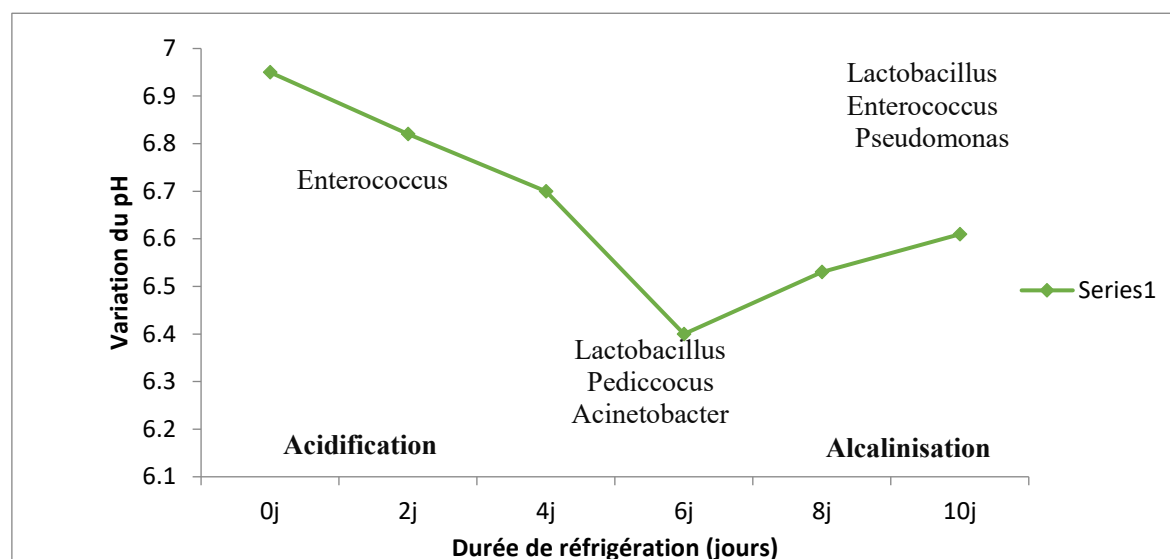


Figure 21. Variations du pH pendant la conservation à froid du lait cru à 4 °C durant 10 jours, dans une ferme Bassin, avec les principaux genres bactériens isolés.

L'évolution du pH du lait cru réfrigéré à 4 °C au cours de 10 jours révèle deux phases métaboliques distinctes, reflétant une succession d'activités microbiennes spécifiques. Le suivi analytique montre que le pH initial de 6,95 (à 0 jour) diminue progressivement jusqu'au sixième jour, pour atteindre une valeur de 6,4. Cette baisse témoigne d'une acidification due principalement à l'activité des bactéries lactiques.

De 0 à 6 jours, la diminution régulière du pH (de 6,95 à 6,4) indique que l'activité fermentaire des bactéries lactiques telles que *Lactococcus lactis* et *Lactobacillus* spp. — domine. Ces micro-organismes transforment le lactose en acide lactique, contribuant ainsi à l'acidification du lait. Ce processus crée un environnement moins favorable à la prolifération des bactéries de détérioration. Selon Salaün et al. (2005), cette acidification naturelle contribue à la sécurité microbiologique du lait cru cela est dû à la présence de certaines espèces de bactéries lactiques qui entraînent une absence totale de bactéries pathogènes.

À partir du 6e jour, une inversion de tendance est observée : à 6 jours le pH passe de 6,41 à 6,61 puis 10 jours. Cette légère augmentation du pH est généralement associée à l'activité croissante des bactéries psychrotrophes, telles que *Pseudomonas* et *Acinetobacter*. Ces bactéries sont capables de produire des enzymes protéolytiques à basse température, lesquelles dégradent les protéines du lait et libèrent des composés azotés basiques, tels que l'ammoniac, provoquant une alcalinisation progressive du milieu (Dousset et al., 1988).

Par ailleurs, il convient de souligner le rôle crucial de l'effet tampon du lait, principalement assuré par la caséine et les sels minéraux (phosphates, citrates). Cet effet

contribue à stabiliser les variations du pH, en neutralisant les acides ou les bases produits par les activités microbiennes. Ainsi, malgré la production d'acide lactique ou de composés basiques, les variations de pH restent modérées et progressives. (Salaün et al., 2005 ; Agroscope, 2013).

2.3. Dynamique de la croissance microbienne

L'évolution de la charge microbienne du lait stocké à 4 °C a été examinée sur une durée de 10 jours. Des échantillons ont été prélevés à intervalles réguliers (jours 0, 2, 4, 6, 8 et 10), afin de suivre la progression de la contamination. Pour chaque point temporel, les moyennes de trois répétitions ont été calculées, accompagnées de leurs écarts-types. Les données complètes sont présentées en détail, tandis que les valeurs résumées de la flore microbienne, exprimées en log UFC·mL⁻¹, figurent dans le Tableau 09.

Tableau 9. Evolution de la croissance microbienne en log UFC. mL⁻¹ des bactéries lactiques du lait à 4 °C durant 10 jours

Jours	Bassin
0	3.06
2	3.41
4	3.86
6	6.07
8	6.83
10	7.17

L'analyse de l'évolution des bactéries lactiques dans le lait cru conservé à 4 °C pendant 10 jours. Durant les quatre premiers jours, la charge microbienne reste modérée, augmentant de 3,06 à 3,86 log UFC/mL. Cette phase de latence peut être attribuée à l'effet inhibiteur des basses températures sur l'activité métabolique des bactéries (Delbes et al., 2006). Toutefois, à partir du sixième jour, une croissance rapide est observée, atteignant 7,17 log UFC/mL au jour 10, ce qui suggère une forte capacité d'adaptation des bactéries lactiques aux conditions réfrigérées.

Cette dynamique est typique des flores psychrotrophes et microaérophiles, souvent dominantes dans le lait cru conservé au froid (Liu et al., 2018). Le lait est un milieu nutritif riche en lactose, peptides et minéraux, qui favorise la multiplication bactérienne dès que les conditions deviennent favorables (Quigley et al., 2013). Bien que la réfrigération ralentisse la

croissance microbienne, elle ne l'empêche pas totalement, et une conservation prolongée peut entraîner une altération de la qualité hygiénique et organoleptique du lait (Vithanage et al., 2016).

Le dépassement du seuil de 7 log UFC/mL représente un risque sanitaire potentiel, particulièrement pour la transformation fromagère ou la consommation directe. Ces résultats soulignent l'importance d'un traitement rapide du lait cru, et la nécessité d'une hygiène rigoureuse dès la traite pour limiter la contamination initiale (Kable et al., 2019).

2.4. Traitement biomathématique

Les moyennes des résultats obtenus pour les dénombrements des bactéries lactiques sur milieu MRS dans les échantillons de lait stockés à 4 °C ont été traitées à l'aide du logiciel Origin 06. Ce traitement a permis de tracer les courbes de cinétique de croissance microbienne (Figure 22) et de déterminer les paramètres de croissance, à savoir : le taux de croissance maximal ($\mu_{\max}$), la durée de la phase de latence (λ), ainsi que la concentration maximale en biomasse atteinte ($X_{\max}$).

