

République Algérienne Démocratique et Populaire

Université Abdelhamid Ibn Ba-  
dis-Mostaganem  
Faculté des Sciences de la  
Nature et de la Vie



جامعة عبد الحميد بن باديس  
مستغانم  
كلية علوم الطبيعة والحياة

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

## MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par

**M<sup>lle</sup> SADEG MERIEM**

Pour l'obtention du diplôme de

**MASTER EN BIOLOGIE**

**Spécialité: Microbiologie Appliquée**

THÈME

**Activité antimicrobienne des bactéries  
lactiques isolées à partir du lait de chamelle  
vis-à-vis des germes impliqués dans les  
intoxications alimentaires**

Soutenue publiquement le 02 Septembre 2020

DEVANT LE JURY

<b>M<sup>me</sup>. CHOUGRANI Fadela</b>	<b>Professeur</b>	<b>U. Mostaganem</b>	<b>Président</b>
<b>Mr. CHERIGUENE Abderrahim</b>	<b>Professeur</b>	<b>U. Mostaganem</b>	<b>Encadreur</b>
<b>Mr. ZABOURI Younes</b>	<b>MAA</b>	<b>U. Mostaganem</b>	<b>Examineur</b>

*Année universitaire  
2019/2020*

# *Remerciement*

*J'adresse en premier lieu ma reconnaissance à notre DIEU tout puissant, de m'avoir permis d'en arriver là, car sans lui rien n'est possible.*

*Je remercie vivement, mon encadreur monsieur le professeur CHERIGUENE Abderrahim, pour avoir accepté de m'encadrer et d'assurer la direction de ce travail, et pour m'avoir apporté la rigueur scientifique nécessaire à son bon déroulement, qu'il soit rassuré de ma profonde gratitude.*

*Un remerciement spécial et chaleureux à M<sup>lle</sup> .BOUCHIBANE Malika mon Co-encadreur ; à université de Abdelhamid Ibn Badis Mostaganem ; pour son soutien ; sa compréhension et son encouragement et ses conseils qu'elle m'a apportés dans la réalisation de ce travail.*

*Je tiens à remercier :*

*Mme. CHOUGRANI Fadela, de m'avoir fait l'honneur de présider mon jury de mon mémoire.*

*Mr. ZABOURI Younes, d'avoir accepté de faire partie du jury et d'examiner ce modeste travail.*

*Je remercie de façon particulière*

*Mr. DJIBAOUI.R, professeur à université de Mostaganem pour leur encouragement durant les années de mes études.*

*L'ensemble des enseignants de l'université Abdelhamid ben Badis de Mostaganem qui ont contribué à ma formation durant les 5 années particulièrement ceux de l'option microbiologie chacun son nom.*

*Toute personne qui m'a aidé de loin ou de près afin de réaliser ce travail.*

*Merci à mes camarades de promotion.*

# *Dédicace*

*Je dédie ce modeste travail à :*

*Mes très chers parents qui ont été toujours à mes côtés, pour leur générosité*

*leurs sacrifices et le courage qu'ils m'ont donné pour terminer mes*

*études. Grand merci, Je vous aime beaucoup.*

*Tous mes frères et ma sœur.*

*A tous mes collègues d'études.*

*A tous ceux que je porte dans mon cœur.*

# Table des matières

Liste des principales Abréviations	
Liste des Figures	
Liste des Tableaux	
Résumé	
Abstract	
لمخص	
Introduction.....	1

## Partie I Rappel Bibliographique

<b>I. Lait de chamelle.....</b>	<b>3</b>
I.1 Généralités sur le lait de chamelle .....	3
I.2 Caractéristiques du lait de chamelle .....	5
I.2.1 Caractéristiques organoleptiques .....	5
I.2.2 Caractéristiques physico-chimiques.....	5
I.2.3 Caractéristiques chimiques et biochimiques.....	6
I.2.3.1 Protéines.....	6
I.2.3.2 Matière grasse.....	6
I.2.3.3 Vitamine.....	7
I.2.3.4 Lactose .....	7
I.2.3.5 Minéraux .....	7
I.3 Propriétés thérapeutiques et médicinales du lait de chamelle .....	8
I.4 Facteurs influençant la production laitière .....	9
I.4.1 Type d'alimentation .....	10
I.4.2 Rang et stade de lactation .....	10
I.4.3 Race .....	10
<b>II. Les bactéries lactiques.....</b>	<b>11</b>
II.1 Généralités.....	11

II.2	Habitat .....	12
II.3	Taxonomie et Classification des bactéries lactiques.....	12
II.4	Caractéristiques des principaux genres des bactéries lactiques.....	14
II.4.1	Le genre <i>Enterococcus</i> .....	14
II.4.2	Le genre <i>Oenococcus</i> .....	15
II.4.3	Le genre <i>Lactococcus</i> .....	15
II.4.4	Le genre <i>Lactobacillus</i> .....	15
II.4.5	Le genre <i>Leuconostoc</i> .....	16
II.4.6	Le genre <i>Pediococcus</i> .....	17
II.4.7	Le genre <i>Streptococcus</i> .....	17
II.4.8	Le genre <i>Vagococcus</i> .....	17
II.4.9	Le genre <i>Tetragenococcus</i> .....	18
II.4.10	Le genre <i>Weissella</i> .....	18
II.5	Les propriétés inhibitrices des bactéries lactiques.....	19
II.5.1	La compétition nutritionnelle .....	19
II.5.2	La production des métabolites antimicrobiens.....	19
II.5.2.1	Les substances antimicrobiennes non peptidiques .....	19
II.5.2.1.1	Les acides organiques.....	19
II.5.2.1.2	Le peroxyde d'hydrogène .....	20
II.5.2.1.3	Le dioxyde de carbone .....	20
II.5.2.1.4	Le diacétyle.....	20
II.5.2.2	Les substances antimicrobiennes peptidiques .....	21
II.5.2.2.1	Les bactériocines .....	21
II.5.2.2.1.1	Classification des bactériocines.....	22
II.5.2.2.1.2	Mécanisme d'action des bactériocines.....	23
II.5.2.2.1.3	Applications biotechnologiques des bactériocines .....	23
A.	Applications dans l'industrie alimentaire .....	23
B.	Applications dans le domaine médical .....	24

B.1. Les bactériocines dans les infections dentaires.....	25
B.2. Les bactériocines en médecine vétérinaire .....	25

## **Partie II Matériel et Méthodes**

I. Objectif.....	26
II. Matériel.....	26
III. Méthodes.....	26
III.1 Echantillonnage .....	26
III.2 Analyse du lait .....	27
III.3 Technique d'isolement et purification des bactéries lactiques.....	28
III.3.1 Conservation des souches.....	28
III.3.2 Tests d'orientation de l'identification des bactéries lactiques.....	28
III.3.2.1 Caractérisation morphologiques, physiologiques et biochimiques .....	28
III.3.2.2 Identification génotypiques des souches isolées .....	29
III.3.2.2.1 Extraction de l'ADN .....	29
III.3.2.2.2 Analyse par PCR et séquençage de l'ARNr 16S .....	29
III.4 Etude de l'activité antimicrobienne .....	30
III.4.1 Préparation des pré-cultures des souches lactiques et indicatrices.....	30
III.4.2 Détection de l'activité antimicrobienne .....	30

## **Partie III Résultats et Discussion**

I. Identification phénotypique des isolats.....	34
I.1. Identification macroscopique et microscopique .....	34
I.2. Identification biochimique et physiologique .....	36
II. Identification génotypique des isolats.....	38
III. Répartition des souches obtenues dans chaque échantillon.....	40
IV. Activité antimicrobienne des isolats BL.....	42

**Conclusion et perspectives**.....48

**Références Bibliographiques**

**Annexes**

# Liste des principales Abréviations

**ADH** : Arginine Déshydrogénase.

**ADN** : Acide Désoxyribonucléique.

**AGPI** : Les Acides Gras Polyinsaturés.

**ARN** : Acide Ribonucléique.

**ARNr** : Acide Ribonucléique ribosomique.

**BL** : Bactéries Lactiques.

**CTR**: dégradation du citrate.

**Da** : Dalton.

**ERV** : Entérocoque résistant à la vancomycine

**FAO** : Food and Agriculture Organisation.

**FDA**: Food and Drug Administration.

**FPLC** : Fast Protein Liquid Chromatography.

**GAZ**: production de gaz à partir de glucose.

**GIT** : Tractus Gastro-Intestinal.

**HMM** : High molecular mass.

**HPLC** : Chromatographie en Phase Liquide à Haute Performance.

**KDa** : Kilodalton.

**Lb** : *Lactobacillus*.

**Lc** : *Lactococcus*.

**LMM** : Low molecular mass.

**MDR** : Multidrug-Resistant.

**MH** : Mueller-Hinton.

**MRS** : Gélose de Man, Rogosa, Sharpe.

**NaCl** : Chlorure de Sodium.

**NADH**: Dihydronicotinamide Adénine Dinucléotide.

**NCBI** : National Center for Biotechnology Information.

**PCR** : Polymerase Chain Reaction.

**RDP-II** : The Ribosomal Database Project.

**RES**: Résistant à la chaleur à 63,5 °C pendant 30 min.

**SARM** : Staphylococcus aureus Résistant à la Méricilline.

**UFC** : Unité Formant Colonie.

**VP**: Voges Proskauer.

**μ**:Micromètre.

# Liste des Figures

<b>Figure 01:</b> Aires de distribution du dromadaire en Algérie. ....	4
<b>Figure 02:</b> Genres de bactéries lactiques importantes dans les aliments, montrant des changements de nomenclature de 1980 à 2000. ....	14
<b>Figure 03:</b> Principales étapes de la démarche générale. ....	27
<b>Figure 04:</b> Aspect macroscopique des isolats lactiques. ....	34
<b>Figure 05:</b> Aspect microscopique des isolats (GX 100). ....	35
<b>Figure 06:</b> Amplification par PCR des séquences d'ARNr 16S utilisées dans cette étude par des amorces universelles. ....	38
<b>Figure 07:</b> Activité antimicrobienne des isolats vis-à-vis <b>A:</b> <i>Lesteria innocua clip</i> , <b>B:</b> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <b>C:</b> <i>Klebseilla pneumoniae</i> , <b>D:</b> <i>Echerichia coli</i> , <b>E:</b> <i>Salmonella</i> , <b>F:</b> <i>Bacillus cereus</i> , <b>G:</b> <i>Staphylococcus aureus</i> .....	45

# Liste des Tableaux

<b>Tableau 01:</b> Les caractères physico-chimiques du lait de chamelle.....	5
<b>Tableau 02:</b> Les effets thérapeutiques du lait de chamelle .....	9
<b>Tableau 03:</b> Division du genre <i>Lactobacillus</i> en sous-genres et en sous-groupes moléculaires .....	16
<b>Tableau 04:</b> Caractéristiques différentielles des bactéries lactiques. ....	18
<b>Tableau 05 :</b> Composés antimicrobiens de faible masse molaire secrétés par les bactéries lactiques. ....	21
<b>Tableau 06:</b> Classification des bactériocines en sous-classe avec les trois classe principales. ....	22
<b>Tableau 07:</b> Applications des bactériocines à la bio-conservation des aliments .....	24
<b>Tableau 08:</b> Échantillonnage.....	26
<b>Tableau 09:</b> Caractéristiques des races des cinq échantillons collectés. ....	27
<b>Tableau 10:</b> souches pathogènes utilisées pour tester l'activité antimicrobienne. ....	31
<b>Tableau 11:</b> Les isolats sélectionnés après l'étude macroscopique et microscopique. ....	35
<b>Tableau 12:</b> Caractéristiques morphologiques des BL isolées. ....	36
<b>Tableau 13:</b> Critères biochimiques et physiologiques des isolats. ....	36
<b>Tableau 14:</b> Isolats identifiés par séquençage d'ARNr 16S.....	40
<b>Tableau 15:</b> Identification et répartition des souches isolées .....	41
<b>Tableau 16:</b> Activité antimicrobienne des isolats. ....	43
<b>Tableau 17:</b> L'activité inhibitrice des isolats testées. ....	44

# Résumé

La contamination des aliments est un problème majeur pour le consommateur, L'exploitation des interactions bactériennes est un nouveau moyen pour lutter contre les germes indésirables.

Plusieurs souches ont été isolées et identifiées à partir d'un échantillon du lait de chamelle cru provient de différentes régions : El Oued (Algérie), Kerman (Iran), Al-wafra et kabad (Koweit), pour tester leur activité antimicrobienne vis -à-vis des souches pathogènes et afin de sélectionner les souches ayant une bonne activité antimicrobienne.

L'identification des souches a été faite par des méthodes phénotypiques et génotypiques. L'identification génotypique a été assurée par PCR et séquençage de L'ARNr 16S.

Les souches isolées ont été testées pour leur effet antimicrobien par l'application des méthodes suivantes : la méthode de diffusion des puits, diffusion sur disques, spots d'agar et la méthode spot-on-the-lawn.

L'identification des espèces des souches lactiques isolées a montré que les isolats sont répartis aux espèces *Lactococcus lactis subsp lactis*, *Lactococcus lactis subsp cremoris*, *Lactococcus sp*, *Pediococcus acidilactici*, *Pediococcus pentosaceus*, *Streptococcus thermophilus*, *Streptococcus infantarius*, *Lactobacillus amylophilus*, *Lactobacillus plantarum*, *Weissella confuse* et *Weissella paramesenteroides*, *Enterococcus faecium*, et *Leuconostoc mesenteroides*.

Les résultats de l'activité antimicrobienne indiquent que la plupart des souches testées ayant une activité antibactérienne vis-à-vis des souches pathogènes (souches Gram positif et négatif). La mesure des diamètres d'inhibition révèle des diamètres qui varient de 1 à 46 mm. Le lait de chamelle est une source de souches ayant une activité antimicrobienne.

**Mots-clés:** Lait de chamelle, Bactéries lactiques, Bactéries pathogènes, activité antimicrobienne.

# Abstract

Food contamination is a major problem for the consumer, exploiting bacterial interactions is a new way to fight against undesirable germs.

Several strains were isolated and identified from a sample of raw camel milk from different regions: El -Oued (Algeria), Kerman (Iran), Al-wafra and kabad (Kuwait), to test their antimicrobial activity against pathogenic strains and to select strains with good antimicrobial activity.

Strain identification was done by phenotypic and genotypic methods. Genotypic identification was performed by PCR and 16S rRNA sequencing.

The isolated strains were tested for antimicrobial effect by the following methods: well diffusion, disc diffusion, agar spot method and spot-on-the-lawn method.

Species identification of the isolated lactic strains showed that the isolates are distributed to the species *Lactococcus lactis subsp lactis*, *Lactococcus.lactis subsp cremoris*, *Lactococcus sp*, *Pediococcus acidilactici*, *Pediococcus pentosaceus*, *Streptococcus thermophilus*, *Streptococcus infantarius*, *Lactobacillus amylophilus*, *Lactobacillus plantarum*, *Weissella confuse et Weissella paramesenteroides*, *Enterococcus faecium*, et *Leuconostoc mesenteroides*.

Results of antimicrobial activity indicate that most strains tested had antibacterial activity against pathogenic strains (gram positive and negative strains). Measurement of the inhibition diameters reveals diameters ranging from 1 to 46 mm. Camel milk is a source of strains with antimicrobial activity.

**Key words:** Camel milk, Lactic acid bacteria, Pathogenic bacteria, antimicrobial activity.



# Introduction

Nos aliments proviennent de notre environnement proche, mais aussi, de plus en plus, de pays divers. Cependant, il arrive que ces aliments soient contaminés au cours de leur production, de transformation, de transport, notre environnement est contaminé par des agents physiques, chimiques et surtout biologiques qui risquent de porter atteinte à notre santé.

Les contaminations alimentaires sont en constante augmentation à travers le monde. Chaque année, 1 à 2 milliards de personnes sont infectées par des bactéries, et 70% de ces infections sont d'origine alimentaire (**Jabrane, 2015**).

La lutte contre les contaminations alimentaires dépend de plus en plus d'agents antimicrobiens naturels pouvant inhiber les microorganismes responsables de la détérioration des aliments, les agents pathogènes de contamination alimentaire et les toxines, ces agents antimicrobiens naturels peuvent être dérivés de sources microbiennes (bactéries), de produits dérivés d'animaux (protéines laitières) ou de plantes (huiles essentielles) (**Jabrane, 2015**).

Les études ont démontré que le lait camelin a la capacité à inhiber la croissance des microorganismes pathogènes par rapport à celle des autres mammifères et sa capacité à inhiber les Gram positif et Gram négatif pathogènes qui préoccupe la sécurité alimentaire, en raison de plusieurs protéines protectrices présentes dans le lait et de nombreuses enzymes aux propriétés antibactériennes et antivirales, telles que la lactoferrine, les lysozymes, les immunoglobulines (**Benkerroum et al., 2004 ; El Agamy et al., 1992**).

Le lait de chamelle, également appelé « or blanc du désert », a une longue histoire d'utilisation en médecine traditionnelle pour la gestion de diverses maladies et affections. En effet, le lait de chamelle diffère des autres laits car il est dépourvu de  $\beta$ -lactoglobuline et contient une faible teneur en cholestérol et une teneur élevée en minéraux (sodium, potassium, fer, magnésium...), vitamines (C, A et E), les acides gras polyinsaturés (AGPI) et les protéines protectrices (**Gammoh et al., 2020 ; Latifa et al., 2020**).

Il existe une riche diversité bactérienne dans le lait de chamelle, le microbiote bénéfique du lait de chamelle représenté par bactéries lactiques qui peuvent contribuer aux qualités fonctionnelles et souhaitables du lait de chamelle.

Les bactéries lactiques contribuent non seulement aux propriétés sensorielles et texturales des produits laitiers, mais aident également à produire des substances bioactives,

## Introduction

telles que des bactériocines et des acides organiques, qui suppriment la croissance d'agents pathogènes potentiels.

Aujourd'hui, ces bactéries peuvent être sélectionnés, identifiés et cultivés pour tous types d'utilisations : alimentaire (fermenteurs), médical (probiotiques) ou biotechnologique (production moléculaire : bactériocines, polysaccharides).

L'objectif de ce travail consiste à isoler des souches lactiques à partir du lait cru de chamelle, puis à identifier les souches isolées afin de tester leur activité antimicrobienne vis-à-vis les germes pathogènes.

Notre présent manuscrit est divisé en trois parties :

La première est consacrée à une synthèse bibliographique articulée autour de deux chapitres qui vont traiter les caractéristiques du lait de chamelle, et les principales caractéristiques des bactéries lactiques et leurs métabolites.

La deuxième partie va regrouper les méthodes mise qui ont été utilisées par des travaux expérimentaux réalisés par des chercheurs qui ont déjà abordé notre sujet sur l'activité antimicrobienne des bactéries lactiques isolées à partir du lait de chamelle vis-à-vis des germes impliqués dans les intoxications alimentaires.

Les résultats obtenus sont alors exposés et discutés dans la troisième partie, ce manuscrit se termine par une conclusion générale résumera les principaux acquis de ce travail et souligne quelques perspectives de cette étude.

# Partie I

## **Rappel Bibliographique**

## I. Lait de chamelle

### I.1 Généralités sur le lait de chamelle

Les chameaux jouent un rôle clé dans la fourniture du lait de qualité nutritionnelle supérieure dans différentes parties du monde (**Maqsood et al., 2019**).

Le lait de chamelle est une excellente source de nutriments bien équilibrés et présente également une gamme d'activités biologiques qui influencent la digestion, les réponses métaboliques aux nutriments absorbés, la croissance et le développement d'organes spécifiques et la résistance aux maladies. Ces activités biologiques sont principalement dues à la présence de peptides et de protéines dans le lait (**Salwa et Lina, 2010**). Il est connu pour ses propriétés médicinales, qui sont largement exploitées pour la santé humaine (**Konuspayeva et al., 2009 ; Felfoul et al., 2017**).

