**ChapitreII Les grands groupes microbiens intéressants la microbiologie alimentaire**

**1. Les bactéries lactiques**

Les bactéries lactiques sont des cocci ou des bâtonnets Gram+, catalase-. Elles synthétisent leur ATP grâce à la fermentation lactique des glucides. Les bactéries lactiques sont en général aérotolérantes. Cependant certaines espèces, habitants le tube digestif des animaux sont anaérobies strictes. Même en présence d'O2 elles sont incapables de réaliser la phosphorylation oxydative. L'absence de catalase est caractéristique, mais certaines espèces acquièrent une pseudo catalase .

**1.1. Métabolisme général des bactéries lactiques**

 **1.1.1. Définition du métabolisme**

 Le métabolisme d'une cellule vivante est l'ensemble des réactions de dégradation

(catabolisme) et de synthèse (anabolisme) permettant d'établir un cycle d'échanges avec le milieu environnant pour assurer sa survie, sa croissance et sa reproduction. Les réactions cataboliques sont exergoniques, c'est-à-dire qu'elles libèrent de l'énergie, alors que les réactions anaboliques sont endergonique c'est-à-dire qu'elles consomment de l'énergie.

 Le métabolisme énergétique des bactéries lactiques s'effectue donc par un enchaînement de réactions couplées de déshydrogénation et d'hydrogénation, faisant intervenir un donneur initial qui est généralement un sucre, un accepteur final qui est le plus souvent le pyruvate, est des intermédiaires de transport d'électrons qui sont des coenzymes associés à des déshydrogénases. La biosynthèse (ou anabolisme) est une suite de réactions de polymérisation donnant naissance à de longues chaînes moléculaires linéaires et ramifiées (polynucléotides, polysaccharides, polypeptides, etc.) qu'on appelle macromolécules et qui entrent dans la composition des structures essentielles des cellules bactériennes (appareil

nucléaire, paroi, membrane, cytoplasme).

**1.1.2 Enzymes et métabolisme**

 Les bactéries lactiques sont équipées d'un grand nombre d'enzymes différentes qui peuvent être classées selon les critères suivants :

- Leur localisation dans la bactérie : certaines enzymes sont disposées à la surface des cellules, elles y restent fixées ou diffusent dans le milieu pour y dégrader les grosses molécules incapables de traverser la membrane bactérienne ; tandis que d'autres restent dans le cytoplasme ou elles participent à de nombreuses réactions métaboliques.

-Le type de réaction qu'elles catalysent : 1.oxydoréductases; 2.Transférases;

3. Hydrolases; 4. Lyases ; 5. Isomérases ; 6. ligases.

-Le substrat qu'elles dégradent: lactase, citratase, protéinases, peptidases, etc. qui

fractionnent spécifiquement le lactose, les citrates, les protéines, les peptides, etc.

**1.1.3. Voies du catabolisme des sucres**

Selon l'espèce bactérienne et les conditions de culture, le catabolisme du glucose peut suivre une voie homofermentaire ou une voie hétérofermentaire (Figure 2).

• Les bactéries lactiques homofermentaires transforment une molécule de glucose en deux molécules de lactate par la voie des hexoses-diphosphates (encore appelée la glycolyse d'EMBDEN-MEYERHOFF-PARNAS) et génèrent parallèlement deux molécules d'ATP et du NADH2 qui est réoxydé en NAD pour assurer la poursuite du processus fermentaire(Figure 2)

 C6 H12 O6 2 C3 H6 O3

• Les bactéries lactiques hétérofermentaires transforment une molécule de glucose par la voie des pentoses-phosphates (encore appelée voie 6P-gluconate) en une molécule de CO2 et une molécule d'éthanol ou d'acétate et génèrent parallèlement deux molécules d'ATP et du NADH2 qui est réoxydé en NAD pour assurer la poursuite du processus fermentaire (Figure 2).