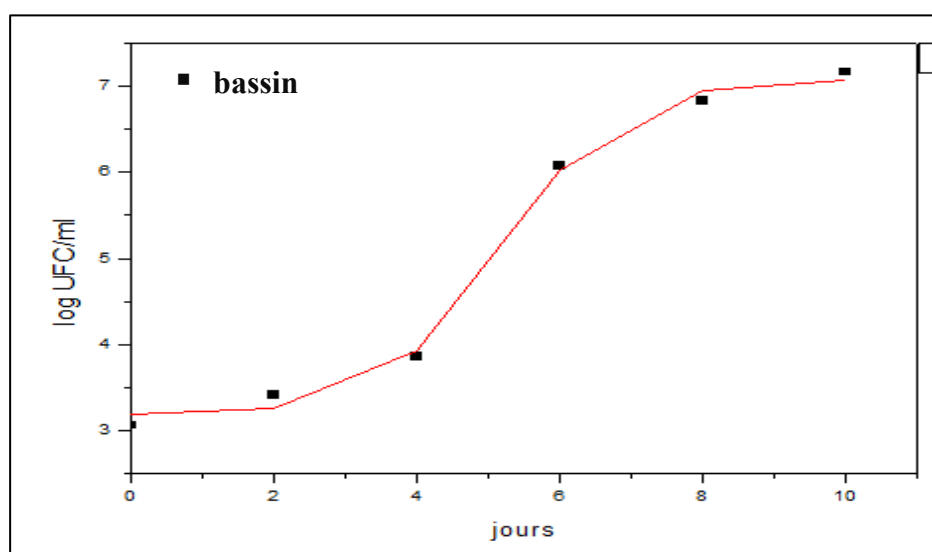


Figure 22: Courbes de croissance du nombre des bactéries lactiques obtenues par le logiciel origine 06 dans le lait réfrigéré pendant 10 jours à 4 °C, provenant de ferme laitière du bassin dans la région de Mila, Algérie.

À partir des données expérimentales et après application du modèle sigmoïdal via ORIGIN 6, les paramètres cinétiques suivants ont été déterminés (Tableau 10) :

Tableau 10. Paramètres de croissance microbienne obtenus par logiciel origine 06 des données de comptage moyen de bactéries lactiques durant le stockage réfrigéré des échantillons de lait, provenant de ferme laitière du bassin dans la région de Mila, Algérie.

Ferme / Localisation	Coordonnées géographiques	Altitude (m)	Valeur initiale (log UFC·mL ⁻¹)	$\mu_{\max}$ (log UFC·mL ⁻¹ ·j ⁻¹)	(λ)	X _{max} (log UFC·mL ⁻¹)
bassin (Aïn Hamra)	36,4237793 N / 5,9480868 E	820	3,21	0,56	1,78	7,17

X max : Niveau maximal de croissance (Log UFC.ml-1) , $\mu_{\max}$: Vitesse maximale de croissance (Δ Log UFC.mL⁻¹*jour) , G: Temps de génération (Jours) = 1/ $\mu_{\max}$, ufc.ml.

Ces résultats indiquent que malgré la réfrigération, une croissance bactérienne significative est observée, mettant en évidence la persistance d'une bactérie lactiques capable de se multiplier à basse température.

2.4.1. Niveau de croissance initiale

La dynamique de la croissance microbienne sur gélose MRS pendant 10 jours de stockage à 4 °C est représentée sur la Figure 21, tandis que le Tableau 11 rapporte les paramètres de croissance microbienne obtenus.

Le niveau initial de contamination microbienne observé dans le lait cru du bassin, estimé à 3,21 log UFC·mL⁻¹, indique une charge bactérienne modérée au moment de la traite. Une telle valeur reste compatible avec les standards microbiologiques du lait cru destiné à la transformation, à condition qu'une réfrigération rapide soit appliquée. En effet, selon Ledenbach et Marshall (2010), un niveau inférieur à 4 log UFC·mL⁻¹ de flore mésophile aérobie totale est généralement associé à un lait récolté dans de bonnes conditions sanitaires. Cette plage de contamination a également été rapportée dans plusieurs études menées en Algérie sur des laits issus d'élevages appliquant les bonnes pratiques agricoles (Boudalia et al., 2021 ; Tlidjane et al., 2013).

La qualité microbiologique initiale du lait cru dépend fortement de l'environnement dans lequel les vaches laitières sont élevées et de l'application de protocoles rigoureux en matière de santé animale, de nettoyage des trayons, de techniques de traite, de désinfection des équipements de traite et de réservoirs, ainsi que de l'hygiène des intervenants humains. Toute défaillance à ces niveaux peut conduire à une prolifération rapide de la flore microbienne,

notamment si la chaîne du froid est rompue après la traite (Ruegg, 2009). Ainsi, un contrôle strict de ces facteurs est essentiel pour garantir la salubrité du lait cru et sa conformité aux normes sanitaires internationales, en particulier dans les filières laitières artisanales ou peu mécanisées (Hemme et Otte, 2010).

2.4.2. Niveau de croissance maximale

La concentration maximale de $7,17 \log \text{UFC} \cdot \text{mL}^{-1}$ observée dans le lait cru de bassin été atteinte après 10 jours de réfrigération, illustrant que, même sous des conditions froides, certaines souches bactériennes mésophiles peuvent non seulement persister, mais aussi proliférer de manière significative. Ce phénomène reflète l'adaptabilité et la résistance de certaines flores bactériennes, en particulier des souches psychrotrophes, connues pour leur capacité à se développer à basse température (Griffiths et Phillips, 2000). Cela souligne la nécessité de limiter la durée de stockage, même au froid, et d'assurer une hygiène rigoureuse post-traite.

Des observations similaires ont été rapportées à l'échelle internationale. Au Brésil, par exemple, des taux élevés de flore bactérienne ont été détectés dans le lait cru réfrigéré, certaines souches atteignant plus de $7 \log \text{UFC} \cdot \text{mL}^{-1}$ après 7 à 10 jours à 4°C (Souza et al., 2017). En Inde, Kumar et al. (2020) ont mis en évidence la présence d'entérobactéries résistantes dans du lait cru stocké dans des conditions analogues, soulevant des préoccupations sanitaires majeures, notamment dans les zones rurales.

En Algérie, plusieurs travaux signalent également une croissance notable de la flore bactérienne malgré la réfrigération. Boudalia et al. (2021) ont rapporté des charges atteignant $7,5 \log \text{UFC} \cdot \text{mL}^{-1}$ dans du lait collecté en milieu rural, conservé au froid mais manipulé dans des conditions d'hygiène insuffisantes. De même, Khedid et al. (2009) ont observé que dans certaines wilayas, les pratiques de transport et de stockage favorisaient la prolifération de bactéries psychrotrophes résistantes.

À l'échelle mondiale, la croissance microbienne maximale dans le lait cru varie selon les conditions climatiques, les pratiques agricoles et la qualité des infrastructures de stockage. Dans les régions tempérées, comme en France ou au Canada, la flore mésophile atteint généralement entre 6 et $7 \log \text{UFC} \cdot \text{mL}^{-1}$ après 3 à 5 jours de réfrigération (De Jonghe et al., 2011). En revanche, dans les zones tropicales ou semi-arides, les charges microbiennes peuvent dépasser $8 \log \text{UFC} \cdot \text{mL}^{-1}$, en raison de l'instabilité de la chaîne du froid et de la prévalence de germes adaptatifs (Chatterjee et al., 2018).