Les chameaux sont l'un des rares animaux qui non seulement survivent dans des conditions climatiques extrêmes, mais sont également classés comme des mammifères capables de produire des produits bruts pour les besoins humains. Étant un animal domestique unique, le chameau n'a pas perdu de son importance pour la communauté mondiale de nos jours. Cela est prouvé par la croissance de l'abondance des chameaux dans le monde. Actuellement, la production du lait de chamelle est observée dans de nombreux pays du monde, principalement en Asie et en Afrique en raison de l'augmentation de la demande et des préférences nationales (**Nadtochii et al., 2018**).

Selon les estimations de la FAO (2013), la production mondiale du lait camelin n'est pas moins de 2.93 millions de tonnes, alors que la production mondiale du lait de chamelle disponible pour la consommation humaine a été évaluée à 1,3 million de tonnes, soit 500 fois moins que celle du lait de vache. Contrairement à la consommation de viande, celle du lait et de ses dérivés est beaucoup plus répandue et représente la ressource alimentaire la plus importante pour les sociétés pastorales nomades. En milieu pastoral, le lait de chamelle est très prisé à l'état frais. Il est aussi transformé en lait fermenté, car l'obtention de beurre ou de fromage est très difficile (**Boussouar, 2016**).

Les chameaux sont les cinquièmes animaux laitiers les plus importants, après les bovins, les chèvres et les brebis (**Nagy et al., 2017**).

## Rappel Bibliographique

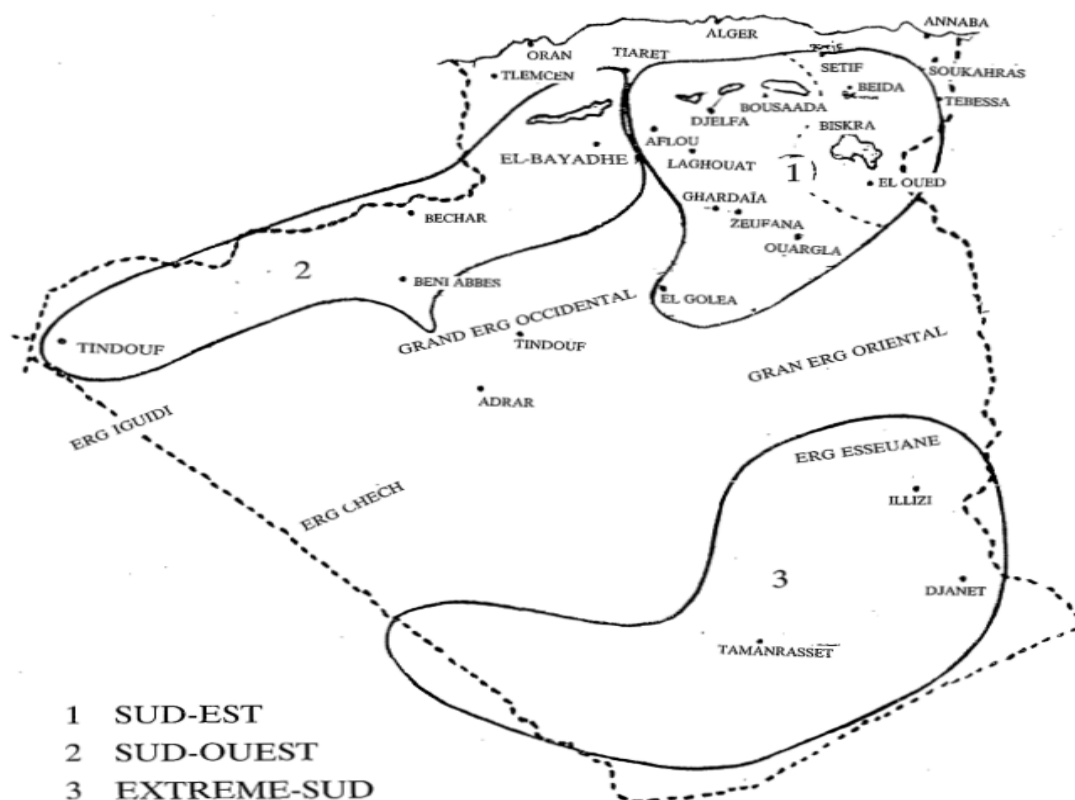
### Partie I

En Algérie, D'après les estimations de la FAO (2013), la production annuelle du lait de chamelle en Algérie était de 15000 tonnes, ce qui classe l'Algérie au 13<sup>ème</sup> rang mondial des pays producteurs (**Boussouar, 2016**).

Le dromadaire est présent dans 17 Wilaya (8 Sahariennes et 9 Steppiques). 75 % du cheptel est dans les Wilaya Sahariennes (dont le plus grand effectif est dans les Wilaya de Tamanrasset et El-Oued) et 25% du cheptel est dans les Wilaya Steppiques (**Benaïssa, 1989**).

Pour bien préciser la répartition géographique du cheptel camelin dans notre pays, on distingue trois grandes aires de distribution :

- 🐪 La première aire de distribution, est le Sud-est : El-oued, Biskra, Msila, Tébessa, Batna, Ouargla, Ghardaïa, Laghouat et Djelfa ;
- 🐪 La deuxième aire, est le Sud-ouest représentée par : Bechar, Tindouf, Naâma, El Bayadh, Tiaret et le nord d'Adrar ;
- 🐪 L'extrême sud, c'est la troisième aire de distribution : Tamanrasset, Illizi, le sud d'Adrar (figure 01) (**Benaïssa, 1989**).



**Figure 01:** Aires de distribution du dromadaire en Algérie (**Benaïssa, 1989**).

### I.2 Caractéristiques du lait de chamelle

#### I.2.1 Caractéristiques organoleptiques

Le lait de chamelle est de couleur blanc mat, en raison de la structure et de la composition de sa matière grasse, relativement pauvre en  $\beta$ -carotène. Il est légèrement sucré, avec un goût acide, parfois sucré ou salé.

Cette variabilité dans le goût est liée au type de fourrage ingéré ainsi qu'à la disponibilité en eau (Yagil et Etzion, 1980; Farah, 1993), l'ingestion de fourrages comme la luzerne, lui donne un goût sucré, alors que l'ingestion de certaines plantes halophytes comme Salosa et Acacia le rend salé (Al-Haj et al., 2010).

#### I.2.2 Caractéristiques physico-chimiques

Le pH du lait de chamelle varie de 6,5 à 6,7 avec une valeur moyenne de 6,56 et la densité de 1,025 à 1,032 avec une moyenne de 1,029. Les deux valeurs sont inférieures à celles du lait de vache (Farah, 1993).

Les autres caractères physico-chimiques du lait de chamelle sont représentés dans le tableau suivant (tableau 01).

**Tableau 01:** Les caractères physico-chimiques du lait de chamelle (Izadi et al., 2019).

	Caratères physico-chimiques	Valeurs moyennes
Lait de chamelle	Acidité	0.144% d'acide lactique
	Gravité Spécifique	1.029
	Viscosité	1.77 cp
	Tension Superficielle	58,39 dyn /cm
	Indice de réfraction	1.3423
	Point de congélation	-0,518 ° C
	Conductivité Electrique	6.08 mS /cm

#### I.2.3 Caractéristiques chimiques et biochimiques

##### I.2.3.1 Protéines

Les protéines du lait de chamelle peuvent être classées en deux groupes principaux (Abbas *et al.*, 2013).

###### I.2.3.1.1. Les caséines

Le lait de dromadaire contient environ 1,63 à 2,76% de caséine. Les caséines représentent la fraction protéique la plus abondante dans le lait camelin à savoir 52 à 87% des protéines totales (Al-Haj *et al.*, 2010), le lait de dromadaire est plus élevé en  $\beta$ -caséine et plus faible en  $\kappa$ -caséine, et manque également de  $\beta$ -lactoglobuline (Zouari *et al.*, 2018).

###### I.2.3.1.2. Protéines de lactosérum

Le terme « protéine de lactosérum » ne doit être utilisé que dans un sens général pour décrire les protéines du lait solubles dans un pH varié de 4 à 6 et à une température 20 °C (Farrah, 1993). Les protéines de lactosérum sont le deuxième composant principal des protéines du lait de chamelle et constituent 20 à 25% des protéines totales. La teneur en protéines de lactosérum du lait de chamelle se situe entre 0,63 et 0,80% du lait. Dans les protéines de lactosérum du lait de vache, la  $\beta$ -lactoglobuline est le principal composant (50%) et l' $\alpha$ -lactalbumine est le deuxième (25%), tandis que dans le lactosérum du lait de chamelle, la  $\beta$ -lactoglobuline est déficiente et l' $\alpha$ -lactalbumine est le principal composant (Al-Haj *et al.*, 2010).

Il a été rapporté que le lait de chamelle par rapport au lait de vache a une stabilité thermique élevée, de sorte que le pourcentage de la dénaturation des protéines de lactosérum du lait de chamelle à des températures de 80 et 90°C était respectivement de 32 à 35% et de 47 à 53% (Izadi *et al.*, 2019).

###### I.2.3.2 Matière grasse

Le lait de chamelle est en moyenne plus faible en matière grasse que le lait de vache. Cependant, les globules gras du lait de chamelle sont de très petites tailles (1,2 à 4,2  $\mu$  de diamètre) et restent donc en suspension même après 24 heures de repos, contrairement au lait de vache dans lequel ces globules constituent une couche grasse en surface au bout de quelques heures (Karray *et al.*, 2005).

Par ailleurs, la matière grasse du lait de chamelle apparait liée aux protéines, tout ceci explique la difficulté à baratter le lait de chamelle pour en extraire le beurre, Comparée au lait de vache (**Farah, 1993**), la matière grasse du lait de chamelle contient moins des acides gras à courtes chaînes C4-C12, mais que les concentrations de C14: 0, C16: 0 et C18: 0 sont relativement élevés (**Karray et al., 2005**).

#### I.2.3.3 Vitamine

De nombreuses vitamines telles que D, E, A, C et les vitamines du groupe B se trouvent dans le lait de dromadaire. Une riche quantité de vitamine C est présentée dans le lait de chamelle, Il a été révélé que le lait de chamelle contient 3 à 5 fois plus de vitamine C que le lait de bovin. La valeur moyenne de la concentration de vitamine C présente dans le lait de chamelle est de 34,16 mg.L<sup>-1</sup>, et se singularise par sa richesse relative en vitamines B3. Ces teneurs élevées améliorent la valeur nutritionnelle du produit surtout que les sources en cette vitamine dans les régions arides demeurent insuffisantes (**Abbas et al., 2013**).

#### I.2.3.4 Lactose

Le lactose est le principal glucide dans le lait de la plupart des mammifères et il est généralement admis que les sources du lactose non mammifères sont très rares. C'est l'hydrate de carbone le plus important dans le lait (**Farah, 1993**). Sa teneur dans le lait camelin varie de 3,4 à 5,6%, avec des taux moyens légèrement supérieurs à ceux rencontrés dans le lait de vache, cette teneur est variée légèrement avec la période de lactation (**Konuspayeva et al., 2009**).

#### I.2.3.5 Minéraux

Les sels minéraux du lait sont principalement des chlorures, des phosphates et des citrates de Na, Ca et Mg. Bien que les sels constituent moins de 1% du lait, ils influencent l'état physique et la stabilité des protéines du lait. La teneur en minéraux du lait de chamelle exprimée en cendres varie de 0.6 à 0.8% (**Farah, 1993**).

La composition en minéraux du lait de chamelle est plus diversifiée que celle de lait de vache. En général la composition en macroéléments (Na, K, Ca, Mg...) est relativement similaire à celle du lait bovin, cela n'est pas le cas des oligo-éléments où les teneurs en Fe, Cu, Mn, Pb et I, y sont particulièrement élevées dans le lait d'origine cameline (**Abbas et al., 2013**).

#### I.3 Propriétés thérapeutiques et médicinales du lait de chamelle

Le lait de chamelle est connu pour ses propriétés médicinales, largement exploitées pour la santé humaine. Le lait de chamelle est une source riche en protéines et en peptides biologiquement actifs, les protéines de lactosérum qui auraient présentées un large éventail de bio-activités, y compris les activités immuno-modulatrices, anti-cancérigènes, antibactériennes et antifongiques (**Ryskaliyeva et al., 2018 ; Izadi et al., 2019**), et anti-oxydantes, anti-infectieuses, anti-hypertensives et antidiabétiques significatives (**Akli Ayoub et al., 2018**).

Le lait de chamelle est apprécié traditionnellement pour ses propriétés et plus généralement comme reconstituant chez les malades convalescents. Il est utilisé pour le traitement d'une série des maladies telles que l'hydropisie, la jaunisse, la tuberculose, l'asthme, l'anémie, les tas, les ulcères gastro-intestinaux, le diabète de type 1 et les virus provoquant la diarrhée, de la gastro-entérite, du psoriasis et des hépatites C et B, l'amélioration de l'efficacité du système immunitaire, et il se boit également comme tonique (**Konuspayeva & al., 2007 ; Zhao et al., 2015**).

Une teneur élevée en acides gras insaturés contribue à sa qualité alimentaire globale. La faible quantité de  $\beta$ -caséine et le manque de  $\beta$ -lactoglobuline sont liées à l'effet hypoallergénique du lait de chamelle (**Zouari et al., 2018**). D'autres composants tels que la lactoferrine, les immunoglobulines, le lysozyme ou la vitamine C jouent un rôle central dans la détermination de ces propriétés (**Konuspayeva et al., 2009**).

Les différentes études entreprises sur les effets thérapeutiques du lait de chamelle sont représentées dans le tableau ci-dessous (tableau 02).

## Rappel Bibliographique

### Partie I

**Tableau 02:** Les effets thérapeutiques du lait de chamelle ( *Sboui & al., 2009* ; *Konuspayeva & al., 2004* ; *Konuspayeva & al., 2007* ; *Konuspayeva & al., 2011* ; *Agrawal & al., 2003*).

Aspect étudié	Effet observé et interprétations	Références
Diabètes	Hypoglycémie et régulatrice de la glycémie chez les patients insulino-dépendants (teneurs élevées d'insuline dans le lait).	( <i>Sboui &amp; al., 2009</i> ) ( <i>Agway &amp; al., 2003</i> )
Complications du diabète	Diminution du stress oxydatif et prévention des néphro-pathologies (la vitamine C joue un rôle biologique considérable par ses propriétés anti-oxydants).	( <i>Konuspayeva &amp; al., 2004</i> ) ( <i>Konuspayeva &amp; al., 2011</i> )
Allergies au lait	Effet hypoallergique (absence de la $\beta$ -Lg et présence d'une caséine $\alpha$ S différente de la caséine bovine).	( <i>Konuspayeva &amp; al., 2007</i> )
Infections	Effet anti-infectieux et antivirales ( la lactoferrine agit sur des virus comme l'herpès, le virus de l'hépatite C et même sur le VIH).	( <i>Konuspayeva &amp; al., 2004</i> )
Tumeurs	Effet anti-tumoral (contrôle des processus tumoraux par stimulation de la défense immunitaire).	( <i>Konuspayeva &amp; al., 2004</i> )
Reconstituant	La présence abondante de certaines vitamines ( la réputation de renforcer les défenses immunitaires et de simuler l'activité physique des organismes en état de surmenage ).	( <i>Konuspayeva &amp; al., 2004</i> )

#### I.4 Facteurs influençant la production laitière

Les variations observées dans la composition du lait de chamelle pourraient être attribuées à plusieurs facteurs tels que les procédures de mesure analytique, les emplacements géographiques, les conditions d'alimentation et les échantillons prélevés sur différentes races, en plus d'autres facteurs, notamment le stade de lactation, l'âge et le nombre de vêlages (*Al-Haj et al., 2010*). L'origine géographique et les variations saisonnières se sont révélées être les facteurs les plus efficaces dans la composition du lait de chamelle (*Izadi et al., 2019*).

La variabilité de rendement du lait est liée à divers facteurs dont :

#### I.4.1 Type d'alimentation

L'alimentation du dromadaire reste le facteur le plus déterminant (**Ramet, 1993**). L'amélioration des conditions alimentaires (régimes riches en fourrages verts renfermant de la luzerne, du mélilot ou du chou) prolonge la période de lactation et augmente la quantité de lait produite jusqu'à atteindre parfois le double. Par ailleurs, la disponibilité ou non de l'eau n'influence presque pas cette production qui n'est que faiblement diminuée en période de sécheresse (**Karue, 1998**). Une privation d'eau de 7 jours reste sans effet sur le niveau de la production du lait, alors qu'elle diminue chez la vache (**Yagil et Etzion, 1980**).

#### I.4.2 Rang et stade de lactation

Comme pour les autres herbivores allaitants, la production laitière chez la chamelle tend à augmenter avec le rang de mise bas mais, compte tenu de la longueur des intervalles entre mises bas. L'optimum de production soit obtenu à la deuxième ou à la troisième lactation (**FAO, 2003**).

#### I.4.3 Race

Concernant l'effet de la race, il est rapporté que la production annuelle moyenne 2,6 fois plus élevée chez les races asiatiques que chez celles provenant du continent africain (**Ramet, 1993**).

**Benaïssa, (1989)** note que les populations camelines algériennes (Population Sahraoui) peuvent être considérées comme bonnes laitières (6 à 9 l/j) vu la pauvreté de leur alimentation.

## II. Les bactéries lactiques

### II.1 Généralités

En 1873 dix ans après, Louis Pasteur a étudié la fermentation lactique (entre 1857 et 1863), Lister en 1873 a obtenu la première culture pure d'une bactérie lactique (« *Bacterium lactis* » maintenant connue sous le nom de *Lactococcus lactis*). Les cultures de starter pour le fromage et la production de lait aigre ont été introduites en 1890, tandis que les aliments fermentés ont été utilisés par l'homme pendant plus de 5000 ans (**Stiles et Holzapfel, 1997**).

Les bactéries lactiques sont des microorganismes regroupés dans un groupe hétérogène qui rassemble un certain nombre des genres se caractérisant, essentiellement par la production d'acide lactique, liée à un métabolisme exclusivement fermentaire. Les hydrates de carbone fermentescibles sont utilisés comme sources d'énergie et sont dégradés en lactate (homo fermentaires) ou en lactate et produits supplémentaires tels que l'acétate, l'éthanol, le dioxyde de carbone, le formiate ou le succinate (hétéro fermentaires) (**Schleifer et al., 1995 ; Schilling et Holzapfel, 2003**).

Les bactéries lactiques sont traditionnellement définies comme des bactéries dont le principal produit final issu du métabolisme des glucides est l'acide lactique en raison de leur grande variété d'application dans les industries alimentaires, certaines bactéries lactiques provoquent la détérioration des aliments. *Lactobacillus perolen* ssp a été décrit en 1999 comme une bactérie d'altération de boisson gazeuse ou de moût de bière sur la base de l'alignement de la séquence d'ADNr 16S (**Miyamoto & al., 2005**).

Les bactéries lactiques (BL) sont utilisées depuis longtemps dans la fermentation des aliments pour préserver leur qualité nutritive. Le principal effet antimicrobien exercé par ces bactéries est la production d'acide lactique et la réduction du pH. En plus, elles produisent divers composés antimicrobiens, qui peuvent être classés comme des composés de faible masse moléculaire moins de 1000 Da (LMM) tels que le peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), le dioxyde de carbone (CO<sub>2</sub>), le diacétyle (2,3-butanedione), des composés non caractérisés et des composés de masse moléculaire élevée plus de 1000 Da (HMM) comme les bactériocines. Tous ces éléments peuvent inhiber la croissance des germes d'altérations et pathogènes dans les aliments (**Ammor & al., 2006 ; Suskovic & al., 2010**).

Les bactéries lactiques (BL) comprennent un groupe diversifié des bactéries Gram positives, qui ne forment pas de spores, généralement immobiles, dépourvues de cytochrome oxydase, nitrate réductase et de catalase bien que certaines espèces possèdent du pseudo catalase (Yerlikaya, 2018). Elles sont aussi des bactéries anaérobies facultatives, se présentent sous forme de cocci et de bâtonnets, chimioorganotrophes et ne poussent que dans des milieux complexes, Elles ont des exigences nutritionnelles complexes pour les acides aminés, les peptides, les vitamines, les sels, les acides gras et les glucides fermentescibles (Schleifer & al., 1995).