 C6 H12 O6 C3 H6 O3 + CO2 + C2 H5 OH (ou C2H4O2 + H2O)

Il y a une nouvelle division des bactéries lactiques en trois groupes sur la base de leur équipement enzymatique :

- **Les homofermentaires stricts** qui contiennent une fructose-diP aldolase mais pas de glucose-6-P DH ni de 6-P-gluconate DH et suivent la voie des hexoses-diphophates, exemple : *Lb. delbrueckii* .

**- Les hétérofermentaires stricts** qui contiennent les 2 déshydrogénases mais pas de fructose-diP aldolase et suivent la voie des pentoses phosphates, exemple : *Lb. brevis*

**- Les hétérofermentaires facultatifs** qui contiennent les 3 enzymes et sont capables deSuivre l'une ou l'autre des voies métaboliques, exemple : *Lb. casei* .

 **1.2. Les exigences nutritionnelles des bactéries lactiques**

 Les bactéries lactiques ont une faible aptitude biosynthétique et sont en principe,

incapables d'assimiler directement les principaux précurseurs de l'environnement terrestre. Elles ont besoin de molécules intermédiaires provenant de la biosynthèse végétale, à savoir : des sucres simples, des acides aminés, des nucléotides, et des acides gras. Elles peuvent toute fois tirer profit de molécules plus complexes provenant de la biosynthèse végétale ou animale telles que des polysaccharides, des polypeptides et des lipides, à condition de pouvoir les fractionner en molécules intermédiaires assimilables. Si les bactéries lactiques sont considérées comme un des groupes bactériens les plus exigeants du point de vue nutritionnel, c'est parce qu'elles requièrent non seulement des substrats complexes carbonés, azotés, phosphatés et soufrés, mais aussi des facteurs de croissance comme les vitamines et les cations qui ont un rôle de coenzyme.

Le groupe des bactéries lactiques inclut les agents de fermentations produisant de l'acide lactique : bacilles (*Lactobacillaceae*) et coques (*Streptococcaceae*).

**Les cocci**

 Les *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Pediococcus* et *Leuconostoc* sont des cocci sphériques ou ovoïdes, en paires, en chaînettes ou en tétrades, en général immobiles (sauf *Ec. casseliflavus*). Le métabolisme est fermentaire et peut donner à partir des glucides, de l'acide lactique ou un mélange d'acide lactique, acétique, formique de l'éthanol et du CO2 (*Leuconostoc*). Les besoins nutritionnels sont souvent complexes, la catalase est absente (parfois variable chez *Pediococcus*). Les genres *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Enterococcus* (Tableau 2) ont été anciennement regroupés en un genre unique *Streptococcus*. Ce sont des germes anaérobies facultatifs, généralement microaérophiles. Ils se développent bien à 37 C°. La plus part des espèces ne sont pas capsulées. Ils ont fréquemment un pouvoir hémolytique et peuvent être regroupés par des tests sérologiques. æCertaines espèces sont pathogènes en dehors du cadre alimentaire ; elles peuvent cependant se trouver dans les aliments (Streptocoques des mammites dans le lait) et provoquer des infections. De nombreuses espèces sont saprophytes, en particulier dans les produits laitiers. Certaines espèces sont abondamment utilisées dans les industries de fermentation lactique (laiterie, beurrerie, fromagerie, mais aussi saumures et salaisons. Ce sont les agents d'acidification et de coagulation lactiques en fromagerie. Les Streptocoques ont été classés au départ en quatre groupes d'espèces de *Streptococcus* selon les critères de Shermann :

• **Le groupe pyogenes** contient des streptocoques pathogènes, hémolytiques (hémolyse β) et appartenant aux groupes sérologiques de Lancfield A B C E F G H. L'espèce type est *S. pyogenes* (groupe A). Après 1 à 3 jours d'incubation, les troubles se manifestent par desmaux de gorge, céphalées, vomissement et fièvre. Les aliments incriminés sont le lait, les oeufs et crèmes glacées, les pâtisseries. L'espèce *S. agalactiae* (groupe B), agent de mammites, est parfois rencontrée dans l'alimentation.

