

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Djilali Bounaama - Khemis Miliana



Faculté des sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre

Département de biologie

Filière : sciences biologiques

Option : microbiologie appliquée

Mémoire de Fin de Cycle
En vue de l'obtention du diplôme de Master en
Microbiologie appliquée

Thème

**Etude du pouvoir protéolytique des
bactéries lactiques**

Présenté par :

- AIBECHÉ ASMAA
- BELLOUNES NESRINE

Devant le jury composé de :

Mme. BENSEHAILA S
Mme. KALBAZA K
Mme. SAADI F

Président
Encadreur
Examineur

Année universitaire : 2019 / 2020

Dédicaces

Je dédie ce travail :

A mon cher papa Hoccin et ma chère maman Fatiha

*Je souhaite que vous restiez toujours près de moi et que DIEU
vous protège et vous donne bonne santé.*

*A mes chers frères et sœurs FATIMA ZAHRA, BATOUL, NADJWA
MERIEM , MOHAMED, AZZEDINE AHMED, MAHFOUD je vous
réserve toujours une place dans mon c'oeur et mes pensées.*

*A toute ma grande famille surtout mes tantes mes oncles et
toutes mes chères amies et ainsi à ma camarade NESRINE et
toute sa famille.*

Je vous aime beaucoup.

AIBECHÉ.A

Dédicace :

Nous rendons grâce à Allah le tout puissant « hamdoallah »

A celui qui m'a toujours encouragé et soutenu durant toutes mes années d'études. Merci pour ton amour et la confiance totale

A toi Mon cher Papa.

A celle qui m'a tant bercé, tant donné et tant enseigné, toi qui m'a

guidé dans le droit chemin ,toi qui m'a appris que rien est impossible...

A toi Ma Chère Maman .

A mon cher frère Amine

A mes chères sœurs Imen et Razika

A Ma chère copine Asmaâ

A Tous ceux qui sont chers et que j'ai omis involontairement de citer

Enfin à tous ceux qui aiment la science et la recherche.

BELLOUENESS.N

Remerciements

Je remercie en premier lieu DIEU, le clément, le Miséricordieux, le tout puissant.

Louange à ALLAH seigneur des mondes, qui m'a permis de réaliser ce modeste travail.

Je tiens à remercier mon promotrice KALBAZA KHADIDJA. Qui a accepté de nous encadrer, qui nous'a guider par ses précieux conseils veuillez trouver dans ce travail l'expression de notre profond respect.

Nos remerciements s'adressent également aux membres de jury : Mme BENSEHAILA et Mme .SAADI d'avoir accepté d'évaluer ce travail.

Nous remercions l'ensemble de la promotion microbiologie appliquée 2019 /2020.

Nous remercions nos familles pour leurs aides durant nos études et leurs soutiens.

Enfin nous remercions tous ceux et celles qui ont contribué de près ou loin à la réalisation de ce modeste travail.

Veuillez trouver dans ce travail l'expression de nos profonds gratitudee et respects.

Résumé

Les bactéries lactiques appartiennent à un groupe des bactéries bénéfiques dont les vertus se ressemblent. Elles sont partout dans la nature, et se trouvent aussi dans le système digestif de l'homme, elles améliorent la conservation des produits laitiers comme (le fromage, le yaourt) et améliorent les propriétés organoleptiques des produits fermentés.

Notre travail représente une étude bibliographique sur les bactéries lactiques, Nous avons en particulier mis l'accent sur la protéolyse des bactéries lactiques.

Chez la majorité des bactéries lactiques possèdent une protéinase extracellulaire (PrtP) initie la dégradation des caséines en peptides de tailles variables .ces derniers, à leur tour sont transportés à l'intérieur de la cellule via un système de transport composé de perméases (DtpP, DtpT, Opp).Au niveau de cytoplasme , la dégradation des ces peptides jusqu'au stade acide aminés est assurée par un pool des peptidases intracellulaires dépendant de la souche bactérienne .Les acides aminés obtenus en fin de ce processus, sont d'une part, utilisés par la bactérie pour satisfaire sa nutrition azotée et d'autre part, jouent un rôle essentiel comme étant une source de molécules à fort potentiel aromatisant .

Mot clés : bactéries lactiques, protéolyse, protéinase, peptidases, peptide.

ملخص

تنتمي بكتيريا حمض اللبن إلى مجموعة البكتيريا المفيدة التي تتشابه مزاياها. إنها موجودة في كل مكان في الطبيعة ، وتوجد أيضًا في الجهاز الهضمي للإنسان ، فهي تعمل على تحسين الحفاظ على منتجات الألبان مثل (الجبن والياغورت) وتحسين الخصائص الحسية للمنتجات المخمرة.

يمثل عملنا دراسة ببيوغرافية عن بكتيريا حمض اللبن ، وقد ركزنا بشكل خاص على التحلل البروتيني لبكتيريا حمض اللبن. غالبية بكتيريا حمض اللبن تحتوي على بروتين خارج الخلية (PrtP) يبدأ في تحلل الكازين إلى ببتيدات بأحجام مختلفة ، ويتم نقلها بدورها داخل الخلية عبر نظام نقل مكون من بيرميز (Opp ، DtpT ، DtpP). على مستوى السيتوبلازم ، يتم ضمان تحلل هذه الببتيدات حتى مرحلة الأحماض الأمينية بواسطة مجموعة من الببتيدات داخل الخلايا اعتمادًا على السلالة البكتيرية. الأحماض الأمينية التي تم الحصول عليها في نهاية هذه العملية هي ، من ناحية ، التي تستخدمها البكتيريا لإرضاء تغذيتها بالنيتروجين ، ومن ناحية أخرى ، تلعب دورًا أساسيًا كمصدر للجزيئات العطرية.

الكلمات المفتاحية: بكتيريا حمض اللاكتيك ، تحلل البروتين ، بروتيناز ، ببتيداز ، ببتيد.

Abstract

Lactic acid bacteria belong to a group of beneficial bacteria whose virtues are similar. They are everywhere in nature, and are also found in the human digestive system, they improve the preservation of dairy products like (cheese, yogurt) and improve the organoleptic properties of fermented products.

Our work represents a bibliographic study on lactic acid bacteria. We have particularly focused on the proteolysis of lactic acid bacteria.

In the majority of lactic acid bacteria, an extracellular proteinase (PrpP) initiates the degradation of caseins into peptides of varying sizes. These, in turn, are transported inside the cell via a transport system composed of permeases (DtpP, DtpT, Opp). At the cytoplasm level, the degradation of these peptides up to the amino acid stage is ensured by a pool of intracellular peptidases depending on the bacterial strain. The amino acids obtained at the end of this process are, on the one hand, used by the bacterium to satisfy its nitrogen nutrition and on the other hand, play an essential role as a source of molecules with strong flavoring potential.

Keywords: lactic acid bacteria, proteolysis, proteinase, peptidases, peptide.

Sommaire

Introduction.....	1
Synthèse bibliographique.....	2
1. Chapitre 1 : Généralités sur les bactéries lactiques	2
1.1. Présentation des bactéries lactiques	3
1.2. Habitat des bactéries lactiques	3
1.3. Taxonomie des bactéries lactiques	4
1.4. Caractéristiques des principaux genres des bactéries lactiques.....	7
1.4.1. <i>Lactobacillus</i>	7
1.4.2. <i>Lactococcus</i>	8
1.4.3. <i>Streptococcus</i>	9
1.4.4. <i>Enterococcus</i>	10
1.4.5. <i>Leuconostoc</i> , <i>Oenococcus</i> et <i>Weissella</i>	11
1.4.6. <i>Bifidobacterium</i>	12
1.5. Ferments utilisés en industrie	13
1.6. Besoins nutritionnels des bactéries lactiques	14
1.6.1. Effet de l'oxygène sur la croissance	14
1.6.2. Exigences en acides aminés	14
1.6.3. Exigences vitaminiques	15
1.6.4. Glucides	16
2. Chapitre N°2 : Système protéolytique des bactéries lactiques.....	17
2.1. Définition du système protéolytique	18
2.2. Définition de la protéolyse.....	19
2.3. Protéases de la paroi (protéolyse extracellulaire)	20
2.3.1. Classification et action des protéases de paroi	20
2.4. Protéases intracellulaires	21
2.5. peptidases	22
2.6. Classification et propriétés	22
2.7. Système de transport	23
2.8. Intérêt technologique des peptidases	24

Conclusion	26
Références bibliographiques.....	27

Liste des figures

Figure N°1 : Arbre phylogénétique consensus, basé sur l'analyse comparative des séquences du gène 16S, montrant les principaux groupes de bactéries lactiques, ayant un faible contenu mol% de G+C de l'ADN ainsi que les bactéries Gram positives non reliées des genres <i>bifidobacterium</i> et <i>propionibacterium</i>	6
Figure N°2 : <i>Lactobacillus casei</i> au microscope électronique	8
Figure N°3 : <i>Lactococcus lactis</i> au microscope électronique.	9
Figure N°4 : <i>Streptococcus thermophilus</i> , au microscope électronique	10
Figure N°5 : <i>Enterococcus faecalis</i> au microscope électronique	11
Figure N°6: <i>Leuconostoc mesenteroides</i> au microscope électronique.	12
Figure N° 7: <i>Bifidobacterium</i> sp	13
Figure N° 8 : Utilisation des protéines , des peptides et des acides aminés par les bactéries lactiques	19
Figure N°9 : Représentation schématique des protéases de paroi de différentes bactéries lactiques	21

Liste des tableaux

TableauN°1 : Familles et principaux genres des bactéries lactiques.....	6
Tableau N°2 : Classification des ferments utilisés dans l'industrie laitière.....	14
TableauN°3 : besoins vitaminiques des quelques bactéries lactiques	15

Liste des abréviations

ADN : Acide désoxyribonucléique.

