



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

UNIVERSITE KASDI MERBAH - OUARGLA

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département des Sciences Biologiques

Mémoire de Fin d'Etudes en vue de l'obtention du diplôme de MASTER ACADEMIQUE

Domaine : Science de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences biologiques

Spécialité : Microbiologie Appliquée

Thème

Etude et caractérisation des bactéries lactiques de S'men élaboré à partir du lait de chamelle

Présenté par : BARKA Itab

KHAKHA Halima Saadia

Soutenu publiquement le : 29/06/ 2021

Devant le jury :

Présidente :	BOUDERHEM Amel	MCB	Univ. K. M. Ouargla
Encadreur :	MOSBAH Saïd	MCB	Univ. K. M. Ouargla
Co-Encadreur :	BOURICHA M'hamed	MAA	Univ. K. M. Ouargla
Examinatrice :	AKKOUCHE Zoubida	MCB	Univ. K. M. Ouargla

Année universitaire : 2020/2021

Remerciements

Je remercie en premier lieu DIEU, le Clément, le Miséricordieux, le tout Puissant. Louange à ALLAH Seigneur des mondes, qui m'a permis de réaliser ce travail, ainsi que ses innombrables bienfaits.

Tout d'abord nous tenons à exprimer toute nos reconnaissances à nos encadreur **Mr. MOSBAH Said**, Maître de conférences au Département de Biologie, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Kasdi Merbah Ouargla, nous la remercions de nous encadrés, orientés, aidés et conseillés.

Nos reconnaissances à nos co-encadreur **Mr. BOURICHA M'hamed** Maître assistance au département de Biologie, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Kasdi Merbah Ouargla pour sa précieuse assistance et ses orientations à la réalisation de mon mémoire.

Nous voudrions exprimer nos remerciements les plus vifs à **Mme. BOUDERHEM Amel**, Maître de conférences au Département de Biologie, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Kasdi Merbah Ouargla, pour l'honneur qu'elle nous a fait d'accepter de présider le jury, d'évaluer et d'examiner ce mémoire .

Mes plus sincères remerciements vont également à **Mme. AKKOUCHE Zoubida**, Maître de Conférences à l'Université K.M. Ouargla, pour l'honneur qu'il nous a fait d'accepter d'examiner ce travail

Nous adressons nos sincères remerciements à tous les professeurs du département des sciences biologiques de l'Université Kasdi Merbah Ouargla.

Nos remerciements vont à tous les techniciennes des laboratoires pédagogiques de l'ITAS et spécialement Mme Karima, Melle Iman qui elles nous ont aidé avec une grande humeur.

En fin nous remercions nous famille : nous parents qui ont toujours été là pour nous, ainsi nous grandes parents, nous frères, sœurs, oncles, tantes. Et tous notre Amies pour leur soutien affectif et moral

A tous ces intervenants, nous présente tons nous remerciements, notre respecte et nous gratitude.



Dédicace

J'ai l'honneur de dédier ce modeste travail réalisé grâce à d'Allah le tout-puissant.

A la lumière de mes jours, la source de mes efforts, ma vie et mon bonheur que *Dieu lui donne la santé et la vie*, Aucune dédicace ne saura exprimer l'amour, l'estime et le respect que j'ai pour toi, mon cher père

A la femme de ma vie, mon exemple éternel, mon soutien moral et la source de joie et de bonheur, la flamme de mon cœur, celle qui s'est toujours sacrifiée pour me voir réussir, que Dieu la garde pour moi, ma chère mère

A mes très chers frères et sœurs

Abdelmadjid, Abdelkader, Abdelouadoud

Sirine, Malak, Israa

A ma très chère fille Sidrat Elmontaha

A mon très chère marie Belkhir qui m'a soutenu durant toute la durée de réalisation de ce travail

A tous mes cousins sans exception

A toute ma grande famille "Khakha"

A ma sœur et mon très cher binôme Itab, je tiens à te remercier pour ta confiance en moi.

A tous mes amis sans exception

Surtout Maroua, Nadjat, Noussaiba, Kouther

A tous ; je dédie cet ouvrage, qui est le sens de mes études supérieures, tel un présent du cœur, en priant ALLAH tout puissant à la mettre au service de notre nation et du bien de l'humanité, et qu'il sera une lumière sur mon parcours professionnel.

Halima Saadia



Dédicace

Nous rendons grâce à Allah le tout puissant. Nous vous prions de nous guider sur le droit chemin qui est le votre et qui nous mène à votre Paradis. Amen

Je dédie ce travail à :

Aux être les plus chers à mon cœur dans ce monde, mes parents

A celle qui m'a toujours soutenu et était ma "force motrice" pour travailler avec plus de courage et persévérance, à qui j'ai éprouvé un profond respect

Ma chère mère Que dieu la protège

A mon amour, celui qui a sacrifié tout ce qu'il a de cher pour me prodiguer une éducation un soutien, une assistante et un encouragement pour enfin devenir ce qui je suis maintenant.

Mon adorable père Que dieu pitié se son âme

Merci beaucoup mes parents je vous aime beaucoup

A mes chères sœurs : Somia, Ghofrane Loudjain

A mes chères frères : Khaled, Abdelkader

A tous ma famille BARKA sans exception du petit au grand Que dieu les gardes

A tout mes oncles et mes tentes paternels et maternels chacun par son noms, et à qui je souhaite du bonheur.

A ma sœur et mon très cher binôme Halima, je tiens à te remercier pour ta confiance en moi.

A tous mes amies surtout : Maroua, Nadjat, Noussaiba, Kouther. qui sont devenues des sœurs pour moi pour leurs conseils et leurs soutiens sans faille

Ainsi qu'à tous ceux qui ont une relation de près ou de loin avec la réalisation de cette mémoire.

Itab

Table de Matières

Liste des abréviations	4
Liste des tableaux	10
Liste des figures	11
Liste des Annexes	12
Introduction	1

PARTIE I

Synthèse bibliographique

CHAPITRE I : Lait de chamelle et leurs dérivées	3
Généralités	3
1 Caractéristiques physico-chimiques et organoleptiques	3
2 Composition chimique de lait de chamelle	3
2.1 Eau	4
2.2 Glucides	4
2.3 Matière grasse	5
2.4 Protéines	5
2.5 Minéraux	5
2.6 Vitamines	6
3 Dérivés de lait de chamelle	7
• « Sussa »	7
• « Shubat(Chal) »	7
• « fromage »	7
• S'men « beurre fermenté »	7
4 Microflore du lait de chamelle	9
4.1 Microorganismes indigènes	9
4.2 Microorganismes de contamination	9
4.3 Levures et moisissures	9
•4.3.1 Levures	9
•4.3.2 Moisissures	10
4.4 Virus	10
4.5 Parasites	10

CHAPITRE II : Bactéries lactiques -----	13
1 Généralité bactéries lactiques -----	13
2 Définition -----	13
3 Habitat -----	14
4 Historique et classification -----	14
5 Caractéristiques des genres liés aux produits laitiers -----	16
5.1 <i>Lactobacillus</i> -----	16
5.2 <i>Carnobacterium</i> -----	17
5.3 <i>Lactococcus</i> -----	18
5.4 <i>Pediococcus</i> -----	18
5.5 <i>Leuconostoc, Oenococcus et Weissella</i> -----	18
5.6 <i>Bifidobacterium</i> -----	19
5.7 <i>Enterococcus</i> -----	19
5.8 <i>Streptococcus</i> -----	19
5.9 <i>Vagococcus</i> -----	20
6 Propriétés fonctionnelles et technologiques des bactéries lactiques -----	20
•Activité acidifiante-----	20
•Activité aromatisante-----	20
•Activité gazogène-----	21
•Propriétés enzymatique-----	21
•Propriétés texturantes-----	21
7 Principales voies fermentaires -----	21
•La voie homofermentaire ou voie d'Embden-Meyerhof Parnas (EMP)-----	22
•La voie hétérofermentaire ou voie des pentoses phosphate-----	22
CHAPITRE III : Matériel et méthodes -----	23
1 Objectif -----	23
2 Lieu et période d'étude -----	23
3 Echantillons de Smen -----	23
4 Isolement et purification des souches -----	23
4.1 Préparation des dilutions décimales et isolement-----	23
4.2 Purification-----	23
4.3 Conservation des bactéries lactiques-----	25

•4.3.1 Conservation à courte terme -----	25
•4.3.2 Conservation à long terme-----	25
5 Pré-identification des bactéries lactiques -----	26
5.1. Etude morphologique -----	26
•5.1.1. Examen macroscopique-----	26
•5.1.2 Examen microscopique -----	26
5.2 Tests physiologiques -----	26
•5.2.1 Test de catalase -----	26
•5.2.2 Croissance à différentes températures -----	27
•5.2.3 Test de thermorésistante -----	27
•5.2.4 Test de croissance à différentes pH -----	27
5.2.4.1 La croissance à pH 9.6 -----	27
5.2.4.2 La croissance à pH 4.8 -----	27
•5.2.5. La tolérance de la salinité-----	28
•5.2.6. La culture sur le lait de Sherman -----	28
5.3 Tests biochimiques -----	28
•5.3.1 Recherche de l'arginine dihydrolase (ADH)-----	28
•5.3.2. Production de l'acétoïne (Acétyle-Méthyle-Carbinol) -----	28
•5.3.3 Recherche du type fermentaire -----	29
•5.3.4 Production de dextrane -----	29
•5.3.5 Utilisation de citrate -----	29
•5.3.6 Hydrolyse de l'esculine-----	29
•5.3.7 Utilisation des carbohydrates -----	30
CHAPITRE IV : Résultats et Discussion -----	32
1 Isolement et purification -----	32
1.1 Isolement -----	32
1.2 Purification -----	32
•Sur milieu solide-----	32
•Sur milieu liquide -----	32

2 Pré- identification	32
2.1 Coloration de Gram	32
2.2 Teste de recherche de la catalase	32
3 Tests physiologiques	33
3.1 Test de croissance à différentes T°	33
3.2 Thermorésistance	33
3.3 Test de croissance à différentes pH	34
3.4 Résistance à la salinité	34
3.5 Lait de Sherman	34
4 Tests biochimiques	35
4.1 Hydrolyse de l'arginine	35
4.2 Production de l'acétoïne	35
4.3 Recherche de type fermentaire	35
4.4 Production de dextrane	35
4.5 L'utilisation de citrate	36
4.6 Hydrolyse de l'esculine	36
4.7 Utilisation des carbohydrates	37
5 Identification des souches lactiques isolées à partir de S'men camelin	37
6 Discussion	38
6.1 Caractéristiques des isolats rattachés au genre <i>Lactococcus</i>	38
6.2 Caractéristiques un isolat rattaché au genre <i>Leuconostoc</i>	38
6.3 Caractéristiques des isolats rattachés au genre <i>Lactobacillus</i>	39
Conclusion	40
Références bibliographiques	41
Annexes	55
Résumé	67
Abstract	67
ملخص	67

Liste des abréviations

° C : Degré Celsius

° D : Degré Dornic

% : pourcent

ADH : Arginine Dihydrolase

ADN : Acide désoxyribonucléique

ARN_r : Acide ribonucléique ribosomique

ATP : Adénosine triphosphate

C : Cytosine

CO₂ : Dioxyde de carbone

E : *Enterococcus*

EMP: Embden-Meyerhof-Parnas

EPS: Exopolysacharides

g: gramme

G: Guanine

G+C : Guanine+ Cytosine

GRAS: Generally Recognized As Safe

h: heure

ISO: International Organization of standardization

Kg : Killogramme

KMK: kempler et Mc Kay

Lb : *Lactobacillus*

Lc : *Lactococcus*

Leu : *Leuconostoc*

min : minute

mg : milligramme

ml : millilitre

mm : millimètre

MSE : Mayeux, Sandine et Elliker

MRS: Man Rogosa et Sharpe

MRS-BCP : Milieu MRS additionnée de pourpre de Bromocrésol

NaCl :Chlorure de Sodium

P : *Pediococcus*

pH : potentiel d'hydrogène

PTS : Système phosphotransférase

UFC: Unité formant colonie

sp : Espèce non précisée

Subsp : Sous espèce

Strep : *Streptococcus*

T° : Température

V : Volume

VP : Vogues-Proskauer

W : *Weissella*

Liste des tableaux

Tableaux	Page
Tableau 01 : Compositions moyennes du lait de différents animaux.	04
Tableau 02 : Composition minéral du lait de chamelle.	06
Tableau 03 : Composition biochimique du lait de chamelle.	
Tableau 04 : Flore indigène du lait cru.	09
Tableau 05 : Bactéries Lactiques isolées du lait de chamelle cru et leurs produits drivés fermentés.	12
Tableau 06 : Critères morphologiques des bactéries lactique isolées à partir de S'men camelin.	33
Tableau07 : Résultats de test de croissance à différentes T°.	34
Tableau 08 : Résultats de test de croissance à différentes pH, test de croissance à différentes NaCl (%) et test lait de Sherman.	35
Tableau09 : Résultats des tests type fermentaire, acétoine, l'arginine d'hydrolyse, citrate et l'esculine.	36
Tableau10 : Profil fermentaire des souches isolées.	37
Tableau 11 : L'identification des souches lactiques isolées à partir de S'men.	37

Liste des figures

Figure	Page
Figure 01: Diagramme de fabrication de S'men élaborée à partir du lait de chamelle.	08
Figure 02 : Morphologie de A : <i>Lactobacillus casei</i> and B : <i>Lactobacillus acidophilus</i> (Examen en microscopie électronique, ×7000).	17
Figure 03 : Diagramme d'isolement des souches lactiques.	24
Figure 04: Etapes de conservation à longue durée des bactéries lactiques purifiées.	25
Figure 05: Protocole de fermentation des carbohydrates par les souches isolées à partir de S'men camelin.	31

Liste des Annexes

Annexe	Page
Annexe 01: Milieux de culture utilisés.	55
Annexe 02: Technique de coloration de Gram et technique des dilutions.	59
Annexe 03: Photos des résultats.	60
Annexe 04: Tableaux de références.	65-66
Annex05 : Liste de matériels utilisés.	66

Introduction

Introduction

Le dromadaire (*Camelus dromedarius*) est un animal particulièrement adapté aux rudes conditions qui existent dans plusieurs régions du monde, notamment dans les zones steppiques et désertiques du Sahara algérien (RUTAGWENDA *et al*, 1989; MAHBOUB *et al*, 2010). Cet animal jouait un rôle considérable dans le développement de l'économie régionale des zones arides, par ses productions et services variés (ISSELNANE, 2014).

Parmi ses productions, le lait de chamelle, est un aliment hautement nutritif par sa richesse en glucides, lipides, vitamines et sels minéraux, en raison de sa valeur nutritionnelle élevée, il connaît un regain d'intérêt ces dernières années (KATINAN *et al*, 2012). Habituellement, ce lait est consommé à l'état cru, mais à cause du manque des moyens de réfrigération, une grande quantité de ce lait se fermente et se transforme en produits dérivés (SIBOUKEUR, 2007).

Traditionnellement, les dérivés du lait de chamelle fermenté sont utilisés comme agent thérapeutique pour de nombreux problèmes de santé à travers le monde (SOLANKI et HATI, 2018). Parmi ces dérivés, le S'men ou le Shmen est un beurre populaire très utilisé dans le Sahara algérien par les Touaregs (tribu nomade du Sahara). On pense que le S'men camelin a des propriétés médicinales et des propriétés laxatives pour l'appareil gastro-intestinal inconfort dans différentes parties du monde (FAO, 1990). La fermentation est assurée par le développement de la flore lactique, ce qui donne une préservation de long durée et des caractéristiques originales à ce produit (RAO *et al*, 1974 ; LAIRINI *et al*, 2014).

Les bactéries lactiques jouent un rôle important dans la fermentation, la conservation des aliments, l'amélioration de caractères gustatifs et organoleptiques, en effet de leur richesse en composants biodégradables tel que (lactose, protéines et lipides). D'autre part elle réduit le nombre ou inhibe la croissance des pathogènes dans les produits alimentaires par la production des bactériocines (OSULLIVAN *et al*, 2002). L'isolement des bactéries lactiques à partir de S'men camelin correspond à un sujet intéressant car peu d'informations sont disponibles dans la littérature sur les microorganismes, ayant une importance technologique, isolées à partir de S'men camelin.

Dans ce contexte, l'intérêt de ce travail est d'isoler et identifier des bactéries lactiques dans le S'men élaborée à partir de lait camelin.

Notre manuscrit est structuré en trois parties. La première partie est consacrée à une synthèse bibliographique articulée autour d'un premier chapitre sur le lait de chamelle, composition physico-chimique et organoleptique, les dérivés, sa microflore et les bactéries

lactiques de lait camelin. Le deuxième chapitre sur les bactéries lactiques, leur taxonomie, habitat, classification et leur principale caractéristique de différents genres.

Dans la deuxième partie du manuscrit nous exposons le matériel et les méthodes mis en œuvre dans le cadre de la réalisation de ce travail. Elle comporte les techniques d'identification morphologiques, physiologiques et biochimiques des souches lactiques isolées et purifiées. La troisième partie du manuscrit est consacrée aux résultats et discussion.

En terminant avec une conclusion générale qui englobe les résultats de ce travail.

PARTIE I

Synthèse bibliographique

CHAPITRE I

Lait de chamelle et leurs dérivées

Chapitre I : Lait de chamelle et leurs dérivées

Généralités

Le lait de chamelle a été consommé depuis des siècles par les peuples nomades pour sa valeur nutritive et leurs propriétés médicinales. Actuellement, le lait de chamelle pasteurisé est produit et vendu uniquement dans quelques pays, dont l'Arabie saoudite, Emirats arabes unis, Kazakhstan, la Mauritanie et l'Algérie (DELL ORTO *et al*, 2001).

Le lait de dromadaire produit naturel fournit par la chamelle pour assurer les besoins du chamelon, est un aliment complet et équilibré. Il est renforcé par un système antimicrobien rigide (SIBOUKEUR, 2007) et peut satisfaire les besoins de l'homme en éléments nutritifs de base précités surtout en vitamine ; notamment la vitamine C (SAWAYA *et al*, 1984), ce qui lui confère une importance particulière en tant que source alimentaire irremplaçable chez les populations nomades.

1 Caractéristiques physico-chimiques et organoleptiques

Le lait de chamelle est généralement blanc opaque (YAGIL, 1982 ; FARAH, 2004) et est d'un aspect moins visqueux que le lait de vache (KAMOUN, 1990 ; SBOUI *et al*, 2009). Il a une saveur douce (FARAH, 2004), sucré (YAGIL, 1982 ; AL HAJ et AL KANHAL, 2010) et forte (YAGIL, 1982 ; FARAH, 2004), avec un goût légèrement salé (YAGIL, 1982 ; FARAH, 2004). Les changements dans le goût sont principalement causés par la nature du fourrage et de la disponibilité de l'eau potable (FARAH, 2004 ; SIBOUKEUR, 2007).

La valeur de pH du lait de chamelle est entre 6,57 et 6,97 (KULA et DECHASA, 2016), Son acidité moyenne en degré Dornic est 14,5 °D (SIBOUKEUR, 2012), avec une densité de 1,025 à 1,032 avec une viscosité moyenne de 2,2 centipoises et un point de congélation qui est avéré entre -0,57 °C et -0,61 °C (FARAH, 1993; KAPPELER, 1998).

2 Composition chimique de lait de chamelle

Le lait de dromadaire est un liquide blanc opaque, de goût sucré ou salé selon le type d'alimentation et la disponibilité en eau (FARAH, 1993). Ce type de lait de bonne qualité nutritionnelle dans des conditions extrêmement hostiles de la température, de la sécheresse et de manque de pâturages. Le lait de chamelle contient les nutriments essentiels présents dans le lait de vache (FARAH et ATKINS, 1992; SALMEN *et al*, 2012). Les pourcentages des composants du lait varient d'un animale à l'autre sont présentés dans le tableau suivant.

Tableau 01: Compositions moyennes du lait de différentes animaux (**BELARBI, 2015**)

Animaux	Eau (%)	Matière grasse%	Protéines (%)	Glucide (%)	Minéraux (%)
Chèvre	87,0	3,8	2,9	4,4	0,9
Chamelle	87,6	5,4	3,0	3,3	0,7
Vache	87,5	3,7	3,2	4,6	0,8

La composition de lait de chamelle a été étudiée dans différentes parties du monde, et par divers auteurs (**ELAMIN et WILCOX, 1992**). Les données de la littérature ont montré des larges variations dans la composition du lait de chamelle.

Cette variations dans la composition du lait de chamelle peut être attribué à plusieurs facteurs tels que les méthodes analytiques, la zone géographique, les conditions nutritives, race, stade de lactation, âge, et nombre de vèlages (**KHASKHELI et al, 2005**). Origine géographique et les variations saisonnières sont les facteurs qui influencent le plus changements dans la composition du lait de chamelle (**KONUSPAYEVA et al, 2008**). Les variations saisonnières également jouer un rôle important dans la composition du lait de chamelle, même avec des chameaux de la même race et de la même région (**BAKHEIT et al, 2008**).

2.1 Eau

La quantité d'eau dans le lait de chamelle varie de 81.4-87%. L'alimentation et la consommation d'eau ont la plus grande influence sur la teneur en eau du lait de chamelle (**BHAKAT et SAHANI, 2006**).

