

SOMMAIRE

Remerciements.....	i
Dédicaces	ii
Sommaire	iii
ملخص	viii
Resumé	ix
Summary	x
Liste des tableaux	xi
Liste des figures	xii
Liste d'abréviations	xiv
Introduction	1
Chapitre 1 : Synthèse bibliographique	4
1. Etude sur le dromadaire	4
1.1. Classification et importance du dromadaire.....	6
1.2 Morphologie et physiologie générale du dromadaire.....	7
1.3 Taxonomie.....	10
1.4 Répartition géographique et effectif	11
1.4.1 Dans le monde.....	11
1.4.2. En Algérie.....	12
1.5 Les races camelines	14
1.5.1 Les races camelines dans le monde	14
1.5.2 Les races camelines Algériennes	17
2. Le lait de chamelle.....	19
2.1. Production laitière	21
2.2. Caractéristiques du lait de chamelle.....	24
2.3. Les dérivés de lait de chamelle	27
3. Les bactéries lactiques.....	27
3.1. Les bactéries lactiques du lait de chamelle.....	33
4.1. Ecologie des bactéries lactiques.....	35
4. Les ferments lactiques.....	37
4.1. Cultures spécialisées de LAB.....	38

4.2.	Cultures protectrices	38
4.3.	Cultures de maturation.....	38
4.4.	Probiotique et Santé - Promouvoir les cultures	38
5.	Tendances futures et considérations finales.....	40
6.	Méthodes d'étude des bactéries lactiques.....	40
6.1.	Méthodes phénotypiques.....	42
6.2.	Analyse sérologique	44
6.3.	Méthode génotypique	44
7.	Rappelle sur les techniques d'identification moléculaires des microorganismes.....	45
7.1.	Polymorphisme de conformation des simples brins (SSCP).....	45
7.2.	Analyse des courbes de fusion à haute résolution (HRMA)	45
7.3.	PCR répétitive extragénique palindromique (rep-PCR)	46
7.4.	L'Amplification aléatoire d'ADN polymorphe (RAPD)	46
7.5.	Polymorphisme de longueur des fragments de restriction (RFLP)	47
7.6.	Polymorphisme de longueur de fragments de restriction terminaux (T-RFLP)	48
7.7.	Polymorphisme de longueur de fragment amplifié (AFLP)	48
7.8.	Electrophorèse en gel à gradient dénaturé (DGGE)	49
7.9.	Électrophorèse sur gel à effet pulsé (PFGE)	50
7.10.	Les puces d'ADN.....	50
7.11.	PCR en temps réel (RT-PCR)	51
7.12.	Le profil plasmidique	51
7.13.	Spectrométrie de masse par temps de vol de désorption / ionisation assistée par matrice	51
8.	Les techniques de séquençage	52
8.1.	Séquençage par dégradation chimique (Maxam et Gilbert, 1977).....	52
8.1.1.	Principe.....	52
8.1.2.	Méthode.....	52
8.1.3.	Avantage/inconvénient	52
8.2.	Séquençage par synthèse enzymatique (Sanger et al., 1977)	52
8.2.1.	Principe.....	52

8.2.2. Méthode	53
8.3. Séquençage à haut débit (séquençage de deuxième génération)	54
9. Conclusion de la synthèse bibliographique	56
Chapitre 2 : Matériel et méthodes	57
1. Cadre de l'étude.....	57
2. Provenances des échantillons.....	57
3. Analyses physico-chimiques	58
3.1. Mesure de pH.....	58
3.2. Acidité Dornic	58
3.3. Détermination de la densité	59
3.4. Le point d'ébullition	60
3.5. La teneur en eau	60
3.6. Teneur en matière sèche (Extrait sec E.S.).....	60
3.7. Dosage des protéines.....	60
3.8. Dosage de la matière grasse	61
3.9. Dosage des glucides.....	61
3.10. Dosage de la vitamine C	61
3.11. Teneur en oligo-éléments (minéraux)	62
3.12. Mesure de l'activité antioxydant.....	62
4. Analyses microbiologiques.....	63
4.1. Préparation des suspensions de dilution.....	63
4.2. Isolement des bactéries lactiques	64
4.3. Conservation des isolats	65
4.4. Identification phénotypique des bactéries lactiques.....	65
4.4.1. Caractérisation morphologique	66
a) Examens macroscopiques	66
b) Examens microscopiques	66
4.4.2. Caractérisation physiologique.....	66
a) Recherche de la catalase	66
b) Croissance à 45° C.....	67

c) Croissance à pH 9,6	67
d) Croissance à 6,5% de NaCl.....	67
e) Test de thermo-résistance	67
4.4.3. Caractérisation biochimique	67
a) Recherche de l'arginine déshydrogénase (ADH)	67
b) Production des composés aromatiques.....	68
c) Production de dextrane.....	68
d) Utilisation du citrate.....	68
e) Etude de l'activité protéolytique	68
f) Profil fermentaire (test de fermentations des sucres).....	69
g) Identification des isolats par galerie API 50 CHL.....	69
4.4.4. Caractérisation moléculaire des bactéries.....	70
a) Extraction de l'ADN.....	71
b) Amplification de l'ADN par PCR	71
c) Electrophorèse sur gel d'agarose des produits de la PCR.....	72
d) Analyse phylogénétique des bactéries.....	72
e) Séquençage.....	72
4.5. Pouvoir fermentaire des isolats.	73
4.5.1. La cinétique d'acidification	73
4.5.2. La cinétique de croissance	75
4.6. Mise en évidence des interactions bactériennes :.....	77
4.7. La cinétique de croissance en culture mixte en milieu lait.....	78
Chapitre 3 : Résultats et discussion	80
1. Les analyses physico-chimiques	80
1.1. Le pH	80
1.2. L'acidité dornic.....	80
1.3. La densité	81
1.4. Le point d'ébullition.....	81
1.5. La teneur en eau.	81
1.6. La matière sèche	82

1.7.	Le dosage des protéines.....	82
1.7.1.	Les protéines totales	82
1.7.2.	La caséine.	83
1.8.	La teneur en matière grasse.....	83
1.9.	La teneur en glucides.....	83
1.10.	La vitamine C.....	83
1.11.	Les sels minéraux.....	84
1.12.	L'activité anti-oxydante	84
2.	Isolement et identification des bactéries lactiques du lait de chamelle.....	88
2.1.	Sélection des bactéries lactiques.....	89
2.2.	Examen morphologique	91
2.3.	Etude physiologique des isolats	99
2.4.	Identification au niveau de l'espèce.	109
2.5.	Activité protéolytique et lipolytique des isolats	124
3.	Etude moléculaire des bactéries lactiques	129
3.1.	Etude de la diversité par les régions ITS.....	129
3.2.	Identification des isolats l'ARNr 16s	131
3.3.	Phylogénétique des isolats.....	133
4.	Cinétique de croissance en milieu lait.....	134
4.1.	Cultures pures.....	134
4.2.	Cultures mixtes	137
	Conclusion générale	140
	References bibliographiques.....	143
	Annexes	168