ARN : Acide ribonucléique.

ATP : Adénosine Triphosphate.

C° : degré Celsius.

GRAS : Generally Regarded As Safe .

GC %: pourcentage en Guanine et Cytosine.

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène.

Lb : Lactobacillus .

Ln :Leuconostoc

Nacl : Chlorure de sodium.

PH : Potentiel d'hydrogène.

Sp : espèce non précisée.

Ssp :sous espèce .

St : streptocoque.

%: pourcentage.

Introduction

Les bactéries lactiques sont généralement reconnues comme étant saines, de statut "GRAS" (Generally Recognized As Safe), elles ont toujours occupé une place importante parmi les auxiliaires de fermentation et de conservation alimentaire, que ce soit en tant que microflore naturelle ou comme culture ajoutée sous des conditions contrôlées (**Garry et Le Guern, 1999 ; O'Sullivan et al, 2002**).

Elles sont parmi les plus importants groupes de micro-organismes utilisés dans la fermentation alimentaire (**Hikmate et al,2012**), sous forme de ferments lactiques commerciaux (**Axelsson, 2004, Streit et al, 2007**).

Dans le lait, le seul facteur limitant de la croissance des bactéries lactiques est la source d'azote : ainsi pour pouvoir se développer dans le lait riche en protéines et pauvres en acides aminés libres, les lactobacilles, comme les autres bactéries lactiques, déploient un système protéolytique complexe dégradant la caséine (protéine majoritaire du lait) en acides aminés et peptides. Cette protéolyse est un processus biochimique complexe mais probablement aussi le plus important dans les phases d'affinage et de maturation d'une grande variété de dérivés laitiers. En effet, la protéolyse joue un rôle majeur dans le développement des propriétés organoleptiques et rhéologiques des fromages. (**Hassaine et Beloufa, 1998, Zadi-Karam, 1998 ; Drici, 2001 ; Hassaine, 2002**).

Une large gamme d'activités métaboliques et propriétés technologique sont recherchées chez ces bactéries pour un usage industriel, telle que la protéolyse, la lipolyse ...etc. Grâce à leur richesse en enzymes protéolytique elles participent avec d'autres enzymes, à l'hydrolyse des caséines en petits peptides et acides aminés. Cette activité devient plus accrue grâce au phénomène d'autolyse bactérienne qui permet la libération des enzymes intracellulaires qui vont hydrolyser le substrat présent dans la matrice fromagère (**hassaine ,2016**).

L'objectif de notre travail est de présenter les différentes caractéristiques des bactéries lactiques tout en mettant l'accent sur leur activité protéolytique et son importance industrielle.

1. Chapitre 1 : Généralités sur les bactéries lactiques

1.1. Présentation des bactéries lactiques

Les aliments fermentés avec des bactéries lactiques présentent une part importante de l'alimentation humaine. Ces bactéries jouent un rôle essentiel dans la conservation des aliments ce qui a entraîné un intérêt scientifique de leur étude au cours des quelques dernières décennies alors que le concept de bactéries lactiques a été mis au point au début des années 1900. La première culture pure de *Bacterium lactis*, maintenant connue sous le nom *Lactococcus lactis*, a été obtenue en 1873 par Lister (**Fennema et al ,2004**)

Les bactéries lactiques sont des bacilles ou des coques à Gram positif, immobiles, non sporulées, aéro- anaérobies facultatifs ou anaérobies stricts et catalase négatif (**Sttanni et Moschetti, 2010**). Elles sont mésophiles mais elles sont capables de croître dans un intervalle de température allant de 5°C à 45°C. Le pH optimal de croissance varie de 5.0 à 9.0 mais elles tolèrent les milieux acides (PH 3.2) et alcalin (PH 9.6) (**Caplice et Fitzgerald, 1999 ; Van de Guchte et al ,2002**).

En générale ces bactéries ne possèdent ni nitrate réductase, ni cytochrome oxydase (à l'exception de quelques souches sous certaines conditions), elles sont protéolytiques, ne liquéfient pas la gélatine, et ne forment plus d'indole ni d'hydrogène sulfureux, ces bactéries sont également incapables de fermenter le glycérol (**Dellaglio et al ,1994 ; Salminen et al, 2004 ; Zhang et cai,2014**).

L'énergie des bactéries lactiques est tirée par la phosphorylation du substrat au cours de la fermentation des sucres. Cette transformation génère une à deux molécules d'ATP en fonction de la voie métabolique homo ou hétérofermentaire (**Raimbault, 2005**).

En effet, les bactéries homolactiques strictes produisent uniquement de l'acide lactique en suivant la voie D'Embden-Meyerhof, alors les bactéries hétérolactiques peuvent produire de l'acide acétique, de l'éthanol et du dioxyde de carbone en plus de l'acide lactique suivant la voie des pentoses phosphates (**Prescott et al, 2003**).

1.2. Habitat des bactéries lactiques :

Les bactéries lactiques ont été trouvées dans des sédiments datant de 2.75 milliards d'années bien avant l'apparition d'oxygène dans l'atmosphère, ce qui pourrait expliquer leur

caractère anaérobie .de plus, des études sur la phylogénie bactérienne mentionnent leur apparition avant celle des cyanobactérie (**Quiberoni et al ,2001**).

Les bactéries lactiques ont pour habitat de nombreux milieux naturels, des végétaux (plantes et fruits), des animaux et des humains (cavités buccales et vaginales, fèces et dans le lait), Les espèces du genre **Lactococcus** sont isolées du lait ou des végétaux qui sont les réservoirs naturels de la plupart de ses espèces. *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* est isolée pour la première fois à partir du lait fermenté par Lister en 1873 et reconnue comme agent primaire de l'acidification du lait caillé (**Sandine,1988**).

Parmi les espèces du genre **Streptococcus**, *Streptococcus thermophilus* est isolée du lait pasteurisé, du matériel de laiterie et de levains artisanaux (**Jones ,1978**).

Les espèces du genre **Lactobacillus** sont présent dans plusieurs milieux différents : dans le lait et le fromages (*Lb.casei* subsp.*casei*, *Lb.plantarum*, *Lb.curvatus* et *Lb.brevis*), dans les laits fermentés (*Lb.kefir* ,*Lb.brevis* et *Lb.fermentum*), dans les produits végétaux fermentés, les marinades, l'ensilages, le levin et les viandes fraîches ou fermentées (*Lb.brevis*, *Lb. curvatus*, *Lb.buchneri* et *Lb. sanfranciscensis*) (**Demazeaud,1996**).

1.3. Taxonomie des bactéries lactiques :

La systématique est en évolution permanente .il n'y a jamais eu de règles unanimement reconnues sur la façon dont deux bactéries différentes devraient être phénotypiquement classées .la littérature scientifique suit généralement les recommandations des comités de taxonomie qui opèrent sous les auspices de l'Union internationale de sociétés microbiologiques (**Sneath, 2002**) .

Décrites la première fois par Orla-Jensen au début du XXème siècle (1919), les bactéries lactiques constituent un groupe hétérogène, qui n'est pas clairement défini du point de vue taxonomique (**Lahtinen et al, 2012**), la monographie de de Orla-Jensen (1919) a constitué la base de la classification des bactéries lactiques, les critères utilisés sont : morphologie cellulaire, type fermentaire, les températures de croissance et l'utilisation des sucres.

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

La détermination du CG% était la première méthode basée sur l'utilisation de l'ADN dans la taxonomie bactérienne (**Vandamme et al,1996**), Les bactéries lactiques ont un groupe phylogénétique avec un GC de 50% en leur ADN ,le pourcentage C+G de leur ADN donne une composition assez proche pour le genre *Lactococcus* (34-46%), *Leuconostoc* (36-43%), *Pediococcus* (34-42%) et *Bifidobacterium* (67%), alors que le genre *Lactobacillus* est caractérisée par une grande hétérogénéité (32-53) (**Novel, 1993**), les bifidobactéries sont phylogénétiquement éloignées des bactéries lactiques, elles sont tout de même traditionnellement incluses dans les bactéries lactiques car elles partagent certaines caractéristiques avec elles (elles produisent de l'acide lactique et sont utilisées dans les laits fermentés (**Figure1**) (**Holzappel et al, 2001**).

La possibilité d'analyser l'ADN par des enzymes de restriction a aussi ouvert la voie à la comparaison directe des génomes en particulier après électrophorèse en champs pulsé (**Stackebrandt et al 2002**). Cette technique nouvelle a permis d'accéder à la connaissance génétique du chromosome, elle permet de mesurer sa taille et d'établir son profil de restriction, la comparaison de ces profils permet de classer ces souches à l'intérieure de la même espèce, ou de séparer les espèces (**Carr et al,2002**).

Selon la dernière édition de Bergey's manual of systematic bacteriology (2009), les bactéries lactiques sont classées dans le Phylum des *Firmicutes*, la Classe des *Bacilli* et L'Ordre des *Lactobacillales* renfermant trente-cinq genres répartis sur six familles. (*Lactobacillaceae*, *Aerococcaceae*, *Carnobacteriaceae*, *Enterococcaceae*, *Leuconostocaceae*, *Streptococcaceae*) (**Ludwig et al., 2009**).

Tableau N°1 : Familles et principaux genres des bactéries lactiques (Brenner et al ,2005).

