

République Algérienne Démocratique et Populaire

Université Abdelhamid Ibn

Badis-Mostaganem

Faculté des Sciences de la

Nature et de la Vie



جامعة عبد الحميد بن باديس

مستغانم

كلية علوم الطبيعة و الحياة

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

## MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par

**BOUDINAR FATIMA ZOHRA et BELALIA IKRAM**

Pour l'obtention du diplôme de

**MASTER EN BIOLOGIE**

**Spécialité: microbiologie appliquée**

### THEME

***L'antagonisme des bactéries lactiques  
isolées à partir de lait de chamelle vis-à-  
vis des bactéries pathogènes***

DEVANT LE JURY

Président

M. CHERIGUENE. A

Professeur U. Mostaganem

Encadreur

Mme CHOUGRANI. F

Professeur U. Mostaganem

Examineurs

M. ZABORI. Y

MAA U. Mostaganem

*Thème réalisé au Laboratoire de microbiologie*

*Faculté SNV Université de Mostaganem*

# Sommaire :

Dédicaces

Résumé

Remerciements

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction générales

Résumé

Summary

الملخص

Introduction générale.....01

## Partie 01: Synthèse bibliographique

**Chapitre n° I : Notions générales sur le dromadaire**

I.1.Le dromadaire.....	02
I.2.Description de la morphologie de l'animal.....	02
I.3.Taxonomie et race.....	02
<b>I.4. Répartition géographique et effective de camelin.....</b>	<b>03</b>
I.4.1. Répartition mondiale.....	03
I.4.2. Répartition du dromadaire en Algérie.....	04
I.5.Les races algériennes du dromadaire.....	05
I.6. Importance socioéconomique du dromadaire.....	06

**Chapitre II : Caractéristiques et composition du lait de chamelle**

II.1.Le lait.....	07
II.2.Le lait de chamelle.....	07
<b>II.3.Caractéristiques du lait camelin.....</b>	<b>08</b>
II.3.1.Caractéristiques organoleptiques.....	08
II.3.2.Caractéristiques physico-chimiques.....	09
II.4.Microbiologie du lait camelin.....	10
II.5.Importance du lait du dromadaire.....	10

**Chapitre III : Bactéries lactiques**

III.1. Présentation des bactéries lactiques.....	11
III.2. Habitat et origine des bactéries lactiques.....	11
III.3. Taxonomie des bactéries lactiques.....	12
III.4. Exigences nutritionnelles.....	14
<b>III.5. Caractéristiques des principaux genres des bactéries lactiques.....</b>	<b>14</b>
III.5.1. Le genre Lactobacillus.....	14
III.5.2. Le genre Lactococcus.....	15
III.5.3. Le genre Streptococcus.....	15
III.5.4. Le genre Enterococcus.....	16
III.5.5. Les genres Leuconostoc, Oenococcus et Weissella.....	16
III.5.6. Les genres Pediococcus et Tetragenococcus.....	17

<b>III.6. Principales voies fermentaires des bactéries lactiques.....</b>	<b>17</b>
III.6.1. Voie homofermentaire ou EMP.....	19
III.6.2. Voie hétérofermentaire ou voie des pentoses phosphate.....	19
<b>III.7. Métabolisme azoté des bactéries lactiques.....</b>	<b>19</b>
<b>III.8. Les propriétés antimicrobiennes des bactéries lactiques.....</b>	<b>21</b>
III.8.1. Le pH et les acides organiques.....	21
III.8.2. Le peroxyde d'hydrogène.....	21
III.8.3. Le dioxyde de carbone.....	21
III.8.4. Le diacétyl.....	22
III.8.5. La reutéline.....	22
III.8.6. Les bactériocines.....	23

#### **Chapitre IV : Les bactériocines**

IV.1. Historique.....	24
IV.2. Définition.....	24
IV.3. Nomenclature.....	24
IV.4. Nature.....	24
IV.5. Propriétés.....	25
<b>IV.6. la classification des bactériocines.....</b>	<b>25</b>
IV.6.1. Les bactériocines de la classe I : L'antibiotique.....	26
IV.6.2. Bactériocines de classe II.....	26
IV.6.3. Bactériocines de classe III.....	27
IV.7. Mode d'action des bactériocines.....	27
IV.8. La production des bactériocines.....	28
IV.9. L'intérêt des bactériocines.....	29
<b>IV.10. Domaines d'application des bactériocines.....</b>	<b>29</b>
IV.10.1. Utilisation alimentaire.....	29
IV.10.2. Utilisation médical et vétérinaire.....	31

### **Partie 02 : Partie expérimentale.**

#### **Chapitre V : Matériels et Méthodes**

<b>V .1. Matériels.....</b>	<b>32</b>
V.1.1. Lieu de travail.....	32
V.1.2. Echantillonnage.....	32
<b>V .1.3. Matériels expérimentaux.....</b>	<b>32</b>
<b>V .1.3.1. Les souches bactériennes.....</b>	<b>32</b>
V .1.3.1.1. les souches lactiques.....	32
V .1.3.1.2. les souches pathogènes.....	33
V.1.3.2. Produits chimiques.....	33
V.1.4. Appareillage.....	33
<b>V.2. Méthodologie utilisée.....</b>	<b>34</b>
V .2.1. Isolement et purification des souches lactiques.....	34
<b>V.2.2. Identification des isolats.....</b>	<b>34</b>
<b>V .2.2.1. Caractérisation Phénotypique.....</b>	<b>34</b>
V .2.2.1.1. Caractérisation morphologique.....	34
<b>V .2.2.2. Caractérisation biochimique et physiologique.....</b>	<b>34</b>
V .2.2.2.1. Recherche de la catalase.....	35
V.2.2.2.2. Test de type fermentaire.....	35
V.2.2.2.3. Croissance sur lait de Sherman.....	35

V.2.2.2.4. Test de croissance à différentes température et de thermorésistante.....	35
V.2.2.2.5. Croissance à différentes concentrations d'NaCl.....	35
V.2.2.2.6. Croissance à différentes valeurs de pH.....	36
V.2.2.2.7. Test d'utilisation des sucres.....	36
V.2.2.2.8. Hydrolyse de l'arginine.....	36
V.2.2.2.9. Test de production l'acétoine.....	36
V.2.2.2.10. Utilisation de citrate.....	36
V.2.2.2.11. Production de dextrans.....	36
<b>V.2.3. Etude l'activité antimicrobienne des souches.....</b>	<b>37</b>
V.2.3.1 Méthode de double couche (méthode directe).....	37
V.2.3.2. Méthode de puits (méthode indirecte) .....	39
<b>V.2.4. Conservation des souches.....</b>	<b>40</b>
V.2.4.1. Conservation courte durée.....	40
V.2.4.2. Conservation longue durée.....	40
<b>Chapitre VI : Résultats et discussion</b>	
<b>VI.1. Isolement et identification des bactéries lactiques.....</b>	<b>41</b>
VI.1.1. Isolement et purification des bactéries lactiques.....	41
<b>VI.1.2. Identification morphologiques des souches.....</b>	<b>41</b>
VI.1.2.1. Examen macroscopique.....	41
VI.1.2.2. Examen microscopique.....	41
<b>VI.1.3. Identification biochimique et physiologique.....</b>	<b>43</b>
VI.1.3.1. Recherche de la catalase.....	43
VI.1.3.2. Test de type fermentaire.....	44
VI.1.3.3. Croissance sur lait de Sherman.....	44
VI.1.3.4. Test de croissance à différentes température.....	45
VI.1.3.5. La thermorésistance.....	45
VI.1.3.6. La croissance en milieux acide.....	46
VI.1.3.7. La croissance au milieu hypersalé.....	46
VI.1.3.8. Hydrolyse de l'arginine.....	47
VI.1.3.9. Test de production l'acétoine.....	47
VI.1.3.10. Utilisation de citrate.....	48
VI.1.3.11. Production de dextrans.....	48
VI.1.3.12. Profil de fermentation des sucres.....	49
<b>VI.2. Résultats des interactions bactériennes.....</b>	<b>51</b>
<b>VI.3. Conservation des souches.....</b>	<b>52</b>
<b>Discutions générale.....</b>	<b>53</b>
<b>Conclusion.....</b>	<b>55</b>
<b>Références bibliographiques.....</b>	<b>56</b>
<b>Les annexes.....</b>	<b>65</b>

# ***REMERCIEMENTS***

*Au début et avant tout, je remercie le dieu le tout puissant, de m'avoir donné le courage, la santé de finaliser ce travail.*

*Je dois l'aboutissement de ce mémoire à de nombreuses personnes. Tout d'abord, je remercie mon encadreur Mme chougrani . F, professeur à université de Abdelhamid Ibn Badis Mostaganem, pour l'honneur qu'il m'a fait en dirigeant ce travail, je tiens à lui exprimer ma reconnaissance pour sa grande disponibilité et ses conseils tout au long de l'élaboration de ce modeste travail.*

*Je remercie Mr Cheriguene A, Maitre pour l'honneur qu'il m'a fait en acceptant de présider le jury.*

*Je remercie également Mr Zabouri Younes d'avoir accepté d'examiner ce travail.*

*Un remerciement spécial et chaleureux à Mme Hafida technicienne du laboratoire de microbiologie, pour son soutien, sa compréhension et ses encouragements .*

# ***DEDICACES***

Je dédie ce modeste travail présent entre vos mains, et qui est le fruit de plusieurs années d'effort et de travail continu :

A ma chère mère ***Aliouache Fatiha*** et mes chers grands parents ***Aliouache Harag*** et ***Aliouache Mekia*** qui m'ont soutenue et encouragée le long de mes études, avec leurs moyens matériels et morales, ainsi que leurs prières, de ma première année de l'enseignement primaire jusqu'à la rédaction de ces mots.

A mes chères tantes et mon oncle

A mes cousins et mes cousines.

A tous mes collègues et mes amies

A tous ce qui ont participé de près ou de loin à l'élaboration de ce travail.

***Boudinar Fatima Zohra***

Grace Allah

Je dédie ce modeste travail :

A mes parents

Ma chère mère *benkaaka kheira*, pour l'affection et l'amour qu'elle m'a donné le courage et la force dans les moments les plus difficiles.

Mon père *Belalia Djamel*, pour son soutien moral et ses conseils les plus précieux qui m'ont servi dans ma vie et son encouragement sans limite.

A mon cher frère : *Abdelhafid*.

A mes chères sœurs : *Imene , Manel*.

*Belalia Ikram*

## Liste des Figures :

**Figure 01** : Répartition mondiale de l'effectif camelin (FAOstat, 2013).

**Figure02** : Aire de dispersion du genre *Camelus* , la couleur foncée indique une grande population cameline (carte modifiée et adaptée) (FAO, 2009).

**Figure03** : représente la race de dromadaire d'origine algérienne.

**Figure04**: Répartition du dromadaire en Algérie (carte adaptée et modifiée à partir de dmaps.com et selon les données de Ben Aissa, 1989 ; Abdelguerfi&Ramdane, 2003).

**Figure05** : Arbre phylogénétique des principaux genres de bactéries lactiques et des genres associés, obtenu par analyse des ARNr 16S (Stiles et Holzappel, 1997).

**Figure 06**: Voies fermentaires de la dégradation du glucose (Atlan et al., 2008).

**Figure07** : Schéma du système protéolytique de *Lactococcus lactis*(Atlan et al., 2008).

**Figure 08**: les modèles de formation des pores (A) : pores en forme de coin, (B) : pore en forme de tonneau en bois debout. (Moll et al, 1999).

**Figures 09**: Illustration des étapes du test des spots sur agar.

**Figure10**: Les différentes méthodes utilisées pour recherche la nature de substance antimicrobiennes.

**Figure 11**: Répartition des souches lactiques isolées.

**Figure12**: résultat de test de catalase pour les BAL.

**Figure13** : type fermentaire des souches (*lactobacillus* ;*Leuconostoc* ; *Streptococcus* ;*Lactococcus* sur MRS contenant la cloche de durham incubée à 30°C/24h (Bellal,2018).

**Figure14** : résultat de test de Sherman à 0.1% et 0.3% de bleue de méthylène. (01) témoin ;(02) pour 0.3% bleue de méthylène. (03) pour 0.1% bleue de méthylène (Bellal, 2018).

**Figure15** : test de croissance à différente température (20°C ; 30°C ;40°C ;45°C)(Bellal,2018)

**Figure 16** : (a) résultats de résistance 63.5°c /30min ;(b) résultats de résistance 55.5°c après 24h d'incubation (Bellal, 2018).

**Figure 17** : test de croissance à (01) :pH4.5 +pH5.4 ; (02) :pH9 (Bellal, 2018).

**Figure18** : résultat de test de croissance à 4.5% NaCl ; 6.5% NaCl et 18%NaCl (Bellal, 2018).

**Liste des tableaux:**

**Tableau 01:** Classification zoologique du dromadaire (**Kadim&al., 2013**).

**Tableau 02:** Caractéristiques physico-chimiques du lait de chamelle (**FAYE, 1997**).

**Tableau 03 :** classification des bactériocines de bactéries lactiques (**d'après NES et al. 1996**).

**Tableau 04 :** les quatre bactériocines de la classe III (**Moll et al,1999**).

**Tableau05 :** Exemples d'application de bactériocines en protection de produits carnés.

**Tableau06:** les différentes souches isolées a partir du lait de chamelle.

**Tableau 07 :** Aspects macroscopiques et milieux d'isolement des souches.

**Tableau 08:** Résultats des tests catalase, coloration de Gram et aspects microscopiques de nos souches isolées.

**Tableau09:** les caractéristiques physiologiques et biochimiques des souches lactiques **Bellal, 2018**.

**Tableau10:** résultats des profils fermentaire des bactéries lactique.

**Tableau11 :** spectre d'action les BAL entre eux et les germes pathogènes.

**Liste des abréviations :**

**LP :** lacto peroxydase.

**BAL :** bactéries lactiques.

**EMP :** voie d'Embden-Meyerhof-Parnas.

**FAO :** Food and Agriculture Organisation (Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture).

**Lb:** Lactobacillus.

**Lc :** Lactococcus.

**Cl :** Clostridium.

**pH :** Potentiel hydroélectrique.

**Str :** Streptococcus.

**Sp :** sub species : (sous espèce)

**CO<sub>2</sub> :** Dioxyde de carbone.

**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> :** l'eau oxygénée.

**MRS:** de Man Rogosa Sharpe.

**MH :** La gélose Mueller-Hinton.

**HCl :** acide chlorhydrique.

**NaCl:** chlorure de sodium.

**NaOH:** Hydroxyde de sodium (soude).

**OMS :** organisation mondiale de la santé.

**T° :** température.

**UFC :** unité formant colonie.

**% :** pourcentage.

## Résumé

Le lait de chamelle présente sans aucun doute un intérêt particulier pour les nomades et les populations du sud, car il est parfaitement conforme aux exigences de l'homme vu sa haute teneur en nutriments de base (protéines, lipides, lactose), en vitamine C. Son système protecteur naturel puissant (lysozyme, lactopéroxydase, lactoferrine, immunoglobulines et protéose-peptones<sup>3</sup>) le distingue du lait bovin. Le lait de chamelle peut être consommé cru, pasteurisé ou fermenté.

Dans ce travail nous avons axé notre recherche sur l'antagonisme de quelques espèces des bactéries lactiques isolées à partir de lait cru de chamelle de la région de Ouergla vis-à-vis des bactéries pathogènes mais par suite des événements et vue la pandémie et des difficultés rencontrées on ne pouvait pas terminer ce travail c'est pourquoi nous avons entamé la discussion des résultats d'autres travaux pris les résultats des autres mémoires.

Les différentes techniques microbiologiques et biotechnologiques nous ont permis d'identifier quatre souches appartenant aux genres *Lactococcus*; *Leuconostoc*; *Lactobacillus*). On note que les souches isolées par d'autres chercheurs dans d'autres travaux ont une activité antibactérienne variée vis-à-vis les souches *E. coli*, *Staphylococcus aureus* et *Streptococcus sp et candida*. La mesure des diamètres d'inhibition révèle des diamètres qui se varient entre 1 - 14 mm.

L'aptitude de ces souches à inhiber un large groupe de bactéries pathogènes est confirmée par les résultats d'interactions entre les souches lactiques et les souches pathogènes utilisées dans cette étude.

**Mots clés :** lait, souche, Bactéries lactiques, Bactéries pathogènes, interaction, activité antimicrobienne, Antibiotique.

## Abstract

Camel milk is undoubtedly of particular interest to nomads and Populations of the south, because it is perfectly in line with the requirements of humans given its high Nutrients (proteins, lipids, lactose), vitamin C and niacin. Its powerful natural protective system (lysozyme, lactoperoxidase, lactoferrin, immunoglobulins and proteose-peptones<sup>3</sup>) distinguishes it from bovine milk. Camel milk can be eaten raw, pasteurized or fermented.

In this work, we focused our research on the probiotic antagonism of some BAL species isolated from camel raw milk from the ouergla region against pathogenic bacteria, because of some obstacles, we couldn't get this work done and relied on the results of the other research.

The different microbiological and biotechnological techniques were used to identify four strains belong to types (*Lactococcus*; *Leuconostoc*; *Lactobacillus*). It is noted that the isolated strains by other researchers having an antibacterial activity varying from very weak to strong with respect to the strains *E. coli*, *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus sp* and *candida*. The measurement of the diameters of inhibition reveals diameters which vary from 1 to 14 mm.

The ability of these strains to inhibit a large group of pathogenic bacteria is confirmed by the results of interactions between the lactic acid strains and the pathogenic strains used in this study.

**Key words:** milk, strain, Lactic acid bacteria, Pathogenic bacteria, interaction, antimicrobial activity, Antibiotic.

## المخلص

إن حليب الإبل يمثل بدون شك أهمية خاصة بالنسبة للبدو و سكان الجنوب، لأنه يتماشى تماما مع متطلبات الإنسان نظرا إلى محتواه العالي من الأغذية الأساسية (البروتينات، والدهون واللاكتوز)، وفيتامين C.

والنياسين و نظامه الوقائي (الليزوزيم، الكتوبيروكسيديز، الالكتوفيرين، ايمينوفلوبلين، والبروتيزوز، ببتون 3) وهذا ما يميزه عن حليب البقر، حليب الإبل يمكن أن يستهلك طازجا، مبسترا أو مخمر

في هذا العمل ركزنا بحثنا حول تنافر بكتيريا حمض اللاكتيك ضد البكتيريا المسببة للأمراض، ولكن بسبب العوائق التي واجهتنا بسبب الجائحة لم نستطع إكمال عملنا، لذلك إعتدنا على مناقشة نتائج البحوث الأخرى

والنقنيات التكنولوجية الحيوية والميكروبيولوجية مكنتنا من تحديد أربع سلالات تنتمي إلى الأنواع (*Lactococcus* ; *Leuconostoc*; *Lactobacillus* ).

ويلاحظ أن السلالات المعزولة ذات النشاط المضاد للبكتيريا تختلف من ضعيفة جدًا إلى قوية فيما يتعلق بالسلالات E. coli و *Staphylococcus aureus* و *Streptococcus sp* و *Candida*. قياس أقطار التثبيط يكشف عن أقطار تتراوح من 1 إلى 14 مم

إن قدرة هذه السلالات على تثبيط مجموعة كبيرة من البكتيريا المسببة للأمراض تؤكد نتائج التفاعلات بين سلالات حمض اللاكتيك والسلالات الممرضة المستخدمة في هذه الدراسة تجاه العديد من المضادات الحيوية.

**الكلمات المفتاحية :** لبن، سلالة، بكتيريا حمض اللاكتيك، بكتيريا مسببة للأمراض، تفاعل، نشاط مضاد للميكروبات، مضاد حيوي.

# Introduction générale

## Introduction générale

---

Le lait est produit par les cellules sécrétrices des glandes mammaires des mammifères. Il est destiné à l'alimentation des nourrissons. Il est riche en protéines et en glucides. De nombreux produits laitiers sont fabriqués à partir du lait. **(Vilain. A.-C. 2010)**

Le lait de chamelle, comme celui des autres mammifères, est un milieu de composition chimique et physique complexe, permettant au chamelon de couvrir ses besoins énergétiques et nutritionnels pendant la première étape de son existence **(KAMOUN et RAMET, 1989)**.

C'est à l'époque des grandes découvertes de la microbiologie, à la fin du 19<sup>ème</sup> siècle, que des chercheurs se sont penchés sur la fermentation du lait pour trouver la cause de sa coagulation acide. Des travaux de certains auteurs ont conclu que la présence de bactéries lactiques est responsable de l'acidification du lait et de la maturation de la crème **(De Roissart et Luquet, 1994)**.

Les bactéries lactiques interviennent dans l'industrie laitière et dans la fermentation de nombreux autres produits alimentaires, en contribuant à la texture, à la saveur des aliments et à la production des composés aromatiques. Ils fermentent les glucides en acide lactique d'où une diminution du pH favorable à la bio conservation des denrées alimentaires. Leur pouvoir antagoniste résulte aussi de la production du H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (le peroxyde d'hydrogène) et des bactériocines limitant la croissance de certains germes pathogènes. Pour cela, de nouveaux produits sont développés, notamment dans le secteur laitier, Il est montré que certaines souches de bactéries lactiques, peuvent jouer un rôle bénéfique pour la santé humaine.

### **Les objectifs de ce travail s'articulent autour des points suivants :**

- Isolement et identifications les bactéries lactiques isolés à partir de lait cru de chamelle.
- Effet antagonisme des bactéries lactiques vis-à-vis des souches pathogènes (*Escherichia coli* ; *Staphylococcus aureus* ; *Candida albicans* ; *pseudomonas*).