Le lait des chameaux à une bosse qui vivent dans des zones climatiques plus chaudes ont moins graisse et plus d'eau (**WERNERY, 2006**).

2.2 Glucides

La teneur en lactose dans le lait de chamelle varie de 2.4 à 5.80% et est plus légèrement plus élevé que la teneur en lactose du lait de vache (**FARAH, 1996 ; FARAH, 2004**). La gamme de variation de la teneur en lactose peut être due au type de plantes consommées dans les déserts (**KHASKHELI et al, 2005**).

2.3 Matière grasse

Le lait de dromadaire présente un taux butyreux de 3 à 5 %, comparable à celui des bovins et des caprins, et inférieur à celui de la brebis, et de la bufflesse (**CHILLIARD, 1989**).

La teneur en matière gras du lait de chamelle est comprise entre 1.2 et 6.4% (**KONUSPAYEVA et al ,2009**). Par rapport au lait de vache, la graisse du lait de chamelle contient de petites quantités de chaîne d'acides gras et une faible teneur en carotène, cette faible teneur en carotène pourrait expliquer la couleur blanche de la graisse du lait de chamelle (**AL HAJ, 2010**).

2.4 Protéines

De par leur apport nutritionnel (source d'acides aminés essentiels) et leurs propriétés techno-fonctionnelles particulières, les protéines du lait revêtent une importance considérable au double plan quantitatif et qualitatif (**SIBOUKEUR, 2008**).

Elles sont constituées de deux composants principaux : les caséines qui se précipitent lors de l'acidification du lait ou l'ajout de rénine, et les protéines du lactosérum contenant des protéines : acides, basiques et des facteurs antimicrobiens (lysozyme, lactoferrines, immunoglobulines...) (**EL-HATMI et al, 2007 ; FARAH et al, 2004**).

2.5 Minéraux

Les sels minéraux présents dans le lait de chamelle sont diversifiés on y dénombre en effet des macros et des oligo-éléments qui se trouvent sous forme de sels (phosphates, chlorures et citrates) ou de métaux divers (sodium, potassium, magnésium, calcium, fer, cuivre, zinc...etc.) (**ELAMIN et WILCOX, 1992 ; MEHAIA et al, 1995**).

Les teneurs moyennes des différents minéraux présents dans le lait de chamelle cités dans le tableau 02.

Tableau 02 : Composition minéral du lait de chamelle (**VEISSEYRE, 1975**).

Constituents	Teneurs moyennes g/l
Potassium	1.5
Calcium	1.25
Sodium	0.5

Magnesium	0.13
Chlore	1.0
Phosphore totale	0.95
Acide citrique	1.75

2.6 Vitamines

Le lait de chamelle présente la particularité d'être riche en vitamine C (au moins 3 fois plus élevé que le lait de vache). Ceci est très important du point de vue nutritionnel dans les zones où les sources en vitamine C demeurent insuffisantes (**FARAH *et al*, 1992 ; YAGIL, 1982**). Il est également riche en niacine (B3). Par ailleurs, le taux de vitamines A beaucoup plus faible et de plus très variable (12.9UI/100g-50UI/100g) (**RAMET, 1993 ; FARAH *et al*, 1992**).

Il en est de même de la teneur en vitamines B1, B2, B5 et B9 (**RAMET, 1993 ; PARK et HAENLEIN, 2006**).

Les différents constituants biochimiques du lait camelin présentes dans le tableau 03.

Tableau 03: Composition biochimique en vitamines du lait de chamelle (**KAPPELER, 1998**)

Vitamines, mg/kg	Lait de Chamelle
Acide ascorbique (C)	24-36
Cobalamine (B12)	0,002
Acide Folique (B9)	0,004
Niacine (B3)	4,6
Acide Pantothénique (B5)	0,88
Pyridoxine (B6)	0,52
Rétinol (A)	0,10-0,15
Riboflavine (B2)	0,42-0,80
Thiamine (B1)	0,33-0,60
Tocophérol (E)	0,53
Solides totaux, g /l	10-11,5

3 Dérivés de lait de chamelle

- « **Sussa** »

Il s'agit d'un lait fermenté traditionnelle de l'Est Afrique, Kenya et Somalie. Le produit a une faible viscosité, arôme fumé et goût astringent. Le lait frais est placé dans des récipients de citrouille préalablement fumés et laissé pendant 2 jours à une température de 25 à 30 ° C pour fermenter. Le produit obtenu est variable en goût et en arôme, et souvent impropre à l'hygiène (LORE *et al*, 2005)

- « **Shubat (Chal)** »

Il s'agit d'un blanc pétillant traditionnel produit laitier fermenté en Turquie, au Kazakhstan et au Turkménistan avec un goût extrêmement aigre. Il est fait de lait cru ou lait dilué avec de l'eau tiède dans le rapport 1: 1. Le lait est ensuite stocké en peau de chèvre ou en céramique contenant et inoculés avec 1/3 ou 1/5 de lait préalablement fermenté. L'incubation prend 3 à 4 heures à 25-30 ° C, mais est généralement laissé pendant 8 heures à la même température pour obtenir son goût typique. C'est aussi possibilité d'ajouter des cultures lactiques comme *Lactobacillus casei* et *Streptococcus thermophilus* ainsi que des levures, auquel cas l'incubation durerait 8 heures à 25 ° C et encore 16 heures à 20 ° C (KULIEV, 1959).

- « **Fromage** »

La transformation du lait de chamelle en fromage est difficile, même considéré comme impossible. Il est surprenant que, bien que la plupart des communautés nomades produisent au moins un type de fromage, pas de méthode traditionnelle pour produire du fromage à partir de lait de chamelle. Cela peut s'expliquer par le fait que dans leur culture, le lait de chamelle est consommé exclusivement comme boisson qui exclut la possibilité de fromage commerce (YAGIL, 1982).

- **S'men « beurre fermenté »**

Le S'men est un produit laitier fermenté, fabriqué à partir du lait cru entier par des méthodes empiriques basées sur des expériences de l'ancien temps.

D'après YAGIL (1982) dans le beurre du Sahara est produit en laissant le lait de chamelle en peau de chèvre à température ambiante pendant 12 heures afin de fermenter. Par la suite, la peau de chèvre est gonflée d'air et fermé, accroché à un poteau de tente et balancé rapidement en avant et retour. À la fin du barattage, de l'eau froide est ajouté qui aide à former du beurre.

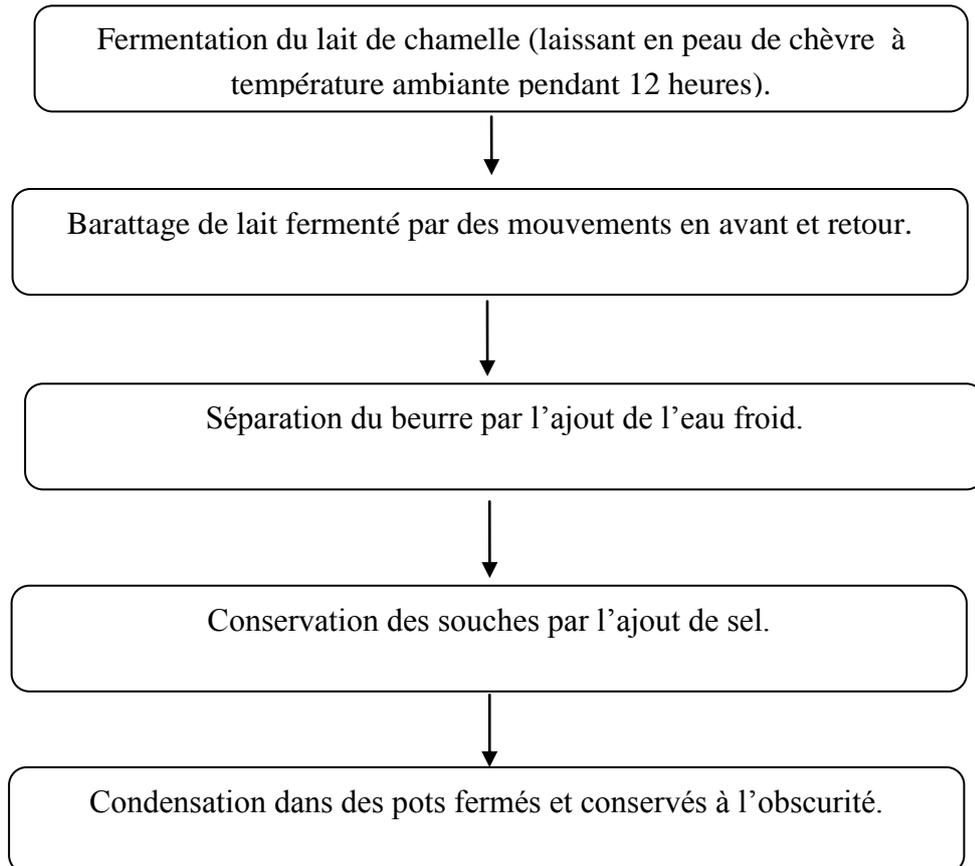


Figure 01 : Diagramme de fabrication de S'men élaborée à partir du lait de chamelle.

FARAH *et al* (1989) ont mené une expérience dans la production industrielle de beurre dans la partie rurale du nord-est du Kenya. Le lait a été chauffé à 65 ° C puis centrifugé. Le pourcentage de graisse dans la crème a été normalisé à 20-30%. Ensuite, c'était baratté à des températures comprises entre 15 et 36 ° C. Après barattage, le beurre a été rincé avec de l'eau dans la chambre température de 27 ° C. Les meilleurs résultats ont été obtenus par barattage crème à 22,5% de matière grasse et 25 ° C. Barattage le temps était de 11 minutes (**BREZOVEČKI *et al*, 2015**).

Ce produit très apprécié par le consommateur marocain pour ses qualités gustatives et diététique, est utilisé comme additif des produits alimentaires pour remonter le goût et l'arôme de certaines recettes traditionnelles marocaines (couscous, tajine, poulet ...). Sa propriété d'aliment de forte énergie est exploitée en médecine traditionnelle pour atténuer les douleurs de la sensation du froid qui accompagne la toux, le rhumatisme et le traumatisme osseux (voie orale et massage) (**DAHMANE&DRISS, 2003**).

4 Microflore du lait de chamelle

Le lait forme un milieu biologique favorable pour la croissance des différents microorganismes à cause de sa forte teneur en eau, de son pH voisin, de sa neutralité et de sa richesse en composants biodégradables (lactose, protéines et lipides) (DJOUHRI et MADANI, 2015).

4.1 Microorganismes indigènes

Se sont les microorganismes qui peuvent être présentés dans le lait au cours de leur sortie du pis d'un animal sain, leur pourcentage ne devrait pas dépasser 5000UFC (unités formant colonies). Cette flore originale joue un rôle important en ce qui concerne les caractéristiques organoleptiques du lait (BELARBI, 2015).

Microorganismes indigènes du lait sont présents dans le tableau suivant.

Tableau 04 : Flore indigène du lait cru (VIGNOLA, 2002).

Microorganismes	Pourcentage
<i>Micrococcus sp.</i>	30-90
<i>Lactobacillus.</i>	10-30
<i>Streptococcus</i> ou <i>Lactococcus.</i>	<10
GRAM négatif.	<10

4.2 Microorganismes de contamination

Divers microorganismes de notre environnement (entérobactéries, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Corynebacterium*, coliformes, *Clostridium*, ...) pouvant contaminés le lait, et ceci est causé soit par une flore d'altération qui provoque des défauts sensoriels ou contribuer à réduire le temps de conservation de lait, soit par une flore pathogène qui conduit à l'apparition des maladies après la consommation de lait (CAROLE *et al* 2002 ; MAMI, 2013).

4.3 Levures et moisissures

Les levures et les moisissures sont des cellules eucaryotes. Regroupées sous le vocable de flore fongique, elles peuvent être retrouvées aussi bien dans le lait cru, le lait en poudre ainsi que dans tous les autres produits laitiers (ALAIS, 1984).

4.3.1 Levures

De forme arrondie ou ovale, volumineuses ou unicellulaires, les levures sont utiles en industrie laitière car elles peuvent servir comme agents d'aromatisation. Elles sont aérobies facultatives et se développent en surface formant les boutons de nature mycélienne (ROZIER,

1990). Par contre, d'autres levures *Kluyveromyces lactis*, *Kluyveromyces fragilis*, *Saccharomyces fragilis*, *Saccharomyces lactis* peuvent avoir des effets néfastes dans les aliments. Les levures supportent des pH de 3 à 8 avec un optimum de 4,5 à 6,4. Ce qui explique leur présence dans le lait cru comme dans le lait Caillé. Elles entraînent des altérations rendant le produit final indésirable: aspect trouble, odeurs ou goûts anormaux, gonflement des produits ou de leur emballage (BOUIXD et LEVEAU, 1980).

4.3.2 Moisissures

Les moisissures sont en général plus complexes dans leur morphologie et dans leur mode de reproduction. Elles peuvent être utiles ou indésirables en industrie alimentaire. Elles se développent en surface ou dans les parties internes aérées en utilisant le lactose; cette propriété leur confère une utilité incontestable en fromagerie. C'est ainsi que le *Penicillium camemberti* et *Penicillium roqueforti* sont utilisés dans la fabrication de divers types de fromages. Mais le développement excessif de certaines moisissures comme *Géotrichum* à la surface des fromages, les rend glaireuses et coulantes, ce qui les déprécie fortement. Certaines moisissures élaborent des mycotoxines thermostables et liposolubles donc difficiles à éliminer une fois formées. (WISEMAN et APPLEBAUM, 1983)

4.4 Virus

Le virus est le plus petit des microorganismes connus. Sa taille est de l'ordre de nanomètre, soit un millionième de mètre. Etant un parasite, il a besoin d'un organisme vivant pour se développer. Selon le virus, il peut parasiter un humain, un animal, une plante ou une bactérie. Les virus ne se développent donc pas dans les aliments. La présence de virus dans un produit laitier signifie qu'un manipulateur, un animal, l'eau ou des composantes utilisées dans la formulation du produit alimentaire a servi de vecteur d'incorporation. Les principaux virus associés au secteur laitiers sont ceux de l'hépatite A et les bactériophages (VIGNOLA, 2002).

4.5 Parasites

Ils peuvent être excrétés dans le lait puis véhiculés et transmis à l'homme ce qui conduit à l'apparition des affections parasitaires. Parmi les parasites qui peuvent être présentés dans le lait il y a *Toxoplasma gondii*, Kystes amibiens ... (BAAZIZ et al, 2009).

5 Bactéries lactiques du lait de chamelle

De nombreuses espèces de bactéries lactiques ont été isolées et identifiées à partir du lait chamelle par différents instituts de recherche et différents pays et régions. Les travaux récents sur le lait de chamelle et ses dérivés ont été explorés dans les différents pays abritant les chameaux. Le **tableau 05** présente la majorité des espèces dominantes des bactéries lactiques révélées dans le lait camelin et ses dérivés dans les quelques pays qui ont développé des projets de recherche pour valoriser et améliorer l'élevage camelin (**PARK et HAENLEIN, 2013**). Les espèces lactiques isolées de lait de chamelle possèdent un fort potentiel technologique et thérapeutique et qui sont considérées comme des levains probiotique. Une validation supplémentaire est nécessaire à travers des études approfondies in vivo (**SOLANKI et HATI, 2018**).

D'après l'identification bactériologique de **BENKERROUM et al, (2003)**, montre une nette dominance des entérocoques avec *Enterococcus faecalis* comme principale espèce représentative dans le lait du dromadaire. Outre *Enterococcus*, d'autres genres dont *Pediococcus* (28,2%), *Streptococcus* (4%), *Lactococcus* (8%) et *Leuconostoc* (1%).

Dans "Suusac" produit laitier de chamelle fermenté traditionnel, l'espèce des bactéries lactiques la plus fréquemment isolée était *L. mesenteroides subsp. Mesenteroides* (24% du total des isolats). On a d'autres espèces des bactéries lactiques ont été identifiées comme *Lactobacillus curvatus*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus salivarius*, *Lactococcus raffinolactis* (**LORE et al, 2005**).

Au total, 8 espèces des bactéries lactiques ont été identifiées à partir des échantillons de Shmen (un beurre clarifié traditionnel à base de lait de chamelle) comme *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus*, *Lactococcus lactis ssp. lactis biovar diacetylactis*, *Lactococcus lactis subsp.cremoris*, *Lactobacillus paracasei subsp paracasei*, *Leuconostoc gelidum*, *Enterococcus faecium* (**MOURAD et NOUR-EDDINE, 2006**).

Une étude a fait par **RAHMAN et al, (2009)** visant à caractériser la microflore dominante du Shubat, un produit fermenté spécial préparé à partir de lait de chamelle non chauffé. Dans les échantillons étudiés de Shubat, les bactéries lactiques étaient les microorganismes dominants, comme *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus sakei*, *Leuconostoc lactis*, *Weissella helleca*.

Tableau 05 : Bactéries Lactiques isolées du lait de chamelle cru et leurs produits fermentés dérivées (SNOUCI, 2018).

Sources et espèces
<p>Lait du dromadaire Algérie</p> <p><i>E.durans, E.faecalis, E.faecium, Lb.parcasei Subsp.parcasei, Lb.plantarum, Lb.rhamnosus, Lc.lactis Subsp.lactis, Lc.lactis Subsp.lactis biovar diacetylactis Leu.mesenteroides Subsp.mesentroides, Leu.mesenteroides Subsp.dextranicum Leu.mesentroides Subsp.cremoris, Leu.lactis.</i></p>
<p>Shmen (Beurre traditionnel du lait camelin Algérie)</p> <p><i>E.faecium, Lb.delbrueckii Subsp.bulgaricus, Lb.plantarum, Lb.parcasei Subsp.parcasei, Lc.lactis Subsp.cremoris, Lc.lactis Subsp.lactis biovar diacetylactis, Leu.gelidum, Leu.Pseudomesentroides.</i></p>
<p>Fromage et lait de dromadaire Inde</p> <p><i>Lb.casei, Lb.delbrueckii Subsp.bulgaricus, Lb.fermentum, Lb. Plantarum</i></p>
<p>Suusac (lait fermenté du dromadaire Kenya)</p> <p><i>Lb.curvatus, Lb. plantarum, Lb. salivarius, Lb. raffinolactis, Leu. mesenteroides, Strep. Mesenteroide</i></p>
<p>Shubat (lait fermenté du lait de chamelle bactérien Chine)</p> <p><i>E. faecalis, E. faecium, Lb. brevis, Lb. helveticus, Lb. sakei, Leu. lactis, W. helleca</i></p> <p><i>E. Enterococcus Lb. Lactobacillus Lc. Lactococcus Leu. Leuconostoc W. Weissella</i></p>

CHAPITRE II

Bactéries lactiques

Chapitre II : Bactéries lactiques

1 Généralité bactéries lactiques

Les bactéries lactiques appartiennent à un groupe de bactéries bénéfiques, qui se trouvent partout dans la nature ainsi que dans le système digestif de l'homme. Depuis des millénaires, elles sont utilisées dans l'alimentation humaine. Actuellement, dans l'industrie agroalimentaire, les bactéries lactiques occupent une place importante parmi les auxiliaires de fabrication. Si elles sont surtout connues pour le rôle qu'elles jouent dans le secteur laitier (**DORTU & THONART, 2009; MORAES et al, 2010**), elles sont utilisées également dans le saumurage des légumes, les salaisons des viandes et des poissons, ainsi qu'en boulangerie et dans la fabrication du vin. Elles disposent généralement du statut GRAS (**VESCOVO et al, 1996**).

2 Définition

Le groupe des bactéries lactiques a été défini par **ORLA-JENSEN (1919)** et réunit plusieurs genres caractérisés par leur capacité à fermenter les glucides en produisant de l'acide lactique. Les bactéries lactiques sont définies comme des cellules vivantes, procaryotes, hétérotrophes et chimio-organotrophes (**DE ROISSART, 1986**). Elles forment un groupe hétérogène composé de coques et de bacilles, dont la principale caractéristique est la production d'acide lactique à partir de la fermentation des sucres (**BADIS et al, 2005**).

Les bactéries lactiques regroupent les bactéries à coloration de Gram positif. Généralement, immobiles sporulées et microaérophiles. Elles ne possèdent ni catalase, ni nitrate-réductase, ni cytochrome-oxydase (**KÖNING et FÖRHLICH, 2009**).

Les bactéries lactiques regroupent 13 genres dont les: *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Bifidobacterium*, *Carnobacterium*, *Oenococcus*, *Weissella*, *Aerococcus*, *Tetragenococcus* et *Vagococcus*. (**DORTU, 2009**) Ces bactéries ont la capacité de fermenter les sucres (glucose, fructose, mannose, galactose, saccharose et lactose) en acide lactique (**KANDLER et WEISS, 1986**).

Les bactéries lactiques utilisées dans l'alimentation sont considérées comme non pathogènes. Cependant, parmi elles quelques espèces du genre *Streptococcus* et *Enterococcus* sont considérées comme des pathogènes opportunistes (**AGUIRRE et COLLINS, 1993**).

Elles ont des exigences nutritionnelles nombreuses (acides aminés, peptides, sels, acides gras et glucides) (HOLZAPFEL *et al*, 2001 ; GEVERS, 2002).

3Habitat

Les bactéries lactiques sont ubiquistes : elles sont retrouvées dans différentes niches écologiques comme le lait et les produits laitiers, les végétaux, la viande le poisson, les muqueuses humaines et animales ainsi que dans le tractus digestif, ce qui explique leur température de croissance hétérogène (MAYO *et al*, 2010 ; KLEIN *et al*, 1998).