### II.2 Habitat

Les bactéries lactique se trouvent dans de nombreux environnements riches en nutriments et se produisent naturellement dans nombreux milieux naturels, et dans divers produits alimentaires, Les bactéries lactiques sont généralement le principal groupe microbien se développant sur la viande et les produits carnés emballés sous vide (Mäkelä & al., 1992 ; Edalati & al., 2018), ou sont ajoutées en tant que cultures pures à divers produits alimentaires (Hayouni & al., 2008).

En outre, il est bien connu que ces bactéries, parmi une grande population des microorganismes habitent dans le tractus gastro-intestinal humain (GIT) et forme une unité étroitement intégrée avec l'hôte appelé le microbiote intestinal (Hayouni & al., 2008). Quelque espèce on peut les trouver aussi dans les cavités buccales, vaginales et les muqueuses des humains et des animaux (Björkroth & Koort, 2011).

### II.3 Taxonomie et Classification des bactéries lactiques

La première classification des bactéries lactiques a été établie en 1919 par Orla- Jensen. Elle est basée sur les techniques phénotypiques comme : la caractéristiques morphologiques, le mode de fermentation des sucres, croissance à différentes températures et à différents pH. Ensuite, d'autres critères phénotypiques ont été également utilisés pour la classification comme la composition de la paroi cellulaire en acides gras et la mobilité électrophorétique des acides lactiques déshydrogénases (Belyagoubi, 2014).

La taxonomie des bactéries lactiques a beaucoup changé au cours des deux dernières décennies. Un éventail beaucoup plus large d'études taxonomiques a graduellement remplacé l'ancienne classification à l'égard de la caractérisation morphologique, physiologique et bio-chimique. De nombreuses techniques génotypiques sont aujourd'hui utilisées dans l'étude d la

taxonomie polyphasique moderne, ces techniques sont basées sur l'analyse de l'ADN et permettent une meilleure identification des souches isolées au niveau du genre et de l'espèce donc en fonction des méthodes utilisées. En général, elles ont l'avantage sur les méthodes d'identifications phénotypiques de ne pas être influencées par les conditions de culture. Le séquençage direct de l'ARNr 16S est l'une des méthodes les plus puissantes pour l'identification en une seule étape d'une souche inconnue **(Ghazi et al., 2006)**.

Les différentes études menées par plusieurs équipes de recherche, ont permis de mettre au point plusieurs techniques. Parmi elle, la spectrométrie de masse MALDI-TOF, utilisée dans l'analyse des biomolécules et où les protéines font l'objet des plus grandes attentions pour ce type d'application **(Louardi, 2013)**.

Les bactéries lactiques appartiennent à l'ordre Eubacteriales des familles *Streptococcaceae* et *Lactobacillaceae*. Selon l'édition de Bergey's manuel (2009), les bactéries lactiques sont classées dans le Phylum des Firmicutes, la Classe des Bacilli et l'Ordre des lactobacillales renfermant trente-cinq genres répartis sur six familles. Parmi ces trente-cinq genres, il existe seulement douze genres qui sont utilisés dans la biotechnologie alimentaire, il s'agit de : *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, *Weissella*, *Bifidobacterium* **(Stiles et Holzapfel, 1997 ; Yerlikaya, 2018)**.

Une autre classification intéressante a été réalisée par **Stiles et Holzapfel (1997)**, qui ont défini quatre grands groupes phylogénétiques des BL, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* et *Streptococcus* représentent historiquement les «genres principaux», tels que reconnus depuis les années 40. Après l'introduction des nouveaux genres *Enterococcus* et *Lactococcus* au milieu des années 80 **(Al Atya, 2016)**.

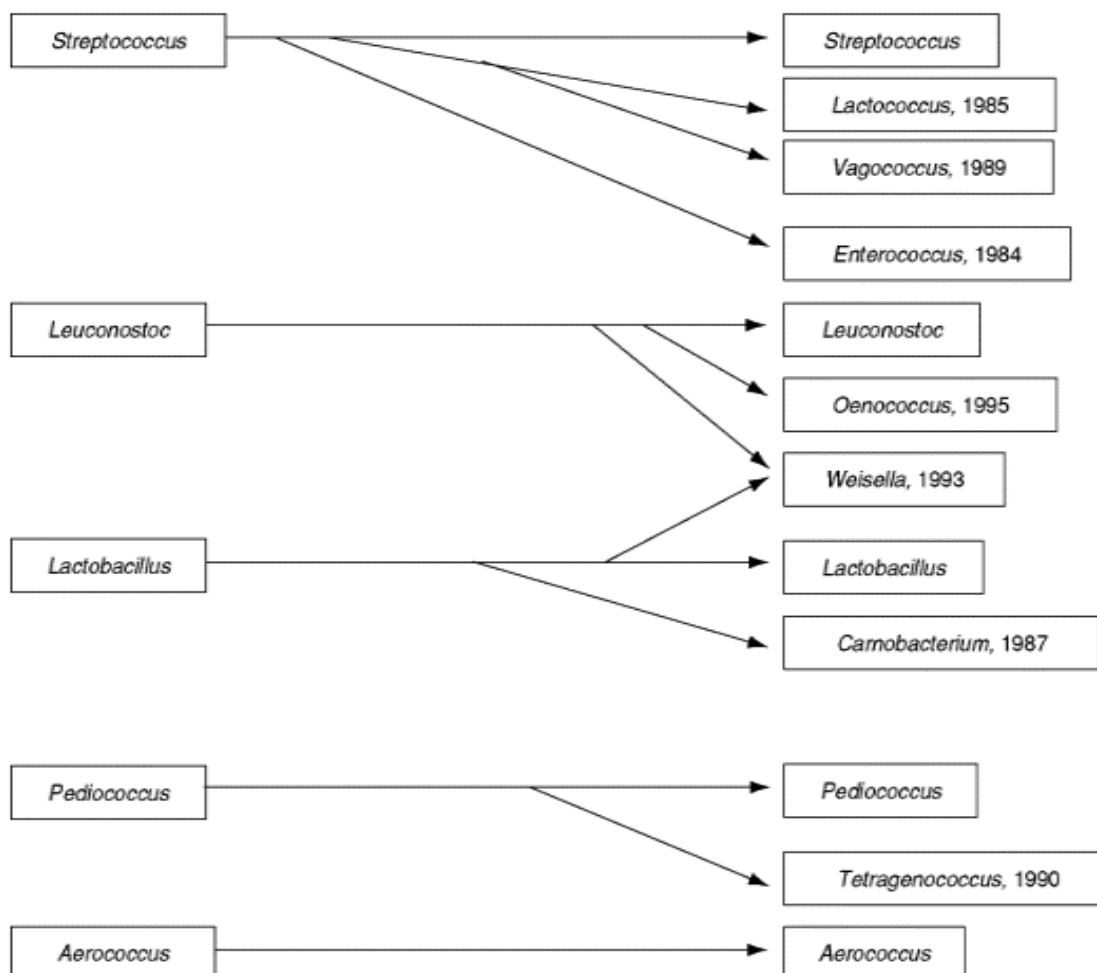
- ♣ Le premier groupe est constitué de *streptocoques* et de *lactocoques*. Dans le genre des streptocoques, une espèce (*Streptococcus thermophilus*) est la seule espèce du le genre *Streptococcus* associé aux fermentations alimentaires **(Hayouni et al., 2008)**.
- ♣ Le deuxième groupe contient *Oenococcus*, *Leuconostoc* et *Weissella*. Ces bactéries sont largement utilisées dans l'industrie alimentaire pour la production de vin (*Oenococcus oeni*), et la fermentation de certains légumes (*Leuconostoc citreum*).
- ♣ Le troisième groupe comprend les genres *Enterococcus*, *Tetragenococcus*, *Aerococcus*, *Melissococcus*, *Carnobacterium*, *Vagococcus*, et *Lactosphaera*.

## Rappel Bibliographique

### Partie I

♣ Le quatrième groupe comprend *Lactobacillus* et *Pediococcus*.

Les changements de nomenclature qui ont été fait pour certains genres importants dans les aliments sont représentés dans la figure ci-dessous (figure 02)



**Figure 02:** Genres de bactéries lactiques importantes dans les aliments, montrant des changements de nomenclature de 1980 à 2000 ( **Narvhus et Axelsson, 2003**).

## II.4 Caractéristiques des principaux genres des bactéries lactiques

### II.4.1 Le genre *Enterococcus*

Ce genre comprend des cellules ovoïdes isolées, en paires ou en courtes chaînes, homo-fermentaires. Quelques espèces sont mobiles par des petits flagelles et d'autres possèdent une pseudo-catalase. Ce genre se caractérise par sa tolérance à 6.5% de NaCl, au pH : 9.6 et par la croissance à 10°C et 45°C avec une température optimale de croissance de 35°C à 37°C (Foulquié-Moreno et al., 2006).

#### II.4.2 Le genre *Oenococcus*

Les cellules sont immobiles, de forme ovoïde, avec un arrangement en paires ou en chaînes, non hémolytiques et généralement non protéolytiques. Elles exigent un milieu riche en acides aminés et en facteurs de croissance, leur pH optimum étant de 6 à 6,8 et la température optimale de 20°C à 30°C (Maitre, 2012 ; Kot et al., 2014).

#### II.4.3 Le genre *Lactococcus*

Les souches du genre *lactococcus* ont des morphologies de cocci et forment des paires de cocci simples ou des formations à chaîne courte. De type mésophiles, leur température optimale variée de 10 à 40°C, celles-ci se développent généralement à 4% de NaCl et à un pH proche de la neutralité, leur croissance s'arrêtant lorsque le pH du milieu atteint 4,5 et à produire de l'acide à partir de différents sucres (arabinose, lactose, mannitol et raffinose). ce genre est un habitat typique des plantes, des animaux et de leurs produits (yerlikaya, 2018).

#### II.4.4 le genre *Lactobacillus*

Les cellules de ce genre à coloration de gram positive, généralement non mobiles, peuvent se présenter sous la forme de bâtonnets longs et fins, ou très courts, ou incurvés ou même ovoïdes. Les souches sont acidophiles et peuvent croître à un pH égal à 5 ou moins avec un optimum de 5.5 à 6.2. La température optimale de croissance est de 30°C à 40°C, mais peuvent croître à un intervalle de température allant de 2°C à 53°C. Certaines souches de lactobacilles dites « les thermophiles » restent viables à 55°C (tailliez, 2004).

La taxonomie des lactobacilles a été basée sur ces propriétés phénotypiques. Ils ont été divisés en trois sous-genres, «*Thermobacterium*», «*Streptobacterium*» et «*Betabacterium*», selon leur température de croissance et leur voie de la fermentation des hexoses (homofermentaire ou hétérofermentaire facultatifs et stricts) (klein et al., 1998).

♣ **groupe 1** « *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 2** « *Streptobacterium* » : regroupe les lactobacilles homofermentaires mésophiles et peuvent être occasionnellement hétéro fermentaires en fonction du substrat. Les espèces les plus fréquentes dans l'alimentation sont *Lb. casei*, *Lb. curvatus*, *Lb. sake* et *Lb. plantarum*.

## Rappel Bibliographique

### Partie I

♣ **groupe 3** « *Betabacterium* » : ce sont des lactobacilles hétéro fermentaires .il comporte les espèces *Lb. fermentum*, *Lb. brevis* et *Lb. sanfransisco*.

Les méthodes moléculaires modernes ont montré que ces sous-groupes sont incompatibles avec la relation phylogénétique de l'espèce. Le nouveau groupement moléculaire a été examiné par [hammes et vogel \(1995\)](#) et n'est donc résumé que dans le tableau 03 mentionné ci-dessous avec le système classique des sous-genres. [hammes et vogel \(1995\)](#) ont basé leur subdivision des lactobacilles sur le type peptidoglycane de la paroi cellulaire et la voie de fermentation des pentoses et des hexoses ([klein et al., 1998](#)).

**tableau 03**: division du genre *lactobacillus* en sous-genres et en sous-groupes moléculaires ( [klein et al., 1998](#)).

Groupe de lactobacilles	Voie de fermentation	Température de croissance	Représentants utilisés comme probiotiques
<b>Sous-genre</b>			
«Thermobacterium»	Homofermentative	15°C négatif 20°C négatif 45°C positif	<i>L. acidophilus</i>
« Streptobacterium »	Homofermentatif	15°C positif 45°C négatif	<i>L. casei</i> <i>L. sake / curvatus</i>
« Betabacterium »	Hétéro-fermentaire	Aucune règle générale	<i>L. reuteri / L. fermentum</i>
<b>Sous-groupes moléculaires</b>			
Groupe A	Homofermentaire Obligatoire, pas de fermentation des pentoses	Sans objet	<i>L. acidophilus</i>
Groupe B	Hétérofermentaire Facultative(gaz des pentoses)	Sans objet	<i>L. casei , L. sake /curvatus</i>
Groupe C	Hétérofermentaire obligatoire (gaz de glucose et pentoses)	Sans objet	<i>L. reuteri / L. fermentum</i>

#### II.4.5 Le genre *Leuconostoc*

Ce genre comprend 10 espèces fastidieuses dans leurs exigences nutritionnelles, les membres des genres *Leuconostoc* présentent une morphologie ovoïde généralement allongées qui s'arrangent en paires ou en chaînes ([Kot et al., 2014](#)), non acidophiles avec un pH optimum de croissance égal à 6.5. Néanmoins, certains *Leuconostocs* peuvent croître même à un pH de 4,5. La température optimale est comprise entre 20°C et 30°C mais la croissance

peut aussi avoir lieu même à 5°C. Les *leuconostocs* sont des hétéro fermentaires obligatoires (Gonzalez et al., 2008). Plusieurs *leuconostocs* produisent des polysaccharides extracellulaires qui peuvent être utilisés comme agents épaississants ou stabilisants alimentaires (Narvhus et Axelsson, 2003).

#### II.4.6 Le genre *Pediococcus*

Ce genre est représenté par neuf espèces ayant un métabolisme homofermentaire. Il rassemble des cellules immobiles de forme sphérique parfois ovoïdes, se divisent dans deux directions perpendiculaires et forment ainsi des tétrades de cellules plutôt que des chaînes (Narvhus et Axelsson, 2003). Il existe différentes souches de *Pediococcus* qui produisent une protéine connue sous le nom de pédiocine, qui est considérée comme une bactériocine antimicrobienne efficace (Skariyachan et Govindarajan, 2019).

#### II.4.7 Le genre *Streptococcus*

Les cellules de ce genre sont immobiles, anaérobies facultatifs en chaîne et en forme de cocci avec une faible teneur en G + C. La fermentation des carbohydrates produit principalement de l'acide lactique mais il n'y a pas de production de gaz, leur température optimale de croissance est 37°C. Elles sont incapables de se développer à 15°C et à pH : 9.6. Beaucoup d'espèces sont commensales ou parasites de l'homme et des animaux et certaines sont hautement pathogènes (Kadri et al., 2014).

L'exception notable à cela est *Streptococcus thermophilus*. Cette espèce se caractérise par sa croissance rapide à haute température et sa fermentation active du lait, connue depuis 1919 (Tarrach et al., 2018), Il est utilisé avec *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus*, pour la production de yaourt et se trouve dans de nombreux laits fermentés indigènes, où il peut se produire avec une variété d'autres BL et levures. Il est également utilisé comme culture de démarrage pour une variété des fromages italiens, y compris le parmesan. Aucune autre espèce de *Streptococcus* ne serait considérée comme importante pour la fabrication ou la détérioration des denrées alimentaires (Narvhus et Axelsson, 2003).

#### II.4.8 Le genre *Vagococcus*

Les cellules sont ovoïdes isolées, en paires ou en chaînes. La plupart des espèces sont mobiles par des flagelles péritriches. Elles sont capables de croître à 10°C mais non à 45°C sans production de gaz ni d'arginine dihydrolase (ADH) (Ammor et al., 2006).

#### II.4.9 Le genre *Tetragenococcus*

Ce genre rassemble des cellules immobiles, sphériques ou ovoïdes avec un diamètre de 0.5-1.0 µm formant des tétrades après leur division dans deux directions perpendiculaires comme elles peuvent être isolées ou en paires. Le métabolisme des *tetragenococcus* est homofermentaire. Ils ne produisent pas de CO<sub>2</sub> à partir de glucose comme ils sont incapables de réduire les nitrates ni d'hydrolyser l'arginine. Leur température optimale de croissance se situe entre 25°C et 35°C et ne peuvent pas croître à 10°C et à 45°C (**Tosukhowong et al., 2005**).

*Tetragenococcus* contient des souches anciennement considérées comme *P. halophilus*. Cette espèce se caractérise par son extrême tolérance au sel (> 18%) et est importante dans la fermentation des aliments riches en sel tels que la sauce de soja (**Narvhus et Axelsson, 2003**).

#### II.4.10 Le genre *Weissella*

Les cellules de ce genre sont ovoïdes ou de courts bâtonnets à extrémités rondes qui s'associent en paires ou en courtes chaînes, Elles sont immobiles et hétéro fermentaires. La température optimale de croissance est de 15°C, mais quelques espèces peuvent croître entre 42°C et 45°C (**Kot et al., 2014**).

Tous les genres des BL possèdent des caractéristiques physiologiques qui se diffèrent d'un genre à un autre, ces caractéristiques sont représentées dans le tableau 04.

**Tableau 04:** Caractéristiques différentielles des bactéries lactiques (**Narvhus et Axelsson, 2003**).

Character	Rods		Cocci							
	Carno-bacterium	Lacto-bacillus	Aero-coccus	Entero-coccus	Lactococcus Vagococcus	Leuconostoc Oenococcus	Pedio-coccus	Strepto-coccus	Tetragenococcus	Weissella <sup>b</sup>
Tetrad formation	-	-	+	-	-	-	+	-	+	-
CO <sub>2</sub> from glucose <sup>c</sup>	- <sup>e</sup>	±	-	-	-	+	-	-	-	+
Growth at 10°C	+	±	+	+	+	+	±	-	+	+
Growth at 45°C	-	±	-	+	-	-	±	±	-	-
Growth in 6.5% NaCl	ND <sup>f</sup>	±	+	+	-	±	±	-	+	±
Growth in 18% NaCl	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
Growth at pH 4.4	ND	±	-	+	±	±	+	-	-	±
Growth at pH 9.6	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-
Lactic acid <sup>d</sup>	L	D, L, DL <sup>g</sup>	L	L	L	D	L, DL <sup>g</sup>	L	L	D, DL <sup>g</sup>

## II.5 Les propriétés inhibitrices des bactéries lactiques

L'activité métabolique de certains organismes bactériens peut influencer la croissance et la survie d'autres microbes présents dans une niche spécifique. Certains membres du BL sont connus pour leur effet antagonisme contre les agents pathogènes humains par de multiples mécanismes, y compris la compétition pour les nutriments ou les sites de fixation, ainsi que la production des composés ayant une activité antimicrobienne (**Cálix-Lara et al., 2014 ; Yi et al., 2020 ; Galvez et al., 2007**).

### II.5.1 La compétition nutritionnelle

Les bactéries lactiques peuvent inhiber la multiplication de certains microorganismes d'altérations et/ou pathogènes par leur propre présence. En effet, il s'agit du phénomène de compétition sur les nutriments et/ou compétition sur le milieu vis-à-vis d'autres espèces.

Du fait de leurs importantes exigences nutritionnelles, les bactéries lactiques envahissent complètement le milieu. Elles limitent alors la multiplication des autres colonisateurs (**Castellano et al., 2008**). De plus, les cellules d'une même espèce possèdent des systèmes de communication. Lorsqu'une certaine densité cellulaire est atteinte (système de Quorum Sensing), des signaux sont envoyés d'une cellule à l'autre pour réguler l'expression de certains gènes et orienter le métabolisme.

En plus des phénomènes de compétition nutritionnelle et pour l'espace, l'inhibition d'une souche par une autre est souvent associée à une molécule produite. Dans le cas des BL inhibitrices, un large spectre des molécules (**Leonard, 2013**).

### II.5.2 La production des métabolites antimicrobiens

Les bactéries lactiques peuvent produire des substances antimicrobiennes capables d'inhiber la croissance de micro-organismes pathogènes et d'altérations (**Herreros et al., 2005**).