# **Synthèse bibliographique**

# **Chapitre I :**

## **Notions générales sur le dromadaire**

## Notion générale sur le dromadaire

---

### I.1. Le dromadaire :

Le nom « dromadaire » dérive du terme grecque « dromados » qui veut dire course. Il est donné à l'espèce de chameau à une seule bosse, appartenant au genre *Camelus* de la famille des *Camelidae* et dont le nom scientifique est *Camelus dromedarius* (Zeuner, 1963).

Le dromadaire (*Camelus dromedarius*) est une espèce qui existe dans plusieurs régions du monde, notamment dans les zones steppiques et désertiques du Sahara algérien. Il est connu pour sa résistance aux conditions de sécheresse qui sévissent dans ces régions. Malgré l'aridité du milieu dans lequel il vit, sa productivité en lait est élevée.

### I.2. Description de la morphologie de l'animal

Le dromadaire est un animal très distinct des autres animaux domestiques. Il possède une bosse constituée de tissu adipeux, un cou long, et une certaine callosité au niveau du sternum. Il n'a pas de cornes, les oreilles sont petites, les yeux larges et saillants, les narines longues peuvent être réformées pour les besoins de l'animal, la lèvre supérieure est divisée, fondue, poilue, extensible et très sensitive, la lèvre inférieure est large et pendante, les membres sont puissants.

La peau est souple recouverte de poils de couleur généralement brune variant du chocolat foncé à presque noir à rouge ou rouille chez quelques types (Ould Ahmed, 2009).

### I.3. Taxonomie et race :

**Tableau 01** : Classification zoologique du dromadaire (Kadim & al., 2013).

Taxonomie	
Règne	Animal
Embranchement	Vertébrés
Classe	Mammifère
Sous classe	Placentaires
Ordre	<i>Artiodactyles</i>
Sous ordre	<i>Tylopodes</i>
Famille	<i>Camélidés</i>
Genre	<i>Camelus</i>
Espèce	<i>C dromedarius</i>

### I.4. Répartition géographique et effective de camelin

#### I.4.1. Répartition mondiale

Il est difficile de déterminer exactement le nombre de chameaux dans le monde. Tout d'abord, cela est parce qu'il est principalement un animal des populations nomades qui se déplacent fréquemment. Deuxièmement, parce que les chameaux ne sont généralement pas soumis à la vaccination obligatoire. Ainsi, un recensement exhaustif pour les chameaux est assez difficile. Officiellement, le nombre total des chameaux dans le monde est d'environ 27 millions de têtes. La grande majorité de cette population (84%) sont des dromadaires (*Camelus dromedarius*). Le reste (6%) sont des chameaux à deux bosses (*Camelus bactrianus*) peuplant les régions froides de l'Asie (FAOstat, 2013) (figure 1).

Le dromadaire est, de tous les animaux domestiques, le mieux adapté aux régions chaudes, à climat désertique et subdésertique. Dans ces régions, son aire de distribution s'étend sur environ 20 millions de kilomètres carrés en Afrique au niveau des zones tropicales et subtropicales, des régions arides et semi-arides du nord de l'Afrique et jusqu'au sud-ouest de l'Asie (Cauvet, 1925 ; Hoste & Peyre de Fabrègues, 1984). Le dénominateur commun des climats de son aire de dispersion semble être la très importante variabilité interannuelle de la faible pluviométrie, la longueur et la siccité extrême de la saison sèche et l'importante amplitude thermique, tant nyctémérale que saisonnière (Peyre de Fabrègues, 1989).

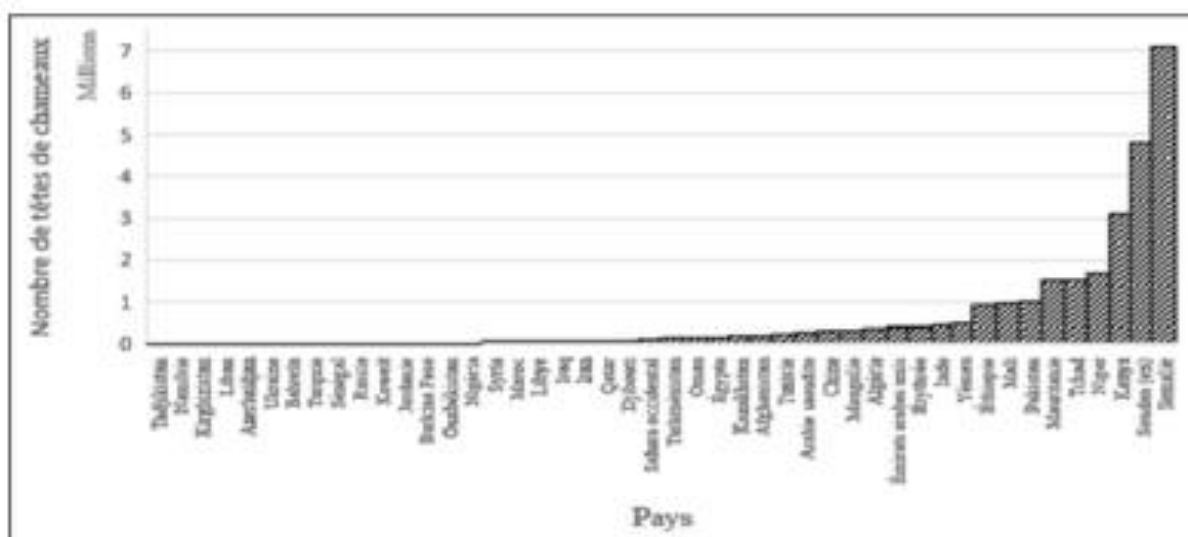


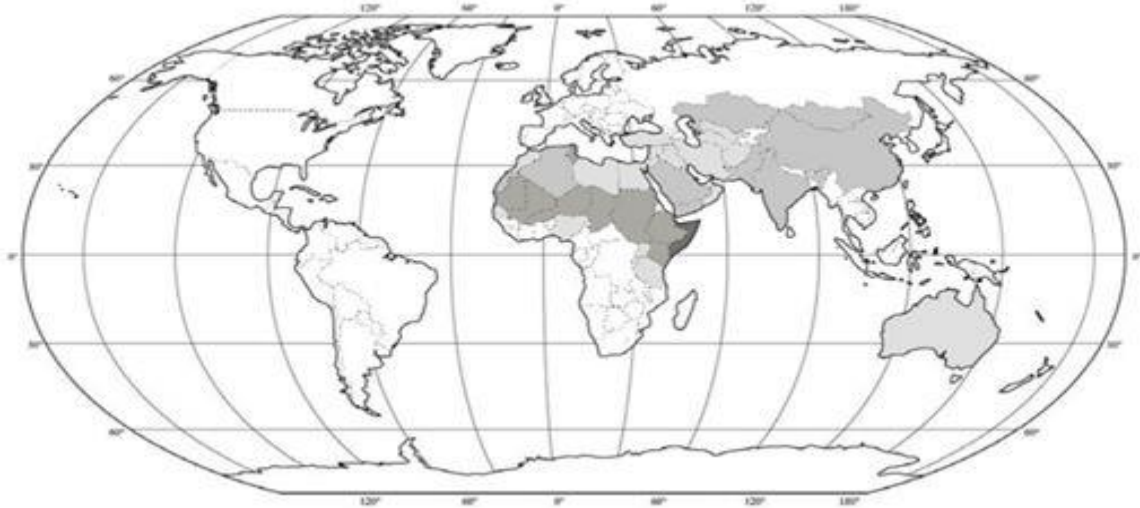
Figure 01 : Répartition mondiale de l'effectif camelin (FAOstat, 2013)

## Notion générale sur le dromadaire

---

### I.4.2. Répartition du dromadaire en Algérie

Le dromadaire est présent dans 17 Wilayas (8 sahariennes et 9 steppiques). L'effectif camelin algérien a été estimé par la FAO stat à 345000 têtes jusqu'à l'année 2013, ce chiffre situe tout de même l'Algérie au 14ème rang mondial et au 6ème rang du monde arabe. Le cheptel camelin est réparti sur trois principales zones d'élevage : le sud-est, le sud-ouest et l'extrême sud avec respectivement 52%, 18% et 30% de l'effectif total. (FAOstat, 2013).



**Figure 02** : Aire de dispersion du genre *Camelus* , la couleur foncée indique une grande population cameline (carte modifiée et adaptée) (FAO, 2009).

### I.5. Les races algériennes du dromadaire

Différentes races de dromadaires existent en Algérie et, d'une manière plus générale, en Afrique du Nord. (Ben Aïssa ;1989) mentionne l'existence de 9 races :

**4.1. Le chaambi** : sa répartition va du Grand Erg Occidental au Grand Erg Oriental.

**4.2. L'Ouled Sidi Cheikh** : on le trouve dans les Hauts Plateaux du Grand Erg Occidental.

**4.3. Le Sahraoui** : c'est un croisement entre Chaambi et Ouled sidi Cheikh. Présent dans le Grand Erg occidental jusqu'au Sahara central.

**4.4. L'Aït Khebbach** : on le trouve dans l'aire du Sud-Ouest.

**4.5. Le chameau de la steppe** : présent dans les limites du Sud de la steppe.

**4.6. Le Tergui ou race des Touaregs du Nord** : Réparti dans le Hoggar et le Sahara central.

**4.7. L'Ajjer** : dans le Tassili N'Ajjer.

**4.8. Le Reguibi** : se trouve dans le Sahara occidental de Béchar à Tindouf.

**4.9. Le chameau de l'Aftouh** : comme le précédent se trouve entre Béchar et Tindouf.



**Figure 03:** représente la race de dromadaire d'origine algérienne (*Camelus dromedarius*)

### I.6. Importance socioéconomique du dromadaire

Le dromadaire est un animal polyvalent, car il fournit des ressources alimentaires appréciables par sa viande, sa graisse, son lait. Son urine sert au traitement de certaines maladies. Sa peau, sa laine, ses excréments sont également utiles aux populations nomades (**Lhote, 1987 ; Diallo, 1989**). Mais son emploi essentiel est de servir de monture (selle) de tracter des charrues plus particulièrement sur les terrains sablonneux sa force est aussi mise à profit pour puiser l'eau des puits, et pour le bât (**Diallo, 1989**). Aucun autre animal domestique n'est en mesure de fournir autant de services variables que le dromadaire aux êtres humains.

**Chapitre II :**  
**Caractéristiques et composition du lait de**  
**chamelle**

### II.1. Le lait

Le lait est un liquide blanc, opaque, de saveur légèrement sucrée, constituant un aliment complet et équilibré, sécrété par les glandes mammaires et par celles des mammifères femelles pour la nutrition des jeunes. **ABOUTAYEB (2009)**.

Le lait est un aliment indispensable pour la vie il constitue un produit de base dans le modèle de consommation algérienne. Malgré cela, la production laitière algérienne ne permet pas l'autosuffisance, car l'accroissement du cheptel arrive à peine à suivre l'évolution de la population. Le lait représente environ 20 % des importations alimentaires totales du pays

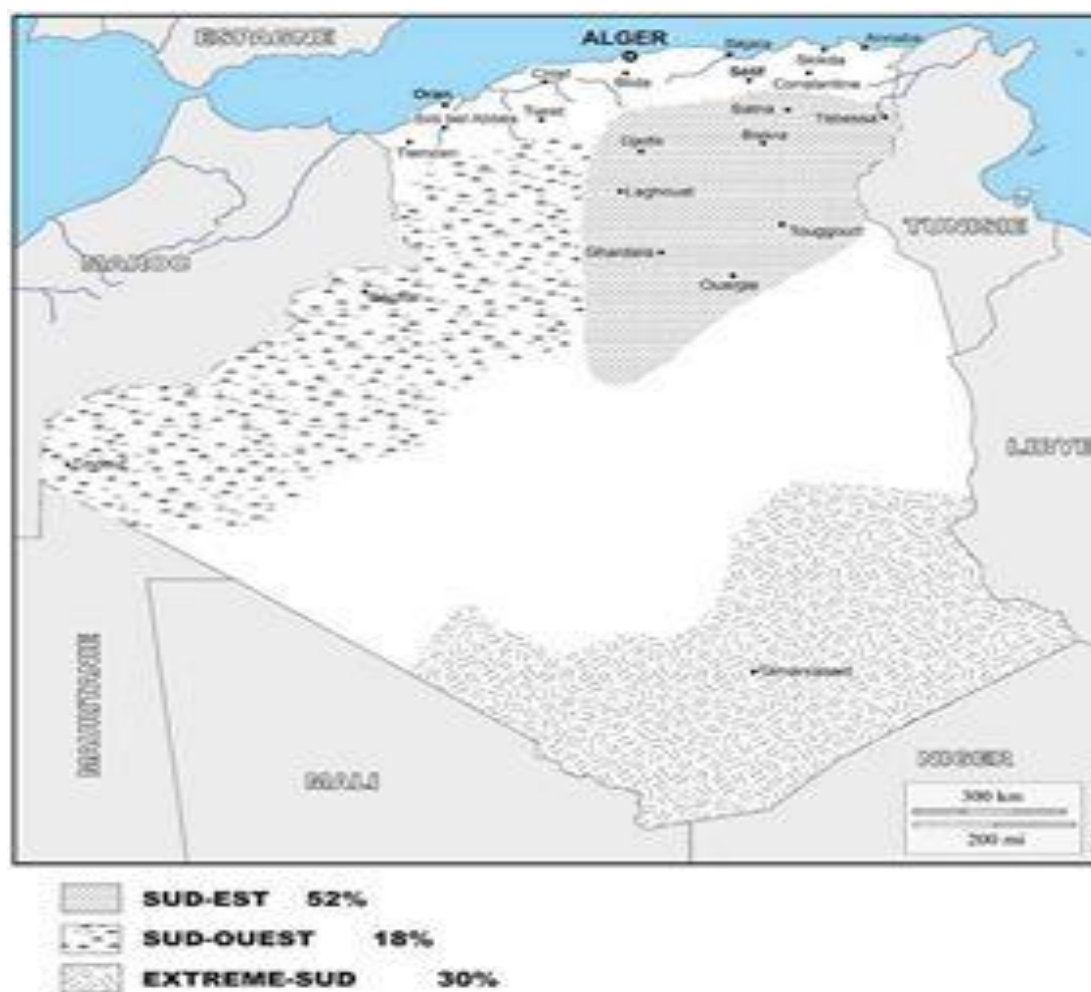
L'Algérie représente ainsi, le deuxième pays importateur de lait et produits dérivés, après le Mexique. Une élévation de la croissance des importations laitières estimée à 57% en moyenne par an à enregistrée entre 1996 et 2004, pour toutes ces raisons l'Algérie a besoin de la moindre ressource en lait, en l'occurrence celle de la chèvre, de la brebis et de la chamelle particulièrement adaptée aux rudes conditions agro-climatiques du Sahara.

### II.2. Le lait de chamelle

Le lait de chamelle caractérisé par sa richesse en lysozyme et en vitamine C, est naturellement protégé contre les attaques extérieures. En plus, le milieu naturel du dromadaire, caractérisé par de fortes insolation, des températures élevées et de faibles humidités relatives, limite le développement des microorganismes (**SAIDI M et al., 1999**).

Le lait camelin a un rôle important pour la nutrition humaine dans les zones arides et semi-arides. Il renferme tous les nutriments essentiels qu'on trouve dans le lait bovin, en quantités équilibrées (**EL-AGAMY et al, 1998**).

En Algérie, la production du lait de chamelle a occupé 0.5% de la production laitière totale durant la période allant de l'an 2000 à 2005 (**Senoussi, 2011**). D'après les estimations de la FAO stat en 2013, la production annuelle du lait de chamelle en Algérie était de 15000 tonnes (chiffre non officiel), ce qui classe l'Algérie au 13ème rang mondial des pays producteurs. Néanmoins le potentiel de la production laitière cameline était toujours sous-estimé et insuffisamment exploité. Cette filière de lait de chamelle en Algérie semble du moins la plus négligée.



**Figure 04** : Répartition du dromadaire en Algérie (carte adaptée et modifiée à partir de dmaps.com et selon les données de **Ben Aissa, 1989 ; Abdelguerfi & Ramdane, 2003**)

### I.4.Caractéristiques du lait camelin

#### I.4.1.Caractéristiques organoleptiques

Le lait camelin, est généralement blanc et opaque, avec un goût agréable (**Dilanyan, 1959; Yagil et Etzion, 1980**). Le lait de chamelle est de couleur blanche, en raison notamment de la structure et de la composition de sa matière grasse, relativement pauvre en  $\beta$ -carotène (**Sawaya et al., 1984**). Il est légèrement sucré, avec un goût acide, parfois même salé (**Abdel-Rahim, 1987**) et/ou amère (**Ramet, 2003**). Cette variabilité dans le goût est liée au type de fourrage ingéré ainsi qu'à la disponibilité en eau (**Yagil et Etzion, 1980**). Il peut se présenter sous forme crémeux qu'on il est légèrement agité (**Shalash, 1979**).

## Caractérisation et composition de lait de chamelle

---

### I.4.2. Caractéristiques physico-chimiques

Ce lait présente une composition physico-chimique relativement similaire à celle du lait bovin. Il se distingue des autres laits par la présence d'un système protecteur très puissant, lié à des taux relativement élevés en lysozyme, en lactoperoxydase, en lactoferrine et en bactériocines produites par des bactéries lactiques. (Siboukeur et al, 2012).

**Tableau 02** : Caractéristiques physico-chimiques du lait de chamelle (FAYE, 1997).

Caractéristiques	Moyenne	Maximum	Minimum
pH	6,56	6,8	6,2
Densité spécifique	1,035	1,038	1,025
Point de congélation	-0,58° C	-0,60°C	-0,55°C
Teneur en eau	87,90%	90%	84,80%
Extrait sec total	12,10%	15,20%	10,00%
Taux de matières grasses	3,80%	5,60%	2,50%
extrait sec dégraissé	8,20%	10,30%	6,20%
Teneur azotée totale	3,50%	5,50%	2,20%
dont caséines	2,60	4,10	1,50
dont alb.et glob	0,90	1,40	0,50
Teneur en lactose	3,90%	5,10%	2,60%
Teneur en Cl	0,16%	0,17%	0,14%
Teneur en cendres	0,76%	0,90%	0,60%

### I.5. Microbiologie du lait camelin:

La qualité d'un aliment n'est pas uniquement définie par les différentes teneurs en nutriments qu'il contient, ni par sa composition en matières premières ou sa digestibilité et son appétence, ni même par son apparence ou ses caractéristiques sensorielles, mais aussi et surtout par son état hygiénique (**GAFNER, 2012**).

Le lait est un substrat renfermant des concentrations satisfaisantes en protéines, en glucides, en lipides, en sels minéraux et en vitamines nécessaires à la croissance cellulaire. Les microorganismes existant dans notre environnement, vont donc trouver dans ce bioproduit un substrat idéal pour leur développement. La présence de nombreux facteurs de croissance permet de satisfaire de nombreuses espèces microbiennes exigeantes et difficiles à cultiver dans un milieu moins complet (**LARPENT et al., 1997**).

### I.6. Importance du lait du dromadaire

Le lait occupe une place importante dans l'alimentation quotidienne de l'homme en raison de sa composition équilibrée en nutriments de base tels que les glucides, les lipides, les protéines, les vitamines et les éléments minéraux. Le lait camelin, en particulier, représente la seule source de protéines alimentaires régulières, pour les populations nomades et sédentarisées pratiquant l'élevage camelin (**Mati, 1999**). Le lait de chamelle est le plus proche du lait de la femme que tous les autres laits (**Hosseini et al., 2015**). Le lait de chamelle est riche en matière nutritive et possède de propriétés thérapeutiques innombrables et convient très bien à la croissance des enfants (**Zibae et al., 2015**).

# **Chapitre III : Bactéries lactiques**

### III.1. Présentation des bactéries lactiques

Décrites pour la première fois par Orla-Jensen au début du XXe siècle, les bactéries lactiques constituent un groupe hétérogène, qui n'est pas clairement défini du point de vue taxonomique.

Elles rassemblent en effet un certain nombre de genres qui se caractérisent par la production, liée à un métabolisme exclusivement fermentaire, de quantités importantes d'acide lactique à partir des sucres. La fermentation est dite : homolactique si l'acide lactique est pratiquement le seul produit formé et hétérolactique si d'autres composés sont aussi présents (acide acétique, éthanol, CO<sub>2</sub> ...etc.) (**Leveau et Bouix, 1993 ; Pilet et al., 2005**).

Les bactéries lactiques sont un groupe de bacilles ou coccobacilles à Gram positif qui ont moins de 55 % de contenu G+C dans leur ADN (à l'exception des bifidobactéries (**Ammour., 2004**)).

Ce sont des cellules procaryotes, hétérotrophes et chimioorganotrophes. Elles sont Gram positives, généralement immobiles, asporulées, anaérobies mais aérotoles (microaérophiles). Elles sont dépourvues de nombreuses activités enzymatiques comme la catalase, la nitrate réductase et la cytochrome oxydase, aussi elles ne produisent pas d'indole ni acide sulfhydrique et certaines espèces hydrolysent la caséine. En raison de leur faible capacité biosynthétique, ces bactéries ont des exigences nutritionnelles complexes pour les acides aminés, les peptides, les vitamines, les sels, les acides gras et les glucides fermentescibles. (**Dellaglio et al, 1994**)

### III.2. Habitat et origine des bactéries lactiques

La source originale des bactéries lactiques est constituée par les plantes vertes, et suite à des processus d'évolution et d'adaptation, ces bactéries ont colonisé d'autres environnements et se trouvent ainsi dans divers habitats, tant que ceux-ci réunissent les conditions adéquates pour satisfaire leurs besoins nutritifs (**Fenton, 1987 ; Kelly et al, 1998 ; Carr et al, 2002**).