- Les espèces du genre *Lactococcus* sont isolées du lait ou des végétaux qui sont les réservoirs naturels de la plupart de ses espèces. L'espèce *Lactococcus lactis subsp.lactis* est isolée pour la première fois à partir du lait fermenté par Lister en 1873 et reconnue comme agent primaire de l'acidification du lait caillé (SANDINE, 1988).
- Les espèces du genre *Leuconostoc* sont isolées du lait, des produits laitiers, des fruits, des légumes (en particulier la betterave), des végétaux en fermentation (comme la choucroute), des produits de la panification et des solutions visqueuses de sucre dans les sucreries (DEVOYOD et POUILLAIN, 1988).
- Les espèces du genre *Pediococcus* sont présentes surtout dans les végétaux en décomposition, parfois dans les boissons alcoolisées, le lait, les différents fromages (parmesan et autres fromages italiens) et les préparations culinaires (Saucisses, anchois salés ou sauce de soja) (CHAPMAN et SHARPE, 1981 ; DELLAGLIO *et al*, 1994).
- Les espèces du genre *Lactobacillus* sont présentes dans plusieurs milieux différents : dans le lait et les fromages (*Lb. casei subsp.casei*, *Lb.plantarum*, *Lb.curvatus* et *Lb.brevis*), dans le lait fermentés (*Lb.kefir*, *Lb. bsrevis* et *Lb.fermentum*), dans les produits végétaux fermentés, les marinades, l'ensilage, le vin et les viandes fraîches ou fermentées (*Lb.brevis*, *Lb.curvatus*, *Lb.buchneri* et *Lb.san francisco*) (DEMAZEAUD, 1996).

4 Historique et classification

Les bactéries lactiques sont des très anciens micro-organismes découverts dans des sédiments datant de 2.75 milliards d'années, avant l'apparition de l'oxygène dans l'atmosphère ce qui pourrait expliquer leur caractère anaérobie (QUIBERONI *et al*,2001). Elles sont apparues avant les cyanobactéries photosynthétique (QUIBERONI *et al*,2001 ; DRIDER et PREVOST,2009).

La classification phénotypique des bactéries lactiques est fondée sur la morphologie, la croissance à différentes températures, le mode de fermentation des sucres, la capacité de croissance à différentes concentrations de sel, la tolérance au pH acides et alcalins, la configuration de l'acide lactique, l'hydrolyse de l'arginine et la formation d'acétoïne. Par ailleurs, une classification selon la composition de la paroi cellulaire (DEAMBROSINI *et al*, 1996) incluant la nature des acides gras qui la composent, a été proposée (GILAROVA *et al*, 1994).

Une autre classification, basée sur la nature des produits du métabolisme bactérien obtenus à partir des glucides a subdivisé les bactéries lactiques en trois groupes (MCLEOD *et al*, 2008). Le groupe I renferme majoritairement les Lactobacilles homofermentaire. Le groupe II contient les bactéries hétérofermentaire et regroupe les espèces appartenant au des genres *Leuconostoc*, *Oenococcus*, et *Weissella*, ainsi que quelques espèces appartenant au genre *Lactobacillus*. Le groupe III regroupe quant à lui quelques espèces appartenant aux genres *Lactobacillus* et la majorité des espèces appartenant aux genres *Enterococcus*, *Lactococcus* et *Streptococcus*. Ce dernier qui occupe une position intermédiaire entre les groupes I et II, renferment ainsi des espèces capables d'être homo-ou hétérofermentaire selon les conditions environnementales (MCLEOD *et al*, 2008).

D'après LUDWING *et al*, (2008), le phylum Firmicutes comprend trois classes :

Bacilli, *Clostridia* et *Erysipelotrichi*. Appartenant à la classe *Bacilli* , les bactéries lactiques sont divisées en trois familles :

- Famille des *lactobacillaceae* comportant les *Lactobacillus*, *Paralactobacillus* et *Pediococcus*.
- Famille des *Leuconostocaceae* contenant les *Leuconostoc*, *Oenococcus* et *Weissella*.
- Famille des *Streptococcaceae* comprenant les *Streptococcus*, *Lactococcus* et *Lactovum*.

Historiquement, le genre *Bifidobacterium* était aussi considéré comme faisant partie du groupe des bactéries lactiques grâce à la similarité de ses propriétés physiologiques et biochimiques et à sa présence dans le même habitat écologique, tel que le tube gastro-intestinal (KLEIN *et al*, 1998).

5 Caractéristiques des genres liés aux produits laitiers

Six genres de bactéries lactiques sont associés au lait et aux produits laitiers ; il s'agit de *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Streptococcus* et *Enterococcus*

(BULUT, 2003).

5.1 *Lactobacillus*

C'est l'un des plus importants genres des bactéries lactiques. Il appartient à la famille des *Lactobacillaceae* contenant aussi les genres *Paralactobacillus* et *Pediococcus*. Il comprend 96 espèces et 16 sub-espèces qui sont adaptées à des endroits spécifiques et ne sont pas trouvées généralement en dehors de leurs habitats (DE VOS *et al*, 2009).

La classification remaniée par KANDLER et WEISS, (1986) les subdivise en 3 groupes selon leur type fermentaire :

- Groupe I : anciennement appelé *Thermobacterium*. Il regroupe les lactobacilles homofermentaires stricts et thermophiles, ils sont incapables de fermenter les pentoses et le gluconate. Ces bactéries fermentent les hexoses par la voie d'Embden-Meyerhof, en produisant exclusivement de l'acide lactique, elles se développent à 45°C mais pas à 15°C. Leurs cellules sont longues, droites souvent en palissades (BOTTAZI, 1988).
- Groupe II : anciennement appelé *Streptobacterium*. rassemble les lactobacilles hétérofermentaires facultatifs et mésophiles qui se développent à 15°C. les hexoses sont fermentés par la voie d'Embden-Meyerhof, en produisant exclusivement de l'acide lactique (mais pour certaines souches : du lactate, de l'acétate, de l'éthanol et du formiate), celle des pentoses et du gluconate peuvent être dégradés par la voie hétérofermentaire avec une production d'acide lactique et d'acide acétique par une phosphokétolase inductible. Leurs cellules sont courtes, souvent arrangées en filaments (BOTTAZZI, 1988).
- Groupe III : anciennement appelé *Betabacterium*. Ces espèces ont un métabolisme strictement hétérofermentaire, la fermentation des hexoses produit de l'acide lactique, de l'acide acétique (ou de l'éthanol) eu de CO₂, celle des pentoses, de l'acide lactique et de l'acide acétique, ces bactéries possèdent une phosphokétolase,

c'est un groupe qui ressemble des espèces relativement hétérogènes, surtout mésophiles, les cellules sont courtes, droites et séparées (BOTTAZZI, 1988).

Les lactobacilles, de par leur variété, sont présents dans des milieux très différents (NOVEL, 1993) : cavité buccale, tractus digestif, organes génitaux chez l'homme, produits végétaux, lait et produits laitiers (différents type de fromages), produits carnés, poissons marnés ou fumés.

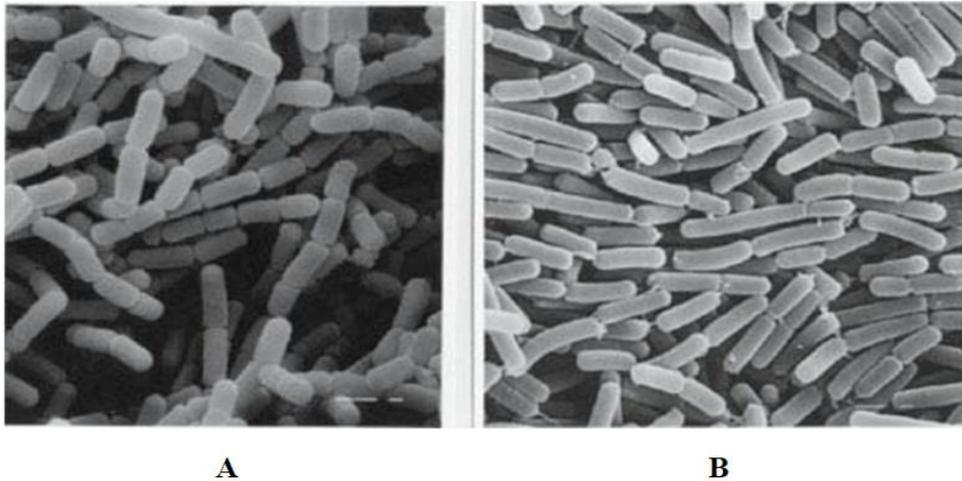


Figure02 : Morphologie de **A** : *Lactobacillus casei* et **B** : *Lactobacillus acidophilus* (Examen en microscopie électronique, $\times 7000$) (Photo BOTTAZZI, 1988)

5.2 *Carnobacterium*

Ce genre a été créé par (COLLINS *et al*, 1987) sont des bacilles hétérofermentaires souvent trouvés dans les viandes de bœuf, de poisson et volaille emballées sous vide et stockées à basse température (NOVEL, 1993 ; JOFFRAND *et al*, 2006) . Ils ont originellement décrit comme Lactobacille mobile, *Lb gallinarum*, *Lb divergens*, *Lb piscicola* (NOVAL, 1993) une étude taxonomique de ces différentes souches a permis de les regrouper après hybridations ADN_ADN, dans un nouveau genre, *Carnobacterium*.

Morphologiquement proche des *Lactobacillus* (petits bâtonnets isolés, par paires ou en courtes chaînes), ils s'en différencient par leur production de l'acide lactique L (+) et leur incapacité à se développer dans les substrats à base d'acétate. En général, les *Carnobacterium* peuvent croître à un pH relativement élevé (par exemple, pH 9) tandis que les lactobacilles ne peuvent pas s'y développer (SCHILLINGER et LUCKE, 1987). La croissance est possible à 0°C et 10°C mais pas à 45° C, ni en présence de NaCl 18% (LARPENT, 1996).

Ce genre comprend 4 espèces fréquemment associées aux aliments : *C. divergens*, *C. piscicola*, *C. mobile* et *C. gallinarum*. Ils sont isolés de produits carnés, ou de produits de la mer, saumon fumé mais certains ont également été isolés de fromages.

5.3 *Lactococcus*

Le genre *Lactococcus* fait partie de la famille des *Streptococcaceae* comprenant aussi *Streptococcus* et *Lactovum*. Il rassemble cinq espèces dont les exigences nutritionnelles sont complexes et variables: *Lc. graviae*, *Lc. lactis*, *Lc. raffinolactis*, *Lc. piscium* et *Lc. plantarum*. Elles sont des habitantes typiques des plantes, des animaux et des produits dérivés de ces organismes (DE VOS *et al*, 2009). Pour leur isolement, une variété des milieux complexes est utilisée (gélose au sang, le milieu Elliker, MRS, M17...). Après une incubation qui dure de 1 à 2 jours, des colonies petites, translucides à blanchâtres, lisses et circulaires sont formées (DE VOS *et al*, 2009).

Les cellules de *Lactococcus* sont sphériques ou ovoïdes, isolées, en paires ou en chaînes. Elles sont non hémolytiques, aéroanaérobies facultatives à microaérophiles. Elles sont toutes mésophiles, la température optimale de croissance varie de (10 à 40°C), certaines peuvent croître à une température inférieure à 7°C après une incubation de 10 à 14 jours.

5.4 *Pediococcus*

Les *Pediococcus* sont des coques homofermentaires dont la particularité est le regroupement en tétrade. Ils sont mésophiles, le plus souvent incapable d'utiliser le lactose, et leur développement nécessite la présence de divers facteurs de croissance. Certaines espèces se distinguent par leur capacité à se développer à des teneurs en sels très élevées, comme *Pediococcus halophilus*, renommé *Tetragenococcus halophilus* et *Tetragenococcus muriaticus* qui tolère jusqu'à 18% de NaCl (PILET *et al*, 2005).

5.5 *Leuconostoc*, *Oenococcus* et *Weissella*

Les cellules de *Leuconostoc* sont des coques en paires ou en chaînes comme les Streptocoques mais les *Leuconostoc* sont des bactéries hétérofermentaires produisant de l'acide D (-) lactique, de l'éthanol et du CO₂. Des études phylogénétiques, basées sur les séquences des ADN 16S et 23S, ont montré que les espèces du genre *Leuconostoc* sont hétérogènes et peuvent être divisées en trois groupes : un groupe comprenant *Leuconostoc paramesenteroides*, un groupe formé par *Leuconostoc oeni* (actuellement reclassé dans le genre *Oenococcus*) et un groupe rassemblant *Leuconostoc mesenteroides* (espèce type du genre) ainsi que les autres espèces du genre *Leuconostoc*. (MARTINEZ- MURACIA et COLLINS, 1990).

Les espèces du genre *Weissella* sont constituées de courts bacilles ou de coccobacilles ou des coques ovoïdes, à Gram positif, se présentant de manière isolée ou groupés par deux ou en courtes chaînes, non sporulés, immobiles, catalase négative (WALTER *et al*, 2001).

5.6 *Bifidobacterium*

Les cellules de *Bifidobacterium* se caractérisent par leur forme très irrégulière, souvent en V et Y, mais pouvant être coccoïde. Elles se différencient des autres bactéries lactiques par leur caractère anaérobie, leur G + C % élevé, et la présence d'une enzyme, la fructose-6-phosphate phosphokétolase. Celle-ci leur permet de fermenter les hexoses en produisant de l'acide acétique et de l'acide lactique (rapport 3:2), ainsi qu'en moindre proportion de l'éthanol et d'autres acides organiques. Cette fermentation « lactique » a conduit à les rapprocher du groupe des bactéries lactiques. Leur température optimale de croissance est comprise entre 37°C et 41°. Elles se développent à pH supérieur à 5. Elles sont isolées de l'homme et des animaux (Laurent, 1998).

5.7 *Enterococcus*

Les *Enterococcus* représentent le groupe des entérocoques, ils sont composés de streptocoques fécaux (*Enterococcus faecalis* et *Enterococcus faecium*). Ce genre comprend des cellules ovoïdes isolés, en paires ou en courtes chaînes. Il se caractérise par sa tolérance à 6,5% de NaCl, au pH 9,6 et par la croissance à 10°C et 45°C avec une température optimale de croissance de 35°C à 37°C (ZHANG et CAI, 2014). Les entérocoque peuvent être mobile, homofermentaires, généralement différenciés par la fermentation de l'arabinose et le sorbitol (TAMIME, 2002 ; HO *et al*, 2007).

5.8 *Streptococcus*

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

Streptococcus thermophilus se différencie par son habitat (lait et produit laitier) et son caractère non photogène. La résistance à la température, la capacité de croître à 25°C et le nombre limité des hydrates de carbone permettent de distinguer les *St. thermophilus* de la plupart des autres streptocoques (HADDIE, 1986 ; PILET *et al*, 2005).

5.9 *Vagococcus*

Les espèces du nouveau genre *Vagococcus* sont facilement confondues avec les Lactocoques au niveau morphologique, mais ces deux genres sont clairement distincts par leur composition en acides gras. Certaines espèces de *Vagococcus* sont mobiles (TEIXEIRA *et al*, 1999).

6 Propriétés fonctionnelles et technologiques des bactéries lactiques

L'utilisation des bactéries lactiques pour une application industrielle déterminée par leurs propriétés fonctionnelles et technologiques.

- **Activité acidifiante**

L'activité acidifiante est une activité métabolique essentielle chez les bactéries lactiques. Elle résulte de la transformation du lactose (ou d'un autre sucre assimilable) en acide organique, ce qui conduit à l'acidification du produit. Elle conditionne pour une grande part l'aptitude du lait à la coagulation comme elle assure l'inhibition des microorganismes indésirables (MONTEL *et al*, 2005 ; CORRIEU et LUQUET, 2008).

La majorité des bactéries utilisées dans les produits laitiers ont un métabolisme homofermentaire car elles produisent presque exclusivement de l'acide lactique à partir des sucres, soit quatre mole d'acide lactique formé à partir d'une mole de lactose consommé. Cependant, les BL thermophiles sont souvent incapables de métaboliser le galactose issu de la scission du lactose. Dans ce cas seules moles d'acide lactique sont produites (CORRIEU et LUQUET, 2008).

- **Activité aromatisant**

Les bactéries lactiques peuvent produire de nombreux composés aromatiques, principalement à partir du lactose, du citrate, des acides aminés et des matières grasses (CORRIEU et LUQUET, 2008). Ainsi, les acides lactiques et acétiques produits par *Lc.lactis subsp.lactis* et *Lc.lactis subsp.cremoris* confèrent au laits fermentés une arôme caractéristique ; celle des fromage maturés est associées à plusieurs métabolites tels que : l'acétaldéhyde, le diacétyl, l'acétoïne et le 2-3- butylène-glycol à partir du citrate par *Lc.lactis subsp.lactis.lactis var.*

- **Activité gazogène**

Les ferments contenant des BL hétérofermentaires (principalement du genre *Leuconostoc*) ou capables de métaboliser le citrate (*Leuconostoc* ou souches de *Lc.lactis subsp. Lactis var. diacetylactis*) produisent des quantités significatives de CO₂. Cette production favorise la formation des ouvertures dans certain type de fromages comme elle peut conduire à des défauts dans d'autres types (CORRIEU et LUQUET, 2008).

- **Propriétés enzymatique**

La nutrition azotée dans le lait constitue l'un des principaux facteurs limitant la croissance des BL auxotrophes pour un nombre variable d'acides aminés. Certaines espèces possèdent un système protéolytique leur permettant d'utiliser les acides aminés issues de la dégradation des protéines et des peptides. Cette activité participe au développement de la texture et de la saveur dans les produits laitiers.

L'activité lipolytique présente, de plus, un intérêt pour les applications fromagères (CORRIEU et LUQUET 2008 ; MOZZI *et al*, 2010).

- **Propriétés texturantes**

Plusieurs souches des BL sont capables de produire des exopolysaccharides (EPS) c'est-à-dire des polysaccharides à l'extérieur de la paroi cellulaire qui sont, soit attachés à cette paroi sous forme de capsule, soit excrétés dans l'environnement extracellulaire sous forme de gomme (SALMINEN *et al*, 2004 ; DEVOYOD et POUILLAIN, 1988). Cette propriété est utilisée principalement pour améliorer les qualités organoleptiques des produits laitiers frais fermentés.

7 Principales voies fermentaires

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

La fermentation des sucres s'effectue essentiellement en trois étapes (ATLAN *et al*, 2008) :

- ✓ Le transport du sucre à travers la membrane cellulaire.
- ✓ Le catabolisme intracellulaire du sucre.
- ✓ Formation et expulsion extracellulaire des métabolites terminaux.

Selon le genre ou espèce, les bactéries lactiques utilisent principalement l'une des deux voies majeures du métabolisme des sucres. Il s'agit des voies homofermentaire (Embden-Meyerhof-Parnas, EMP) et hétérofermentaire (voie des pentoses-phosphate) (ATLAN *et al*, 2008).

- **La voie homofermentaire ou voie d'Embden-Meyerhof Parnas (EMP)**

Les bactéries lactiques homofermentaires comprennent les espèces de Lactocoques, Pediocoques, ainsi que certains Lactobacilles. Cette voie conduit dans des conditions optimales de croissance à la production de deux molécules de lactate et deux molécules d'ATP par molécules de glucose consommée. Le fructose 1,6-bis phosphate aldolase est une enzyme clé indispensable au fonctionnement de la voie EMP (THOMPSON et GENTRY-WEEKS, 1994).

- **La voie hétérofermentaire ou voie des pentoses phosphate**

Les bactéries lactiques qui fermentent le glucose en produisant, en plus de l'acide lactique, de l'acétate, de l'éthanol et du CO₂ sont dites hétérofermentaire. Les principaux groupes de bactéries présentant ce type de métabolisme sont les *Leuconostoc* et certains Lactobacilles. Ces microorganismes sont dépourvus le système de PTS (THOMPSON et GENTRY-WEEKS, 1994).

CHAPITRE III

Matériel et méthodes

Chapitre III : Matériel et méthodes**1 Objectif**

- ❖ Les objectifs de cette étude se basent autour des points suivant :
- Isolement des bactéries lactiques à partir de différents échantillons de S'men élaborée à partir de lait de chamelle de la région Sud d'Algérie (Ouargla).
- L'étude des caractéristiques phénotypiques, physiologiques et biochimiques des isolats.
- L'identification phénotypique, physiologique et biochimique des bactéries lactiques à partir de S'men de lait de chamelle.

2 Lieu et période d'étude

Ce travail a été réalisé au niveau des laboratoires pédagogiques de Microbiologie Appliquée de la Faculté d'Université de Kasdi Merbah- Ouargla. Il consiste à l'isolement et l'identification des bactéries lactiques à partir de S'men camelin, cette étude a été effectuée durant la période du 07 Février jusqu'à 02 Mai 2021.

3 Echantillons de S'men

Trois échantillons de S'men camelin ont été utilisés dans cette étude. Ils ont été pris à partir de la région "El-Bakrat" route de Hassi Massoud de la wilaya de Ouargla, et ils ont tous été préparés 3 mois en avant à partir du lait de chamelle par la façon traditionnelle utilisée avec le S'men bovin, les prélèvements ont été mis dans des boîtes stériles dans des conditions d'asepsies autant que possible. Les produits prélevés doivent être transportés à température ambiante, les cultures doivent être réalisées immédiatement.