#### II.5.2.1 Les substances antimicrobiennes non peptidiques

##### II.5.2.1.1 Les acides organiques

Les acides organiques sont produits par les bactéries lactiques lors du processus de fermentation. Les principaux acides produits sont: l'acide lactique, l'acide acétique et propionique. L'acide lactique est le produit de la fermentation caractéristique du BL, peut

réduire le pH à un niveau où les bactéries putréfactives, pathogènes et toxigènes seront inhibées ou détruites (**Schnürer et Magnusson, 2005**). De plus l'acide non dissocié, en raison de sa solubilité dans les graisses, se diffusera dans la cellule bactérienne, réduisant ainsi le pH intracellulaire et ralentissant les activités métaboliques (**Holzappel et al., 1995**).

#### II.5.2.1.2 Le peroxyde d'hydrogène

Le peroxyde d'hydrogène est produit par un certain nombre de BL en présence d'oxygène moléculaire avec le lactate, le pyruvate et le NADH par les enzymes flavines (**Holzappel et al., 1995**). Le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) possède un effet antimicrobien qui peut être expliqué par la production de radicaux libres tels que le groupement superoxyde ( $O_2$ ) et le groupement hydroxyle (OH) capables d'endommager l'ADN bactérien (**Byczkowski et Gessner, 1988**). En outre, le pouvoir inhibiteur du peroxyde d'hydrogène pourrait être dû à des réactions d'oxydation des groupes sulfhydriles provoquant une modification de la conformation des protéines et donc la perte de fonction des enzymes. De plus, il peut engendrer la peroxydation des lipides membranaires, augmentant ainsi la perméabilité de la membrane du microorganisme cible (**Kong et Davison, 1980**).

#### II.5.2.1.3 Le dioxyde de carbone

Le dioxyde de carbone ( $CO_2$ ) est principalement formé pendant la fermentation des hexoses suivant la voie hétéro fermentaire. Le pouvoir antimicrobien du dioxyde de carbone produit par les bactéries lactiques, s'explique par la création d'une atmosphère anaérobie qui inhibe la croissance de certains microorganismes aérobies tels que la flore d'altération psychrophile à Gram négatif (**Hotchkiss et al., 1999**). De plus, l'accumulation du dioxyde de carbone dans la membrane lipidique de la cellule cible pourrait modifier sa perméabilité (**Farber, 1991**).

#### II.5.2.1.4 Le diacétyle

Le diacétyle ( $C_4H_6O_2$ ) est un composé aromatique produit par les bactéries lactiques, la formation de diacétyle a tendance à être réprimée pendant le métabolisme des hexoses, mais des quantités importantes peuvent être produites dans d'autres conditions, par ex. en présence d'acides organiques comme le citrate qui est converti via le pyruvate en diacétyle. L'activité inhibitrice du diacétyle contre un grand nombre de micro-organismes, y compris des agents pathogènes tels que *Mycobacterium tuberculosis*, a été signalée au début des années 1930 (**Lindgren et Dobrogosz, 1990**).

## Rappel Bibliographique

### Partie I

**Tableau 05 :** Composés antimicrobiens de faible masse molaire secrétés par les bactéries lactiques (Suskovic et al., 2010).

Composés antimicrobiens	Souche productrice	Spectre antimicrobien
Acide lactique	Tous les bactéries lactiques	Levures Bactéries à Gram +/-
Acide acétique	Bactéries lactiques hétérofermentaires	Levures Bactéries à Gram +/-
Diacétyle	<i>Lactococcus, Leuconostoc, Lactobacillus, Pediococcus</i>	Levures Bactéries à Gram +/-
Peroxyde d'hydrogène	Tous les bactéries lactiques	Levures Bactéries à Gram +/-
Dioxyde de carbone	Bactéries lactiques hétérofermentaires	La plupart des groupes taxonomiques de microorganismes
Reutérine	<i>Lactobacillus reuteri</i>	Champignons, Protozoaires Bactéries à Gram +/-

#### II.5.2.2 Les substances antimicrobiennes peptidiques

##### II.5.2.2.1 Les bactériocines

les bactériocines ont été utilisées comme bio-conservateurs alimentaires et semblaient une alternative prometteuse aux antibiotiques comme l'excellente activité antibactérienne (Cotter et al., 2013). Fait intéressant, certaines bactériocines sont même puissantes contre les agents pathogènes d'origine alimentaire multirésistants (Yi et al., 2016). Par conséquent, les BL sont des candidats les plus prometteurs utilisés pour contrôler les agents pathogènes d'origine alimentaire (Yi et al., 2020).

Les bactériocines sont des peptides antimicrobiens de synthèse ribosomale produites par des bactéries et très actifs à des concentrations pico à nano-molaires. Toutes les bactériocines produites par des bactéries lactiques (BL) suscitent un intérêt considérable principalement en tant que conservateurs alimentaires naturels et non toxiques, mais aussi pour leur application potentielle en tant que des agents antimicrobiens thérapeutiques pour les applications humaines et vétérinaires et dans le domaine de la production animale. La plupart des bactériocines de BL sont synthétisées sous la forme de précurseurs ou pré peptides biologiquement inactifs contenant une extension N-terminale qui est clivée pendant l'exportation pour générer leur forme biologiquement active ou mature (Arbulu et al., 2019). La plupart des bactériocines de BL sont de petits peptides cationiques, thermostables, amphiphiles et perméabilisant membranaires (moins 10 kDa) (Zacharof et Lovitt, 2012).

## Rappel Bibliographique

### Partie I

Dans la communauté bactérienne, de nombreuses bactéries Gram positives, négatives et archées sont connues pour produire des bactériocines (**Juturu et Wu, 2018**).

#### II.5.2.2.1.1 Classification des bactériocines

Au cours des dernières années, plusieurs classifications des bactériocines ont été proposées en tenant compte de la première classification proposée par Klaenhammer 1993 (**Silva et al., 2018**). Récemment les bactériocines sont classées en fonction de leurs structures primaires, de leur poids moléculaire, de leurs modifications post-traductionnelles et de leurs caractéristiques génétiques (**Mokoena, 2017**), leur composition et leurs propriétés physico-chimiques (**García et al., 2010**). Les bactériocines sont classées principalement en trois classes principales:

- ♣ Classe I “ Les antibiotiques ” : petits peptides <5 kDa modifiés post-traductionnellement,
- ♣ Classe II “ les non antibiotiques ” : bactériocines non modifiées <10 kDa.
- ♣ Classe III “ Bactériocines ” : peptides plus gros > 30 kDa, thermolabiles.

Chaque classe est subdivisée en sous-classe (**Kumariya et al., 2019 ; Zacharof et Lovitt, 2012**), ces sous classe sont représentées dans le tableau 06 :

**Tableau 06:** Classification des bactériocines en sous-classe avec les trois classe principales (**Kumariya et al., 2019**).

Classe	Fonctionnalités	Exemple	
I	Ia	Lantibiotiques (<5 kDa peptides contenant de la lanthionine et de la $\beta$ -méthyl lanthionine)	Nisin
	Ib	Lantibiotiques carbacycliques contenant de la labyrinthine et de la labionine	Labyrinthopeptine A1
	Ic	Sactibiotiques (du soufre aux antibiotiques contenant du carbone alpha)	Thuricin CD
II	IIa	Petits peptides thermostables, synthétisés sous forme de précurseur qui est traité après deux résidus de glycine, actif contre <i>Listeria</i> , ont une séquence consensus de YGNGV-C dans le Nterminal	Pediocin PA-1, sakacines A et P, leucocine A
	IIb	Systèmes à deux composants: deux peptides différents requis pour former un complexe de poration actif	Lactococcines G, plantaricine EF et plantaricine JK
	IIc	Bactériocines circulaires	Gasséricine A, entéroccine AS-48, garvicine ML
	II d	Bactériocines non modifiées, linéaires, sans leader et ne ressemblant pas à de la pédiocine	Bactofencine A, LsbB
II	Grandes molécules sensibles à la chaleur	Helveticin M, helveticin J et entérolysine A	

#### II.5.2.2.1.2 Mécanisme d'action des bactériocines

Les bactériocines ce sont généralement des protéines de faible poids moléculaire qui pénètrent dans les cellules cibles en se liant aux récepteurs de surface cellulaire. Leurs mécanismes bactéricides varient et peuvent comprendre la formation de pores, la dégradation de l'ADN cellulaire, la perturbation par clivage spécifique de l'ARNr 16S et l'inhibition de la synthèse des peptidoglycanes (**Todorov et al., 2011**).

présentant un effet bactériostatique (entraînant un ralentissement de la croissance), bactéricide (entraînant la mort cellulaire) et / ou bactériolytique (qui conduit à une dissolution de la cellule bactérienne) (**Túlio Pardini Gontijo et al., 2019**).

#### II.5.2.2.1.3 Applications biotechnologiques des bactériocines

##### A. Applications dans l'industrie alimentaire

Les consommateurs ont été toujours préoccupés par les effets néfastes possibles sur la santé de la présence d'additifs chimiques dans leurs aliments. En conséquence, les consommateurs sont attirés par les aliments naturels sans ajout des conservateurs chimiques. Cette perception, couplée à la demande croissante d'aliments peu transformés avec une longue durée de conservation et une grande commodité, a stimulé l'intérêt de la recherche pour trouver des conservateurs naturels mais efficaces (**Chen et Hoover, 2003**).

En biotechnologie alimentaire, la recherche sur les bactériocines s'est principalement concentrée sur les bactériocines produites par les bactéries lactiques et leurs applications en tant que bio préservateurs alimentaires contre les agents pathogènes d'origine alimentaire et les bactéries d'altération des aliments (**Martínez et al., 2019**). Afin d'améliorer la sécurité sanitaire des aliments et prolonger la durée de conservation (**Chen et Hoover, 2003**).

Les bactériocines peuvent être ajoutées aux aliments de trois façons : Inoculation d'aliments avec des BL qui produisent de la bactériocine dans les produits. La capacité du BL à croître et à produire de la bactériocine dans les produits est cruciale pour son utilisation réussie, Ajout de bactériocines purifiées ou semi-purifiées comme conservateurs alimentaires, et utilisation d'un produit préalablement fermenté avec une souche productrice de bactériocines comme ingrédient dans la transformation des aliments. (**O'Connor et al., 2020 ; Chen et Hoover, 2003** ).

## Rappel Bibliographique

### Partie I

À ce jour, seule la nisine et la pédiocine PA1 ont été commercialisées comme conservateurs alimentaires (Silva et al., 2018). La Nisine en tant que produit de *Lc. lactis* a été approuvée par la Food and Drug Administration des États-Unis pour les applications alimentaires, également été reconnue comme additif alimentaire dans l'UE et a reçu le numéro E234 (Krivorotova et al., 2016).

**Tableau 07:** Applications des bactériocines à la bio-conservation des aliments (Balciunas et al., 2013 ).

Bactériocine	Souche productrice	Microorganisme cible	Aliment
Nisin	<i>Lactococcus lactis</i>	<i>Brochothrix thermosphacta</i>	Viande de porc
Nisin	<i>Lactococcus lactis</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	Lait fermenté
AcH Pediocin	<i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	Fromage
Enterocin	<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	Lait
Enterocin	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	Saucisse
Nisin Z	<i>Lactococcus lactis lactis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	Fromage Afuega'l Pitu

### B. Applications dans le domaine médical

Bactériocine Étant un inhibiteur potentiel de divers agents pathogènes, l'action spécifique, la non-résistance et la nature non toxique des bactériocines ont accru l'intérêt de nombreux scientifiques à diriger des travaux dans le domaine des médicaments à base de bactériocine. Le potentiel de nombreuses bactériocines, y compris l'activité contre les agents pathogènes multirésistants, a été décrit (Ahmad et al., 2017).

En milieu hospitalier, les principaux agents pathogènes responsables de la maladie sont *S. aureus*, *Entérocoques*, *Pneumocoques*, *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae* et *Proteus spp.* La nisine et la lacticine 3147 sont responsable de l'inhibition de divers agents pathogènes dans le foie, la rate et les reins, et sont révélées efficaces contre le SARM et les ERV (Ahmad et al., 2017). Les souches de *Staphylococcus aureus*, *Entérocoques* et *Pneumocoques* résistants à six antibiotiques ou plus sont difficiles à traiter.

#### B.1. Les bactériocines dans les infections dentaires

*Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia* et *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* sont considérés comme les principaux agents pathogènes parodontaux. De nombreuses bactériocines, comme la subtilosine A contre *Porphyromonas gingivalis* et lacticine 3147, BLIS K12 et une bactériocine de 114 kDa provenant de la souche HL32 de *Lactobacillus paracasei* contre *P. gingivalis* ont été enregistrés pour inhiber la croissance des principaux agents pathogènes buccaux (Shelburne et al., 2006).

#### B.2. Les bactériocines en médecine vétérinaire

Les animaux laitiers souffrent généralement de mammites, une infection bactérienne intramammaire causée par *S. aureus*, *S. uberis* et *S. dysgalactiae*. Un désinfectant pour pis à base de nisine a été approuvé par la FDA en tant que lingettes lactières. De plus, Mast Out® (Immucell), un produit de perfusion intramammaire contenant de la nisine, a également été récemment présenté pour approbation par la FDA. La lacticine 3147, un autre antibiotique intéressant et hautement inhibiteur produit par *Lactococcus lactis* DPC3147, a été testée en tant que thérapie de vache sèche dans des formulations de phoque tétine contre de nombreux agents pathogènes responsables de mammites (Ahmad et al., 2017).

# Partie II

## **Matériel et Méthodes**

Vu l'impossibilité de réaliser un travail expérimental au niveau du laboratoire en raison de la pandémie causée par Coronavirus Covid 19 et pour contourner ce problème difficile, nous présentons dans ce mémoire une synthèse des trois travaux scientifiques qui ont déjà abordé le sujet sur l'activité antimicrobienne des bactéries lactiques isolées à partir du lait de chamelle vis-à-vis des germes impliqués dans les intoxications alimentaires.

#### I. Objectif

L'objectif de ce travail consiste à isoler des souches lactiques à partir du lait cru de chamelle, puis à identifier les souches isolées afin de tester leur activité antimicrobienne vis-à-vis les germes pathogènes.

#### II. Matériel

Des échantillons du lait de chamelle ont été utilisés pour l'isolement.

Les souches de BL qui ont été isolées pour testées leur activité antibactérienne.

Les souches pathogènes utilisées pour la réalisation de l'activité antibactérienne.

#### III. Méthodes

##### III.1 Echantillonnage

Les échantillons du lait ont été obtenus directement du pis, la mamelle a été lavée avec de l'eau distillée avant la collecte et séchée avec des serviettes simples, les trois premiers flux du lait ont été jetés. Les échantillons du lait ont été prélevés à partir des chameaux sains auprès des éleveurs localisés dans trois pays différents, ils sont acheminés dans une glacière au laboratoire où ils sont aussitôt analysés. Le nombre des échantillons collectés dans chaque pays sont mentionnés dans le tableau 08 suivant :

**Tableau 08:** Échantillonnage (Rahmeh & al., 2019; Edalati & al., 2018; Laiche & al., 2019).

Echantillon	Origine des échantillons	Nombre des échantillons analysés	Références
Lait de chamelle	Koweït de la région sud : Al-Wafra et la région nord-ouest : Kabad.	20	Rahmeh & al., 2019
	Iran de la province de Kerman	14	Edalati & al., 2018
	Algérie de la région El Oued	5	Laiche & al., 2019

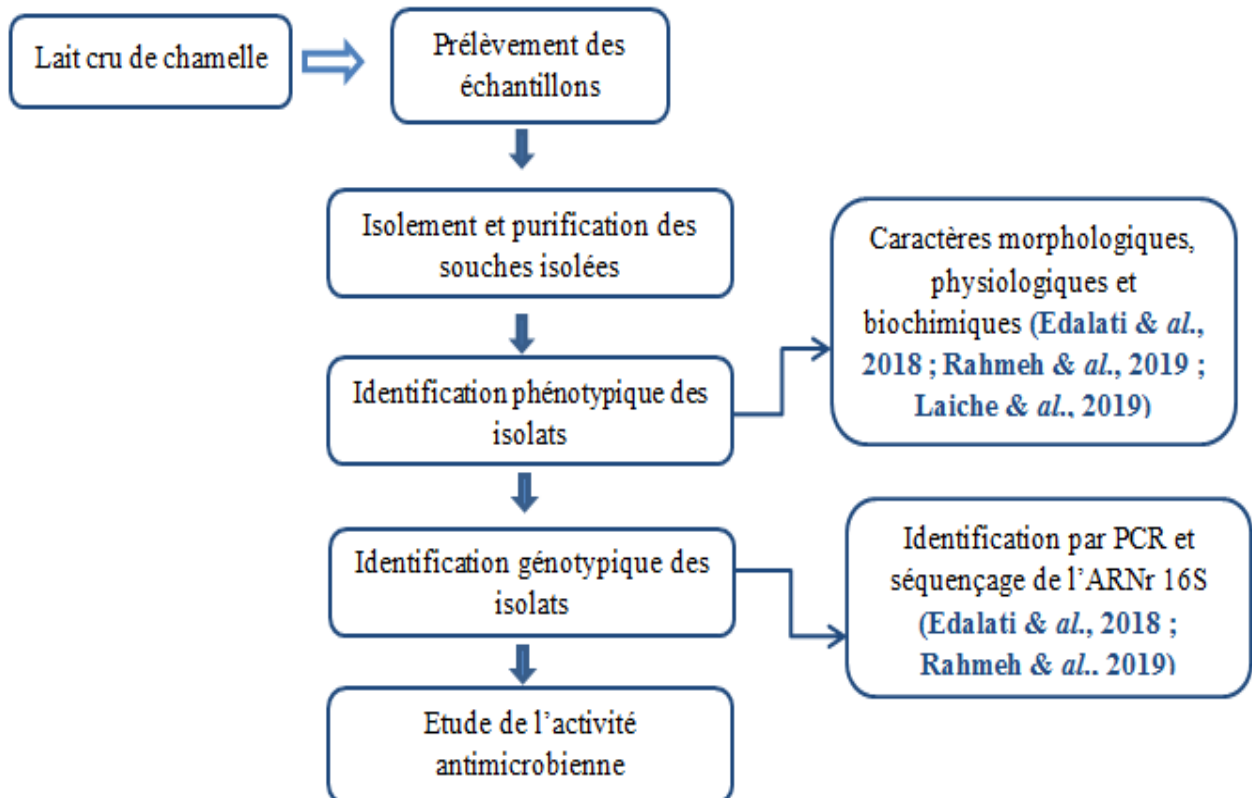
Les caractéristiques des échantillons du lait prélevés par **Laiche & al (2019)** à partir de la région El-Oued « Algérie » (Tableau 09).

**Tableau 09:** Caractéristiques des races des cinq échantillons collectés (**Laiche & al., 2019**).

Région	Echantillons	Age (ans)	Couleur	Race/Population	L'heure du prélèvement	Production quotidienne (L)
El Oeud	E1	3	Marron	Targui	8 :00	3-4
	E2	2		Sahraui	8 :00	6-7
	E3	2.5	Sablé		8 :20	
	E4	4			8 :10	6-8
	E5	3.5	Marron	Targui	8 :30	3-4

### III.2 Analyse du lait

D'après l'étude des articles, les analyses qui ont été fait sur le lait de chamelle comprend les étapes décrites dans la figure (03).



**Figure 03:** Principales étapes de la démarche générale.

#### III.3 Technique d'isolement et purification des bactéries lactiques

Afin d'isoler des souches lactiques des mêmes techniques ont été appliquées, 10 ml de chaque échantillon du lait de chamelle ont été mélangés avec 90 ml d'eau physiologique (0.85% NaCl). Après homogénéisation, une série de dilution décimale de 1/10 a été préparée jusqu'à  $10^{-8}$  en incorporant 1 ml dans 9 ml d'eau physiologique stérile dans des tubes stériles, 1 ml de chaque dilution est ensuite ensemencé en masse et 0.1 ml par étalement sur des milieux de cultures spécifiques à savoir MRS, M17 et la gélose à l'azide de kanamycine esculine.

Les boîtes de Pétri ont été incubées à 37°C pendant 48h en anaérobiose (Edalati & al., 2018 ; Rahmeh & al., 2019 ; Laiche & al., 2019).

