

UNIVERSITE KASDI MERBAH OUARGLA
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département des Sciences Biologiques



Mémoire de Master Académique

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences biologiques

Spécialité : Microbiologie Appliquée

THEME

**Isolement des bactéries lactiques productrices
d'exopolysaccharides à partir du lait de
chamelle**

Présenté par :

Melle. AOUI Koucher

Mme. AHMAHMA Soumia

Soutenu publiquement :

Le 22/06/ 2025

Devant le jury :

Mme. BOUDJENAH. S

Mr. MOSBAH Said

Melle. TARFAOUI. N

Mme. ATTAB. S

Président

Promoteur

Co- Promoteur

Examineur

MCA

MCA

Doctorante

MCA

UKM Ouargla

UKM Ouargla

UKM Ouargla

UKM Ouargla

Année Universitaire : 2024/2025

Remerciements

Je remercie en premier lieu DIEU, le Clément, le Miséricordieux, le tout Puissant. Louange 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 reconnaissance 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 remercie de nous encadrés, orientés, aidés et conseillés. Nos reconnaissances à nos co-encadreur **Melle. TARFAOUI Neserine** 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. BOUDJENAH - HAROUN S**, 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. ATTAB Sara**, Maître de Conférences à l'Université K.M. Ouargla, pour l'honneur qu'elle 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 Amina qui elle nous ont aidé avec une grande humeur. En fin nous remercions nous famille : nous parents qui ont toujours été là pour nous, ainsi nous grands parents, nous frères, sœurs, oncles, tantes. Et tous nos 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 l'aide de Dieu tout puissant A mes parents.

Vous m'avez éduqué et enseigné le sens de l'honneur, de la dignité et de probale morale et le respect de soi. Votre soutien et conseils m'ont beaucoup aidé et je crois avoir atteint en partie vos objectifs.

Merci infiniment pour tout ce que vous avez fait pour moi jusqu'à cet instant.

Qu'Allah puisse vous accorde la santé, le bonheur, la longévité.

A mes frères : Abd Elrahman et Bilal.

A mes sœurs : Kalthoume et Radai et Oum Elkhaire

Merci pour votre encouragement. A toute ma famille.

A ceux qui ont paris une partie dans mon cœur : Karima et Fatima.

A mon cher oncle : Rafik.

Je remercie particulièrement ma binôme Soumia Ahmahma pour son amitié, sa vivacité d'esprit ses précieux conseils et les moments passé ensemble.

Kouther

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 , A mon très chère marie Ramzi qui m'a soutenu durant toute la durée de réalisation de ce travail ,A toute ma grande famille "AHMAHMA" A ma sœur et mon très cher binôme AOUFI, je tiens à te remercier pour ta confiance en moi. A tous mes amis sans exception Surtout Hiba, Wissam, Chahinaz, Ahlam..... A tous ; je dédie cet ouvrage, qui est le sens de mes études supérieurs, 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.

Soumia

Table de Matière

Remerciements	II
Dédicace 1+2	III+IV
Table de matière	V
Liste des abréviations	IX
Liste des tableaux	X
Liste des figures	XI
Liste des Annexes	XII
Liste des photos	XIII
Introduction	2
PARTIE I : Synthèse bibliographique	4
CHAPITRE I : Lait de chamelle	5
Généralités	5
1. Caractéristiques physico-chimiques et organoleptiques	5
2. Composition chimique de lait de chamelle	5
CHAPITRE II : Bactéries lactiques	7
1. Habitat	7
2. Caractéristiques des bactéries lactiques	7
3. Les genres des bactéries lactiques	7
4. Utilisation des bactéries lactiques	7
4.1. Dans la fermentation alimentaire	7
4.2. La conservation	8
4.3. Dans la santé	8
4.4. Dans l'agriculture	8
CHAPITRE III : Exopolysaccharides	9
Les Dextranes	9
a. Définition	9
b. Classification des dextranes des bactéries lactiques	10
c. Le rôle des dextrane chez les bactéries lactiques	10
d. Applications du dextrane	11
PARTIE II : Matériel et méthodes	13
1. Objectif	
v. Lieu et période d'étude	13
v. Echantillons de Lait	13

ξ. Isolement et purification des souches -----	13
ξ.1. Préparation des dilutions décimales et isolement -----	13
ξ.2. Purification -----	13
ξ.3. Conservation des bactéries lactiques -----	14
ξ.3.1 Conservation à courte terme -----	14
ξ.3.2 Conservation à long terme -----	14
ο. Pré-identification des bactéries lactiques -----	14
ο.1. Etude morphologique -----	15
ο.1.1. Examen macroscopique -----	15
ο.1.2. Examen microscopique -----	15
ο.2. Tests physiologiques -----	15
ο.2.1 Test de catalase -----	15
ο.2.2 Croissance à différentes températures -----	15
ο.2.3 Test de thermorésistance -----	15
ο.2.4 Test de croissance à différentes pH -----	16
ο.2.5. La tolérance de la salinité -----	16
ο.2.6. La culture sur le lait de Sherman -----	16
ο.3. Tests biochimiques -----	16
ο.3.1 Recherche du type fermentaire -----	16
ο.3.2. Recherche de l'arginine dihydrolase (ADH) -----	16
ο.3.3 Production de l'acétoïne (Acétyle-Méthyle-Carbinol) -----	17
ο.3.4 Utilisation de citrate -----	17
ο.3.5 Utilisation des carbohydrates -----	17
ο.4 Production de dextrane -----	18
PARTIE III : Résultats et Discussion -----	19
I. Les résultats-----	20
I.1. Observation macroscopique et microscopique après colorations de gram -----	20
I.2. Teste de recherche de la catalase -----	20
I.3. Tests physiologiques -----	21
I. 3.1. Test de croissance à différentes températures -----	21
I.3.2. Thermorésistance -----	21
I.3.3. Test de croissance à différente pH -----	21
I.3.4. Résistance à la salinité -----	22
I. 3.5. Lait de Sherman -----	22
I.4. Tests biochimiques -----	23

I.4.1. Recherche de type fermentaire -----	23
I.4.2. Hydrolyse de l'arginine -----	24
I.4.3. Production de l'acétoïne -----	24
I. 4.4. L'utilisation de citrate -----	24
I.4.5. Utilisation des carbohydrates -----	25
I.5. Production de dextrane -----	26
II. Discussion -----	27
II.1. Identification des souches lactiques isolées -----	27
II.2. II.2. La production des exopolysaccharides -----	28
Conclusion -----	30
Références bibliographiques -----	32
Annexes -----	41
Résumé -----	49
Abstract -----	49
ملخص -----	49

Liste des abréviations

° C	Degré Celsius
%	pourcent
ADH	Arginine Dihydrolase
CO2	Dioxyde de carbone
E	Enterococcus
EPS	Exopolysaccharides
g	gramme
G	grossissement
h	heure
ISO	International Organization of standardization
KMK	kempler et Mc Kay
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
pH	potentiel d'hydrogène
sp	Espèce non précisée
Subsp	Sous espèce
T°	Température
V	Volume
VP	Vogues-Proskauer

Liste des tableaux

Tableaux	Page
Tableau 01 : Composition chimique globale (g/l) du lait de chamelle selon différents auteurs ; comparaison avec le lait de vache.	6
Tableau 02 : Les principaux genres productrices des exopolysaccharides et ses origines possibles d'isolement.	9
Tableau 03 : Critères morphologiques des bactéries lactique isolées à partir de Lait camelin.	21
Tableau 04 : Résultats de test de croissance des isolats (Lait camelin) à différentes T°.	22
Tableau05 : Résultats des tests : de croissance à différentes pH, test de croissance à différentes concentrations d'NaCl et test de lait de Sherman.	23
Tableau 06 : Profil biochimique des isolats .	25
Tableau 07 : Résultat de profil fermentaire des souches isolées à partir de lait camelin.	26
Tableau 08 : L'identification des souches lactiques isolées à partir de lait camelin.	28
Tableau 09 : Résultats de fermentation des carbohydrates par les souches bactériennes sur une plaque d'Elisa	40
Tableau 10 : Caractéristiques différentielles des bactéries lactiques	47
Tableau 11 : Caractéristiques différentielles des bactéries lactiques	48

Liste des figures

Figure	Page
Figure 01 : Classification des dextrans des bactéries lactiques	10
Figure 02 : Diagramme décrire les différentes étapes réalisées pour la pré-identification des souches lactiques.	14
Figure 03 : Test de croissance sur milieu Citrate de Simmons	17
Figure 04 : Aspect macroscopique des souches lactique sur gélose MRS	20
Figure 05 : Observations microscopiques des souches isolées après une coloration de Gram à grossissement (x100)	20
Figure 06 : Notre résultats pour le test est de recherche type fermentaire	23
Figure 07 : Aspect des colonies a ADH négatif sur milieu M16-BCP	24
Figure 08 : Résultats de la recherche de l'acétoine.	24
Figure 09 : Résultats de test d'utilisation de citrate	26
Figure 10 : Aspect des colonies a production d'EPS négatif sur milieu MSE et MRS	26
Figure 11 : Répartition des espèces de la collection lactique.	27
Figure 12 : Aspect macroscopique des souches pures des bactéries lactiques sur MRS liquide	42
Figure 13 : Résultat du test de catalase (test négatif)	42
Figure 14 : Croissance en milieu de Sherman (0.1%) et (0.3%)	46

Liste des Annexes

Annexe	Page
Annexe 01 : Milieux de cultures	4¹
Annexe 02 : Technique de Coloration de Gram.	4²
Annexe 03 : Matériels utilisées	4³
Annexe 04 : Examen macroscopique et microscopique	4⁴
Annexe 05 : Tests physiologiques et biochimiques	4⁵
Annexe 06 : Tableaux de références	4⁶

Introduction

Introduction

Le lait et les produits laitiers sont consommés par plus de six milliards de personnes dans le monde, car ils constituent un groupe alimentaire présentant une grande variété de goût, de texture et de valeur nutritionnelle (EFSA., 2017). Parmi les différentes variétés de lait, celui de chamelle occupe une place stratégique dans l'alimentation quotidienne des nomades, de par sa composition équilibrée en nutriments de base (protéines, glucides et lipides) et sa richesse en vitamines et en minéraux, notamment en calcium alimentaire. En raison de son importance ce produit peut être consommé à l'état frais, mais aussi sous forme pasteurisé, stérilisé ou transformé en produits fermentés (HUYGHEBAERT, 2006).

Le lait en général, et le lait de chamelle en particulier, est un produit hautement nutritif offrant un environnement idéal pour la croissance d'une population microbienne diversifiée et complexe. Parmi ces populations, on trouve celles que l'on appelle les bactéries lactiques (LIMA., 2018).