4 Isolement et purification des souches**4.1 Préparation des dilutions décimales et isolement**

1g de l'échantillon est pesé aseptiquement dans 9 ml d'eau physiologique et des dilutions décimales sont réalisées (10^{-1} à 10^{-3}). Les dilutions ainsi préparées, un ml de la dilution appropriée est ensemencé en masse sur gélose MRS ou M17.

L'incubation est faite à 37°C jusqu'à la croissance de germe (**NORME NF ISO 7218, 2007**).

4.2 Purification

Afin de purifier les souches, des repiquages successifs sont effectués sur les bouillons (MRS ou M17) et gélose (MRS ou M17). La purification des souches consiste à les ensemencer en stries sur des boîtes de Pétri coulées avec des milieux MRS (solide). Les boîtes

sont ainsi incubées à 30°C pendant 24h. L'opération est répétée jusqu'à l'obtention des colonies pures (ZAROUR *et al*, 2013). Les différentes étapes réalisées pour la pré-identification des souches lactiques à partir de S'men camelin sont présentés dans le diagramme suivant.

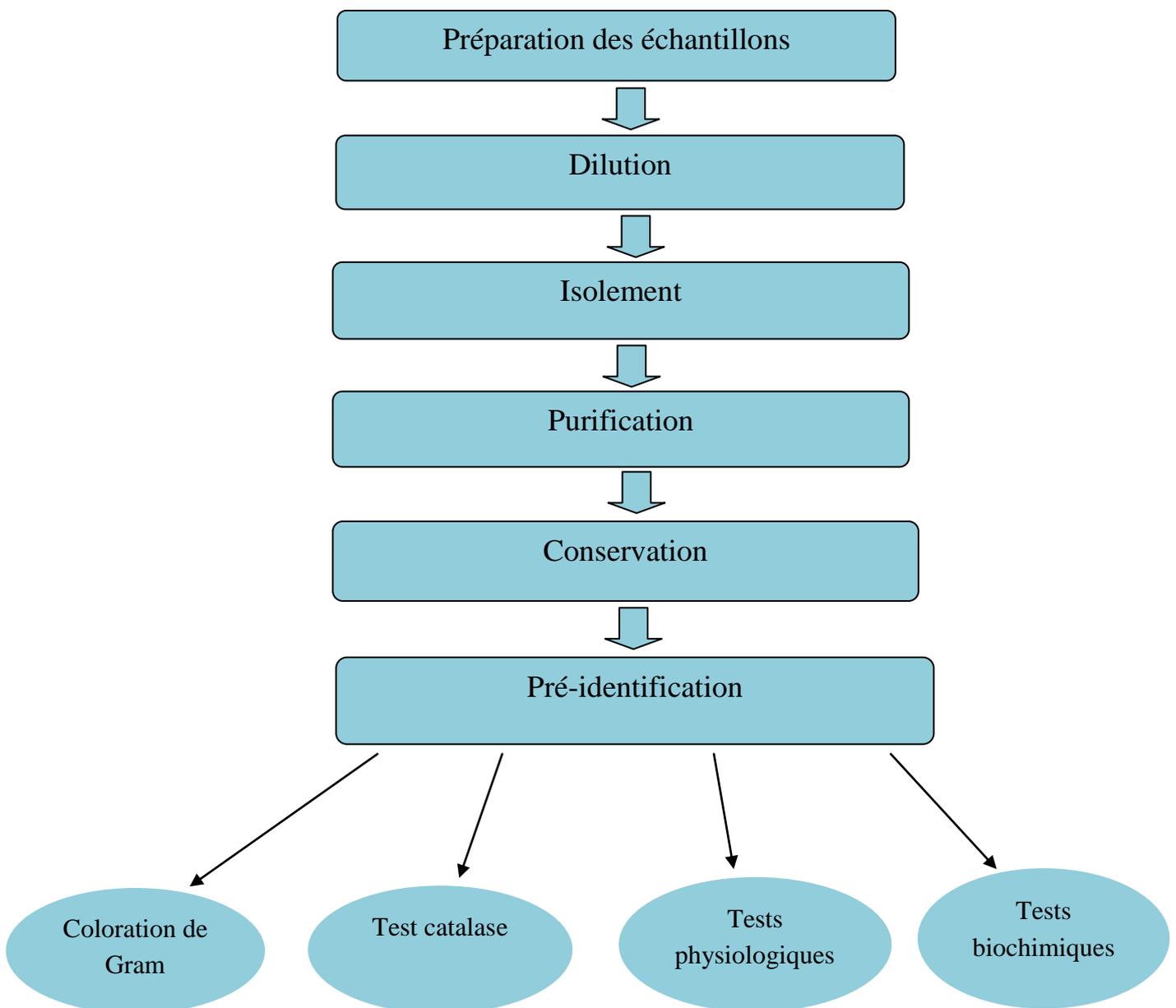


Figure 03 : Diagramme de pré-identification des souches lactiques à partir de S'men camelin.

4.3 Conservation des bactéries lactiques

4.3.1 Conservation à courte terme

La conservation des isolats purifiés est réalisée par ensemencement sur gélose inclinée. Après incubation à 30°C pendant 18 heures, les tubes sont conservés à 4°C. Le renouvellement des cultures se fait tous les trois semaines (SAIDI *et al*, 2002).

4.3.2 Conservation à long terme

A partir des jeunes cultures (18h) sur milieu liquide, les cellules sont récupérées par centrifugation à 4000t/min pendant 10 min. Une fois le surnageant éliminée, on ajoute le milieu de conservation sur le culot. Le milieu de conservation contient du lait écrémé 0.2% d'extrait de levure et 30% de glycérol. Les cultures sont conservées en suspension dense et en tubes Eppendorfs à -20°C. En cas de besoin, les cultures sont repiquées dans le lait écrémé à 0.5% d'extrait de levure, deux fois avant utilisation (SAIDI *et al*, 2002, GUESSAS et KIHAL, 2004).

Les différentes étapes de conservation à longue durée des bactéries lactiques purifiées sont citées dans le diagramme de la figure 03.

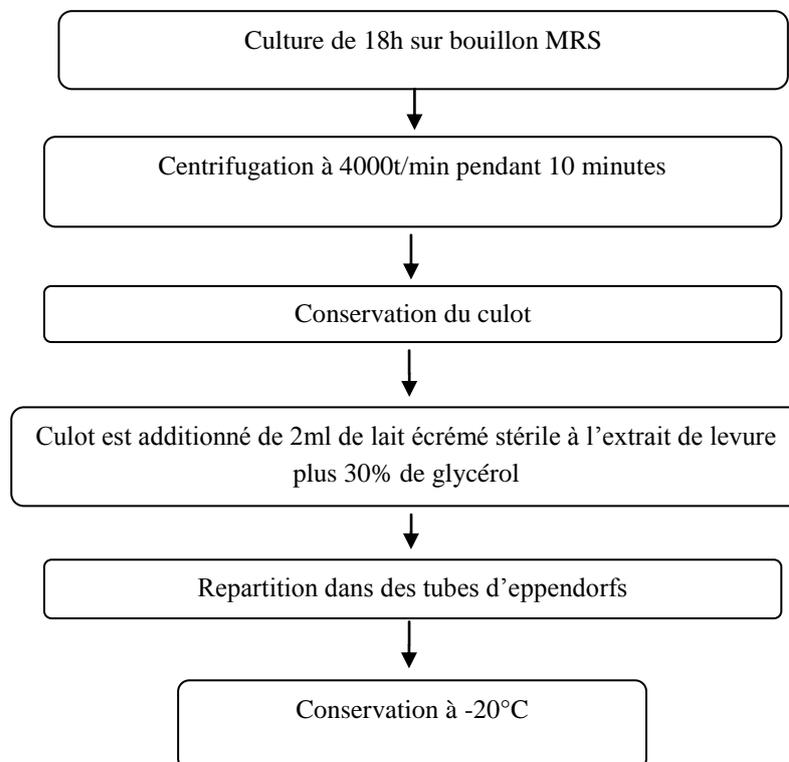


Figure 04: Etapes de conservation à longue durée des bactéries lactiques purifiées (SAIDI *et al*, 2002)

5 Pré-identification des bactéries lactiques

L'identification des isolats a été réalisée par des techniques classiques de microbiologie, basées sur la recherche d'un certain nombre de caractères morphologiques, physiologiques et biochimiques, ont été reprises dans ce travail. Toutes les techniques d'identification ont été décrites par (LARPENT, 1997 ; IDOUI, 2008 ; GUSILS *et al*, 2010).

Il existe d'autres tests plus récents et plus précis ou sont utilisées des techniques moléculaires et génétiques (MARCONI *et al*, 2000).

5.1. Etude morphologique

Cette étude basée sur l'observation macroscopique et microscopique.

5.1.1. Examen macroscopique

Ce test permet de mettre en évidence la morphologie de colonie obtenue sur des milieux solides, il s'agit d'une observation à l'œil nu qui consiste à déterminer les paramètres suivants (la forme, taille, pigmentation, contour, viscosité...)

5.1.2 Examen microscopique

Après l'examen macroscopique des colonies sur gélose MRS, et dans le but d'écartier tout ce qui ne peut pas être une bactérie lactique, les isolats ont été soumis à la coloration de Gram (voir l'Annex02).

La coloration de Gram est effectuée sur frottis. Elle permet de distinguer deux types de bactéries, les bactéries Gram négatif (G-) et les bactéries positives (G+). Celles-ci diffèrent de part la composition de la paroi, notamment par l'épaisseur du peptidoglycane, par la présence d'une membrane externe (LARPENT, 1990).

Les bactéries Gram positives et catalase négatives sont présumées des bactéries lactiques.

5.2 Tests physiologiques

5.2.1 Test de catalase

Le test catalase sert à démontrer si la bactérie possède l'enzyme catalase qui dégrade l'eau oxygénée (H₂O₂) en eau métabolique (H₂O) et oxygène (O₂). L'activité catalytique consiste à prélever une colonie sur gélose MRS ou M17 et dissociée dans une goutte d'eau

oxygénée (H₂O₂) à 10 volume ; l'apparition de bulles révélant le dégagement d'oxygène (AHMED et IRENE, 2007).

5.2.2 Croissance à différentes températures

Ce test est important car il permet de distinguer les bactéries lactiques mésophiles des bactéries lactiques thermophiles.

Après inoculation du bouillon MRS (5ml pour chaque tube) par les cultures pures, les tubes sont incubés pendant 24h à 48h aux températures 4°C, 30°C, 37°C, 45°C, au bout de ce délai, la croissance est appréciée par l'apparition de trouble.

5.2.3 Test de thermorésistance

Ce test permet d'isoler ou identifier les souches résistantes à une température de 63.5°C pendant 30 minutes. Les souches sont inoculées en milieux liquide (MRS ou M17) (5ml pour chaque tube), la culture bactérienne doit être jeune pure.

Les tubes sont introduites dans un bain marie à 63.5°C pendant 30 minutes, et d'autres tubes sont introduites dans un bain marie à 55°C pendant 15 minutes. Puis incubés à 37°C durant 24 à 48 heures.

Un résultat positif se traduit par un trouble (DE ROISSART et al, 2006)

5.2.4 Test de croissance à différents pH

Le bouillon MRS ajusté à des pH différents avec une solution de NaOH ou de l'HCl, stérilisé puis des tubes contenant 5ml de milieu sont inoculé avec toutes les souches.

5.2.4.1 La croissance à pH 9.6

Le but de ce test c'est de différencier entre *Enterococcus* et *Streptococcus thermophilus*.

Après ensemencement dans le milieu MRS à pH 9,6. La culture est incubée à 37°C pendant 24h. La croissance se traduit par l'apparition d'un trouble dans le tube.

5.2.4.2 La croissance à pH 4.8

Il permet d'identifier le genre *Lactobacillus*. On refait les mêmes étapes que celles décrites à pH 9,6. La croissance se traduit aussi par l'apparition d'un trouble dans le tube.

5.2.5. La tolérance de la salinité

Après avoir une culture jeune des isolats (culture de 18h à 30°C), ces derniers sont ensemencés dans un milieu MRS liquide contenant 3 %, 6.5% et 9.6% de chlorure de Sodium (NaCl) et incubés à 30°C avec un témoin MRS liquide sans sel pendant 5 jours (**GUESSAS et KIHHEL, 2004**).

La croissance des bactéries est appréciée par l'apparition d'un trouble dans les tubes (**LEVEAU et BOUIX, 1980**).

5.2.6. La culture sur le lait de Sherman

Un volume de 5 ml du lait écrémé additionné de 0,1 % ou 0,3 % de bleu de méthylène a été versé dans chaque tube à essais. Les tubes sont stérilisés à 110°C pendant 10 min, ensemencés puis incubés à 30°C pendant (16-72h). Si le lait reste entièrement bleu, la bactérie ne peut pas se développer et elle est donc sensible au bleu de méthylène. Le virage de couleur du lait vers le blanc est traduit par une réduction de bleu de méthylène, résultat des fermentations bactériennes. Un anneau bleu, dû à l'action de l'oxygène présent dans le tube, se forme à la surface. Dans ce cas la bactérie est résistante au bleu de méthylène (**MAMI *et al*, 2013**)

5.3 Tests biochimiques

5.3.1 Recherche de l'arginine dihydrolase (ADH)

La recherche de cette enzyme est intéressante pour la caractérisation des bactéries lactiques. Pour réaliser ce test, La gélose M16BCP a été ensemencée en surface par les souches isolées à partir de S'men camelin.

Les bactéries lactiques utilisant le lactose donne une coloration jaune en acidifiant le milieu, alors que d'autres sont capables d'utiliser l'arginine et réalcaliniser le milieu en changeant la couleur du jaune au violet (**THOMAS, 1973**).

5.3.2. Production de l'acétoïne (Acétyle-Méthyle-Carbinol)

Sur milieu de Clark et Lubs, et après ensemencement des souches et incubation à 37°C pendant 24 à 48 h. La production de l'acétoïne est testée par la réaction de Vogues-Proskauer (VP) est s'applique de la façon suivante :

Dans un tube à essai on introduit 1ml de la culture à tester, on ajout 5 gouttes du réactif VPI (solution de soude NaOH à 16% dans l'eau distillée) et le même volume du réactif VPII (α -naphthol à 6% dans l'alcool à 95%).

On agite soigneusement les tubes et laisse reposer 5 à 10 min à température ambiante. Le test positif se traduit par l'apparition d'un anneau rose à la surface du milieu, 10min (GUIRAUD, 1998).

5.3.3 Recherche du type fermentaire

Un tube contenant le bouillon MRS (contient le glucose au lieu de lactose) et une cloche de Durham est inoculé avec la souche à étudier après incubation de 24h à 30°C, la présence du gaz dans la cloche indique un métabolisme hétérofermentaire Alors que leur absence indique que les bactéries sont homofermentaires (HARIRI *et al*, 2009).

5.3.4 Production de dextrane

On utilise le milieu : **Mayeau, Sandine et Elliker, 1962** (la composition du milieu en Annexe). La production du dextrane à partir du saccharose est mise en évidence sur milieu solide MSE. Les souches productrices de dextrane sont caractérisées par la formation des colonies larges, visqueuses et gluantes (MAYEUX *et al*, 1962).

5.3.5 Utilisation de citrate

L'utilisation de citrate est étudiée sur milieu KMK (KEMPLER et MCKAY, 1980) qui contient une solution de ferricyanure de potassium et une solution de citrate ferrique. La présence du citrate dans le milieu inhibe la réaction entre l'ion ferrique et le potassium ferricyanide. La gélose a été ensemencée en surface et incubée à 37°C pendant 18h-72h

Après 18h-72h d'incubation les colonies qui ferment le citrate (grâce à la citratase qui est une enzyme existe dans certaines espèces de *Leuconostoc*) lancent la réaction entre ces ions ils apparaissent sous forme de colonies bleues ou ayant un centre bleu. Les colonies incapables de fermenter le citrate reste blanc.

5.3.6 Hydrolyse de l'esculine

L'hydrolyse de cet hétéroside est mise en évidence sur le milieu gélose à l'esculine (DEVOYOD et POUILLAIN, 1988 ; LARPENT-GOURGOUD *et al*, 1997), inoculer le milieu à partir d'une réaction positive se traduit par un noircissement du milieu dû aux sels

ferriques solubles et l'esculine. Pour les bactéries négatives, le milieu reste inchangé mais il ya croissance.

5.3.7 Utilisation des carbohydrates

La fermentation des carbohydrates a été menée sur milieu MRS sans extrait de viande, sans sucre et additionné au bleu de bromothymole (BBT) comme indicateur de pH qui remplace le pourpre de bromocrésol BCP (MRSBCP-EV). La source de carbone est représentée par l'un des sucres suivant : glucose, saccharose, lactose, fructose, galactose, mannitol, xylose et arabinose (**BADIS et al, 2004**).

Des solutions sucrés ont été préparé de 1g de chaque sucre avec 10ml de l'eau distillé stérile, le tout a été homogénéisé puis stérilisé à 100°C pendant 15 min au bain marie(**BELARBI, 2011**).

Deux cultures jeunes de chaque souche ont été préparées, puis une centrifugation de chaque culture dans un tube d'ependorf a été effectuée à 8000 tours pendant 10min.

Le culot a été récupéré et additionnée à l'eau distillée stérile puis une autre centrifugation a été réalisée pour éliminer les restes de milieu de culture et obtenir un culot cellulaire pur ; ce rinçage est réalisé deux fois consécutives. Sur ce culot, 1ml de bouillon MRS.BCP a été ajouté et bien homogénéisé (**HANSAL, 2015**).

L'ensemencement a été réalisé dans des microplaques contenant des puits, chaque ligne verticale comporte un sucre qui sera utilisé par différentes souches, chaque puits contient 200µl de MRS.BCP avec 100µl de la suspension bactérienne, le tout a été recouvrir par une couche de huile de paraffine (**BADIS et al, 2005**).

La microplaquette a été incubée à 30°C pendant 72h et vérifié chaque 24h (**GUESSAS, 2006**). Le virage du milieu de vert au jaune indique que la souche lactique fermente la source de carbones au cours de sa croissance (**BAUER et al, 2005**).

Les étapes et les milieux utilisés dans le test de fermentation des sucres sont mentionnés dans le diagramme de la figure 05.

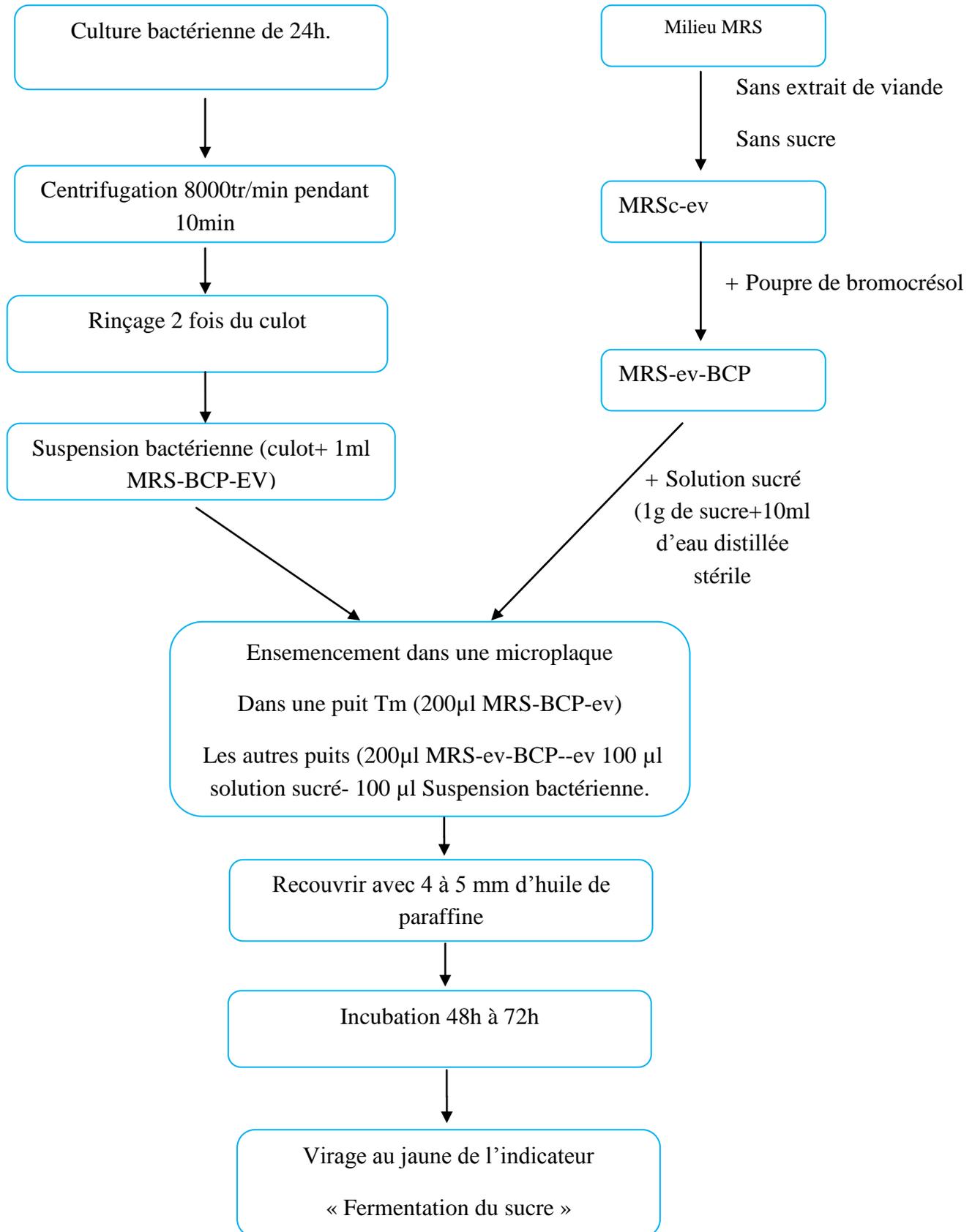


Figure 05: Protocole de fermentation des carbohydrates par les souches isolées à partir de S'men camelin.