La purification a été réalisée sur milieu gélosé MRS et M17 par l'ensemencement en strie et sur bouillon MRS, M17, incubées à 30 ou 45°C afin de s'assurer la pureté des souches, suivi d'une observation microscopique (Laiche & al., 2019).

##### III.3.1 Conservation des souches

La conservation à court terme des souches pures est effectuée sur milieu MRS solide incliné. Après croissance à la température optimale, les cultures sont maintenues à 4°C et le renouvellement des souches se fait par repiquage toutes les 4 semaines (Laiche & al., 2019).

La conservation à long terme des isolats purifiés a été réalisée dans le bouillon MRS contenant 50% de glycérol et stockés à une température de -80°C (Rahmeh & al., 2019).

##### III.3.2 Tests d'orientation de l'identification des bactéries lactiques

Les tests d'orientation de l'identification qui ont été réalisés sont basés sur la détermination des caractères morphologiques, physiologiques et biochimiques et par l'utilisation des techniques génotypiques.

###### III.3.2.1 Caractérisation morphologiques, physiologiques et biochimiques

La caractérisation a été réalisée selon l'aspect macroscopique des souches isolées et purifiées (forme, taille,...) et microscopique (mode de regroupement, coloration du gram), test catalase et oxydase, croissance à différentes températures et à différentes concentration de NaCl, fermentation du sucre, production de CO<sub>2</sub> (Laiche & al., 2019 ; Edalati & al., 2018).

#### III.3.2.2 Identification génotypiques des souches isolées

L'identification génotypique a été réalisée seulement sur certain nombre des souches qui ont été sélectionnées après l'identification phénotypique. Cette identification a été faite par l'extraction et la purification de l'ADN, et par l'application de la technique PCR et séquençage de l'ARN 16S.

##### III.3.2.2.1 Extraction de l'ADN

L'extraction de l'ADN a été faite à partir de chaque culture à l'aide des kits d'ADN génomique bactérien GenElute (Sigma-Aldrich, St Louis, MO, USA) (SinaClon, Karaj, Iran), utilisés selon les instructions du fabricant, après culture de la souche à identifier dans 5 ml de bouillon MRS pendant 16 heures à 30°C (**Rahmeh & al., 2019 ; Edalati & al., 2018**).

##### III.3.2.2.2 Analyse par PCR et séquençage de l'ARNr 16S

La PCR consiste à multiplier la séquence du gène de l'ARNr 16S à l'aide d'amorces spécifiques et générant un amplicon de 1500bp. Les amorces utilisées pour l'amplification par PCR et le séquençage sont les suivantes :

- forward : 5'AGAGTTTGATCMTGGCTCAG3'
- reverse : 5'TACGGYTACCTTGTTACGACTT3'

Le séquençage du produit de PCR a été effectué par Takapozist (Téhéran, Iran; au nom de Bioneer, Daejeon, Corée). Tous les résultats de séquençage ont été traduits par la programmation LaserGene (DNASTAR, Madison, WI, USA), y compris les logiciels MegAlign, EditSeq et SeqMan (**Edalati & al., 2018**).

Selon la méthode décrites par **Rahmeh & al., (2019)** Pour la réaction PCR ils ont utilisés un kit HotStarTaq Plus (Qiagen, Valencia, CA, USA) avec les étapes suivantes : pré dénaturation à 94 °C pendant 3 min est entamé, suivi de 28 cycles de :

- ♣ Dénaturation 94 °C pendant 30 secondes.
- ♣ Hybridation des amorces à 53°C pendant 40 secondes.
- ♣ Elongation (polymérisation) à 72°C pendant 1min.
- ♣ Une étape d'extension finale est réalisée à 72°C pour 5minutes.

Après la PCR, tous les produits d'amplicon des différents échantillons ont été mélangés à des concentrations égales et purifiés en utilisant des billes Ampure PB (Pacific Biosciences, Menlo Park, CA, USA).

Les produits de PCR purifiés ont été séquencés en utilisant la chimie PacBioSequel en suivant les protocoles du fabricant. La banque de chaque échantillon a été préparée à l'aide d'un kit de préparation de modèle SMRTbell (Pacific Biosciences) en suivant le guide de l'utilisateur du fabricant. Après l'achèvement du séquençage initial de l'ADN, chaque banque a subi une analyse secondaire, Circular Consensus Sequencing, en utilisant l'algorithme CCS2 de PacBio.

### III.4 Etude de l'activité antimicrobienne

#### III.4.1 Préparation des pré-cultures des souches lactiques et indicatrices

Pour réaliser le test d'antagonisme, il est nécessaire d'avoir des pré-cultures des souches lactiques et les souches indicatrices (pathogènes).

À partir des géloses MRS et M17 conservé à 4°C, nous avonsensemencé chaque souche lactique isolée dans un tube à essai contenant 5 ml du bouillon MRS, le tube est incubé à 37°C pendant 18/24 heures.

Alors que la souche indicatrice a étéensemencée dans un tube à cœur-cervelle (**Laiche & al., 2019**), et dans bouillon nutritif (**Rahmeh et al., 2019; Edalati et al., 2018**) et incubée à 37°C pendant 18 heures .

#### III.4.2 Détection de l'activité antimicrobienne

Les souches isolées ont été testées pour leur activité antagoniste vis à vis des souches indicatrices par les méthodes suivantes :

- ♣ La méthode de diffusion des puits décrites par **Barefoot et Kaenhammer, 1983** et citée par (**Laiche & al., 2019**).
- ♣ la méthode de diffusion sur disque et la méthode spots d'agar citée par (**Edalati & al., 2018**).
- ♣ La méthode de spot-on-the-lawn décrite par **Hoover et Harlander, 1993** et citée par (**Rahmeh & al., 2019**).

Les souches pathogènes de référence qui ont été utilisées dans chaque méthode sont mentionnées dans le tableau (10) suivant, Cette activité doit être réalisée à partir des cultures jeunes de (18 à 24 h) des souches lactiques et des souches indicatrices.

**Tableau 10:** souches pathogènes utilisées pour tester l'activité antimicrobienne ( **Rahmeh et al., 2019; Edalati et al., 2018; Laiche et al., 2019**).

Souches	Code	Références
<i>Salmonella enterica</i>	ATCC 13076	<b>(Rahmeh &amp; al., 2019)</b>
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922	
<i>Listeria monocytogenes</i>	ATCC 25923	
<i>Shigella flexneri</i>	ATCC 12228	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 7644	
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	ATCC 12222	
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 27853	
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922	<b>(Edalati &amp; al., 2018)</b>
<i>Staphylococcus aureus</i>	PTCC 1431	
<i>Listeria innocua clip</i>	ATCC 74915	<b>(Laiche &amp; al., 2019)</b>
<i>Bacillus cereus</i>	/	
<i>Klebseilla pneumoniae</i>	ATCC 700603	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853	
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922	
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25923	
<i>Salmonella sp</i>	/	

Après la préparation des cultures jeunes, la méthode de diffusion des puits décrite par Barefoot et Kaenhammer, 1983 a été appliquée par **(Laiche & al., 2019)** ,Un volume de 20 ml de milieu Mueller-Hinton a été coulé dans des boîtes de Pétri stériles, après solidification du milieu, les boîtes sontensemencées en surface par la suspension de la souche pathogène (100µl, DO = 0,1 à 0,08). Puis des puits d'un diamètre de 6 mm ont été creusés stérilement à l'aide d'un emporte-pièce (cloche de Durham) sur la gélose, et seront remplis par 60 à 80µl de surnageant d'une culture fraîche des souches lactiques obtenu après centrifugation à 4000 tours / min pendant 15 min.

Les boîtes ont été mises à 4°C pendant 2 h pour permettre la bonne diffusion de la substance antibactérienne, puis incubées à 37°C pendant 24 h, et l'activité antimicrobienne se révèle par l'apparition de zones d'inhibition autour des puits.

La zone d'inhibition est mesurée selon la formule suivante :

$$Zi \text{ en (mm)} = \text{diamètre de la zone d'inhibition obtenue (mm)} - \text{diamètre de puits (6 mm)}$$

Selon (Edalati & al., 2018), l'activité antagoniste des souches lactiques isolées et identifiées a été déterminée par la technique de diffusion sur disque et la méthodes des spots d'agar contre deux souches pathogènes seulement,.

La méthodes des spots d'agar : à partir de chaque suspension de souche lactique un volume de 4 µl a été repéré à la surface du milieu MRS gélosé et incubé à 37 °C pendant 24 heures pour développement des spots. Après croissance des spots de BL , (1% v/v) d'une culture de 18h des souches indicatrices a été mélangé avec 15 ml de gélose nutritive molle (0.70% (m/v) agar) ,et versé prudemment sur les boites contenant les spots des bactéries lactiques, après solidification du milieu, les boites sont incubées une autre fois pendant 24h à 37°C . L'inhibition de la souche pathogène (indicatrice) se traduit par la formation des zones claires autour du spot dont le diamètre est mesuré à partir du centre en millimètre.

La technique de diffusion sur disque : un volume de 4 µl d'une culture de 18h des bactéries lactiques a été repéré à la surface du milieu MRS gélosé et incubé à 37 °C pendant 24 heures, puis des disques de papier whatman stériles ont été déposés à la surface de la gélose, chaque disque inoculé avec 15 µl d'une culture des souches inhibitrices. Après l'incubation à 37°C pendant 24h l'inhibition de la souche indicatrice se traduit par la formation des zones claires autour des disques.

la mise en évidence de l'activité antibactérienne des souches isolées par (Rahmeh & al., 2019) a été évaluée contre sept souches pathogènes par la technique de spot-on-the-lawn décrite par Hoover et Harlander., (1993).

Un volume de 1 µl d'une culture de 18h des isolats lactiques a été déposé en spots sur la surface des boites de Pétri préalablement coulées avec la gélose MRS et solidifiées, les boites ont été incubées à 37 °C pendant 24 heures dans des conditions anaérobies.

### Partie II

Après l'incubation, les spots sont recouverts avec le milieu de culture approprié (0.8% (p/v) agar) déjà inoculé avec les souches indicatrices (culture de 18h) à 10<sup>6</sup> UFC/ml. Ensuite les boîtes ont été incubées dans les conditions requises par chaque souche indicatrice. L'activité antibactérienne est déterminée par mesure des diamètres de zones d'inhibitions.

# Partie III

## **Résultats et discussion**

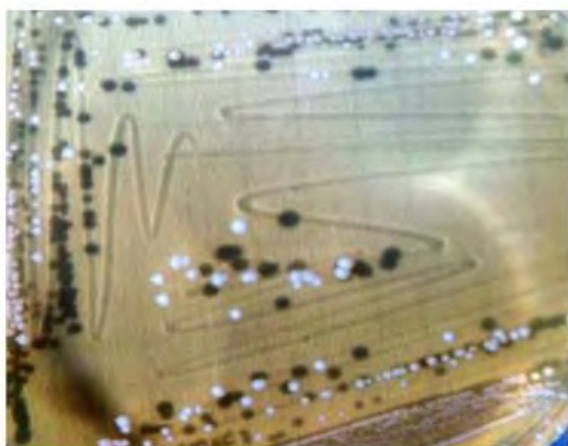
#### I. Identification phénotypique des isolats

Les isolats ont été identifiés dans un premier temps sur la base de leur aspect macroscopique et microscopique puis sur la base des tests physiologiques et biochimiques.

##### I.1. Identification macroscopique et microscopique

Identification macroscopique a été faite par l'observation à l'œil nu l'aspect des cultures sur bouillon et sur gélose. Les résultats de l'examen macroscopique pour les isolats qui ont été obtenus sur gélose montrent des colonies circulaires / lenticulaires, bombées, couleur blanchâtre ou laiteuses et crémeuse à pourtour régulier (figure 04).

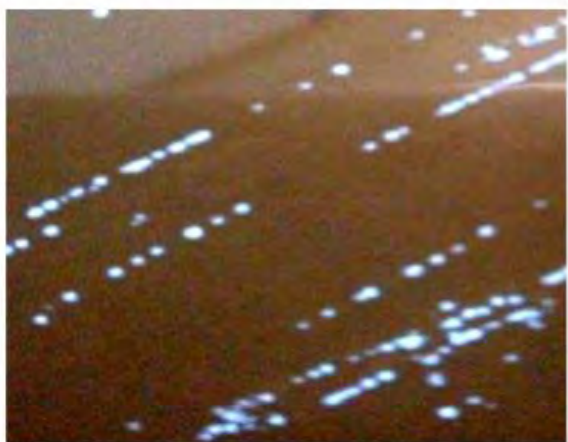
Par contre, l'observation macroscopique sur bouillon a montré l'apparition d'un trouble au fond du tube pour tous les isolats



A: Culture of Pediococci on the medium M17 agar



B: Culture of Streptococcus on M17 agar medium



C: Lactobacillus culture on MRS agar medium



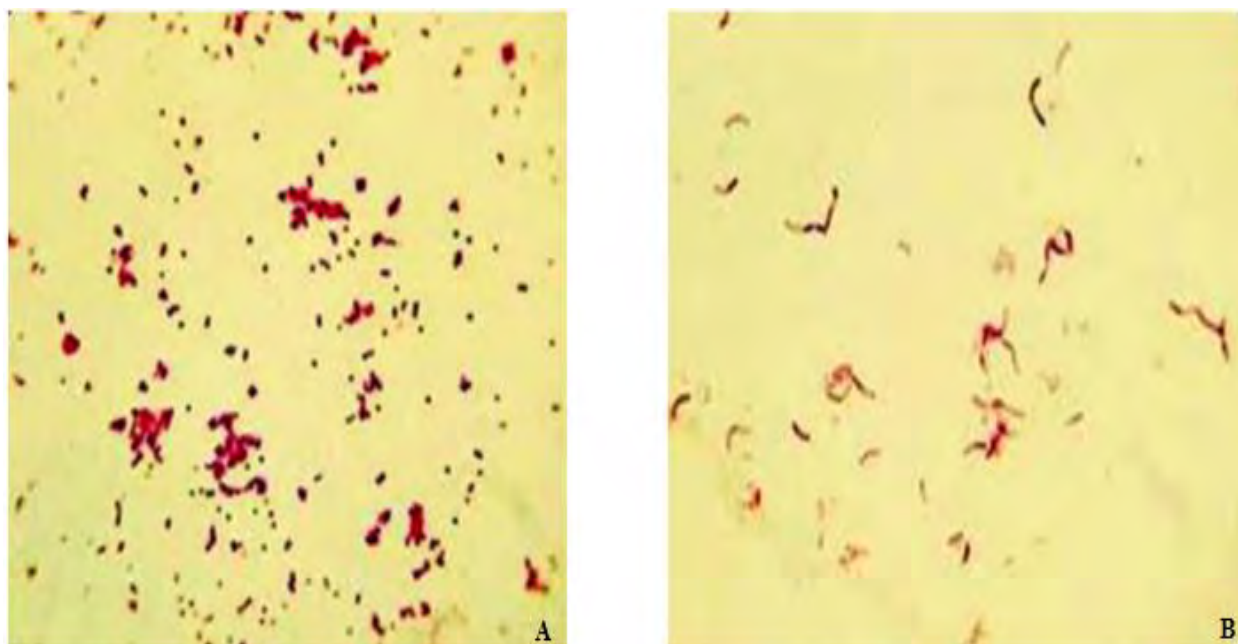
D: Culture Lactococcus on the medium M17 agar

**Figure 04:** Aspect macroscopique des isolats lactiques.

## Résultats et discussion

### Partie III

En ce qui concerne l'observation microscopique par coloration du gram, tous les isolats apparaissent gram positif sous forme sphérique et bacille (figure 05).



**A:** Forme Cocci et **B:** Forme Bacille

**Figure 05:** Aspect microscopique des isolats (GX 100).

Concernant les souches isolées par **Laiche & al (2019)**, neuf isolats ont été sélectionnés et identifiés (tableau 11).

Les résultats des caractéristiques morphologiques de ces neuf isolats sont présentés dans le tableau ci-dessous (tableau 12).

**Tableau 11:** Les isolats sélectionnés après l'étude macroscopique et microscopique (**Laiche et al., 2019**).

Echantillon	Milieu de culture	T°C d'incubation	Les isolats obtenus	Référence
le lait collecté de la région El-oued.	M17	30°C	6 isolats « S1 à S6 »	Laiche & al., 2019
		45°C	2 isolats « S7 et S8 »	
	MRS	30°C	1 isolat « S9 »	

## Résultats et discussion

### Partie III

**Tableau 12:** Caractéristiques morphologiques des BL isolées (Laiche *et al.*, 2019).

Groupes	Macro morphologie	Micro Morphologie	T°C
Pediocoques S1, S3, et S5	Colonies Lisses arrondies, grisâtres ou blanchâtres	Coccis en Tétrades	42-48
Lactocoques S2, S4 et S6	Colonies blanches, rondes ou lenticulaires	Coccis, diplocoques et en chaînette	30
Streptocoques S7 et S8	Colonies rondes de couleur blanche crème	Coccis, diplocoques et en chaînette	30
Lactobacilles S9	Petites colonies blanches, rondes	Petits bâtonnets en chaînettes	30

### I.2. Identification biochimique et physiologique

Après l'observation macroscopique, le test de production de la catalase a été effectué, Tous les isolats ont démontré une réaction catalasique négative. Les résultats des tests qui ont été effectués pour l'identification biochimique des isolats pré-identifiés par les caractéristiques morphologiques sont mentionnés dans le tableau 13 (Laiche *et al.*, 2019).

**Tableau 13:** Critères biochimiques et physiologiques des isolats (Laiche *et al.*, 2019).

		S <sub>1</sub>	S <sub>2</sub>	S <sub>3</sub>	S <sub>4</sub>	S <sub>5</sub>	S <sub>6</sub>	S <sub>7</sub>	S <sub>8</sub>	S <sub>9</sub>
<b>ADH</b>		-	+	-	-	+	-	-	-	-
<b>VP</b>		+	-	+	V	+	-	-	-	-
<b>CIT</b>		+	+	-	-	-	+	+	+	+
<b>H<sub>2</sub>S</b>		-	-	-	+	+	-	-	-	-
<b>IND</b>		-	-	-	-	-	-	+	+	+
<b>GAZ</b>		-	-	-	-	-	-	V	+	-
<b>RES</b>		v	-	-	-	+	v	V	V	-
<b>T<sup>c</sup></b>	40°C	-	-	V	-	-	-	+	+	-
	45°C	-	-	-	-	-	v	+	+	-
<b>PH</b>	4.2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	4.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	4.8	-	-	-	-	+	-	-	-	-
	6.5	-	+	-	+	+	+	-	+	+
	7	+	+	+	+	+	+	-	-	-
<b>NaCl</b>	2%	+	+	+	+	+	+	+	V	+
	3%	v	V	+	-	+	+	-	-	-
	4%	V	-	+	-	+	v	+	-	+
	6.5%	-	-	+	-	+	+	-	-	-
<b>CARBOHYDRATES</b>	GLU	+	+	+	+	+	-	+	+	+
	MAN	+	+	+	+	+	-	+	+	+
	RHA	+	-	+	+	+	-	+	+	+
	SAC	+	-	+	+	+	-	-	-	+
	MEL	+	+	+	+	+	-	+	+	+
	Amy	+	-	+	+	+	-	-	-	+
	ARA	+	+	+	+	+	-	+	+	+
	LAC	+	+	+	+	-	-	-	+	-
	INO	-	-	-	+	+	-	-	-	-
	SOR	-	-	+	+	+	-	+	+	+

## Résultats et discussion

---

### Partie III

« +: plus de 90% de réactions positives. -: moins de 10% de réactions positives. **V**: plus de 10% et moins de 90% de réactions positives. **ADH**: production d'arginine dihydrolase. **VP**: production d'acétone. **CTR**: dégradation du citrate. **RES**: résistant à la chaleur à 63,5 °C pendant 30 min. **GAZ**: production de gaz « CO<sub>2</sub> » à partir de glucose ».