Phylum BXIII : Firmicutes

Classe I : Bacilli

Ordre II : Lactobacillales

Familles	Principaux genres
<i>Lactobacillaceae</i>	<i>Lactobacillus sp., pediococcus sp.</i>
<i>Leuconostocaceae</i>	<i>Leuconostoc sp., oenococcus sp weissella sp.</i>
<i>Streptococaceae</i>	<i>Streptococcus sp., Lactococcus sp.</i>
<i>Carnobacteriaceae</i>	<i>Carnobacterium sp.</i>
<i>Enterococcaceae</i>	<i>Enterococcus sp., Tetragenococcus sp., Vagococcus sp.</i>
<i>Aerococcaceae</i>	<i>Aerococcus sp.</i>

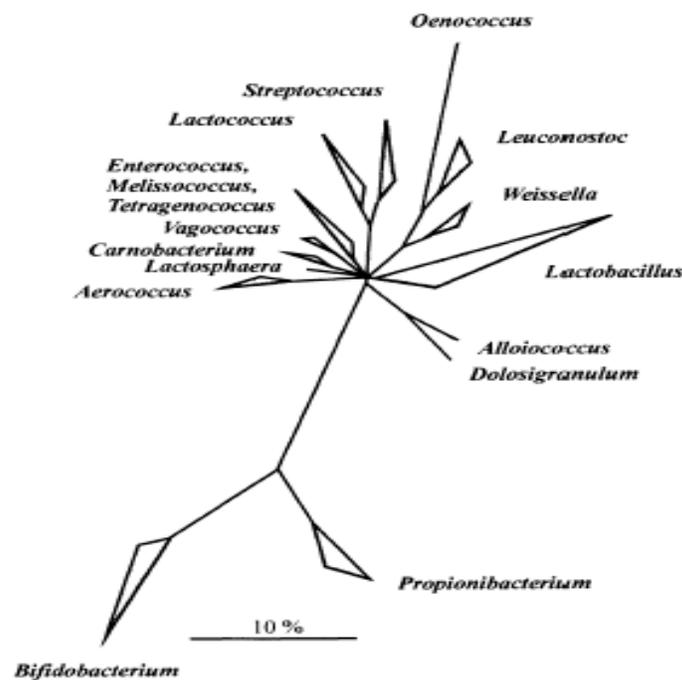


Figure N°1 : Arbre phylogénétique consensus, basé sur l'analyse comparative des séquences du gène 16S, montrant les principaux groupes de bactéries lactiques, ayant un faible contenu mol% de G+C de l'ADN ainsi que les bactéries Gram positives non reliées des genres *bifidobacterium* et *propionibacterium* (Holzapfel et al ,2001).

1.4. Caractéristiques des principaux genres des bactéries lactiques

1.4.1. Le genre *Lactobacillus* :

Le genre *Lactobacillus* a été proposé par Beijerinck en 1901. Il est quantitativement le plus important des genres du groupe des bactéries lactiques. Il s'agit de bacilles longs et fins (parfois incurvés) souvent groupés en chaînes (Figure 2), immobiles, asporulés, catalase négative, se développent à un optimum de température situé entre 30 et 40°C. Les lactobacilles ont des exigences nutritionnelles très complexes en acides aminés, en vitamines, en acides gras, en nucléotides, en glucides et en minéraux (**Khalid et Marth, 1990 ; Leclerc et al, 1994**).

Le genre *Lactobacillus* a été subdivisé selon leur type fermentaire en trois groupes selon la classification de Orla-Jensen en trois groupes remaniés par Kandler et Weiss ; et cette classification est encore utilisée en milieu industriel (**Tamime,2002**).

➤ Groupe I « *Thermobacterium* »

Il comprend les lactobacilles homofermentaires thermophiles qui se développent à 45°C mais pas à 15°C. Les espèces les plus fréquentes dans l'alimentation (lait, yaourt, fromage) sont *Lb. helveticus*, *Lb. delbrueckii*, *Lb. acidophilus*.

➤ Groupe II « *Streptobacterium* »

Il regroupe les lactobacilles homofermentaires mésophiles et peuvent être occasionnellement hétérofermentaires en fonction du substrat. Les espèces les plus fréquentes dans l'alimentation sont *Lb. casei*, *Lb. curvatus*, *Lb. sake* et *Lb. plantarum*.

➤ Groupe III « *Betabacterium* »

Ce sont des lactobacilles hétérofermentaires. Il comporte les espèces *Lb. fermentum*, *Lb. brevis* et *Lb. sanfransiscensis*.

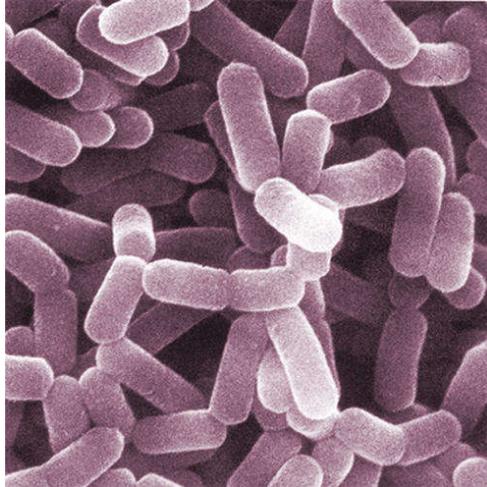


Figure N°2 : *Lactobacillus casei* au microscope électronique (Corrieu et Luquet ;2008)

1.4.2. Le genre *Lactococcus*

La première espèce de *Lactococcus* décrite fut *Bacterium lactis* par Lister (1873). Elle fut ensuite renommée *Lactococcus lactis* par **Schleifer et al (1985)** (Figure 3). Le genre *Lactococcus* comprend 7 espèces et 4 sous espèces (**Euzeby ,2011**).

Les lactocoques se présentent sous forme de coques en paires ou en chaînes de longueur variable. Ce sont des bactéries anaérobies facultatives homofermentaires ne produisant que de l'acide lactique L(+), seul *Lactococcus lactis ssp. lactis biovar. diacetylactis* produit le diacétyle. Leur température optimale de croissance est proche de 30°C, capable à se développer à 10°C mais pas à 45°C. Quelques espèces produisent des exopolysaccharides et des bactériocines. Elles sont capables à se développer à 3% de bleu de méthylène et d'hydrolyser l'arginine (**Tamime, 2002**).



Figure N°3 : *Lactococcus lactis* au microscope électronique (Corrieu et luquet , 2008).

1.4.3. Le genre *Streptococcus*

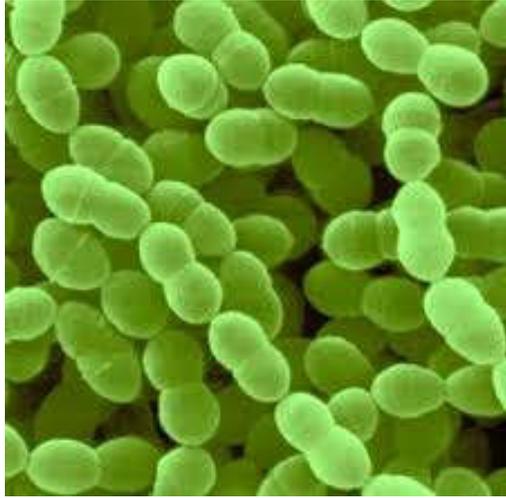
Les espèces de *Streptococcus* ont été parmi les premières bactéries à être reconnues par les microbiologistes en raison de leur implication dans un grand nombre de maladies humaines et animales (Brown, 1919).

Ce genre est généralement divisé en trois groupes : pyogène (la plupart des espèces pathogènes et hémolytiques), oral (tel que *St. salivarius*, *St. bovis*) et les autres streptocoques (Scheilfer, 1987).

Les cellules de ce genre sont immobiles, sphériques ou ovoïdes qui ont un diamètre inférieur à 2 μm avec une disposition en paires ou en chaînes longues. La fermentation des carbohydrates produit principalement de l'acide lactique mais il n'y a pas de production de gaz. Le peptidoglycane est du groupe A et leur température optimale de croissance est 37°C. Elles sont incapables à se développer à 15°C et à pH : 9,6. Beaucoup d'espèces sont commensales ou parasites de l'homme et des animaux et certaines sont hautement pathogènes.

La seule espèce de streptocoques qui soit utilisée en technologie alimentaire est *Streptococcus thermophilus* (Figure 4) qui a été incluse dans le groupe des « autres

streptocoques », mais ensuite transféré au groupe des streptocoques oraux à cause de leur degré d'homologie avec l'ADN de *Streptococcus salivarius* (Stiles et Holzappel, 1997).



**Figure N°4 : *Streptococcus thermophilus*, au microscope électronique
(Corrieu et Luquet, 2008).**

1.4.4. Le genre *Enterococcus* :

Ce genre forme des coques (Figure 5), généralement groupés ou isolés, en paire, en chaînettes ou en amas et leur morphologie peut varier selon les conditions de culture (Devriese et al, 1993).

Il se caractérise par sa tolérance à 6,5% de NaCl, au pH 9,6 et par la croissance à 10°C et 45°C avec une température optimale de croissance de 35°C à 37°C (Zhang et Cai, 2014). Les entérocoques peuvent être mobiles, homofermentaires, généralement différenciés par la fermentation de l'arabinose et le sorbitol (Tamime, 2002 ; Ho et al, 2007).



Figure N°5 : *Enterococcus faecalis* au microscope électronique (Wallace et al,2003).

1.4.5. Les genres *Leuconostoc*, *Oenococcus* et *Weissella*

Les genres *Leuconostoc*, *Oenococcus* et *Weissella*; ressemblent le plus étroitement au genre *Lactobacillus*. Ils sont Gram positif, catalase négative et anaérobie facultatif. Le genre *Weissella* regroupe deux types morphologiquement différents : les bacilles (anciennement les lactobacilles hétérofermentaires) et les coques de forme ovoïde (*Leuconostocs*, *Oenococcus* et *Streptococcus*) : *Weissella paramesenteroides* et *Weissella hellenica* (Holzapfel, 2003).