• **Le groupe viridans** comprend les streptocoques à hémolyse α ou γ (groupe K).

L'espèce *S. thermophilus* est un agent d'acidification fréquent dans certains fromages et surtout les yaourts.

• **Le groupe lactique** comprend les streptocoques non hémolytique (γ), appartenant au groupe sérologique N et contient des espèces très importantes en fromagerie, *S. lactis* et *S.* *cremoris* désormais appelé *Lactococcus lactis*, *Lc. cremoris*.

• **Le groupe des entérocoques** est le groupe des streptocoques fécaux appartenant au groupe sérologique D. Ce sont des commensaux de l'intestin à hémolyse α, β ou γ. Les germes les plus rencontrés en alimentation sont essentiellement *S. faecalis*, *S. durans* et *S.* *bovis*, ils sont maintenant classés comme *Enterococcus*. Ce sont des germes test de contamination fécale, ils ne sont qu'exceptionnellement pathogènes, ce sont alors des pathogènes opportunistes avec des doses infectantes fortes (108 à 1010 cellules). *Enterococcus faecalis* résiste à 6.5 % de NaCl et 30 minutes à 60 C°.

 **Le genre *Leuconostoc***

Les *Leuconostoc* sont des cellules Gram-positives : coccoïdes, par paires ou par chaînettes. Non mobiles, asporulées, anaérobies facultatives. Leurs métabolisme est fermentatif et respiratoire. En anaérobiose, elles fermentent le glucose Aprincipalement en acide lactique, éthanol et CO2 (fermentation hétérolactique). Elles sont généralement capsulées ce qui entraîne l'apparition d'une viscosité dans le milieu. Elles ne sont pas hémolytiques ni pathogènes. Elles produisent des accidents de fabrication dans les produits acides et sucrés (piqûre lactique gazogène, viscosité), dans certains fromages (bleus) elles facilitent l'ouverture par la production de CO2. Elles interviennent aussi dans les ensilages (*L.* *mesenteroides*) et les végétaux fermentés : les olives, la choucroute, etc., mais aussi le cacao et le café. Elles se trouvent notamment sur divers produits laitiers et boissons fermentées. Le pourcentage G+C est environ 38 à 44. L’espèce type est : *L. mesenteroides.*



 **Les bacilli**

 Les *Lactobacillus* et les *Carnobacterium* sont des bactéries Gram+, pléomorphes,

asporogènes, immobiles (sauf *Lb. agilis*). Oxydase et catalase-, pour la plupart

aérotolérants, saccharoclastiques, nitrate-, gélatine-, caséine-, indole-, H2S-,

pigmentation-. Certaines souches possèdent une pseudocatalase. Leur GC % varie de 32 à 53 % (Tableau 3) .

 **Le genre *Lactobacillus***

Ce genre contient de nombreuses espèces qui sont des agents de fermentation lactique intervenant dans de nombreuses industries ou qui sont rencontrées comme

contaminants. Il s'agit de bacilles souvent allongés ou coccobacilles, Gram+, asporulés, parfois groupés en paires ou en chaînes, généralement immobiles. Anaérobies, microaérophiles ou aérobies facultatifs. Habituellement catalase- (certains ont une pseudocatalase). Certains sont homofermentaire obligés

 *Lactobacillus delbrueckii*), d'autres sont hétérofermentaires (*Lb. brevis*) et d'autres sont hétérofermentaires facultatifs (*Lb. casei*). Ils sont acidophiles, peut protéolytiques et peut lypolytiques. Se trouvent sur la végétation, dans la microflore naturelle de l'homme et dans divers produits alimentaires fermentés. Le pourcentage de G+C est d’environ 32 à 53. L’espèce type est : *Lb. delbrueckii* .