ملخص

إن حليب الناقة وحيدة السنام مصدر غذائي أساسي لسكان المناطق الجرداء والصحراوية. تم تسجيل إنتاج 88460 طن من حليب النوق في الجزائر عام 2016 من قبل منظمة الأغذية والزراعة FAO. وشجع الطلب المتزايد على هذا المنتج، نظرا لمختلف خواصه العلاجية، المُرَبِّن على حماية هذا الحيوان. إن خصوصية حليب الناقة من حيث تكوينه الكيميائي مصدر لا ينضب لسلاسل جديدة من بكتيريا الحليب. ولهذه الأسباب وغيرها، فإن دراسة تنوع بكتيريا الحليب لهذا النظام البيئي الخاص يشكل موضوع هذه الأطروحة. إن نتائج التحليل الفيزيوكيميائي لحليب الناقة يبين غناه بالفيتامين ج (C) (68,2 ملغ/ل) و بالعناصر المضادة للأكسدة (410 ملغ/100 مل)، ومتوسط أبعاده الأخرى المقيسة هي الآتية : درجة الحموضة (pH) : (5,56)، الكثافة : (1,32)، المواد الدسمة : (58,14 غ/ل)، البروتينات (26,55 غ/ل)، الكازيين : (20,17 غ/ل)، اللاكتوز : (37,7 غ/ل)، و املاحه المعدنية الأساسية تقترب قيمتها من قيم أنواع الحليب الأخرى. فضلا عن ذلك، فإن تحليل حليب الناقة لثمان مناطق بالجزائر يبين أن الحليب الطازج غني جدا بالأحياء الدقيقة. لقد تمت تنقية 460 عزلة بينما استجابت 53,47% لمعايير بكتيريا الحليب. و من بين الـ 246 عزلة تم التعرف على 80 سلالة منها على أنها عصيات و 166 على أنها مكورات. و لقد كشف التحليل المظهري النمطي الأجناس التالية: *Lactobacillus* : 32,5% ؛ *Enterococcus* : 32,5% ؛ *Lactococcus* : 16,3% ؛ *Leuconostoc* : 13,8% ؛ و *Streptococcus thermophilus* : 4,9% . سمحت الدراسة الجينية للعزلات عن طريق الـ ARNr بتصنيف العزلاتين ABD28 و MEC12 لسلالة *Leuconostoc mesenteroides* Subsp. *dextranicum* بنسبة 99 ٪ و 100 ٪ على التوالي. يتشابه التسلسل النيكليوتيدي للعزلة MEC25 مع تسلسل سلالة *Leuconostoc mesenteroides* ATCC 8293 بنسبة 100 ٪. سمحت نفس الدراسة بتصنيف العزلة ADR12 (99 ٪) لسلالة *Lactobacillus paracasei*. تصنف العزلات TMN18 و BAB17 و GHD12 بنسبة 99 ٪ لـ *Lactobacillus paraplantarum*. سمحت الدراسة بتعريف العزلات ADR9 و ORA11 على أنها *Lactobacillus rhamnosus* بنسبة 100 ٪. سمح الكشف الجيني أيضا بالتعرف على العزلات ADR15 و ADR32 و TMN21 على التوالي بـ *Lactobacillus pentosus* و *Lactobacillus plantarum* و *Enterococcus gallinarum* بنسبة تشابه 99 ٪ للقواعد النيكليوتيدية. لقد أبدت كل العزلات نشاطا تحليليا معتبرا للبروتين، ولكن النشاط التحليلي للدهون لم يكتشف إلا عند جنس *Lactobacillus*. وبينت الدراسة الجزيئية تشابها كبيرا بين سلالات *Lactobacillus*، ولكن أجناس *Enterococcus* و *Leuconostoc* منفصلتان بوضوح في مجموعتيهما. فضلا عن ذلك، فإن دراسة الخصائص البيوتكنولوجية التي أجريت على 12 سلالة متعرفا عليها فبين قياس الحموضة أن *Lactobacillus rhamnosus* و *Lactococcus lactis* هما سلالتا تحميض سريع بمعادل حموضة نهائي قدره 4، و بالمقابل فإن *Lactobacillus plantarum* و *Leuconostoc mesenteroides* معتدلتا التحميض. إن تخمر الحليب بوجود *Lactococcus lactis* و *Lactobacillus rhamnosus* أنتج حليباً محمضاً ذو مذاق مشابه لمذاق المخيض (اللبن باللهجة الجزائرية) المباع. كما أظهرت *Leuconostoc* قدرة على تعديل الحموضة إذ أن وجودها في مزيج التخمير منع الاحتماض الشديد في كل التوليفات التجريبية المختبرة. وفي الخلاصة، نستطيع القول أنه من الممكن رفع قيمة حليب الناقة وحيدة السنام باستعمال سلالات بكتيريا الخاصة المتولدة منه والمختارة من نظامه البيئي نفسه.

الكلمات المفتاحية:

الكشف الجيني، التكنولوجيا، الكلمات المفتاحية: حليب الناقة، التنوع؛ البكتيريا اللبنية، التعريف؛ التخمير، خمائر، التفاعلات البكتيرية، الصحراء.

Résumé

Le lait de dromadaire est une source de nourriture essentielle pour les habitants des régions arides et sahariennes. Une production de 88 460 tonnes de lait de chamelle a été enregistrée en Algérie en 2016 par la FAO. La demande croissante de ce produit en raison de différentes intégrités, en particulier thérapeutiques, encourage les éleveurs à protéger cet animal. La spécificité du lait de chamelle en termes de composition chimique est une source inépuisable de nouvelles souches de bactéries lactiques. Pour ces raisons et d'autres, l'étude de la diversité des bactéries lactiques de cet écosystème spécifique fait l'objet de cette thèse. Les résultats de l'analyse physico-chimique du lait de chamelle montrent sa richesse en vitamine C (68,2 mg/l) et en produit antioxydant (410 mg/100 ml). Les valeurs moyennes des autres paramètres mesurés sont les suivantes : pH (5,56), densité (1,32), matières grasses (58,14 g/l), protéines (26,55 g/l), caséine (20,17 g/l), lactose (37,7 g/l), les minéraux essentiels sont proches des valeurs des autres laits. De plus, l'analyse microbiologique du lait de chamelle de 8 régions en Algérie montre que le lait cru est très riche en microorganismes. Cependant, 460 isolats ont été purifiés lorsque 53,47% des souches répondaient aux critères des bactéries lactiques. Parmi les 246 isolats, 80 souches ont été identifiées comme bacilles et 166 cocci. Cependant, l'analyse phénotypique a identifié les genres suivants : *Lactobacillus* 32,5%, *Enterococcus* 32,5%, *Lactococcus* 16,3%, *Leuconostoc* 13,8% et *Streptococcus thermophilus* 4,9%. Toutes les espèces ont révélé une activité protéolytique significative ; cependant, l'activité lipolytique n'est détectée que dans les lactobacilles. L'étude moléculaire montre une grande similitude entre les espèces de lactobacilles. Les séquences des isolats ABD28 et MEC12 sont attribuées comme *Leuconostoc mesenteroides* Subsp. *dextranicum* avec un pourcentage de 99% et 100% respectivement. La séquence de MEC25 est similaire à la séquence de *Leuconostoc mesenteroides* strain ATCC 8293 avec 100% de similitude. L'isolat ADR12 a été assigné (99%) comme *Lactobacillus paracasei*. Les isolats TMN18, BAB17 et GHD12 ressemblent à 99 % de certitude à l'espèce *Lactobacillus paraplantarum*. Les isolats ADR9 et ORA11 sont identifiés comme *Lactobacillus rhamnosus* avec une affinité de 100%. Les isolats ADR15, ADR32 et TMN21 sont identifiés comme *Lactobacillus pentosus*, *Lactobacillus plantarum* et *Enterococcus gallinarum* avec une similitude de 99%. Cependant, les espèces d'*Enterococcus* et de *Leuconostoc* sont nettement séparées dans leurs groupes. En outre, le potentiel biotechnologique a été testé sur 12 souches identifiées, la mesure de l'acidité a montré que *Lactobacillus rhamnosus* et *Lactococcus lactis* sont des souches à acidification rapide avec un pH final de 4. En revanche, *Lactobacillus plantarum* et *Leuconostoc mesenteroides* sont modérément acidifiants. La fermentation du lait en présence de *Lactococcus lactis* et de *Lactobacillus rhamnosus* a produit un lait acidifié présentant des caractères organoleptiques similaires à ceux de Lben commercialisés. En revanche, *Leuconostoc* a montré un potentiel de régulation de l'acidité et sa présence dans le mélange de fermentation a empêché une forte acidification dans toutes les combinaisons testées. En conclusion, la valorisation du lait de chamelle peut être développée en utilisant des souches lactiques indigènes spécifiques sélectionnées dans ce même écosystème.

Mots clés : Lait de chamelle ; Diversité ; Bactéries lactiques ; Identification ; Fermentation ; Génotypique ; Technologie ; Levain ; Interaction ; Sahara.