Les *leuconostoques* sont également anaérobies facultatifs et exigeants au point de vue nutritionnel et leur croissance est toujours lente, le développement des leuconostoques entraîne souvent l'apparition d'une viscosité dans le milieu grâce à la production des exopolysaccharides. Les leuconostoques principalement *Ln. mesenteroides* ssp. *cremoris* et *Ln. lactis* sont utilisés en association avec les lactocoques dans l'industrie laitière pour produire en plus de l'acide lactique et du CO₂, des substances aromatiques telles que le diacétyle et l'acétoïne à partir des citrates du lait (Hassan et Frank, 2001 ; Guiraud, 2003 ; Ogier et al., 2008).

Récemment, l'espèce *Leuconostoc oenos* isolée de vins a été classée dans un nouveau genre *Oenococcus oeni* et certaines espèces de lactobacilles hétérofermentaires ont été groupées avec *Leuconostoc paramesenteroïdes* dans le nouveau genre *Weissella* (Stiles et Holzapfel, 1997).

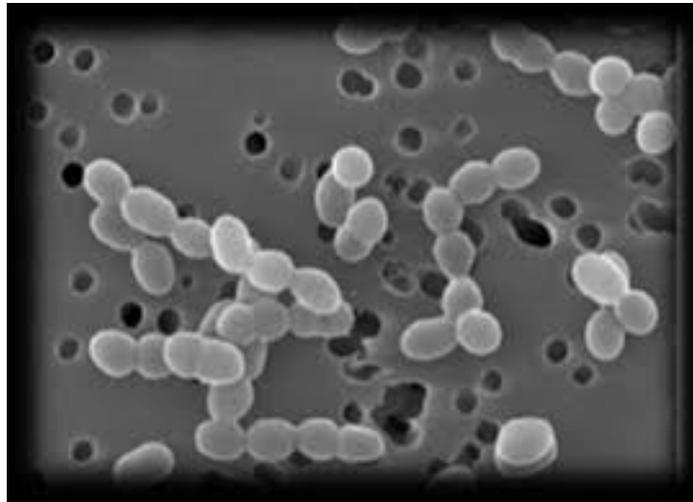


Figure N°6: *Leuconostoc mesenteroides* au microscope électronique.

(Wallace et al, 2003) .

1.4.6. Le genre *Bifidobacterium* :

Traditionnellement, le genre *Bifidobacterium* a été associé aux bactéries lactiques. Par la suite, il a été séparé en raison du contenu G+C supérieur à 50% et affecté au phylum des *Actinobacteria* (Gomez et Malcata, 1999 ; Leahy et al, 2005). Le genre *Bifidobacterium* est considéré comme faisant partie du groupe des bactéries lactiques grâce à la similarité de ses propriétés physiologiques et biochimiques et à sa présence dans le même habitat écologique, tel que le tube gastro-intestinal. (Klein et al, 1998).

Elles ont généralement un PH optimal de croissance autour de 6.5 à 7 et une température de croissance comprise entre 37°C et 41°C. Elles ont la forme irrégulière d'un V ou une morphologie bifide en forme de Y. Elles sont hétérofermentaires et dégradent les hexoses en produisant de l'acide lactique et acétique (Gomez et Malcata, 1999 ; Leahy et al, 2005).



Figure N° 7: Bifidobacterium sp (wallace et al , 2003).

1.5. Ferments utilisés en industrie :

Les ferments lactiques sont ajoutés au lait pour démarrer le procédé de fermentation. Ils sont employés pour la production d'une grande gamme de produits laitiers comme le fromage, le yaourt, le lait fermenté, le beurre et la crème (Chen, 2010 ; Van Hylckama Vlieg et Hugenholtz, 2007). Puisque la flore lactique originale du lait est soit inefficace, incontrôlable, imprévisible, ou bien détruite sous l'effet de traitement thermique auxquels le lait est soumis, les ferments lactiques ajoutés au lait, suite à l'étape de pasteurisation, assurent une fermentation plus contrôlée et plus prévisible (Yildiz, 2010 ; Chamba, 2008 ; Makarova et al ,2006).

Un ferment lactique est une préparation comprenant un grand nombre de micro-organisme (une seule espèce ou plusieurs). Qui est ajoutée au lait pour produire un aliment fermenté en accélérant et en orientant son processus de fermentation (Yildis, 2010 ; Leroy et De Vuyst, 2004).

Tableau N°2 : Classification des ferments utilisés dans l'industrie laitière (Robinson ; Ray et Bhljina, 2008).

	Microflore traditionnelle	Espèces bactériennes incorporées aux ferments lactiques
Genres	- <i>Lactococcus</i> - <i>Leuconostoc</i> - <i>Pediococcus</i> - <i>Streptococcus</i> - <i>Lactobacillus</i>	- <i>Bifidobacterium</i> - <i>Enterococcus</i> - <i>Propionibactérium</i> - <i>Brevibacterium</i>

1.6. Besoins nutritionnels des bactéries lactiques :

1.6.1. Effet de l'oxygène sur la croissance :

Généralement, les bactéries lactiques sont considérées comme des germes anaérobies facultatifs ayant une préférence pour des conditions anaérobies (**Whittenbury, 1978**). Cependant, cet auteur fait remarquer que les bactéries lactiques sont uniques parmi les bactéries capables de croître en aérobiose, par le fait qu'elles sont incapables de synthétiser des porphyrines (et donc des cytochromes et de la catalase) et qu'apparemment, elles ne sont pas capables de former de l'ATP par la chaîne de transport des électrons (ou phosphorylation oxydative). Si l'oxygène peut parfois leur être substrat, il conduit comme produit final au peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) qui est toujours un produit toxique (**Davis, 1963**).

1.6.2. Exigences en acides aminés :

Les bactéries lactiques exigent la fourniture exogène d'acides aminés (**Reiter et Oram, 1962**) pour leur croissance car elles sont, pour la plupart, incapables d'en effectuer la synthèse à partir d'une source azotée plus simple. **Law et al. (1976)** précisent que, dans un milieu «synthétique», les streptocoques du groupe N ont généralement besoin au moins de leucine, d'isoleucine, de valine, de méthionine, d'arginine, d'histidine, d'acide glutamique et, pour certaines souches, de phénylalanine, de proline et de cystine. Dans le lait, les concentrations en acides aminés libres sont trop faibles pour permettre aux levains lactiques de croître abondamment (**Mills et Thomas, 1981 ; Thomas et Mills, 1981 ; Lawrence et al., 1976**).

1.6.3. Exigences vitaminiques :

Les vitamines jouent un rôle primordial dans le métabolisme cellulaire, les bactéries lactiques sont incapables de synthétiser des vitamines (**Desmazeud et De Roissart, 1994**).

La vitamine B6 (pyridoxal) est stimulante ; l'acide aminé L-alanine peut remplacer cette dernière chez certaines souches. En général, l'acide folique ou folinique, la thiamine et la vitamine B12 ne sont pas exigés. Il existe une distinction claire entre *St. lactis* et *St. cremoris*, cette dernière espèce exigeant la riboflavine. Les exigences en biotine ont été plus difficiles à mettre en évidence car des interférences avec l'utilisation du CO₂ peuvent se produire. En effet, le CO₂ serait essentiel pour la croissance des streptocoques lactiques car il serait impliqué dans la biosynthèse de l'acide aspartique et des acides gras par un phénomène de fixation faisant intervenir la biotine (**Law et Sharpe, 1978**). Les streptocoques thermophiles montrent une exigence absolue en acide pantothénique et en riboflavine et à un moindre degré en thiamine, en nicotinamide (ou acide nicotinique) et en biotine. La pyridoxine (ou ses dérivés) stimule fortement leur croissance (**Guss et Delwiche, 1954**)

TableauN°3 : besoins vitaminiques des quelques bactéries lactiques (Corrieu et Luquet,2008).

Vitamines	Lactobacillus	Lactococcus	Streptococcus thermophilus
Acide ascorbiques			++
Acide foliques		V	V
Acide nicotinique			+
Acide pantothénique (vitamine B5)	++	++	++
Biotine	V	+	+
Cobalamine	V	V	V
Niacine	++	++	+
Pyridoxine	V	+	+
Riboflavine	++	V	++
Thiamine	V	V	+

++ : Exigence absolu

+ : stimulant mais non essentiel

v : variable selon l'espèce.

1.6.4. Les glucides :

Pour croître, les bactéries lactiques ont besoin d'un apport de nutriments comportant au moins un sucre fermentescible comme source d'énergie. La fermentation des sucres s'effectue essentiellement en trois étapes. Premièrement, le transport du sucre à travers la barrière hydrophobe de la membrane cellulaire. Deuxièmement, le catabolisme intracellulaire du sucre et enfin la formation et l'expulsion extracellulaire des métabolites terminaux généralement acides (**Desmazeaud ,1983**).

2. Chapitre N°2 : Système protéolytique des bactéries lactiques

2.1. Définition du système protéolytique

Le système protéolytique est un ensemble de composé d'une ou plusieurs protéases liées à l'enveloppe cellulaire capable de dégrader les caséines en oligopeptides, un système de transport pour des acides aminés et des peptides, une série des peptidases intracellulaires nécessaires à la dégradation des peptides du lait et des peptides dérivés des caséines en amino-acides **(Roudj , 2011)**.

L'incapacité des bactéries lactiques à synthétiser les acides aminés nécessaire à la synthèse protéique nécessite un fonctionnement actif de leurs système protéolytique dans les environnements (Figure 8) où les protéines constituent la principale source d'azote **(Law et Haandrikman, 1997 ; Kamaly et Marth, 1998)**.

Les protéines, ne peuvent traverser les enveloppes microbiennes, en particulier la membrane cytoplasmique. Donc pour être utilisés, ils doivent être au préalable hydrolysé par des systèmes protéolytiques soit extracellulaires, soit liés aux enveloppes.

D'autre part, les plus courts peptides, qui ont été transportés dans la cellule, doivent être hydrolysés en acides aminés constitutifs par les enzymes protéolytiques intracellulaires **(Law et Sharpe, 1978)**.