Les bactéries lactiques (BL) font partie des groupes importants de bactéries procurant des bienfaits pour la santé humaine, animale et végétale. Ils jouent un rôle essentiel dans les applications alimentaires, agricoles et cliniques. Leur croissance rapide et leur activité métabolique ont été déterminantes dans la plupart des applications, notamment la production alimentaire, l'industrie agricole (BRINK B *et al*, 1994).

Les exopolysaccharides (EPS) microbiens sont des polymères biosynthétiques ou biopolymères définis par GEESEY (1982) comme étant des « substances polymériques extracellulaires d'origine biologique qui participent à la formation des agrégats microbiens ». D'autres auteurs tels que CHARACKLIS et WILDERER (1989) vont plus loin définissant les EPS comme des « polymères organiques qui sont souvent responsables dans les biofilms de la cohésion des cellules et de leur adhésion sur des substrats » (GEESEY, 1982 ; CHARACKLIS et WILDERER, 1989 ; GARRIDO *et al.*, 2002 ; DU *et al.*, 2018).

Dans ce contexte, l'intérêt de ce travail est d'isoler et identifier des bactéries lactiques dans le lait de chamelle, et essayer de savoir sa capacité à produire des exopolysaccharides.

Le manuscrit est structuré en trois parties, la première partie est consacrée à une synthèse bibliographique sur le lait de chamelle et généralités sur les bactéries lactiques et une généralité sur l'exopolysaccharides. Dans la deuxième partie nous exposons le matériel et les méthodes mis en œuvre dans le cadre de la réalisation de ce travail. Elle comporte les techniques de pré-identification morphologiques, physiologiques et biochimiques des souches lactiques isolées et purifiées, ensuite

sélectionner les souches qui produisent d'exopolysaccharides. La troisième partie est consacrée aux résultats et discussion. On termine avec une conclusion qui englobe les résultats de ce travail.

Partie I

Synthèse bibliographique

Chapitre I : Le lait de chamelle

Généralités

Le lait est un élément essentiel de l'alimentation de nombreux organismes vivants, en particulier des humains, car ils le consomment dès le début de la vie, ce qui fait du lait le composant principal et primordial du corps humain. Parmi les types de lait qui peuvent être consommés, on trouve le lait de chamelle.

Pendant longtemps, le lait de chamelle a été essentiellement auto-consommé par les nomades sous forme crue ou fermentée. Le lait de chamelle est populaire parmi les populations du Moyen-Orient et d'Afrique (les zones arides et semi-arides) pour sa valeur nutritionnelle.

1. Caractéristiques physico-chimiques et organoleptiques

Comparé au lait de vache, le lait de chamelle est généralement plus visqueux, tandis que le lait de vache a tendance à être de couleur jaunâtre. Le goût du lait de chamelle varie entre sucré et salé selon le type de nourriture que mangent les chameaux et la disponibilité de l'eau. Par exemple, si les chameaux mangent des plantes comme le trèfle (également appelé « amande »), le lait aura probablement un goût sucré. Cependant, s'ils se nourrissent de plantes salées, comme les plantes côtières ou désertiques, le goût devient salé (FARAH et BACHMAN, 1987 ; SBOUI et al., 2009).

En termes de propriétés physiques, le pH du lait de chamelle se situe généralement entre 6,40 et 6,55, tandis que l'acidité titrable est comprise entre 15 et 18 degrés Duran. Quant à la densité, elle varie entre 1,020 et 1,030, selon ce qui a été mentionné dans les études précédentes (KAMOUN, 1995 ; SBOUI et al., 2009 ; CHETHOUNA, 2011 ; BOUDJENAH, 2012 ; DJAMAN, 2018). Ces différences sont souvent dues au type de nourriture des chameaux et aux conditions environnementales environnantes.

2. Composition chimique de lait de chamelle

Quant à la composition chimique du lait de chamelle, il contient un pourcentage de matière grasses et de protéines et de lactose, que sont indiqués dans le tableau 01. Le lait de chamelle contient de fortes concentrations de minéraux et de vitamines, que en fait un véritable aliment diététique (HADDADIN et al, 2007) A cet égard, le lait de chamelle a de faibles concentrations de vitamine A et B2 par rapport au lait de vache et des concentrations élevés de vitamines E et B1 dans le colostrum (ZHANG et al, 2005).

Tableau 01 : Composition chimique globale (g/l) du lait de chamelle selon différents auteurs ; comparaison avec le lait de vache.

Origine de lait	Constituants			Références
	Matière grasse	Protéines	Lactose	
Lait de Chamelle	31	28	41	ELAMIN et WILCOX, 1992
	11	32	45	MEHAIA et al., 1995
	28	35.68	43.87	SIBOUKEUR, 2007
	29.33	28.25	40.8	CHETHOUNA, 2011
	30	34.15	35.23	BOUDJENAH. 2012
	30.69-32.65	31.54-33.77	39.39-40.27	DJAMAN. 2018
Lait de Vache	37	34	48	FAO,1992

Chapitr II : Les bactéries lactiques

1. Habitat

Les bactéries lactiques sont largement répandues dans la nature, Ces bactéries représentent un groupe bactérien ubiquitaire et prolifique, présent dans diverses niches écologiques, notamment celles d'origine laitière (fermentée), carnée et végétale, ainsi que dans les voies gastro-intestinales et urogénitales des humains et des animaux, de même que dans les environnements telluriques et aquatiques (LIU *et al.*, 2014).

2. Caractéristiques des bactéries lactiques

Les bactéries Lactiques ont été identifiées par (ORLA-JENSEN,1919) Il s'agit d'un groupe de bactéries qui ont la capacité de fermenter les glucides en produisant de l'acide lactique , des procaryotes, des hétérotrophes et des chimio-organotrophes., les bactéries lactiques sont des gram positives , immobiles, non sporulants, micro-aérophiles ou aérotolescentes , aucune catalase (certaines cellules touchent une pseudo-catalase), de nitrate réductase et de cytochrome oxydase, également activées. Extraits nutritifs (acides aminés, peptides, acides gras et glucides) (HOLZAPFEL *et al.*, 2001 ; GEVERS, 2002). Ils ont des mésophiles généraux, certains psychrotolérants ou thermotolérants ; Il développe également une itération majeure à un pH compris entre 4 et 4,5 et certains moments ses activités sont à un pH de 9,6 ou 3,2 (BALIARDA, 2003).

3. Les genres des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques contiennent 13 genres , que sont les suivants : *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Enterococcus*, *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Oenococcus*, *Bifidobacterium*, *Carnobacterium*, *Aerococcus*, *Tetragenococcus*, *Weissella* et *Vagococcus*.(DORTU, 2009).

4. Utilisation des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques sont largement utilisées dans de nombreux domaines. Parmi ces utilisations :

4.1. Dans la fermentation alimentaire

Les bactéries lactiques jouent un rôle majeur dans la fermentation de nombreux aliments. Ce processus transforme des ingrédients comme le lait, le blé, les légumes ou la viande en aliments au goût distinct comme le yaourt, le pain au levain, le kimchi ou le saucisson. Les bactéries lactiques peuvent apparaître naturellement dans les aliments ou être ajoutées sous forme de "cultures de ferment lactique" pour obtenir des résultats précis (RAZOLA-DIAZ *et al.*, 2024).

4.2. La conservation

Les bactéries lactiques réduisent le pH des aliments, créant un environnement acide qui empêche la croissance de bactéries nuisibles. Cette méthode de conservation naturelle permet de garder les aliments frais plus longtemps et d'étendre leur durée de conservation (LIU *et al.*, 2021).

4.3. Dans la santé

Les bactéries lactiques sont reconnues pour leurs effets positifs sur la flore intestinale et la santé digestive. Elles peuvent aider à améliorer la digestion, à renforcer le système immunitaire et à prévenir certaines maladies. Certaines souches des bactéries lactiques répondent aux critères pour être qualifiées de probiotiques. Par exemple: Types de *Lactobacillus* (*L. acidophilus*) et types de *Bifidobacterium* (*B. bifidum*) et *Streptococcus thermophilus* (AYIV RD *et al.*, 2020).

Dans le domaine médical (substance antimicrobienne) et dans l'industrie des additifs alimentaires (production d'exo polysaccharides). Elles sont aussi utilisées pour la production de bactériocines et des protéines thérapeutiques (RODRIGUEZ *et al.*, 2003).

4.4. Dans l'agriculture

Le rôle des bactéries lactiques en agriculture est largement reconnu, de la préparation du sol à la conservation des produits. Les bactéries lactiques peuvent être ajoutées aux thés de compost pour préparer le sol à la plantation. Elles aident le sol à retenir l'humidité et à améliorer sa structure. De plus, les bactéries lactiques améliorent la fertilité du sol en augmentant la disponibilité des nutriments, la décomposition organique et l'aération. Les métaux lourds et les mycotoxines peuvent être détoxifiés par les bactéries lactiques. Les bactéries lactiques stimulent la capacité des plantes à tolérer les stress abiotiques tels que la déshydratation, les inondations et les températures élevées, et favorisent également la germination des graines et la croissance des plantes (LAMONT *et al.*, 2017).

Chapitre III : Les exopolysaccharides

Les bactéries lactiques produisent une variété de composés bénéfiques, notamment l'acide lactique, les bactériocines, les enzymes et certaines vitamines comme la B12. L'acide lactique est le principal métabolite, qui permet de conserver les aliments en abaissant le pH et en inhibant la croissance des micro-organismes pathogènes (AXELSSON, 2004).

Certaines souches des bactéries lactiques produisent des polysaccharides. Les polysaccharides excrétés par les BL sont appelés exopolysaccharides (EPS).

En plus, Les bactéries lactiques produisent des exopolysaccharides (EPS), qui améliorent la texture des produits fermentés (RUAS-MADIEDO, 2005).

Tableau 07 : Les principaux genres des bactéries lactiques productrices des exopolysaccharides et ses origines possibles d'isolement.

Genre	L'origine d'isolement	Références
<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	Produits laitiers	DEVOYOD <i>et</i> POUILLAIN, 1988 ZAROUR, 2018
<i>Lactobacillus plantarum</i>	Olives fermentées, tofu traditionnel Chinois	ZHANG <i>et al.</i> , 2013 SANCHEZ <i>et al.</i> , 2006 RODRIGUEZ <i>et al.</i> , 2008
<i>Pediococcus</i>	Céréales, choucroutes, concombres, olives, fruits	HARDY, 1982 ; BERVAS, 1991
<i>Lactococcus lactis</i>	Farines de blé, levains, produits laitiers et végétaux	CORSRETTI <i>et al.</i> , 2001
<i>Weissella</i>	Blé dur et tendre	ELKOLEI <i>et</i> AYADI, 2017

Les Dextranes (exopolysaccharides)

a. Définition

Le dextrane est un polysaccharide produit de manière extracellulaire par des bactéries lactiques et il possède généralement des chaînes de D-glucose en liaison (1–6) avec différentes ramifications ((1–2), (1–3) ou (1–4)) (ABDEL-RAHMAN *et al.*, 2007 ; SCHMID, 2018 ; DÍAZ-MONTES *et al.*, 2020). Parmi les différentes bactéries productrices d'EPS, les bactéries lactiques ont acquis une attention particulière.