Selon **Laiche & al (2019)** après Les résultats des tests effectués l'identification des isolats au niveau du genre et de l'espèce a été faite par la comparaison des divers caractères phénotypiques de chaque isolat. Au niveau du genre, les isolats cités précédemment ont été répartis en 4 genres : *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Pediococcus* et *Lactobacillus*.  
pour le genre *lactococcus* trois espèces ont été identifiées dans ce genre :

L'isolat nommé **S2** a été identifiée probablement *Lactococcus lactis subsp. lactis* sur la base des caractères suivants : ADH +, Actéoïne-, Homofermentaire, incapable de se développer à 4% de NaCl. Fermente les sucres suivants (mannose, glucose, mélibiose, arabinose et lactose).

L'isolat **S4** appartient à l'espèce *Lactococcus lactis subsp. cremoris* puisque il présente des ressemblances dans les caractéristiques avec l'espèce précédente : Acétoïne + et incapable de dégrader l'arginine et de tolérer jusqu'à 4% de concentration de NaCl, se développe rapidement dans le pH varie de 6.5 à 7.8 et Fermente différemment certains sucres comme (glucose, mannitol, inositol, sorbitol, rhamnose, saccharose, mélibiose, lactose, amygdalin, arabinose).

L'isolat **S6** caractérisé par les critères suivants : ADH<sup>-</sup>, Acétoïne<sup>-</sup>, capable de se cultiver à un pH 8 et de tolérer 4% de NaCl, donc a été attribué comme *lactococcus sp.*

Pour les isolats du genre *pediococcus* seulement un seul isolat nommé **S5** a été identifié au niveau de l'espèce, Ce isolat appartient à l'espèce *Pediococcus acidilactici* selon ces critères : ADH+, Actoïne +, capable de fermenter les sucres suivants (glucose, mannitol, inositol, sorbitol, rhamnose, saccharose, mélibiose, amygdalin, arabinose), se développe à un pH varie de 4.2 à 8 et capable de tolérer jusqu'à 6.5% de concentration de NaCL.

Parmi les deux isolats appartenant au genre *Streptococcus* nommés (**S7**, **S8**), seulement l'isolat **S8** a été rattaché à l'espèce *Streptococcus thermophilus*. L'isolat **S8**, la souche hétérofermentaire ne dégrade pas l'arginine et ne produise pas l'acétoïne, se développe rapidement à

un pH 6.5 et capable de fermenter les sucres suivants (glucose, mannitol, rhamnose, saccharose, mélibiose, arabinose).

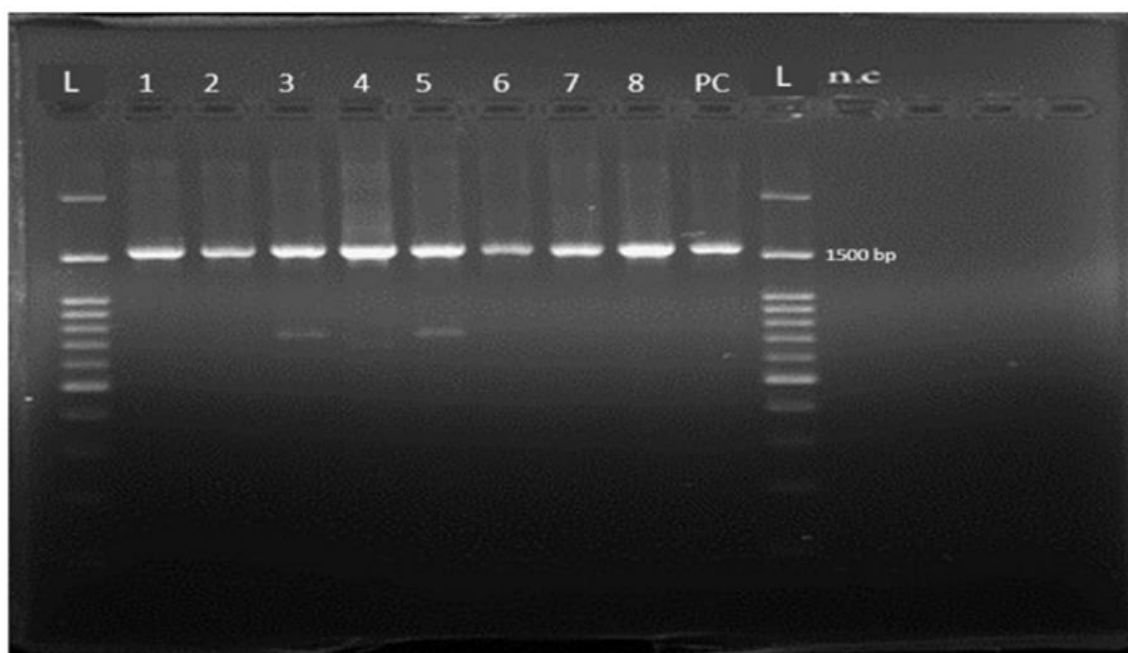
Une seule espèce a été identifiée dans le genre *Lactobacillus*, cette espèce nommée *Lactobacillus amylophilus* codée (S9) se caractérise par la fermentation de plusieurs sucres (glucose, mannitol, sorbitol, rhamnose, saccharose, mélibiose, amygdalin, arabinose) et la résistance à 4% de concentration de NaCl, ne produit pas l'acétoïne et ne dégrade pas l'arginine.

Au total, 32 isolats ont été choisis au hasard parmi 14 échantillons collectés par **Edalati & al (2018)**, Après examen phénotypique, les isolats ont été classés en trois groupes de genres *Lactobacilles*, *Leuconostoc* et *Weissella*.

## II. Identification génotypique des isolats

Les isolats lactiques isolées par **Rahmeh & al., (2019)** et **Edalati & al.,(2018)** ont été identifiés par séquençage direct de l'ARNr 16S amplifié par PCR.

Concernant les souches isolées par **Edalati & al., (2018)** , les résultats des gènes qui ont été amplifiés sont représentés dans la figure 06



**Figure 06:** Amplification par PCR des séquences d'ARNr 16S utilisées dans cette étude par des amorces universelles.

NC: contrôle négatif ; PC: contrôle positif.

### Partie III

Des isolats représentatifs de chaque profil ou chaque bande ont été examinés pour leurs séquences d'ARNr 16S (**Edalati & al., 2018**).

Après séquençage, ils ont obtenus les résultats suivants avec leur pourcentage d'homologie (97 à 100% d'homologie), l'ordre d'apparition des bandes est comme suit :

- ♣ le profil 1 appartenait à la souche CAU1131 de *Leuconostoc mesenteroides* (numéro d'accession MH734173),
- ♣ le profil 2 appartenait à la souche JCM11043 de *Leuconostoc mesenteroides* (numéro d'accession MH734174),
- ♣ le profil 3 appartenait à *Lactobacillus plantarum* (numéro d'acquisition MH734175),
- ♣ le profil 4 appartenait à la souche HYM110 de *Weissella paramesenteroides* (numéro d'accession MH734176),
- ♣ le profil 5 appartenait à la souche LAB12 de *Lactobacillus plantarum* (numéro d'accession MH734177),
- ♣ le profil 6 appartenait à la souche *Weissella paramesenteroides* HYM110 (numéro d'accession MH734178),
- ♣ le profil 7 de la souche CAU2522 de *Lactobacillus plantarum* (numéro d'accession MH734179).
- ♣ le profil 8 appartenait à la souche JS-7-1 de *Weissella confuse* (numéro d'accession MH734180).

Selon **Rahmeh & al., ( 2019)**, l'identification au niveau du genre et de l'espèce a été faite par la comparaison des séquences trouvées avec les séquences de l'ARNr 16S déposées dans les bases de données RDP-II et NCBI.

Les résultats des isolats testés sont mentionnés dans le tableau 14.

## Résultats et discussion

### Partie III

**Tableau 14:** Isolats identifiés par séquençage d'ARNr 16S (Rahmeh et al., 2019).

Isolats	Espèces	Identité %	Isolats	Espèces	Identité %
CM1	<i>Lactobacillus salivarius</i>	99.9	CM32	<i>Lactobacillus reuteri</i>	99.9
CM2	<i>Lactococcus garvieae</i>	99.9	CM33	<i>Leuconostoc pseudomesenteroides</i>	100.0
CM3	<i>Enterococcus faecium</i>	99.9	CM34	<i>Weissella</i> sp. t4r2c13	99.9
CM4	<i>Lactobacillus reuteri</i>	99.9	CM35	<i>Lactococcus lactis</i>	99.9
CM5	<i>Pediococcus acidilactici</i>	99.7	CM36	<i>Lactococcus lactis</i>	99.9
CM6	<i>Lactococcus lactis</i>	99.9	CM37	<i>Weissella confusa</i>	99.9
CM7	<i>Lactobacillus reuteri</i>	99.9	CM38	<i>Lactococcus lactis</i>	99.9
CM8	<i>Pediococcus acidilactici</i>	99.7	CM39	<i>Enterococcus faecium</i>	99.9
CM9	<i>Pediococcus acidilactici</i>	99.7	CM40	<i>Lactococcus lactis</i>	99.9
CM10	<i>Lactobacillus fermentum</i>	99.9	CM41	<i>Streptococcus infantarius</i> subsp. <i>infantarius</i>	99.9
CM11	<i>Weissella</i> sp. t4r2c13	99.9	CM42	<i>Lactobacillus plantarum</i>	99.8
CM12	<i>Pediococcus acidilactici</i>	99.7	CM43	<i>Lactococcus lactis</i>	99.9
CM13	<i>Pediococcus acidilactici</i>	99.7	CM44	<i>Lactococcus lactis</i>	99.9
CM14	<i>Leuconostoc pseudomesenteroides</i>	100.0	CM45	<i>Weissella confusa</i>	99.9
CM15	<i>Pediococcus pentosaceus</i>	100.0	CM46	<i>Lactococcus</i> sp.a	97.8
CM16	<i>Pediococcus pentosaceus</i>	100.0	CM47	<i>Streptococcus</i> subsp. <i>infantarius</i>	99.9
CM17	<i>Pediococcus pentosaceus</i>	99.0	CM48	<i>Lactococcus lactis</i>	99.9
CM18	<i>Pediococcus pentosaceus</i>	99.0	CM49	<i>Leuconostoc pseudomesenteroides</i>	100.0
CM19	<i>Lactobacillus</i> sp.a	98.0	CM50	<i>Lactococcus lactis</i>	98.9
CM20	<i>Pediococcus</i> sp.a	98.0	CM51	<i>Leuconostoc pseudomesenteroides</i>	100.0
CM21	<i>Enterococcus durans</i>	99.0	CM53	<i>Enterococcus faecium</i>	99.9
CM22	<i>Lactobacillus brevis</i>	99.9	CM54	<i>Enterococcus faecium</i>	99.9
CM23	<i>Pediococcus pentosaceus</i>	100.0	CM55	<i>Enterococcus</i> sp.a	98.3
CM26	<i>Enterococcus faecium</i>	99.9	CM56	<i>Enterococcus faecium</i>	99.9
CM27	<i>Weissella confusa</i>	99.9	CM57	<i>Enterococcus faecium</i>	99.9
CM28	<i>Weissella confusa</i>	99.9	CM58	<i>Enterococcus faecium</i>	99.9
CM29	<i>Enterococcus gallinarum</i>	99.5	CM59	<i>Enterococcus faecium</i>	99.9
CM30	<i>Pediococcus acidilactici</i>	99.7	CM60	<i>Enterococcus faecium</i>	99.9
CM31	<i>Lactococcus lactis</i>	99.9	CM61	<i>Enterococcus</i> sp.a	97.9

Parmi les 58 isolats qui ont été identifiés seulement 7 genres suivants ont été déterminés : *Enterococcus*, *Lactococcus*, *Pediococcus*, *Lactobacillus*, *Weissella*, *Leuconostoc* et *Streptococcus*.

### III. Répartition des souches obtenues dans chaque échantillon

Les résultats de l'identification et répartition des souches isolées selon l'ordre de dominance sont illustrés dans le tableau 15.

## Résultats et discussion

### Partie III

**Tableau 15:** Identification et répartition des souches isolées (Laiche et al., 2019 ; Edalati et al., 2018; Rahmeh et al.,2019).

Echantillons	Genres identifiés	Espèces identifiées	Références
Lait de chamelle collecté de la région El –Oued (Algérie)	<i>Lactococcus</i> (33.34%)	- <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>Lactis</i> . - <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>Cremoris</i> . - <i>Lactococcus</i> sp.	(Laiche & al., 2019)
	<i>Pediococcus</i> (33.34%)	- <i>Pediococcus acidilactici</i> . - <i>Pediococcus</i> sp.	
	<i>Streptococcus</i> (2.22%)	- <i>Streptococcus thermophilus</i> . - <i>Streptococcus</i> sp.	
	<i>Lactobacillus</i> (11.11%)	- <i>Lactobacillus amylophilus</i>	
Lait de chamelle collecté de la région kerma (Iran)	<i>Leuconostoc</i>	- <i>Leuconostoc mesenteroides</i>	(Edalati & al.,2018)
	<i>Lactobacillus</i>	- <i>Lactobacillus plantarum</i>	
	<i>Weissella</i>	- <i>Weissella paramesenteroides</i> - <i>Weissella confusa</i>	
Lait de chamelle Collecté des deux région Al-wafra et kabad (Kuwait)	<i>Enterococcus</i> (24,2%)	- <i>Enterococcus faecium</i> (20,7%). - <i>Enterococcus durans</i> . - <i>Enterococcus gallinarum</i>	(Rahmeh & al., 2019)
	<i>Lactococcus</i> (22,4%)	- <i>Lactococcus garvieae</i> . - <i>Lactococcus</i> sp. - <i>Lactococcus lactis</i> (17,2%) .	
	<i>Pediococcus</i> (20,7%)	- <i>Pediococcus acidilactici</i> (10,3%) - <i>Pediococcus pentosaceus</i> (9,8%) . - <i>Pediococcus</i> sp.	
	<i>Weissella</i> (10,3 %)	- <i>Lactobacillus salivarius</i> - <i>Lactobacillus reuteri</i> (5,2%) . - <i>Lactobacillus fermentum</i> . - <i>Lactobacillus</i> sp. - <i>Lactobacillus brevis</i> . - <i>Lactobacillus plantarum</i> .	
	<i>Leuconostoc</i> (6,9%)	- <i>Weissella</i> sp. - <i>Weissella confusa</i> (6,9%) .	
	<i>Lactobacillus</i> (12%)	- <i>Leuconostoc pseudomesenteroides</i> (6,9%).	
	<i>Streptococcus</i> (3,5%)	- <i>Streptococcus infantarius</i> subsp. <i>Infantarius</i> .	

### Partie III

Il apparait d'après les résultats obtenus que les échantillons du lait de chamelle qui ont été analysés sont très riches par les bactéries lactiques.

L'identification des souches lactiques isolées du lait de chamelle Algérien par **(Laiche & al 2019)** a montré la dominance des genres *lactococcus* (33.34%) et *Pediococcus* (33.34%), viennent ensuite les genres *streptococcus* (2.22%) et *lactobacillus* (11.11%).

Par contre les résultats obtenus à partir des échantillons du lait de Kuwait sont prédominés par le genre *Enterococcus* représentés par trois espèces soit environ (24,2%), suivis par le genre *lactococcus* représentés par trois souches aussi soit 22,4% puis les *Pediococcus* (20,7%), les *Lactobacillus* avec un nombre de 6 souches soit (12%). ensuite les genres *Weissella* (10,3 %), *Leuconostoc* (6,9%) et *streptococcus* (3,5%).

Selon **Rahmeh & al., (2019)**, le lait de chamelle est généralement dominé par le genre *Enterococcus* en raison de la forte teneur en sel par rapport aux autres animaux laitiers. Ce genre peut survivre à des conditions défavorables, y compris des environnements à haute température et à haute salinité.

Par ailleurs, **(Edalati & al., 2018)** ont constaté la prédominance du genre *leuconostoc*, puis les genres *lactobacillus* et *weissella*.

D'après les résultats qui ont été trouvés nous constatons qu'il existe une grande diversité des souches lactique entre les trois échantillons qui ont été étudiés.

La différence de la diversité et la répartition des souches isolées peut être probablement due à la différence dans la qualité du lait, emplacement géographique (les régions d'isolement) des échantillons analysés, la différence dans la période d'isolement et les techniques d'identification, les milieux utilisés et les conditions de cultures.

#### IV. Activité antimicrobienne des isolats BL

Les résultats de diamètres des zones d'inhibition de l'activité antimicrobienne des souches lactiques isolées par **Rahmeh & al., ( 2019)** et testées envers les souches indicatrices d'origine alimentaire et les agents étiologiques provoquant des maladies animales sont représentés dans le tableau 16.