Summary

Dromedary milk is an essential food source for inhabitants of arid and Saharan regions. A production of 88460 tons of camel milk was recorded in Algeria in 2016 by the FAO. The increasing demand of this product due to different integrities especially therapeutic ones encourages breeders to protect this animal. The specificity of camel milk in terms of its chemical composition is an inexhaustible source of new strains of lactic acid bacteria. For these reasons and others, the study of the diversity of lactic acid bacteria of this specific ecosystem is the subject of this thesis. The results of the physicochemical analysis of raw camel milk show its richness in vitamin C (68.2 mg/l) and antioxidant product (410 mg/100ml). The mean values of the other measured parameters are as follows: pH (5.56), density (1.32), fat (58.14 g/l), protein (26.55 g/l), casein (20.17 g/l), lactose (37.7 g/l), essential minerals are close to the values of other milks. In addition, the microbiological analysis of camel milk from eight (8) regions in Algeria shows that raw milk is very rich in microorganisms. However, 460 isolates were purified where 53.47% of the strains responded to lactic acid bacteria criteria. Among the 246 isolates, 80 strains were identified as rod and 166 cocci. However, the phenotypic analysis identified the following genera: *Lactobacillus* 32.5%, *Enterococcus* 32.5%, *Lactococcus* 16.3%, *Leuconostoc* 13.8% and *Streptococcus thermophilus* with 4.9%. The sequences of isolates ABD28 and MEC12 are assigned as *Leuconostoc mesenteroides* Subsp. *dextranicum* with a percentage of 99% and 100% respectively. The sequence of MEC25 is similar to the sequence of *Leuconostoc mesenteroides* strain ATCC 8293 with 100% similarity. The ADR12 isolate was assigned (99%) as *Lactobacillus paracasei*. The TMN18, BAB17 and GHD12 isolates are 99% certainty for *Lactobacillus paraplantarum*. The ADR9 and ORA11 isolates are identified as *Lactobacillus rhamnosus* with a 100% affinity. The ADR15, ADR32 and TMN21 isolates are identified as *Lactobacillus pentosus*, *Lactobacillus plantarum* and *Enterococcus gallinarum* with a similarity of 99%. All species revealed significant proteolytic activity; however, lipolytic activity is detected only in lactobacilli. The molecular study shows a great similarity among the *Lactobacillus* species. However, the species of *Enterococcus* and *Leuconostoc* are clearly separated in their groups. Besides, the biotechnological potential was tested on 12 identified strains, the measurement of acidity showed that *Lactobacillus rhamnosus* and *Lactococcus lactis* are fast acidifying strains with a final pH of 4. In contrast, *Lactobacillus plantarum* and *Leuconostoc mesenteroides* are moderately acidifying. The fermentation of milk in the presence of *Lactococcus lactis* and *Lactobacillus rhamnosus* produced an acidified milk with organoleptic characters similar to that of Lben marketed. On other hand, *Leuconostoc* showed a regulating potential of acidity and its presence in the fermentation mixture prevented a strong acidification in all the combinations tested. To conclude, the valorization of camel milk could be developed by the use of specific indigenous lactic strains selected from similar ecosystems.

Keywords: Camel milk; Diversity; Lactic bacteria; Identification ; Fermentation; Genotypic; Technology; Starters; Interaction; Sahara.

Liste des tableaux

Tableau 1. Evolution des Effectifs des bovins, camelins, caprins et ovins en Algérie de 2001 à 2016 (FAOSTAT, 2016).	13
Tableau 2. Production totale de lait (en tonnes) par espèce et pourcentage de lait non bovin (NCM) dans les différents continents et régions (Tsakalidou et Papadimitriou, 2016)	20
Tableau 3. Production totale de lait (en millions de tonnes), pourcentage de la contribution des espèces et indice de 2013 comparé à l'indice 100 en 1961 pour les différents laits (FAOSTAT, 2015).....	21
Tableau 4. Production mondiale de lait de chamelle (tonnes/an) (Databases, 2008).....	23
Tableau 5. La production laitière cameline de différents pays (Farah, 2011).	23
Tableau 6. La production du lait de chamelle dans le monde et en Algérie (en tonne de lait selon (FAOSTAT, 2014).	24
Tableau 7. Composition approximative du lait de chamelle par rapport au lait d'autres espèces (Berhe <i>et al.</i> , 2017).....	25
Tableau 8. Comparaison des paramètres physico-chimiques du lait de chamelle, chèvre, vache et humain (Mati <i>et al.</i> , 2011, Berhe <i>et al.</i> , 2017)	25
Tableau 9. Composition chimique moyenne du lait cru de chamelle et du lait de vache (El-Agamy, 2006).....	26
Tableau 10. Classification des grands groupes des bactéries lactiques (Stiles et Holzapel, 1997, Carr <i>et al.</i> , 2002).	31
Tableau 11. Les bactéries lactiques isolées du lait cru de chamelle et les produits fermentés.....	34
Tableau 12. Nouvelles souches de bactéries lactiques décrites récemment de différents écosystèmes.	36
Tableau 13. Liste des techniques utilisées pour l'identification des bactéries lactiques.....	55
Tableau 14. Paramètres de préparation des échantillons pour l'obtention du poids sec. (D'après Laboratoire El Fath).	60
Tableau 15. Représente les résultats récapitulatifs des analyses physico-chimiques et organoleptiques	87
Tableau 16. Répartition et nombre d'isolats lactique selon la forme et le point d'échantillonnage.....	89
Tableau 17. Aspect macroscopique et microscopique des isolats de forme bâtonnet (barre = 10µ)....	92
Tableau 18. Aspect macroscopique et microscopique des isolats de forme cocci (barre = 10µ).....	94
Tableau 19. Description de l'aspect microscopique des isolats retenus.....	96
Tableau 20. Récapitulatif des tests d'identification biochimiques et physiologiques des isolats étudiés.	102
Tableau 21. Répartition des isolats selon la région d'échantillonnage.....	107
Tableau 22. Code des différents isolats identifiés selon leurs genres.	108
Tableau 23. Résultats du profil fermentaire des isolats étudiés	111
Tableau 24. Résultats du profil fermentaire (Galerie API 50CHL) des souches lactiques.	120
Tableau 25. Répartition des espèces lactiques selon les régions étudiées.....	122
Tableau 26. Résultats des activités protéolytique et lipolytique pour l'ensemble des souches.....	126
Tableau 27. Caractérisation phénotypique et génotypique des différents isolats retenus.	132
Tableau 28. Les valeurs moyennes de la croissance des différents isolats lactiques en culture pure, en milieu lait écrémé et les paramètres spécifiques	136
Tableau 29. Les valeurs moyennes de la croissance des différents isolats lactiques en culture mixte en milieu lait écrémé et les paramètres spécifiques.....	139