2.4.3. Phase de latence

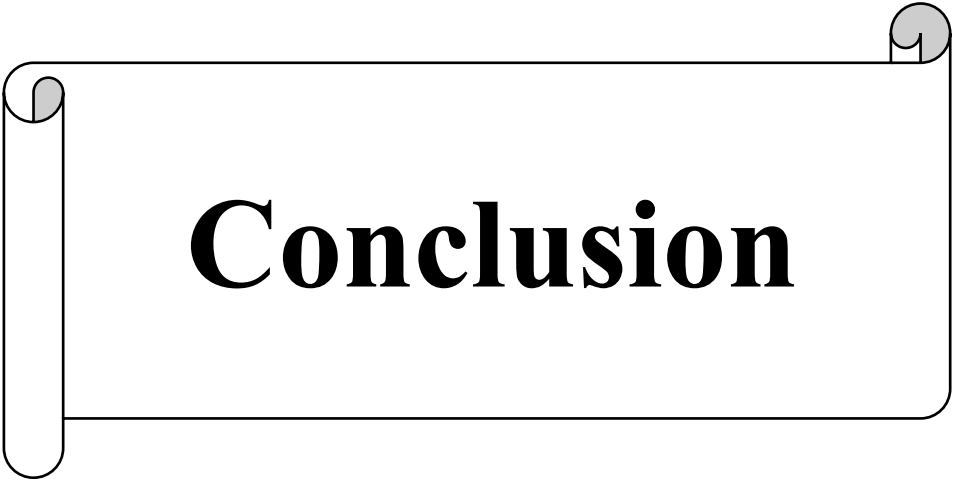
Dans notre étude, la phase de latence (λ) observée dans l'échantillon de lait cru de la ferme d'Aïn Hamra est estimée à 1,78jour, soit moins de 24 heures. Cette courte durée de latence indique que les bactéries présentes dans le lait se sont rapidement adaptées aux conditions environnementales, notamment à la température de conservation (réfrigération).

La phase de latence correspond à une période physiologique où les cellules bactériennes, bien que métaboliquement actives, ne se divisent pas encore de manière exponentielle. Elle est souvent influencée par la température, le stress initial, la composition du milieu (lactose, protéines, minéraux), ainsi que la nature des espèces bactériennes présentes. Dans le cas du lait cru, une latence inférieure à un jour est souvent attribuée à la présence de bactéries psychrotrophes comme *Pseudomonas fluorescens*, capables de s'adapter rapidement au froid (Addis et al., 2016).

Des études similaires montrent que dans les systèmes laitiers à hygiène limitée ou à chaîne de froid instable, la flore mésophile entre rapidement en phase active, avec une latence réduite, ce qui accélère le processus de dégradation microbiologique du lait. Par exemple, Yavuz et al. (2012) ont observé une phase de latence inférieure à un jour dans du lait cru stocké à 4 °C en Turquie, ce qui a conduit à une croissance exponentielle dès les premières 24 heures. En Éthiopie, Abebe et al. (2022) rapportent également des latences très courtes dans le lait cru vendu sur les marchés locaux, malgré une réfrigération précaire.

La brièveté de cette phase dans notre échantillon suggère donc que les micro-organismes présents étaient préalablement acclimatés ou adaptés au stress du froid, et qu'ils ont rapidement repris leur division cellulaire après une courte période d'ajustement métabolique. Cela souligne l'importance d'une hygiène rigoureuse et d'un refroidissement rapide post-traite pour prolonger cette phase et limiter la prolifération bactérienne.

Étant donné que la vache se nourrit à l'intérieur de l'étable et que ses sources alimentaires se limitent à la fourrage fourni, l'environnement interne ne contient pas de substances ayant un impact significatif sur la croissance bactérienne. Par conséquent, le temps de génération des bactéries est court, ce qui indique leur multiplication rapide dans ces conditions (Madigan et al., 2018).



Conclusion

Conclusion générale

Cette étude s'est attachée à évaluer l'évolution des bactéries lactiques dans le lait cru réfrigéré, collecté dans une ferme laitière de la région de Mila (Algérie), ainsi qu'à isoler et identifier les principales espèces bactériennes présentes à l'aide de méthodes d'identification phénotypique. Le travail a été structuré autour de deux objectifs principaux : d'une part, suivre la dynamique de développement des bactéries lactiques durant une période de réfrigération à 4 °C sur 10 jours, et d'autre part, caractériser la diversité bactérienne par des approches culturelles, morphologiques et microscopiques.

Les échantillons de lait cru ont été conservés dans des conditions contrôlées de température, et des prélèvements ont été réalisés à intervalles réguliers afin d'analyser l'évolution de la flore lactique. L'ensemencement sur milieu MRS, spécifique aux bactéries lactiques, a permis de suivre la croissance de cette population. Les résultats ont montré une évolution modérée mais significative des bactéries lactiques au cours du stockage réfrigéré. Durant les premiers jours, la croissance est restée limitée, traduisant une phase de latence, suivie d'une phase d'augmentation progressive, bien que contenue, à partir du quatrième jour.

L'étude des caractéristiques culturelles et morphologiques des colonies développées sur les milieux de culture (MRS, gélose nutritive, gélose au sang) a mis en évidence une diversité phénotypique traduisant la richesse microbienne du lait cru. Les colonies présentaient des formes, couleurs et tailles variées, reflet de la coexistence de différentes espèces bactériennes. L'observation microscopique, notamment après coloration de Gram, a révélé une prédominance de bacilles Gram positifs, groupés en chaînettes ou isolés, caractéristiques typiques des bactéries lactiques appartenant aux genres *Lactobacillus*, *Leuconostoc* ou *Lactococcus*.

L'élaboration de courbes cinétiques a permis de modéliser la dynamique de croissance des bactéries lactiques, en mettant en évidence les différentes phases (latence, exponentielle, stationnaire). L'application d'un modèle biomathématique a renforcé l'interprétation des données et permis de quantifier les paramètres essentiels de la croissance bactérienne à basse température.

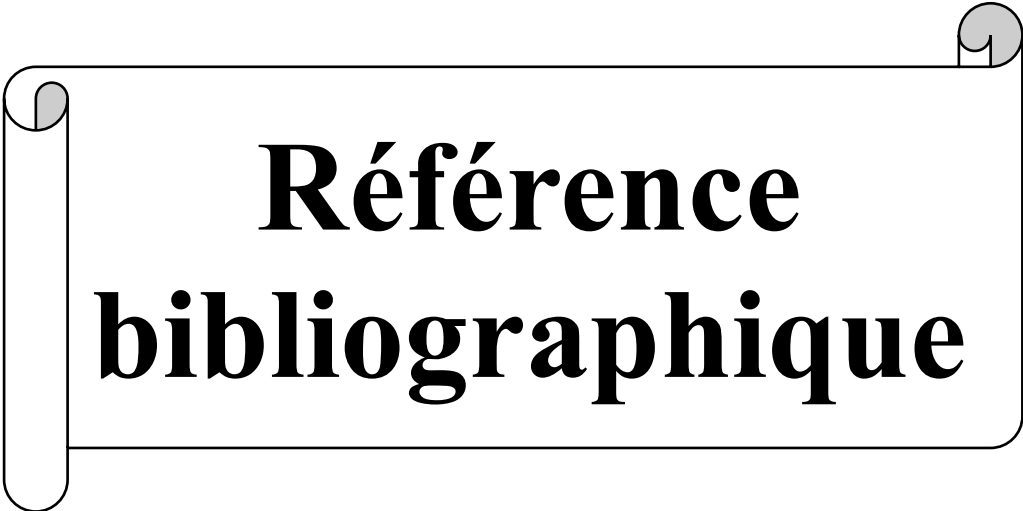
La prédominance des bactéries du genre *Lactobacillus* dans le microbiote du lait étudié dans ce travail témoigne d'une biodiversité microbienne relativement homogène, contrairement à la grande variabilité observée dans d'autres régions du monde. Cette homogénéité pourrait s'expliquer par l'action antagoniste naturelle exercée par les *Lactobacillus* envers d'autres micro-organismes. En effet, ces bactéries sont réputées pour leur aptitude à produire divers agents antimicrobiens, notamment des acides organiques (comme l'acide lactique), du peroxyde