De cette manière, le lait auquel les BAL peuvent accéder à travers le corps de l'animal, les excréments ou les végétaux, est devenu un habitat caractéristique des bactéries lactiques, et ainsi elles se trouvent associées à divers produits laitiers fermentés (**Dellaglio et al, 1994**).

Il faut signaler en outre que les BAL font partie de la microflore naturelle de la bouche, du tractus intestinal et du vagin de l'espèce humaine et de nombreux animaux homéothermes.

### III.3. Taxonomie des bactéries lactiques

Depuis la description du *Bacterium lactis* (actuellement *Lactococcus lactis*), la taxonomie des bactéries lactiques est en évolution permanente. Le nombre de nouvelles espèces a augmenté énormément au cours de ces dix dernières années. Les réorganisations effectuées ont contribué à fusionner des espèces en une seule, ou identifier une espèce comme un nouveau genre.

La classification des bactéries lactiques peut se faire selon des critères phylogénétiques par l'utilisation des méthodes moléculaires. Cependant, la caractérisation phénotypique /biochimique classique demeure pratique dans l'identification préliminaire des microorganismes. Certaines caractéristiques phénotypiques sont utilisées pour identifier les espèces à l'intérieur des genres comme la capacité à : fermenter les hydrates de carbone, tolérer différentes concentrations en bile, produire des polysaccharides extracellulaires, exiger des facteurs de croissance, produire de l'acétoïne et synthétiser certaines enzymes. La composition en G+C de l'ADN, la composition en acides gras, la mobilité électrophorétique de la lactate déshydrogénase sont également d'autres critères qui peuvent être étudiés pour l'identification des espèces lactiques (**Vandamme, 1996 ; Stiles et Holzopfel, 1997 ; Ho et al.,2007**).

A ce groupe de bactéries lactiques, appartient plusieurs genres comme *Aerococcus*, *Atopobium*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus* et *Weissella*. (**Stiles et Holzapfel, 1997 ; Pot, 2008**).

Des genres nouveaux, par exemple *Alloiococcus*, *Dolosicoccus*, *Dolosigranulum*, *Eremococcus*, *Facklamia*, *Globicatella*, *Helococcus*, *Ignavigranum* et *Lactosphaera*, ont également été décrits, comportant des souches qui montrent des liens physiologiques et phylogénétiques avec les groupe des bactéries lactiques (**Broadbent, 2001 ; Axelsson, 2004**).

Le genre *Bifidobacterium* est actuellement considéré par plusieurs auteurs comme genre de bactéries lactiques, bien qu'il se distingue par un pourcentage en G+C de 55%, largement supérieur à celui des autres genres et par une voie métabolique de fermentation des sucres particulière. Les études phylogénétiques basées sur l'analyse des séquences des ARN ribosomiques ont confirmé l'appartenance de ces différents genres à un même groupe qui inclut également *Clostridium*, *Bacillus* et *Propionibacterium* (**figure 01**) (**Stiles et Holzopfel, 1997 ; Pilet et al., 2005**).

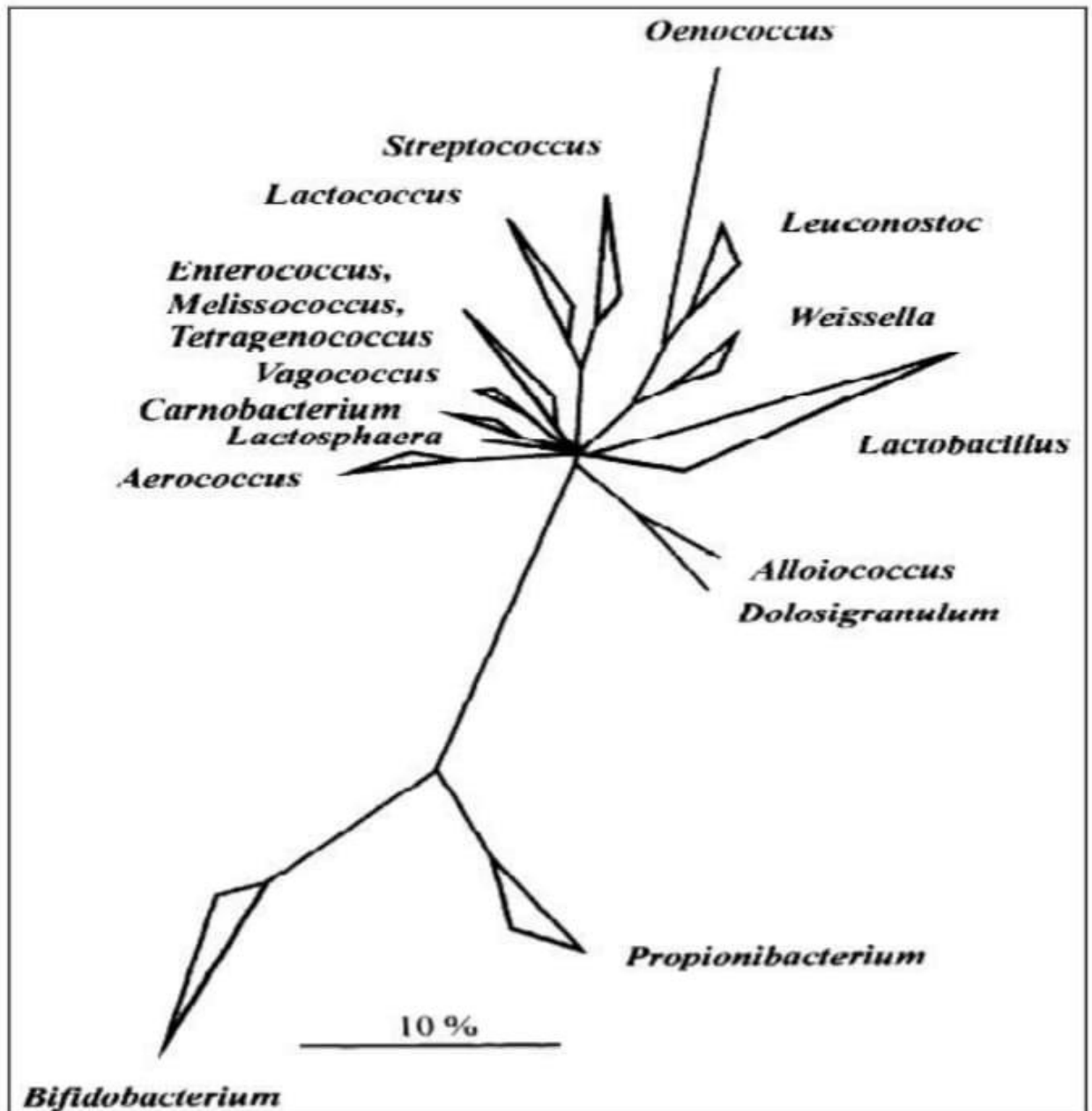


Figure 05 : Arbre phylogénétique des principaux genres de bactéries lactiques et des genres associés, obtenu par analyse des ARNr 16S (Stiles et Holzapfel, 1997).

### III.4. Exigences nutritionnelles :

Les bactéries lactiques ont une faible aptitude biosynthétique et sont en principe incapables d'assimiler directement les principaux précurseurs de leur environnement. Elles sont considérées comme un groupe bactérien le plus exigeant du point de vue nutritionnel, car elles requièrent non seulement des substrats complexes carbonés, azotés, phosphatés et soufrés mais aussi des facteurs de croissance comme les vitamines et les oligoéléments dont le rôle des coenzymes est plus important (Gevers, 2002).

### III.5. Caractéristiques des principaux genres des bactéries lactiques

#### III.5.1. Le genre *Lactobacillus*

*Lactobacillus* est le genre principal de la famille des Lactobacillaceae, il 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 longs et fins (parfois incurvés) souvent groupés en chaînes, 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 par Orla-Jensen en trois groupes et cette classification est encore utilisée en milieu industriel (Tamime, 2002 ; Guiraud et Rosec, 2004) :

**Groupe I** « *Thermobacterium* » : 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* » : 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. sanfransisco*.

### III.5.2. Le genre *Lactococcus*

Le genre *Lactococcus* (streptocoque du groupe N) représente les streptocoques dits « lactique », car ils sont associés à de nombreuses fermentations alimentaires et ne possèdent aucun caractère pathogène. Les produits végétaux constituent leur réservoir principal, mais ils sont largement présents dans le lait et les produits laitiers (**Pilet et al., 2005**).

Les lactocoques se présentent sous forme de coques en paire 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 de se développer à 10°C mais pas à 45°C.

Quelques espèces produisent des exopolysaccharides et des bactériocines. Elles sont capables de se développer à 3% de bleu de méthylène et d'hydrolyser l'arginine (**Tamime, 2002**).

Actuellement, le genre *Lactococcus* comprend cinq espèces, *Lactococcus lactis* est l'espèce la plus connue avec ses trois sous-espèces : *Lc. lactis ssp. lactis*, *Lc. lactis ssp. cremoris* et *Lc. lactis ssp. hordniae* (**Pot, 2008**).

### III.5.3. Le genre *Streptococcus*

Le genre *Streptococcus* est toujours large et la classification est très mouvementée. Ce genre est généralement divisé en trois groupes : pyogène (la plus part des espèces pathogènes et hémolytiques), oral (tel que *St. salivarius*, *St. bovis*) et les autres streptocoques (**Scheilfer, 1987**).

La seule espèce de streptocoques qui soit utilisée en technologie alimentaire est *Streptococcus thermophilus* qui a été incluse dans le groupe des « autres streptocoques », mais ensuite transférée au groupe des streptocoques oraux à cause de leur degré d'homologie avec l'ADN de *Streptococcus salivarius* (**Stiles et Holzappel, 1997**).

*Streptococcus thermophilus* se différencie par son habitat (lait et produits laitiers) et son caractère non pathogène. La résistance à la température, la capacité de croître à 52°C et le nombre limité des hydrates de carbones permettent de distinguer les *St. thermophilus* de la plupart des autres streptocoques (**Haddie, 1986 ; Pilet et al., 2005**).

### III.5.4. Le genre *Enterococcus*

Ce genre regroupe les streptocoques fécaux qui représentent une hémolyse de type  $\lambda$  et  $\beta$  et qui appartiennent au groupe D. Ce sont des commensaux de l'intestin. Les espèces rencontrées dans l'alimentation sont essentiellement *En. faecalis* et les espèces proches. Les entérocoques sont des coques qui peuvent être mobiles, homofermentaires, généralement différenciés par la fermentation de l'arabinose et le sorbitol, ils croissent entre 10°C et 45°C (**Tamime, 2002**).

### III.5.5. Les genres *Leuconostoc*, *Oenococcus* et *Weissella*

Ils ressemblent les coques lenticulaires en paires ou en chainettes mésophiles, qui possèdent un caractère hétérofermentaire marqué, avec production d'acide lactique (isomère D), de CO<sub>2</sub> et d'éthanol. Les caractéristiques telles que l'hydrolyse de l'esculine, la formation de dextrane, les conditions de croissance, la capacité à croître à différents pH et température, l'assimilation de citrate et/ou malate permettent la différenciation entre les genres *Leuconostoc* et *Weissella* (**Pilet et al., 1998**).

Actuellement, le genre *Leuconostoc* comprend quatorze espèces, ils sont également anaérobies facultatifs et exigeants au point de vue nutritionnel et leur croissance est toujours lente. Le développement des *leuconostoc* entraîne souvent l'apparition d'une viscosité dans le milieu grâce à la production des exopolysaccharides. Les *leuconostoc* 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 le CO<sub>2</sub>, des substances aromatiques telles que le diacétyl et l'acétoïne à partir des citrates du lait (**Hassan et Frank, 2001**).

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 paramesenteroides* dans le nouveau genre *Weissella* (**Stiles et Holzappel, 1997**).

### III.5.6. Les genres *Pediococcus* et *Tetragenococcus*

Les *Pediococcus* sont des coques homofermentaires dont la particularité est le regroupement en tétrade. Ils sont mésophiles, le plus souvent incapable d'utiliser le lactose, et leur développement nécessite la présence de divers facteurs de croissance. Certaines espèces se distinguent par leur capacité à se développer à des teneurs en sels très élevées, comme *Pediococcus halophilus*, renommé *Tetragenococcus halophilus* et *Tetragenococcus muriaticus* qui tolère jusqu'à 18% de NaCl (Pilet et al., 1998).

Les espèces de *Tetragenococcus* ont un rôle crucial dans la fabrication des produits alimentaires à concentration élevée en sel comme les sauces de soja, alors que les pediocoques sont parfois utilisés comme levains lactiques pour les charcuteries (Guiraud et Rosec, 2004 ; Tosukhowong et al., 2005).

### III.6. Principales voies fermentaires des bactéries lactiques

Toute croissance nécessite la production d'énergie et les bactéries lactiques ne font pas exception à la règle. Hétérotrophes, elles tirent leur énergie de la fermentation de substrats carbonés. Les carbohydrates fermentés en acide lactique par les bactéries lactiques peuvent être des monosaccharides tels que des hexoses (glucose, galactose), des pentoses (xylose, ribose, arabinose), hexitols et pentitols (mannitol, sorbitol, xylitol) ou des disaccarides (lactose, saccharose, cellobiose, tréhalose). La fermentation des sucres s'effectue

essentiellement en trois étapes (Atlan et al., 2008) :

- le transport du sucre à travers la membrane cellulaire ;
- le catabolisme intracellulaire du sucre ;
- formation et expulsion extracellulaire des métabolites terminaux.

Selon les genres ou espèces, les bactéries lactiques utilisent principalement l'une des deux voies majeures du métabolisme des sucres (figure 02). Il s'agit des voies homofermentaire (Embden- Meyerhof-Parnas, EMP) et hétérofermentaire (voie des pentoses-phosphate) (Atlan et al., 2008).

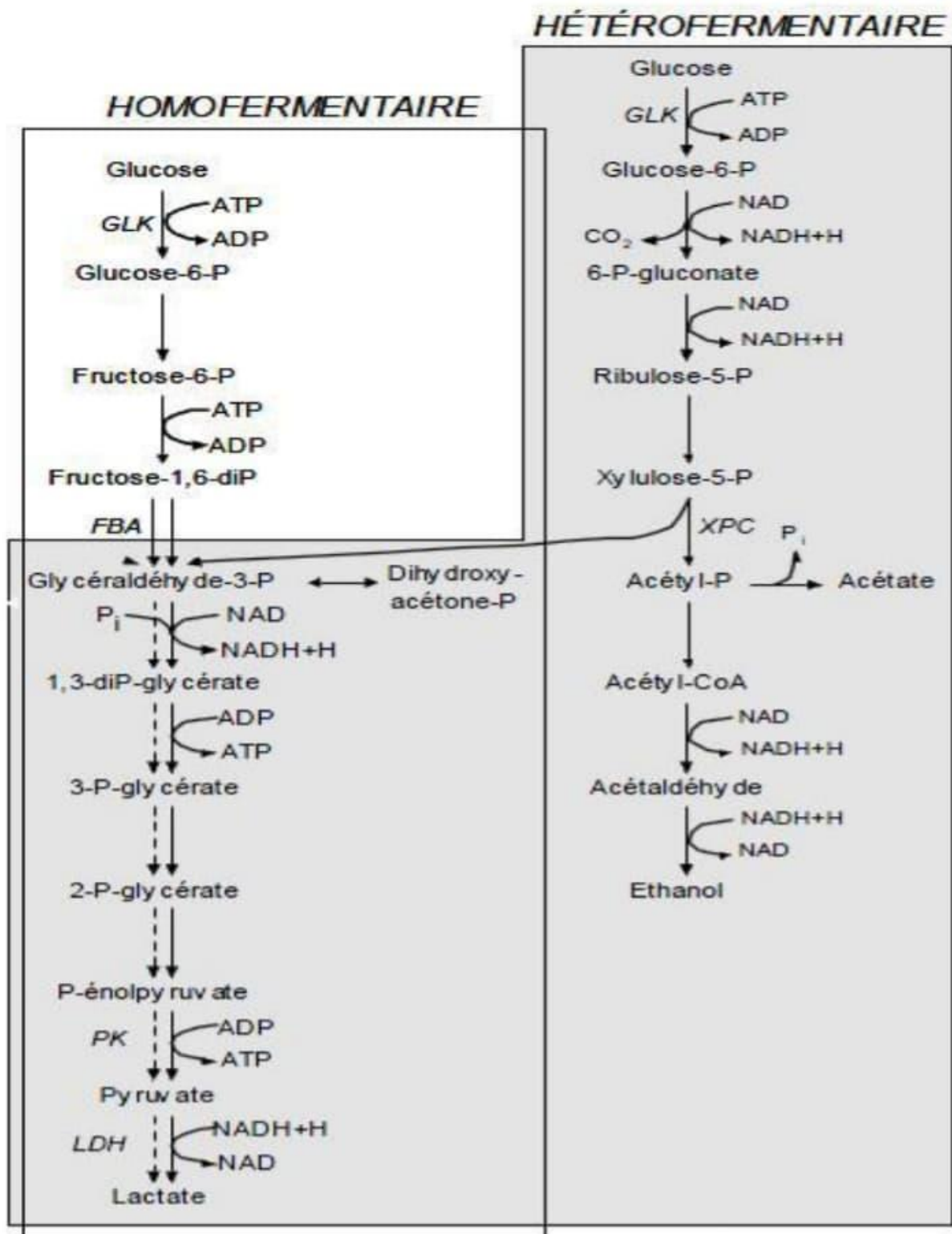


Figure 06 : Voies fermentaires de la dégradation du glucose (Atlan et al., 2008).

[GLK : glucokinase, FBA : fructose-1,6- biphosphate aldolase, XPC : xylulose-5-phosphate phosphocétolase, PK : pyruvate kinase, LDH : lactate déshydrogénase].

### III.6.1. Voie homofermentaire ou EMP

Les bactéries lactiques homofermentaires comprennent les espèces de *lactocoques*, *pediocoques*, ainsi que certains lactobacilles. Cette voie conduit dans des conditions optimales de croissance à la production de deux molécules de lactate et deux molécules d'ATP par molécule de glucose consommée. La fructose-1,6-bisphosphate aldolase (FBA) est une enzyme clé indispensable au fonctionnement de la voie EMP (**Thompson et Gentry-Weeks, 1994**).

### III.6.2. Voie hétérofermentaire ou voie des pentoses phosphate

Les bactéries lactiques qui fermentent le glucose en produisant, en plus de l'acide lactique, de l'acétate, de l'éthanol et du CO<sub>2</sub> sont dites hétérofermentaires. Les groupes principaux de bactéries présentant ce type de métabolisme sont les leuconostoc et certains lactobacilles. Ces microorganismes sont dépourvus d'une FBA et le système de transport PTS (**Thompson et Gentry-Weeks, 1994**).

### III.7. Métabolisme azoté des bactéries lactiques

De fait de leurs nombreuses auxotrophies pour les acides aminés, la croissance des bactéries lactiques repose sur leur système protéolytique. Ces systèmes comportent des protéases intracellulaires, des systèmes de transport spécifiques pour les peptides et une multitude de peptidases intracellulaires. Les systèmes protéiques des lactocoques et des lactobacilles sont remarquablement similaires, en ce qui concerne leurs composants et leurs modes d'action (**Savijoki et al., 2006**).

Les études du système protéolytique ont été menées essentiellement pour le genre *Lactococcus* et ont permis l'établissement d'un modèle de la protéolyse en trois étapes (figure 03) : la première étape fait intervenir une protéase ancrée à la surface bactérienne, appelée protéase de paroi (ou PrtP). Les peptides sont pris en charge par deux systèmes de transport des oligopeptides (Opp et Opt) pour traverser l'enveloppe bactérienne. Des di et tripeptides peuvent aussi être transportés par deux autres systèmes (DtpT et Opt). Les acides aminés sont transportés par des systèmes de transport spécifiques. Enfin, dans le cytoplasme bactérien un éventail de peptidases concourent à achever l'hydrolyse des peptides en acides aminés (**Savijoki et al., 2006 ; Atlan et al., 2008 ; Picon et al., 2010**).

## Bactéries lactiques

Le catabolisme des acides aminés est une voie majeure de formation de molécules aromatiques (alcool, aldéhydes, acides organiques, ...), comme il peut être une source d'énergie pour certaines bactéries lactiques en cas de limitation en nutriments (Williams et al., 2001).

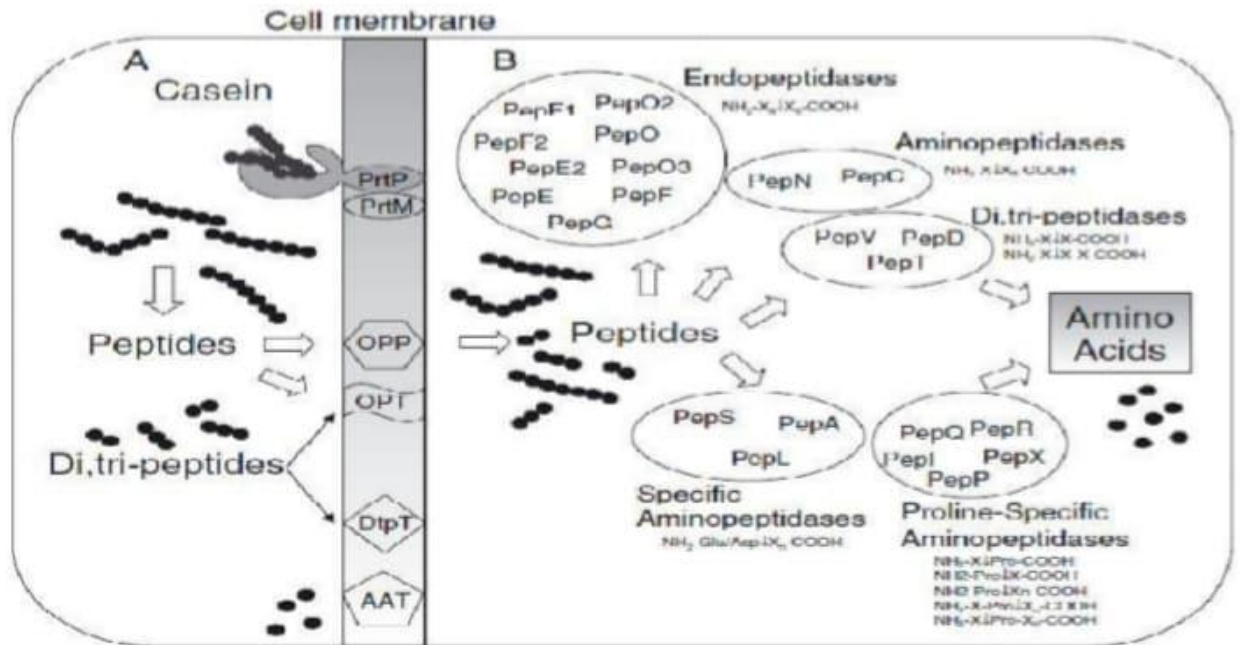


Figure 07 : Schéma du système protéolytique de *Lactococcus lactis* (Atlan et al., 2008).