 **Le genre *Bifidobacterium***

 Chez l'homme, les *Bifidobacterium* sont des commensaux de la bouche, de

l'oesophage, de l'estomac, de l'intestin, des branches et du vagin. Chez l'animal, ils

sont surtout mis en évidence dans la flore intestinale. Ces bactéries sont des bâtonnets de morphologie variées, cellules courtes, coccoidales, cellules ramifiées, bifurquées, spatulées, isolées ou en chaînes, disposition en V ou en palissade. Ces bactéries sont Gram+, non acido-alcoolo-résistantes, non sporulées, immobiles, anaérobies, bien que quelques espèces tolèrent l'O2 en présence de CO2. Le genre est caractérisé par la présence d'une enzyme : la fructose-6-phosphate phosphocétolase. La température optimale de croissance ne dépasse pas 39 °C pour les espèces d'origine humaine, alors que les espèces d'origine animale préfèrent 43-45°C. *Bifidobacterium bifidus* meurt à 60 °C. La croissance des *Bifidobacterium* n'est pas possible à pH 4,5-5 et pH 8-8,5. Ces bactéries sont glucidolytiques et donnent de l'acide acétique et lactique; elles produisent de petites quantités d'acide formique, d'éthanol et d'acide succinique. L'acide butyrique et propionique ne sont pas produits. Les espèces en général sont catalase-. La présence d'α- galactosidase différencie rapidement les *Bifidobacterium* des *Lactobacillus*. Le GC % est de 57,2-64,5 % .

 Les *Bifidobacterium* ainsi que les espèces de *Lactobacillus* peuvent avoir une fonction préventive contre la colonisation par les entéropathogènes. *Bifidobacterium* anciennement *Lactobacillus bifidus* est utilisé dans certains yaourts «probiotiques». Sa présence entraînerait un effet anti-infectieux au niveau intestinal à cause de la présence d'un facteur bifidogène .

****

**. Rôle des bactéries lactiques dans l'alimentation**

 Le pH normal du lait est de 6,6, la croissance des bactéries lactiques se traduit par une acidification du milieu entraînant la coagulation de la caséine, à partir du pH 4,6 on obtient ainsi le caillé. La viscosité du lait peut être modifiée par les capsules mucilagineuses de quelques bactéries telles que *Leuconostoc* spp. Les bactéries lactiques produisent une variété de substances impliquées dans la flaveur : acétoine, acétaldéhyde, acétone, éthanol, diacétyl. Ces substances contribuent aux caractères organoleptiques des produits laitiers. On a également une lipolyse qui hydrolyse les acides gras libres avec formation d'acides cétoniques et de méthyle cétone, une protéolyse donnant : des peptides, des acides aminés jusqu'à l'ammoniac; cette succession d'opérations enzymatiques contribue à l'affinage des fromages .

 Les potentialités inhibitrices des bactéries lactiques sont importantes. Le phénomène d'inhibition peut inclure un ou plusieurs mécanismes : compétition nutritionnelle,

Changement physico-chimique du milieu (pH, formation d'agents réducteurs), formation de produits antimicrobiens à large spectre (acides organiques, peroxyde d'hydrogène) et production de bactériocines.

Les bactéries lactiques interviennent aussi par l'amélioration de la digestibilité et des

qualités sensorielles des produits de fermentations, en libérant des enzymes exocellulaires et, après leur lyse, des enzymes endocellulaires.

**. Culture**

 Vue les exigences nutritionnelles variées et multiples des bactéries lactiques elles sont cultivées sur des milieux spécifiques enrichis par des digestions enzymatiques de divers protéines d'origines animale ou végétale (extrait de viande, peptone, hydrolysat de caséine, urée, liqueur de mais, extrait de soja, etc.), cependant le meilleur substrat reste l'extrait de levure .Les milieux généralement utilisés pour le développement des bactéries lactiques sont les suivants :

- Streptocoques : Elliker ; M 17

- Lactocoques : Elliker, M 17

- Lactobacilles : MRS ; MRS acidifié ;BRIGGS

- Leuconostoc : APT

**-** Pediocoques : MRS ; MRS + NaCl 4 %