## Résultats et discussion

### Partie III

**Tableau 16:** Activité antimicrobienne des isolats (Rahmeh et al., 2019).

		Antimicrobial activity (IZD) <sup>a</sup>							
Bacteria		<i>S. enterica</i> <sup>b</sup>	<i>E. coli</i> <sup>c</sup>	<i>St. aureus</i> <sup>d</sup>	<i>St. epidermidis</i> <sup>e</sup>	L			<i>P. aeruginosa</i> <sup>f</sup>
						<i>monocytogenes</i> <sup>f</sup>	<i>MDR-S. enterica</i> <sup>g</sup>	<i>Sh. flexneri</i> <sup>h</sup>	
CM1	<i>Lactobacillus salivarius</i>	35.0 ± 0.0	28.7 ± 1.5	28.0 ± 0.0	21.0 ± 1.0	28.0 ± 0.0	32.7 ± 0.6	16.0 ± 0.0	—
CM2	<i>Lactococcus garvieae</i>	30.0 ± 0.0	12.0 ± 0.0	8.0 ± 0.0	6.0 ± 0.0	12.0 ± 0.0	19.0 ± 1.0	6.0 ± 0.0	—
CM3	<i>Enterococcus faecium</i>	35.0 ± 1.0	35.0 ± 0.0	34.7 ± 0.6	20.0 ± 0.0	33.6 ± 1.5	27.0 ± 0.0	16.0 ± 0.0	—
CM4	<i>Lactobacillus reuteri</i>	33.0 ± 1.7	30.0 ± 0.0	46.0 ± 0.0	14.3 ± 0.6	33.0 ± 1.0	33.7 ± 2.5	20.0 ± 0.0	—
CM5	<i>Pediococcus acidilactici</i>	28.3 ± 1.5	34.7 ± 2.0	35.0 ± 0.0	27.0 ± 1.0	34.7 ± 2.0	27.0 ± 0.0	15.3 ± 1.5	—
CM6	<i>Lactococcus lactis</i>	31.0 ± 1.0	25.0 ± 0.0	15.0 ± 0.0	17.3 ± 1.5	27.6 ± 1.5	25.0 ± 1.0	12.3 ± 2.5	—
CM7	<i>Lactobacillus reuteri</i>	34.0 ± 1.0	21.7 ± 3.0	13.0 ± 1.0	14.0 ± 1.0	18.0 ± 0.0	18.0 ± 2.6	9.3 ± 1.5	—
CM8	<i>Pediococcus acidilactici</i>	34.7 ± 2.5	25.0 ± 1.0	20.0 ± 0.0	19.7 ± 0.6	23.0 ± 1.0	28.0 ± 0.0	13.0 ± 2.0	—
CM9	<i>Pediococcus acidilactici</i>	35.0 ± 1.0	34.7 ± 2.0	8.0 ± 0.0	35.0 ± 0.0	35.0 ± 1.0	34.0 ± 1.7	15.0 ± 0.0	—
CM10	<i>Lactobacillus fermentum</i>	35.0 ± 1.0	33.0 ± 1.7	33.3 ± 2.5	28.0 ± 0.0	28.0 ± 0.0	—	16.0 ± 0.0	—
CM11	<i>Weissella</i> sp. T4R2C13	35.0 ± 2.6	35.0 ± 1.0	33.0 ± 2.0	23.0 ± 2.0	34.0 ± 1.0	34.3 ± 1.5	20.0 ± 0.0	—
CM12	<i>Pediococcus acidilactici</i>	35.0 ± 2.0	22.0 ± 1.0	20.0 ± 0.0	18.0 ± 0.0	22.0 ± 0.0	29.3 ± 2.5	15.0 ± 0.0	—
CM13	<i>Pediococcus acidilactici</i>	18.0 ± 1.0	35.0 ± 2.0	34.3 ± 2.0	23.7 ± 2.5	34.0 ± 0.0	16.3 ± 2.5	8.0 ± 0.0	—
CM14	<i>Leuconostoc pseudomesenteroides</i>	30.0 ± 0.0	32.0 ± 2.0	15.0 ± 1.0	14.0 ± 2.0	25.0 ± 1.0	20.0 ± 0.0	—	—
CM15	<i>Pediococcus pentosaceus</i>	26.0 ± 0.0	22.0 ± 0.0	23.0 ± 0.0	15.0 ± 0.0	22.0 ± 0.0	27.0 ± 2.0	16.0 ± 0.0	—
CM16	<i>Pediococcus pentosaceus</i>	27.0 ± 2.0	23.0 ± 2.0	22.0 ± 0.0	14.0 ± 0.0	24.3 ± 1.5	28.0 ± 0.0	19.0 ± 2.0	—
CM17	<i>Pediococcus pentosaceus</i>	34.7 ± 2.5	22.0 ± 0.0	29.0 ± 1.0	15.0 ± 1.0	22.0 ± 0.0	28.0 ± 0.0	15.0 ± 0.0	—
CM18	<i>Pediococcus pentosaceus</i>	31.0 ± 1.0	25.0 ± 0.0	22.3 ± 2.5	16.0 ± 1.0	25.7 ± 3.0	28.0 ± 0.0	18.0 ± 2.0	—
CM19	<i>Lactobacillus</i> sp.	14.0 ± 0.0	25.0 ± 0.0	28.0 ± 1.0	28.7 ± 3.0	29.0 ± 2.0	30.0 ± 2.0	16.0 ± 1.0	—
CM20	<i>Pediococcus</i> sp.	31.0 ± 1.0	—	35.0 ± 0.0	34.7 ± 0.6	35.0 ± 3.0	30.0 ± 0.0	—	—
CM21	<i>Enterococcus durans</i>	12.0 ± 0.0	29.0 ± 2.0	27.0 ± 2.0	17.0 ± 1.0	35.0 ± 1.0	—	15.0 ± 0.0	—
CM22	<i>Lactobacillus brevis</i>	30.0 ± 0.0	17.0 ± 2.6	18.0 ± 0.0	8.0 ± 0.0	22.0 ± 0.0	23.0 ± 2.0	24.0 ± 0.0	—
CM23	<i>Pediococcus pentosaceus</i>	35.0 ± 0.0	22.0 ± 1.0	25.0 ± 0	13.0 ± 1.0	28.0 ± 0.0	34.0 ± 2.0	27.0 ± 1.0	—
CM27	<i>Weissella confusa</i>	26.0 ± 0.0	18.0 ± 0.0	25.0 ± 2.0	9.0 ± 1.0	19.7 ± 1.5	24.0 ± 1.0	23.0 ± 1.0	32.0 ± 0.0
CM41	<i>Streptococcus infantarius</i>	17.0 ± 0.0	11.0 ± 0.0	16.5 ± 0.5	9.0 ± 1.0	14.0 ± 2.0	18.0 ± 1.0	14.0 ± 0.0	16.0 ± 1.0
CM42	<i>Lactobacillus plantarum</i>	29.0 ± 1.0	24.0 ± 1.0	20.0 ± 0.0	17.0 ± 2.0	21.0 ± 1.0	27.0 ± 1.0	25.0 ± 0.0	32.0 ± 0.0
CM47	<i>Streptococcus infantarius</i>	19.3 ± 0.6	13.0 ± 0.0	14.0 ± 0.0	8.0 ± 1.0	15.0 ± 1.0	19.0 ± 1.0	15.0 ± 1.0	31.0 ± 1.0
CM57	<i>Weissella confusa</i>	25.0 ± 1.0	15.0 ± 0.0	17.0 ± 1.0	14.0 ± 1.0	17.0 ± 0.0	24.0 ± 2.0	20.0 ± 0.0	23.0 ± 1.0

D'après les résultats du tableau 16 qui représente les diamètres d'inhibition exprimées en (mm) pour chaque souche lactique vis-à-vis souche indicatrice, nous constatons que presque toutes les souches lactiques testées présentent une bonne activité contre les germes indicatrice utilisés à l'exception de *Pseudomonas aeruginosa*, d'où l'apparition des zones d'inhibition d'un diamètre compris entre 6 à 46 mm.

Ils ont trouvé que *Lactobacillus reuteri* (CM4) présente l'activité inhibitrice la plus forte, Elle est dirigée contre *staphylococcus aureus* avec une moyenne d'activité la plus marquante de 46 mm, et il a été noté que tous les souches sont actives contre *Salmonella enterica*, avec un spectre d'action varie entre 12 et 35 mm, *Staphylococcus epidermidis* (l'intervalle d'inhibition varie entre 6 et 35 mm), *Staphylococcus aureus* ( 8 et 46 mm) et aussi pour *Listeria monocytogenes* spectre d'action varie entre 12 et 35 mm, seule les souches (CM27 , CM41, CM42, CM47 et CM57) sont actives contre *Pseudomonas auroginosa*, avec

## Résultats et discussion

### Partie III

un diamètre d'inhibition varie entre 16 et 32 mm. Cependant une absence d'inhibition est remarquée avec quelques souches lactiques (CM20 contre *E.coli*, CM10 et CM21 contre *Salmonella enterica multirésistante* et CM14, CM21 contre *Shigella flexneri* ).

Les résultats démontrent que l'activité antimicrobienne des bactéries lactiques contre les agents pathogènes dépend des espèces et des souches. L'activité antimicrobienne des souches lactiques est principalement due à la production d'un ou plusieurs métabolites actifs au cours de leur croissance tels que les acides organiques, le peroxyde d'hydrogène et les bactériocines. (Rahmeh & al., 2019).

L'activité antimicrobienne des souches isolées par (Edalati & al., 2018) a été déterminée seulement par la présence ou l'absence des zones d'inhibition, Le mesure des diamètres des zones d'inhibition n'a pas été effectuée. Les résultats sont illustrés dans le tableau 17.

**Tableau 17:** L'activité inhibitrice des isolats testées (Edalati et al., 2018).

Isolats	<i>Staphylococcus aureus</i> subsp. <i>aureus</i> PTCC 1431	<i>Escherichia coli</i> O157 H7
1) <i>Leuconostoc mesenteroides</i> « souche CAU1131 »	+	+
2) <i>Leuconostoc mesenteroides</i> « souche JCM11043 »	+	-
3) <i>Lactobacillus plantarum</i>	+	+
4) <i>Weissella paramesenteroides</i> « souche HYM110 »	+	-
5) <i>Lactobacillus plantarum</i> « souche LAB12 »	+	-
6) <i>Weissella paramesenteroides</i> « souche HYM110 »	+	-
7) <i>Lactobacillus plantarum</i> « souche CAU2522 »	+	+
8) <i>Weissella confuse</i> « souche JS-7-1 »	-	-

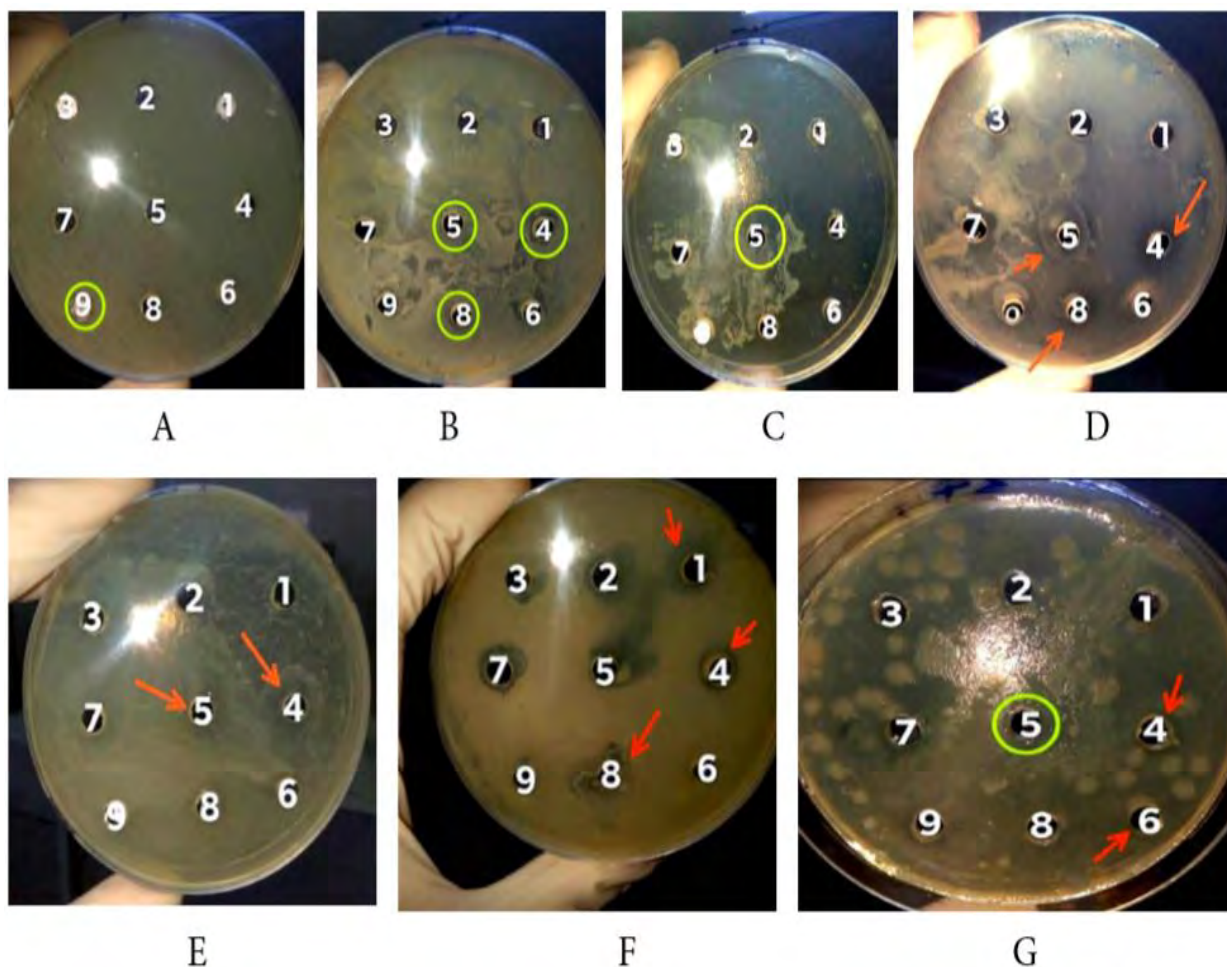
« + : Réaction positif ; - : Réaction négatif ».

Les résultats montrent que la plupart des isolats testés ont un effet inhibiteur sur *staphylococcus aureus* PTCC 1431, alors que seulement quelques-uns (*Leuconostoc mesenteroides* strain CAU 1131, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus mesenteroides* strain CAU 2522) ont un effet inhibiteur sur *E. coli* ATCC 25922.

## Résultats et discussion

### Partie III

Les résultats de l'activité antimicrobienne des souches isolées par **Laiche & al., (2019)** sont représentés dans la figure suivante (figure 07) :



**Figure 07:** Activité antimicrobienne des isolats vis-à-vis

**A:** *Listeria innocua clip*, **B:** *Pseudomonas aeruginosa*, **C:** *Klebsiella pneumoniae*,  
**D:** *Echerichia coli*, **E:** *Salmonella*, **F:** *Bacillus cereus*, **G:** *Staphylococcus aureus* .

D'après les résultats obtenus, **Laiche & al., (2019)** ont observé que toutes les souches n'ont pas le même spectre d'action contre les bactéries pathogènes, La majorité des souches sont actives sur les bactéries gram-positives mais pas toutes sur les bactéries gram négatives. Et ont trouvé que tous les isolats possèdent une activité antibactérienne important envers *Staphylococcus aureus* et *Bacillus*, dont l'intervalle des diamètres des zones d'inhibition différents. Cependant une absence d'inhibition a été remarquée pour quelques souches lactiques testées vis-à-vis les bactéries gram négative. La plus forte activité antibactérienne a été observée chez la souche nommée **S5** (*Pediococcus acidilactici*) contre les bactéries pathogènes.

### Partie III

Les souches nommées **S4**, **S5** et **S8** ont un large spectre d'activité contre toutes les souches indicatrices utilisées, ces souches appartiennent aux genres *streptococcus*, *lactococcus* et *pediococcus*.

D'après les trois résultats, *Staphylococcus aureus* est la plus sensible à l'action des bactéries lactiques.

Les bactéries Gram+ sont généralement plus sensibles à l'effet bactéricide des bactéries lactiques, elles agissent généralement au niveau de la membrane plasmique des cellules cibles.

Les résultats indiquent que la majorité des souches testées présentent une activité inhibitrice, plus ou moins prononcée. Ces résultats indiquent que les souches lactiques sont capables de synthétiser des substances inhibitrices ayant une activité antibactérienne

Les résultats de la comparaison des méthodes était similaire avec les résultats obtenus par **Cadirci & al., 2005**, qui ont étudié l'antagonisme du BL contre les bactéries à Gram négatif et à Gram positif avec deux méthodes, le test Spot-on-the-lawn et le test de diffusion sur disque, et ont conclu que la méthode spot-on-the-lawn était la meilleure pour évaluer l'effet inhibiteur du BL (**Cadirci & al., 2005**).

ces méthodes qui sont basés sur la diffusion des substances antimicrobiennes dans les milieux de culture et montrent l'activité inhibitrice contre les souches indicatrices par la détection d'un halo d'inhibition autour des souches testées, tous les méthodes ont montré l'antagonisme entre les bactéries mais les données obtenues à partir de celles-ci étaient différentes et cette différence était statistiquement significative, Cela pourrait être dû à une grande précision et à un volume élevé de surnageant utilisé dans la méthode, à la production de plusieurs agents antibactériens « des substances inhibitrices ».

La plus grande inhibition (8 mm) a été observée pour la souche *Lac. lactis subsp. cremoris* (**S4**) contre *Staphylococcus aureus*, tandis que le plus petit avec un diamètre de (2 mm) est observé pour la souche *Lactococcus sp* (**S6**).

On peut dire que la bactérie indicatrice *Staphylococcus aureus* est plus sensible à la bactériocine de *Lactobacterium. lactis subsp. cremoris*.

Alors que la plus petite zone est avec un diamètre de (1 mm) observé pour la souche de bactériocine *Streptococcus thermophilus* (**S8**) contre *Listeria innocua clip*.

### Partie III

D'après ces résultats, la majorité des souches présentent une activité inhibitrice, plus ou moins prononcée, sur toutes les bactéries pathogènes. Ces résultats indiquent que nos bactéries lactiques sont capables de synthétiser des substances inhibitrices ayant une activité antibactérienne.

**Conclusion**  
**et**  
**Perspectives**

Le présent travail a été consacré à l'identification phénotypique et génétique par séquençage de l'ARNr 16S des souches lactiques isolées de lait de chamelle. Par la suite, tester le pouvoir antagoniste de ces souches lactique envers les microorganismes pathogènes qui sont impliqués dans les toxi-infections ou les intoxications alimentaires appartiennent aux espèces suivantes : *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Shigella Flexneri*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella enterica*, *Salmonella sp*, *Bacillus cereus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Listeria innocua clip*.

Par le biais des méthodes d'identification, il apparait que la microflore lactique du lait de chamelle de sud-est algérien est constituée de genres: *Lactococcus Et Pediococcus*, *Lactobacillus* et *Streptococcus*. Ces mêmes genres ont été isolés, plus les genres Suivants *Leuconostoc*, *Weissella*, *Enterococcus*, par l'étude de **Rahmeh & al., 2019**, et les trois genres suivants : *Leuconostoc*, *Weissella* et *Lactobacillus* pour **Edalati & al., 2018**.

Le test de l'antagonisme a montré l'effet inhibiteur de souches lactiques vis à vis des souches cibles. Ils ont montré que la plupart des souches lactiques étaient productrices d'agents inhibiteurs contre les germes pathogènes, dont l'intervalle des diamètres des zones d'inhibition différents.

En conclusion, les résultats obtenus de cette étude recommandent le lait de chamelle comme source d'isolement des souches BL potentiellement probiotiques qui peuvent avoir des propriétés antagonistes contre les bactéries pathogènes.

A la lumière de ces résultats, des travaux complémentaires doivent être réalisés ultérieurement pour les confirmer et les améliorer. Il est nécessaire donc de:

- ♣ Etudier l'intérêt technologique des souches pour transformer le lait de chamelle en une variété de produits.
- ♣ Il serait intéressant de tester la résistance des BL aux antibiotiques et au bactériophage.
- ♣ Il serait intéressant de faire une caractérisation et une purification des substances inhibitrices produites par les souches.
- ♣ Purification de la bactériocine par méthodes chromatographiques telles que HPLC, FPLC.
- ♣ Caractérisation des gènes impliqués dans la production de bactériocine.

# **Références Bibliographiques**

## Références Bibliographiques

**A**bbas, S., Ashraf, H., Nazir, D. A., & Sarfraz, D. L. (2013). Physico-chemical analysis and composition of camel milk. *International Research Journal*, 2, 83-98.

-Agrawal R.P., Swami S.C., Beniwal R., Kochar D.K., Sahani M.S., Tuteja F.C., & Ghouri S.K. (2003).effect of camel milk on glyceimic control, risk factors and diabetes quality of life in type-1 diabetes: a randomised prospective controlled study. *J. Camel Res. Pract.*, 6, 01-02.

-Ahmad, V., Khan, M. S., Jamal, Q. M. S., Alzohairy, M. A., Al Karaawi, M. A., & Siddiqui, M. U. (2017). Antimicrobial potential of bacteriocins: in therapy, agriculture and food preservation. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 49(1), 1-11.

-Akli Ayoub, M., Rasheed Palakkott, A., Ashraf, A., & Iratni, R. (2018). The molecular basis of the anti-diabetic properties of camel milk. *Diabetes Research and Clinical Practice*.

-El Agamy, E. S. I., Ruppanner, R., Ismail, A., Champagne, C. P., & Assaf, R. (1992). Antibacterial and antiviral activity of camel milk protective proteins. *Journal of Dairy Research*, 59(02), 169.

-Al Atya, A., Kh. (2016). Recherche et caractérisation de nouveaux peptides antimicrobiens à partir de bactéries lactiques isolées de méconium. Thèse de Doctorat, Spécialité :Ingénierie des fonctions biologiques. Université de Lille, France, 1, 12-14.

-Al haj Omar A., & Al Kanhal, H. A. (2010). Compositional technological and nutritional aspects of dromedary camel milk. *International Dairy Journal*, 20(12), 811-821.

-Ammor S., Tauveron G., Dufour E. and Chevallier 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 the antibacterial compounds. *Food Control*. Vol. 17, 454-461.

-Arbulu, S., Jiménez, J. J., Gútiez, L., Feito, J., Cintas, L. M., Herranz, C., & Hernández, P. E. (2019). Cloning and expression of synthetic genes encoding native, hybrid- and bacteriocin-derived chimeras from mature class IIa bacteriocins, by *Pichia pastoris* (syn. *Komagataella* spp.). *Food Research International*.