Les bactéries lactiques sont généralement reconnues comme microorganismes sans danger, ainsi que leurs capacités à produire les EPS ont une grande diversité de structures sans risque pour la santé (SANLIBABA *et* ÇAKMAK., 2016).

b. Classification des dextrans

Le type de dextrane dépend de la souche microbienne car les dextrans peuvent différer par la longueur des chaînes et le degré de ramification. (ABDEL-RAHMAN *et al.*, 2007 ; SCHMID, 2018).

Fondamentalement, en fonction de la composition des unités répétitives et voie de biosynthèse, les EPS peuvent être classés en deux classes homopolysaccharides ou des hétéropolysaccharides (figure 01) (MISHR *et JHA*, 2013).

Les homopolysaccharides et les hétéropolysaccharides respectivement diffèrent également par le nombre des enzymes et l'organisation des gènes impliqués dans leur synthèse (HIDALGO-CANTABRANA *et al.*, 2012).

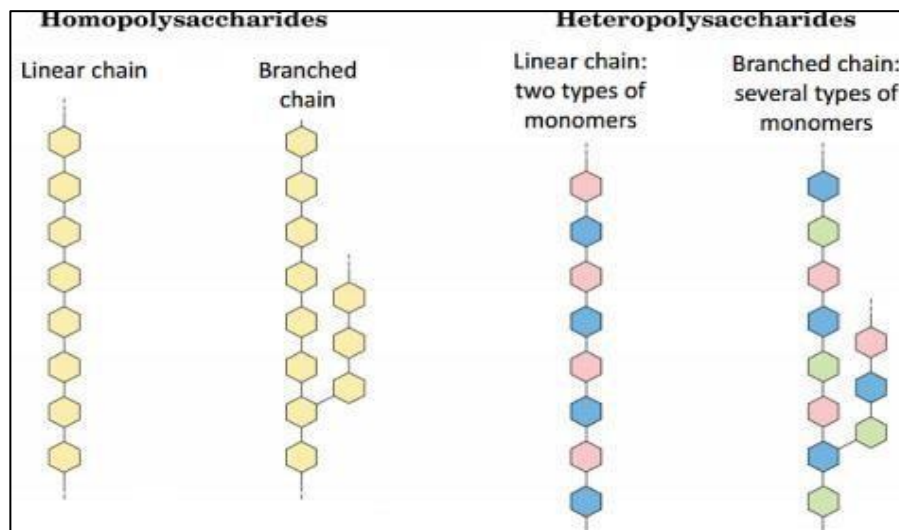


figure 01 : Classification des dextrans des bactéries lactiques

c. Le rôle des dextrane chez les bactéries lactiques

Les exopolysaccharides (EPS) jouent un rôle clé dans la protection et l'adaptation des microorganismes :

- Les exopolysaccharides (EPS) jouent un rôle crucial dans la survie et l'adaptation des bactéries lactiques. Ils forment une barrière physique protectrice autour de la cellule, lui permettant de résister aux stress environnementaux tels que les variations de température, de pH, la pression osmotique, ou encore l'intensité lumineuse. Chez les espèces extrémophiles comme les acidophiles, les thermophiles ou certaines Archaea, les EPS facilitent l'adaptation aux conditions de vie extrêmes (KAMBOUROVA *et al.*, 2015).

- Une couche EPS hautement hydratée protège contre la dessiccation, favorisant la survie en milieux arides (**KAMBOUROVA *et al.*, 2015 ; SURESH KUMAR *et al.*, 2007**).
- Le glycocalyx, composé principalement d'EPS, est crucial pour la formation de biofilms, facilitant l'adaptation aux conditions physico-chimiques et la coopération entre espèces (**BADEL *et al.*, 2011 ; CAGGIANIELLO *et al.*, 2016**).
- Les biofilms assurent une défense contre les agents antimicrobiens, le nettoyage et la prédation par les protozoaires (**DONOT *et al.*, 2012**).
- Les EPS contribuent à la communication cellulaire en rapprochant les bactéries (**BADEL *et al.*, 2011**).

d. Applications du dextrane

Le dextrane est utilisé dans les domaines pharmaceutique, alimentaire, chimique et médical pour ses propriétés physicochimiques remarquables (**FLÓREZ GUZMAN *et al.*, 2018**).

Il sert de support en chromatographie et de substitut du plasma (**MAURAY *et al.*, 1998**).

Dans l'alimentation, il améliore texture, goût, humidité et viscosité, et est présent dans les produits fermentés, crèmes glacées, bonbons et pains (**FARINAZZO *et al.*, 2020 ; DÍAZ-MONTES, 2021**). Il agit aussi comme prébiotique (**FLÓREZ GUZMAN *et al.*, 2018**). En cosmétique, il est hydratant et épaississant (**BHAVANI et NISHA, 2010 ; ZIKMANIS *et al.*, 2020**).

PARTIE II
Matériel et méthodes

1. Objectif

Les objectifs de cette étude se basent des points suivants :

- Isolement des bactéries lactiques à partir d'un échantillon de lait de chamelle de la région Sud d'Algérie.
- L'identification phénotypique, physiologique et biochimique des bactéries lactiques à partir de lait de chamelle.
- Isolement et caractérisation des bactéries lactiques productrices des Exopolysaccharides.
- Essayer de savoir sa capacité à produire des exopolysaccharides.

2. Lieu et période d'étude

Ce travail a été réalisé au niveau des laboratoires pédagogiques de Microbiologie Appliqué de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie d'Université de Kasdi Merbah Ouargla. Il consiste à l'isolement et l'identification des bactéries lactiques à partir de lait de chamelle, cette étude a été effectuée durant la période du 23 Février jusqu'à 29 Mai 2025.

3. Echantillons de lait

Un échantillon de lait camelin ont été utilisés dans cette étude. Il a été prélevé dans la région de Baldat Omar, sur la route de Ouargla, dans la wilaya de Touggourt.

L'échantillons a été recueillis dans un flacon stérile, en respectant autant que possible des conditions d'asepsie. Ils ont ensuite été transportés immédiatement au laboratoire à une température de 4 °C.

4. Isolement et purification des souches

4.1. Préparation des dilutions décimales et isolement

Après homogénéisation de l'échantillon de lait, prélever aseptiquement 1ml et l'introduire dans un tube contenant 9ml d'eau physiologique peptonée, agiter bien puis transférer 1ml de cette première dilution et l'introduire dans un deuxième tube. De même façons ont effectuées les dilutions décimales jusqu'à 10^{-3} .

Les dilutions ainsi préparées, 1 ml de chaque dilution estensemencé en masse sur gélose MRS. L'incubation est faite à 37°C jusqu'à la croissance de germe (**NORME ISO 7218, 2007**).

4.2. Purification

La purification consiste à réaliser des repiquages successifs sur gélose et bouillon MRS, avec une incubation à 37°C pendant 24h jusqu'à l'obtention des colonies de même taille, même forme et même couleur renseignant sur la pureté des souches (**IDOUÏ *et al.*, 2009**).

Les différentes étapes réalisées pour la pré-identification des souches lactiques isolées à partir de lait camelin sont présentés dans le diagramme suivant :

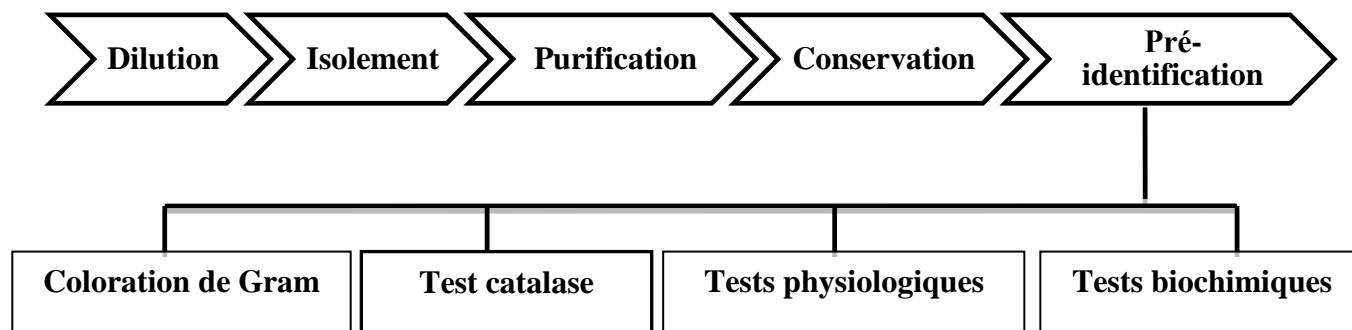


Figure 02 : Diagramme décrire les différentes étapes réalisées pour la pré-identification des souches lactiques.

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 cultures sur milieu liquide et après une centrifugation à 8000 tours pendant 10 min, les cellules ont été récupérées et rincées à l'eau distillée stérile, suivi d'une autre centrifugation. Le surnageant a été éliminé et un milieu de culture de conservation (6 ml de glycérol de concentration de 50 % avec 4 ml de bouillon MRS) a été ajouté au culot. Cette conservation a été effectuée dans des tubes Eppendorf à une température de -20°C (BADIS *et al.*, 2005).

5. Pré-identification des bactéries lactiques

Généralement, il existe plusieurs critères pour identifier les bactéries lactiques au niveau phénotypique : la forme des cellules bactériennes, la température de la croissance, la fermentation des sucres, les activités physiologiques et biochimiques, la production des exopolysaccharides (WOOD et HOLZAPFEL, 1995).

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

5.1. Etude morphologique

Cette étude basée sur l'observation macroscopique et microscopique.

5.1.1. Examen macroscopique

Cette observation consiste en la description détaillée de l'aspect des colonies développées sur des milieux solides à savoir leur taille, leur forme, leur couleur, leur consistance ...etc.

5.1.2. Examen microscopique

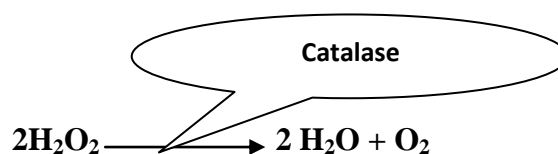
L'observation microscopique au grossissement ($G \times 100$) permet de classer les bactéries selon leur Gram, leur morphologie cellulaire, leur mode d'association (**JOFFIN et LEYRAL, 1996**).