### III.8. Les propriétés antimicrobiennes des bactéries lactiques

Les propriétés antimicrobiennes des bactéries lactiques peuvent être associées à de nombreux éléments. Elles résultent de l'effet combiné de différents facteurs biologiques provenant de leurs activités métaboliques.

#### III.8.1. Le pH et les acides organiques

Les produits principaux du métabolisme des bactéries lactiques sont les acides organiques qui sont produits soit par la voie homofermentaire, soit par la voie hétérofermentaire. Le métabolisme du pyruvate conduit à la formation uniquement d'acide lactique chez les homofermentaires tandis qu'il conduit à la formation d'acide lactique, acétique et formique, d'éthanol et de dioxyde de carbone chez les hétérofermentaires (**Liu, 2003**). Grâce à cette production d'acides organiques, les bactéries lactiques diminuent le pH du milieu dans lequel elles se multiplient en inhibant une partie de la flore qui s'y développe.

Les acides organiques sont un des agents classiques de préservation des aliments (**Brule et Coote, 1999**) et sont reconnus comme des additifs alimentaires. Les acides couramment utilisés sont les acides benzoïque, sorbique, acétique, fumarique, propionique et lactique. Ils sont utilisés pour prévenir ou retarder la croissance des bactéries dégradant la nourriture. Le principal problème consécutif à leur utilisation est la haute concentration nécessaire pour inhiber les bactéries pathogènes ou indésirables et qui est parfois inacceptable pour le consommateur (**Kobilinsky et al., 2007**).

Les bactéries pathogènes peuvent développer certains mécanismes de résistance appelés «acid tolerance response» vis-à-vis de l'exposition à des pH acides. Ceux-ci leur sont également utiles pour survivre au transit intestinal (**Brul et Coote, 1999**).

#### III.8.2. Le peroxyde d'hydrogène

Les bactéries lactiques ne possèdent pas de catalase typique contenant un noyau hème pour dégrader le peroxyde d'hydrogène en oxygène et en eau. Il peut s'accumuler et être inhibiteur de différents microorganismes par l'oxydation des lipides membranaires et la destruction des structures des protéines cellulaires (**Zalan et al., 2005**). Certaines bactéries lactiques peuvent néanmoins se protéger contre le peroxyde d'hydrogène qu'elles produisent par la synthèse de catalase hexamérique ou tétramérique contenant du manganèse et qui est parfois décrit comme étant des pseudocatalases.

## Bactéries lactiques

---

Son action se manifesterait aussi bien sur les germes indésirables que sur ceux qui sont indispensables au bon déroulement de la fermentation. Il est donc rarement utilisé pour son activité inhibitrice. D'autre part, son action oxydante peut avoir un effet néfaste sur la santé humaine (Zalan et al., 2005).

### III.8.3. Le dioxyde de carbone

Celui-ci est formé pendant la fermentation hétérolactique et crée un environnement anaérobie qui inhibe les microorganismes aérobies. L'accumulation de dioxyde de carbone dans la bicouche lipidique peut causer un dysfonctionnement de la perméabilité (Ammor et al., 2006)

### III.8.4. Le diacétyle

Il est synthétisé par différents genres de bactéries lactiques comme *Lactococcus sp*, *Leuconostoc sp*, *Lactobacillus sp* et *Pediococcus sp*. Le diacétyle ( $C_4H_6O_2$ ) est un des composants aromatiques essentiels du beurre. Il a des propriétés antimicrobiennes qui sont dirigées contre les levures, les bactéries Gram négatifs et les bactéries Gram positifs non lactiques, ces dernières y sont néanmoins moins sensibles (El Ziney et al., 1998).

### III.8.5. La reutéline

La reutéline (ou 3-hydroxypropionaldéhyde) est une substance antimicrobienne qui est produite comme métabolite intermédiaire pendant la fermentation anaérobie du glycérol par certaines espèces de *Lactobacillus* (El Ziney et al., 1998). La fermentation du glycérol se déroule en deux étapes. Le glycérol sera tout d'abord déshydraté par une «glycérol déshydratase» pour former de la reutéline qui sera ensuite réduite en 1,3propanediol par une oxydoréductase. Cette deuxième étape est inhibée en l'absence de glucose. La reutéline s'accumule alors dans le microorganisme producteur. À haute concentration, elle est excrétée dans le milieu. Sa toxicité contre la cellule productrice limite sa production, certaines espèces comme *Lactobacillus reuteri* y sont plus résistantes.

### III.8.6. Les bactériocines

Les bactériocines produites par les bactéries lactiques sont des substances antimicrobiennes de poids moléculaire variable. Les plus connues sont: la nisine, la diplococcine, l'acidophiline et la bulgaricane (**Dortu et Thonart, 2009**). La plupart des bactériocines produites par les bactéries lactiques partagent le même mode d'action, basé sur la formation de pores dans la membrane de la bactérie cible.

# **Chapitre IV : Les bactériocines.**

### IV.1. Historique

L'histoire de bactériocines s'étend au début des années 1920. Bien que leur activité antimicrobienne ait été découverte en 1928, les bactériocines n'ont pas été utilisées dans les produits alimentaires jusqu'en 1951. Dans les années 1960, la première bactériocine, appelée nisine, qui est produite par *Lactococcus lactis subsp lactis*, a été purifiée et reconnu comme agent de conservation alimentaire par la FAO/OMS en 1969. En 1988, la FDA a approuvé l'utilisation de la nisine comme additif dans les produits en conserves aux États-Unis pour inhiber la croissance de *Cl. botulinum*. En outre, les résultats d'études de recherche indiquent que la résistance de *Listeria monocytogenes* à la nisine ne semble pas être stable.

### IV.2. Définition

Les bactériocines sont des peptides antimicrobiens de faible poids moléculaire secrétés par les bactéries et leur synthèse s'effectue par voie ribosomique. Les bactériocines présentent une activité inhibitrice contre des bactéries taxonomiquement proches de la souche productrice (Tagg et al, 1976), et contre certains pathogènes tels que *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes* et *Clostridium botulinum*. Leur activité peut être bactéricide (entraînant la mort cellulaire) ou bactériostatique (entraînant un ralentissement de la croissance). Les bactéries lactiques, appartenant aux genres *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Pediococcus*, *Carnobacterium*, *Leuconostoc*, *Enterococcus* et *Sterptococcus*, produisent de nombreuses bactériocines et présentent un intérêt pour l'application industrielle grâce à leur innocuité reconnue pour l'homme et par leur utilisation depuis tout temps dans l'alimentation.

### IV.3. Nomenclature

La nomination des bactériocines est attachée soit au genre ou à l'espèce de la première souche productrice en ajoutant le suffixe "cine" pour indiquer le pouvoir létale ; par exemple: la plantaricine est la bactériocine produite par *Lactobacillus plantarum* (Karthikeyan et Santhosh, 2009).

### IV.4. Nature

Les bactériocines des bactéries lactiques sont des protéines ou des complexes de protéines constituées généralement de 30 à 60 acides aminés. Ces substances peuvent être des protéines simples comme elles peuvent être associées à une partie lipidique ou glucidique. Certaines d'entre elles renferment des acides aminés inhabituels tels la lanthionine et la  $\beta$ méthylelanthionine (Karthikeyan et Santhosh, 2009).

### IV.5. Propriétés

Certains critères des bactériocines produites par les bactéries lactiques justifient leur choix comme bioconservateurs (**Thakur et Roy, 2009**) :

- Considérées comme 'GRAS' (Generally Recognized As Safe) ;
- Inactives et non toxiques contre les cellules eucaryotes ;
- Généralement thermostables et tolérantes aux variations du pH ; - possèdent un spectre d'activité relativement large ;
- Mode d'action généralement bactéricide (membrane cytoplasmique) ;
- Déterminants génétiques codés par les plasmides ;
- Sensibilité aux protéases et digestibilité dans le tractus intestinal.

### IV.6. La classification des bactériocines :

Les bactériocines des LAB constituent un groupe hétérogène d'antagonistes bactériens dont la taille moléculaire peut aller de quelques milliers de daltons jusqu'à des molécules beaucoup plus complexes, mais dont la nature est exclusivement protéique. en se basant sur leurs caractéristiques structurelles et activité biologique (**klaenhammer(1993)**) a établi quatre classes de bactériocines, dont seulement trois sont maintenues actuellement (**Nes et al, 1996**) la découverte et la caractérisation de nouvelles bactériocines ont imposé des modifications notables sur la classification proposée par klaenhammer.

De façon qu'à l'heure actuelle on reconnaît trois classes de bactériocines avec plusieurs sous classes :

**Tableau 03** : classification des bactériocines de bactéries lactiques (**d'après NES et al. 1996**)

Classe	Sous catégories
<b>Classe I</b> : lantibiotique	<b>Type A</b> : molécule linière <b>Type B</b> : molécule globulaire
<b>Classe II</b> : bactériocines non modifié thermostables.	<b>Classe IIa</b> : anti-Listeria <b>Classe IIb</b> : bactériocine a deux composants <b>Classe IIc</b> : autre bactériocines
<b>Classe III</b> : bactériocines a grandes taille sensible à la chaleur	

### IV.6.1. Les bactériocines de la classe I : L'antibiotique

Possèdent une masse moléculaire comprise entre 1.8KDa et 4.1KDa et contiennent des acides aminés particuliers obtenus par modification post-traductionnelle, qui sont la lanthionine, la  $\beta$ -méthyl-lanthionine, la déhydrobutyrine et la déhydroalanine (Carine et al, 2009). La classe des lantibiotique est divisée en six groupes en fonction de leur homologie de séquence, on trouve les cartes groupes décrit par (Towmey et al (2002) :

- **Groupe nisine** : Des lantibiotiques de type linéaire ; cationique structurées en hélice  $\alpha$  amphiphiles et de masse moléculaire comprise entre 2,1 et 3,5 KDa. (Towmey et al, 2002).
- **Groupe lacticine 481** : Ont une masse moléculaire comprise entre 2,3 et 3,5 KDa et présentent une structure linéaire en position N-terminale et globulaire dans la partie C terminal. (Towmey et al, 2002).
- **Groupe Mersacidine** : Ces lantibiotiques ont une masse moléculaire comprise entre 1,8 et 2,0 KDa et possèdent une forme globulaire (Towmey et al, 2002).
- **Groupe cinnamycine** : Ce groupe comprend des lantibiotiques ayant une masse moléculaire comprise entre 1,9 et 2,0 KDa et sont secrétés par des bactéries appartenant au genre Streptomyces. (Towmey et al., 2002).
- **Groupe à deux composants** : Ce groupe correspond aux lantibiotiques possédant deux composés peptidiques. La masse moléculaire de ces peptides est comprise entre 2,6 et 4,2 KDa. Les deux peptides ont un effet synergique sur les cellules cibles.

### IV.6.2. Bactériocines de classe II :

Les bactériocines de la classe II Sont de faible masse moléculaire (<10KDa);thermostables et ne subissent pas de modification post traductionnelle. Cette classe a un grand nombre de bactériocines et a été divisée en trois sous classe (Drider et al, 2009)

- **Sous classe IIa**: Sont des peptides composés de 36 à 48 acides aminés (Drider et al, 2009). Les bactériocines de cette classe sont actives contre les bactéries des genres *Listeria*, *Enterococcus*, *Lactococcus* (Calvez et al, 2009).
- **Sous classe II b**: La sous classe II b représente les bactériocines à deux composants peptidiques qui y a un nombre d'acides aminés compris entre 30 et 40. (Carine et al., 2009).

## Les bactériocines

---

- **Sous classe IIc :** Contient les bactériocines telle que la lactococine B. La classification actuelle définit les bactériocines de la sous classe IIc comme étant les bactériocines n'ayant pas toutes les caractéristiques de sous-classes IIa et II b (Calvez et al, 2009).

### IV.6.3. Bactériocines de classe III :

Ont une masse moléculaire supérieure à 10KDa et sont thermosensibles (Calvez .2009).La structure et le mode d'action de ces bactériocines diffèrent complètement des autres bactériocines produites par les bactéries lactiques. Voir **tableau 4** Cette classe ne contient que quatre bactériocines.

**Tableau 04:** les quartes bactériocines de la classe III (Moll et al, 1999).

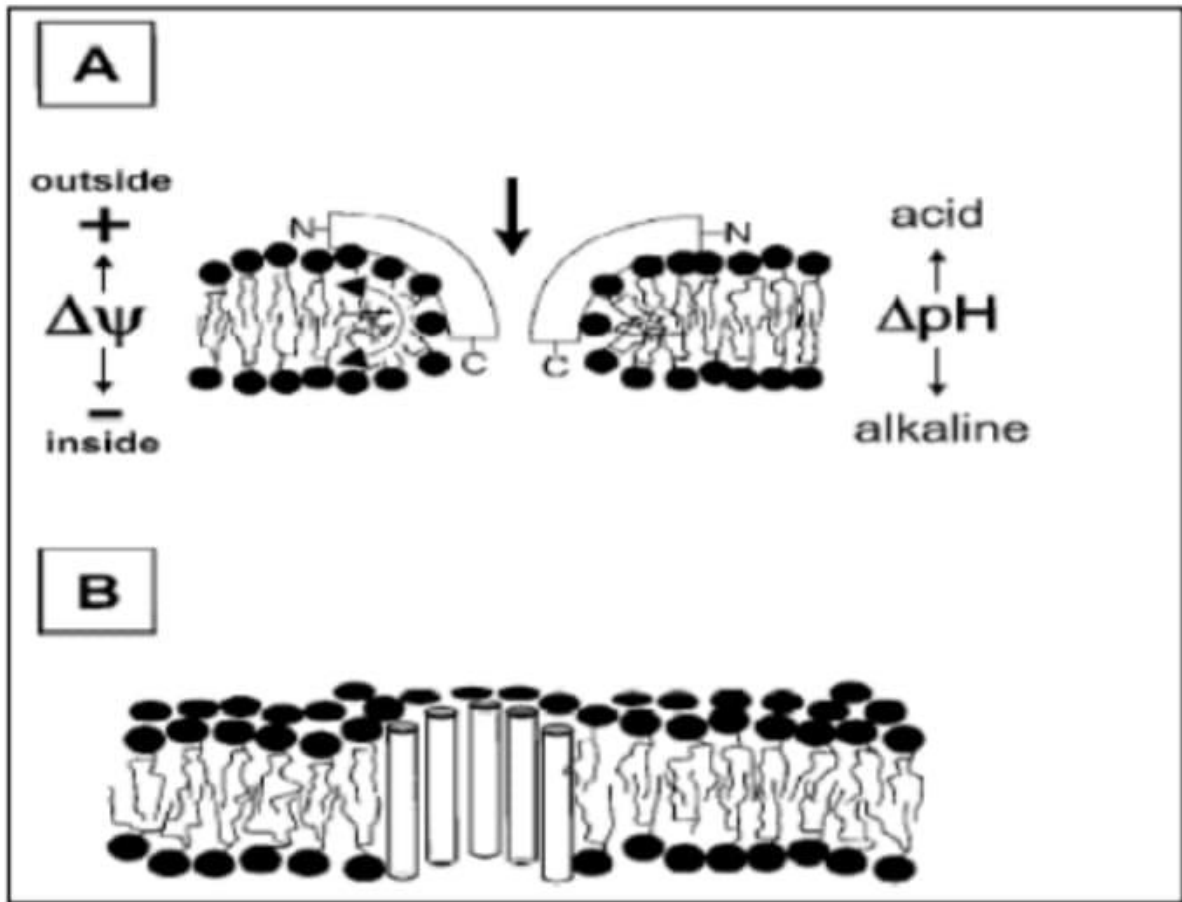
Bactériocines	Espèces producteur
Helveticin	<i>lactobacillus helveticus</i>
Entérolysine A	<i>Enterococcus faecium</i>
Zoocin A	<i>sterptococcus zooepidmicus</i>
Millericin B	<i>sterptococcus milleri</i>

### IV.7. Mode d'action des bactériocines :

L'activité inhibitrice des bactériocines se manifeste par une interaction avec les lipides anioniques constituant les membranes bactériennes. Elle aboutit à

- la formation de pores dans la membrane cytoplasmique des cellules cibles
- la chute du potentiel de membrane menant à la perte de leur force proton motrice
- une rupture du métabolisme énergétique
- l'arrêt de la synthèse de macromolécules qui conduisent à la mort des cellules cibles.

L'action des bactériocines sur les cellules cibles peut également entraîner des effets bactériostatiques et sporostatiques (Gonzalez et al.1994, Tagg et al.1976)



**Figure 08** : les modèles de formation des pores (A) : pores en forme de coin, (B) : pore en forme de tonneau en bois debout. (Moll et al, 1999)

### IV.8.La production des bactériocines :

Les bactériocines sont produites à la fin de la phase exponentielle et au début de la phase stationnaire de croissance. Elles peuvent ensuite être dégradées par les protéases produites par la bactérie lactique productrice (Savijoki et al, 2006), ou être adsorbées à sa surface, ce qui mène à la baisse de la concentration de bactériocines dans la culture. Les facteurs influençant la production de bactériocines sont :

- La souche productrice
- la température
- le pH
- la composition du milieu
- la technologie de la fermentation employée

## Les bactériocines

---

L'optimisation de la croissance ne résulte pas forcément en l'optimisation de production des bactériocines (**Parente et al, 1999**). Il a même été suggéré que des conditions de croissance défavorables permettent de stimuler leur production (**Verluyten et al, 2004**). Les températures et PH optimaux de production sont souvent inférieurs à ceux optimaux pour la croissance.

La composition du milieu, particulièrement les sources et concentrations de carbone et d'azote affectent fortement la production de bactériocines. Les bactéries lactiques productrices d bactériocines nécessitent de nombreux nutriments pour leur croissance.(**Verluyten et al, 2004**). D'autres études ont montré que la source de carbone et sa concentration est aussi un facteur important dans l'optimisation de la croissance des bactériocines. (**Anastasiadou et al. 2008**)

### IV.9. L'intérêt des bactériocines :

Les bactériocines sont maintenant largement utilisées en science alimentaire pour prolonger la durée de conservation des aliments (**Ghraiiri et al, 2012**), qui inhibent l'infection pathogène des maladies animales et l'industrie pharmaceutique et médicale pour le traitement des cancers malins (**Lancaster et al, 2007**).

### IV.10. Domaines d'application des bactériocines :

Les bactériocines sont habituellement reconnues comme sûres, sont sensibles aux protéases digestives et ne sont pas toxiques pour les cellules eucaryotes. Elles ont une grande tolérance aux variations de pH et aux traitements thermiques. Leur spectre antimicrobien peut être large ou étroit, elles peuvent donc cibler sélectivement des bactéries pathogène ou d'altération sans inhiber les bactéries indispensables et ont un mode d'action bactéricide (**Galvez et al., 2007**). Les bactériocines doivent cependant être considérés comme un moyen de préservation complémentaire à ceux existant.

#### IV.10.1. Utilisation alimentaire :

Les bactériocines sont employées dans plusieurs domaines. Leur utilisation dans le domaine alimentaire est devenue très intéressante grâce à leur potentiel d'assurer une sécurité microbienne et une bonne qualité du produit alimentaire (**Benech et al., 2002**). L'utilisation des bactériocines comme additifs naturels dans les aliments a suscité l'intérêt du consommateur qui cherche à minimiser l'utilisation des additifs chimiques artificiels dans les produits alimentaires.

## Les bactériocines

Plusieurs études ont montré l'efficacité de la nisine en tant qu'agent de conservation dans les aliments comme la truite fumée, les produits à base d'œufs liquides pasteurisés les fromages et d'autres produits laitiers (**Delves-Broughton et al., 1996**).

Afin de s'assurer de l'efficacité des bactériocines utilisées pour des applications alimentaires en tant que préservateurs, un conservateur alimentaire doit avoir les propriétés suivantes :

- être actif sur les micro-organismes pathogènes aussi bien que sur ceux responsables des altérations des aliments;
- être inoffensif pour les humains ou les animaux;
- être stable et non détruit au contact de l'aliment ou du micro-organisme;
- être rapidement soluble et distribué uniformément dans l'aliment; (**Delves-Broughton et al., 1996**).