CHAPITRE IV

Résultats et Discussion

CHAPITRE IV : Résultats et Discussion

1 Isolement et purification

1.1 Isolement

L'examen macroscopique sur milieu solide MRS ou M17 montre deux types de colonies, des colonies circulaires, bombées avec couleur blanche et une taille de 1 à 2mm de diamètre, la deuxième forme de colonie est irrégulière, érodée, de couleur crème et de 1 à 3 mm de diamètre.

1.2 Purification

✓ Sur milieu solide

L'aspect macroscopique, permet de décrire des colonies obtenues sur milieu solide MRS après incubation à 30°C pendant 24h, présentent des critères relativement comparable aux critères de colonies de bactéries lactiques données par **ANA BELENFLOREZ *et al*, (2005)**. Nous avons constaté sur milieu solide des colonies pures de même taille d'environ 1 à 2 mm de diamètre, de forme circulaire, et de couleur blanchâtre.

✓ Sur milieu liquide

Dans le milieu MRS liquide la croissance des bactéries apparait sous formes de trouble. Et pour une souche pure cette trouble est concentrée au fon du tube à la recherche des conditions anaérobiques de ces bactéries avec une zone transparente de 5mm à la surface du milieu liquide (Figure 02, Annexe03) (**KIHAL, 1996;CARR *et al*, 2002**).

2 Pré- identification

2.1 Coloration de Gram

L'aspect microscopique des souches après coloration de Gram a révélée deux formes de cellules : Coques et Bâtonnets. Les coques sont disposées en paires (diplocoques) ou en courtes chainette. Tandis que la forme bâtonnet est associée en paire ou en chainette (Figure 03, Annexe03)

2.2 Teste de recherche de la catalase

Selon les caractéristiques phénotypiques des bactéries lactiques, les souches qui ont été testées ne possèdent pas l'enzyme catalase donc le test est négatif.

Sur 28 isolats purifiés et examinés, on a sélectionnés 10 souches qui sont Gram positive et catalase négative.

L'ensemble des Critères morphologiques de nos isolats sont présentées dans le tableau 06.

Tableau 06: Critères morphologiques des bactéries lactique isolées à partir de S'men camelin.

Souche N°	Catalase	Gram	Forme	Mode d'association
01	-	+	Cocci	Isolées
02	-	+	Cocci	Isolées
03	-	+	Bacille	Diploïdes isolées
04	-	+	Bacille	Isolées
05	-	+	Bacille	Isolées
06	-	+	Bacille	En chaine
07	-	+	Cocci	En chaine
08	-	+	Coccobacille	Diploïdes
09	-	+	Cocci	En chaine
10	-	+	Cocci	Diploïdes

3 Tests physiologiques

L'ensemble des résultats de tests physiologiques sont mentionnés dans les tableaux 07 et 08.

3.1 Test de croissance à différentes T°

L'emploi de ce teste permet de diviser les souches en des groupes. La croissance des isolats à été testée à 4°, 30°, 37°, 45°C. Dans cette études, la majorité des souches testées sont signalées mésophiles, elles poussent bien à 30°C et 37° après 48h d'incubation. Par contre à température 4°C et 45°C n'ont pas poussés.

3.2 Thermorésistante

Toutes les souches isolées n'ont pas résisté à 63.5°C pendant 30min mais elles ont résisté à 55°C pendant 15min.

3.3 Test de croissance à différentes pH

La mise en culture des souches à pH 4.8, 6.5 et 9.6. Après une incubation à 30°C les résultats qui ont été obtenus montrent que tous les souches isolées sont capables de croître sur bouillon MRS à pH 6.5 et sont incapables de croître à pH 9.6, alors que il ya certains souches sont capables de croître à pH 4.8 (souche 03, 04, 05,06, 08) et les autres souches sont incapables de croître à cette valeur de pH.

3.4 Résistance à la salinité

Les souches qui ont été testés pour savoir leur résistance aux différentes concentrations de NaCl (3%, 6.5% et 9.6%) nous a permis d'évaluer leur aptitudes à croître toutes les souches isolées sur bouillon MRS avec concentration de 3% de sel, quatre souches (03, 04,05, 06) sont capables de croître à concentration de 6.5% NaCl et pour une concentration de 9% NaCl les souches n'ont pas peuvent se développées.

3.5 Lait de Sherman

Après une incubation à 30°C, les résultats qui ont été obtenus montrent que tous les souches sont capables de croître en présence du bleu de méthylène 1% et pour le lait Sherman 3% tous les souches sont incapables de croître à l'exception de souche05 et 06.

Les résultats des tests physiologiques qui ont été réalisées sur les isolats sont représentés dans les tableaux suivant:

Tableau 07:Résultats de test de croissance des isolats (S'men camelin) à différentes T°.

Souche N°	croissance à différentes T°					
	4° C	30° C	37° C	45° C	Thermorésistance à 55°C/15 min	Thermorésistance à 63.5°C/30 min
01	-	+	+	-	+	-
02	-	+	+	-	+	-
03	-	+	+	-	+	-
04	-	+	+	-	+	-
05	-	+	+	-	+	-
06	-	+	+	-	+	-
07	-	+	+	-	+	-
08	-	+	+	-	+	-
09	-	+	+	-	+	-
10	-	+	+	-	+	-

Tableau08:Résultats de test de croissance à différentes pH, test de croissance à différentes NaCl (%) et test lait de Sherman des souches isolées à partir S'men camelin.

Souche N°	Croissance à différents pH			Croissance à différentes NaCl (%)			Lait de Sherman	
	4.8	6.5	9.6	NaCl 3%	NaCl 6.5%	NaCl 9.6%	Coagulation 1%	Coagulation 3%
01	-	+	-	+	-	-	+	-
02	-	+	-	+	-	-	+	-
03	+	+	-	+	+	-	+	-
04	+	+	-	+	+	-	+	-
05	+	+	-	+	+	-	+	+
06	+	+	-	+	+	-	+	+
07	-	+	-	+	-	-	+	-
08	+	+	-	+	-	-	+	-
09	-	+	-	+	-	-	+	-
10	-	+	-	+	-	-	+	-

4 Tests biochimiques

L'ensemble des résultats de tests biochimiques sont mentionnés dans le tableau 07.

4.1 Hydrolyse de l'arginine

Après 48h d'incubation sur gélose M16BCP à 30°C, on a observé l'apparition d'une coloration jaune à cause de l'acidification du milieu donc ADH⁻ à l'exception de quelques souches (01, 02, 07,10) qui sont à ADH⁺ (milieu reste vert).

4.2 Production de l'acétoïne

La production d'acétoïne est testé sur milieu Clark et Lubs (FIL, 1991).

A partir de la figure 09(voir Annexe03), on constate que tous nos isolats ne produisent pas l'acétoïne.

Milieu jaune \Leftrightarrow absence d'acétoïne : test du VP négatif pour les isolats lactiques.

Milieu rouge \Leftrightarrow présence d'acétoïne : test du VP positif pour les isolats lactiques.

4.3 Recherche de type fermentaire

Le caractère homo ou hétérofermentaire est mis en évidence sur bouillon MRS sans citrate (DWORKIN *et al*, 2006). Le milieu est réparti dans des tubes à essai dans lesquels des cloches de Durham inversées et remplies entièrement de bouillon sont placées. Après autoclavage, les tubes sont inoculés par une culture bactérienne jeune puis incubés pendant 1à

5 jours à 30°C. Les souches hétérofermentaires croissent et produisent le CO₂ qui s'accumule dans la cloche, alors que, les homofermentaires croissent sans produire le CO₂ (MILLIERE *et al*, 1989).

4.4 Production de dextrane

Le test de dextrane s'est révélé négatif pour l'ensemble des souches isolées.

4.5 L'utilisation de citrate

Le milieu KMK, différencié entre les bactéries utilisant le citrate et donnant ainsi des colonies bleues et entre celles qui n'utilisent pas le citrate donnant des colonies blanches. Les souches (01, 02, 08, 09,10) ont données un résultat positif (citrate positif) et les autres souches (03, 04, 05, 06,07) sont citrate négatif.

4.6 Hydrolyse de l'esculine

Le caractère d'hydrolyse d'esculine semble être variable chez les souches isolées.

Dont elles sont toutes capables de dégrader sauf les souches (02,06) qui sont incapable d'hydrolysé l'esculine.

Tableau 09: Résultats des tests : type fermentaire, acétoïne, l'arginine d'hydrolyse, citrate et l'esculine des souches isolées à partir de S'men camelin.

Souche N°	Homofermentaire	Hétérofermentaire	Acétoïne	ADH	Citrate	L'esculine	Dextrane
01	+	-	-	+	+	+	-
02	+	-	-	+	+	-	-
03	+	-	-	-	-	+	-
04	+	-	-	-	-	+	-
05	+	-	-	-	-	+	-
06	+	-	-	-	-	-	-
07	+	-	-	+	-	+	-
08	-	+	-	-	+	-	-
09	+	-	-	-	+	+	-
10	+	-	-	+	+	+	-

4.7 Utilisation des carbohydrates

Pour mieux identifier les isolats au niveau de l'espèce ou de la sous espèce on a établi leur profil fermentaire de huit sucres par dix souches isolées. On utilisant le milieu MRS BCP qui contient le bleu de bromothymole qui est indicateur de pH, l'utilisation des sucres se traduit par un virage de l'indicateur colorée vert vers le jaune c'est réaction (+), et la réaction (-) reste vert. Les résultats ont été expliqués dans (figure 12 Annex03). Tous nos isolats fermentent les sucres ; glucose, fructose, lactose, galactose, arabinose et saccharose. (Tableau 08).

Tableau 10 : Résultat de profil fermentaire des souches isolées à partir de S'men camelin.

Souche N°/Sucre	Galactose	Fructose	Lactose	Glucose	Mannitol	Arabinose	Xylose	Saccharose
01	+	+	+	+	+	+	+	+
02	+	+	+	+	+	+	-	+
03	+	+	+	+	+	+	-	+
04	+	+	+	+	+	+	+	+
05	+	+	+	+	+	+	-	+
06	+	+	+	+	+	+	-	+
07	+	+	+	+	+	+	+	+
08	+	+	+	+	-	+	-	+
09	+	+	+	+	+	+	+	+
10	+	+	+	+	+	+	-	+

5 Identification des souches lactiques isolées à partir de S'men camelin

Ces isolats ont été identifiés au stade du genre et espèce en se basant sur leurs caractéristiques morphologiques, physiologiques et biochimiques d'après les critères mentionnées par (GUIRAUD, 1998 ; AXELSSON, 2004). Un total de 10 isolats lactique ont été rattachés à 03groupes des bactéries avec leur pourcentage ; *Lactococcus* 50%, *Lactobacillus* 40% et *Leuconostoc* 10%.

L'identification des souches isolées présentée dans le tableau suivant ;

Tableau 11: L'identification des souches lactiques isolées à partir de S'men

N° des souches isolées	Identification (Genre)
01	<i>Lactococcus</i>
02	<i>Lactococcus</i>
03	<i>Lactobacillus</i>
04	<i>Lactobacillus</i>
05	<i>Lactobacillus</i>

06	<i>Lactobacillus</i>
07	<i>Lactococcus</i>
08	<i>Leuconostoc</i>
09	<i>Lactococcus</i>
10	<i>Lactococcus</i>

6 Discussion

6.1 Caractéristiques des isolats rattachés au genre *Lactococcus*

Sur la totalité des isolats, cinq sont réunis par les caractéristiques suivantes : ils sont des cocci ou ovoïdes, arrangés en paires, en courtes ou en longues chaînes, homofermentaires qui ont résisté à une concentration de 3% d'NaCl mais non à 6.5 et 9.6% d'NaCl. Une croissance a été obtenue à 30° et 37°C mais non à 45°C. Ils n'ont pas développé dans un pH 4.8. Comme ils n'ont pas résisté à un pH de 9.6 ; néanmoins tous les isolats sont capables de croître en présence du bleu de méthylène 1 % .Le test d'ADH a divisé ces bactéries en deux groupes (ADH⁺ et ADH⁻).

Le genre *Lactococcus* est différencié des autres Cocci homofermentaires par leur croissance entre 30 et 37°C mais non à 45°C et par leur intolérance à 6.5% d'NaCl et le pH 9.6 (**SALMINEN *et al*, 2004**). Les isolats caractérisés ont été rattachés au *Lactococcus* car ce genre est intimement associé au lait et aux produits laitiers et d'après les auteurs : (**KHEDID *et al*, 2009**; **HASSAINE *et al*, 2008**; **KARAM et KARAM, 2006**; **RIHAB *et al*, 2008** et **ASHMAIG *et al*, 2009**), le genre *Vagococcus* n'est pas isolé à partir du lait cru ou fermenté.

6.2 Caractéristiques un isolat rattaché au genre *Leuconostoc*

Un isolat est représenté les Caractéristiques suivantes :

Il est de forme Cocci, ovoïde en paire, en courte ou en longue chaîne hétérofermentaire dépourvu de l'arginine dihydrolase (ADH). Il est cru à 3% d'NaCl, la plupart est pu croître à 30 et 37°C, mais aucun isolat n'a pas résisté à une température de 45°C. Il ne produit pas l'esculine.

L'isolat est toléré le pH acide 4.8, mais non à pH 9.6. Elle n'est pas produit le dextrane, ne remarque aucune croissance après un chauffage à 63.5°C pendant 30min.

DEVOYOD et POUILLAIN, (1988) ont mentionné que certaines espèces de *Leuconostoc* utilisent le citrate très rapidement mais elles ne produisent l'acétone pour les souches isolées des échantillons du lait de chamelle.

6.3 Caractéristiques des isolats rattachés au genre *Lactobacillus*

Quatre isolats ont été associés à ce genre qui est aisément distingué des autres par sa morphologie caractéristique en bâtonnet. Ils sont longs ou courts, isolés, en paires ou en longues chaînes, homofermentaires, ADH⁺, croissent tous à 3% et à 6.5% NaCl. Toutes les souches peuvent se développer à 30-37°C et non à 45°C. Elles sont toutes des acidophiles (croissance à pH 4.8) mais ne peuvent pas croître à pH 9.6. Toutes les isolats incapable de survivent après un chauffage de 63.5°C pendant 30min. D'après les résultats obtenus, les isolats de *Lactobacillus* sont ressemblent dans un seul groupe qui croissent à 6.5% NaCl et non à 45°C.

Les souches isolées sont identifiées comme *Lactobacillus*. Elles sont séparées du genre *Weissella* par leur caractère homofermentaire et des *Corynebacterium* par leur acidophilie (**DWOKIN et al, 2006**).

La présence de certaines espèces halotolérantes dans le lait de chamelle est d'importance cruciale, car quelques produits laitiers nécessitent leur exposition à de hauts niveaux de sels (**KHEDID et al, 2009**).

Une absence des lactobacilles hétérofermentaires stricts du lait examiné est notée. Elle peut être expliquée par la moindre teneur du lait de chamelle en thiamine essentielle pour leur croissance (**DE VOS et al, 2009 ; PARK et HAENLEIN, 2006 ; YAGIL, 1982**).

D'autres auteurs (**ZADI KARAM et KARAM, 2006 ; HASSAIEN et al, 2008**) n'ont pas isolé ce groupe de *Lactobacillus* à partir des échantillons du lait camelin du sud algérien.

Les lactobacilles thermophiles sont également absents du S'men camelin. (**HASSAIEN et al, 2008**) et (**ZADI KARAM et KARAM., 2006**) ont trouvé le même résultat pour le S'men camelin étudié.

Conclusion

Conclusion

Les bactéries lactiques représentent un groupe hétérogène de microorganismes produisant de l'acide lactique comme produit principal du métabolisme. Elles interviennent dans l'élaboration de nombreux produits laitiers. Parmi les quels on trouve le S'men.

Le S'men camelin est un produit laitier appartient au patrimoine nutritionnel algérien et dont sa consommation est encore apprécié jusqu'à ce jour par le consommateur algérien. A partir de l'analyse microbiologique (phénotypique, biochimique et physiologique) des différents échantillons choisis pour l'isolement et l'identification des bactéries lactiques d'origine de S'men camelin, nous avons isolé 10 souches appartenant à trois différents genres qui sont : *Lactococcus* (50%), *Lactobacillus* (40%) et *Leuconostoc* (10%).

Les souches isolées sont des coques et des bacilles, la plupart sont des homofermentaires mésophiles, toutes les souches ne peuvent pas être cultivé à 45°C, à pH 9.6 et à 9.6% d'NaCl. Elles sont dépourvues du catalase et ne produisent pas le dextrane, certain sont capable d'hydrolysé l'esculine, dégradent l'arginine et utilise le citrate. Tous les non sont pas thermorésistantes à 63.5°C et capable de fermenté les sucres tels que ; Galactose, Fructose, Lactose, Glucose, Arabinose et Saccharose.

La présente étude a donné des résultats primitifs, ce qui motive le lancement d'autres recherches dans le futur afin de compléter et d'approfondir l'étude sur le S'men traditionnel notamment :

- Etude comparative sur les types des bactéries lactiques résiduelles entre dans le S'men traditionnel camelin et le S'men traditionnel de vache.
- Identification moléculaire est très essentielle pour mieux identifier les isolats.
- Etude de l'activité antimicrobienne de l'ensemble des bactéries sélectionnées contre un panel plus large de microorganismes (bactéries et champignons).
- Il serait intéressant d'étudier les propriétés technologiques telles que l'activité autolytique et le pouvoir texturant.
- L'étude de l'effet probiotique des isolats par la réalisation des tests in vitro et in vivo.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

A

1. **AHMAD F. M. A., IRENE K.P.TAN.,**2007. Isolation of lactic acid bacteria from Malaysian foods and assessment of the isolates for industrial potential. *Bioresource Technology.*, 98:1380-1385.
2. **AGUIRRE M., and COLLINS M. D.,**1993.Lactic acid bacteria and human clinical infection. *J Appl Bacteriol.*75: 95-107.
3. **AL HAJ O.A., AL KANHAL H.A.,** 2010.Compositional, technological and nutritional aspects of dromedary camel milk – review. *International Dairy Journal* xxx. P:1-11.
4. **ANA BELEN FLOREZ., SUSANA DELGADO., BALTAZAR MAYO.,** 2005. Antimicrobial susceptibility of lactic acid bacteria isolated from a cheese environment. *Canadian Journal of Microbiology.*51 (1):51-8.
5. **ALAIS C.,**1984. *Sciences du lait : principes des techniques laitières*, 4^{ème} Edition, Paris, 814.
6. **ASHMAING, A., HASAN, A., EL GAALIE.,**2009. Identification of lactic acid bacteria isolated from traditional Sudanese fermented camel's milk (Gariss).*African Journal of Microbiology Research*,3:451-457.
7. **ATLAN D., BÉAL C., CHAMPONIER VERGÉS M. C. ,CHAPOT-CHARTIER M. P., CHOUAYEKH H., COCAIGN – BOUSQUET M., DEGHORAIN M., GADU P .,GILBERT C .,GOFFIN P., GUÉDON E., GUILLOUARD L., GUZZO J., JUILLARD V., LADERO V., LINDLEY N., LORTAL S., LOUBIÉRE P., MAGUIN E., MONNET V., MONNT V., RUL F., TOURDOT- MARÉCHAL R., et YVON M.,** 2008. *Métabolisme et ingénierie métabolique In : Bactéries lactiques de la génétique aux ferments Tec & Doc, Lavoisier. Paris. 271 - 477.*
8. **AXELSSON L.,** 2004. *Lactic Acid Bacteria : Classification and physiology in Lactic acid Bacteria Microbiological and Functional Aspects.* Salminen S., Wright A.v., Ouwehand A.3^{ED.}, Marcel Dekker,pp:1-66.