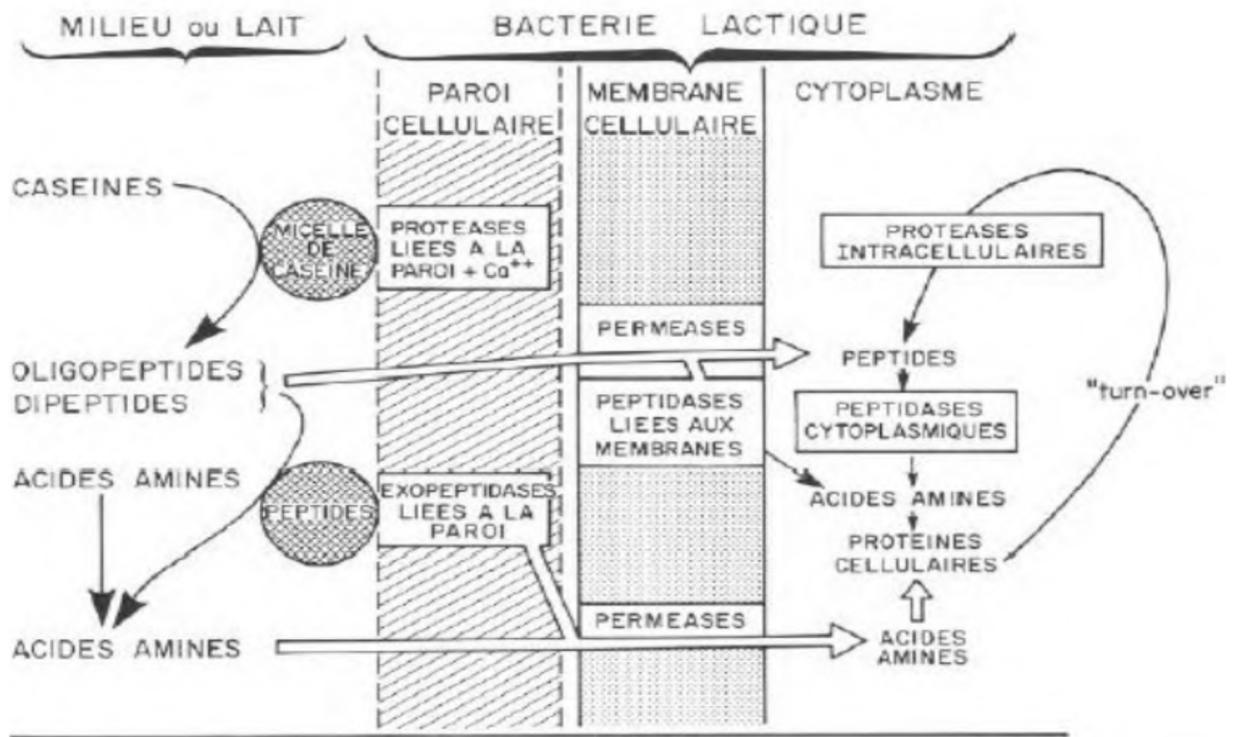


Figure N° 8 : Utilisation des protéines , des peptides et des acides aminés par les bactéries lactiques (Exterkate, 1976 ; Law et Sharpe, 1978).

2.2. Définition de la protéolyse

La protéolyse est une fragmentation (hydrolyse) d'une protéine en plusieurs morceaux sous l'action d'une enzyme. La machinerie protéolytique est constituée d'un ensemble d'enzymes qui se divisent en deux groupes :

- **Les protéases** (qui hydrolysent des protéines) et
- **les peptidases** (qui hydrolysent des peptides). Elle peuvent être classées selon trois critères différents :

- A) La nature de leur site catalytique .
- B) La capacité du clivage.
- C) Leur besoin en ATP (adénosine triphosphate).

2.3. Protéases de la paroi (protéolyse extracellulaire) :

Le départ de la protéolyse chez les souches startes commence par l'action des CEPs (cell envelope **proteases**) qui sont des enzymes à serine, elles se lient de manière covalente à la paroi et hydrolyse les caséines en oligopeptides qui peuvent être transportés à l'intérieur de la bactérie (**Hassaine, 2013**).

2.3.1. Classification et action des protéases de paroi :

Visser et al ., (1986) ont proposé une classification pour différencier des protéases des lactocoques, dont l'action est basé sur la spécificité catalytique envers les caséines . Un premier type de protéase , appelé PI était isolé des souches *Lc.lactis* HP et Wg2, ces dernières s'attaquent fortement à la caséine β mais faiblement à la caséine α , un deuxième type de protéase , appelé PIII était isolé des souches *Lc.lactis* AM1 et SKII. Elles hydrolyse la caséine β d'une manière différente de la protéase PI tout en s'attaquent à la caséine α , et la caséine k. D'autres protéases ont été isolées à partir des souches de lactocoques et posséderaient des spécificités intermédiaires entre les enzymes de type –PI et PIII (**Exterkate et al ., 1992**).

Plus récemment , des résultats similaires ont été obtenus par (**Guédon et al ., 2001**) pour les gènes PrtP1 et PrtP3 codont respectivement pour des protéases de type –PI et –PIII de la souche *Lc.lactis* subsp. *cremoisi* MG1363.

Certaines souches de bactéries lactiques ne possèdent pas des protéases de la paroi et sont dépendantes alors de l'action de la protéase chez les autres souches pour se développer dans le lait (**Savijoki et al., 2006**).

Cinq types protéases de la paroi de la même famille (Figure 9) mais présentant certaines différences ont été clonées et caractérisées à partir des bactéries lactiques. Ils s'agit de :

-Prt P de *Lc . lactis* et *Lb . paracasei*.

-Prt H de *Lb . helveticus*.

-Prt R de *Lb . rhamnosus*.

-Prt S de *S. thermophilus*.

-Prt B de *Lb. bulgaricus* (Pastar et al., 2003).

Les CEPs des bactéries lactiques sont synthétisées comme pré-protéines d'environ 200 résidus. Elles sont composées de plusieurs domaines fonctionnels : les domaines correspondent au peptide signal (PP), un domaine catalytique des protéases à sérine (PR), un domaine d'insert (I) qui régule probablement leur spécificité, le domaine (A) de fonction inconnue, le domaine (B) participant probablement à la stabilité, les domaines hélix (H) qui positionne (A) et (B) à l'extérieur de la cellule et un domaine hydrophobe (W) (Hassaine, 2013).

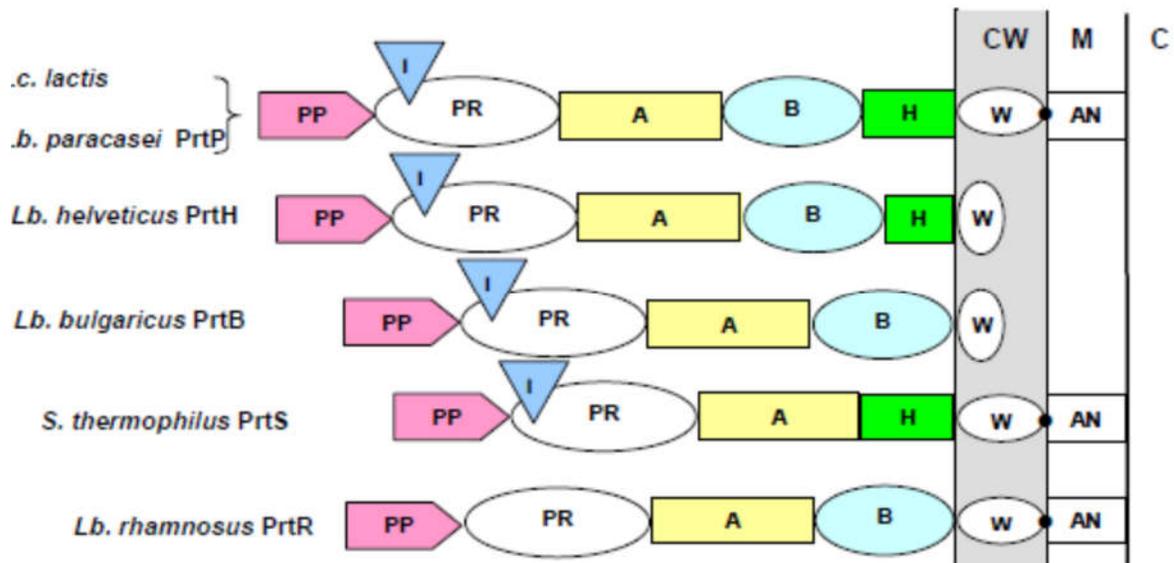


Figure N°9 : Représentation schématique des protéases de paroi de différentes bactéries lactiques selon le modèle proposé par Siezien (1999) et Savijoki et al. (2006). CW : paroi cellulaire, M : membrane cytoplasmique, C : cytoplasme.

2.4. Protéases intracellulaires :

Les bactéries lactiques possèdent également des protéases intracellulaires. Cependant leur rôle dans la maturation de fromage n'est pas précisément défini (Mc Sweeney, 2004),

Elles interviennent dans l'hydrolyse des peptides toxiques (résistance aux antibiotiques) ainsi que dans la maturation des protéines intracellulaires (**Ohmiya et Sato, 1975 ; Desmazeaud, 1983**). Une protéase intracellulaire neutre a été isolée de *Lc.lactis* subsp.*lactis* biovar *diacetylactis* ; elle est active sur la caséine β en clivant Pro186-Ile187 et Ala189-Phe190 (**Zevaco et Desmazeaud , 1980**).

Une protéase intracellulaire a également été isolée de *Lb.casei* supsp.*casei* LLG , et trouvée plus active sur la caséine β que sur les caséines α et k (**Shin et al., 2004**).