**Tableau 05** : Exemples d'application de bactériocines en protection de produits carnés.

Bactériocine	Application	Conclusion	Référence
Nisine A	Incorporation de nisine dans un film alimentaire	Inhibition de bactéries indésirables dans des produits carnés reconstitués	Cutter et Siragusa 1998
Entéroccine	Addition d'entéroccine à du jambon, du paté de la saucisse de la viande de porc ou de poulet .	Contrôle de <i>L.monocytogenes</i> dans diverses conditions	Aymerich <i>et al</i> , 2000
Piscicoline 126	Contrôle de <i>L.monocytogenes</i> dans la pate de jambon par la piscioline 126.	Plus efficace que les bactériocines commerciales.	Jack <i>et al</i> , 1996
Leucocine A	Contrôle de la dégradation de produits carnés par <i>Leconostoc gelidum</i> UALI87 producteur de leucocine	Retard de la contamination de viande de bœuf par <i>Lactobacillus sakei</i> pendant 8 semaines	Leisner <i>et al</i> , 1996
Leeucocine A et C	Utilisation d'un <i>Leuconostoc carnosum</i> producteur de leucocines pour inhiber <i>L.monocytogenes</i> dans du cervelas	Inhibition et contrôle de la croissance de <i>L.monocytogenes</i> à 5 <sup>0</sup> et 10 <sup>0</sup> C pendant 4 semaines	Jacobsen <i>et al</i> .2003

### IV.10.2. Utilisation médical et vétérinaire:

Il y a très peu d'études attribuées aux bactériocines dans le domaine médical et vétérinaire. Dans l'industrie porcine, deux stratégies sont proposées afin de contrer les infections à *Streptococcus suis*, une bactérie pathogène à Gram positif colonisant les voies respiratoires supérieures du porc et pouvant causer des infections chez l'humain, soit la vaccination ou l'utilisation d'antibiotiques. Ces derniers soulèvent de plus en plus de craintes face à l'apparition de résistances bactériennes pouvant ultérieurement engendrer des conséquences néfastes pour l'humain. À cet effet, des études récentes (Fédération des producteurs de porcs du Québec) visent à utiliser les bactériocines qui pourraient servir d'alternatives aux antibiotiques pour le traitement des maladies infectieuses tant chez l'humain que chez l'animal. Une étude récente a montré la capacité de quelques souches de bactéries lactiques (*Lactobacillus* et *Pediococcus*) isolées à partir de l'intestin de porcs de survivre pendant leur passage tout au long du tractus gastro-intestinal et de pouvoir inhiber la croissance de *Salmonella*. De même, ces auteurs ont suggéré que l'inhibition de souches de *Salmonella* est due à une possible production de bactériocine par la souche *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*. Récemment, des études ont démontré le potentiel des bactéries productrices de bactériocines pour la prévention de certains types d'infections bactériennes chez l'humain. (Jedidi, 2007)

Des chercheurs du Canadian Research and Development Center for Probiotics, ont noté une diminution significative du risque d'infections vaginales et intestinales chez les femmes suite à l'implantation de bactéries du genre *Lactobacillus*. (Jedidi, 2007)

# Partie expérimentale

# Chapitre V : Matériels et Méthodes

### V .1. Matériels

#### L'objectif :

Isolements des souches lactiques à partir de lait de chamelle et l'étude de leurs antagonismes vis-à-vis de quelques souches pathogènes.

#### V.1.1. Lieu de travail :

L'ensemble de ce travail a été réalisé au laboratoire de microbiologie (faculté des sciences de la nature et de la vie) de l'Université Abdelhamid Ibn Badis Mostaganem. Durant la période allant du 19 février jusqu'au 19 mars.

#### V.1.2.Echantillonnage :

Le lait de chamelle testé dans cette étude provient de Ouargla durant le mois de février. Après collecte des échantillons, 2 flacons de lait ont été transportés dans une glacière à 4°C jusqu'à leur utilisation (nous avons travaillé dans des conditions aseptique).

#### V.1.3. Matériels expérimentaux

##### V.1.3.1. Les souches bactériennes

##### V. 1.3.1.1.les souches lactiques

Les différentes souches utilisées ont été isolées à partir de lait de chamelle et elles sont représentées dans le tableau N°06.

## Matériels et méthodes

---

Souches	Milieu de culture
LC1	Bouillon MRS & MRS Agar
LC2	Bouillon MRS & MRS Agar
LC3	Bouillon MRS & MRS Agar
LC4	Bouillon MRS & MRS Agar
LC5	Bouillon MRS & MRS Agar Bouillon MRS & MRS Agar
LC6	Bouillon MRS & MRS Agar
LC7	Bouillon M17 & M17 Agar

### V .1.3.1.2.les souches pathogènes

- Escherichia coli*.
- *Staphylococcus aureus*.
- *Pseudomonas.aeruginosa*.
- *Condida.albicans*

### V.1.3.2. Produits chimiques

- **Milieux de culture** : gélose MRS, bouillon MRS, gélose M17, bouillon et gélose nutritif, ELLIKER, MH,
- **Colorants** : colorants de la réaction de Gram: (fuchsine, violet de gentiane, lugol), bleu de méthylène.
- **Sels et tampons** : NaCl.
- **Autres** : NaOH, HCl, lait écrémé, saccharose, l'huile d'immersion, éthanol (96%).

### V.1.4. Appareillage

Etuve, Autoclave, Loupe binoculaire, Microscope optique, Vortex, Agitateur magnétique de paillasse chauffant, Balance de paillasse, Balance de précision, pH mètre, Bain marie, Centrifugeuse, Spectrophotomètre, Etuve réfrigérée.

### V.2. Méthodologie utilisée

#### V .2.1. Isolement et purification des souches lactiques

Les souches de bactéries lactiques ont été isolées à partir de lait de chamelle. L'isolement a été réalisé sur les milieux gélosé (MRS, M17) en condition d'anaérobiose (**De Man et al. 1960 ; Idoui et al. 2009**) :

La méthode de dilution décimale : des tubes contenant 9ml de solution NaCl 0.9%, sont utilisés pour l'isolement des souches ensuite 100 µl de chaque dilution est déposé sur les boites Pétri contenant les milieux solides M17 et MRS et ensemencé par l'anse de platine pour l'obtention de colonies bien isolés.

L'isolement direct par méthode des stries sur la surface des boites Pétri contenant milieu Gélosé (M17 et MRS). L'incubation des boites Pétris est réalisée dans l'incubateur à 37°C pendant 24h, 48h ou 72h en anaérobiose dans une jarre.

La purification des souches a été réalisée par plusieurs repiquages sur milieux solides à partir des colonies bien isolées, à caractère catalase négative et Gram positif :

Les souches bactériennes sont ensemencées par la méthode des stries sur milieu solide et cultivées à une température de 37°C pendant 24h-48h et 72h. Seules les bactéries à Gram positif et catalase négative ont été retenues.

#### V.2.2. Identification des isolats

##### V .2.2.1. Caractérisation Phénotypique

Cette identification est basée sur une étude des caractères morphologiques et physiologiques des isolats (**Sharpe et al. 1966**) :

##### V .2.2.1.1. Caractérisation morphologique

Cette étude est conçue par des observations macroscopiques et microscopiques des isolats.

##### Examen macroscopique

Cet examen permet de constater la morphologie des colonies obtenues sur milieux solide. Ainsi, déterminer la forme, taille, couleur et aspect des colonies et sur milieu liquide présentant un trouble du milieu. (**Johnson et al., 1980**).

##### Examen microscopique

Il a été effectué sur un frottis bactérien, préparé à partir des colonies suspectes en cultures pures, puis fixé et coloré par la méthode de Gram (voir l'annexe).

##### V .2.2.2. Caractérisation biochimique et physiologique

Cette étude permet la sélection des souches et leurs purifications selon les critères suivants :

### V.2.2.2.1. Recherche de la catalase

Ce test est utilisé pour différencier les bactéries catalase positive et catalase négative, la présence d'une catalase se traduit par l'apparition de bulles d'oxygène lors du contacte de la bactérie avec l'eau oxygénée (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) comme suit :  $\text{Inoculum} + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{H}_2\text{O} + 1/2 \text{O}_2$ .

Nous avons déposé sur une lame quelque goutte d'eau oxygénée puis, on a rajouté à l'aide d'une anse notre suspension bactérienne ou notre inoculum bactérien à partir de la colonie, isolé et on les mets en contact avec la goutte d'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

L'apparition ou non de bulle de gaz sur la lame témoigne respectivement la présence ou pas de la catalase dans le métabolisme bactérien, (**Stiles et holzapfel, 1997**).

**Remarque : les tests suivants n'ont pas étaient réalisés vues le confinement mais on peut les cités.**

### V.2.2.2.2. Test de type fermentaire :

Les souches doivent être ensemencés dans un bouillon M17 ou MRS contenant les cloches du Durham, puis incubés à 30°C/24h. L'absence de gaz dans les cloches montre qu'il s'agit d'un métabolisme homofermentaire alors que la présence de gaz indique qu'il s'agit d'un métabolisme hétérofermentaire.

### V.2.2.2.3. Croissance sur lait de Sherman :

Les isolats purifiés sur milieu Elliker liquide doivent être ensemencés dans deux séries de tubes deux série de tubes à essais de 9ml de lait écrémé stérilisé (voir annexe I) additionné à 0,1% de bleu de méthylène pour la première série et à 0,3% de bleu de méthylène pour la deuxième série, est ensemencé par des cultures pures puis incubés durant une période de 24 à 48 heures à 30°C.

Les lactocoques réduisent le bleu de méthylène avec coagulation, en revanche les streptocoques thermophiles sont sensibles à ce colorant (**Larpent et al., 1990**).

### V.2.2.2.4. Test de croissance à différentes température et de thermorésistante:

Ces tests nous permettent d'évaluer l'aptitude d'une espèce bactérienne à croitre dans une large gamme de températures. En ensemence de la suspension bactérienne dans un milieu MRS à pH6.8 et on incube les tubes à 20°C, 30°C ; 37°C ; 40°C et 45°C. La lecture des résultats ce fait après 24h pour les deux derniers et pendant une semaine pour le test de 20°C. Pour la thermorésistance, on fait chauffer la suspension bactérienne pendant 30 min à 63,5°C puis en incube à 30°C et à 53.5 pendant 15mn (**Bottazzi, 1988 ; De Roissart et al., 1994**).

### V.2.2.2.5. Croissance à différentes concentrations d'NaCl

La tolérance des bactéries doit être testée sur bouillon MRS additionné avec 40g/l et 65g/l d'NaCl. Après inoculation et incubation à 30°C pendant 5 jours, le développement des

## Matériels et méthodes

---

souches est apprécié par comparaison avec un tube non ensemencé incubé à la même température (Guessas et Kihal, 2004).

### V.2.2.2.6. Croissance à différentes valeurs de pH

Le bouillon MRS ajusté à des pH différents avec une solution de NaOH ou de l'HCl, stérilisé puis inoculé avec toutes les souches pour les pH: 4.5 et 9.6. Les cocci hétérofermentaires sont cultivés aussi sur pH: 4.8 et les cocci homofermentaires sur pH: 9.2. La croissance des bactéries a été suivie pendant 24 à 48 h à 30°C (Badis et al., 2005).

### V.2.2.2.7. Test d'utilisation des sucres :

Les cultures bactériennes revivifiées sur MRS subissent une 1ère centrifugation à 4000 t/min pendant 10 min après élimination de surnageant, 5ml d'eau physiologique stérile ajouté au culot puis une 2ème centrifugation suivie de l'ajout de 5ml d'eau physiologique stérile au culot bien agité au vortex pour obtenir une suspension homogène. Bouillon MRS ou M17 sans sucre + le pourpre de bromocrésol (0,025g/l) repartit dans des tubes à raison de 10 ml par tube. Dans chaque tube on met quelque goutte de suspension bactérienne + quelque goutte de sucre testée. On crée l'anaérobiose par l'addition de l'huile de paraffine stérile à la surface puis incubés 30°C/24h à 72h. L'utilisation des sucres se traduit par un virage de l'indicateur colorée (virage au jaune). Les sucres étudiés sont : Glucose, D(-) fructose, D(-) arabinose, D(+) galactose, lactose, maltose, cellulose, mannitol, amidon, saccharose (BOUMEDIENE Karima ;2012). Les solutions sucres sont préparées à 3% et stérilisées par autoclavage.

### V.2.2.2.8. Hydrolyse de l'arginine

L'arginine est dégradée en ammoniac et en ornithine par l'arginine dihydrolase selon la réaction suivante:



Elle est mise en évidence sur le bouillon de Reddy. Des tubes contenant 5ml de milieu sont inoculés et incubés à 30°C pendant 5 jours. Les bactéries utilisant l'arginine libèrent l'ammoniac ce qui alcalinise le milieu et entraîne un changement de couleur vers le pourpre (Meyer et al., 2004; Bulut, 2003).

### V.2.2.2.10. Test de production l'acétoïne

la mise en évidence de la production d'acétoïne au cours de la fermentation par la voie du butane-diol en présence de réactif VP (en ajoutant quelques gouttes du réactif VP1 et le même volume du réactif VP2), l'acétoïne donne une coloration rouge en milieu très oxygéné. La lecture s'effectue après quelques minutes.

### V.2.2.2.11. Utilisation de citrate :

Utilisation du citrate est détectée sur le milieu kempler et MC Kay 1980. après l'incubation à 30°C pendant 24h à 48h ; les colonies qui fermentent le citrate sont des colonies

## Matériels et méthodes

---

bleues ou ayant un centre bleu (citr+).les colonies incapables de fermenter le citrate restent blanches (citr-).

### V.2.2.2.12. Production de dextrans

Les dextrans sont des homopolysaccharides synthétisés par certaines espèces des genres *Streptococcus* et *Leuconostoc* cultivées sur un milieu hypersaccharosé (**Devoyod et Poullain, 1988**).

La production des dextrans doit être mise en évidence dans le milieu MRS solide modifié par l'addition de 10% (m/v) de saccharose. Elle se traduit par la formation de colonies larges et gluantes sur les boîtes de Pétri après une incubation d'une semaine (**Milliere et al., 1989**).

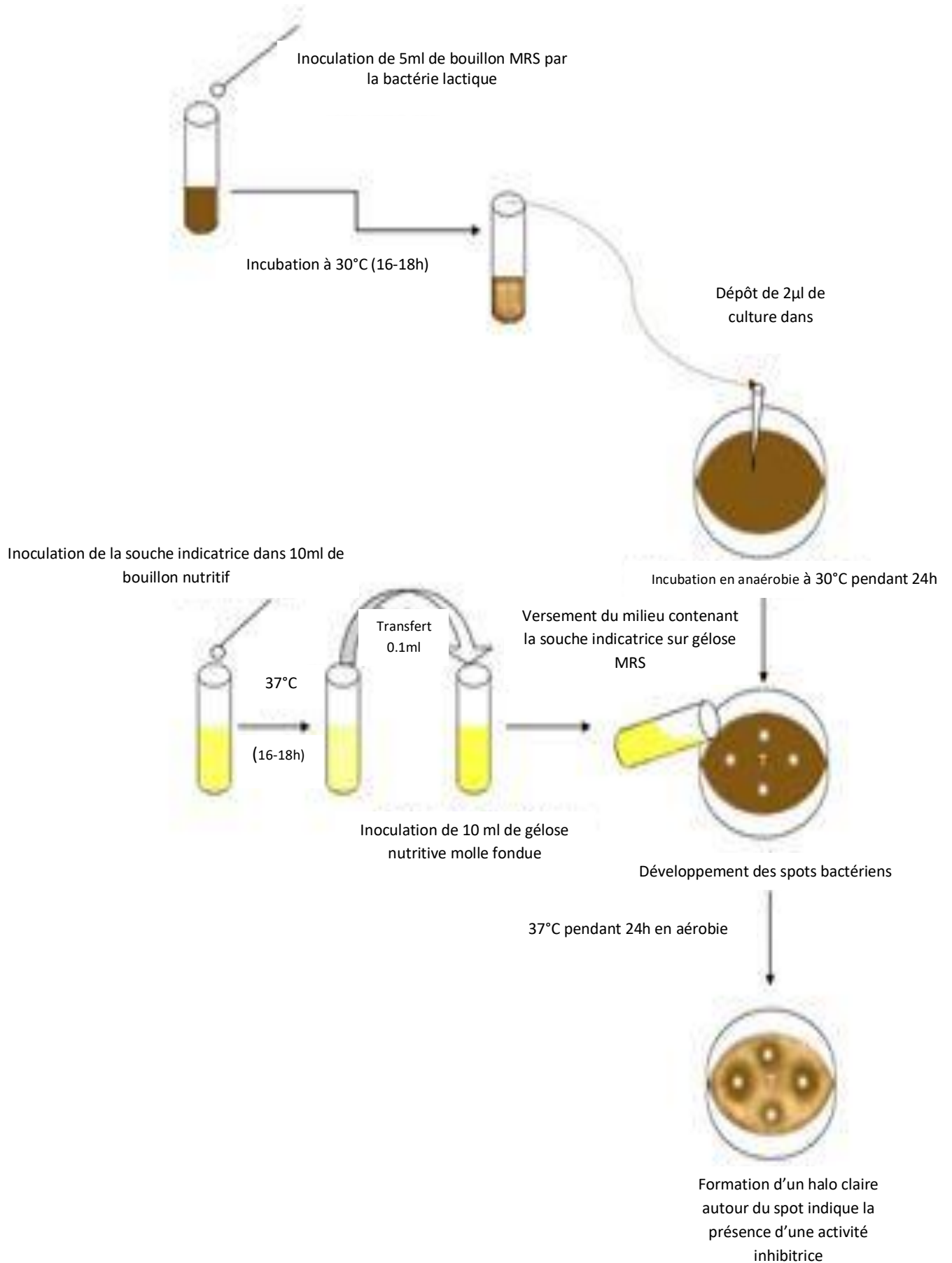
### V.2.3. Etude l'activité antimicrobienne des souches :

Les bactéries lactiques isolées doivent être testées pour leur activité antagoniste selon deux méthodes :

#### V.2.3.1 Méthode de double couche (méthode directe):

Pour mettre en évidence les zones d'inhibition ;les souches lactiques devrait être ensemencées en touches à la surface d'un milieu MRS ou M17 solide à partir d'une culture de 24h ;les boîtes sont séchées sous la température ambiante pendant 2h.après 24h incubation chaque spot est recouvert avec une goutte de gélose nutritive cela permet de fixer les colonies et éviter leur dispersions (**Larpen –Gourgaud et al. :1997**), une couche de gélose MH semi solide contenant 0.1ml d'une culture en milieu liquide de 18h d'une couche indicatrice (pathogène)est coulée au-dessus de la première couche de gélose.la lecture des boîtes s'effectue après 24h d'incubation à 37°c en aérobiose ;les souches présentant une zones transparente sont considérées comme productrices de substances antimicrobiennes .la taille des zones d'inhibition produites a été mesurée en mm la méthode a été expliqué dans le tableau05.

## Matériels et méthodes

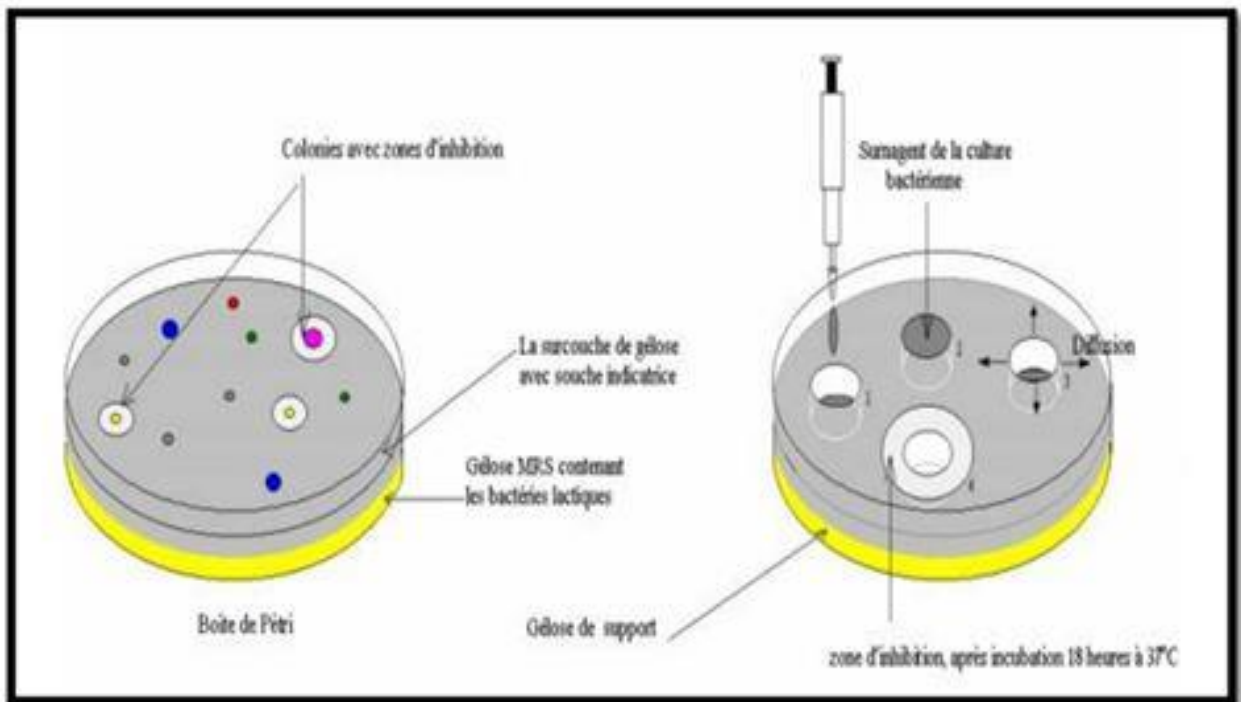


**Figure 9** : Illustration des étapes du test des spots sur agar (Bouguerra, 2012)

## Matériels et méthodes

### V.2.3.2. Méthode de puits (méthode indirecte)

Afin de déterminer la nature de la substance inhibitrice produite par nos bactéries lactiques ; il est impératif de réaliser une série de tests en utilisant la méthode indirecte. Cette méthode permet de mettre en contact le surnageant des souches lactiques productrices de substance antimicrobienne avec la souche test (**Tagg et al ;1971**).les souches précédemment sélectionnées pour leur production de substances antimicrobienne sont concernées par ce test .les souches sont cultivé dans du milieu MRS liquide et incubées pendant 18 heures .après (incubation ;le milieu est centrifugé 8000rpm/10min)et le surnageant est conservé. Dans une boîte de pétri contenant du milieu solide et ensemencé par la souche test .des puits sont réalisés avec un emporte-pièce et celée par 10 $\mu$ l de gélose mh.les puits recevront 100 $\mu$ l du surnageant des souches lactiques (**Khaoua et al .; 1997**)ensuite les boîtes sont incubée pendant 24 à 48h. le résultat positif se manifeste par l'apparition d'une zone claire autour de la souche productrice.