B

9. **BAAZIZ S., BENGHODBANE H.,** 2009. Les maladies transmises par le lait, Ecotoxicologie, Université Badji Mokhtar, Annaba- biologie, 128p.
10. **BADIS A., GUUETARNI D., MOUSSA BOUDJEMA B., HENNI D.E., KIHAL M.,** 2004. Identification and technological properties of lactic acid bacteria isolated from raw goat milk of four Algerian races. Food Microbiology. 21:579-588.
11. **BADIS A., LAOUABDIA S.N., GUUETARNI D., KIHAL M. et OUZROUT R.,**2005. Caractérisation phénotypique des bactéries lactiques isolées à partir de lait cru de chèvre de deux populations caprines locales "arabia et kabyle". Sci &Tech.23 :30-37.
12. **BAKHEIT S.A., MAJID A.M.A., NIKHALA A.M.A.,** 2008. Camels (*Camelus dromedarius*) under postoral systems in North Korfdofan. Sudan: seasonal and party effects on milk composition, Journal of Camelid Sciences 1:32-36.
13. **BAUER R. et DICKS L. M.,**2005. Mode of action of lipid II-targeting lantibiotics. Int. J. Food Microbiol. Rev. 101: 201-216.
14. **BELARBI M.,** 2015. Etude comparative entre la qualité Microbiologique du lait cru de vache et le Lait de chèvre, Sciences des Aliments.84 p.
15. **BENKERROUM N., BOUGHDADI A., BENNANI N. et HIDANE K.,** 2003. Microbiological quality assessment of Moroccan camel's milk and identification of predominating lactic acid bacteria .World Journal of Microbiology and Biotechnology,19:645-648.
16. **BHAKAT C., SAHANI M.S.,** 2006. A unique species in hot arid desert ecosystem, Everyman's science 6:426-429.
17. **BOTTAZZI V.,** 1988. An introduction to rod-shaped lactic bacteria, Biochimie,70:303-315.
18. **BOUIXD. et LEVEAU J.Y.,**1980. Les levures : Techniques d'analyses et de contrôle dans les industries agro-alimentaires, le contrôle microbiologique. Col. Sci. Tech. Agro. Ali.2:159-161.
19. **BOUMEHIRA Z.A., MAMI A., HAMEDI R. A., HENNI J.E et KIHAL M.,** 2011. Identification and characterization of functional and technological *Lactobacillus plantarum* strains isolated from raw goat and camel milk collected in Algeria. Journal of Pure and Applied Microbiol.5:553-566.
20. **BREZOVECKI A., CAGALJ D., DERMIT Z.F., MIKULEC N., LJOLJIC D.B. et ANTUNAC N.,**2015. Camel milk and milk products, Mljekarsto 65(2):81-90.

C

21. **CARR F.J., J., HILL D., MADA N.,**2002. The lactic acid bacteria: A literature survey. Crit. Rev. Microbiol.28,281-370.
22. **CAROLE-VIGNOLA L., JEAN A., PAUL A., LAURENT B.,**2002. Science et technologie du lait, Transformation du lait, 01, Bibliothèque nationale de Canada, 657p.
23. **CHAPMAN H.R & SHARPE M.E** 1981. Microbiology of cheese. Dairy Microbiology. Vol.2 (ED. R .K. Robinson). London. Applied Science Publications.2 :207-233.
24. **CHILLIARD Y.,** 1989.Particularités du métabolisme des lipides et du métabolisme énergétique chez le dromadaire. Options Méditerranéennes - Série Séminaires. 02 : 101-110.
25. **COLLINS M.D., FARROW J.A.E., PHILLIPS B.A., FERUSU S. ET JONES D.,** 1987. Classification of *Lactobacillus divergens*, *Lactobacillus piscicola*, and some catalase-negative, asporogenous, rod-shaped bacteria from poultry in a new genus, *Carnobacterium*. International journal of systematic bacteriology.37:310.
26. **CORRIEU G., LUQUET F. M.,**2008. Bactéries lactiques de la génétique aux ferments. Lavoisier, Paris.884p.

D

27. **DAHMANE S., DRISS I.,**2003. Les bactéries lactiques dans l'élaboration de S'men Marocain. Univ. Moulay Ismail, Faculté des sciences et Technique, Maroc. Copyright Académie d'Agriculture de France.18p.
28. **DE AMBROSINI V., GONZALEZ.M.S ., PERDIGON G ., RUIZ HOLGADO A.P., et OLIVER G.,** 1996. Chemical composition of the cell wall of lactic acid bacteria and related species. Chem Pharm Bull 44:2263-2267
29. **DELLAGLIO F., DE ROISSARD H., TORRIANNI S.,CURK M.C. ET JANSSENS D ., 1994.** Caractéristiques générales des bactéries lactiques. In : Bactéries Lactiques (De Roissard H. et Luquet F.M.). Loriga, Uriage.1 :25-116.
30. **DELL'ORTO V., CATTANEO D., BERTTA E., BALDI A., SAVOINI G.,** 2001. Effect of trace element supplementation on milk yield and composition in camel. International dairy journal, 10: 873-879.
31. **DE ROUSSART et BENSOLTANE, A.,** 2006. Physico-chemical, microbiological and biotechnological studies of lactic acid bacteria isolated from ewe's milk of Algeria two breeds (Ouled Djellal and El Hamra). Egypt. J.App.ci21:(52B) ,567-580.

32. DESMAZEAUD M., 1996. Les bactéries lactiques dans : L'alimentation humaine : utilisation et innocuité. Cahiers Agricultures 5 pp : 331-343.
33. DE VOS P., GARRITY G.M., JONES, D., KRIEG N.R., LUDWING, W.,RAINEY,F.A., SCLEIFER, K. H., WHITMAN, W.B.,2009. Bergey's manual of Systematic Bacteriology Second Edition Volume Three: The Firmicutes. Springer Dordrecht Heidelberg, USA.2ndEd.3:1450p.
34. DEVOYOD J.J., POUILLAIN F.,1988.Les *Leuconostocs*. Propriétés : leur rôle en technologie laitière. Le lait,68 :249-279.
35. DJOUHRI K., MADANI S., 2015. Etude microbiologique d'un produit laitier fermenté traditionnel (J'ben) : isolement et identification des bactéries lactiques, Microbiologie Appliquée.89p.
36. DORTU C., and P THONART. 2009."Les bactériocines des bactéries lactiques : caractéristiques et." Biotechnol. Agron. Soc. Environ 13: 143-154.
37. DRIDER D., et PREVOST H., 2009.Bactéries lactiques. Physiologie, Métabolisme, Génomique et Applications industrielles. Edité par Economica , paris.592p.
38. DRICI H., GILBERT C., KIHAL M. et ATLAN D., 2010. Atypical citrate-fermenting *Lactococcus lactis* strains isolated from dromedary's milk. Journal of Applied Microbiology, 108:647-657.
39. DWORKIN,M.,FALKOW,S.,ROSENBERG,E.,SHLEIFER,K.H.,STACKEBRAND T,E., 2006. The prokaryotes "third edition": A handbook on the Biology of bacteria: Firmicutes, Cynobacteria. Springer, Singapore.354.

E

40. EL-AMIN F. M. et WILCOX J., 1992. Composition of Majaheim camels. J. DairySci.,75,31 55-31 57.
41. EL-HATMI H., GIRARDET J.M., GAILLARD J.L., YAHYAOUI M.H. et ATTIA H.,2007.Characterization of whey proteins of camel (*Camelus dromedarius*) milk and colostrums. Small Rum Res. 70:267-271.

F

42. FAO., 1990. The technology of traditional milk products in developing countries. FAO Animal Production and Health. Paper N°85. Rome: Food and Agricultural Organization of the United Nation. 333p.
43. FARAH Z., 1993. Composition and characteristics of camel milk. J. Dairy. Res., 60:603-626.

44. FARAH Z.,1996. Camel milk properties and products.St Gallen, Switzerland: SKAT, Swiss Centre for Developments Cooperation in technology and Management.pp:91.
45. FARAH Z., FISHER A., 2004. Milk and Meat from the Camel: Handbook on Products and Processing. Vdf Hochschulverlag AG and der ETH Zürich/Singen.pp:89-108.
46. FARAH Z., RETTENMAIER R. and ATKINS D., 1992. Vitamin content of camel milk. Int.J. for Vitamins Nutrition Res.,62, 1, p.30-33.
47. FARAH, Z., STREIFF,T., BACHMANN, M.R.,1989:Manufacture and characterization of camel milk butter, milk butter, Milchwissenschaft 44 (7) :412-414.
48. FIL N.,1991. Yaourt, Identification des micro-organismes caractéristiques : *Lactobacillus delbrueckii subsp bulgaricus* et *Streptococcus salivarius subsp thermophilus*. Revue .46 :1-4.

G

49. GEVERS D., 2002. Tetracycline resistance in lactic acid bacteria isolated from fermented dry sausages. Gent. Belgium: Thèse de Doctorat de l'Universités de Gent. Faculté des Sciences.pp :202.
50. GILAROVA R .M., VOLDRICH K., DEMNEROVA M., CEROVSKY., et DOBIAS J., « Cellulair fatty acids analysis in the identification of lactic acid bacteria. ».24(1-2):315-9.
51. GUESSAS B. ,2006. Les potentialités métaboliques des bactéries lactiques isolées du lait cru de chèvre dans le biocontrôle de *Staphylococcus aureus*. Thèse de Doctorat en microbiologie appliqué. Université d'Oran Es-Senia.Algérie.150.
52. GUESSAS B. et KIHAL M.,2004. Characterization of lactic acid bacteria isolated from Algerian arid zone raw goat's milk. African J. Biotechnol. 3(6) :339-342.
53. GUIRAUD J. P.,1998. Microbiologie Alimentaire DUNOD ; Paris.282-290.
54. GUSILS C., CHIA A.P., OLIVER G. et GONZALEZ S.,2010. Microtechnique for identification of lactic acid bacteria. Methods on molecular biology, Vol 268: Public Health Microbiolgy: Methods and Protocols. Humana Press. Totowa.453-458.

H

55. HADDIE J.M.,1986. Other streptococci. In : Bergey's manual of systematic bacteriology (Sneath P.H.A., Mair N.S., Sharpe M.E., Holt J.G.W. et Baltimore W.).1:1070.
56. HANSAL N., 2015. Isolement, purification, identification et étude des caractéristiques biotechnologiques des *Leuconostoc mesenteroides* isolée à partir du lait cru de chèvre et

de chamelle. Thèse de Magister en Microbiologie Fondamentale et Appliquée. Université d'Oran Ahmed Ben Bella.154.

- 57. HARIRI A., OUIS N., SAHNOUNI F.,BOUHADI D.,** 2009. Mise en œuvre de la fermentation de certains ferments lactiques dans des milieux à base des extraits de caroube. Rev. Microbiol. Ind. San et Environn.P :37-55.
- 58. HASSAINE O., ZADI-KARAM H., KARAM N-E.** 2008. Phenotypic identification and technological properties of lactic acid bacteria isolated from three breeds dromedary raw milks in south Algeria .Emirate Journal of food and Agriculture 20:46-59.
- 59. HASSAINE O., ZADI-KARAM H., KARAM N-E.,** 2007. Technologically important properties of lactic acid bacteria isolated from raw milk of three breeds of Algerian dromedary (*Camelus dromedarius*). African Journal of Biotechnology,6.
- 60. HOLZAPFEL W.H., HABERER P., GEISEN R., BJÖRKROTH J. and SCHILLINGER U.** 2001. Taxonomy and important features of probiotic microorganisms in food and nutrition. Am. J. Clin. Nutr. 73(Suppl): 365S–73S.
- 61. HO T.N.T., N. TUAN N., DESCHAMPS A. et CAUBET R.,**2007. Isolation and identification of lactic acid bacteria (LAB) of the Nem Chua fermented meat product of Vietnam. Int. Workshop on Food Safety and Processing Technology. 134-142.

I

- 62. IDOUI T.,**2008. Les bactéries lactiques indigènes : Isolement , Identification et propriétés technologiques. Effets probiotiques chez le poulets de chair ISA15, le lapin de souche locale et le rat Wistar. Thèse de Doctorat d'Etat. Université d'Oran . Algérie.179.
- 63. ISSELNANE S.,** 2014. Caractérisation chromatographique et électrophorétique de l'extrait coagulant issu de caillettes de dromadaires adultes. Mémoire de magister en science biologiques, Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, Algérie.

J

- 64. JOFFRAUD J.-J., CARDINAL M., et CORNET J.,** 2006. Effet of bacterial interactions on the spoilage of cold smoked salmon. International Journal of Food Microbiology.,112:51-61.

K

- 65. KAMOUN M.,1990.** La production de fromage à partir du lait de dromadaire. CIHEAMIAM. Options méditerranéennes. Séries séminaire n°12,p :119-124.
- 66. KARAM N-E. et KARAM H.,**2006. Bactéries lactique du lait de chamelle d'Algérie : mise en évidence de souche de Lactococcus résistante au sel. Tropicultua,24,153-156.

- 67. KANDLER O et WEISS N.,** 1986. Regular, nonsporing Gram-positive rods bacteria: In-bergey's manual of systematic bacteriology. Vol.2.(P.H.A. Sneath., Mair, N., Scharpe,M. E., Holt. M.E.,éd.). Williams.& Wilkins,Baltimore,pp.1208-1260.
- 68. KAPPELER S.,** 1998. Compositional and Structural Analysis of Camel Milk Proteins with Emphasis on Protective Proteins. Thèse de doctorat en sciences techniques, Eidgenossische Technische Hochschule Swiss Federal Institute of Technology, Zurich.65: 209-222.
- 69. KATINAN C.R., AW S., CHATIGRE K.O., BOHOUSSOU K.M., & ASSIDJO N.E.,** 2012.Évaluation de la qualité chimique et microbiologique des laits caillés artisanaux produits et consommés dans la ville de Yamoussoukro, Côte d'Ivoire". Journal of Applied Biosciences, vol 55, 4020– 4027.
- 70. KEMPLER G.M.,MC KAY L.,**1980. Improved medium for detection of citrate fermenting Streptococcus lactis subsp diacetylactis.J.Appl. Environ. Microbiol.39:926-927.
- 71. KHASCKHELI M., ARAIN M A., CHAUDHRY S., SOOMRO A. H., QURESHI T.A.,**2005. Physico-chemical quality of camel milk. Journal of Agriculture and Social Science 2: 164-166.
- 72. KHEDID K. , FAID M., MOKHTARI A., SOULAYMANI A., et ZINEDINE A.,** **2009. Characterization** of lactic acid bacteria isolated from the one humped camel milk produced in Morocco. Microbiological Research. 164:81-91.
- 73. KIHAL M., PREVOST H., LHOTTE ME., HUANG DQ.et DIVIES C.,**1996.characterization of Algeria raw camel's milk: proteins content and native lactic acid bacteria, 1^{ère} Journées sur la Recherche Camelin, 25 au 27 Mai, ITAS, Ouargla.
- 74. KLEIN G., PACK A., BONAPARTE C., et REUTER G.,** 1998. Taxonomy and physiology of probiotic lactic acid bacteria International. Journal of Food Microbiology.,41:103-125
- 75. KONING H, et FROHLICH J.,**2009.Biology of microorganisms on grapes , in must and in wine. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag."Lactobacillus pentosus B231 Isolated from a Portuguese PDO Cheese: Production and Partial Characterization of Its Bacteriocin." Probiotics Antimicrob Proteins 6(2014):95-104.
- 76. KONUSPAYEVA G.,FAYE B., LOISEAU G.,**2009. The composition of camel milk : a meat-analysis of the literature dans. Journal of Food Composition and Analysis 22:95-101.

- 77. KONUSPAYEVA G., LEMARIE E. FAYE B. LOISEAU G., MONTET D.** 2008. Fatty acid and cholesterol composition of camel's (Camelus bactrianus , Camelus dromedarius and hybrids) milk in Kazakhstan, Dairy Science and Technology 88 :327-340.
- 78. KULA J.T et DECHASA T.,** 2016. Chemical composition and medicinal values of camel milk. International journal of research studies in biosciences(IJRSB) 4: 13-25.
- 79. KULIEV K.,** 1959. The utilisation of camels' milk'. Mol. Promyslenn. 20(28). Cited in R. Yagil,1982. Camels and camel milk. FAO animal production and health paper. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO).
- ℒ*
- 80. LAIRINI S .,BEQQALI N., BOUSLAMTI R., BELKHOU R et ZERROUQ F.,** 2014. Isolement des bactéries lactique à partir des produits laitiers traditionnels Marocains d'un lait fermenté proche du kéfir , Afrique science 10(4) 267-277.
- 81. LARPENT J.,**1996. Microbiologie alimentaire. Tech & doc,Lavoisier. Paris 10-72.
- 82. LARPENT J.P. and LARPENT G.M.,** 1990. Mémento technique de microbiologie 2ème Ed.Technique et documentaire lavoisier, Paris, P: 417.
- 83. LARPENT G. M., MICHAUX O.,LRPENT J.P,DESMASURES N.,DESMAZEAUD M.,MANGIN I., MASSON F.,MONTEL M.C. et TAILLIEZ P.,**1997. Les ferments lactiques et bactéries apparentées in Microbiologie alimentaire techniques de laboratoire. Larpent J-P. Tec & Doc. Lavoisier. pp :199-252.
- 84. LAURENT S.,** 1998. Manuel de bactériologie alimentaire.Poly technica Paris. 307P
- 85. LEVEAU.J. Y., BOUIX M. ,**1980. La flore lactique : technique d'analyse et de contrôle dans les industries agroalimentaires. Borgeois C M . Leveau J Y,A.pria. Paris.3-106.
- 86. LEVEAU.J. Y., BOUIX M. et DE ROISSART H.B.,** 1991. La flore lactique : technique d'analyse et de contrôle dans les industries agroalimentaires. 2^e Ed., Tec & Doc, Lavoisier. Paris.3 :2-40.
- 87. LORE T.A., MBUGUA S. K., WANGO J.,** 2005. Enumeration and identification of microflora in suusac, a Kenyan traditional fermented camel milk product. Lebensm.-Wissenschaft und-Technology, 38: 125-130.

M

- 88. MAHBOUB N., TELLI A., SIBOUKEUR O., BOUDJENAH H.S., SLIMANI N. et MATI A.** 2010. Contribution à l'amélioration de l'aptitude fromagère du lait camelin : étude des conditions de conservation des enzymes gastriques camelines. Annales des Sciences et Technologie (2) N° 1, p. 71-79.
- 89. MAMI A.,** 2013. Recherches des bactéries lactiques productrices de bactériocines à large spectre d'action vis-à-vis des germes appliqués dans les toxi-infections alimentaires en Algérie. Thèse de Doctorat, Microbiologie Appliquée, 203p.
- 90. MARCONI, E., SORRENTINO, E., MASTROCOLA, E et COPPOLA, R.,** 2000. Rapid detection of diaminopimelic acid in lactic acid bacteria by microwave cell wall hydrolysis. J. Agric. Chem. 48:3348-3351.
- 91. MARROKI A., ZÚÑIGA M., KIHAL M. et PEREZ-MARTINEZ G.,** 2011. Characterization of *Lactobacillus* from Algerian goat's milk based on phenotypic, 16S rDNA sequencing and their technological properties. Brazilian Journal of Microbiology. 42:158-171.
- 92. MARTINEZ- MURACIA., A.J et COLLINS M.D.,** 1990. Phylogenetic analysis of the genus *Leuconostoc* based reverse transcriptase sequencing of 16S rRNA. FEMS. Microbiol. Lett. 70:73:84.
- 93. MAYO B., ALEKSANDRZAK – PIEKARCZYK T., FERNANDEZ M., KOWALCZYK M., ALVAREZ-MARTIN P. ET BARDOWSKI J.,** 2010. Updates in the Metabolism of Lactic Acid Bacteria. Biotechnology of Lactic Acid Bacteria: Novel Applications Blackwell Publishing (3-34).
- 94. MCLEOD A., NYQUIST O.L., SNIPEN L., NATERSTAD K., and AXELLON L.,** 2008. "Diversity of *Lactobacillus sakei* strains investigated by phenotypic and genotypic methods." Syst Appl Microbiol 31: 393-403.
- 95. MEHAIA M.A., HABLAS M.A., ABDEL-RAHMAN K.M et EL-MOUGY S.A.,** 1995. Milk composition of Majaheim, Wadah and Hamra camels in Saudi Arabia, Food Chem. 52:115-122.
- 96. MONTEL M. C., BERANGER C., BONNEMAIRE J.,** 2005. Les fermentations au service des produits de terroir. INRA, Paris. pp : 312.
- 97. MOURAD K., et NOUR-EDDINE K.,** 2006. Physicochemical and microbiological study of "Shmen", a traditional butter made from camel milk in the Sahara (Algeria):

isolation and identification of lactic acid bacteria and yeasts. *Grasas y Aceites*,57:198-204.

- 98. MOZZI F., RAYA R. R., VIGNOLO G. M.,** 2010. *Biotechnology of lactic acid bacteria: Novel applications.* Blackwell publishing, Singapore.pp:392.

N

- 99. NANDA D. K., TOMAR S.K., SINGH R., MAL G., SINGH P., ARORA D.K., JOSHI B., CHAUDHARY R et KUMAR D.,** 2011. Phenotypic and genotypic characterisation of lactobacilli isolated from camel cheese produced in India. *International Journal of Dairy Technology.* 64:437-443.

- 100. NOVEL G.,**1993 Les bactéries lactique In *microbiologie industrielle : les microorganismes d'intérêt industriel.* Leveau J-Y., Bouix M. Tec & Doc . Lavoisier , pp : 170-374.

O

- 101. ORLA-JENSEN S.,**1919. The lactic acid bacteria in biology of microorganisms on grapes, in must and in wine. Konig H. ET Frohlich J. (2009) Springer Ed, allemagne, p3-29.

- 102. OSULLIVAN P., BEALES D.,BEETHAM J.,CRIPPS J., GRAL F.,LIN I., TUCKER B., et AVERY A.,** 2002. Altered motor control in subjects with sacro-iliac joint pain during the active straight leg raise test, *spine* 27: 1238-1244.