2.5. peptidases :

les oligopeptides produits par l'action de la protéase constituent la source principale d'acides aminées. Les peptidases permettent, dans les fromages, l'hydrolyse des peptides amers et la libération d'acides aminés libres et de petits peptides qui sont transportés à l'intérieur de la cellule par trois ou quatre transporteurs selon la souche. Ils appartiennent à deux grands groupes : les PRT (peptide transport) et des ABC (ATP-binding-cassette) transporteurs (**Lamarque et al ,2004**).

2.6. Classification et propriétés :

Une nomenclature a été proposé pour les peptidases , elles sont nommées Pep lorsque le gène correspondant a été caractérisé, suivie d'une lettre capital indiquant soit la spécificité de l'enzyme ou l'origine bactérienne, par exemple PepS (pour Streptocoques) ,PepN (pour indique la spécificité de l'enzyme) etc. (**Tan et al., 1993**) une grande variété de peptidases différentes par leur nature et leur spécificité a été caractérisée chez les bactéries lactiques. Les peptidases sont classées selon leurs spécificités de substrats :

-Les exopeptidases hydrolysent les liaisons peptidiques à partir des extrémités amine (N-)ou carboxyle (C-) terminales des chaînes polypeptidiques et permettent de libérer un à deux acides aminés. Elles sont désignées aussi aminopeptidases et carboxypeptidases respectivement.

-Les dipeptidases ou tripeptidases sont des exopeptidases de type aminopeptidases .

-Les **endopeptidases** hydrolysent les liaisons peptidiques à l'intérieur de l'oligopeptide. Sur la base de leur spécificité, on distingue les endopeptidases spécifiques dont la spécificité du substrat est plus étroite (**PepS , PepL , PepG , PepW et PepT**) voire spécifiques d'un acide aminé comme de la proline (**PepX , PepI , PepQ et PepR**) ou des acides aminés acides (**PepA**).

La plupart des peptidases isolées des lactocoques ont également été décrites chez les lactobacilles (**Christensen et al., 1999 ; Chen et al., 2003**) à l'exception des peptidases **PepH** et **PepP** ou aminopeptidase P (**Sridhor et al., 2003**).

En général , les aminopeptidases sont subdivisées en trois groupes selon la structure de leur site actif ou de leur mécanisme de catalyse : métallo-aminopeptidase, cystéine-aminopeptidase et sérine-aminopeptidase.

La grande majorité des peptidases identifiées sont de localisation intracellulaires (**Atlan et al., 1989 ; Kunji et al., 1996 ; Lanfermeijer et al., 1999, 2000**). Certaines peptidase hydrolysent spécifiquement certaines séquences , ainsi par exemple Pep X et Pep Q sont spécialisées dans l'hydrolyse des peptides contenant la proline, très abondante dans les caséines (**Hassaine, 2013**).

L'activité protéolytique des lactobacilles est de plus en plus étudiée pour son importance dans la fabrication fromagère et le développement d'arômes (**Bintsis et al., 2003**). Le contenu intracellulaire en peptides est spécifique de chaque souche bactérienne (**Kunji et al., 1996**). Cependant, plusieurs souches de *L. paracasei* montrent le même profil d'activité protéolytique. Leurs activités endopeptidasique et dipeptidyl aminopeptidasique sont faibles, et inférieures aux activités carboxypeptidasique et dipeptidasique (**Bintsis et al., 2003**). L'activité protéolytique des bifidobactéries a été peu étudiée. Toutefois, elle semble assez faible et inférieur à celle observée chez les lactobacilles (**Shihata et Sharpe ;2000**).

2.7. Système de transport :

Chez les bactéries lactiques, il semblerait que trois modes de transport différents sont impliqués dans la translocation des acides aminés et des peptides .

- A) **Système de transport des acides aminé** : Trois systèmes ont été isolés et décrits chez le genre *Lactococcus* (Kok, 1990 ; Kunji et al 1996) :
- **Transport couplé à une force motrice** : Ce système utilise une force motrice (PMF) généré par un potentiel électrique et gradient chimique des protons H⁺ à travers la membrane. Il est spécifique au transport des acides aminés Leu, Thr, Ile, Ala, Val, Gly et Met .
 - **Transport par échange (type antiport)** : Ce type de transport et surtout décrit pour le couple d'acides aminés ornithine/arginine, son mécanisme dépend de la concentration de l'un des deux acides aminés dans le milieu (Komings et al., 1989).
 - **Transport ATP dépendant** : L'hydrolyse des liaisons phosphate de l'ATP fournit l'énergie nécessaire au transport spécifique des acides aminés Glu, Gln, Asp, Pro et glycine-bétaine (Komings et al., 1989 ; Poolman , 1993).
- B) **Transport des di- et tri-peptides (DtpT)** : En général , il s'agit d'un transport lié à une force promotrice. C'est un système spécifique aux di- et tri-peptides hydrophiles (Hagting et al., 1997). Le transport des di- et tri-peptides , indispensable à la croissance en présence de caséines, est réalisé par le système DtpT couplé à la PMF (Kunji et al., 1993).
- C) **Transport des oligopeptides (OPP)** : Le système de transport des oligopeptides est particulièrement important pour la croissance en lait , car l'incapacité à transporter ces peptides entraine une lente coagulation du lait, même en présence de la protéase PrtP (Tynkkynen et al., 1993).

2.8. Intérêt technologique des peptidases :

Outre leur rôle dans la nutrition azotée, Les peptides des bactéries lactiques permettent l'hydrolyse des peptides amers dans les fromages et la libération d'acides aminés précurseurs de composés d'arômes (Monnet et al., 1993 ; Jakob et Piccinali, 2006). Les peptides PepN , PepT et PepX ont été rapportées les plus importantes dans le processus de l'affinage. PepN intervient dans le développement de la flaveur. Particulièrement dans la dimension de l'amertume (Guldfeldt et al., 2001).

A ce jour, les protéines laitières constituent la source la mieux caractérisée (**Léonil et al., 2002**). Outre le développement de ces produits innovants, la présence naturelle de peptides bioactifs dans des produits laitiers traditionnels comme les fromages a été mise en évidence (**Saito et al., 2000 ; Rizzello et al., 2005**). De plus, ces fromages traditionnels (utilisation de lait cru) sont à l'origine d'une diversité des souches microbiennes, ceci a pour conséquence une plus grande diversité des enzymes protéolytiques d'origine microbienne qui contribue probablement à la plus grande diversité des peptides libérés. Des données convergentes indiquent que parmi les protéines laitières, les caséines constituent probablement la source potentielle la plus intéressante de peptides bioactifs (**Sofia et al., 2005**)

Conclusion

Depuis l'antiquité, les bactéries lactiques ont été utilisées pour la fabrication et la conservation d'aliments. La découverte de leur action sur le lait fut probablement accidentelle mais leur utilisation fut perpétuée sous forme de ferments et elle est en développement continu.

Les bactéries lactiques se comportent comme des excellents ambassadeurs d'un monde microbien souvent calomnié. Elles jouent un rôle important dans l'entretien et l'amélioration de la santé de l'homme, c'est pour cela que l'industrie agroalimentaire a focalisé tout son attention sur l'étude des vertus de ces bactéries, et à la façon de les introduire plus ingénieusement dans l'alimentation afin d'en finir avec les conservateurs chimiques et artificiels qui sont fréquemment utilisés dans ce domaine.

La protéolyse joue un rôle clé dans plusieurs processus biologique chez les bactéries lactiques : nutrition azotée, activation de protéines et dégradation de protéines. La protéolyse due aux bactéries lactiques va surtout conduire à des peptides courts et à des acides aminés libres. Ces derniers sont des précurseurs pour de nombreux produits d'arômes.

L'étude de l'activité protéolytique de diverses espèces et souches de bactéries lactiques dans différentes conditions physicochimiques pourraient permettre de mettre en évidence des hydrolyses variées de caséines et la production de peptides spécifiques propres à chacune des conditions testées. Ces résultats apporteront de nouvelles connaissances sur la production de peptides techno-fonctionnels ou bioactifs lors de la fabrication de produits laitiers fermentés aux propriétés et fonctionnalités variées

Références bibliographiques

A

- **Atlan D., Laloï P., et Portalier R. (1989).** Isolation and characterization of aminopeptidase deficient *Lactobacillus bulgaricus* mutants .*Appl .Envir .Microbiol* .1717-1723.
- **Axelsson L.T.(2004).**Lactic acid bacteria : classification and physiologie .In lactic acid bacteria –microbiologie and functional aspects ,edited by s.Salminen, s. Von wright ,a. And ouwehand a.(eds),marcel dekker ,inc.633 .Pp 1-66.

B

- **Brenner, D. J., Krieg, N. R., Garrity, G. M., et Staley, J. T. (2005).** Bergey's manual of systematic bacteriology: The proteobacteria Springer.
- **Brown, J.H.(1919).** The use of blood agar for the study of streptococci, Vol,9, New York: The Rockefeller Institute for Medical Research.

C

- **Caplice, E. et Fitzgerald, G. F. (1999).** Food fermentations: role of microorganisms in food production and preservation. *International journal of food microbiology*, 50, 131–149.
- **Carr, F., J., Chill, D., et Maida, N. (2002).** The lactic Acid Bacteria : A Literature Survey .*Critical Rev .Micribiol* .,28 :4,281-370.
- **Chamba J. F., (2008).** Applications des bactéries lactiques lors des fabrications fromagères. In : Corrieu, G. and Luquet, F.M. (Eds.), *Bactéries lactiques - De la génétique aux ferments*. Lavoisier, Paris, p. 787-815.
- **Chen, G.Q. (2010).** *Plastics from bacteria 'Natural functions and applications'*, Springer, Microbiology Monographs, Volume 14, Münster, Germany, 450 p.
- **Christensen, J.E ., Dudley E.G., Pederson J.A., Steele J.L. (1999).** Peptidases and amino acid catabolism in lactic acid bacteria .*Antonie Van Leeuwenhoek* .217-246.
- **Corrieu, G., Luquet, F. M. (2008).** *Bactéries lactiques : de la génétique au ferment*. Paris : Edition Tec et Doc p. 849.