**Figure 10 :** Les différentes méthodes utilisées pour recherche la nature de substance antimicrobiennes

### **V.2.4.Conservation des souches :**

Deux types de conservation de nos souches sont notés :

#### **V.2.4.1.Conservation courte durée:**

Les souches sont ensemencées sur gélose Elliker inclinée en tube. Ces cultures sont gardées à 4°C.les repiquages se font toutes les deux semaines.

#### **V.2.4.2. Conservation longue durée :**

Pour conservation de longue durée une culture de 18h est centrifugée (4000 tr /min pendant 10 min). Puis le culot est lavé. Le milieu de conservation est présenté par du lait écrémé auquel est additionnée du glycérol à 30% et 1% d'extrait de levure. La culture est conservée à -20°C pour longue durée.

# **Chapitre VI : Résultats et discussions**

### VI.1. Isolement et identification des bactéries lactiques

#### VI.1.1. Isolement et purification des bactéries lactiques

Les cultures obtenues sur les boîtes de Pétri sont observées à l'œil nu pour caractériser la forme, la taille, l'aspect ainsi que la couleur des colonies. En effet les colonies observées sont les suivantes :

- ❖ Colonies blanches, rondes ou lenticulaires.
- ❖ Colonies transparentes, rondes très petites.
- ❖ Petites colonies blanches, rondes ou lenticulaires.

#### VI.1.2. Identification morphologique des souches

Les 7 souches ont été isolées a Gram positives et catalase négatives.

##### VI.1.2.1. Examen macroscopique

Le résultat de l'examen macroscopique est illustré Dans le tableau suivant.

**Tableau 07** : Aspects macroscopiques et milieux d'isolement des souches

Code de la souche	Milieu	Observation macroscopique des colonies
LC1	MRS 10 <sup>-1</sup> 37°C	Blanche petite
LC2	MRS 10 <sup>-6</sup> 37°C	Blanche très petite
LC3	MRS 10 <sup>-2</sup> 37°C	Blanche très petite
LC4	MRS 10 <sup>-1</sup> 37°C	Blanche très petite
LC5	MRS 10 <sup>-1</sup> 37°C	Blanche petite
LC6	MRS 10 <sup>-6</sup> 37°C	Blanche très petite
LC7	M17 10 <sup>-1</sup> 37°C	Blanche petite

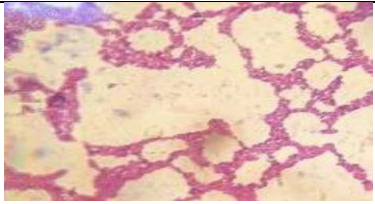

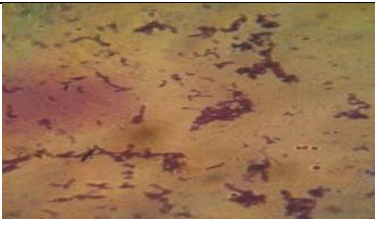
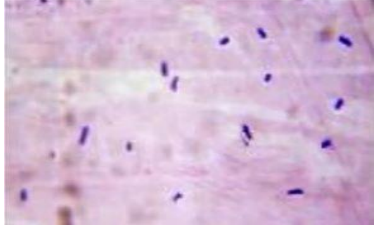
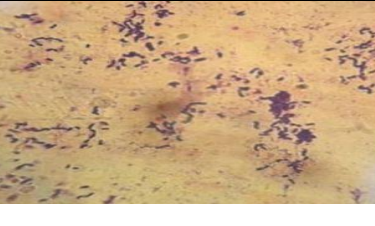

##### VI.1.2.2. Examen microscopique

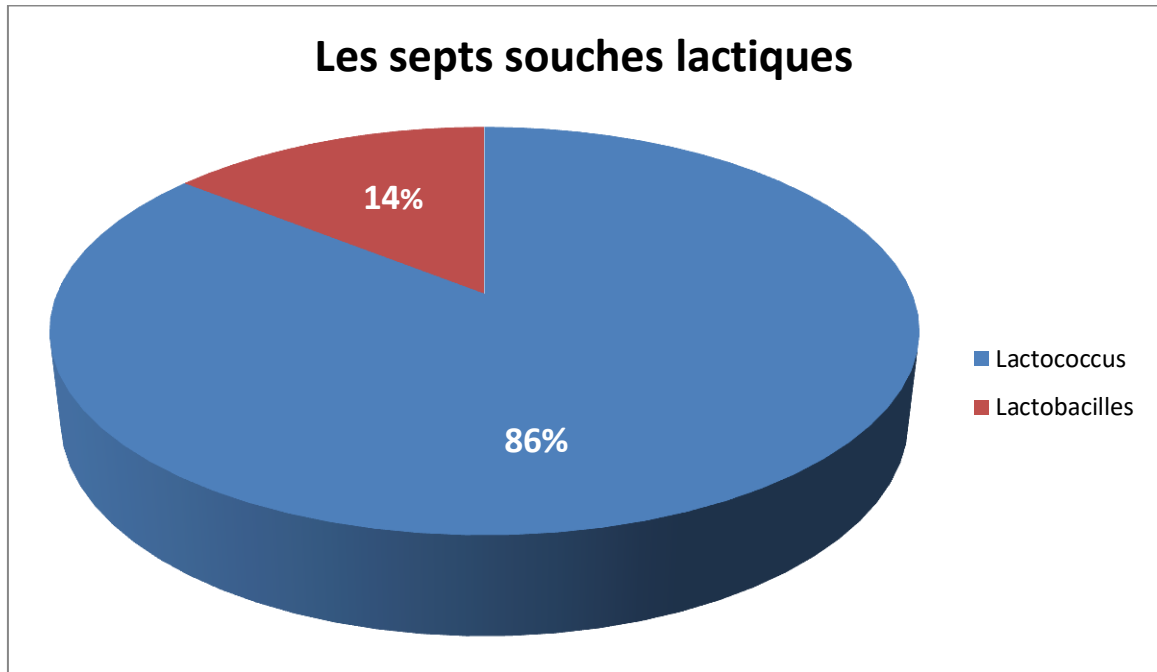
Le résultat de cet examen est résumé dans le tableau n°08. L'examen microscopique de la flore lactique nous ont permis d'isoler 7 souches

Présentent des caractères similaires aux bactéries lactiques (Gram+).

## Résultats et discussions

**Tableau 08** : Résultats des tests catalase, coloration de Gram et aspects microscopiques de nos souches isolées

Date	L'origine	Souche	Gram	Observations	Photos
11-03-20	lait de chamelle	LC1	+	Cocci	
11-03-20	lait de chamelle	LC2	+	Cocci	
11-03-20	lait de chamelle	LC3	+	Cocci	
15-03-20	lait de chamelle	LC4	+	Coccobacille	
15-03-20	lait de chamelle	LC5	+	Cocci	
15-03-20	lait de chamelle	LC6	+	Bâtonnets	



**Figures 11** : Répartition des souches lactiques isolées.

Après la coloration de Gram, nous avons passé à l'observation microscopique aux grossissements (G : 10x10), (G : 10x 40) et (G : 10x 100) avec l'huile à immersion, où nous avons pu observer que les bactéries étaient Gram positif apparaissant sous différentes formes avec différents modes d'associations. L'observation microscopique a montré que les souches étudiées sont des Lactococcus lactobacilles.

### **VI.1.3. Identification biochimique et physiologique**

#### **VI.1.3.1. Recherche de la catalase**

Tous nos résultats sont catalase négatives ce caractéristique des bactéries lactiques, résultat a été démontré dans la figure12



**Figure12** : résultat de test de catalase pour les BAL

## Résultats et discussions

---

### Remarque :

A cause de la pandémie COVID 19 on ne pouvait pas terminer notre travail, donc on s'est arrêté à ce stade du travail.

### VI.1.3.2. Test de type fermentaire

Ce test permet de différencier entre les souches homofermentaires et les souches hétérofermentaire.

D'après les résultats de l'étudiante **Bellal,2018** montrent qu'il y a trois souches homofermentaire (ne produisent de CO<sub>2</sub>) à partir du glucose et une souche hétérofermentaire (produisent de CO<sub>2</sub>) qui apparait dans cloche de durham caractère spécifique pour les leuconostoc (**Mathol et al. ; 1994 ;Badis et al. :2005**).

Les résultats sont présentés dans figure13

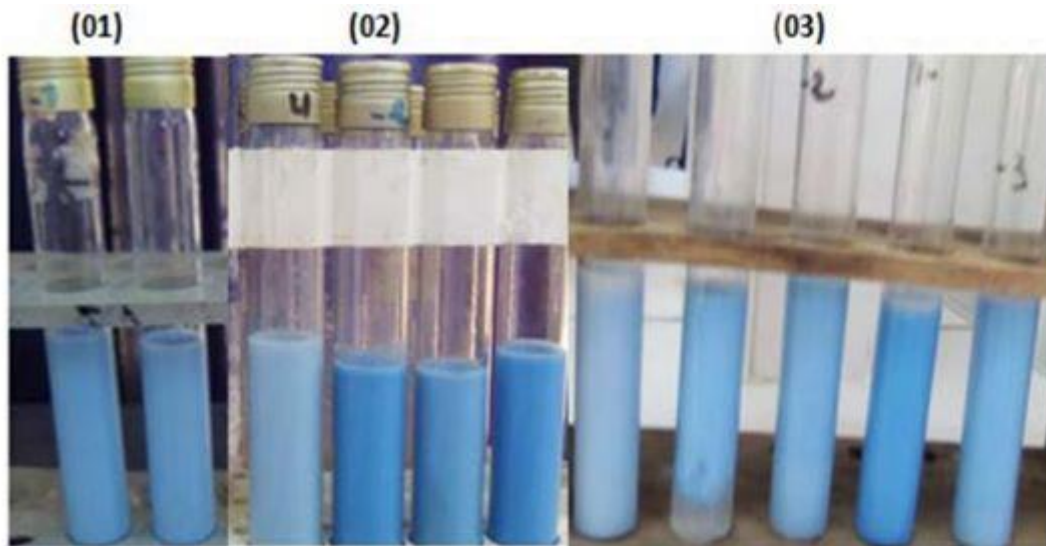


**Figure 13:** type fermentaire des souches (*lactobacillus* ; *Leuconostoc* ; *streptococcus* ; *Lactococcus* sur MRS contenant la cloche de durham incubée à 30°c/24h (**Bellal,2018**).

### VI.1.3.3. Croissance sur lait de Sherman

Un bleu de méthylène oxydé garde sa couleur bleu, une fois réduit il perd sa couleur par gain d'électrons faisant apparaitre la couleur blanche originale du lait, généralement, les tubes ont gardé une couleur bleu, ce qui nous oriente vers des souches micro aérophiles n'ayant utilisé qu'un petit volume d'oxygène présent dans le milieu (**Leveau et al, 1991**).

Les résultats obtenus par l'étudiante **Bellal, 2018** indique q' il y a une forte coagulation observés chez tous les isolats dans le milieu de lait de Sherman mais il n'y pas de réduction de bleue de méthylène qui justifier par l'absence de décoloration de milieu c'est de réaction négative les résultats ont été obtenues dans le figure14.



**figure14:** résultat de test de Sherman à 0.1% et 0.3% de bleue de méthylène. (01) témoin ;(02) pour 0.3% bleue de méthylène. (03) pour 0.1% bleue de méthylène ( **Bellal, 2018**)

### VI.1.3.4. Test de croissance à différentes température

Les variations de température d'incubation pour les différents isolats est un critère physiologique de sélection pour l'identification et la mise en évidence des aptitudes biotechnologique. Les résultats de ce test permettent de distinguer entre souches mésophiles qui poussent à 30°C, psychrophiles qui poussent à 22°C et celles qui se développent à 45°C et donc thermophiles.

D'après les résultats de les étudiante **Bellal, 2018** les souches n'ont pas poussé ni à 4°C ni a 45°C sauf une souche de *streptococcus* ne pousse pas à 20°C mais il pousse à 45°C cependant elles ont poussée à 20°C et 40°C .les résultats ont été obtenues dans le figure15.



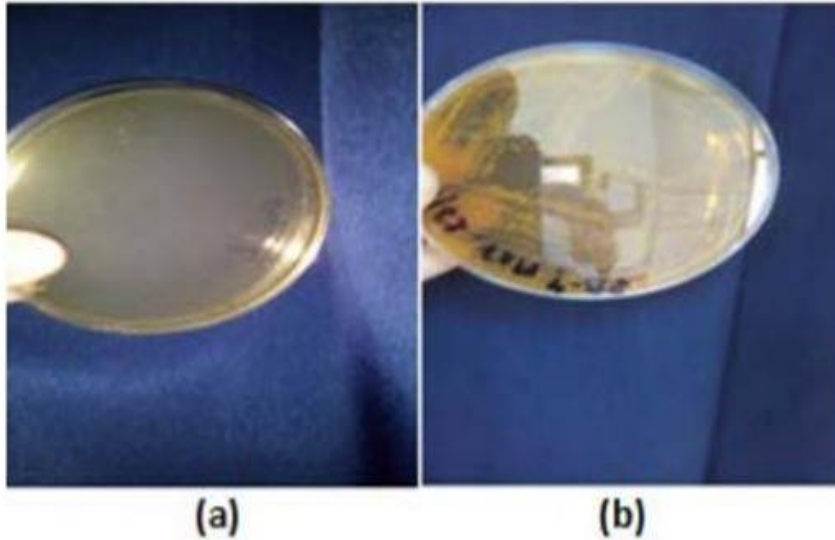
**Figure15:** test de croissance à différente température (20°C ; 30°C ; 40°C ;45°C) ( **Bellal, 2018**)

## Résultats et discussions

---

### VI.1.3.5. La thermorésistance :

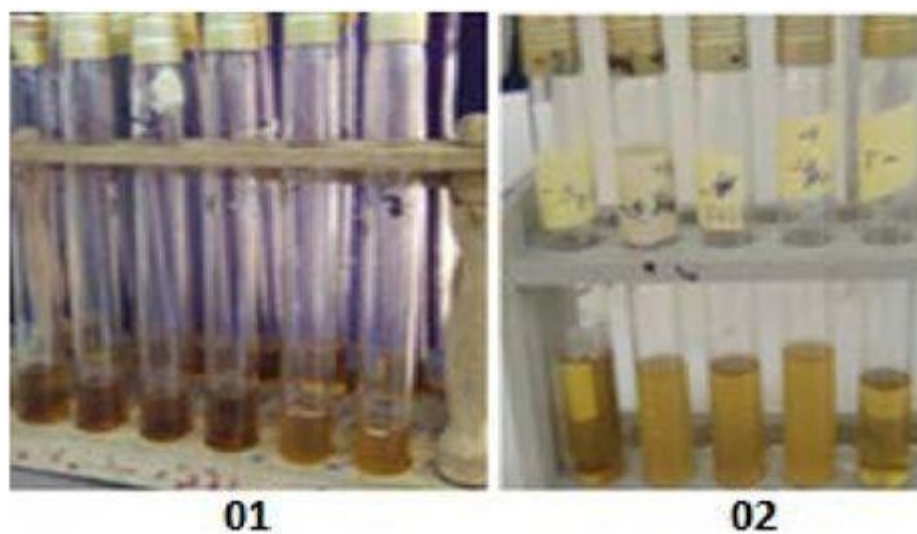
D'après les résultats de l'étudiante **Bellal,2018** aucune souche n'a pu résister à 63.5°c /30min mais toutes les souches ont pu résister à 55°c/30min. sauf la souche de *Lactobacillus* les résultats ont été obtenus dans le figure16.



**Figure 16 :** (a) résultats de résistance 63.5°c /30min ;(b) résultats de résistance 55.5°c après 24h d'incubation ( **Bellal, 2018**).

### VI.1.3.6. La croissance en milieux acide :

Les résultats de l'étudiante **Bellal,2018** montrent que toutes les souches (*Lactobacillus* ;*Streptococcus* ; *Leuconostoc* et *Lactococcus*)poussent à pH4.5 et pH6.5 .les resultats ont été obtenus dans le figure17



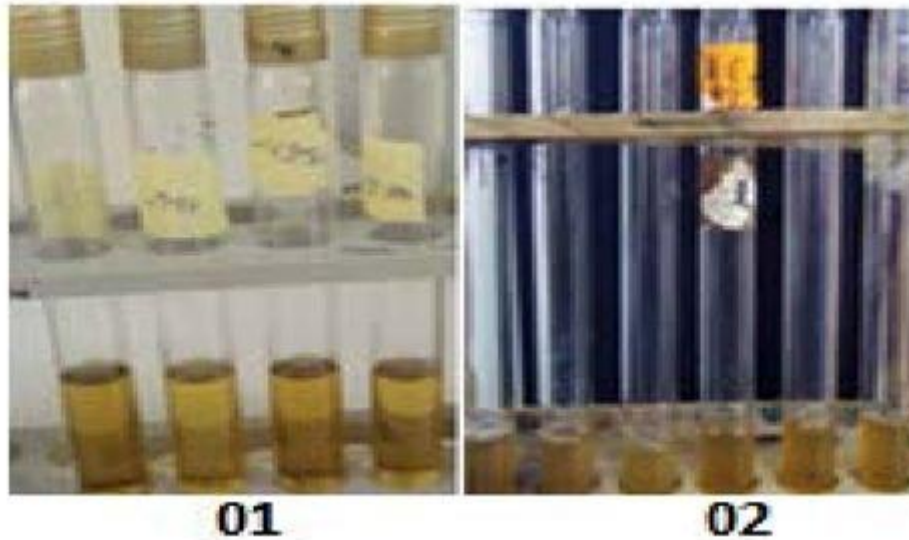
**Figure 17:**test de croissance à (01) :pH4.5 +pH5.4 ; (02) :pH9 ( **Bellal, 2018**).

## Résultats et discussions

---

### VI.1.3.7. La croissance au milieu hypersalé

D'après les résultats de l'étudiante **Bellal,2018** tous les souches poussent à ces concentration de NaCl (4.5% et 6.5%).6.5%).au contraire tous les souches ne poussent pas au milieu halin a18%NaCl .les résultats sont représentés par figure18.



**Figure18:** résultat de test de croissance à 4.5%NaCl ; 6.5%NaCl et 18%NaCl ( **Bellal, 2018**)

### VI.1.3.8. Hydrolyse de l'arginine

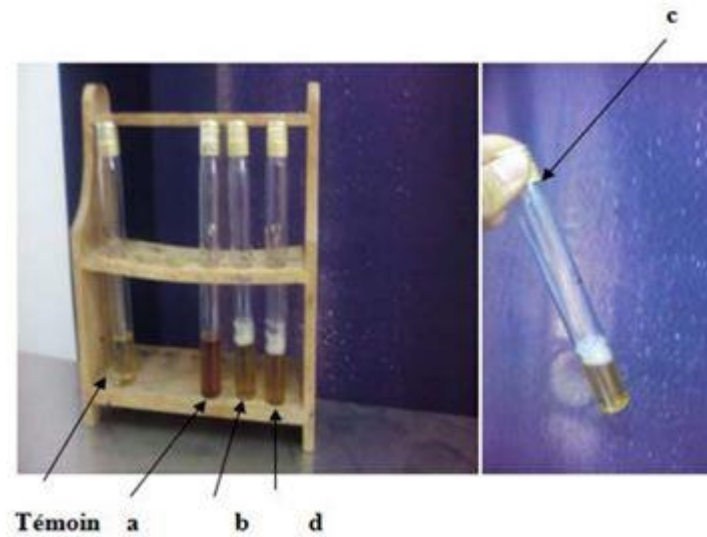
La mise en évidence de l'arginine dihydrolase se traduit par le virage de l'indicateur de pH du jaune vers le violet par libération d'ammoniac, pour un test négatif la couleur reste jaune due à l'acidification par fermentation du glucose, les résultats obtenus par **Bellal, 2018** trois souches n'hydrolysant pas l'arginine et une souche hydrolyse l'arginine.

### VI.1.3.9. Test de production l'acétoine

La production d'acétoine a été effectuée sur le milieu clark et lubs ; elle se manifeste par l'apparition d'un anneau rose –rouge sur la culture après l'addition des deux réactifs NaOH et l'alpha-naphtol .nous avons observés l'absence de l'anneau rouge : réaction négative .les résultats de **Bellal.2018** montrent que tous les isolats ne produisent pas de l'acétoine. Les différents résultats sont montrés dans la figure19.