Liste des figures

Figure 1. Représente les deux espèces <i>Camelus dromedarius</i> et <i>Camelus bacterianus</i> (Konuspayeva et al., 2009).....	4
Figure 2. Constatation de la présence du dromadaire dans les différents pays arabes par la présence de dessins archéologiques (Saber, 2012).....	5
Figure 3. Pesage d'un dromadaire au Centre de recherches sahariennes de Béni-Abbès, Algérie, dans le cadre d'un projet de recherche sur le bilan hydrique de ces animaux adaptés aux conditions arides (Schmidt-Nielsen, 1955).	9
Figure 4. Classification de la famille des camélidés et les espèces formant les deux genres <i>Lama</i> et <i>Camelus</i> (Mukasa-Mugerwa, 1985)	10
Figure 5. Carte de distribution géographique des dromadaires dans le monde (http://camelides.cirad.fr/fr/actualites/archives/dossier_mois1_1.html).	11
Figure 6. Aires de distribution du dromadaire en Algérie (Ben Aissa, 1989).	12
Figure 7 . Répartition des principales races de dromadaire en Algérie (Ben Aissa, 1989)	18
Figure 8 . Importance relative du dromadaire dans le monde arabe en 2012 (FAOSTAT, 2014)	21
Figure 9. Distances phylogénétiques entre les principaux genres constituant le groupe des bactéries lactiques basées sur les séquences des ARNr 16S (Stiles et Holzapfel, 1997).....	32
Figure 10. Morphologies cellulaire et mode d'association des bactéries lactiques observées au microscope électronique à balayage (Neve et al., 2003, Limonet et al., 2004, Chiaramonte et al., 2009, Nomura et al., 2009).....	43
Figure 11. Principe du séquençage capillaire automatique (Véronique, 2014).	54
Figure 12. Position géographique des zones de provenance des échantillons du lait.....	57
Figure 13. Lieu de prélèvement des échantillons du lait de chamelle de la ville d'ADRAR et de la plaine de Béni-Abbès sud-ouest d'Algérie.....	58
Figure 14. Diagramme de la procédure expérimentale des analyses physico-chimiques.....	59
Figure 15 . Courbe d'étalonnage pour le dosage des polyphénols totaux.	63
Figure 16. Schéma représentatif de préparation des suspensions de dilutions et l'isolement.	64
Figure 17. Technique de conservation longue durée des isolats purifiés.	65
Figure 18. Schéma représentant la mini-préparation pour le test de la fermentation des sucres (Guessas, 2006).....	69
Figure 19. Schéma représentatif de préparation et lecture des galeries API 50 CHL.	70
Figure 20. Les étapes de l'étude de la cinétique d'acidification.....	74
Figure 21. Schéma résumant la méthodologie utilisée pour l'étude de cinétique de croissance.	76
Figure 22. La méthode de doubles couches (agar overlay assays)	77
Figure 23. Schéma résumant la méthodologie utilisée pour l'étude de Cinétique de croissance en culture mixte.....	79
Figure 24. Aspect morphologique de différentes colonies des bactéries lactiques sur milieu MRS	88
Figure 25. Aspect des cultures des isolats retenus sur milieu MRS liquide, la zone transparente supérieure indique le type respiratoire microaérophile	88
Figure 26. Pourcentage des isolats de bactéries lactique selon les régions d'échantillonnage.....	89
Figure 27. Distribution des formes cellulaires cocci et bâtonnet en fonction des régions d'échantillonnage.	90
Figure 28. Réaction des isolats vis-à-vis du Test d'ADH, et la croissance à 6,5% de NaCl.....	100
Figure 29. Production des exopolysaccharides par l'isolat MEC25 <i>Leuconostoc mesenteroides</i>	100
Figure 30. Utilisation des citrates par production de pigment bleu pour les isolats lactiques.....	100

Figure 31. Test de fermentation des glucides par les Isolats à l'aide des systèmes Api 50 CHL.....	119
Figure 32 . Les zones d'hydrolyses claires autour des colonies indiquent la dégradation des caséines du lait par les isolats sur milieu PCA 2% lait écrémé.	125
Figure 33. Profil de migration de la région ITS (Internal transcribed spacer) 16S/23S des isolats sur gel d'agarose à 2%.	130
Figure 34. Profile de migration des produits d'amplification de la région codant l'ARNr 16S sur gel d'agarose à 1.5%.	131
Figure 35. Arbre phylogénétique (méthode de Neighbor-joining) basée sur l'analyse comparative partielle des séquences du gène de l'ARNr 16S des bactéries lactiques montrant l'affinité phylogénétique des souches isolées. La Séquence de <i>Bifidobacterium animalis</i> Subsp. <i>lactis</i> a été utilisé comme out-group.....	133
Figure 36. Cinétique de croissance et de l'évolution du pH et de l'acidité Dornic de la souche <i>Lactobacillus rhamnosus</i> et <i>Lactobacillus paracasei</i> en milieu lait écrémé à 30°C en cultures pures.	134
Figure 37. Cinétique de croissance et de l'évolution du pH et de l'acidité Dornic de la souche <i>Lactobacillus plantarum</i> et <i>Leuconostoc mesenteroides</i> Subsp. <i>dextranicum</i> en milieu lait écrémé à 30°C en cultures pures.....	134
Figure 38. Cinétique de croissance et de l'évolution du pH et de l'acidité Dornic de la souche <i>Leuconostoc mesenteroides</i> et <i>Lactobacillus rhamnosus</i> en milieu lait écrémé à 30°C en cultures pures.....	135
Figure 39. Cinétique de croissance et de l'évolution du pH et de l'acidité Dornic de la souche de <i>Lactococcus lactis</i> en milieu lait écrémé à 30°C. en cultures pures.....	135
Figure 40. Cinétique de croissance et de l'évolution du pH et de l'acidité Dornic en culture mixte des deux souches lactiques en milieu lait écrémé à 30°C.....	138
Figure 41. Cinétique de croissance et de l'évolution du pH et de l'acidité Dornic en culture mixte des souches lactiques en milieu lait écrémé à 30°C.....	138

Liste d'abréviations

°C : Degré Celsius

°D : Degré Dornic

µm: micromètre

ADH : Arginine Dihydrolase

ADN : Acide désoxyribonucléique

ADNr /ARNr : ADN ou ARN ribosomal.

AFLP : Amplified fragment length polymorphism

ARDRA: Amplified ribosomal DNA restriction analysis

ARN Acide ribonucléique

ATCC: American type culture collection

dNTP : désoxyribonucléotide triphosphate

DO: Densité optique

E : *Enterococcus*

EAG: Équivalent à l'Acide Gallique

EDTA: Acide Éthylène Diamine Tétracétique

EPS : exopolysaccharide

FAO: Food and Agriculture Organization

g : Gramme

GC : gas chromatography

h : Heure

HPLC : high phase liquid chromatography

ITS: Internal transcribed spacer

LAB : bactérie lactique

Lb : *Lactobacillus*

Lc : *Lactococcus*

Ln : *Leuconostoc*

M : molaire

M17 : Milieu Terzaghi and Sandine

Maldi-Tof: Matrix Assisted Laser Desorption Ionisation - Time of Flight

mM : milli molaire

mph: mile par heure

MRS: Milieu De-Man, Rogosa et Sharpe

MRS-BCP: Milieu MRS additionné de Pourpre de Bromocrésol

MS : Mass spectrometry

MSE : Mayeux, Sandine et Elliker

N : Normale

NCM: lait non bovin

NSLAB : Bactéries lactiques non starter

OMS: Organisation Mondiale de la Santé

Pb : Paire de bases

PCR : Polymerase Chain Reaction

PFGE: pulsed field gel electrophoresis

RAPD : Random Amplified Polymorphic DNA

REA :Restriction Enzyme Analysis

REP-PCR: repeated sequence extragenic palindrome

RFLP : Restriction fragment length polymorphism

rpm : Rotation par minutes

RT PCR: PCR en temps réel

S: *Streptococcus*

SDS-PAGE : sodium dodecyl sulfate – polyacrylamide gel electrophoresis

Subsp. : sous-espèce

TE: Trolox Equivalent

UFC : unité formant colonie

v/v : volume par volume

w/v : poids par volume

µg : Microgramme

µmax : Vitesse spécifique maximale de croissance.

Φ: Diamètre

INTRODUCTION

Introduction

Les dromadaires soutiennent la survie de millions de personnes dans les régions arides et semi-arides du monde. Ils possèdent des capacités remarquables pour exploiter des ressources très limitées car ils sont extrêmement bien adaptés à la vie dans les conditions difficiles des climats chauds où l'eau est souvent rare. En outre, ils fournissent du lait presque toute l'année en quantités beaucoup plus grandes que les autres animaux vivant dans les mêmes conditions. Le dromadaire est également utilisé comme animal de meute pour transporter jusqu'à 600 kg sur son dos, et il est apprécié comme animal de trait et de trait. En outre, il fournit de la viande, des cheveux fins et de la peau. En dépit de ces avantages économiques et écologiques des dromadaires, peu d'attention leur a été accordée. L'effectif des dromadaires en Algérie a atteint 379094 tête en et une production annuelle de lait de chamelle a enregistré 88460 tonnes en 2016 (FAOSTAT, 2016).