La coloration de GRAM est la coloration de base de la bactériologie. C'est une coloration double qui permet de différencier les bactéries, non seulement d'après leur forme mais aussi d'après leur affinité pour les colorants, liée à la structure générale de la paroi (**MARCHAL et al., 1982**), dont les bactéries à Gram+ coloré en violet et Gram- en rose.

5.2. Tests physiologiques

5.2.1. Test de catalase

La catalase permet la dégradation de l'eau oxygénée, sa présence est mise en évidence en déposant, à l'aide d'une pipette Pasteur, quelques gouttes d'eau oxygénée (à 3 %) sur une colonie isolée (**GUIRAUD et al., 2003**). La décomposition de l'eau oxygénée se traduit par un dégagement de bulles de gaz selon la réaction suivantes :



5.2.2. Croissance à différentes températures

La croissance bactérienne est déterminée par l'observation d'un trouble dans le milieu MRS liquide après une incubation de 5 jours à différentes températures : 4°C, 30°C, 37°C et 42°C (**GUESSAS et KIHAL, 2004**).

5.2.3. Test de thermorésistance

La résistance thermique des bactéries est testée au bain Marie à 63°C pendant 30 minutes, suivie d'une incubation à 30°C pendant 24h à 48h (**GUIAUD, 1998**).

5.2.4. Test de croissance à différents pH

Le pH de bouillons nutritifs a été ajusté par des solutions d'HCl et NaOH pour l'obtention des pH de l'ordre de 4.4 et 9.6 permettant ainsi de différencier les souches isolées après 48h d'incubation à 30°C (BOUMEDIENE, 2013).

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

Ce test indique l'apparition des bactéries à pousser en présence de bleu de méthylène qu'il a un couleur bleu en milieu très oxydant, incolore en milieu réduit. Chaque culture a été ensemencée dans le lait écrémé sur lequel on l'ajoute le bleu de méthylène à 0,1% et à 0,3%. Le bleu de méthylène capte et fixe les molécules d'hydrogène transportées par la chaîne respiratoire bactérienne en présence de la réductase bactérienne ; il vire alors le bleu à l'incolore. La décoloration du bleu de méthylène est d'autant plus rapide que le nombre de bactérie est élevé (DELARRAS, 2007).

Après une incubation à 37°C pendant 24h à 48h, en notes les observations à la réduction de bleu de méthylène.

5.3. Tests biochimiques

5.3.1. 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 (HARRIGAN et MC CANE, 1976).

5.3.2. Recherche de l'arginine dihydrolase (ADH)

L'arginine déshydrogénase (ADH) est une enzyme capable de dégrader l'arginine en produisant l'ammoniac et des amines (composés basiques) (HANSAL, 2015).

Les souches sont ensemencées sur milieu M16 BCP, puis incubées à 30°C pendant 24h en anaérobiose. Les bactéries lactiques utilisant le lactose donnent 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 vert au bleu.

5.3.3. Production d'acétoïne (Acétyle-Méthyle-Carbinol)

Le milieu CLARCK et LUBS est ensemencé et incubé à 37 °C pendant deux jours. Après l'incubation on ajoute 0,5 ml d'une solution alcoolique d'alpha-naphtol à 6% dans l'alcool à 90° (VP1) et 0,5 ml d'une solution de soude à 16% dans l'eau distillée (VP2). Les tubes sont soigneusement agités et chauffés avec précaution sur la flamme d'un bec bunsen jusqu'à commencement de l'ébullition. Après agitation pendant 30 secondes sur un agitateur vibreur de type vortex, une coloration rouge cerise franche indique une réaction de VP positive (KING, 1984).

5.3.4. Utilisation de citrate : Citrate de Simmons

Ce milieu ne contient qu'une seule source de carbone : le citrate ; seules les bactéries possédant un citrate perméase sont capables de se développer sur ce milieu. La pente du milieu est ensemencée par une strie longitudinale au moyen d'une anse contenant une colonie test. Après incubation à 30 °C pendant 3 jours.

- Citrate-positive : culture avec alcalinisation du milieu (virage de l'indicateur au bleu).
- Citrate négative : pas de culture (coloration verte de milieu inchangée) (BEKADDOURI *et al.*, 2020).

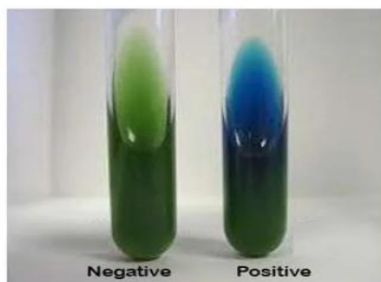


Figure 03 : Test de croissance sur milieu Citrate de Simmons

5.3.5. Utilisation des carbohydrates

La fermentation des carbohydrates a été menée sur milieu MRS sans extrait de viande, sans sucre et additionné au bleu de bromothymol (BBT) comme indicateur de pH. La source de carbone est représentée par l'un des sucres suivants : glucose, saccharose, lactose, fructose, galactose, mannitol et xylose (BADIS *et al.*, 2004). Des solutions sucrées ont été préparées 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, 2015). Deux cultures jeunes de chaque souche ont été préparées, puis

une centrifugation de chaque culture dans un tube d'Eppendorf 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 d'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**).

5.4. Production de dextrane

La production du dextrane à partir du saccharose est mise en évidence sur milieu solide MSE gélosé et saccharosé (**MAYEUX et al., 1962**), et le milieu MRSs (additionné 100g de saccharose MRSs) (**FENG et al., 2018 ; ; DRIDER et PRÉVOST ,2009**). Les souches à tester ont été ensemencées en stries sur les deux milieux, et incubées à 30°C pendant 24h à 48h. Les souches productrices de dextrane sont caractérisées par la formation des colonies larges, visqueuses et gluantes (**MAYEUX et al, 1962**).

PARTIE III

Résultats et Discussion

I. Les résultats

I.1. Observation macroscopique et microscopique après colorations de gram

L'aspect macroscopique, permet de décrire des colonies obtenues sur milieu solide MRS après incubation à 30°C pendant 24h, présentent des critères relativement comparables 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 0.5 à 1 mm de diamètre, de forme circulaire, et de couleur blanchâtre.

L'aspect microscopique des souches après coloration de Gram a révélée même formes de cellules (Cocci). Les coques sont disposées en courtes chainette ou diplocoques (en paires).

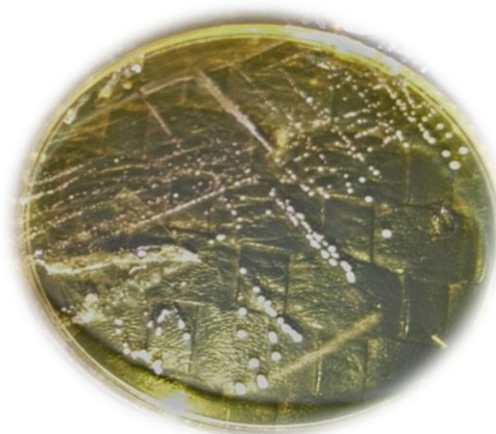


Figure 04: Aspect macroscopique des souches lactique sur gélose MRS

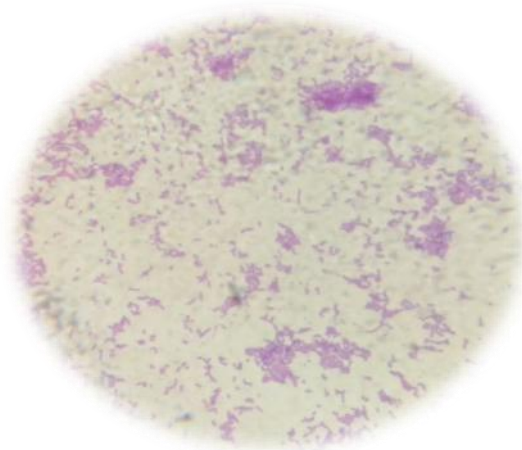


Figure 05 : Observations microscopiques des souches isolées après une coloration de Gram à grossissement (x100)

I.2. Teste de recherche de la catalase

Les souches ont donné des résultats négatifs donc elles ne possèdent pas l'enzyme catalase. Selon (**GUIRAUD J.P., 2003**) le caractère Gram positif et catalase négative sont des deux caractéristiques communes des bactéries lactiques.

Sur 15 isolats purifiés et examinés, on a 14 souches sélectionnés qui bactéries lactiques. L'ensemble des critères morphologiques de nos isolats sont présentées dans le tableau 03.

Tableau 03 : Critères morphologiques des bactéries lactique isolées à partir de Lait camelin.

N° de souche	Gram	Catalase	Forme	Mode d'association
C1	+	-	Cocci	Isolées, En chaine
C2	+	-	Cocci	En chaine
C3	+	-	Cocci	Diploïdes
C4	+	-	Cocci	Diploïdes
C5	+	-	Cocci	Isolées
C6	+	-	Cocci	Diploïdes, En chaine
C7	+	-	Cocci	Diploïdes
C8	+	-	Cocci	Diploïdes
C9	+	-	Cocci	Diploïdes
C10	+	-	Cocci	Diploïdes, isolées
C11	+	-	Cocci	Diploïdes, En chaine
C1 ^γ	+	-	Cocci	Diploïdes
C1 ^ν	+	-	Cocci	Diploïdes, En chaine
C1 ^ξ	+	-	Cocci	Diploïdes, En chaine

I.3. Tests physiologiques

L'ensemble des résultats de tests physiologiques sont mentionnés dans les tableaux 04 et 05.

I.3.1. Test de croissance à différentes températures

L'emploi de ce teste permet de diviser les souches en des groupes. La croissance des isolats ont été testée à 4°, 30°, 37°, 42°C. Dans cette étude, 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 42°C n'ont pas poussés.

I.3.2. Thermorésistance

Nous observons la croissance de quelques isolâtes sur le bouillon MRS, après un traitement thermique pendant 30 minutes à 63°C, tandis que l'absence de croissances des souches : C1, C2, C3, C11, C14, C15.

I.3.3. Test de croissance à différents pH

Après une incubation à 30°C pendant 48 h ,dans les bouillons MRS avec pH 4.4 et pH 9.6 ,les résultats qui ont été obtenus montrent que seulement les souches ; C1, C2, C5, C10 et C15 sont capables de croitre à pH 4.4 et les souches C5 et C10 à pH 9.6.

I.3.4. Résistance à la salinité

Les souches ont été testées pour voir leur résistance aux différentes concentrations de NaCl (3%, 6.5% et 9.6%). Nous trouvons que l'absence de croissance de toutes les souches sur bouillon MRS avec concentration de 3% de sel à l'exception des souches ; C1, C5, C10 et C15. Alors, pour la concentration de 6.5% et 9% NaCl, les résultats montrent deux souches ; C5 et C10 qui ont pu se développer.

I.3.5. Lait de Sherman

Après une incubation à 30°C, les résultats qui ont été obtenus montrent que toutes les souches sont capables de croître en présence du bleu de méthylène 1% ou 3%.