## Résultats et discussions

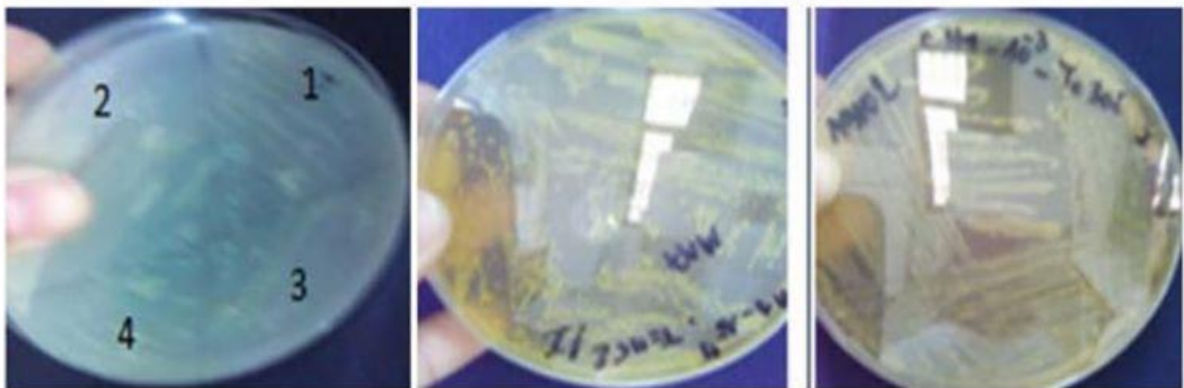
---



**Figure19** : résultat de test de production l'acétoïne a :*Lactobacille* ; b :*leuconostoc* ; c :*Streptocoque* ;d :*Lactocoque* ( Bellal, 2018)

### VI.1.3.10. Utilisation de citrate :

Le test de citrate s'est révélé positif pour l'ensemble des souches isolées d'après les résultats de Bellal, 2017.



**Figure20**: test de citratase pour les souches lactiques (1)*Lactobacillus*;(2) *leuconostoc* ;(3) *streptocoque* ;(4) *lactocoque* (à droit) ( Bellal, 2018)

### VI.1.3.11. Production de dextrans

D'après les résultats de Bellal, 2018 le test de dextrane est révélé négatif pour 3 souches isolées et positif pour une.

## Résultats et discussions

**Tableau 9:** les caractéristiques physiologiques et biochimiques des souches lactiques **Bellal, 2018.**

	<i>Lactobacille</i>	<i>leuconostoc</i>	<i>streptococcus</i>	<i>lactococcus</i>
<b>Gram</b>	+	+	+	+
<b>Catalase</b>	-	-	-	-
<b>Forme</b>	Petite bacille	Des coques	Des coques	Des coques
<b>Mode d'association</b>	Diplo/chainette	Diplo	Longues chaines	Diplo/chainette
<b>PH4,5</b>	+	+	+	+
<b>PH5,4</b>	+	+	+	+
<b>PH6,5</b>	+	+	+	+
<b>PH9,6</b>	+	-	-	+
<b>4,5%NaCl</b>	+	+	+	+
<b>6,5%NaCl</b>	+	+	+	+
<b>18%NaCl</b>	-	-	-	-
<b>0,1%BM</b>	-	-	-	-
<b>0,3%BM</b>	-	-	-	-
<b>ADH</b>	-	-	+	-
<b>Cit</b>	+	+	+	+
<b>Homo/Hétéro</b>	Homo	Hétéro	Homo	Homo
<b>Dextrane</b>	-	+	-	-
<b>VP</b>	-	-	-	-
<b>T=20°c</b>	-	+	-	+
<b>T=30°c</b>	+	+	+	+
<b>T=37°c</b>	+	+	+	+
<b>T=40°c</b>	+	+	+	+
<b>t=45°c</b>	-	-	+	-
<b>63°c/30mn</b>	-	-	-	+
<b>55°c/15mn</b>	-	+	+	+
<b>RV</b>	-	+	-	-

(+) : bonne réaction ;(-) : pas de croissance (pas de réaction); RV : Résistantes - Vancomycine ; BM :Bleue de Méthylène ; Cit :citratase ; diplo : diplocoques

### VI.1.3.12. Profil de fermentation des sucres :

L'utilisation des sucres se traduit par un virage de l'indicateur colorée violet vers le jaune c'est réaction(+) et le réaction (-) reste jaune les résultats de l'étudiante **Bellal,2018** ont été expliqués dans tableau

## Résultats et discussions

**Tableau 10:** résultats des profils fermentaire des bactéries lactique **Bellal,2018**

	<i>Lactobacille</i>	<i>Leuconostoc</i>	<i>streptococcus</i>	<i>Lactococcus</i>
<b>Témoin</b>	-	-	-	-
<b>Adonitol</b>	+	-	-	-
<b>Fructose</b>	+	+	+	+
<b>Maltose</b>	+	+	+	-
<b>Lactose</b>	+	+	+	+
<b>Xylose</b>	+	-	-	+
<b>Glactose</b>	+	+	+	+
<b>Mannitol</b>	+	-	+	+
<b>saccharose</b>	+	+	+	+
<b>Amidon</b>	-	-	-	-
<b>Glycérol</b>	-	-	-	-
<b>Glucose</b>	+	+	+	+

(+) : bonne réaction ;(-) : pas de croissance (pas de réaction); RV : Résistantes - Vancomycine ; BM :Bleue de Méthylène ;Cit :citratase ; diplo : diplocoques

Les tests morphologiques et physiologiques de l'étudiante **Bellal,2018** permettent de différencier 4 espèces bactériennes. Par rapport au test de l'ADH ; croissance à différentes temperature ;NaCl ;pH la production l'acétoine ;l'utilisation de citrate et le profil fermentaire des sucres ;ils ont été subdivisés en espèces et sous-espèces (**Badis. ;2004 ;Dicks et al. ;1993 ;Hammes et al. ;1992 ;Holzapfel et Schillinger 1992 ;Harrigan et al. ;1976**).

**Espèce01** : selon les résultats de l'étudiante **Bellal, 2018** mentionné dans les tableaux 14 et 15, Cette souche peut s'apparenter à *lactobacillus plantarum* d'après les travaux de (**sharpe ; 1979 ;balows et al. ;1991**).

**Espèce02** : selon les résultats de l'étudiante **Bellal, 2018** mentionné dans les tableaux 14 et 15, Cette souche peut s'apparenter à *Leuconostoc mesenteroides subsp mesenteroides* d'après les travaux de (**Ogier et al ; 2008 ;khedid et al. ;2009**). **Holt et al. ;2001 ;Arguello-Morales et al. ;2005**).

**Espèce03** : selon les résultats de l'étudiante **Bellal, 2018** mentionnés dans les tableaux 14 et 15, Cette souche peut s'apparenter à *Streptococcus thermophilus* ; Selon les données de la souche de références de **Bergy's et manual (2009)**.

**Espèce04** : selon les résultats de l'étudiante **Bellal, 2018** mentionnés dans les tableaux 14 et 15. Cette souche peut s'apparenter *Lactococcus lactis*, mêmes résultats ont été trouvés par (**Sharpe ;1979 ;Scheifer et al. ;1985 ;Bolows et al. ;(1991)**).

## Résultats et discussions

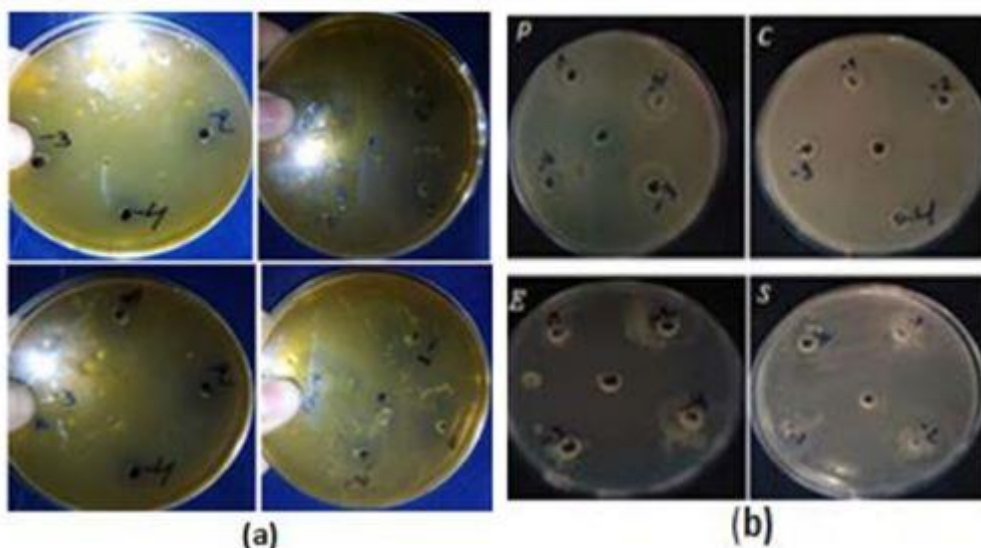
### VI.2. Résultats des interactions bactériennes

L'activité antibactérienne des souches contre six souches pathogènes a été évaluée afin de mettre en évidence un éventuel pouvoir antagoniste. Les résultats de ce test sont illustrés dans le (Tab. 16).

Tableau 11 : spectre d'action les BAL entre eux et les germes pathogènes **Bellal,2018**

Souche indicatrice	Milieu	Diamètres des zones d'inhibitions (mm)			
		<i>Lb.plaratum</i>	<i>Ln.mesenteroides</i>	<i>Stre.thermophilus</i>	<i>Lc.lactis</i>
<i>Pseudomonas.aeruginosa</i>	KINGA	22	29	20	23
<i>Staphylococcus.aureus</i>	CHAPMAN	10	11	9	9
<i>Condida.albicans</i>	PCA	6	4	4	5
<i>Eschrichia.coli</i>	VRBG	40	14	18	12
<i>Alternaria.alternata</i>	Sabouraud	-	-	-	-
<i>Aspergillus brasiliensis</i>	Sabouraud	5	4	10	6

(-) : pas des zones d'inhibitions



**Figure21** : Spectre d'action des souches des lactiques *lactobacillus plantarum* ; (BL1) *leuconostoc mesentéroïdes* ;(BL2) *streptococcus* ;(BL3) *lactococcus lactis* (BL4) vis-à-vis les souches pathogènes(P): *pseudomonas aeruginosa* ; (C) : *condida albicans* ATCC10231; (E): *Escherichia coli* ATCC 25921 (S): *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (a) : **méthode directe** ; (b) : **méthode indirecte** ( Bellal, 2018).

## Résultats et discussions

---

Les souches présentant une zone claire d'extension latérale supérieure à 5 mm sont considérées comme productrices de substances antibactériennes (**Fleming et al., 1975**).

Ces résultats indiquent que ces bactéries lactiques sont capables de synthétiser des substances inhibitrices ayant une activité antibactérienne. L'ensemble des souches ne présente pas le même spectre d'action vis-à-vis des bactéries pathogènes.

Selon **Yateem et al. (2008)** qui ont isolé des souches lactiques à partir du lait de chamelle au Kuwait dont l'effet antagoniste s'était exercé uniquement sur les bactéries à Gram négatif (*Salmonella ssp* et *E. coli*), mais aucun effet n'a été détecté sur *Staphylococcus aureus*. Au contraire, **Ammor et al. (2006)** qui ont isolé des souches lactiques dont l'effet antagoniste était restreint aux bactéries à Gram positif, celles à Gram négatif étant résistantes.

Plusieurs travaux ont démontré la capacité des bactéries lactiques à inhiber des souches de *Listeria monocytogenes* (**Benkerroum et al., 2000 ; Pinto et al., 2009 ; Hartmann et al., 2011 ; Xie et al., 2011**) et de *Listeria innocua* (**Simova et al., 2009 ; Pringsulaka et al., 2011**) et les autres pathogènes *E.coli ;s.aureus ;Candida albicans* (**Achemchem, 2014 ;Abassa, 2012 ; Hassaine, 2013**).

La capacité inhibitrice in vitro des bactéries lactiques vis-à-vis des germes pathogènes semble être une bonne propriété probiotique, comme elle peut jouer un rôle dans la préservation de la qualité hygiénique des denrées alimentaires (**Ammor et al., 2006**).

### VI.3. Conservation des souches :

On a fait la conservation de nos souches dans le but de les réutiliser dans le futur ou dans une autre recherche.

### Discussion générale

Les espèces de bactéries lactiques détectées dépendent essentiellement de la nature du lait cru et des conditions d'analyse (**Guessas, 2007**). Le lait de chamelle (*Camelus dromedarius*) est depuis longtemps considéré comme un aliment thérapeutique par les habitants des régions arides. Il est très bien protégé contre différents contaminants microbiens par des systèmes inhibiteurs naturels, incluant le système LPS (*lactoperoxydase/ thiocyanate/ peroxyde d'hydrogène*), les lactoferrines, les lysozymes, les immunoglobulines et les acides gras libres (**Benkerroum et al., 2004**).

Le lait de chamelle contient aussi une microflore variée qui constitue une deuxième ligne de défense par la production d'acide lactique, de peroxyde d'hydrogène et de bactériocines (**Konuspayeva et al., 2003**).

Les tests de ré-identification des souches lactiques nous ont permis de confirmer que ces souches appartiennent à l'espèce de *Leuconostoc mesenteroides subsp. mesenteroides*; *Lactococcus lactis subsp. lactis* *Streptococcus thermophilus*; *Lactobacille plantarum*.

Les résultats d'identification de cette étude montrent la présence majoritaire des coques par rapport aux bâtonnets. Les mêmes résultats ont été retrouvés à faibles pourcentages, les mêmes résultats ont été rapportés par **Franciosi et al. ; 2009 ; Cheriguene ;2008 ;Kacem et al . ; 2002**). Les lactocoques ont la capacité inattendue de résister à une concentration de 6,5% de NaCl. Cette concentration saline est plus élevée que celle de 4,5% de sel communément rapportée dans la littérature. Ce phénomène a été également rapporté par **Karam et al .;2006** qui ont confirmé la présence dans le lait de chamelle, de lactocoques résistants à des concentrations élevées de sel. Mêmes résultats ont été mentionnés par Belarbi ;2011 qui a isolé un nombre élevé de souches de *Lactococcus* atypiques qui poussent en présence de 6,5% NaCl dans le lait cru de chèvre.

La présence du genre *Leuconostoc* dans le lait cru de chamelle analysé était très faible. Cette dernière espèce est souvent détectée dans de nombreuses variétés de fromages et produits laitiers fermentés. Bien qu'elle ait une faible activité acidifiante, elle contribue à la formation de l'arôme des produits laitiers en produisant du diacétyl, de l'acétate et de l'éthanol. En général, les espèces de *Leuconostoc sp.* sont connues pour leur rôle dans la fermentation et l'amélioration de la saveur des aliments par la production de composés aromatiques et également de la texture de ces aliments par la production de dextrane (**Hemme et al ; 2004**).

Les espèces de lactobacilles identifiées par Bellal est le genre *Lactobacillus plantarum*. *Lactobacillus plantarum* était la seule espèce de lactobacilles trouvée dans les échantillons de lait de chamelle. Les résultats sont semblables aux travaux de **Karam et al . ;2006**.

L'aptitude de ces souches à inhiber un large groupe de bactéries pathogènes est confirmée par les résultats d'interactions entre les souches lactiques et les souches pathogènes utilisées dans cette étude et qui sont *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas auroginosa* ;et *condida albicans* .l'ensemble des souches ne présentent pas même spectre d'action contre les souches pathogènes (**Onda et al. ; 2003**). *Lactobacille plantarum* et *Leuconostoc méserteroides subp méserteroides* .présentent un large spectre élargie vis-à-vis *Staphylococcus aureus* qui induite par l'effet de l'acide lactique et bactériocines. Même résultat a été trouvé par (**Rahli ;2015 ; Achemchem ;2014**).

## Conclusion :

A travers cette étude, nous avons tenté d'apporter une contribution à la caractérisation et l'identification des souches lactiques à partir de lait de chamelle provenant de la wilaya de Ouergla. Mais à cause de la situation dans laquelle le pays est passé on ne pouvait pas terminer notre travail, donc nous comptons sur les résultats d'autre mémoire.

D'après les recherches qu'on a fait on a conclu que Les critères morphologiques, physiologiques et biochimiques des isolats identifiés ont permis de les rattacher les genres lactiques le plus dominant est le genre *lactococcus*, *streptococcus* ;*lactobacillus* et *Leuconostocs* .Les espèces dominantes sont : *Lactococcus lactis ssp. Lactis* .*Lactobacillus Plantarum* ;*Leuconostoc méésentéroïdes* ;*streptococcus thermophilus* Ce modeste travail a permis de monter l'importance des laits et des bactéries lactiques du point de vue production des substances inhibitrices des microorganismes pathogènes, *Lactococcus lactis subsp lactis* et *Streptococcus thermophilus* sont des espèces dominantes parmi l'ensemble des bactéries lactiques isolées et très recherchée dans l'industrie laitière pour ses aptitudes acidifiantes et aromatisantes et pourrait éventuellement être utilisée comme un levain pour la fermentation de lait de chamelle.

# **Les références bibliographiques**

## A

- ABDEL-RAHIM A.G, (1987)**. The chemical composition and nutritional value of camel (*Camelus dromedarius*) and goat (*Capra hircus*) milk. *World Rev. Anim. Prod.*, 23, 9-11.
- Abdelguerfi, A., Ramdane, M. S. A., (2003)**. Evaluation des besoins en matière de renforcement des capacités nécessaires à la conservation et l'utilisation durable de la biodiversité importante pour l'agriculture bilans des expertises. Bilans des Expertises sur « La Biodiversité Importante pour l'Agriculture en Algérie » MATE-GEF/PNUD : Projet ALG/97/G31.
- Aboutayeb (2009)**. Technologie du lait et dérivés laitiers <http://www.azaquar.com>.
- Agnès Hebert., 2010** Ecosystème fromager : de l'étude du métabolisme du soufre chez *Kluyveromyces fragilis* et *Yarrowia lipolytica* à l'interaction entre *Kluyveromyces fragilis* et *Brevibacterium aurantiacum*. Thèse Doc L'Institut des Sciences et industries du Vivant et de l'Environnement, (AgroParisTech).
- Ammour M. S. (2004)**. « Ecosystème microbien d'un atelier fermier de salaison Identification et propriétés des bactéries lactiques ». Thèse doctorat Agrocampus Rennes.
- AMMOR S., TAUVERON G., DUFOR E. et CHEVALIER I., 2006**. Antibacterial activity of lactic acid bacteria against spoilage and pathogenic bacteria isolated from the same meat small-scale facility 1- Screening and characterization of antibacterial compound. *Food Control*. 17 : 454-461.
- Ammor S., Tauveron G., Dufour E., Chevallier I. 2006**. Antibacterial activity of lactic acid bacteria against spoilage and pathogens bacteria isolated from the same meat small-scale facility. *Food Control* 17: 454-468.
- Anastasiadou S., Papagianni M., Ambrosiadis I. & Koidis P., 2008**. Rapid quantifiable assessment of nutritional parameters influencing pediocin production by *Pediococcus acidilactici* NRRL B5627. *Bioresource Technol.*, 99(14), 6646-6650.
- Atlan D., Béal C., Champonier-Vergès M.C., Chapot-Chartier M.P., Chouayekh H., Coccagn- Bousquet M., Deghorain M., Gadu P., Gilbert C., Goffin P., Guédon E., Guillouard I., Guzzo J., Juillard V., Ladero V., Lindley N., Lortal S., Loubière P., Maguin E., Monnet C., Monnet V., Rul F., Tourdot-Maréchal R. et Yvon M., 2008**. Métabolisme et ingénierie métabolique. In: Bactéries lactiques de la génétique aux ferments (Corrieu G. et Luquet F.M.). Tec & Doc, Lavoisier. Paris. 271-447.
- Aymerich T. Garriga M. Ylla J. Vallier J. Monfort JM. Hugas M (2000)**. Application of enterocins as biopreservatives against *Listeria innocua* in meat products. *J Food Prot.*, 63: 721-726

## B

-**Badis, A. Laouabdia-Sellami, N., Guetarni, D., 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". *Sciences et Technologie*, 23: 30-37.

-**Badis, A., Guetarni, D., Moussa-Boudjemaâ, B., Henni, D. E. et Kihal, M., 2004:** Identification and technological properties of lactic acid bacteria isolated from raw goat milk of four Algerian races. *Food Microbiol.* 21, 579–588.

-**Baldent., 1997.** Coloration usuelles en Bactériologie. *Revue de Développement et santé.* Février (1997).

-**Bellale I., 2018.** L'activité antimicrobienne des bactéries lactiques isolées à partir du lait de chamelle vis-à-vis les souches pathogènes. Mémoire de Master 2 : microbiologie appliquée. Université de Mostaganem, 58p.

-. **Ben-Aissa, M., (1989).** Le dromadaire en Algérie. *Options Méditerranéennes - Série Séminaires (02)*, 19-28.

-**Benech R.O., Kheard E.E., Lacroix C. et Fliiss I. (2002).** Antibacterial activities of nisin Z encapsulated in liposomes or produced in situ by mixed culture during cheddar cheese ripening, *Appl. Environ. Microbio*, 68, p 5607-5619.

-**Bonaïti, C., Irlinger, F., Spinner, H. E. & Engel, E. (2005).** An iterative sensory procedure to select odor-active associations in complex consortia of microorganisms: application to the construction of a cheese model. *Journal of Dairy Science* 88(5), 1671-84.

-**Bougeurra A., 2012.** Caractérisation des bactéries lactiques du lait de chamelle. Mémoire de Magister: Génie microbiologique. Université de Setif, 79p.

-**Broadbent J.R., 2001.** Genetics of Lactic Acid Bacteria. In: *Applied Dairy Microbiology* (Marth E.H. et Steele J.L.). 2e Ed., Marcel Dekker, Inc. New York. 243-300.

-**Brul S., Coote P. 1999.** Preservative agents in foods: Mode of action and microbial resistance mechanisms. *Int. J. Food Microbiol.* 50(1-2): 1-17.

-**Bulut, Ç. (2003).** Isolation and molecular characterization of lactic acid bacteria from cheese. Master of science. Izmir, Turkey.