D

- **Davis, J. G. (1963).** - The lactobacilli. II. Applied aspects. In: *Progress in Industrial Microbiology*, vol. 4, Ed. Hockenull (D. 1. D.), London, Heywood & Co.
- **Dellaglio, F., De Roissart, H., Torriani, S., Curk, MC et Janssens D. (1994)** Caractéristiques générales des bactéries lactiques .In :De Roissart H, luquet FM(eds .). *Bactéries lactiques : aspects fondamentaux et technologiques* ,Lorica ,Uriage ,Paris ,France,1 : 25-116 .
- **Desmazeaud, (1983)** L'état des connaissances en matière de nutrition des bactéries lactiques. *Lait*. 63 : 267-316.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- **Desmazaud, M. J. & De Roissart, H. (1994).** Métabolisme générale des bactéries lactiques, Aspects fondamentaux et technologiques. Uriage, Lorica, France. Pp : 169-207.
- **Desmazeaud, M. (1996).** Bactéries lactiques dans : l'alimentation humaines : utilisation et innocuité . Cahiers Agricultures ,5 ,pp : 331- 343.
- **Devriese L.A. et Pot ,B.(1993).** The genus *Enterococcus* .In The Genera of lactic Acid Bacteria , Edited by wood B .j.B et Holzapfel W.H. London :Blackie academic et Professional .pp .327-367 .
- **Drici, H. (2001).** Etude biochimique de la protéolyse chez *Lactococcus lactis* et recherche du support génétique des protéases. Thèse de Magister. Université d'Oran.

E

- **El-Soda, M., Saidi, M.H., Desmazeaud, M.J., Mashaly, R., Ismail, A. (1983).** The intracellular peptide-hydrolases of *Lactobacillus plantarum*. comparaison with *Lactobacillus casei*. Lait. 1-14.
- **Euzeby, J.p. (1997).** Liste of Bacteriol Names Witch standing nomenclatura Folder available on the internet .Int.Syst.Bacteriol .47 :590-592.
- **Exterxate, F.A., De long M., De Veer, G.J.C.M., Baankreis, R.(1992).** Location and characterization of aminopeptidase Nin *Lactococcus lactis Subsp , cremoris* Hp . *Appl. Microbiol .Biotechnol.* 46-54.

F

- **Fennema,O,F ., Hui,Y.H., Karel, M., Walstra,P .,Whitaker, J.R. (2004).** Lactic acid bacteria (Microbiological and Functional Aspects) In :Salminen S ,von wright A, editors. Food science and technology a series of monographs, textbooks, and reference books. New york: Marcel Dekker, Inc .19-30 .

G

- **Gomez, A.M.P. et Malcata, F.X. (1999).** "Bifidobacterium sp and *Lactobacillus acidophilus*: biological, technological, biochemical and therapeutical properties relevant for use as probiotics" Trends in Food Science&Technology 10: 139-157.
- **Guedon, E., Serror, P., Ehrlich, S.D., Renault, P ., Delorme, C.(2001).** Pleiotropic transcriptional repressor CodY senses the intracellular pool of branhed-chain amino acids in *Lactococcus lactis*. *Mol. Microbiol.* 1227-1239.
- **Guiraud, J.P., (2003).** Microbiologie Alimentaire. Tec & Doc, Dunod. Paris. 90-292.
- **Guiraud, J .P.Et Rosec J.P.,(2004).** Pratique en Microbiologie Alimentaire. Afnor. 237-251.
- **Guldfeldt, L. V ., Sorensen, k.I., Stroman, P., Behrndt, H., Williams, D., Johanson E.(2001).** Effect of starter cultures with a genetically modified peptidolytic or lytic system on Cheddar Cheese Ripening .*Int.Dairy.J.*373-382.
- **Guss, (M. L.) and Delwiche(E. A.) (1954).** - *Streptococcus thermophilus*. I. Bacteriol., 67, 714-717.

H

- **Hagting, A., Knol, J., Hsemior, B., Streutker, M.R., Fang, G., Poolman, B., Konings W.N. (1997).** Amplifud expression , purification and functional reconstitution of the dipeptide and tripeptide transport protein of *Lactococcus lactis* .*Eur.J.Biochem.*581-587.
- **Hassaine, O., et Beloufa, H. (1998).** Contribution à l'étude de l'activité protéolytique des souches de *Lactococcus lactis*. Thèse de D.E.S. Université d'Oran.
- **Hassan, A.N. et Frank J.F., (2001).** Starter Cultures and their use. In: Applied Dairy Microbiology (Marth E.H. et Steele J.L.) 2e Ed., Marcel Dekker, Inc. New York. 151-205.
- **Hassaine, O. (2002).** Comparaison de l'activité protéolytique chez des souches de *Lactococcus lactis*. Thèse de Magister. Université d'Oran 85.
- **Hassaine, O. (2013).** Caractéristiques d'intérêts technologiques de souches de bactéries lactiques isolées de lait camelin de sud algérien .
- **Hikmate, A., Benomar, N., Antonio, C., Calballero, N., Miguel, A.F.F., Pérez-Pulido, R.Gàlvez, A. (2012).** Characterization of lactic acid bacteria from naturally-fermented Manzanilla Aloreña green table olives.*Food Microbiology* ,32 :308-316.
- **Ho, T.N.T., Tuan, N., Deschamps, A & Caubet, R. (2007)** :Isolation and identification of lactic acid bacteria (LAB) of the New chua fermented meat product of Vietnam, *Int .Workshop on Food Safety and Processing Thechnology* .Pp :134-142.
- **Holzappel, W. H., Haberer, P., Geisen, R., Bjorkroth, J. & Schillinger, U. (2001).** Taxonomy and important features of probiotic microorganisms in food and nutrition. *Am J Clin Nutr* 73, 365S-373S.
- **Holzappel, W. (2003).** Genera *Leuconostoc*, *Oenococcus* and *Weissella*. In: M. Dworkin (Ed.) *The Prokaryotes*, 3rd ed. (electronic version). SpringerVerlag. New York. NY.
- **Hylckama Vlieghe J. E. T. et Hugenholtz van J., (2007).** Mining natural diversity of lactic acid bacteria for flavour and health benefits, *International Dairy Journal*, 17:290–1297.

J

- **Jakob E., Piccinali P.(2006).** L'amertume dans les fromages. *Agroxope. Liebefeld-posieux*, 1-16.
- **Jones, D. (1978).** Composition and differentiation of genus *Streptococcus* . In: *Streptococci*. Skinner, F.A., Quesnel, L.B., Eds. Academic Press, London, pp :1-49 .

K

- **Khalid, N.M. et Marth, E.H. (1990).** *Lactobacilli*, their enzymes and role. In: ripening and spoilage of cheese.*Rev.Dairy sci* .73 :158-167.
- **Klein, G., Pack, A., et Bonaparte, G. (1998).** Taxonomy and physiology of probiotic lactic acid bacteria. *Int.J.Food Microbiol.*41:103-125.
- **Kok, J.(1990).** Genetics of the proteolytic system of lactic bacteria. *Fed. Eur. Microbiol Soc. Microbiol .Rev* .15-41.
- **Konings, W. N., Poolman B., Driessen A.J.M. (1989).** Bioenergetics and solute transport in *Lactocci*. *CRC Crit . Rev.Microbiol* .419-476.

- **Kunji, E. R., Mierau, I., Hanting, A., Poolman, B., W.N. (1996) (a)** .The proteolytic systems of lactic acid bacteria .*Antonie Van Leeuwenhoek* .187-221.
- **Kunji, E.R.S., Smid, E.J., Plapp, R, Poolman, B., Konings, W.N. (1993) (b)**. Di-tripeptides and oligopeptides are taken up via distinct transport mechanisms in *Lactococcus lactis*.*J. Bacteriol* .2052-2059.

L

- **Lahtinem, S., Ouwehand, A.C., Salminen, S. et Wright, A.V. (2012)**. Lactic acid bacteria: Microbiological and functional aspects. Eds Taylor and Francis group. Boca Raton London New York, USA.
- **Lanfermeijer, F.C., Picon, A., Konings, W.N., Poolman, B., (1999)**. Kinetics and consequences of non-and dodecapeptides to the oligopeptide binding protein OppA of *Lactococcus lactis* Biochemistry .14440-14450.
- **Lawrence, R. C., Thomas, T. D et Terzaghi, E. E. (1976)**. - Cheese starters. *J. Dairy Res.*, 43, 141-193.
- **Law, B A., Sezgin, E. et Sharpe, M. E. (1976)**. - Amino acid nutrition of some commercial cheese starters in relation to their growth in peptone supplemented whey media. *J. Dairy Res.*, 43, 291-300.
- **Law, E.A. et Sharpe, M. E. (1978)**. - *Streptococci* in the dairy industry. In: *Streptococci*. Ed. Skinner (F. A.) and Quesnel (L. B.), London. Academie Press.
- **Leahy, S. C., Higgins D. G., Fitzgerald G. F. and Van Sinderen D. (2005)**. Getting better with bifidobacteria. *Journal of Applied Microbiology*, 98 pp: 1303-1315. Leatherhead Food Research, 2009.
- **Leclerc, H., Gaillard, F.L. Et Simonet, M.,(1994)** . Les grands groupes de bactéries. In : microbiologie générale: la bactérie et le monde microbien. Doin.Paris .445. Leeuwenhoek. J.70 :331-345.
- **Leroy, F. et De Vuyst, L., (2004)**. Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry. *Trends Food Science and Technology*, 15:67–78.
- **Léonil, J., et Maubois, J.L.(2002)**.Milk-derived bioactif peptides and proteins :Future genera .*Syst.Appl.Microbiol*.461-467.
- **Ludwig, W. Schleifer, K- H. Whiman, W B. (2009)**. Order: Lactobacilles. Bergey's manual of systematic Bacteriology Second Edition Volume Three: Firmicutes. Springer Dordrecht Heidelberg London New York: 464p.