P

- 103. PARKW.Y., HAENLEING.F.,** 2006. *Handbook of milk of non-bovine mammals.* Blackwell Publishing, USA. 712.

- 104. PARK W.Y., HAENLEIN G.F.,** 2013. *Milk and Dairy products in human nutrition: production, composition and health,* John Wiley et Sons.728.

- 105. PILET M.F., MAGRAS C. et FEDERIGH M.,**2005. *Bactéries lactique.*In : *bacteriologie alimentaire (Fedrighi M.).*2e ED., Economica. Paris.219-240.

Q

106. **QUIBERONI A., REZAIKI L., EL KAROUI M., BISWAS I., TAILLIEZ P. et GRUSS A.**, 2001. Distinctive features of homologous recombination in an 'old' microorganism, *Lactococcus lactis*. Edition. Res Microbiol. 152 : 131-139.

R

107. **RAHMAN N., XIAOHONG C., MEIQIN F. et MINGSHENG D.**, 2009. Characterization of the dominant microflora in naturally fermented camel milk shubat. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 25:1941-1946.
108. **RAMET R.P.**, 1993. La technologie des fromages au lait de dromadaire (*Camelus dromadarius*). Etude FAO production et santé animale.
109. **RAO Y.S., RAHMAN AA., et RAO D.P .**, 1974. On the structure of the siwalik range between rivers Yamuna and Ganga, Himalayan Geol. 4: 137-150.
110. **RIHAB, H., IBTISAM, E., BABIKER, S.**, 2008. Chemical and microbial measurements of fermented camel milk "Gariss" from transhumance and nomadic herds in Sudan. Australian Journal of Basic and Applied Sciences, 2:800-804.
111. **RUTAGWENDA T., LECHNER DOLL M., KASKEM., ENGELHARDT W.V. SCHULTKAW., & SCHWARTZ H.J.**, 1989. Adaptation strategies of camels on a thorn bush savannah pasture: Comparison with other domestic animals. CIHEAM, Options Méditerranéennes, 69-73.

S

112. **SAIDI D., KIHAL M., HAMMAMA A., CHAKROUN A., HENNI J.E et KHAROUA O.**, 2005. Characterization of Algerian raw camel's milk: identification of dominant lactic acid bacteria and proteins analysis. Journal Algerien des Region Arides. 4:1-9.
113. **SAIDI N, GUESSAS B, BENSALAH F, BADIS A, HADADJI M, HENNI JE, PREVOST H, KIHAL M.**, 2002. Caractérisation des bactéries lactiques isolées du lait cru de chèvre des régions arides d'Algérie. Journal Algérien des régions arides, 01 :01-14.
114. **SALMEN S.H., ABU-TARBOUSH H.M., AL-SALEH A.A et METWALLI A.A.**, 2012. Amino acids content and electrophoretic profile of camel breeds in Saudi Arabia, Saudi Journal of Biological Science 19: 177-183.
115. **SALMINEN S., GORBACH S., YUAN-KUN L., BENNO Y.**, 2004. Human studies on probiotics: What is scientifically proven today? In Lactic Acid bacteria:

- Microbiological and functional Aspects. Eds salimen S., von Wright A., Ouwerhand A., New York Dekker M,pp:515-530.
- 116. SANDINE W.E**, New nomenclature of the rod-shaped lactic acid bacteria. *Biochimie* , 70:519-522.
- 117. SAWAYA W.N., KALIL J.K., AL.SHLHAT A. et AL-MOHAMED H.**, 1984. Chemical composition and nutritional quality of camel milk. *J. Food Sci.*,49:744-747.
- 118. SBOUI A., KHORCHANI T., DJEGHAM M., BELHADJ O.**, 2009. Comparaison de la composition physicochimique du lait camelin et bovin du Sud tunisien; variation du pH et de l'acidité à différentes températures. *Afrique science*, **5**: 293-304.
- 119. SCHILLINGER U., et LUCKE F-K.**, 1987. Identification of Lactobacill from meat and meat products. *Food Microbiology.*, 4:199-208
- 120. SIBOUKEUR, A., & SIBOUKEUR, O.**, 2012. Caractéristiques physico-chimiques et biochimiques du lait de chamelle collecté localement en comparaison avec le lait bovin. *AST Annales des Sciences et Technologie*, vol 4, n°2.
- 121. SIBOUKEUR O .K.**, 2007. Etude du lait camelin collecté localement : caractéristiques physico-chimiques et microbiologiques ; aptitudes à la coagulation. Thèse de doctorat en Sciences Agronomiques Université INA El-Harrach-Alger.135.
- 122. SIBOUKEUR O.**,2008. Etude du lait camelin collecté localement: caractéristiques physico-chimique et microbiologique; aptitudes à la coagulation. Thèse de doctorat, Institut national agronomique El-Harrach, Alger.
- 123. SENOUCI D.**, 2018. Biodiversité des bactéries lactiques dans les produits laitiers et leurs propriétés technologiques (cas du lait de dromadaire). Thèse de doctorat en Sciences biologiques Université Ahmed Ben Bella Oran.215.
- 124. SOLANKI D et HATI S.**, 2018. Fermented camel milk: A Review on its bio-functional properties. *Emirates Journal of Food and Agriculture*: 30. 274.
- 125. STILES M.E. and HOLZAPFEL W.H.** , 1997. Review article Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy. *Int. J. Food Microbiol.*36:1-29.

T

- 126. TAMIME A. Y.**, 2002. Microbiology of Starter Cultures. *Dairy Microbiology Handbook*. Third Edition, Edited by Richard K. Robinson a John Wiley & Sons, Inc., Publication.261.
- 127. TEIXEIRA L.M., CARVALHO M.G.S et FACKLAM R.R.**, 1999. Vagococcus. In *Encyclopedia of FoodMicrobiologiy*. Robinson R.K. Oxford,Elsevier.2215-2220.

128. THOMAS T.D., 1973. Agar medium for differentiation of *Streptococcus cremoris* from the other bacteria. N.Z.J. Dairy. Sci.Technol.,8,70-71.

129. THOMPSON J.etGENTRY-WEEKS C.R.,1994.,Métabolisme des sucres par les bactéries lactiques. Dans : Bactéries lactiques. Edited by H De Roissart,& F.M Luquet. 239-290.

γ

130. VEISSEYRE R., 1975. Technologie du lait. 3ème édition. La Maison Rustique, Paris, 713 p.

131. VIGNOLA C., 2002. Science et technologie du lait éd. Presses internationales Polytechnique de Montréal. ISBN:29-34.

W

132. WERNRY U., 2006. Camel milk, the white gold of the desert. Journal of camel practice and Research 13:15-26.

133. WISEMAN D. W. et APPLEBAUM T., 1983. Distribution and resistance to pasteurization of aflatoxin MI. In naturally contamination, whole milk, cream and skin milk. Journal of food prad., 46 , 530-532.

γ

134. YAGIL R., 1982. Camel and Camel Milk. Invited publication from FAO (Food and Agricultural Organization of the UN) 26,69.

Z

135. ZADI K.H., KARAM N-E., 2006. Bactéries lactiques du lait de Chamelle d'Algérie: mise en évidence de souches de *Lactococcus* résistantes au sel. Tropicultura .,24(3) :153-156.

136. ZAROUR K., BENMECHERNENE Z., HADADJI M., MOUSSA-BOUDJEMAA B., HENNI D. et KIHAL M., 2012. Bioprospecting of *Leuconostoc mesenteroides* strains isolated from Algerian raw camel and goat milk for technological properties useful as adjunct starters. African Journal of Microbiology Research. 6:3192-3201.

137. ZAROUR K., BENMECHERNENE Z., HADADJI M., MOUSSA-BOUDJEMAA B., HENNI J E. and KIHAL M., 2013. Caractérisation microbiologique et technologique des espèces de *Leuconostoc mesenteroides* du lait cru de chèvre et de chamelle d'Algérie. Revue « Nature and Technologie » B-Sciences Agronomiques et Biologiques 8:39-47.

138. ZHANG H, et CAI Y., 2014. Lactic Acid Bacteria Fundamentals and Practice. Springer Dordrecht Heidelberg. New York London. 536P.

Annexes

Annexe 01 : Les milieux de culture utilisés

Les ingrédients en grammes pour un litre d'eau distillée ou déminéralisée.

01 milieu MRS (Man Rogosa et Sharpe, 1960).

Extrait de levure	05
Extrait de viande	10
Poly peptone	10
Citrate de sodium.....	02
Acétate de sodium	05
Glucose	20
KH ₂ PO ₄	02
MgSO ₂	0,25
MnSO ₄	0,05
Agar-agar	15
Eau distillée	1000ml

pH 6,8

Autoclavage 120°C/20 minutes.

02 Milieu M16 BCP (Thomas, 1973)

Extrait de levure	2,5
Extrait de viande	05
Peptone.....	10
Acide ascorbique	0,5
Lactose	02
L-arginine	04
Pourpre de Bromocrésol	0,05
Agar-agar	15
Eau distillée	1000ml

pH 6,8

Autoclavage 120°C/20 minutes.

03 Milieu MSE (Mayeux, Sandine et Elliker,1962)

Tryptone	20
Gélatine.....	02,5
Extrait de levure	05
Saccharose.....	100
Glucose	05
Citrate de sodium.....	01
Azide de sodium	0,075
Agar-agar	15
Eau distillée	1000ml

pH 6,8

Autoclavage 120°C/20 minutes.

04 Milieu M17

Tryptone	02,5
Peptone pepsique de vionde	02,5
Peptone papainique de soja	05
Extrait de levure	02,5
Extrait de viande	05
Lactose	05
Glycérophosphate de sodium	19
Sulfate de magnésium	0,25
Acide ascorbique	05
Agar-agar	15
Eau distillée	1000ml

pH 7

Autoclavage 120°C/20 minutes.

05 Milieu MRS BCP

MRS (milieu liquide) moins l'extrait de viande et sans sucre 1000ml

Bromocrésol Pourpre.....0.025ml

pH 7

Autoclavage 120°C/20 minutes.

06 Milieu KMK (kempler et Mc Kay,1980)

Extrait de levure03

Biopolytone.....02.5

Glucose05

Eau distillée1000ml

Agar-agar15

pH 6,8

Autoclavage 121°C/15 minutes.

07-Milieu Clark et Lubs

Peptone.....10

Glucose05

K₂HPO₄.....05

Eau distillée1000ml

pH7

Autoclavage 120°C/15 minutes.

08- Gélose à l'esculine

Peptone.....03

Peptone de caséine.....17

Extrait de levure05

Bile d'œuf10

Chlorure de sodium.....05

Esculine.....01

Citrate ferrique ammoniacan.....0.5

Azide de sodium0,15

Agar-agar	15
Eau distillée	1000ml
pH 7	
Autoclavage 120°C/20 minutes.	

09-Lait Ecrémé

Eau distillée	1000ml
Lait en poudre	110
Autoclavage 110°C/10 minutes.	

10- Eau Physiologique

Chlorure de sodium.....	8.5
Peptone.....	0.5
Eau distillée	1000ml
pH 7	

10-Bouillon MRS

Peptone.....	10
Extrait de levure	5
Extrait de viande	10
Glucose	20
Polysorbate 80.....	01
Citrate d' ammonium.....	0.5
Acétate de sodium	5
Sulfate de magnésium.....	0.1
Sulfate de manganèse	0.05
Phosphate disodique	02

Annexe 02: Technique de Coloration de Gram et technique des dilutions.

Coloration de Gram

- Réaliser un frottis bactérien et le fixer.
- Colorer au violet de gentiane phénol durant environ 1 min.3
- 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 phénolée 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.

Technique des dilutions:

- Marquer les tubs de diluant (Exemple : 10^{-1} ; 10^{-2} ; 10^{-3} ; 10^{-4}).
- Prélever aseptiquement 1 ml de la suspension mère à l'aide d'une pipette graduée stérile de 1 ml munie d'un poire à aspiration ; l'homogénéisation du prélèvement se fait par aspiration et refoulement trois fois, ou par l'utilisation d'un homogénéisateur (norme NF ISO 7218).
- Transférer aseptiquement le 1ml prélevé dans le premier tube 10^{-1} , la pipette ne devant pas pénétrer dans les 9ml de diluant.
- Jeter la pipette utilisée dans un conteneur approprié. A l'aide d'une deuxième pipette stérile de 1ml, procéder de même du tube 10^{-2} au tube 10^{-2} .
- Faire de même pour les deux derniers tubes, en utilisant à chaque prélèvement une pipette nouvelle.

Annexe 03 photos des résultats



Figure1: Aspect macroscopique des bactéries lactiques obtenues après 96h d'incubation à 37°C sur milieu MRS (1) et M17 (2).

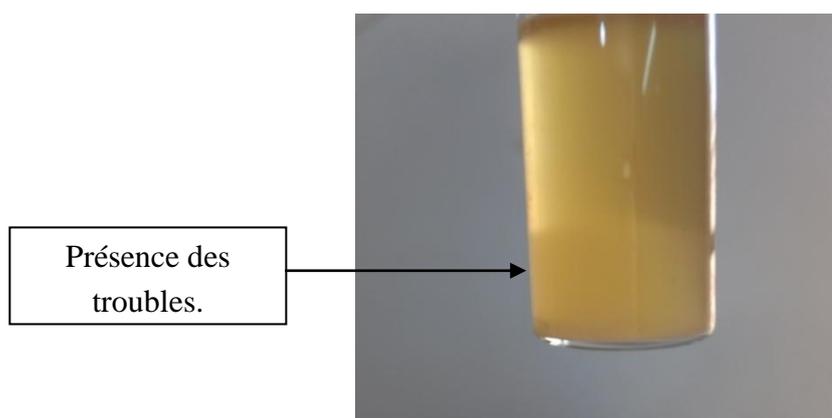


Figure2: Aspect macroscopique des souches pures des bactéries lactiques sur MRS liquide.

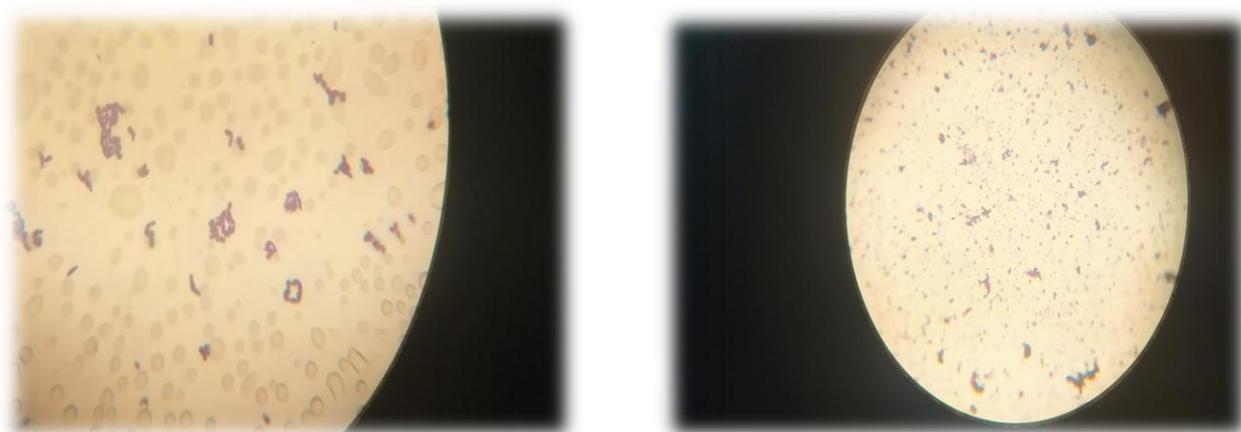


Figure 3: Observation microscopique des souches isolées après une coloration de Gram.

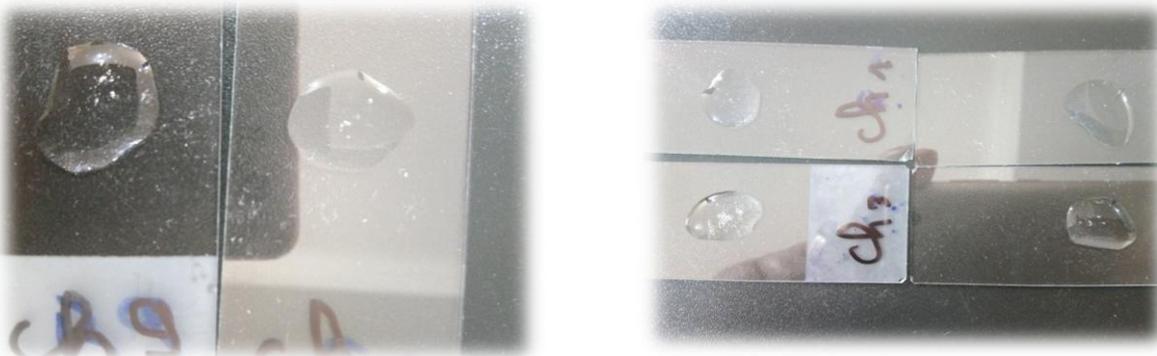


Figure4: Résultat du test de catalase (test négatif).

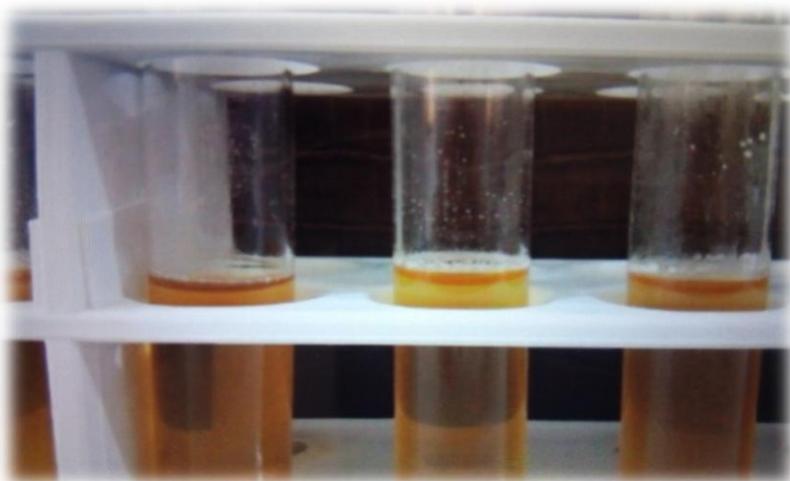


Figure5: Aspect macroscopique des bactéries lactiques obtenues après 48h d'incubation à 37°C.

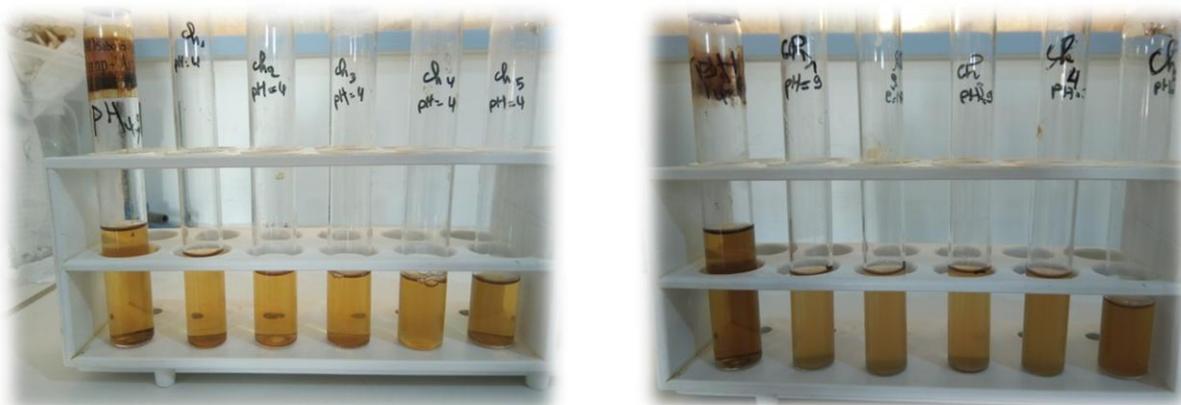


Figure6: Aspect macroscopique des bactéries lactiques obtenues après 48h d'incubation à 30°C à pH 4.8 et 9.6

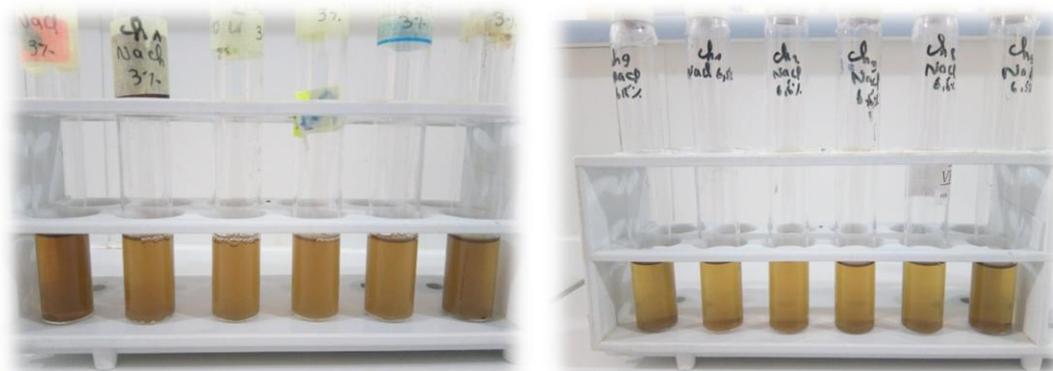
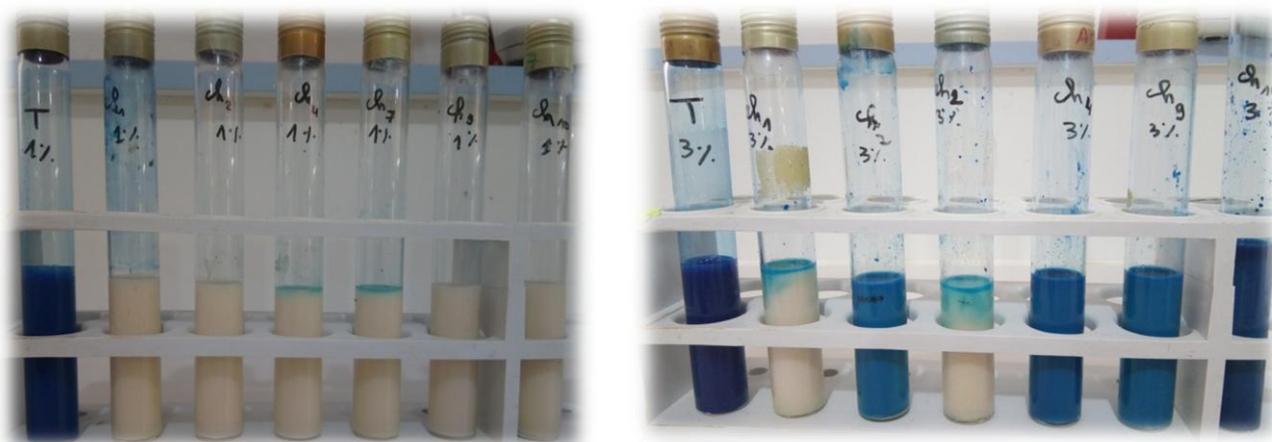


Figure7: Aspect macroscopique des bactéries lactiques obtenues après 48h d'incubation à 30°C à différentes NaCl.