d'hydrogène, ainsi que des bactériocines, des peptides antibactériens particulièrement actifs. Grâce à ces composés, *Lactobacillus* joue un rôle essentiel dans la protection du lait contre les bactéries pathogènes telles que *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus saprophyticus* et *S. equorum*. Des recherches antérieures ont mis en évidence le pouvoir inhibiteur de *L. plantarum* et *L. casei* vis-à-vis de ces pathogènes, confirmant leur fort potentiel en tant qu'agents de biopréservation. Ainsi, une présence stable et équilibrée de *Lactobacillus* dans le lait réfrigéré peut contribuer à une meilleure stabilité microbiologique, à l'allongement de la durée de conservation du lait cru, tout en limitant la croissance des micro-organismes altérants. Ce mécanisme naturel de protection renforce la sécurité hygiénique des produits laitiers, sans nécessiter l'ajout de conservateurs chimiques.

Les résultats obtenus confirment que le lait cru constitue un écosystème microbien complexe et dynamique, même en conditions de réfrigération. Bien que la température de 4 °C limite le développement des bactéries mésophiles, elle n'empêche pas l'adaptation progressive des bactéries psychrotrophes et de certaines espèces lactiques capables de croître lentement. Cette évolution peut avoir un impact sur la qualité microbiologique et technologique du lait, notamment en cas de stockage prolongé.

En conclusion, cette étude met en évidence l'intérêt de surveiller les bactéries lactiques dans le lait cru réfrigéré, à la fois pour garantir la qualité hygiénique du produit et pour mieux comprendre les mécanismes microbiens impliqués dans sa conservation. L'approche adoptée, combinant des observations phénotypiques et une modélisation mathématique, constitue un outil pertinent pour anticiper les évolutions microbiennes et améliorer la gestion de la chaîne de froid dans les exploitations laitières.

Aussi comme perspectives il est très intéressant de faire l'identification génotypique des isolates bactériens, il peuvent être ajoutés de microorganismes en tant que biopréservateurs pour améliorer la sécurité du lait e sa durée de conservation



Référence bibliographique

Référence

1. Abebe M, Degefu H, Mekuria S (2022) Microbial quality and safety of raw cow milk collected from open markets in Ethiopia. *Afr J Microbiol Res* 16(6): 247–253.
2. Acosta-Gnass SI (2005) Enterococcus. Groupe Asesor Control de Infecciones y Epidemiología. Disponible sur: <https://codeinep.org/wp-content/uploads/2019/06/Enterococcus.pdf>
3. Addis M, Angesom H, Tesfaye S (2016) Assessment of microbial quality of raw cow milk at different critical points in Mekelle, Ethiopia. *J Vet Sci Technol* 7(4): 1–5.
4. Agroscope (2013) Problèmes d'acidification. ALP Forum n° 96. Disponible sur : <https://ira.agroscope.ch/de-CH/Page/Einzelpublikation/Download?einzelpublikationId=33281>
5. Amezcuita A, Brashears MM (2002) Competitive inhibition of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat meat products by lactic acid bacteria. *J Food Prot* 65: 316–325.
6. Anunobi V (2020) What is Lactobacillus? Healthtian. Disponible sur : <https://healthtian.com/lactobacillus/>
7. Atlas RM (2010) *Handbook of Microbiological Media* (4th ed). CRC Press, Boca Raton.
8. Axelsson L (2004) Lactic acid bacteria: Classification and physiology. In: Salminen S, Wright AV, Ouwehand A (eds), *Lactic Acid Bacteria: Microbiological and Functional Aspects* (3rd ed). Marcel Dekker, New York.
9. Ayad EHE, Nashat S, El-Sedek N, Metwaly H, El-Soda M (2004) Selection of wild lactic acid bacteria isolated from traditional Egyptian dairy products according to production and technological criteria. *Food Microbiol* 21(6): 715–725.
10. Bacun-Druzina V, Cagalj Z, Gjuracic K (2007) The growth advantage in stationary-phase (GASP) phenomenon in mixed cultures of enterobacteria. *FEMS Microbiol Lett* 266(1): 119–127.
11. Badis AN, Laouabdia-Sellami D, Guetarni M, Kihal M, Ouzrout R (2005) Caractérisation phénotypique des bactéries lactiques isolées à partir de lait cru de chèvre de deux populations caprines locales « Arabia et Kabyle ». *Sci Technol* 23: 30–37.
12. Baranyi J, Pin C (1999) Estimating bacterial growth parameters by means of detection times. *Appl Environ Microbiol* 65(2): 732–736.
13. Benkerroum N, Ghouati Y, Ghalfi H, Elmejdoub T, Roblain D, Jacques P, Thonart P (2002) Biocontrol of *Listeria monocytogenes* in a model cultured milk (lben) by in situ bacteriocin production from *Lactococcus lactis* ssp. *lactis*. *Int Dairy Technol* 55: 145–151.

14. Bergkessel M, Basta DW, Newman DK (2016) The physiology of growth arrest: Uniting molecular and environmental microbiology. *Nat Rev Microbiol* 14(9): 549–562.
15. Bernardeau M, Vernoux JP, Henri-Dubernet S, Guéguen M (2008) Safety assessment of dairy microorganisms: the *Lactobacillus* genus. *Int J Food Microbiol* 126: 278–285.
16. Boudalia S, Saidi D, Benaissa MH (2021) Qualité hygiénique et microbiologique du lait cru bovin dans des élevages de la région de Sétif (Algérie). *Rev Agric* 12(3): 115–123.
17. Bouzaid M, Chatoui R, Latrache H, Hasib A (2016) Activité antimicrobienne des souches de bactéries lactiques isolées de viande hachée de dromadaire et du lait cru de vache (Maroc). *Microbiol Ind Sanitaire Environ* 10(1): 1–12.
18. Chatterjee SN, Das S, Bhattacharjee S, Das S, Chatterjee SK (2018) Microbial spoilage of milk under tropical conditions. *J Food Sci Technol* 55(8): 3114–3124. <https://doi.org/10.1007/s13197-018-3225-1>
19. Chen C, Lai CC, Huang HL, Huang WY, et al. (2019) Antimicrobial activity of *Lactobacillus* species against carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*. *Front Microbiol* 10: 789.
20. Chentouf H (2015) Effet des substances antimicrobiennes produites par *Leuconostoc mesenteroides* isolées à partir du lait cru de chamelle d'Algérie sur la croissance de *Listeria monocytogenes* dans les produits alimentaires. Thèse de doctorat, Université d'Oran1-Ahmed Ben Bella.
21. Cho WI, Chung MS (2020) *Bacillus* spores: A review of their properties and inactivation processing technologies. *Food Sci Biotechnol* 29(11): 1447–1461. <https://doi.org/10.1007/s10068-020-00813-w>
22. Coelho MC, Silva CCG, Ribeiro VC, Dapkevicius M, Rosa HJD (2014) Control of *Listeria monocytogenes* in fresh cheese using protective lactic acid bacteria. *Int J Food Microbiol* 191: 53–59. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2014.09.002>
23. Corrieu G, Luquet FM (2008) *Bactéries lactiques: De la génétique au ferment*. Éditions Tec et Doc, Paris, 849 p.
24. D'Amico S, Collins T, Marx JC, Feller G, Gerday C (2006) Psychrophilic microorganisms: Challenges for life. *EMBO Rep* 7(4): 385–389. <https://doi.org/10.1038/sj.embor.7400662>
25. Dave RI, Ghaly AE (2011) Raw milk microbiology and its significance. *Foods* 2(2): 208–228. <https://doi.org/10.3390/foods2020208>