Le lait de dromadaires est un écosystème qui a fait l'objet de plusieurs travaux scientifiques sur sa composition physicochimique qui est pratiquement légèrement différent des autres types de lait. Les études microbiologiques réalisés sur le lait de dromadaire s'intéressent essentiellement aux microorganismes pathogènes. Les recherches sur les bactéries lactique (LAB) d'intérêt technologique isolées de lait de chamelle ont débuté en Algérie en début des années 2000. Les travaux publiés sur la microflore lactique du lait cru de chamelle au niveau national ont porté sur des souches possédants des activités d'intérêt technologique en industries laitière (Saidi *et al.*, 2005, Hassaïne *et al.*, 2007, Drici *et al.*, 2010, Boumehira *et al.*, 2011, Marroki *et al.*, 2011, Zarour *et al.*, 2012, Merzouk *et al.*, 2013, Benmechernene *et al.*, 2013, Rahli *et al.*, 2013, Zergui *et al.*, 2014, Bellil *et al.*, 2014, Zarour *et al.*, 2017). Cependant, seules quelques études ont porté sur l'identification, sans se focaliser sur la caractérisation technologique, de la microflore lactique du lait cru avant d'être transformé en produits fermentés (Desmasures *et al.*, 1997, Delbès *et al.*, 2007) et un seul document (Callon *et al.*, 2005) visait à évaluer l'effet du microbiote de lait cru sur les caractéristiques sensorielles des dérivés du lait.

La tâche principale des levains laitiers est l'acidification rapide de l'environnement, car le LAB résident acidifie lentement le lait. Certains produits laitiers traditionnels à base de lait cru ont des saveurs plus intenses que les produits de même âge et de même type à base de lait pasteurisé (Albenzio *et al.*, 2001). Il est bien connu que ce sont principalement les bactéries lactiques non starter (NSLAB) issues du lait cru qui sont liées à la typicité de ces produits (Casey *et al.*, 2006). Ainsi, la « biodiversité » de bactéries lactiques impliquées dans la production de fromage est considérée comme un facteur fondamental pour les caractéristiques et la qualité des produits

Introduction

artisanaux. Plusieurs études ont porté sur la caractérisation des bactéries lactiques associées au fromage (Leroy et De Vuyst, 2004, Morandi *et al.*, 2011, Farahani *et al.*, 2017)

L'adjonction de levain est utile pour maintenir une certaine uniformité des produits finaux, mais présente l'inconvénient que le biote de lait cru peut être perdu (Wouters *et al.*, 2002). Ce processus peut également éliminer les bactéries ayant des propriétés intéressantes dans la fabrication du fromage. Pour ces raisons, une enquête cognitive et une enquête sur les caractéristiques du LAB de lait cru mérite une attention plus profonde.

Les bactéries lactiques ont été parmi les premières bactéries à être étudiées en raison de leur implication dans les fermentations alimentaires et dans la santé humaine. Dans les premiers temps, la taxonomie des bactéries lactiques reposait sur des caractéristiques morphologiques et physiologiques. La première définition technique, par Orla-Jensen, a reconnu les bactéries lactiques comme des cocci ou des bâtonnets à Gram positif non sporulants et non mobiles et capables de cataboliser les sucres principalement en acide lactique (Orla-Jensen, 1919). Ces critères de classification ont conduit à une définition large de LAB comprenant diverses bactéries. Au cours des années 1990, les progrès des techniques d'analyse ont permis une description plus précise des bactéries lactiques (Klein *et al.*, 1998, Stiles et Holzapfel, 1997). Les bactéries lactiques ont généralement une faible teneur en GC (moins 50 mol%), tandis que certains lactobacilles atteignent jusqu'à 57 mol% (Sun *et al.*, 2015). Même s'il a été suggéré que les LAB sont un groupe hétérogène de bactéries et qu'une définition technique universelle n'existe peut-être pas, il a été démontré que tous les genres ont divergé d'un ancêtre commun. Le gène de l'ARNr 16S et les phylogénies du génome entier ont révélé que les espèces du « core » LAB forment l'ordre distinct des lactobacilles dans la classe des bacilles du phylum Firmicutes (Klein *et al.*, 1998, Stiles et Holzapfel, 1997, Makarova *et al.*, 2006). Sur la base de cette observation, une approche non phylogénétique pour définir le LAB devient rapidement obsolète. Par exemple, les bifidobactéries ou certaines espèces de *Bacillus*, qui présentent certaines caractéristiques communes avec LAB, ne sont plus incluses dans ce groupe. Selon les données récentes sur la taxonomie de LAB, l'ordre des Lactobacillales est composé de six familles de 38 genres et de plus de 400 espèces (Vandamme et Peeters, 2014).

L'isolement à partir du lait cru de chèvre, peut présenter l'avantage de donner un choix plus large en termes d'espèces et de souches. Le lait contient une grande variété de LAB qui peut avoir des caractéristiques intéressantes pour l'application en industrie laitière, mais ils pourraient être accidentellement perdus durant la fabrication. Dans cet esprit, les objectifs de la présente thèse sont les suivants: (1) évaluation de la qualité physicochimique de lait de chèvre (2) l'étude de la biodiversité phénotypique des isolats de bactéries lactiques dans

Introduction

les échantillons collectés dans différentes les régions sud-ouest d'Algérie (3) confirmation de l'identification des isolats par les outils moléculaires (4) évaluation du potentiel technologique des isolats retenus en vue de leur application future comme levain spécifique dans la fermentation du lait cru de dromadaire.

Cette thèse est composée de quatre grands chapitres, une synthèse bibliographique, la méthodologie, la partie résultats et discussion et la partie références bibliographiques. Une annexe de milieux de culture et de réactifs se trouve à la fin de celle-ci.

Synthèse bibliographique

Chapitre 1 : Synthèse bibliographique

1. Etude sur le dromadaire

Le dromadaire est un animal de désert, bien adapté aux différents environnements hostiles par son comportement alimentaire particulier et sa physiologie digestive, hydrominérale et thermorégulatrice exceptionnelle. Il appartient à la famille des camélidés qui regroupent deux genres dont le plus important est le *Camelus*. Au sein de ce genre, on trouve deux espèces : *Camelus bacterianus* et *Camelus dromedarius* (Fig 1). Cette dernière est l'espèce la plus importante et la plus répandue dans le monde. Son aire de distribution est limitée aux régions chaudes tropicales, subtropicales, arides et semi-arides d'Afrique et d'Asie et plus récemment après introduction par l'homme au XIX siècle, d'Australie. Selon la FAOSTAT (2014), l'effectif mondial des camélidés est d'environ **26,8** millions têtes dont plus de 80% se situent en Afrique. En Algérie le dromadaire et l'effectif camelin est estimés à 379 094 têtes (FAOSTAT, 2016).

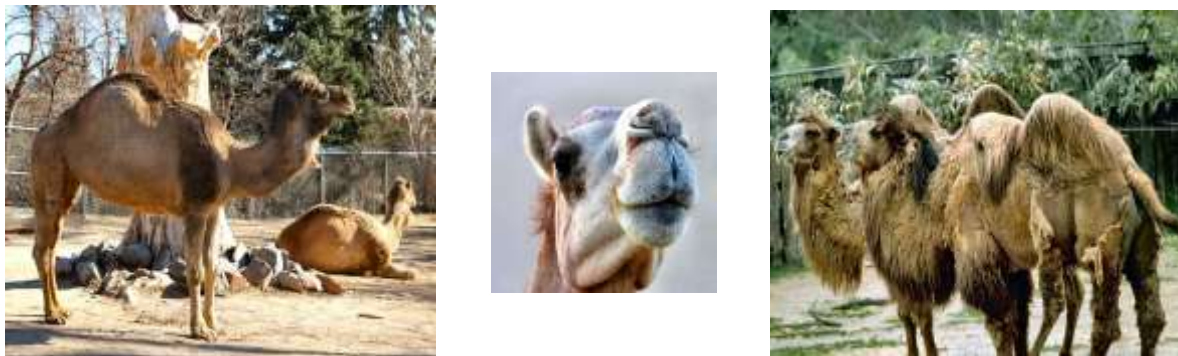


Figure 1. Représente les deux espèces *Camelus dromedarius* et *Camelus bactrianus* (Konuspayeva et al., 2009)

Les dromadaires d'Algérie appartiennent à la famille des Camelidae, qui sont des mammifères artiodactyles d'origine nord-américaine, mais ils ont disparu de ce continent alors qu'ils se répandaient en Amérique du Sud, en Asie, puis en Afrique, continents où ils ont survécu pour donner naissance aux espèces modernes.