Tableau 04 : Résultats de test de croissance des souches isolées à partir du lait de chamelle à différentes T°.

N° de souche	Croissance à différentes T °				Thermorésistance à 63°C/30 min
	4 °C	30 °C	37 °C	42 °C	
C1	-	+	+	-	-
C2	-	+	+	-	-
C3	-	+	+	-	-
C4	+	+	-	-	+
C5	+	+	+	+	+
C6	-	+	+	-	+
C7	+	+	+	-	+
C8	+	+	-	-	+
C9	+	+	+	-	+
C10	-	+	+	+	+
C11	-	+	+	-	-
C1 [¶]	+	+	+	-	+
C1 [¶]	-	+	+	-	-
C1 [§]	-	+	+	-	-

Tableau05 : Résultats des tests : de croissance à différents pH, test de croissance à différentes concentrations d'NaCl et test de lait de Sherman.

N° de souche	Croissance à différents pH		Croissance à différentes NaCl (%)			Lait de Sherman	
	4,4	4,6	NaCl 3%	NaCl 6.5%	NaCl 9.6%	Coagulation 0.1%	Coagulation 0.3%
C1	+	-	+	-	-	+	+
C2	+	-	-	-	-	+	+
C3	-	-	-	-	-	+	+
C4	-	-	-	-	-	+	+
C5	+	+	+	+	+	+	+
C6	-	-	-	-	-	+	+
C7	-	-	-	-	-	+	+
C8	-	-	-	-	-	+	+
C9	-	-	-	-	-	+	+
C10	+	+	+	+	+	+	+
C11	-	-	-	-	-	+	+
C1 [✓]	-	-	-	-	-	+	+
C1 [✓]	-	-	-	-	-	+	+
C1 ^ξ	+	-	+	-	-	+	+

I.4. Tests biochimiques

L'ensemble des résultats de tests biochimiques sont mentionnés dans le tableau 06.

I.4.1. Recherche de type fermentaire

Après une incubation à 30°C, les résultats montre l'apparition d'une trouble au fond des tubes ensemencés avec un dégagement de gaz de CO₂ au niveau de la cloche, donc les souches (C1, C2, C3, C11, C14, C15) sont des hétérofermentaires, et les autres sont homofermentaires.

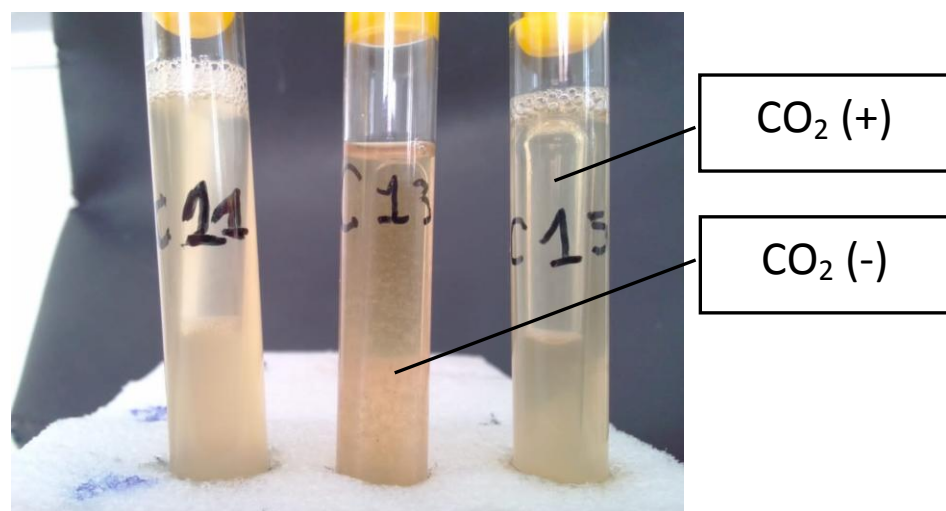


Figure 06 : Notre résultats pour le test de recherche type fermentaire

I.4.2. 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 gélose M16BCP ,après une incubation à 30°C pendant 48h, cela signifie que les souches isolées sont ADH négatif.

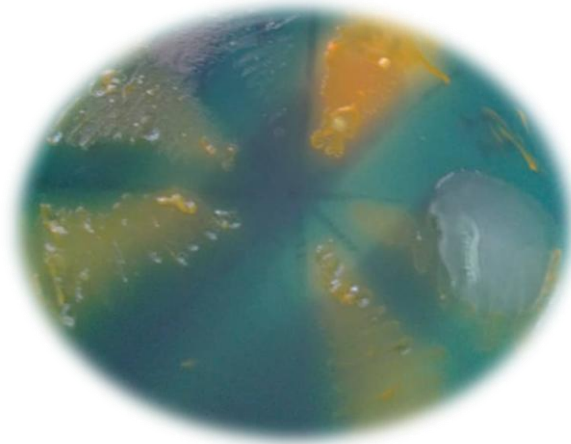
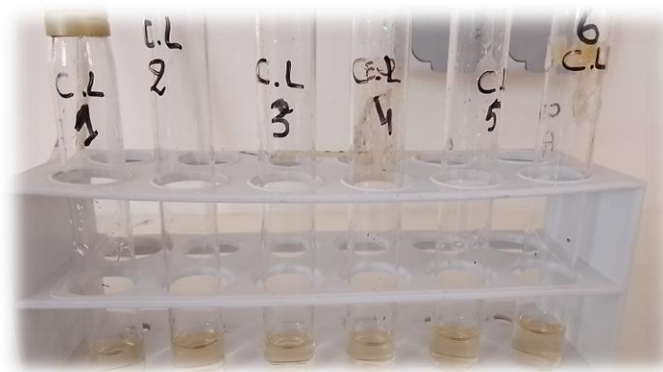


Figure 07 : Aspect des colonies a ADH négatif sur milieu M16-BCP

I.4.3. Production de l'acétoine

On constate que tous nos isolats ne produisent pas l'acétoine.



VP (-) : absence d'acétoine

Figure 08 : Résultats de la recherche de l'acétoine.

I.4.4. L'utilisation de citrate

Le résultat négatif est commun à toutes les souches isolées pour le test de citrate.



Figure 09 : Résultats de test d'utilisation de citrate

Tableau 06 : Profil biochimique des isolats.

N° de souche	Production de gaz	Acétoïne	ADH	Citrate
C1	+	-	-	-
C2	+	-	-	-
C3	+	-	-	-
C4	-	-	-	-
C5	-	-	-	-
C6	-	-	-	-
C7	-	-	-	-
C8	-	-	-	-
C9	-	-	-	-
C10	-	-	-	-
C11	+	-	-	-
C1 Ψ	-	-	-	-
C1 Ψ	+	-	-	-
C1 ξ	+	-	-	-

I.4.5. Utilisation des carbohydrates

Pour mieux identifier les isolats, on a établi leur profil fermentaire de 7 sucres pour 14 souches isolées. En utilisant le milieu MRS BCP qui contient le bleu de bromothymol qui est indicateur de pH, l'utilisation des sucres se traduit par un virage de l'indicateur colorée vert vers le jaune, si il y a une fermentation pour le sucre testé (réaction positive), et l'absence de changement de couleur de milieu si il y a une fermentation (réaction négative). La plupart des isolats fermentent les sucres ; glucose, fructose, saccharose, lactose, mannitol, xylose, et il y a certaines souches ne ferment pas le galactose.

Tableau 07 : Résultat de profil fermentaire des souches isolées à partir de Lait camelin.

Sucre N° de souche	Glucose	Fructose	Saccharose	Lactose	Mannitol	Xylose	Galactose
C1	+	+	+	+	+	+	-
C2	+	+	+	+	+	+	+
C3	+	+	+	+	+	+	+
C4	+	+	+	+	+	+	+
C5	+	+	+	+	+	+	+
C6	+	+	+	+	+	+	+
C7	+	+	+	+	+	+	+
C8	+	+	+	+	+	+	+
C9	+	+	+	+	+	+	+
C10	+	+	+	+	+	+	-
C11	+	+	+	+	+	+	+
C1 ν	+	+	+	+	+	+	+
C1 ρ	+	+	+	+	+	+	-
C1 ξ	+	+	+	+	+	+	-

I.5. Production de dextrane

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

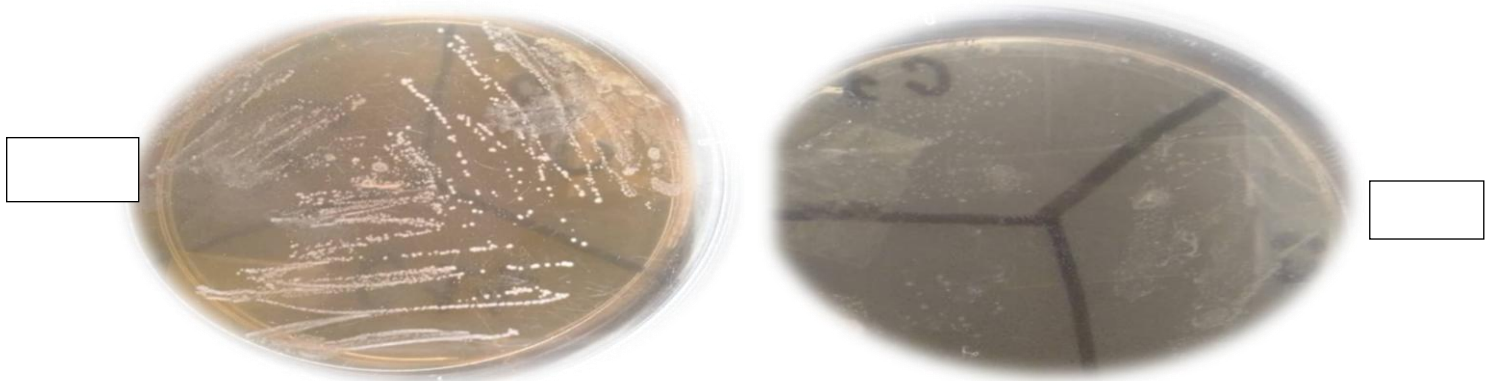


Figure 10 : Aspect des colonies a production d'EPS négatif sur milieu MSE et MRS

II. Discussion

II.1. Identification des souches lactiques isolées

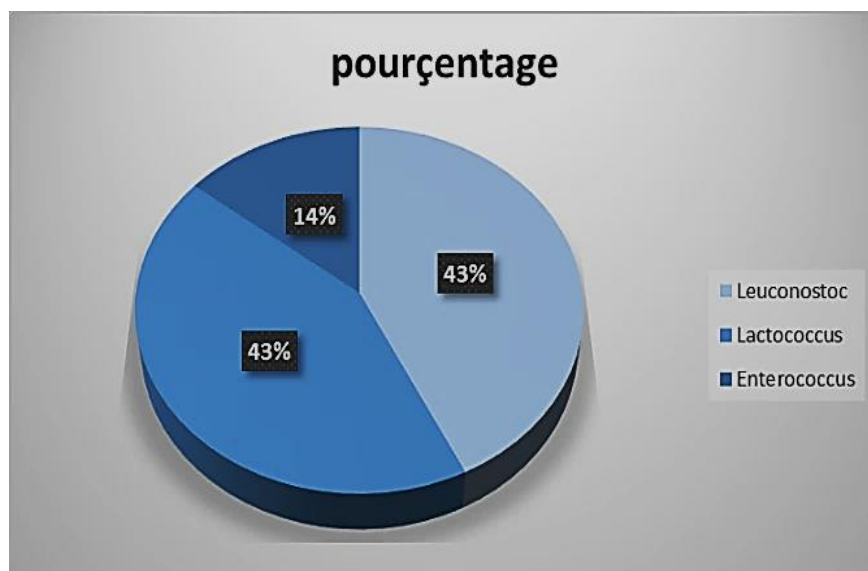
Nos isolats ont été identifiés au stade du genre en se basant sur leurs caractéristiques morphologiques, physiologiques et biochimiques d'après les critères mentionnés par (GUIRAUD, 1998 *et* AXELSSON, 2004).