26. De Jonghe V, Coorevits A, Van Hoorde K, Messens W, Van Landschoot A, De Vos P, Heyndrickx M (2011) Influence of storage practices on the bacterial quality of raw milk. *Food Control* 22(4): 805–814. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2010.10.011>
27. Debeyer C (2020) Les probiotiques dans la prise en charge d'affections gastro-intestinales et vaginales. Thèse de doctorat, Université de Lille.
28. Delavenne E, Mounier J, Dénier F, Barbier G, Le Blay G (2012) Biodiversity of antifungal lactic acid bacteria isolated from raw milk samples from cow, ewe and goat over one-year period. *Int J Food Microbiol* 155(3): 185–190. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2012.02.003>
29. Delhalle L, Daube G, Adolphe Y, Crevecoeur S, Clinquart A (2012) Les modèles de croissance en microbiologie prévisionnelle pour la maîtrise de la sécurité des aliments. *Biotechnol Agron Soc Environ* 16(3): 369–381.
30. Denis F, Poly MC, Bengen E, Quentin R (2007) *Bactériologie médicale: Techniques usuelles*. 2e éd. Elsevier Masson, Paris, 417 p.
31. Djadouni F (2013) Évolution de l'activité antimicrobienne des isolats des bactéries lactiques et détermination des spectres d'action de leurs biopeptides vis-à-vis des germes d'altération. Thèse de doctorat, Université d'Oran.
32. Rodriguez E, Arques JL, Nunez M, Gaya P, Medina M (2005) Combined effect of high-pressure treatments and bacteriocin-producing lactic acid bacteria on inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 in raw-milk cheese. *Appl Environ Microbiol* 71(7): 3399–3404.
33. Dousset X, Dubost A, Veaux M (1988) Influence de la température de réfrigération du lait sur la protéolyse et l'activité protéolytique. *Le Lait* 68(2): 147–158. https://lait.dairy-journal.org/articles/lait/pdf/1988/02/lait_68_1988_2_10.pdf
34. Drider D, Fimland G, Héchard Y, McMullen LM, Prévost H (2006) The continuing story of class IIa bacteriocins. *Microbiol Mol Biol Rev* 70(2): 564–582.
35. Drouault S, Corthier G (2001) Effets des bactéries lactiques ingérées avec des laits fermentés sur la santé. *Vet Res* 32(2): 101–117.
36. Euzéby J (2008) Notification of changes in taxonomic opinion previously published outside the IJSEM. *Int J Syst Evol Microbiol* 58: 1515.
37. Franciosi E, De Sabbata G, Gardini F, Cavazza A, Poznanski E (2011) Changes in psychrotrophic microbial populations during milk creaming to produce Grana Trentino cheese. *Food Microbiol* 28: 43–51.

38. Fujisawa T, Kawase M, Nagai T (2000) Cold adaptation of lactic acid bacteria and their ability to maintain functional properties at low temperatures. *J Dairy Sci* 83(10): 2162–2170. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(00\)75056-8](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(00)75056-8)
39. Furet JP, Quénée P, Tailliez P (2004) Molecular quantification of lactic acid bacteria in fermented milk products using real-time quantitative PCR. *Int J Food Microbiol* 97(2): 197–207.
40. Galvez A, Lopez RL, Abriouel H, Valdivia E, Omar NB (2008) Application of bacteriocins in the control of foodborne pathogenic and spoilage bacteria. *Crit Rev Biotechnol* 28: 125–152. <https://doi.org/10.1080/07388550802087259>
41. Gargouri A, Hamed H, Elfeki A (2013) Analysis of raw milk quality at reception and during cold storage: combined effects of somatic cell counts and psychrotrophic bacteria on lipolysis. *J Food Sci* 78: M1405–M1411.
42. Garrity GM, Bell JA, Lilburn TM (2004) Taxonomic outline of the prokaryotes. In: *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 2nd ed., Release 5.0. Springer, New York.
43. Gerday C, Glansdorff N (2007) *Physiology and Biochemistry of Extremophiles*. ASM Press.
44. Griffiths MW, Phillips JD (2000) Psychrotrophic bacteria: Spoilage of milk and dairy products. *Int J Food Microbiol*. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(00\)00157-0](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(00)00157-0)
45. Guezlane-Tebibel N, Kahlouche B, Athmani Gemouri S (2010) *Microbiologie : Travaux pratiques*. 3e éd. Corrigée, n°4973, Office des Publications Universitaires.
46. Guiraud JP, Rosec JP (2004) *Pratique des normes en microbiologie alimentaire*. AFNOR, 241 p.
47. Hammami R, Fliss L, Corsetti A (2019) Application of protective cultures and bacteriocins for food biopreservation. *Front Microbiol* 10: 1561. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01561>
48. Hanchi H, Mottawea W, Sebei K, Hammami R (2018) The genus *Enterococcus*: Between probiotic potential and safety concerns—An update. *Front Microbiol* 9: 1791.
49. Hardie J, Whiley R (1997) Classification and overview of the genera *Streptococcus* and *Enterococcus*. *J Appl Microbiol* 83(1).
50. Hassan AN, Frank JF, Loesche WJ, Griffiths MW (2020) Microbial quality of raw milk in dairy farms. *Microorganisms* 8(11): 1898. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8111898>
51. Hemme T, Otte J (2010) Status and prospects for smallholder milk production – A global perspective. FAO. <https://www.fao.org/3/i1522e/i1522e00.pdf>