Le lait de la chamelle ainsi élevée sur les parcours naturels ne servait à l'origine que pour la survie des chamelons et partiellement pour l'alimentation des chameliers. Ce lait est cependant depuis quelques temps produit dans l'idée d'une commercialisation en circuit court mais plusieurs facteurs entravent le développement de la filière laitière cameline, parmi lesquels nous citerons : le système d'élevage extensif, le faible potentiel laitier, la pratique de la traite

Synthèse bibliographique

manuelle, l'infrastructure de base pour la collecte du lait. Cependant, malgré cette quantité de lait faible disponible à la vente (El Hatmi *et al.*, 2004), la demande s'est accrue suite à l'accroissement de sa réputation pour ses vertus thérapeutiques diverses : Ce lait est assez riche en insuline (Agrawal *et al.*, 2003) et ne contient pas de β -lactoglobuline, une des protéines du lactosérum la plus allergène chez le nourrisson. Il est aussi utilisé contre la tuberculose et le diabète juvénile (Beg *et al.*, 1985).

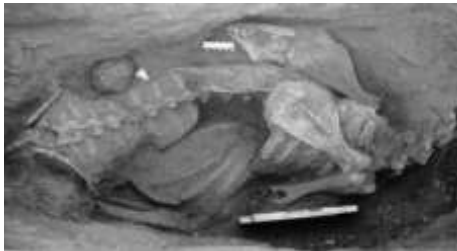
Jordanie	Syrie	Iraq	Lybie
			
Egypt	Algérie	Somali	Soudan statue
			
Yémen	Yémen	Oman	
			

Figure 2. Constatation de la présence du dromadaire dans les différents pays arabes par la présence de dessins archéologiques (Saber, 2012).

Le dromadaire joue un rôle socioéconomique primordial car il a toujours été associé aux formes de vie dans les zones pastorales arides et semi-arides. Il répond en effet aux multiples besoins de ces populations en leur fournissant du lait et de la viande et en leur servant comme moyen utilisé dans le transport et pour les travaux agricoles. Ses poils sont en outre utilisés dans la confection des vêtements et des tentes et sa peau dans la fabrication des chaussures et des

ceintures. La présence de dessins archéologiques dans les différents pays arabe prouve l'existence du dromadaire dans ces pays depuis des siècles (Fig. 2) (Saber, 2012).

Des fossiles découvertes en Chine, en Sibérie et en Russie prouvent qu'au cours du pliocène et du pléistocène, ces zones abritaient des camélidés. Au pléistocène ces animaux étaient également présents en Roumanie, en Palestine et en Afrique du nord (Saber, 2012).

1.1. Classification et importance du dromadaire

Aujourd'hui, on trouve d'importants cheptels de dromadaire dans les pays africains. La Somalie, l'Éthiopie, le Soudan, le Kenya et Djibouti abritent 84% de la population cameline africaine et plus de la moitié 60% de la population mondiale dont 72 % vivent en Afrique. La famille des chameaux Camelidae comprend le chameau bactrien (*Camelus bactrianus*), le dromadaire (*Camelus dromedarius*), le lama (*Lama glama*), le guanaco (*Lama guanicoe*), l'alpaga (*Vicugna pacos*) et la vigogne (*Vicugna vicugna*). Les chameaux de Bactrien (à deux bosses) et de dromadaires (à une bosse) ont été domestiqués entre 4000 et 5000 ans en Asie centrale et dans la péninsule arabe respectivement, et ont été d'importantes sources d'énergie ainsi que des moyens de transport pour les nomades vivant dans les zones arides et semi-arides. Les chameaux de Bactrien sont adaptés aux milieux froids du désert de Gobi et des régions avoisinantes, ainsi qu'au Kazakhstan, en Asie mineure et au sud de la Russie, et leur population estimée est environ le dixième de celle des dromadaires. Le nombre de chameaux de Bactrien en Mongolie est passé de 750 000 à 200 000 au cours des 50 dernières années (Dubach *et al.*, 2007). La présence de chameaux sauvages de Bactrien a été confirmée dans et autour de la zone désertique de Gobi en Mongolie et en Chine. Malgré les mesures de protection instituées par les gouvernements mongol et chinois, la population n'a cessé de diminuer (de 500 à 600 dans les années 1980 à 350 en 2004 en Mongolie et 600 en 2004 en Chine), en raison du faible taux de survie des chamélons, la menace de la chasse, l'établissement d'oasis par les pasteurs, l'hybridation avec les chameaux domestiques et le changement climatique. Les chameaux sauvages de Bactrien sont actuellement classés «en danger critique d'extinction» sur la liste rouge des espèces menacées (Hare, 2008).

En revanche, les dromadaires sont bien adaptés aux milieux chauds et secs et sont largement distribués au Moyen-Orient, en Afrique du Nord et de l'Est, en Asie du Sud-Ouest et en Australie, avec plus de 15 millions de têtes (Al Kanhal, 2010). Il est fréquent que les espèces du chameau de *bactrianus* et de *dromedarius* cohabitent au Kazakhstan, ce qui conduit à l'hybridation de l'espèce. La viande de chameau n'est pas aussi consommée que d'autres viandes, mais c'est certainement une source importante de nutrition, en particulier dans les zones où les

conditions environnementales sont très difficiles et où les habitants sont incapables d'obtenir de la viande de bœuf. En fait, les chameaux sont de bons fournisseurs de viande; la carcasse des chameaux mâles et femelles peut peser jusqu'à 400-650 et 250-350 kg, respectivement (Yagil, 1982). Étant adapté à un climat froid, le corps des chameaux de bactriane est recouvert de poils qui fournissent un matériel de bonne qualité pour les tissus de laine. Le rendement capillaire le plus élevé est atteint lorsque l'animal à 5 ans, avec une moyenne de 8-9 et 5,2-5,5 kg pour les chameaux mâles et femelles, respectivement (Dubach *et al.*, 2007). Les chameaux peuvent parcourir 150 km (93,2 miles) en 15-20 heures et courir à 65 km/heure (40 mph) en courtes rafales et à 40 km/ heure (25 mph) à vitesse constante. Par conséquent, les chameaux sont largement utilisés comme véhicules de voyage et de course (Fukuda, 2013).

1.2. Morphologie et physiologie générale du dromadaire

Wilson (1989) a rapporté que le dromadaire est très distinct des autres animaux domestiques, notamment par la présence d'un long cou, de la bosse et de la callosité au niveau de sternum. La tête est large, le cou large et fin, coussinet sternal maintenant l'abdomen légèrement au-dessus du sol, le dromadaire ne possède pas de cornes, les oreilles sont petites, les yeux larges et saillants, les narines longues peuvent être reformées pour les besoins de l'animal, la lèvre supérieure est divisée, fondue, poilue, extensible et très sensitive, la lèvre inférieure est large et pendante, les membres sont puissants. Le dromadaire a des glandes derrière la tête qui servent à la transpiration. La peau est souple recouverte de poils. Le rallongement est souvent au niveau des épaules et de la bosse, la couleur des poils est généralement brune variant au chocolat foncé à presque noir à rouge ou rouille fauve à presque blanche chez quelques types. La femelle a quatre quartiers au niveau de la mamelle, les testicules du mâle sont positionnés haut derrière les cuisses (comme chez le chat et le chien) et le début du fourreau est dirigé vers l'arrière. Ces particularités morphologiques et anatomiques pourraient expliquer la capacité d'adaptation du dromadaire en milieu désertique que les autres herbivores domestiques. A propos de l'anatomie digestive du dromadaire (Kayouli *et al.*, 1995, Jouany, 2000, El-Aboudi *et al.*, 2005) ont signalé que celle-ci diffère de celle des autres ruminants quant à la forme, la structure et la fonction. Elle a la particularité de valoriser les ressources végétales naturelles des zones désertiques (Ould Ahmed *et al.*, 2009).