Les isolats C1, C2, C3, C11, C14 et C15 sont représentés des caractéristiques rattachées au genre *Leuconostoc* (DEVOYOD et POUILLAIN,1988).

Tandis que, les isolats C4, C6, C7, C8, C9 et C13 caractérisés ont été rattachés au *Lactococcus* (KHEDID *et al.*, 2009 ; HASSAINE *et al.*, 2008 ; KARAM et KARAM, 2006 ; RIHAB *et al.*, 2008 ; ASHMAIG *et al.*, 2009).

Deux souches (C5 et C10) sont : Cocci diplocoque, homofermentaire, capable de croître à 3.2 % et à 6.9 % d'NaCl et au pH 4.2 et pH 9.6. Une croissance a été obtenue à 4°C et même à 42°C, thermorésistante dans 55°C et non à 63°C, ADH+ et résiste à 0.1% de bleu de méthylène. Elle peut fermenter le citrate. KHEDID *et al.*, 2009 ont isolé des souches du Genre *Enterococcus* présentent des caractères similaires mais elles sont des Cocci homofermentaires avec capacité de croissance à 10°C et à 45°C et de résistance à 6.5% d'NaCl, à pH 9.6 et ils les identifient comme des souches rattachées au genre *Enterococcus*. Ce genre joue un rôle essentiel dans la conservation des aliments (prolongation du temps de stockage) et dans la qualité bactériologique des aliments, tout en respectant leurs propriétés nutritionnelles et organoleptiques. Cependant, la présence des *Enterococcus* telle que les espèces *Enterococcus faecalis* et *Enterococcus faecium* sont des marqueurs de contamination fécale (AGUILAR-GALVEZ *et al.*, 2012).

Les 14 isolats lactiques ont été rattachés à 03 groupes des bactéries avec leur pourcentage :



Leuconostoc 42.85%. *Lactococcus* 42.85%, et *Enterococcus* 14.28%.

Figure 11 : Répartition des espèces de la collection lactique.

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

Tableau 08 : L'identification des souches lactiques isolées à partir de lait camelin.

N° des souches isolées	Identification (Genre)
C1	<i>Leuconostoc</i>
C2	<i>Leuconostoc</i>
C3	<i>Leuconostoc</i>
C4	<i>Lactococcus</i>
C5	<i>Enterococcus</i>
C6	<i>Lactococcus</i>
C7	<i>Lactococcus</i>
C8	<i>Lactococcus</i>
C9	<i>Lactococcus</i>
C10	<i>Enterococcus</i>
C11	<i>Leuconostoc</i>
C12	<i>Lactococcus</i>
C13	<i>Leuconostoc</i>
C14	<i>Leuconostoc</i>

II.2. La production des exopolysaccharides

La recherche sur une souche productrice d'EPS se réalise selon les méthodes décrites par **RUAS-MADIEDO et DELOS REYES-GAVILAN, 2005**, où la culture dans gélose MSE représente la méthode la plus utilisée par les chercheurs. Les souches productrices d'EPS ont :

Soit un aspect « filamenteux » qui a été caractérisé par la formation d'un filament incassable lorsque la colonie est touchée par une anse d'inoculation. Ou bien, « mucoïde non filamenteux » où les souches sont apparues brillantes, lisses et visqueuses sans présence de filament.

Après l'ensemencement de nos isolats dans MSE et leur incubation à température 30 °C, les souches sont crues, mais avec l'absence de l'aspect filamenteux ou mucoïde.

Conclusion

Conclusion

Le lait de chamelle est un produit alimentaire traditionnel qui représente une part importante du patrimoine alimentaire algérien, notamment dans les régions du sud du Sahara, et qui jouit encore aujourd'hui d'un statut élevé auprès des consommateurs.

Les bactéries lactiques représentent un groupe hétérogène de micro-organismes produisant de l'acide lactique comme principal métabolite. Elles peuvent être isolées du lait et des produits laitiers, et certaines souches sont capables de produire des exopolysaccharides comme métabolites secondaires contribuant à l'amélioration de la qualité des produits laitiers, en plus de nombreuses applications technologiques.

Sur la base d'analyses microbiologiques (phénotypiques, biochimiques et physiologiques) des différentes souches isolées d'un échantillon de lait sélectionné pour l'isolement et l'identification des bactéries lactiques productrices d'exopolysaccharides, nous avons isolé 14 souches appartenant à trois genres différents : *Leuconostoc* (43 %), *Lactococcus* (43%) et *Enterococcus* (14%).

Les souches isolées sont des Cocci, dont la plupart sont mésophiles et diffèrent par leur type fermentaire. La plupart des souches ne se développent pas à 42 °C, pH 9,6 et 9,6 % de chlorure de sodium. Elles sont dépourvues de catalase. Elles sont incapables d'hydrolyser l'arginine ni d'utiliser le citrate. Certaines résistent à la chaleur jusqu'à 63,5 °C, mais la plupart sont capables de fermenter des sucres tels que le galactose, le fructose, le lactose, le glucose, la xylose, le mannitol et le saccharose. Elles ne produisent pas de dextrane. Donc, malheureusement, elles n'appartiennent pas aux espèces qui produisent des exopolysaccharides.

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 lait chamelle notamment :

- Etude comparative sur les types des bactéries lactiques résiduelles entre dans le lait de chamelle et les autres types de lait.
- Identification moléculaire est très essentielle pour mieux identifier des isolats.
- Étude des activités biologiques des exopolysaccharides produits.
- Il sera intéressant d'étudier les propriétés technologiques des exopolysaccharides et d'élargir leurs applications comme alternatives naturelles biosourcées aux produits chimiques dans les industries.

*Références
bibliographiques*

Références bibliographiques

A

- 1- **BDEL-RAHMAN E.-S., SCHICK R., KURZ T., 2007.** Influence of dextran on sucrose crystallization. *Zuckerindustrie* 132,453–460.
- 2- **AGUILAR-GALVEZ A., DUBOIS-DAUPHINR., DESTAINJ., CAMPOS D., THONARTP., (2012).** Les entérocoques : avantages et inconvénients en biotechnologie (synthèse bibliographique) .*Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 16(1), 67-7.
- 3- **Aguilar-Toalá, J. E. et al. (2018).** Postbiotics: An evolving term within the functional foods field. *Trends in Food Science & Technology*, 75, 105–114.
- 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- **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* fffffffh,3:451-457.
- 6- **AXELSSON L., 2004.** Lactic Acid Bacteria : Classification and physiology in Lactic acid Bacteria Microbiological and Functional Aspects. Salminen S., Wright A.v., Ouwehand A.3eED., Marcel Dekker,pp:1-66.
- 7- **Ayivi RD et al. (2020).** Lactic acid bacteria: Food safety and human health applications. *Dairy* 1(3):202-232

B

- 8- **BADIS A., GUETARNI D. KIHAL M., ET OUZROUT R., 2005.** Caractérisation phénotypique des Bactéries lactiques isolées à partir de lait de chèvre de deux populations locales "Arabia et Kabyle». *Scien &Tech* 23 PP 30-37.
- 9- **BADIS A., GUETARNI 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.
- 10- **BADIS A., LAOUABDIA S.N., GUETARNI 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.
- 11- **BAUER R. et DICKS L. M.,2005.** Mode of action of lipid II-targeting antibiotics. *Int. J. Food Microbiol. Rev.* 101: 201-216.
- 12- **BELARBI M., 2015.** Etude comparative entre la qualité Microbiologique du lait cru de vache et le Lait de chèvre, *Sciences des Aliments*.84 p.

13- Belkheir, K., (2017).Caractérisation Technologique de Nouvelles Souches de Bactéries Lactiques Isolées du Lait de Chamelle D'Algérie. Réalisation de Ferments Lactiques, Thèse de doctorat en Génie Microbiologie. Université D'Oran, Algérie.

14- Bervas E., PhD (1991). Thesis, Université de Clermont-Ferrand II, France, (1991).**BENAZZOUZ D., 2012.** Isolement et caractérisation des bacteries lactiques productrices d'arômes (diacétyle. Ecole nationale supérieure d'Agronomie EL-Harrach Alger P13.

15- BHAVANI A. L., NISHA J., 2010. *Dextran - the polysaccharide with versatile uses. International Journal of Pharmacology & Biotechnological Sciences 1(4) PP 569-573.*

16- BOUDJENAH HAROUN S. (2012) .Aptitude à transformation de lait de chamelle en produits dérivés : effet des enzymes coagulantes extraites de caillettes de dromadaires .Thèse de doctorat en science Biologique, Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou

17- Boumediene. K. (2013) Recherche des bactéries lactiques productrices des bactériocines et l'étude de leur effet sur des bactéries néfastes.

C

18- CARR F.J., J., HILL D., MADA N.,2002. The lactic acid bacteria: A literature survey.Crit. Rev. Microbiol.28,281-370.

19- Cogan, T. M., & Hill, C. (1993). Cheese Starter Cultures. In: Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology. Springer.

20- Corsetti A., Lavermicocca P., Morea M., Baruzzi F., Tosti N., Gobbetti M., Int. J (2001). Food. Microbiol. 64 95.

21- Cotter, P. D., Hill, C., & Ross, R. P. (2005). Bacteriocins: developing innate immunity for food. Nature Reviews Microbiology, 3(10), 777–788.