## Références Bibliographiques

- B** Balciunas, E. M., Castillo Martinez, F. A., Todorov, S. D., Franco, B. D. G. de M., Converti, A., & Oliveira, R. P. de S. (2013). Novel biotechnological applications of bacteriocins: A review. *Food Control*, 32(1), 134-142.
- Belyagoubi , L.( 2014). Antibiotiques produits par des bactéries (actinomycètes et bactéries lactiques) issus de différents écosystèmes naturels Algériens. Thèse de Doctorat en Biologie. Université AboubakrBelkaïd, Tlemcen, Algérie. 170p.
- Ben Aissa, R. (1989). Le dromadaire en Algérie. In : Tisserand J.-L. (ed.). Séminaire sur la digestion, la nutrition et l'alimentation du dromadaire. Zaragoza : CIHEAM, 19-28.
- Benkerroum, N., Mekkaoui, M., Bennani, N., & Hidane, K. (2004). Antimicrobial activity of camel's milk against pathogenic strains of *Escherichia coli* and *Listeria monocytogenes*. *International Journal of Dairy Technology*, 57(1), 39-43.
- Björkroth, J., & Koort, J. (2011). lactic acid bacteria | Taxonomy and Biodiversity. *Encyclopedia of Dairy Sciences*, 45-48.
- Boussouar, N. (2016). Caractérisation technologique et sanitaire des enterocoques isolés à partir de lait de chamelle du sud-ouest algérien. Thèse de Doctorat en Biologie Moléculaire et Cellulaire. Université aboubekr belkaïd, Tlemcen, Algérie.
- Byczkowski, J. Z., & Gessner, T. (1988). Biological role of superoxide ion-radical. *International Journal of Biochemistry*, 20(6), 569-580.
- C** Cálix-Lara, T. F., Rajendran, M., Talcott, S. T., Smith, S. B., Miller, R. K., Castillo, A., Taylor, T. M. (2014). Inhibition of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella enterica* on spinach and identification of antimicrobial substances produced by a commercial Lactic Acid Bacteria food safety intervention. *Food Microbiology*, 38, 192-194 .
- Castellano, P., Belfiore, C., Fadda, S., & Vignolo, G. (2008). A review of bacteriocinogenic lactic acid bacteria used as bioprotective cultures in fresh meat produced in Argentina. *Meat Science*, 79(3), 483-499.
- Chen H., Hoover D.G. (2003). Bacteriocins and their Food Applications. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2(3), 82-9 .
- Cotter, P. D., Ross, R. P., & Hill, C. (2012). Bacteriocins a viable alternative to antibiotics *Nature Reviews Microbiology*, 11(2), 95-105.

## Références Bibliographiques

**E** Edalati, E., Saneei, B., Alizadeh, M., Hosseini, S. S., bialvaei, A. Z., & Taheri, K. (2018). Isolation of probiotic bacteria from raw camel milk and their antagonistic effects on two bacteria causing food poisoning. *New Microbes and New Infections*.

**F** FAO. (2003). Lait de chamelle pour l'Afrique, Atelier sur la filière laitière caméline en Afrique Niamey, Rome, 13p. Document accessible en ligne sur : <http://www.fao.org/3/a-aj038f.pdf>.

-Farah, Z. (1993). Composition and characteristics of camel milk. *Journal of Dairy Research*, 60(04), 603.

-Farber, J. M. (1991). Microbiological Aspects of Modified-Atmosphere Packaging Technology - A Review. *Journal of Food Protection*, 54(1), 58-70.

-Felfoul, I., Jardin, J., Gaucheron, F., Attia, H., & Ayadi, M. A. (2017). Proteomic profiling of camel and cow milk proteins under heat treatment. *Food Chemistry*, 216: 161-169.

-Foulquié-Moreno M.R., Sarantinopoulos P., Tsakalidou E. and De Vuyst L. (2006). The role and application of enterococci in food and health. *International Journal of Food Microbiology*, 106 : 1-24.

**G** Galvez, A., Abriouel, H., Lopez, R. L., & Ben Omar, N. (2007). Bacteriocin-based strategies for food 369 biopreservation. *International Journal of Food Microbiology*, 120(1-2), 51-70.

-Gammoh, S., Alu'datt, M. H., Tranchant, C. C., Al-U'datt, D. G., Alhamad, M. N., Rababah, T., ... Banat, H. (2020). Modification of the functional and bioactive properties of camel milk casein and whey proteins by ultrasonication and fermentation with *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis*. *LWT*, 109501.

-García, P., Rodríguez, L., Rodríguez, A., & Martínez, B. (2010). Food biopreservation: promising strategies using bacteriocins, bacteriophages and endolysins. *Trends in Food Science & Technology*, 21(8), 373-382.

-Ghazi, F., Benmechernene, Z., Aggad, H., Gessas, B., Boudjamaa, M.B., Henni, D.E., Kihal, M. (2006). Phenotypic Identification and Whole Cell Protein Analysis by SDS – Page of dominants lactic acid bacteria isolated from Algerian raw milk. *Journal Algérien des régions arides* N°06, p.11-22.

## Références Bibliographiques

-Gonzalez A., Larroy C., Biosca J.A. and Ariño J. (2008). Use of the TRP1 auxotrophic marker for gene disruption and phenotypic analysis in yeast : a note of warning. FEMS Yeast Res, 8 (1), 2- 5.

**H** Hayouni, E. A., Bouix, M., Abedrabba, M., Leveau, J.-Y., & Hamdi, M. (2008). Mechanism of action of *Melaleuca armillaris* (Sol. Ex Gaertn) Sm. essential oil on six LAB strains as assessed by multiparametric flow cytometry and automated microtiter-based assay. Food Chemistry, 111(3), 707-718.

-Herrerros, M. A., Sandoval, H., González, L., Castro, J. M., Fresno, J. M., & Tornadijo, M. E. (2005). Antimicrobial activity and antibiotic resistance of lactic acid bacteria isolated from Armada cheese (a Spanish goats' milk cheese). Food Microbiology, 22(5), 455-459.

-Holzapfel, W. H., Geisen, R., & Schillinger, U. (1995). Biological preservation of foods with reference to protective cultures, bacteriocins and food-grade enzymes. International Journal of Food Microbiology, 24(3).

-Hotchkiss J.H., Chen J.H. et Lawless H.T. (1999). Combined effects of carbon dioxide addition and barrier films on microbial and sensory changes in pasteurized milk. J. Dairy Sci. 82: 690-695.

**I** Izadi, A., Khedmat, L., & Mojtahedi, S. Y. (2019). Nutritional and therapeutic perspectives of camel milk and its protein hydrolysates: A review on versatile biofunctional properties. Journal of Functional Foods, 60, 103441.

**J** Jabrane, T. (2015). Méthodologies de fabrication de papier bioactif. Thèse du Doctorat en sciences et génie des matériaux lignocellulosiques, Université du Québec, Canada.

-Juturu, V., & Wu, J. C. (2018). Microbial production of bacteriocins: Latest research development and applications. Biotechnology Advances.

**K** Kadri, Z., Amar, M., Ouadghiri, M., Cnockaert, M., Aerts, M., El Farricha, O., & Vandamme, P. (2014). *Streptococcus moroccensis* sp. nov. and *Streptococcus rifensis* sp. nov., isolated from raw camel milk. international journal of systematic and evolutionary microbiology, 64(Pt 7), 2480-2485.

-Karray, N., Lopez, C., Ollivon, M., Attia, H. (2005). La matière grasse du lait de dromadaire: composition, microstructure et polymorphisme. Une revue. OCL 12, 439-446.

## Références Bibliographiques

-**Karue, C.N. (1998).** The dairy characteristics of the Kenyan camel. In: Bonnet, P. (Ed.), Actes du colloque, Dromadaires et chameaux, animaux laitiers/Dromedaries and camels, milking animals. CIRAD Publ., Nouakchott, Mauritania, 55-60.

-**Klein, G., Pack, A., Bonaparte, C., & Reuter, G. (1998).** Taxonomy and physiology of probiotic lactic acid bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, 41(2), 103-125.

-**Kong, S., & Davison, A. J. (1980).** The role of interactions between O<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, OH, e<sup>-</sup> and O<sub>2</sub> in free radical damage to biological systems. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 204(1), 18-29.

-**Konuspayeva, G., Faye, B., & Loiseau, G. (2009).** The composition of camel milk: A meta-analysis of the literature data. *Journal of Food Composition and Analysis*, 22(2), 95-101.

-**Konuspayeva, G., Faye, B., & Loiseau, G.(2004).** The health added value of raw and fermented camel milk : the case of Kazakhstan. In : Onzièmes rencontres autour des recherches sur les ruminants. INRA, Institut de l'élevage. Paris : Institut de l'élevage, 47-50.

-**Konuspayeva, G., Faye, B., & Loiseau, G.(2011).** Variability of vitamin C content in camel milk from Kazakhstan. *Journal of Camelid Science* 4, 63-69.

-**Konuspayeva, G., Faye, B., Loiseau, G., & Levieux, D. (2007).** Lactoferrin and Immunoglobulin Contents in Camel's Milk (*Camelus bactrianus*, *Camelus dromedarius*, and Hybrids) from Kazakhstan. *Journal of Dairy Science*, 90(1), 38-46.

-**Kot, W., Neve, H., Heller, K. J., & Vogensen, F. K. (2014).** Bacteriophages of *Leuconostoc*, *Oenococcus*, and *Weissella*. *Frontiers in Microbiology*, 5.

-**Krivorotova, T., Cirkovas, A., Maciulyte, S., Staneviciene, R., Budriene, S., Serviene, E., & Sereikaite, J. (2016).** Nisin-loaded pectin nanoparticles for food preservation. *Food Hydrocolloids*, 54, 49-56.

-**Kumariya, R., Garsa, A. K., Rajput, Y. S., Sood, S. K., Akhtar, N., & Patel, S. (2019).** Bacteriocins: Classification, synthesis, mechanism of action and resistance development in food spoilage causing bacteria. *Microbial Pathogenesis*.

**L** Laiche, A., Khelef, C., and Daoudi, H. (2019). Study of the Antimicrobial Activity of Bacteriocins Produced by Lactic Bacteria Isolated from Camel Milk in Southern Algeria. *Département de biologie, Faculté des sciences de la nature et de la vie, Université d'El-Oued, El-Oued 39000, Algeria. J Pure Appl Microbiol*, 13 (2): 1285-1292.

## Références Bibliographiques

-Latifa, C., Marivi, C., Touhami, K., Pilar, C.-G., Mohamed, H., Javier, F., & Habib, Y. M. (2020). Impact of management system and lactation stage on fatty acids composition in camel milk. *Journal of Food Composition and Analysis*, 103418.

-Leonard, I. (2013). Applications de la Spectrométrie de Masse, type MALDI TOF à la Bactériologie et à la Distinction de Variants Génétiques. Thèse de Doctorat, Ecole Doctorale, science de la vie et de la santé. Université de Strasbourg, France. P 13-14.

-Lindgren, S. E., & Dobrogosz, W. J. (1990). Antagonistic activities of lactic acid bacteria in food and feed fermentations. *FEMS Microbiology Letters*, 87(1-2), 149-164.

**M** Maitre, M. (2012). Le chaperon Moléculaire Lo18 de *Oenococcus oeni* : Caractérisation de ses activités en lien avec sa plasticité oligomérique. Thèse de doctorat, spécialité : Microbiologie, Université de Bourgogne. P10.

-Mäkelä, P., Schillinger, U., Korkeala, H., & Holzappel, W. H. (1992). Classification ofropy slime-producing lactic acid bacteria based on DNA-DNA homology, and identification of *Lactobacillus sake* and *Leuconostoc amelibiosum* as dominant spoilage organisms in meat products. *International Journal of Food Microbiology*, 16(2), 167-172.

-Maqsood, S., Al-Dowaila, A., Mudgil, P., Kamal, H., Jobe, B., & Hassan, H. M. (2019). Comparative characterization of protein and lipid fractions from camel and cow milk, their functionality, antioxidant and antihypertensive properties upon simulated gastro-intestinal digestion. *Food Chemistry*, 279, 328-338.

-Martínez, B., García, P., & Rodríguez, A. (2019). Swapping the roles of bacteriocins and bacteriophages in food biotechnology. *Current Opinion in Biotechnology*, 56, 1-6.

-Miyamoto, M., Seto, Y., Hai Hao, D., Teshima, T., Bo Sun, Y., Kabuki, T., ... Nakajima, H. (2005). *Lactobacillus harbinensis* sp. nov., consisted of strains isolated from traditional fermented vegetables "Suan cai" in Harbin, Northeastern China and *Lactobacillus perolens* DSM 12745. *Systematic and Applied Microbiology*, 28(8), 688-694.

-Mokoena, M. P. (2017). Lactic Acid Bacteria and Their Bacteriocins: Classification, Biosynthesis and Applications against Uropathogens: A Mini-Review. *Molecules*, 22(8), 1255.

**N** Nadtochii, L., Orazov, A., Muradova, M., Bozymov, K., Japarova, A., & Baranenko, D. (2018). Comparison of the energy efficiency of production of camel's and cow's milk resources. *Energy Procedia*, 147, 510-517.

## Références Bibliographiques

-Nagy, P., Fábri, Z. N., Varga, L., Reiczigel, J., & Juhász, J. (2017). Effect of genetic and nongenetic factors on chemical composition of individual milk samples from dromedary camels (*Camelus dromedarius*) under intensive management. *Journal of Dairy Science*, 100(11), 8680-8693.

-Narvhus, J. A., & Axelsson, L. (2003). lactic acid bacteria. *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition*, 3465-3472.

**O** O'Connor, P. M., Kuniyoshi, T. M., Oliveira, R. P., Hill, C., Ross, R. P., & Cotter, P. D. (2020). Antimicrobials for food and feed; a bacteriocin perspective. *Current Opinion in Biotechnology*, 61, 160-167.

**R** Rahmeh, R., Akbar, A., Kishk, M., Al-Onaizi, T., Al-Azmi, A., Al-Shatti, A., ... Akbar, B. (2019). **Distribution and antimicrobial activity of lactic acid bacteria from raw camel milk. *New Microbes and New Infections*, 100560.**

-Ramet J.P. (1993). La technologie des fromages au lait de dromadaire (*Camelusdromedarius*). In étude FAO: Production et Sante Animales n°113. Rome, FAO, 123p.

-Ryskaliyeva, A., Henry, C., Miranda, G., Faye, B., Konuspayeva, G., & Martin, P. (2018). Combining different proteomic approaches to resolve complexity of the milk protein fraction of dromedary, Bactrian camels and hybrids, from different regions of Kazakhstan. *PLOS ONE*, 13(5), e0197026.

**S** Salwa, M. Q., & Lina, A. F. K. (2010). Antigenotoxic and anticytotoxic effect of camel milk in mice treated with cisplatin. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 17(2), 159-166.

-Sboui, A., Khorchani, T., Djegham, M., Agrebi, A., Elhatmi, H., & Belhadj, O. (2009). Anti-diabetic effect of camel milk in alloxan-induced diabetic dogs: a dose-response experiment. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 94(4), 540-546.

-Schillinger, U., & Holzapfel, W. H. (2003). Chapter 8 Culture media for lactic acid bacteria. *Progress in Industrial Microbiology*, 127-140.

-Schleifer, K.-H., Ehrmann, M., Beimfohr, C., Brockmann, E., Ludwig, W., & Amann, R. (1995). Application of molecular methods for the classification and identification of lactic acid bacteria. *International Dairy Journal*, 5(8), 1081-1094.

-Schnürer, J., & Magnusson, J. (2005). Antifungal lactic acid bacteria as biopreservatives. *Trends in Food Science & Technology*, 16(1-3), 70-78.

## Références Bibliographiques

-Shelburne, C. E., An, F. Y., Dholpe, V., Ramamoorthy, A., Lopatin, D. E., & Lantz, M. S. (2006). The spectrum of antimicrobial activity of the bacteriocin subtilosin A. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 59(2).

-Silva, C. C. G., Silva, S. P. M., & Ribeiro, S. C. (2018). Application of Bacteriocins and Protective Cultures in Dairy Food Preservation. *Frontiers in Microbiology*, 9.

-Skariyachan, S., & Govindarajan, S. (2019). Biopreservation potential of antimicrobial protein producing *Pediococcus* spp. towards selected food samples in comparison with chemical preservatives. *International Journal of Food Microbiology*, 291, 189-196.

-Stiles M.E. and Holzapfel W.H. (1997). Lactic acid bacteria of food and their current taxonomy. *International Journal of Food Microbiology*, 36 : 1-29.

-Suskovic, J., Kos, B., Beganovic, J., Lebos Pavunc, A., Habjanic, K., et Matosic, S. (2010). Antimicrobial activity the most important property of probiotic and starter lactic acid bacteria. *Food Technology and Biotechnology*, 48, 296-307.

**T** Tailliez, P. (2004). Les lactobacilles : propriétés, habitats, rôle physiologique et intérêt en santé humaine. *Antibiotiques*, 6(1), 35-41.

-Tarrah, A., Treu, L., Giaretta, S., Duarte, V., Corich, V., & Giacomini, A. (2018). Differences in Carbohydrates Utilization and Antibiotic Resistance Between *Streptococcus macedonicus* and *Streptococcus thermophilus* Strains Isolated from Dairy Products in Italy. *Current Microbiology*.

-Todorov, S. D., Prévost, H., Lebois, M., Dousset, X., LeBlanc, J. G., & Franco, B. D. G. M. (2011). Bacteriocinogenic *Lactobacillus plantarum* ST16Pa isolated from papaya (*Carica papaya*) — From isolation to application: Characterization of a bacteriocin. *Food Research International*, 44(5), 1351-1363.

-Tosukhowong A., Nakayama J., Mizunoe Y., Sugimoto S., Fukuda D. & Sonomoto K. (2005). Reconstitution and function of *Tetragenococcus halophile* chaperonin 60 tetradecamer. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 99(1), 30-37.

-Túlio Pardini Gontijo, M., de Sousa Silva, J., Marcus Pereira Vidigal, P., & Guilherme Prado Martin, J. (2019). Phylogenetic distribution of the bacteriocin repertoire of lactic acid bacteria species associated with artisanal cheese. *Food Research International*, 108783.

## Références Bibliographiques

**Y** Yagil, R., & Etzion, Z. (1980). Effect of drought condition on the quality of camel milk. *Journal of Dairy Research*, 47(02), 159.

-Yerlikaya, O. (2018). Probiotic potential and biochemical and technological properties of *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* strains isolated from raw milk and kefir grains. *Journal of Dairy Science*.

-Yi, L., Dang, J., Zhang, L., Wu, Y., Liu, B., & Xin, L. (2016). Purification, characterization and bactericidal mechanism of a broad spectrum bacteriocin with antimicrobial activity against multidrug-resistant strains produced by *Lactobacillus coryniformis* XN8. *Food Control*, 67,53-62.

-Yi, L., Qi, T., Hong, Y., Deng, L., & Zeng, K. (2020). Screening of bacteriocin producing lactic acid bacteria in Chinese homemade pickle and dry-cured meat, and bacteriocin identification by genome sequencing. *LWT*, 109177.

**Z** Zacharof, M. P., & Lovitt, R. W. (2012). Bacteriocins Produced by Lactic Acid Bacteria a Review Article. *APCBEE Procedia*, 2, 50-56.

-Zhao, D., Bai, Y., & Niu, Y. (2015). Composition and characteristics of Chinese Bactrian camel milk. *Small Ruminant Research*, 127, 58-67.

-Zouari, A., Marchesseau, S., Chevalier-Lucia, D., Raffard, G., Ayadi, M. A., & Picart-Palmade, L. (2018). Acid gelation of raw and reconstituted spray-dried dromedary milk: A dynamic approach of gel structuring. *International Dairy Journal*, 81, 95-103.

# Annexes

## **Annexe A**

### **Les milieux utilisés**

Eau physiologique

Milieu MRS

Milieu M17

Gélose Kanamycine Esculine Azide

Bouillon MRS

Bouillon Cœur-Cervelle

Bouillon nutritif

Gélose Mueller Hinton

Gélose nutritive molle

### **Annexe B**

#### **Coloration de Gram**

- Réaliser un frottis bactérien et le fixer;
- colorer au violet de gentiane phénole durant environ 1 min;
- laver à l'eau distillée (ou du robinet);
- faire agir la solution de lugol durant environ 30 secondes;
- laver à l'eau distillée (ou du robinet);
- faire agir l'éthanol à 0.95 durant 10 secondes ou faire couler l'éthanol sur la lame jusqu'à la décoloration ;
- laver à l'eau distillée (ou du robinet);
- colorer à la fuchsine phénole de quelques secondes à 1 min selon sa concentration ;
- laver à l'eau distillée (ou du robinet);
- observer après séchage à l'immersion (objectif x100) et à pleine lumière.

Les bactéries à Gram+ absorbent la couleur du cristal violet et demeurent bleues violettes en apparence, contrairement celles à Gram- qui apparaissent distinctement rosâtres.