## C

-**Calvez. S ; Belguesmia. Y ; Kergourley. G.(2009).** in bactériocines : de la synthèse aux applications in bacteries lactiques : physiologique , métabolisme, génomique et applications industrielles édition : Economica .2009. p 100-122.

-. **Cauvet C., (1925).** Le Chameau : anatomie, physiologie, race, extérieur, vie et mœurs, élevage, alimentation, maladies, rôle économique. -Paris: IB. Baillièrre et fils. 947p7

-**Canler J-P., 2005.** Dysfonctionnements biologiques des stations d'épuration : Origines et solutions. Groupe Gis-Biostep. Doc & Tech. FNDAE n°33 : pp 100-104.

-**Cutter CN, Siragusa GR (1998).** Incorporation of nisin into a meat binding system to inhibit bacteria on beef surfaces. *Lett Appl Microbiol*, 27: 19-23.

## D

-**Delves-Broughton J., Blackburn R. J., Evans P. et Hugenholtz J. (1996).** Applications of the bacteriocin, nisin. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 69, p193-202. In (Galves A . 2007).

-**Dellaglio F., De Roissart H., Torriani S., Curk, M.C. et Janssens, D. (1994).** « Caractéristiques générales des bactéries lactiques ». P : 25-116. In : De Roissart, Luquet F.M. (ed) *Bactéries lactiques*. Vol 1. Loriga Uriage, Paris, France.

-**De Man J.D, Rogosa M, & Sharpe M.E., 1960.** A medium for the cultivation of *Lactobacilli*.

-**Devoyod, J.J., Poullain, F. (1988).** Les *Leuconostocs*. Propriétés: leur rôle en technologie laitière. *Le Lait*, 68: 249- 279.

-**De Roissart, H. B. et Luquet, F. M., 1994:** Taxonomie, métabolisme, croissance et génétique des bactéries lactiques. Vol. bactéries lactiques (tome 1). Ed. Loriga (Chemin de saint -gorges). 25-23.

-**De Roissart H., Luquet F.M., (1994).** Les bactéries lactiques. Uriage, Loriga, France, vol. 1. pp. 1-286.

-**Dortu C., Thonart P. 2009.** Les bactériocines des bactéries lactiques : caractéristiques et intérêt pour la bioconservation des produits alimentaires. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ*, 13: 143-154.

- **Diallo, B.C. (1989).** L'élevage du dromadaire en Mauritanie. *Options Méditerranéennes*. 2 : 29-32.

-**DILANYAN S. H, (1959).** Utilization of mares, ewes, camels and yaks milk in the USSR. Report Int. Comm. Dairying in warm countries. Brussels, Belgium : International Dairy Federation.

-**Drider .D ; Prévost. H. (2009).** Bactéries lactiques : physiologie, métabolisme, génomique et applications industrielles Edition : Economica

-**Dworkin, M., Falkow, S., Rosenberg, E., Schleifer, K. H., Stackebrandt, E. (2006).** *The prokaryotes "third edition": A handbook on the Biology of bacteria: Firmicutes, Cyanobacteria*. Springer, Singapore.

**-EL-AGAMY E.I., ABOU-SHLOUE Z.I., ABDEL-KADER Y.I. (1998).** Gel electrophoresis of proteins, physicochemical characterization and vitamin C content of milk of different species. Alexandria J. Agric. Res, 43(2), 57-70.

**-El-Ziney M.G., Uyttendaele M., Debevere J., Jakobsen M. 1998.** Characterization of growth and metabolite production of *Lb. reuteri* during glucose/glycerol fermentation in batch and continuous cultures. Biotechnol. Lett. 20 (10): 913-916.

**-FAOstat. (2013).** FAOstat database. Available at. <http://faostat.fao.org/site/567/default.aspx#ancor>.

## **F**

**-FAYE B., (1997).** Guide de l'élevage du dromadaire. Editions SANOFI. Santé et Nutrition Animale. 126 pages.

**-Fenton M.P. (1987).** An investigation into the source of lactic acid bacteria in GRAS silage J. Appl Bacteriol. 62 :181-188

## **G**

**-Gafner Jean-Louis., (2012).** La qualité microbiologique des aliments pour animaux, Station de recherche Agroscope Liebefeld-Posieux ALP, 1725 Posieux.

**- Galvez A., Abriouel H., Lopez R.L. et Ben Omar N. (2007).** Bacteriocin-based strategies for food biopreservation. Int. J. Food Microbiol., 120(1-2), p51-70.

**-Gevers, D. (2002).** Tetracycline resistance in lactic acid bacteria isolated from fermented dry sausages. Thèse Doc. Univ. Gent. Fac. Sci. Gent. Belgium

**-Ghraiiri T., Chaftar N., Hani K. (2012).** Bacteriocins: recent advances and opportunities in Progress in Food Preservation, Chapter 23. eds Bhat R., Karim Alias A., Paliyath G., editors. (Oxford: Wiley-Blackwell; ), 485–511

**-Gonzalez, B., P. Arca, B. Mayo et J. E. Suarez. (1994).** Détection, purification and partial characterization of plantaricin C, a bacteriocin produced by a *Lactobacillus plantarum* strain of dairy origin. Appl. Environ. Microbiol. 60: 2158-2163

**-Guessas, B., Kihal M. (2004).** Characterization of lactic acid bacteria isolated from Algerian arid zone raw goats' milk. African Journal of Biotechnology, 3: 339-342.

**-Guiraud J-P. 2003.** Microbiologie Alimentaire. Pouvoir pathogène- notion d'immunologie. Relation microorganismes êtres vivants. Edition DUNOD. Paris 2003, pour la nouvelle présentation. Pp : 37-38.

-**Guiraud J.P. et Rosec J.P., 2004.** Pratique des normes en microbiologie alimentaire. AFNOR. 237- 251.

## H

-**Haddie J.M., 1986.** Other streptococci. In : Bergey's manual of systematic bacteriology (Sneath P.H.A., Mair N.S., Sharpe M.E., Holt J.G.W. et Baltimore W.). 1 : 1070.

-**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.

-**Hoste, C., Peyre De Fabregues, B., Richard, D., (1984).** Le dromadaire et son élevage. Maisons-Alfort, IEMVT-CIRAD,. (Coll. Etudes et Synthèses de l'IEMVT no 12).

-**Howeli, K. S., Cozzolino, D., Bartowsky, E. J., Fleet, G. H. & Henschke, P. A. (2006).** Metabolic profiling as a tool for revealing *Saccharomyces* interactions during wine fermentation. FEMS Yeast Research 6(1), 91-101.

## I

-**Idoui T., Boudjerda J., Leghouchi E. et Karam N.E., 2009.** Lactic acid bacteria from "Sheep's Dhan", a traditional butter from sheep's milk: Isolation, identification and major technological traits. Grasas Y Aceites, 60(2): pp 177-183.

## J

- **Jacobsen T. Budde BB, Koch AG (2003).** Application of *Leuconostoc carnosum* for biopreservation of cooked meat products. J Appl Microbiol, 95: 242-249

- **Jack RW, Wan J, Gordon J. Harmark K. David son BE, Hillier AJ, Wettenhall RE, Hickey MW. Coventry MJ (1996).** Characterization of the chemical and antimicrobial properties of piscicolin 126, a bacteriocin produced by *Carnobacterium piscicola* JG126. Appl Environ Microbiol, 62: 2897-2903.

-**Jedidi H. (2007).** Effet du stress gastro-intestinal sur la physiologie et le métabolisme des bactéries lactiques et probiotiques. Sciences et Technologie des Aliments. Université Laval Québec. P 30.

-**Johnson J. L., Phelps C. F., Cummins C. S., London J et Gasser F., 1980** Taxonomy of *Lactobacillus acidophilus* group, International Journal of Systematic Bacteriology, 30: pp. 53-68.

## K

- Kadim, I.T., Mahgoub, O., Faye, B., Farouk, M.M. (2013).** Camel meat and meatproducts. CAB International (Library of Congress Cataloging-in-Publication Data), p 259. ISBN 978-1-78064-101-0.
- KAMOUN M. , RAMET J. P., (1989).** Conservation et transformation du lait de dromadaire. Options Méditerranéennes, Série séminaires, n° 6: 229-231.
- Karthikeyan, V. et Santhosh, S. W. (2009).** Study of bacteriocin as a food preservative and the *L. acidophilus* strain as probiotic. Pak. J. Nutr., 8: 335-340.
- 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.
- Klaenhammer T.R. 1993.** Genetics of bacteriocins produced by lactic acid bacteria. FEMS Microbiol. Rev., 12(1-3): 39-85.
- **Klein A., 2014.** Jean-Paul Vuillemin (1861-1932) : l'inventeur nancéien du concept d'antibiotique. Hal. Archives-ouvertes. Revue médicale de l'Est. 08 (1): 01- 07p <https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-00984423>
- Kobilinsky A., Nazer A.I., Dubois-Brissonnet F. 2007.** Modeling the inhibition of *Salmonella typhimurium* growth by combination of food antimicrobials. Int. J. Food Microbiol. 115: 95-109.

## L

- Lancaster L. E., Wintermeyer W., Rodnina M. V. (2007).** Colicins and their potential in cancer treatment. Blood Cells Mol. Dis. 38, 15–18.
- LARPENT J.P., G.M., (1990).** Mémento technique de microbiologie. 2<sup>ème</sup> édition. Lavoisier TecetDoc. Paris .PP471.
- LARPENT J.P., (1997).** Microbiologie alimentaire, techniques de laboratoire. Edition TEC et DOC, Lavoisier, Paris, 10 -73P.
- Leisner JJ, Greer GG. Stiles ME (1996).** Control of beef spoilage by a sulfide-producing *Lactobacillus* strain with bacteriocinogenic *Leuconostoc gelidium* UAL187 during anaerobic storage at 2 degrees C. Appl Environ Microbiol, 62 26102614.
- Leveau J.Y. et Bouix M., 1993.** Microbiologie industrielle : les microorganismes d'intérêt industriel. Tec & Doc, Lavoisier. Paris. 85-87.
- Lhote, H., (1987).** Chameau et dromadaire en Afrique du Nord et au Sahara : recherches sur leurs origines. Alger : ONAPSA. - 161 p.
- Liu S. 2003.** Practical implications of lactate and pyruvate metabolism by lactic acid bacteria in food and beverage fermentations. Int. J. Food Microbiol. 83 (2): 115-131.

## M

-**Mati A. 1999.** Le lait de chamelle ; état des caractérisation par rapport au lait bovin; aptitudes à la conservation et à la transformation. in premiers journées sur la recherche camelin : pp124-125.

-**Milliere, J.B., Mathot, A. G., Schmitt, P., Divie, C. (1989).** Phenotypic characterization of *Leuconostoc* species. *Journal of Applied Bacteriology*, 67: 529-542.

-**Moll. G. N; Konings. W. N; Driessen. J. M. (1999)** .Bacteriocins: mechanism of membrane insertion and pore formation .*Antonie Van Leeuwenhoek* 76: p 182

## N

-**Nes, I. F., Diep, D. B., Havarstein, L. S., Brurberg, M. B., Eijsink, V., and Holo, H. (1996)** Biosynthesis of bacteriocins in lactic acid bacteria. *Antonie Van Leeuwenhoek*.70: 113-128.

## O

-**Ould Ahmed, M. (2009).** Caractérisation de la population des dromadaires en Tunisie (*Camelus dromedarius*). Thèse de doctorat, Institut national agronomique de Tunisie, Tunisie.

## P

-**Parente E. & Ricciardi A., 1999.** Production, recovery and purification of bacteriocins from lactic acid bacteria. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 52, 628-638.

-Pilet M.F., Magras C., Federighi M., 1998. Bactéries lactiques. In : Manuel de bactériologie alimentaire (Sutra L., Federighi M., Jouve J.L.). Polytechnica. Paris. 235-260.

-**Pot B., 2008.** The taxonomy of lactic acid bacteria. In : Bactéries lactiques de la génétique aux ferments (Corrieu G. et Luquet F.M.). Tec & Doc, Lavoisier. Paris. 1-106.

## R

-**RAMET J. P, (2003).** Aptitude à la conservation et à la transformation fromagère du lait de chamelle. Actes de l'Atelier International sur : "Lait de chamelle pour l'Afrique", 5-8 novembre, Niamey, Niger.

## S

-**SAID M., SIBOUKEUR O., OULED BELKHEIR A., GUERRADI, (1999).**

Caractéristiques physico-chimiques, composition et qualité bactériologique du lait de chamelle population sahraoui (wilayas d'Ouargla et Ghardaïa). Aptitudes technologiques. Premières journées sur la recherche cameline, Ouargla : 129-133.

- Savijokie K., Ingmer H. et Varmanen P., 2006.** Proteolyticsystems of lacticacidbacteria. Appl. Microbiol. Biotechnol. 71 : 394-406.
- **SAWAYA W. N; KHALIL J. K; AL SHALHAT A and AL MOHAMMAD H,(1984).** Chemicalcompositional and nutritionalquality of camelmilk .journal of food science, 49, 744-747.
- Schleifer K.H., 1987.** Recent changes in the taxonomy of lacticacidbacteria. FEMSMicrobiol.Letters. 46 : 201-203.
- Senoussi, C., (2011).**Les protéines sériques du lait camelin collecté dans trois régions du sud algérien : essais de séparation et caractérisation de la fraction protéose peptone, thèse de magister, université mouloud Mammeri de TIZI Ouzo, Alger.
- . **SHALASH M. R, (1979).** Utilization of camelmeat and milk in humannourishment. Provisional Report No. 6 Workshop on camels, Khartoum, Sudan. Stockholm, Sweden: International Foundation of Science. 285-306.
- Sharpe M.E., Fryer T.F., Smith D.G.,1966.** Identification of the lacticacidbacteria.In (Eds) Identification methods for microbiologist's, Partie A. London: AcademicPress.
- Siboukeur A., Siboukeur O., (2012).** Caractéristiques physico-chimiques et biochimiques du lait de chamelle collecté localement en comparaison avec le lait bovin. Vol. 4, N° 2
- Sieuwerts, S., de Bok, F. A. M., Hugenholtz, J. & van HylckamaVlieg, J. E. T. (2008).** Unravelingmicrobial interactions in food fermentations: fromciassical to genomicsapproaches. Applied and EnvironmentalMicrohology 74(16), 4997-5007.
- Stiles M.E. et Holzapfel W.H., 1997.** Lacticacidbacteria of foods and theircurrenttaxonomy. Int. J. Food Microbiol. 36 : 1-29.

## T

- Tagg, J. R., Dajani, A. S., Wannamaker, L. W. (1976).** Bacteriocins of gram positive bacteria. Bacteriol. Rev., 40: 722-756.
- Tamime A.Y., 2002.** Microbiology of starter cultures. In: Dairymicrobiologyhandbook (RobinsonR.K.). 3e Ed., John Wiley and Sons, Inc., New York. 261-366.
- Terzaghi, B et Sandine, W. F. (1975)** .Improved medium for lacticstreptococci andtheirbacteriophages. Appl. Microbiol., 29:807-813.
- Thakur, R.L. et Roy, U. (2009).** Antibacterialactivity of Leuconostocclactisisolatedfromrawcattlemilk and itspreliminaryoptimization for the bacteriocin production. Res. J. Microbiol., 4: 122-131.
- Thompson J., Gentry-Weeks C.R., 1994. Métabolisme des sucres par les bactérieslactiques. In : Bactéries lactiques (De Roissart H. et Luquet F.M.). Lorica, Uriage. 1 :239-290.

-**Towmey D et al., (2002)** . .in bacteries lactiques :physiologique , metabolisme,genomique et Applications Industrielles Edition : Economica .2009. P 100

-**Tosukhowong A., Nakayama J., Mizunoe Y., Sugimoto S., Fukuda D. et SonomotoK., 2005.**Reconstitution and function of Tetragenococcushalophilachaperonin 60tetradecamer. J. Biosci.Bioengin. 99 : 30-37.

## V

-**Vandamme P., Pot B., Gillis M., DeVos P., Keresters K. et Swwings J., 1996.**Polyphasictaxonomy, a consensus approach to bacterialsystematic. Microbiol. Rev. 60: 407.

-**Verluyten J., Leroy F. & De Vuyst L., 2004.** Influence of complexnutrient source on growth of and curvacin A production by sausageisolated L. curvatusLTH 1174. Appl. Environ. Microbiol., 70, 5081-5088.

-**Vilain .A-C., (2010) April .**Revue Française d'Allergologie, Volume 50, Issue 3, Pages 124-127.

## W

-**Williams A.G., Noble J. et Banks J.M., 2001.** Catabolism of aminoacids by lacticacidbacteriaisolatedfrom Cheddar cheese. Int. Dairy J. 11 : 203-215.

## Z

-**Zalan Z., Barath A., Halasz A. 2005.** Influence of growth medium on hydrogenperoxide and bacteriocin production of Lactobacillus strains. Food Technol. Biotech. 43(3): 219- 225.

-**Zibae S., Hosseini SM., Yousefi M., Taghipour A., Kiani MA. etNoras MR. 2015.** Nutritional and TherapeuticCharacteristics of Camel Milk in Children: A SystematicReview. Electron Physician. 7(7):1523-1528.

-**Zeuner F.E., 1963.** A History of DomesticatedAnimals. Hutchinson Ed., London. Publishers : p537. .

# Les annexes

## Les annexes : Annexe 01 :

### Composition des milieux de culture :

#### I- Milieu d'isolement :

##### Milieu M17

Utilise pour la culture des lactocoques :

Extrait de viande.....	5g
Extrait de levure.....	2,5 g
Acide ascorbique.....	0,5g
Peptone de soja.....	5g
B-glycérophosphate.....	19g
Peptone papistique de viande.....	2,5g
Sulfate de magnésium.....	0,25g
Lactose.....	5g
Peptone triasique de caséine.....	2,5g
Agar.....	18g
Eau distillée.....	1000ml

On ajuste le pH à 7,2

Autoclave 20 min à 120°C.

##### Milieu MRS

Utilise pour la culture des lactobacilles.

Peptone.....	10g
Extrait de viande.....	8g
Extrait de levure.....	4g
Glucose.....	20g
Phosphate di potassique.....	2g
Acétate de sodium.....	5g
Citrate d'ammonium.....	2g
Sulfate de magnésium, 7H <sub>2</sub> O.....	0,2g
Sulfate de manganèse, 4H <sub>2</sub> O.....	0,05g
Tween 80.....	1ml
Agar.....	18g

Eau distillée.....1000ml  
On ajuste le pH à 6,5

Stérilisation par autoclavage à 120°C pendant 20 min.

## **II- Milieu d'identification :**

### **Bouillon hypersalée:**

Employée pour différencier les lactocoques et streptocoques thermophiles.

Peptone.....15g  
Extrait de viande.....5g  
Glucose.....5g  
NaCl.....65g  
Eau distillée.....1000ml  
On ajuste le pH à 6,5 Stérilisation par autoclavage à 120°C pendant 20min

### **Lait écrémé**

Lait écrémé.....10g  
Extrait de levure.....0,5g  
Eau distillée.....100ml  
Stérilisation à 120° C pendant 10min Glycérol (30%)

### **Milieu Elliker lactosé (Elliker, 1956) :**

Tryptone..... 20g  
Extrait de levure ..... 5g  
Gélatine ..... 2,5g  
NaCl .....4g  
Acétate de Sodium..... 1,5g  
Glucose .....5g  
Lactose ..... 10g

Acide ascorbique ..... 0,5g  
L'eau distillée ..... 950ml

On ajuste le pH à 6,5 Stérilisation par autoclavage à 120°C pendant 20min

### **Milieu KMK (Kempler Mc Kay, 1980) :**

Biopolytone .....3g  
Glucose ..... 2,5g  
Agar .....15g  
Eau distillée ..... 950ml

PH=6,6.

Le milieu est réparti à raison de 100 ml par flacon, puis autoclavé 15 minutes à 121°C. Au moment de l'emploi on ajoute : 1 ml d'une solution aqueuse de ferricyanide de potassium 10 % (p/v) 1 ml d'une solution aqueuse à 2.5 % (p/v) de citrate ferrique et citrate de sodium (p/p) Ces solutions sont stérilisées par filtration sur filtre millipore 0.22 µm et sont conservées à l'obscurité à 4°C.

### **Réactif de vogues prosateur (VPI et VPII)**

VPI : Solution de soude Na OH à 16% dans l'eau distillée.

VPII : Alpha -naphtol à 6%dans l'alcool à 95%.

### **Préparation des sucres :**

On utilise 7 sucres dans cette étude : (Glucose, saccharose, Xylose, Fructose, glycérol, sucrose et maltose) 02g de chaque sucre dans 100ml de l'eau distillée. Stérilisation par autoclavage à 20°C pendant 20 min.

### **III- Les diluants :**

#### **Eau physiologique :**

Utilise pour la réalisation des dilutions.

Chlorure de sodium .....9g

Eau distillée.....1000 ml  
Stérilisation à 120°C pendant 20 min.

## **Annexe 02 : Coloration de Gram :**

### **1 .Matériels :**

- Les lames • Les colorants

### **2. Mode opératoire :**

- Réaliser un frottis ou un étalement.
- Fixer la préparation à la flamme, sécher soigneusement puis laisser refroidir la lame.
- Immerger la lame dans la solution de Cristal violet pendant 1 mn.
- Immerger la lame dans Lugol 30 seconde.
- Décolorer jusqu'à disparition de la couleur violette dans l'alcool en faisant couler goutte à goutte sur la lame inclinée.
- Rincer à l'eau.
- Colorer avec la solution de Fuchsine pendant 1mn.
- Laver à l'eau.
- Observer à l'objectif X 100, en immersion avec l'huile.

### **3. Résultat :**

Les bactéries Gram+ sont colorées en violet, les bactéries Gram- sont colorées en rose.