D

21- Devoyod, J.J. et Poullain F., (1988). Les *Leuconostocs* propriétés : leur rôle en Technologie laitière. *Revue Le lait*, 68 (3), pp: 249-280, Laboratoire de microbiologie laitière. INRA Editions. Jouy-en-Josas, France

22- DIAZ-MONTES E., 2021. Dextran: Sources Structures and Properties. *Polysaccharides 2(3)* 554-565.

23- DIAZ-MONTES E., YAÑEZ-FERNANDEZ J., CASTRO-MUÑOZ R., 2020.

Microfiltration-mediated extraction of dextran produced by *Leuconostoc mesenteroides* SF3. *Food and Bioproducts Processing* 119 317-328.

24- DJAMAN A.G. (2018).Caractérisation physicochimique, microbiologique et

immunochimique des laits camelin et bovin d'Algérie. Activités antioxydante et antitoxique de la fermentation, Thèse de doctorat en science Biologique, Option Biochimie immunologie, Université Djillali Liabes, Sidi Bel Abbès, 176p

25- Driderd et Prevost H.,(2009). Bactéries Lactiques physiologie, Métabolisme, Génomique et Applications industrielles. Ed.Economica., Paris. 593p.

26- Dortuc ; Thonart, P., (2009). Les bactériocines des bactéries lactiques caractéristiques et intérêt pour la brio-conservation des produits alimentaire biotechnol Agron- sac .Environ 13 : 143-154

27- DU , FANGKUN . Z , LEI PAN ,QIAOZHI. S , QINGQING. Z , RENPENG, YEHAN , YU WANG , XIAOXIA . Q ,et ZHIJIANG .Z ., 2018 . " Purification , characterization and antioxidant activity of dextran produced by *Leuconostoc pseudomesenteroides* from homemade wine " Carbohydrate polymers 198 . 529 – 536

E

28- EFSA. Call for Technical and Toxicological Data on Pullulan (E 1204) Authorised as a Food Additive in the EU; EFSA: Parma, Italy, 2017.

29- Elkolei B.Ayadi A (2017).L'isolement et caractérisation des bactéries lactiques à partir du blé dur et blé tendre en Algérie. Mémoire de Master.

F

30- FARAH Z. et BACHMAN M.R. (1987): Rennet coagulation properties of camel milk. *Milchwissenschaft*, 42, 689-692.

31- FARINAZZO F. S., VALENTE L. J., ALMEIDA M. B. SIMIONATO A. S., FERNANDES M. T. C., MAURO C. S. I., GARCIA S., 2020. Characterization and antioxidant activity of an exopolysaccharide produced by *Leuconostoc pseudomesenteroides* JF17 from juçara fruits (*Euterpe edulis* Martius). *Process Biochemistry* 91 141-148.

32- F.A.O. (1992). Le lait et produits laitiers dans la nutrition humaine, FAO, Rome

33- Feng,F., Zhou,Q., Yang,Y., Zhao,F., Du,R., Huazhi Xiao,Y., Zhou,Z.,

(2018).Characterization of highly branched dextran produced by *Leuconostoc citreum* B-2 from pineapple fermented product. *International Journal of Biological Macromolecules* 113 : pp 45–50
FIL N.,1991. Yaurot, Identification des micro-organismes caractéristiques: *Lactobacillus delbrueckii subsp bulgaricus* et *Streptococcus salivarius subsp thermophilus*. *Revue* .46 :1-4. .

34- FLOREZ GUZMAN G. Y., HURTADO G. B., OSPINA S. A., 2018. New dextransucrase purification process of the enzyme produced by *Leuconostoc mesenteroides* IBUN

G

35- GARRIDO. F, MICHEL. C, et MORIN. D., 2002. Les exopolymères

bactériens. Edition: BRGM. France, PP 20-40.

36- 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.

37- 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.

38- 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.

39- GUIRAUD J. P.,1998. Microbiologie Alimentaire DUNOD ; Paris.282-290.

40- Guiraud, J.P., (2003). Microbiologie alimentaire. Technique d'analyse microbiologique Ed, Dunod paris, 2003,651, p

41- Guiraud, J.P., (2012). Microbiologie Alimentaires. Dunod. Paris, France.

42- 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 Microbiology: Methods and Protocols. Humana Press. Totowa.453-458.

H

43- HADDADIN M. S. Y., GAMMOH S. I. et ROBINSON R. K. (2007). Seasonal variations in the chemical composition of camel milk in Jordan. *Journal of Dairy Research*, 75, 8-12.

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. P17-154.

44- Hammes, W. P., & Vogel, R. F. (1995). The Genus *Lactobacillus*. In: *The Genera of Lactic Acid Bacteria*. Springer.

45- Hardy J.L (1982). PhD Thesis, Université Technologique de Compiègne, France,

46- 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.

47- HOLZAPFEL W.H.(2002). Appropriate starter culture technologies for small-scale fermentation in developing countries. *Int. J. Food Microbiology.*, 75: 197-212

48- Huyghebaert. (2006) Stratégies des produits à base de lait cru, Bruxelles.

I

49- **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.*

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

K

51- **KAMOUN M. (1995) :** Le lait de dromadaire : production, aspects qualitatif et aptitude à la transformation. *Option Médit.*, 13, 81-103.

52- **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.

53- **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.

54- **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, 1ère Journées sur la Recherche Camelin, 25 au 27 Mai, ITAS, Ouargla.

55- **Korhonen, H., & Pihlanto, A. (2006).** Bioactive peptides : Production and functionality. *International Dairy Journal*, 16(9), 945–960.

L

56- **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.*

57- **Leroy, F., & De Vuyst, L. (2004).** Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry. *Trends in Food Science & Technology*, 15(2), 67–78.

58- **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.*

59- **Lima SF, Bicalho ML de S, Bicalho RC.** Évaluation des fractions d’échantillons de lait pour la caractérisation du microbiote laitier de vaches saines et atteintes de mammite clinique. *PLoS One.* 2018 ;13 :e0193671. DOI : 10.1371/journal.pone.0193671.

60- Liu JM, Fehér C, Cao M, Lu F, Jensen PR. (2021). Editorial: Lactic Acid Bacteria: Microbial Metabolism and Expanding Applications. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology* 9:794164.

61- LIU. S-Q., 2014. Lactic Acid Bacteria: *Leuconostoc* spp. Reference Module in Food Sciences. National University of Singapore, Singapore. Elsevier Inc. PP 1-6

M

62- MAURAY S., DE RAUCOURT E., CHAUBAND F., MAÏGA-REVEL O., STERNBERG C., FISCHER A. M., 1998. Comparative anticoagulant activity and influence on thrombin generation of dextran derivatives and of a fucoidan fraction. *Journal of Biomaterials Science Polymer Edition* 9(4) PP 373-387.

63- Mayeux, J.V., Sandine, W.W.E. et Ellker, P.R., (1962). A selective medium for detecting *Leuconostoc* organisms in mixed strain starter cultures, *J.Dairy.Sci.*, 45, PP.655-656.

64- MEHAIA M.A. (1995). The fat globule size distribution in camel, goat, ewe and cow milk. *Milchwissenschaft*, 50, 260-263

O

65- ORLA-JENSEN S. (1919). The Lactic Acid Bacteria. Dairy Bacteriology, Fred Hostand Son, Copenhagen.

P

66- Papagianni, M. (2012). Metabolic engineering of *Lactobacillus* species for the production of chemicals. *Biotechnology Journal*, 7(5), 535–548.

R

68- Razola-Díaz, M. D. C., et al. (2024). Fermentation of orange peels by lactic acid bacteria: Impact on phenolic composition and antioxidant activity. *Foods*, 13(8),1212.

69- 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.

70- Rodriguez-Carvajal MA, Ignacio Sanchez J, Campelo AB, Martinez B, Rodriguez A, Gil-Serrano AM. Structure of the high-molecular weight exopolysaccharide isolated from *Lactobacillus pentosus* LPS26. *Carbohydr Res* 2008;343:3066–70. doi:10.1016/j.carres.2008.08.028.

71- Ruas-Madiedo, P., & de los Reyes-Gavilán, C. G. (2005). Methods for the screening, isolation, and characterization of exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria. *Journal of Dairy Science*, 88(3), 843–856. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(05\)72750-8](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(05)72750-8).

72- Ruiz Rodríguez, L. G., Mohamed, F., & Bañuelos, O. (2019). Exopolysaccharides from Lactic Acid Bacteria: Structure, Function, and Health Effects. *Food Reviews International*, 35(3), 1–23.

S

- 73- 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.
- 74- 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.
- 75- Salminen, S., von Wright, A., Ouwehand, A. (eds.).** Lactic Acid Bacteria: microbiology and functional aspects. Marcel Dekker, Inc., New York.
- 76- Sánchez JI, Martínez B, Guillén R, Jiménez-Díaz R, Rodríguez A.** Culture conditions determine the balance between two different exopolysaccharides produced by *Lactobacillus pentosus* LPS26. *Appl Environ Microbiol* 2006 ; 72 :7495–502. doi:10.1128/AEM.01078-06.
- 77- 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
- 78- SCHMID J., 2018.** Recent insights in microbial exopolysaccharide biosynthesis and engineering strategies. *Curr. Opin. Biotechnol.* 53 130–136.
- 79- 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. Institut National Agronomique El-Harrach-Alger. 135p
- 80- Sybesma, W., Starrenburg, M., Tijsseling, L., Hoefnagel, M. H. N., & Hugenholtz, J. (2003).** Effects of cultivation conditions on folate production by *Lactobacillus plantarum*. *Applied and Environmental Microbiology*, 69(8), 4542–4548.

T

- 81- Taye T. (1998).** Qualities of Cow milk and the effect of Lactoperoxidase system on preservation of milk at Arsi, Ethiopia. Msc. Thesis, Alemayal University, Ethiopia. Ten Brink B, Minekus M, vander Vossen JM, Leer RJ, Huisin't Veld JH.(1994)

W

- 82- Willey, J., Sherwood, L., & Woolverton, C. (2017).** Prescott's Microbiology (10th ed.). McGraw-Hill Education.
- 83- Wood, B.J. B et W. H Holzapfel, (1995).** The lactic acid bacteria. The genera of lactic acid bacteria, Ed: *Bkackie academie & Professional London*.

Y

84- Yadav, R., Tripathi, M. K., & Sharma, S. (2018). Lactase producing lactic acid bacteria: A therapeutic approach for lactose intolerance. *International Journal of Food Properties*, 21(1), 1095–1105.

Z

85- Zarour, K., (2018). Etude de la diversité phénotypique, génotypique et aptitudes technologiques des souches de *Leuconostoc* isolées localement. Thèse de doctorat en Microbiologie Fondamentale et appliquée. Uni. D'Oran Algérie pp174

86- ZIKMANIS P., BRANTS K., KOLESOV S., SEMJONOV S., 2020. Extracellular polysaccharides produced by bacteria of the *Leuconostoc* genus. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 36(11) 1-18.