52. Ho TNT, Tuan N, Deschamps A, Caubet R (2007) Isolation and identification of lactic acid bacteria (LAB) of the *Nem Chua* fermented meat product of Vietnam. *Int J Food Microbiol*.
53. Jaishankar J, Srivastava P (2017) Molecular basis of stationary phase survival and applications. *Front Microbiol* 8: 2000. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.02000>
54. Joergensen RG, Wichern F (2018) Alive and kicking: Why dormant soil microorganisms matter. *Soil Biol Biochem* 116: 419–430. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2017.10.022>
55. Jöers A, Tenson T (2016) Growth resumption from stationary phase reveals memory in *Escherichia coli* cultures. *Sci Rep* 6: 24055. <https://doi.org/10.1038/srep24055>
56. Kato Y, Sakala RM, Hayashidani H, Kiuchi A, Kaneuchi C, Ogawa M (2000) *Lactobacillus algidus* sp. nov., a psychrophilic lactic acid bacterium isolated from vacuum-packaged refrigerated beef. *Int J Syst Evol Microbiol* 50 Pt 3: 1143–1149.
57. Kempes CP, van Bodegom PM, Wolpert D, Libby E, Amend J, Hoehler T (2017) Drivers of bacterial maintenance and minimal energy requirements. *Front Microbiol* 8: 31. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00031>
58. Khalisani K (2011) An overview of lactic acid bacteria. *Int J Biosci* 1: 1–13.
59. Khedid K, et al. (2009) Microbiological quality of raw milk in different regions of Algeria. *Afr J Microbiol Res* 3(9): 540–547. <https://academicjournals.org/journal/AJMR/article-full-text-pdf/EE4C9381597>
60. Krzyściak W, Pluskwa K, Jurczak A, Kościelniak D (2013) The pathogenicity of the *Streptococcus* genus. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 32(11): 1361–1376.
61. Kuipers OP, Buist G, Kok J (2000) Current strategies for improving food bacteria. *Res Microbiol* 151(10): 815–822. [https://doi.org/10.1016/S0923-2508\(00\)00174-1](https://doi.org/10.1016/S0923-2508(00)00174-1)
62. Kumar R, et al. (2020) Prevalence of antibiotic-resistant bacteria in raw milk in India. *Vet World*. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2020.88-94>
63. Lafarge V, Ogier JC, Girard V, Maladen V, Leveau JY, Gruss A, Delacroix-Buchet A (2004) Raw cow milk bacterial population shifts attributable to refrigeration. *Appl Environ Microbiol* 70: 5644–5650.
64. Ledenbach LH, Marshall RT (2010) Microbiological spoilage of dairy products. In: Sperber WH, Doyle MP (Eds.), *Compendium of the Microbiological Spoilage of Foods and Beverages*, Springer, pp. 41–67. https://doi.org/10.1007/978-1-4419-0826-1_3
65. Lemos M (2023, avril) *Streptococcus agalactiae*: síntomas y cómo tratar. Tua Saúde. <https://www.tuasaude.com/es/streptococcus-agalactiae/>

66. Léonard L (2013) Évaluation du potentiel bioprotecteur de bactéries lactiques confinées dans une matrice polymérique. Thèse de doctorat, Université de Bourgogne.
67. Li H, Liu L, Zhang S, Uluko H, Cui W, Lv J (2013) Potential use of *Lactobacillus casei* AST18 as a bioprotective culture in yogurt. *Food Control* 34(2): 675–680. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2013.06.023>
68. Maalej S, Gdoura R, Dunkan D, Hammami A, Bouain A (2004) Maintenance of pathogenicity during entry into and resuscitation from viable but nonculturable state in *Aeromonas hydrophila* exposed to natural seawater at low temperature. *J Appl Microbiol* 97(3): 557–565. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2004.02336.x>
69. Madigan MT, Bender KS, Buckley DH, Sattley WM, Stahl DA (2018) *Brock Biology of Microorganisms*, 15th ed. Pearson.
70. Marroki A, Zúñiga M, Kihal M, Martínez G (2011) Characterization of *Lactobacillus* from Algerian goat's milk based on phenotypic, 16S rDNA sequencing and their technological properties. *Brazilian Journal of Microbiology* 42: 158–171.
71. Martinez RCR, De Martinis ECP (2005) Evaluation of bacteriocin-producing *Lactobacillus sakei* 1 against *Listeria monocytogenes* 1/2a growth and haemolytic activity. *Brazilian Journal of Microbiology* 36: 83–87.
72. Martinez RCR, De Martinis ECP (2006) Effect of *Leuconostoc mesenteroides* 11 bacteriocin in the multiplication control of *Listeria monocytogenes* 4b. *Food Science and Technology* 26: 52–55.
73. Maslowska KH, Makiela-Dzubska K, Fijalkowska IJ (2019) The SOS system: A complex and tightly regulated response to DNA damage. *Environmental and Molecular Mutagenesis* 60(4): 368–384. <https://doi.org/10.1002/em.22267>
74. Matamoros S (2008) Caractérisation de bactéries lactiques psychrotrophes en vue de leur utilisation dans la biopréservation des aliments : étude physiologique et moléculaire des mécanismes d'adaptation au froid. Thèse de doctorat, Université de Nantes.
75. Mäyrä-Mäkinen A, Bigret M (2004) Industrial use and production of lactic acid bacteria. In: Salminen S, von Wright A, Ouwehand A (Eds.), *Lactic Acid Bacteria: Microbiological and Functional Aspects*. Marcel Dekker, pp. 175–198.
76. Mechai AB (2009) Isolement, caractérisation et purification de bactériocines produites par des bactéries lactiques autochtones : études physiologiques et biochimiques. Thèse de doctorat, Université Badji-Mokhtar, Annaba.

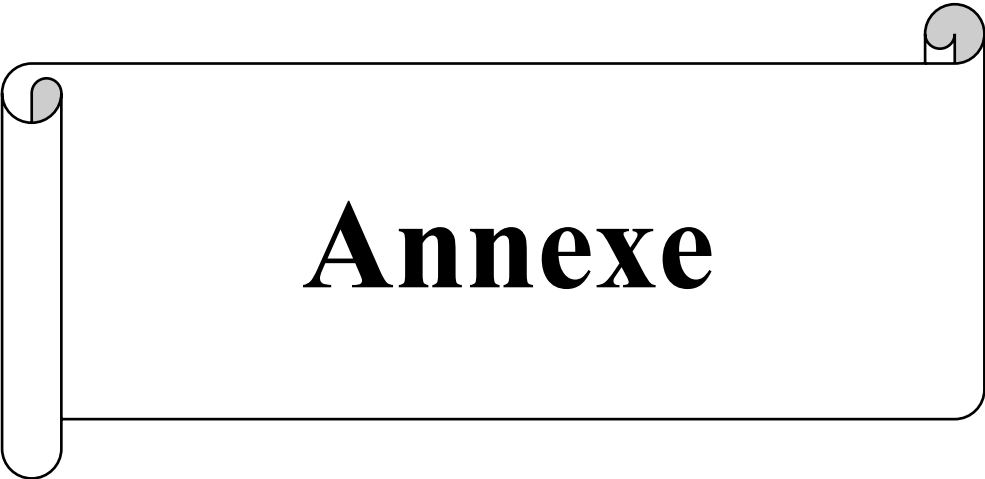
77. Mercha I, Lakram N, Kabbour MR, Bouksaim M, Zkhiri F (2020) Probiotic and technological features of *Enterococcus* and *Weissella* isolates from camel milk characterised by an Argane feeding regimen. *Archives of Microbiology* 202(8): 2207–2219.
78. Mills S, Serrano LM, Griffin C, O'Connor FM, Schaad G, Bruining C, Hill C, Rass RP, Meijer WC (n.d.) Inhibitory activity of *Lactobacillus plantarum* LMG F-26358 against *Listeria monocytogenes*.
79. Mojgani N, Hussaini F, Vaseji N (2015) Characterization of indigenous *Lactobacillus* strains for probiotic properties. *Jundishapur Journal of Microbiology*.
80. Morita RY (1997) *Bacteria in Oligotrophic Environments: Starvation-Survival Lifestyle*. Chapman & Hall.
81. Moulay M, Benlancén K, Aggad H, Kihal M (2013) Diversity and technological properties of predominant lactic acid bacteria isolated from Algerian raw goat milk. *Advances in Environmental Biology* 7(6): 999–1007.
82. Navarro-Llorens JM, Tormo A, Martínez-García E (2010) Stationary phase in gram-negative bacteria. *FEMS Microbiology Reviews* 34(4): 476–495. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2010.00242.x>
83. Panesar PS (2011) Fermented dairy products: Starter cultures and potential nutritional benefits. *Food and Nutrition Sciences* 2(1): 47–51. <https://doi.org/10.4236/fns.2011.21007>
84. Park SN, Lim YK, Shin JH, Chang YH, Shin Y, Paek J, Kook JK (2019) *Streptococcus gwangjuense* sp. nov., isolated from human pericoronitis. *Current Microbiology* 76(7): 799–803.
85. Patel S, Gupta RS (2018) Robust demarcation of fourteen different species groups within the genus *Streptococcus* based on genome-based phylogenies and molecular signatures. *Infect Genet Evol* 66: 130–151.
86. Pelczar MJ, Chan ECS, Krieg NR (2001) *Microbiology: Concepts and Applications* (5th ed.). McGraw-Hill.
87. Pepper IL, Gerba CP, Gentry TJ (2015) *Environmental Microbiology* (3rd ed.). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-394626-3.00003-X>
88. Prescott LM, Harley JP, Klein DA (2017) *Microbiology* (10th ed.). McGraw-Hill Education.
89. Prescott LM, Harley JP, Klein DA (2022) *Microbiology* (12th ed.). McGraw-Hill.
90. Puniya AK, Shukla P, Mandal RS, Singh P, Garcia D, Singh R (2017) Psychrotrophic bacteria in milk and dairy products: A review. *Frontiers in Microbiology* 8: 1310. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01310>