(1)

(2)

Figure8 : Croissance en milieu de Sherman (1%) (1) et (3%) (2).



Figure9 : Résultats de la recherche de l'acétone

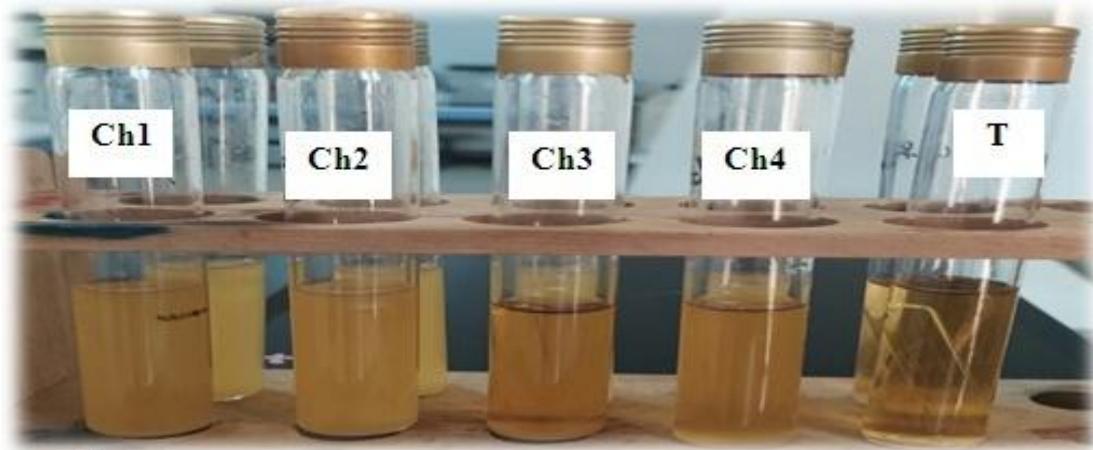


Figure10 :Test de type fermentaire des souches

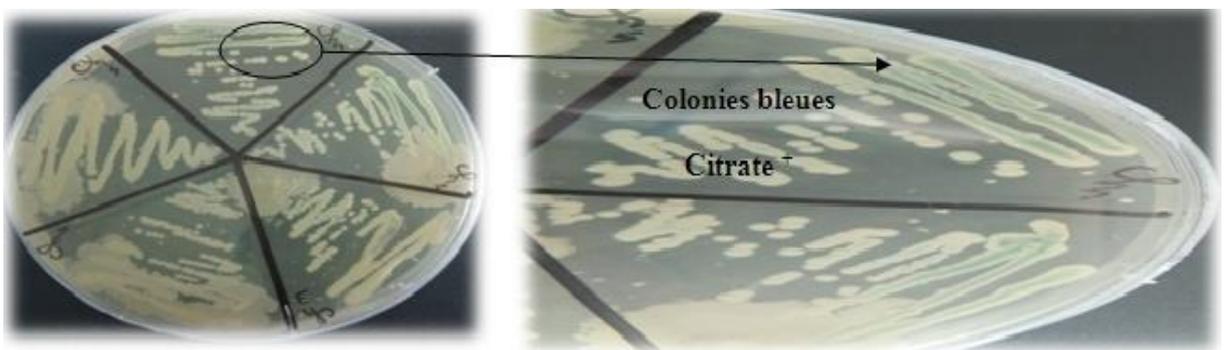


Figure11 : Résultat de test du citratase sur milieu KMK

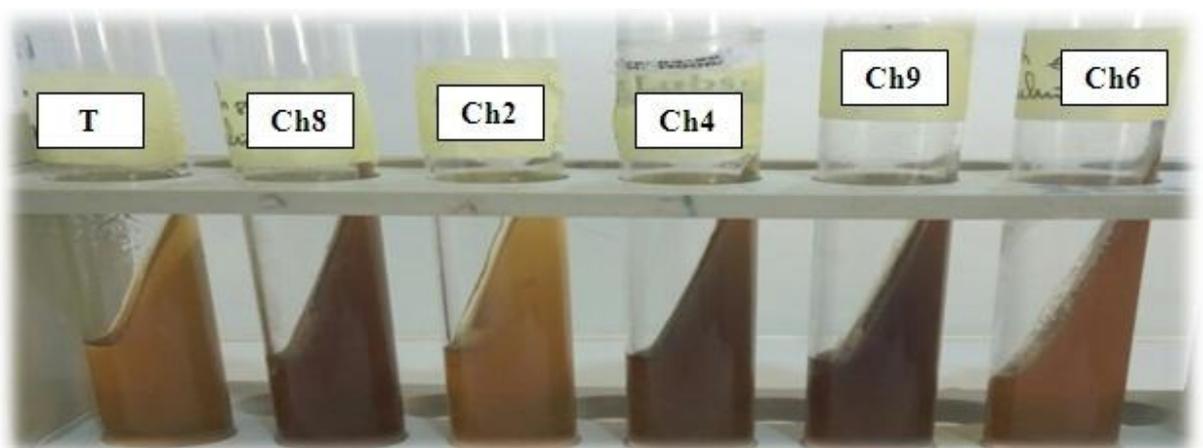


Figure12 : Croissance en milieu gélosé à l'esculine après 24h d'incubation

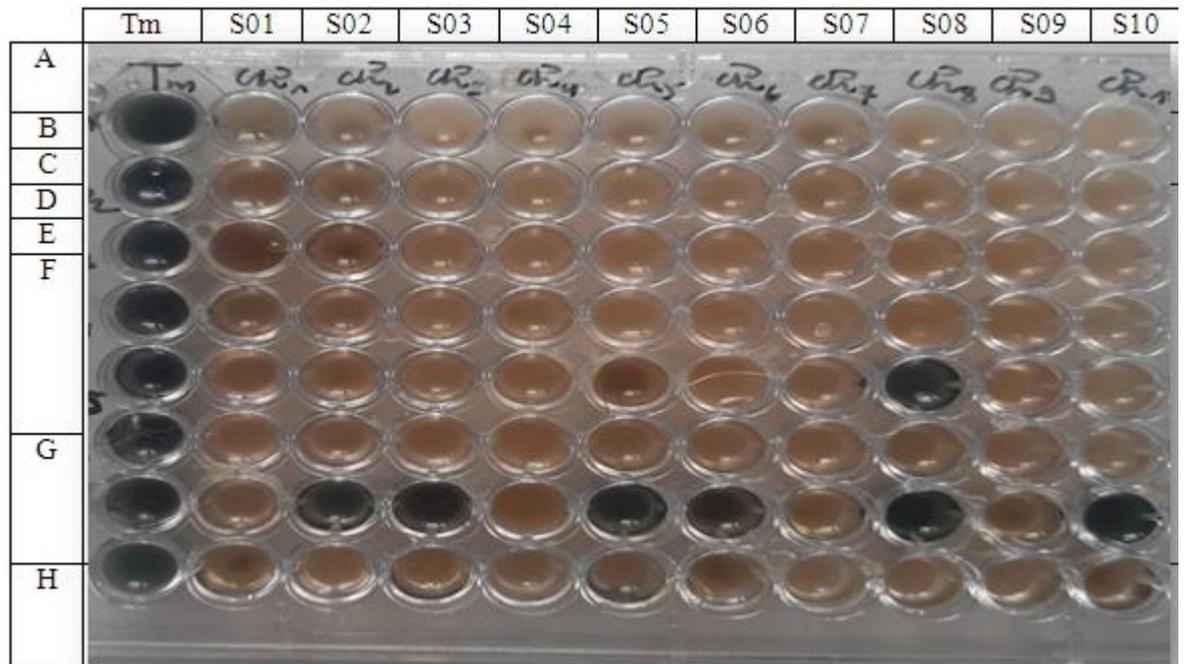


Figure13 : Profile fermentaire des isolats effectué sur plaque d'Elisa

- **Tm** : Témoin milieu MRS BCP.
- **Souches**: S01, S02, S03, S04, S05, S06, S07, S08, S09 et S10.
- **Sucres**: A (Galactose),B(Fructose), C(Lactose),D(Glucose), E(Mannitol),F(Arabinose),G(Xylose),H(Saccharose)
- **Jaune** : fermentation du sucre résultat (+).
- **Vert** : pas de fermentation du sucre r sultat(-).

Annex04 : Tableaux de références.

Tableau 01 : Caractéristiques des *Lactobacillus*.

Tableau 17 – Caractéristiques des *Lactobacillus*

Groupe	Betabacterium								Streptobacterium					Thermobacterium								
	<i>L. brevis</i>	<i>L. buchneri</i>	<i>L. cellulosus</i>	<i>L. fermentum</i>	<i>L. fructivorans</i> *	<i>L. hilgardii</i> **	<i>L. kefir</i>	<i>L. sanfrancisco</i>	<i>L. viridescens</i>	<i>L. casei/casei</i> ***	<i>L. casei/pseudoplantarum</i>	<i>L. casei/rhamnosus</i> ****	<i>L. casei/tolerans</i> °	<i>L. curvatus</i>	<i>L. plantarum</i>	<i>L. sake</i>	<i>L. acidophilus</i>	<i>L. delbrueckii/bulgarius</i>	<i>L. delbrueckii/delbrueckii</i> °°°	<i>L. delbrueckii/lactis</i>	<i>L. helveticus</i> °°°	<i>L. salivarius</i>
CO ₂ sur glucose	+	+	+	+	+	+	+	+	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	+	+	+	+	+	+	+
Culture à 15 °C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Culture à 45 °C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Arginine (NH ₃)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Amygdaline	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Esculine	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Culture teepol 0,4 %	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Arabinose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Cellobiose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Gluconate	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Lactose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Mannitol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Mélezitose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Mélibiose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Raffinose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Rhamnose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Ribose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Saccharose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Tréhalose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Sorbitol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Xylose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Acide lactique (type)	DL	DL	DL	DL	DL	DL	DL	DL	DL	D	L	D	L	DL	DL	DL	DL	D	D	D	DL	L
Sérotype	E	E	F	F	F	F	F	F	F	BC	C	C	C	C	D	D	E	E	E	E	A	G
% acide sur lait	1,3	1,3	1,3	1,3	1,3	1,3	1,3	1,3	1,3	1,3	1,3	1,3	1,3	1,3	1,3	0,3	0,3	1,5	1,5	0	1,5	2,7
Auxotrophies	F	R	-	-	-	-	-	-	R	PF	PF	PF	PF	PF	PF	-	RFB	R	RT	RB	RP	RF

v : variable ; R : riboflavine ; P : pyridoxal ; F : acide folique ; B : vitamine B12 ; T : thymidine ; . : non déterminé
 * voisin de *L. trichodes* ; ** voisin de *L. desidiosus* ; *** = *L. casei* ; **** = *L. rhamnosus* ; ° = *L. tolerans* = *L. paracasei* / *tolerans* ; °°° voisin de *L. leichmanii* ; °°°° voisin de *L. jugurti*

Tableau 02 : Caractéristiques des *Leuconostoc*.

Tableau 15 – Caractéristiques des *Leuconostoc*

	<i>L. lactis</i>	<i>L. mesenteroides</i> subsp <i>cremoris</i>	<i>L. mesenteroides</i> subsp <i>dextranicum</i>	<i>L. mesenteroides</i> subsp <i>mesenteroides</i>	<i>L. paramesenteroides</i>	<i>L. oenos</i>	Autres <i>Leuconostoc</i>
Culture à 37 °C	+	-	+	v	v	v	v
Résistance 15 min à 55 °C	+	-	v	v	-	-	-
Production d'acétoïne (citrate)	-	+	-	-	+	-	+
Saccharose	+	-	+	+	v	v	v
Arabinose	-	-	-	+	+	+	+
Tréhalose	-	-	+	+	+	+	+
Fructose	+	-	+	+	+	+	v
Production de dextrane	-	-	+	+	-	+	v
Esculine	-	-	v	v	v	-	v
Arginine	-	-	-	-	-	-	-
Lait tourmesolé	a/AC	-	-	a/-	3	.	.
Groupe selon Garvie	2	1	4	5/6	3	.	.

v : variable ; a : acidification légère ; A : acidification ; C : coagulation.

Tableau 03: Caractéristiques des *Enterococcus*, *Lactococcus* et *Streptococcus*.

Tableau 14 – Caractéristiques des *Enterococcus*, *Lactococcus* et *Streptococcus*

	Enterococcus			Lactococcus			Streptococcus					
	<i>E. durans</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecium</i>	<i>L. lactis</i> subsp. <i>cremoris</i>	<i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i>	<i>L. «diacetylactis»</i>	<i>S. agalactiae</i>	<i>S. bovis</i>	<i>S. dysgalactiae</i>	<i>S. mitis</i>	<i>S. pyogenes</i>	<i>S. thermophilus</i>
Groupe sérologique	D	D	D	Z	Z	Z	B	D	Q	I	A	I
Hémolyse	αβ	β	α	γ	γ	γ	(β)	(α)	α	α	β	(α)
Croissance à 10 °C	+	+	+	+	+	+	<	<	+	+	+	+
Croissance à 45 °C	+	+	+	+	+	+	<	<	+	+	+	+
Croissance à pH 9,6	+	+	+	+	+	+	<	<	+	+	+	+
Croissance à 6,5 % NaCl	+	+	+	+	+	+	<	<	+	+	+	+
Croissance sur milieu bilié	+	+	+	+	+	+	<	+	+	+	+	+
Résistance 30 mn à 63 °C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Résistance à l'optochine	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Croissance sur lait « bleu »	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Arginine	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Résistance au tellurite	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Hydrolyse de l'hippurate	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Réduction du TTC	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Lait tournesolé	ARC	ARC	ARC	ARC	ARC	ARC	+	AC	+	+	A	AC
Lactose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Maltose	(+)	(+)	(+)	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Mannitol	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-
Melibiose	-	-	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-
Acétoïne (VP)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Citrate	+	+	-	(+)	-	+	+	+	+	+	+	+
CO ₂ sur citrate	-	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+
β-glucuronidase	-	-	-	-	-	-	(+)	+	+	-	(-)	-
Gélatinase	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+
Hydrolyse de l'amidon	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+
Esculine	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	-

v : variable ; (+) : positif pour la plupart des souches ; A : acidification ; R : réduction ; C : coagulation
 . : non déterminé ; * : + sur citrate

Annexe 05: Liste de matériels utilisés

- ✓ Centrifugeuse
- ✓ Bain Marie
- ✓ Four pasteur
- ✓ Microscope optique
- ✓ Vortex
- ✓ Etuve
- ✓ Balance
- ✓ pH mètre
- ✓ Agitateur magnétique à plaque chauffante
- ✓ Anse de platine
- ✓ Autoclave
- ✓ Barreaux magnétique
- ✓ Bec benzène
- ✓ Boîtes pétri
- ✓ Eprouvette
- ✓ Erlenmayer
- ✓ Micropipette
- ✓ Plaque d'Elisa
- ✓ Mortier
- ✓ Pipettes pasteurs
- ✓ Réfrigérateur
- ✓ Tubes à essai
- ✓ Tubes endendorf
- ✓ Tubes sec en verre
- ✓ Vortex électrique

Résumé

Comme tous les produits laitiers fermentés, le Smen représente un habitat naturel pour les bactéries lactiques. Pour cette raison, cette étude a été réalisée afin d'isoler et d'identifier les bactéries lactiques à partir de trois échantillons de S'men camelin provenant de wilaya de Ouargla, nous a permis d'obtenir 10 souches à Gram positif et catalase négatif.

Pour l'identification des espèces, nous sommes basés sur les tests suivants : tests phénotypiques, biochimiques et physiologiques. Test de fermentation des sucres a permis d'identifier 10 isolats. Ces isolats ont été affiliés à trois genres bactériens qui sont : *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Lactococcus*. De ces derniers, le genre *Lactococcus* est le plus dominant avec un pourcentage de 50%, du fait de son adaptation au procédé de préparation de S'men qui inclut différentes conditions hostiles pour le développement bactérien : salage, conditions anaérobique, etc.

Les souches isolées sont des coques et des bacilles, la plupart sont des homofermentaires mésophiles, toutes les souches ne peuvent pas être cultivé à 45°C, à pH 9.6 et à 9.6% d'NaCl. Elles sont dépourvues du catalase et ne produisent pas le dextrane, certain sont capable d'hydrolysé l'esculine, dégradent l'arginine et utilise le citrate. Tous les non sont pas thermorésistantes à 63.5°C et capable de fermenté les sucres tels que ; Galactose, Fructose, Lactose, Glucose, Arabinose et

Abstract

Like all fermented dairy products, S'men represents a natural habitat for lactic acid bacteria. For this reason, this study was carried out in order to isolate and identify lactic acid bacteria from three samples of S'men camelin from the wilaya of Ouargla, allowed us to obtain 10 Gram positive and catalase negative strains. For the identification of species, we are based on the following tests: phenotypic, biochemical and physiological tests. Sugar fermentation test identified 10 isolates. These isolates were affiliated with three bacterial genera which are: *Lactobacillus*, *Leuconostoc* and *Lactococcus*. Of these, the genus *Lactococcus* is the most dominant with a percentage of 50%, due to its adaptation to the process of preparation of Smen which includes different conditions hostile to bacterial development: salting, anaerobic conditions, etc.

The strains isolated are cocci and bacilli, most are mesophilic homofermenters, not all strains can be grown at 45 ° C, pH 9.6 and 9.6% NaCl. They are devoid of catalase and do not produce dextran, some are able to hydrolyze esculin, degrade arginine and use citrate. Not all of them are heat resistant to 63.5 ° C and capable of fermenting sugars such as; Galactose, Fructose, Lactose, Glucose, Arabinose and Sucrose.

Key words: camel milk, Smen, lactic acid bacteria, physiological and biochemical characteristics

مثل جميع منتجات الألبان المخمرة ، يمثل السمن موطنًا طبيعيًا لبكتيريا حمض اللاكتيك. لهذا السبب أجريت هذه الدراسة من أجل عزل والتعرف على بكتيريا حمض اللاكتيك عن طريق ثلاث عينات من السمن المحضر من حليب النوق (ولاية ورقلة)، مما سمح لنا بالحصول على 10 سلالات موجبة الغرام وسالبة الكاتالاز. لتحديد الأنواع ، نعتمد على الاختبارات التالية : اختبارات النمط الظاهري والكيمياء الحيوية والفيولوجية . حدد اختبار تخمير السكر 10 عزلات. كانت هذه العزلات مرتبطة بثلاثة أجناس بكتيرية هي : *Lactobacillus* ، *Leuconostoc* ، *Lactococcus*. من بين هؤلاء ، جنس *Lactococcus* هو الأكثر انتشارًا بنسبة 50 % ، نظرًا لتكيفه مع عملية تحضير السمن التي تشمل ظروفًا مختلفة معادية للتطور البكتيري: التملح ، الظروف اللاهوائية ، ... الخ.

السلالات المعزولة عبارة عن فواقع وعصيات، ومعظمها عبارة عن مخمرات متجانسة متوسطة الحجم، ولا يمكن زراعة جميع السلالات عند 45 درجة مئوية، ودرجة الحموضة 9.6 ونسبة 9.6% كلوريد الصوديوم. فهي خالية من الكاتالاز ولا تنتج ديستران ، وبعضها قادر على تحلل الإسكولين وتحلل الأرجينين واستخدام السترات. ليست جميعها مقاومة للحرارة حتى 63.5 درجة مئوية وقادرة على تخمير السكريات مثل ؛ الجلاكتوز ، الفركتوز ، اللاكتوز ، الجلوكوز ، الأرابينوز والسكراروز.