87- Zhang L, Liu C, Li D, Zhao Y, Zhang X, Zeng X, et al. Antioxidant activity of an exopolysaccharide isolated from *Lactobacillus plantarum* C88. *Int J Biol Macromol* 2013;54:270–5. doi: 10.1016/j.ijbiomac. 2012. 12.037.

Annexes

Annexe 1 :Milieux de cultures**1- 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

2- Milieu M16 BCP (THMAS, 1973)

Extrait de levure	2
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

3- Milieu MSE (MAYEUX, SANDINE et ELLIKER,1962)

Tryptone	20	Géla-
tine.....	02,5	
Extrait de levure	05	Saccha-
rose.....	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

4- 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

5- Citrate de Simmons (SIMMONS, J.S. 1926)

Citrate de sodium..... 1

Chlorure de sodium

Sulfate de magnésium

Phosphate mono-ammonique.....1

Phosphate dipotassique..... 1

Bleu de bromothymol

Agar

pH final..... 6,8 ± 0,2

Milieu CLARK et LUBS 6-

Peptone.....05

Glucose

K₂HPO₄.....05

Eau distillée1000ml

Ph 7

Autoclavage 120°C/15 minutes

7- Lait Ecrémé

Eau distillée1000ml

Lait en poudre110

Autoclavage 110°C/10 minutes

- \cdot Eau Physiologique

Chlorure de sodium.....8.5

Peptone.....0.5

Eau distillée1000ml

Ph... 7

Annexe 02 : Technique de Coloration de Gram .

Coloration de Gram

- Réaliser un frottis bactérien et le fixer.
- Colorer au violet de gentiane phénol durant environ 1 min3.
- 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.

Annexe 03 : Matériels utilisés

- Agitateur magnétique à plaque chauffante

- Anse de platine
- Autoclave
- Bain marie
- Barreaux magnétique
- Bec benzène
- Balance
- Boites de pétri
- Centrifugeuse
- Éprouvette
- Erlenmeyer
- Etuve
- Micropipette
- Microplaquettes
- pH mètre
- Pipettes pasteurs
- Réfrigérateur
- Tubes à essai
- Tubes Eppendorf
- Tubes sec en verre
- Four Pasteur

Annexe 04 : Examen macroscopique et microscopique



Figure 12 : Aspect macroscopique des souches pures des bactéries lactiques sur MRS liquide



Figure 13 : Résultat du test de catalase (test négatif)

Annexe 05 : Tests physiologiques et biochimiques

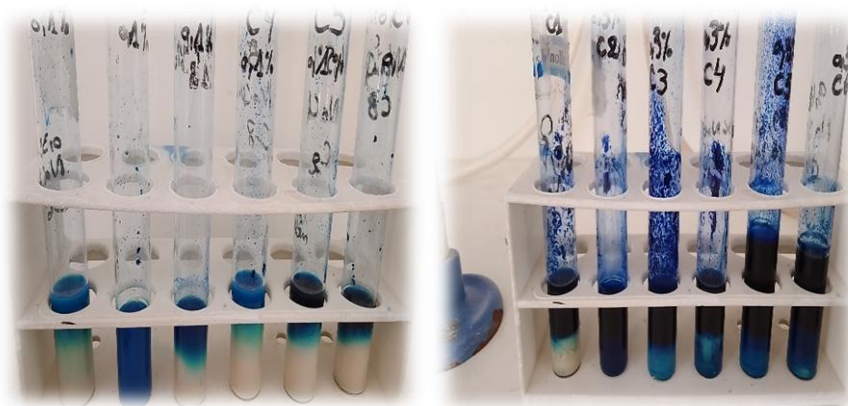


Figure 14: Croissance en milieu de Sherman (0.1%) et (0.3%)

Tableau 09 : Résultats de fermentation des carbohydrates par les souches bactériennes sur une plaque d'Elisa

	T	G	F	S	L	M	X	Ga
C1								
C2								
C3								
C4								
C5								
C6								
C7								
C8								
C9								
C10								
C11								
C13								
C14								
C15								

- T** : Témoin milieu MRS BCP.
- Souches** : C1, C2,C11, C13, C14 et C15.
- Sucres** : Ga (Galactose), F (Fructose), L (Lactose), G (Glucose), M (Mannitol), X (Xylose),
S (Saccharose)
- Jaune** : fermentation du sucre résultat (+).
- Vert** : pas de fermentation du sucre résultat (-).

Annex 06 : Tableaux de références

Tableau 10 : Caractéristiques différentielles des bactéries lactiques

Espèces identifiées (Nombre d'isolats)		<i>Lactobacillus helveticus</i> (14)	<i>Lb. plantarum</i> (14)	<i>Lb. brevis</i> (10)	<i>Lb. casei</i> subsp. <i>casei</i> (9)	<i>Lc. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> (45)	<i>Lc. plantarum</i> (72)	<i>Streptococcus thermophilus</i> (64)	<i>Leuconostoc lactis</i> (36)	<i>Ln. mesenteroides</i> subsp. <i>dextranicum</i> (26)	<i>Ln. amylibiosum</i> (48)	<i>Pediococcus acidilactici</i> (18)
ADH		.	.	+	.	+	+
Esculine		.	+	V	+	±	.	.
Acétoïne		.	+	+	+
Citrate		.	+	+	+	.
Dextrane		+	+	.
Croissance à Température en °C	10	.	+	+	.	+	+	.	+	+	+	+
	15	.	+	+	+	+	+	.	+	+	+	+
	37	+	+	.	.	+	.	+	+	+	+	+
	45	+	+	.	+	.	.
Gaz à partir du glucose		.	.	+	+	+	+	.
Croissance à pH	4.5	+	+	+	+	.	+	.	.	.	+	+
	4.8	+	+	+	+	+	+	+	.	.	+	+
	6.5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	9.6
63.5°C pendant 30 min		+	.	.	+	.	.	+	+	.	.	.
Croissance dans NaCl %	2	+	+	+	.	+	+	.	.	+	+	+
	3	+	.	.	.	+	+	.	.	+	+	+
	4	+	+	.	+	+	.	.	.	+	+	+
	6.5	+
Fermentation des sucres	Lactose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	.	+
	Glucose	+	+	+	.	+	+	+	+	+	+	+
	Saccharose	.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Galactose	+	+	+	+	+	+	.	+	±	+	+
	Sorbitol	.	+	+	+	.	+	.	.	.	+	+
	Mannose	.	+	+	+	±	+	.
	Mélibiose	.	+	+	+	+	+	+
	Raffinose	.	+	+	+	+	.	.	.	±	+	+
	Arabinose	.	+	V	.	±	+	.
	Xylose	.	+	+	+	±	+	+
	Melzitose	.	nd	nd	+	.	+	.	.	±	+	+
	fructose	.	nd	nd	+	+	±	.	+	+	+	+
Cellobiose	.	nd	nd	+	±	±	.	.	±	+	+	
Isomère acide lactique		DL	DL	DL	L(+)	L(+)	L(+)	L(+)	D(-)	D(-)	D(-)	DL

Tableau 11 : Caractéristiques différentielles des bactéries lactiques

Caractéristiques	<i>Carnobacterium</i>	<i>Lactobacillus</i>	<i>Aerococcus</i>	<i>Enterococcus</i>	<i>Lactococcus Vagococcus</i>	<i>Leuconostoc Omococcus</i>	<i>Pediococcus</i>	<i>Streptococcus</i>	<i>Tetragenococcus</i>	<i>Weisella</i>
Morphologie	bacilles	bacilles	coques	coques	coques	Coques ovales	coques	coques	coques	Coques/ bacilles
Formation des tétrades	-	-	+	-	-	-	+	-	+	-
Gaz à partir de glucose	-	±	-	-	-	+	-	-	-	+
Croissance à 10°C	+	±	+	+	+	+	±	-	+	+
Croissance à 45°C	-	±	-	+	-	-	±	±	-	-
Croissance 6.5% NaCl	ND	±	+	+	-	±	±	-	+	±
Croissance 18% NaCl	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
Croissance à pH 4.4	ND	±	-	+	±	±	+	-	-	±
Croissance à pH 9.6	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-
Isomère d'acide lactique	L	D, L, DL	L	L	L	D	L, DL	L	L	D, DL
Hydrolyse d'arginine	+	±	ND	±	-	-	±	±	ND	-
mDAP	+	±	ND	-	-	-	-	-	ND	-

+ positive ; - négative ; ± résultats variés selon l'espèce ; ND, non déterminé.

Résumé

Les bactéries du lait se distinguent par leur capacité à produire des exopolysaccharides. Dans ce travail, notre objectif à rechercher des souches lactiques produisant des exopolysaccharides.

Dans un échantillon de lait de chamelle, 14 souches ont été isolées, purifiées et identifiées par des tests phénotypiques et physiologiques et biochimiques. Les 14 souches ont été affiliés à trois genres bactériens qui sont : *Enterococcus*, *Leuconostoc* et *Lactococcus*.

Nous avons utilisé un milieu MSE et un milieu MRS hyper saccharosé pour étudier la propriété de production d'exopolysaccharides, mais malgré cela, ces souches n'ont pas produit des exopolysaccharides.

Mots clés : Lait de chamelle, les bactéries lactiques, Exopolysaccharides

Abstract

Lactic acid bacteria are characterized by their ability to produce exopolysaccharides. Our study, aim to search for lactic strains that produce exopolysaccharides.

From a sample of camel milk 14 strains were isolated, purified, and identified using phenotypic, physiological, and biochemical tests. The 14 strains. These isolates were classified into three bacterial genera: *Enterococcus*, *Leuconostoc* and *Lactococcus*.

We used MSE and Hypersucrose MRS medium to study their exopolysaccharide-producing properties, but these strains did not produce exopolysaccharides.

Keywords: Camel milk, lactic bacteria, exopolysaccharides

ملخص

تتميز البكتيريا اللبنية بقدرتها على إنتاج عديدات السكاريد الخارجية. في هذه الدراسة، كان هدفنا البحث عن البكتيريا اللبنية المنتجة لعديدات السكاريد الخارجية.

في عينة من حليب الإبل، تم عزل 14 سلالة وتنقيتها وتحديد هويتها باستخدام الاختبارات الفينوتيبية والفسولوجية والكيميائية الحيوية. حددت هذه الاختبارات 14 سلالة والتي تنتسب إلى ثلاثة أنواع بكتيرية: *Enterococcus*، *Leuconostoc* و *Lactococcus*.

استخدمنا وسط MSE ووسط Hypersucrose MRS لدراسة خاصية إنتاج عديدات السكاريد الخارجية، ولكن على الرغم من ذلك، لم تُنتج هذه السلالات عديدات السكاريد الخارجية.

الكلمات المفتاحية: حليب الإبل، البكتيريا اللبنية، عديدات السكاريد الخارجية.