M

- **Makarova, K., Slesarev, A., Wolf, Y., Sorokin, A., Mirkin, B. et Koonin, E., (2006)**. Comparative genomics of the lactic acid bacteria. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, 429(103) :15611–15616.
- **Mc Sweeney, P.L.H. (2004)**. Biochemistry of Cheese Ripening. *Int. J. Dairy Technol.* **127-144**.
- **Mierau, I., Kunji, E.R.S, Leenhouts, K.J., Hallendoorm, M.A., Handrikman, A.J., Poolman, B., Konings, W.N., Venema, G., Kok, J. (1996)**. Multiple-peptidase mutants of *Lactococcus lactis* are severely impaired in their ability to grow in *Milk.J. of Bacteriology*. 2794-2803.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- **Mills, O. E. et Thomas, T. D. (1981).** Nitrogen sources for growth of lactic streptococci in milk. *N. Z. J. Dairy Sei. Teehnol.*, 16, 43-55.
- **Monnet, V., Chapot-Chartier, M.P., Gripon, J.C. (1993).** Les peptidases des lactocoques. *Lait* .97-108.

N

- **Novel,G. (1993).** Les bactéries lactiques. Dans : *Microbiologie industriel, les micro-organismes d'intérêt industriel*. Leveau, J.Y,Bouix ,M.,Tech.et Doc . Lavoisier Paris, pp :170-374.

O

- **Ogier, J.C., Casalta, E., FARROKH C. et Saihi, A., (2008).** Safety assessment of dairy microorganisms: The *Leuconostoc* genus. *Int. J. Food Microbiol.* 126: 286-290.
- **O'Sullivan L. Ross R.P. et Hill C. (2002).** Potential of bacteriocin-producing lactic acid bacteria for improvements in food safety and quality. *Biochimie*, 84, pp.593-604.

P

- **Penaud, S. (2006).** Analyse de la séquence génomique et Etude de l'adaptation à l'acidité de *L. delbrueckii ssp. bulgaricus* ATCC11842. Thèse de Doctorat de l'Institut National Agronomique de Paris-Grignon, 267p.
- **Poolman, B .(1993).** Energy transduction in lactic acid bacteria. *FEMS.Microbiol .Rev* .125-147.
- **Prescott, L., Harley, J., and Klein, D. (2003).** Le métabolisme: la libération et la conservation de l'énergie. In: Boeck, d., and Larcier (Eds). *Microbiologie*. Bruxelles, Belgium. pp 172-203.

Q

- **Quiberoni, A., Rezaiki, L.,El Karoui, M .,Biswas, I .,Tailliez, P. et Gruss, A. (2001)** Distinctive features of homologous recombination in an « old » microorganism , *Lactococcus Lactis ,Research Microbiology* .152 : 131-139.
- **Reiter, B. et Oram, J. D. (1962).** Nutritional studies on cheese starters. 1. Vitamin and amino acid requirements of single strain starters. *J. Dairy Res.*, 29, 63-77.

R

- **Ray, B .et Bhljnia, A. (2008).** *Fundamental food microbiology*,fourth edition Taylor & Frands Group CRC Press ,492p.
- **Rizzello, C.G., Gobbetti, M., Carbonara, T., De Bari, M.D ., Zambronin, P.G.(2005).** Antibacterial activities of peptides from the water-soluble extracts of *Italian varieties*. *J.Dairy.Sci Cheese*.2348-2360.
- **Roudj, S. (2011).** Protéolyse chez *Lactobacillus* : purification et caractérisation des protéases et aminopeptidase. Thèse de Doctorat. *Université d'Oran*.

S

- **Salminen S., Gorbach S., Lee Y.K. and Benno Y., 2004** : Human studies on probiotics : what is scientifically proven today .In : lactic acid bacteria : microbiological and functional aspects (Salminen S., Wrihgt A.V .et Ouwehand A .).3e Ed., *Marcel Dekker, Inc* . New York .Pp :515-530.
- **Saito T., Nakamura T., Kitwaza H., Kawai Y., Itok T. (2000)**. Isolation and structural analysis of antihypertensive that exist naturally in *Gouda Cheese* *J.Dairy.Sci.*1434-1440.
- **Sandine W.E.(1988)**. New nomenclature of the non-rod-shaped lactic acid bacteria . *Biochimie*, 70, PP : 519-522.
- **Schirch V., Hopkins S., Villar E. and Angelaccio S. (1985)**. Serine hydroxymethyltransferase from *Escherichia coli* : purification and properties ; *J. Bacteriol.* 163 :1-7.
- **Schleifer K.H.(1987)**. Recent changes in the taxonomy of lactic acid bacteria .*FEMS Microbiol.Letters* .46 :201-203.
- **Settanni, L. et Moschetti, G. (2010)**. Non-starter lactic acid bacteria used to improve cheese quality and provide health benefits. *Food microbiology*, 27, 691–697.
- **Shin J., Jeon W.N ; Kim G.B ; Lee B.H. (2004)**. Purification and characterization of intracellular proteinase from *Lactobacillus casei ssp. casei* LLG. *J. Dairy. Sci.* 4097-4103.
- **Sneath P.H.J (2002)** . the Archaea and the deeply branching and phototrophic bacteria –Bacterial Nomenclature .In *Bergey’s manual of systematic bacteriology* . Garrity G.M., Boone D.R., Castenholz R.W.2eEd .,721 ,83-88 .
- **Sofia V., Silva F., Malcata X., (2005)**. Caseins as source of bioactive peptides. *Int.Dairy J.*1-15.
- **Sridhar, V.R., Hughes, J.E., Webker, D.L. Broadbent, J.R., Steele, J.L.(2005)**. Identification of endopeptidase genes from the genomic sequence of *Lactobacillus helveticus* CNRZ32 and the role of these genes in hydrolysis of model bitter peptides .*Appl. Environ. Microbiol.* 3025-3032.
- **Stackebrandt, E., Frederiksen, W., Garrity, G.M., Grimont, P.A., Kampfer, P., Maiden, M.C., Nesme, X., Rossello-Mora, R., Swings, J., Truper, H.G., Vauterin, L., Ward, A.C. et Whitman, W. B. (2002)**. Report of the Ad Hoc committee for the Re-Evaluation of the species definition in Bacteriology .*Int. J.Syts. Evol. Microbiol.* 52 : 1043- 1047 .
- **Stiles M.E. and Holzapel W.H., (1997)**. Review article Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy. *Int. J. Food Microbiol.* 36 : 1-29.
- **Streit, F., (2007)** .Les Lactobacilles :propriétés ,habitats , rôle physiologique et intérêt en sante humaine ,Actualites microbiologiques . 35-41.

T

- **Tamime, A.Y. (2002)**. Microbiology of starter cultures. In :dairy microbiology handbook (robinson r.k). 3^e ed ., john wiley and sons , inc ., new york. 261-366.
- **Tan, P.S.T., Van Kessel, T.A.J.M., Van de Veerdonk, F.L.M., Zuwendonk, P.F., Bruins, A.P., Konings, W.N. (1993)**. Degradation and debittering of a tryptic digest from β -casein by aminopeptidase N from *Lactococcus lactis subsp. cremoris* WG2. *Appl. Environ. Microbiol.*1430-1436.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- **Tynkkynen, S., Buist, G., Kunji, E., Kok, J., Poolman, B., Venema, G., Haandrikman, A. (1993).** Genetic and biochemical characterization of the oligopeptide transport system of *Lactococcus lactis*. *J.Bacteriol.*7523-7532.

V

- **Vandamme, P., Pot, B., Gillis, M., de Vos, P., Kersters, K et Swings, J. (1996).** Polyphasic taxonomy, a consensus approach to bacterial systematics. *Microbiol.Rev.*60: 407-438.
- **Van de Guchte, M., Serror, P., Chervaux, C., Smokvina, T., Ehrlich, S. D., et Maguin, E. (2002).** Stress responses in lactic acid bacteria. *Antonie van Leeuwenhoek*, 82, 187–216.
- **Visser, S., Extrekatte, F.A., Slagen, C.J., De Veer, G.J.C.M. (1986).** Comparative study of action of cell wall proteins from various strains of *Streptococcus cremosis* on bovine α_1 , β , and k -casein. *Appl. Environ. Microbiol.* 1162-1166.

W

- **Wallace, T. D., Bradley, S., Buckley, N. D. & Green-Johnson, J. H. (2003).** Interactions of lactic acid bacteria with human intestinal epithelial cells: Effects on cytokine production. *Journal of Food Protection* 2003. Vol. 66 (3) : 466-472 .
- **Whittenbury, R. (1978).** - Biochemical characteristics of *Streptococcus* species. In: *Streptococci*. Ed. Skinner (F. A.) and Quesnel (L. B.), London. Academie Press.

Y

- **Yildiz, F., (2010).** Developpement and manufacture of yougurt and other dairy products, CRC Press Taylor & Francis Group, USA, 435 p.

Z

- **Zadi-Karam H. (1998).** Bactéries lactiques isolées du lait de *Camelus dromedarius*: Etude microbiologique et biochimique, caractérisation technologique, élaboration de ferments lactiques mésophiles et fabrication de fromages. Thèse de doctorat d'état en microbiologie alimentaire. Université de Constantine.
- **Zevaco, X., et Desmazeaud, M.J. (1980).** Hydrolysis of β -casein and peptides by intracellular neutral protease of *Streptococcus diacetylactis*. *J.Dairy. Sci.* .15-24.
- **Zhang, H. et Cai, Y., (2014):** Lactic Acid Bacteria Fundamentals and Praticce. Springer Dordrecht Heidelbergn New York London, P535.