91. Purwati ES, Salam S, Melia S, Juiyarsi I, Purwanto H (2016) Manfaat Probiotik, Bakteri Asam Laktat Dadiah. Lembaga Literasi Dayak Press, Indonesia.
92. Ray B, Bhunia A (2013) Fundamental Food Microbiology (5th ed.). CRC Press.
93. Reiner K (2010) Catalase test protocol. American Society for Microbiology: 1–6.
94. Reis JA, Paula AT, Casarotti SN, Penna ALB (2012) Lactic acid bacteria antimicrobial compounds: characteristics and applications. Food Engineering Reviews 4(2): 124–140.
95. Reyes-Ruiz LM, Williams CL, Tamayo R (2020) Enhancing bacterial survival through phenotypic heterogeneity. PLoS Pathogens 16(6): e1008439. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1008439>
96. Ribeiro SC, Ross RP, Stanton C, Silva CC (2017) Characterization and application of antilisterial enterocins in medium fresh cheese. Journal of Food Protection 80: 1303–1316. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-16-527>
97. Rodriguez E, Arques JL, Nunez M, Gaya P, Medina M (2005) Combined effect of high-pressure treatments and bacteriocin-producing lactic acid bacteria on inactivation of Escherichia coli O157:H7 in raw-milk cheese. Applied and Environmental Microbiology 71(7): 3399–3404.
98. Ruegg PL (2009) Management of mastitis on organic and conventional dairy farms. Journal of Animal Science 87(suppl_13): 43–55. <https://doi.org/10.2527/jas.2008-1307>
99. Russell NJ (2002) Bacterial membranes: the effects of chill storage and food processing. Int J Food Microbiol 79(1–2): 27–36. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(02\)00136-0](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(02)00136-0)
100. Salaün F, Mietton B, Gaucheron F (2005) Buffering capacity of dairy products. International Dairy Journal 15(2): 95–109. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2004.06.007>
101. Salvetti E, Torriani S, Felis GE (2012) The genus Lactococcus: natural diversity and biotechnological potential. FEMS Microbiology Reviews 36(4): 735–767. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2011.00314.x>
102. Santos FA, Buntin N, Faulds-Pain A, Reid G (2021) Role of lactic acid bacteria in dairy products. Microorganisms 9(1): 118. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9010118>
103. Sendide K, Ouhmidou B, Moumni M (2018) Occurrence, molecular and antimicrobial resistance of Enterococcus spp. isolated from raw cow's milk trade by street trading in Meknes city, Morocco. GERMS 8: 77–84.
104. Sengun IY, Karagöz S (2007) Antibacterial activities of lactic acid bacteria isolated from various dairy products. International Journal of Dairy Technology 60(4): 263–270. <https://doi.org/10.1111/j.1471-0307.2007.00338.x>

105. Sherid M, Samo S, Sulaiman S, Husein H, Sifuentes H, Sridhar S (2016) Liver abscess and bacteremia caused by lactobacillus: role of probiotics? Case report and review of the literature. *BMC Gastroenterology* 16(1): 1–6.
106. Shimizu K (2014) Regulation systems of bacteria such as *Escherichia coli* in response to nutrient limitation and environmental stresses. *Metabolites* 4(1): 1–35.
<https://doi.org/10.3390/metabo4010001>
107. Shuler ML, Kargi F (2017) *Bioprocess Engineering: Basic Concepts* (3rd ed.). Prentice Hall.
108. Silvetti T, Morandi S, Brasca M (2014) Biopreservation potential of *Enterococcus faecalis* isolated from Italian traditional raw milk cheeses. *J Food* 12: 210–217.
109. Sørhaug T, Stepaniak L (1997) Psychrotrophs and their enzymes in milk and dairy products: Quality aspects. *Trends in Food Science & Technology* 8(2): 35–41.
[https://doi.org/10.1016/S0924-2244\(97\)01007-7](https://doi.org/10.1016/S0924-2244(97)01007-7)
110. Souza CFV, et al. (2017) Bacterial diversity and antimicrobial resistance in raw milk. *Journal of Dairy Science*. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-12140>
111. Steele J, Broadbent J, Kok J (2013) Perspective on the contribution of lactic acid bacteria to cheese flavor development. *Current Opinion in Biotechnology* 24(2): 135–141.
<https://doi.org/10.1016/j.copbio.2012.11.001>
112. Tamime AY, Robinson RK (2007) *Yoghurt: Science and Technology* (3rd ed.). Woodhead Publishing.
113. Teuber M (2015) *Lactococcus*. *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria*: 1–21.
114. Tlidjane M, Benyacoub K, Aggad H (2013) Évaluation de la qualité du lait cru dans l'Ouest algérien : influence de l'hygiène de traite et de la conservation. *Sciences & Technologie C* 38: 49–56.
115. Tortora GJ, Funke BR, Case CL (2020) *Microbiology: An Introduction* (13th ed.). Pearson.
116. Van de Guchte M, Serror P, Chervaux C, Smokvina T, Ehrlich SD, Maguin E (2002) Stress responses in lactic acid bacteria. *Antonie Van Leeuwenhoek* 82: 187–216.
117. Vyletělva M, Hanuš O, Urbanova E, Kopunecz P (2000) The occurrence and identification of psychrotrophic bacteria with proteolytic and lipolytic activity in bulk milk samples at storage in primary production conditions. *Czech J Anim Sci* 45: 373–383.
118. Walstra P, Wouters JTM, Geurts TJ (2006) *Dairy Science and Technology* (2nd ed.). CRC Press.