En 1953 Schmidt-Nielsen a réalisé les premières études pratiques sur la physiologie cameline, en Algérie à Béni-Abbès, il a démontré un ensemble très contrasté des dispositifs d'adaptation chez les chameaux du désert. Bien que leur fourrure et un faible rapport surface-volume réduisent le problème d'évaporation, mais ils ne peuvent pas éviter la chaleur et la

déshydratation respiratoire du soleil de midi et doivent avoir au moins un accès occasionnel à l'eau potable. Le dromadaire, cependant, s'est avéré tolérer à élévation considérable de la température du corps pendant la journée, avec la certitude que la nuit froide pour éviter un rayonnement. Cela a permis le stockage plutôt que de compenser une certaine puissance thermique. En outre, la température élevée a diminué de manière significative l'apport d'énergie. Les camelins tolèrent des niveaux exceptionnels de déshydratation et exceptionnellement une réhydratation rapide lorsque l'eau devient disponible (Schmidt-Nielsen *et al.*, 1967).

Les adaptations physiologiques possédées par les camelins pour la thermorégulation et le maintien de l'équilibre de l'eau ont été étudiées en utilisant une variété de méthodes chez le dromadaire (*Camelus dromedarius*) (Fig. 3).

Les dromadaires adaptés aux régions désertiques sont capables de survivre et même prospérer, malgré des températures extrêmes et l'eau rare, par les mécanismes suivants :

- (1) Ils possèdent une tolérance exceptionnelle à la déshydratation corporelle.
- (2) Ils possèdent une faible perte d'eau qui est combinée à sa tolérance à la déshydratation qui lui permet de survivre pendant une longue période sans eau.
- (3) Les raisons de la faible perte d'eau chez les dromadaires sont liées à la faible évaporation, à la faible excrétion d'urine et à la faible perte d'eau dans les matières fécales.
- (4) La faible évaporation d'eau est due au fait qu'il possède une capacité de régularisation de la température corporelle.
- (5) La tolérance à la déshydratation sévère est supportée par la capacité du plasma sanguin à protéger les hématies des chocs osmotiques par rapport aux autres mammifères.
- (6) La rapidité et la capacité de boire une quantité d'eau égale au 1/3 de son poids corporel en 10 min.
- (7) Après la consommation d'une quantité énorme d'eau, une réduction rapide de la concentration du plasma est notée sans aucun signe d'intoxication par l'eau.

- (8) De tolérer ces conditions rudes en utilisant des adaptations comportementales, morphologiques et physiologiques.
- (9) Les dromadaires du désert réduisent la chaleur et maintiennent l'équilibre de l'eau en utilisant le calendrier quotidien de l'activité, la sélection de l'alimentation, des micro-habitats, l'orientation du corps, la migration, le calendrier saisonnier de la reproduction et des comportements sociaux. Bien que décrites séparément ici, les adaptations comportementales fonctionnent en combinaison avec des adaptations à la fois morphologiques et physiologiques (Schmidt-Nielsen, 1955 ; Schmidt-Nielsen, *et al.* 1957).

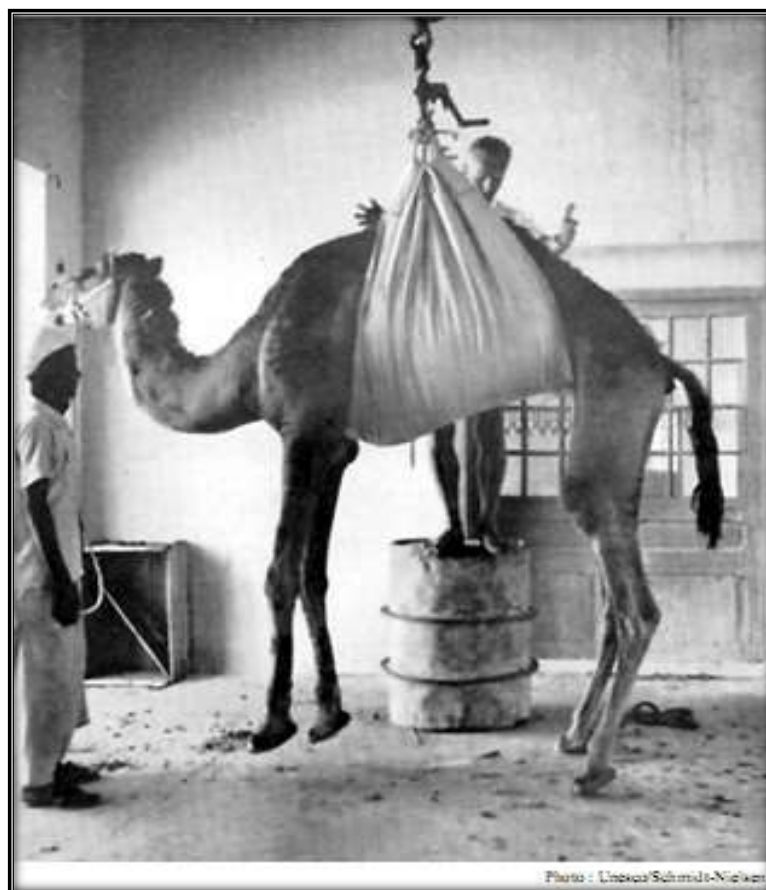


Figure 3. Pesage d'un dromadaire au centre de recherches sahariennes de Béni-Abbès, Algérie, dans le cadre d'un projet de recherche sur le bilan hydrique de ces animaux adaptés aux conditions arides (Schmidt-Nielsen, 1955).

1.3 Taxonomie

La taxonomie et le classement des camélidés est actualisée par Mukasa-Mugerwa (1985) qui les répartie en deux grandes genres *Lama* et *Camelus*. Le genre *Lama* est représenté par quatre espèces *L. glama* (Lama), *L. pcos* (type alpaga), *L. guanicoe* (guanoco) et *L. vicugna*, en revanche le genre *Camelus* ne possède que deux espèces *C. dromedarius* et *C. bactrianus*.

	Classe	Mammifères
	Sous-classe	Placentaires
	Ordre	Artiodactyles
	Sous Ordre	Ruminants
	Groupe des	Tylopodes
	Famille	Camelidés
Genre	<i>lama</i>	
Espèce	1- <i>L. glama</i> (Lama)	1. <i>C. dromedarius</i>
	2- <i>L. pcos</i> (type alpaga)	2. <i>C. bactrianus</i>
	1) <i>Suri</i>	
	2) <i>Huacaya</i>	
	3- <i>L. guanicoe</i> (guanoco)	
	4- <i>L. vicugna, vicugna vicugna</i> (vigogne)	

Figure 4. Classification de la famille des camélidés et les espèces formant les deux genres *Lama* et *Camelus* (Mukasa-Mugerwa, 1985)

Leese (1927) a classé les dromadaires en fonction du critère de leur milieu naturel. Ainsi il a distingué : 1- les chameaux de collines, animaux de petite taille et à musculature compacte, apte au transport de charges, 2- les chameaux de plaines plus grands de taille qui sont constitués de deux sous-groupes : les chameaux riverains, grands porteurs à la démarche lente et les chameaux de désert qui du fait de leur légèreté, constitue d'excellents animaux de selle. Dans les travaux sur les Murrah d'Arabie, Cole (1975) distingue trois types : le chameau de bat, le chameau de selle, et la chamelle laitière. A l'intérieur de chacune de ces grandes classes on trouve de nombreux types et races de dromadaires sélectionnés et élevés par l'homme pour répondre aux conditions du milieu. Les travaux de Taylor *et al.* (1968) ont démontré que le guanaco, le chameau bactrien et le dromadaire ont chacun 74 chromosomes, nombre similaire à celui que Benirschke (1967) a trouvé chez le lama, l'alpaga et le guanaco et la vigogne. Aujourd'hui, les deux espèces de *Camelus* peuvent se reproduire par croisement et donnent effectivement des hybrides féconds, ce qui incite certains chercheurs à préconiser leur regroupement en une seule espèce comptant deux variétés.