119. Whiley RA, Hardie JM (2009) Streptococcus and related genera. In: Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, 2nd ed., vol. 3.
120. Wouters JA, Jeynov B, Rombouts FM, de Vos WM, Kuipers OP, Abee T (1999a) Analysis of the role of 7 kDa cold-shock proteins of Lactococcus lactis MG1363 in cryoprotection. Microbiology 145: 3185–3194.
121. Wouters JA, Rombouts FM, de Vos WM, Kuipers OP, Abee T (1999b) Cold shock proteins and low-temperature response of Streptococcus thermophilus CNRZ302. Applied and Environmental Microbiology 65: 4436–4442.
122. Wouters JA, Rombouts FM, Kuipers OP, de Vos WM, Abee T (2000) The role of cold-shock proteins in low-temperature adaptation of food-related bacteria. Systematic and Applied Microbiology 23(2): 165–173. [https://doi.org/10.1016/S0723-2020\(00\)80079-9](https://doi.org/10.1016/S0723-2020(00)80079-9)
123. Wouters JTM, Ayad EHE, Hugenholtz J, Smit G (2002) Microbes from raw milk for fermented dairy products. International Dairy Journal 12(2–3): 91–109. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(01\)00151-0](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(01)00151-0)
124. Yamamoto N, Wakai Y, Kawahara M (1993) Cold adaptation in Leuconostoc mesenteroides: membrane lipid alteration and cryoprotective effects of compatible solutes. Journal of Fermentation and Bioengineering 76(6): 481–486.
125. Yavuz C, Ayhan D, Karakaya E (2012) Microbiological quality of raw cow milk consumed in Burdur, Turkey. Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi 7(2): 13–17. <https://dergipark.org.tr/tr/download/article-file/173054>
126. Yu J, Song Y, Ren Y, Qing Y, Liu W, Sun Z (2017) Genome-level comparisons provide insight into the phylogeny and metabolic diversity of species within the genus Lactococcus. BMC Microbiology 17(1): 1–10.
127. Yuan L, Sadiq FA, Liu T, Flint S, Chen J, Yang H, Gu J, Zhang G, He G (2017) Psychrotrophic bacterial populations in Chinese raw dairy milk. LWT - Food Science and Technology 84: 409–418. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.05.064>
128. Zambrano MM, Kolter R (1996) GASPing for life in stationary phase. Cell 86(2): 181–184. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)80088-4](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)80088-4)
129. Zambrano MM, Siegele DA, Almirón M, Tormo A, Kolter R (1993) Microbial competition: Escherichia coli mutants that take over stationary phase cultures. Science 259(5102): 1757–1760. <https://doi.org/10.1126/science.8456302>
130. Zhang B, Wang Y, Tan Z, Li Z, Jiao Z, Huang Q (2016) Screening of probiotic activities of Lactobacilli strains isolated from traditional Tibetan Qula, a raw yak milk cheese. Asian-Australas J Anim Sci 29: 1490–1499.

131. Zhang XH, Ahmad W, Zhu XY, Chen J, Austin B (2021) Viable but nonculturable bacteria and their resuscitation: implications for cultivating uncultured marine microorganisms. *Marine Life Science & Technology* 3(2): 189–203.
<https://doi.org/10.1007/s42995-020-00071-8>
132. Zhou L, Wang Y (2021) Psychrotrophic bacteria in food: spoilage, pathogenicity and control strategies. *Trends in Food Science & Technology* 111: 370–382.
<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.02.044>



Annexe

Annexe A : Composition de milieu de culture**Milieu MRS (De Man Rogosa et sharpe, 1960)**

Extrait de levure	5g
Extrait de viande	10g
Peptone	10g
Acétate de sodium	5g
Citrate de sodium	2g
Glucose	20g
Kh ₂ po	42g
Mgso ₄	0,25g
Mnso ₄	0,05g
Agar-agar	15g
Cystéine-Hcl	0,5g
Eau distillée	1000ml
pH	6,8

Gélose nutritive

Peptone	5g
Extrait de levures	2,5g
Glucose	1g
Agar-agar	15g
pH	7,2

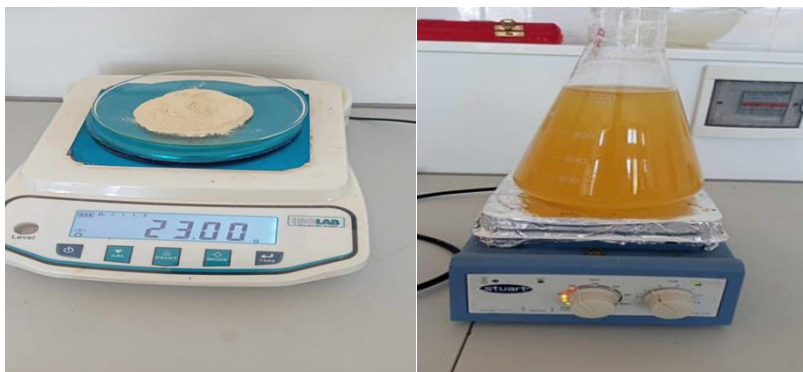
Annexe B : Analyses bactériologiques



Teste de la catalase. Le dégagement gazeux est en faveur de la présence de l'enzyme catalase dans le métabolisme respiratoire bactérien



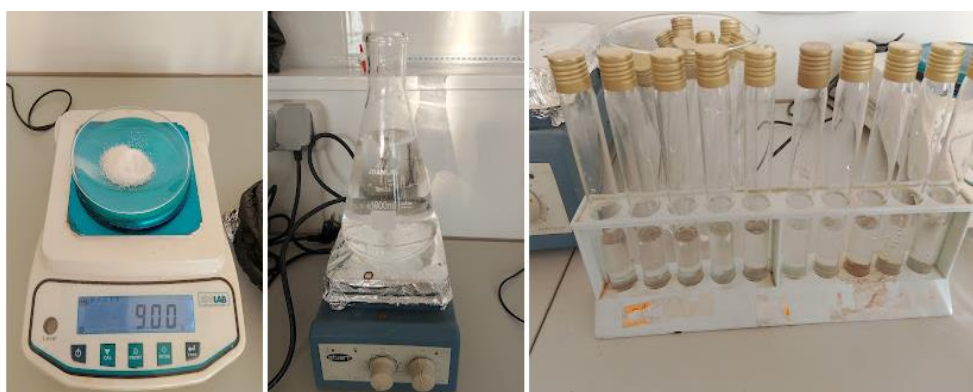
Annexe C : Matériels



Préparation de milieu Gélose nutritive



Préparation de milieu MRS



Préparation de l'eau physiologique



La coloration de Gram



Suivi du pH





Annexe D :

Les jours	0j	2j	4j	6j	8j	10j
pH	6,95	6,82	6,7	6,4	6,53	6,61

Temps	LogUFC
0j	3,06
2j	3,41
4j	3,86
6j	6,07
8j	6,83
10j	7,17

	0J			2J			4J			6J			8J			10J		
UFC/ml	1170	1130	1100	2630	2600	2740	7400	4500	4300	1200000	1070000	10100000	10100000	52000000	4800000	17700000	8400000	179000
Moyenne	3400			7970			162000			12370000			6700000			14666667		
Ecartype	35,118846			73,711148			1734,9352			51763533			2951271			5428014		
LogUFC	3,0681859			3,4199557			3,8692317			6,0791812			6,82607			7,166331		