1.4 Répartition géographique et effectif

1.4.1 Dans le monde

Les chameaux sont des animaux domestiques idéals, en particulier dans les régions chaudes, en raison de la capacité remarquable de vivre dans des conditions difficiles et avec peu d'accessibilité à l'eau (Salmen *et al.*, 2012). La présence d'environ 18 à 25 millions de têtes de chameau a été signalée jusqu'à 2015, alors que les produits de chameau n'ont pas fait l'objet d'une enquête approfondie (El-Fakharany *et al.*, 2009, Ahmad *et al.*, 2012, Maaroufi *et al.*, 2015, Al-Zoreky et Al-Otaibi, 2015)

L'aire de répartition géographique du dromadaire, se situe, aux niveaux des zones tropicales et subtropicales et s'étend, des régions arides et semi-arides du nord de l'Afrique (Mauritanie) jusqu'au nord-ouest du continent asiatique (Chine). Le bactriane se trouve en Chine, la Mongolie et union des républiques socialistes soviétiques (URSS) avec un taux de 1,89 millions de têtes tandis que le dromadaire se trouve en Afrique et en Asie avec un taux de 15,1 millions de têtes (MS Gorban et Izzeldin, 2001, Al Kanhal, 2010), au Soudan, le dromadaire a été estimée à 3,724 millions de têtes selon le ministère de l'animal, des ressources et de la pêche (Shuiep *et al.*, 2008), alors la population totale de chameaux dans le monde est estimé à 24,1 millions d'animaux (Faye *et al.*, 2013). Une augmentation significative de 37,5 % a été observée dans le nombre de chameau entre 2008 et 2014. La figure 4 indique les régions de distribution des chameaux dans le monde.



Figure 5. Carte de distribution géographique des dromadaires dans le monde (http://camelides.cirad.fr/fr/actualites/archives/dossier_mois1_1.html). (Zones vertes *Camelus dromedarius* et zones rouge *Camelus bactrianus*).

1.4.2. En Algérie

En Algérie, le Sahara couvre plus de 85% de la superficie totale. Le dromadaire est la seule espèce capable de valoriser l'écosystème du désert. Le nombre total des camelins est estimé par le ministère algérien de l'agriculture en 2016 à plus de 379094 têtes (FAOSTAT, 2017). La population cameline algérienne est mal décrite et les seules indications sont fondées sur des études réalisées à l'époque coloniale (Belkhir *et al.*, 2013). L'effectif camelin Algérien est réparti sur 17 wilayas, avec 75% du cheptel dans huit wilayas sahariennes (Fig. 6) : Ouargla Ghardaïa, El-Oued, Tamanrasset, Illizi, Adrar, Béni-Abbès, Abadla, Tabelbala, Tindouf et Béchar et 25% du cheptel dans neuf wilaya steppiques: Biskra, Tebessa, Khenchela, Batna, Djelfa, El-Bayad, Naâma, Laghouat et M'sila (Ben Aissa, 1989).

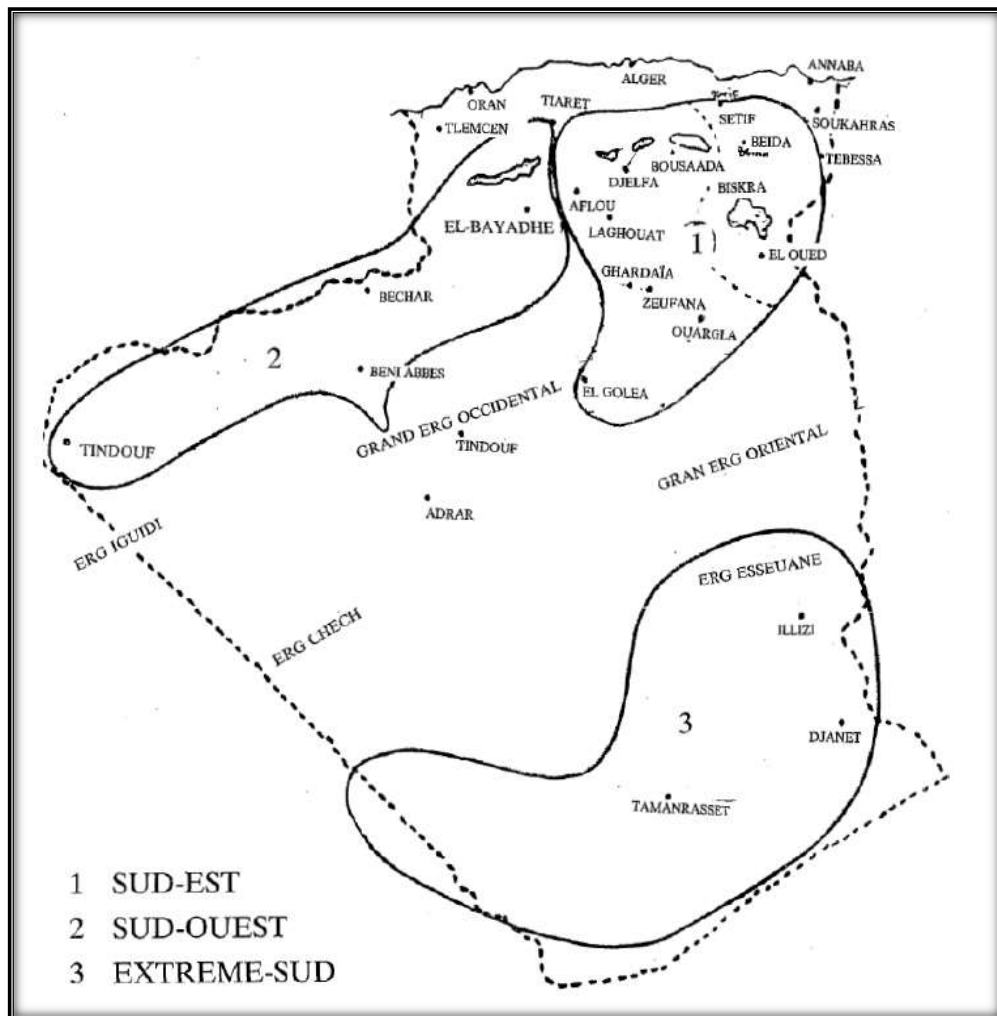


Figure 6. Aires de distribution du dromadaire en Algérie (Ben Aissa, 1989).

Les études statistiques relatives à l'effectif animal en Algérie sont citées par La FAOSTAT (2017) qui indiquent que le nombre des ovins a atteint 28 millions de têtes, les caprins 5 millions de têtes, les bovins 2,03 millions de têtes et les camelins 379094 de têtes (Tab. 1). Il a été

Synthèse bibliographique

constaté que l'effectif des animaux en 2016 a diminué de 0,3 % ; en revanche une augmentation de 4,44 % a été enregistré dans le cas des camelins. A la comparaison des effectifs entre 2001 et 2016 nous remarquons que l'effectif total et l'effectif camelins a évolué avec les mêmes proportions 37,3 % et 35,24 % respectivement.

Tableau 1. Evolution des Effectifs des bovins, camelins, caprins et ovins en Algérie de 2001 à 2016 (FAOSTAT, 2016).

Année	Type d'élevage et l'effectif				Effectif Total	Evolution des effectifs	
	Bovins	Camelins	Caprins	Ovins		% total	%camelins
2001	1613040	245490	3129400	17298788	22286718		
2002	1510770	249690	3280540	17057250	22098250	-0,853	1,68
2003	1560545	253050	3324740	17502790	22641125	2,398	1,33
2004	1613700	273140	3450580	18293030	23630450	4,187	7,36
2005	1586070	268560	3589880	18909110	24353620	2,969	-1,71
2006	1607890	286670	3754590	19885730	25534880	4,626	6,32
2007	1633810	291360	3837860	20154890	25917920	1,478	1,61
2008	1640730	295085	3751360	19946150	25633325	-1,110	1,26
2009	1682433	301118	3962120	21404584	27350255	6,278	2,00
2010	1747700	313990	4287300	22868770	29217760	6,392	4,10
2011	1790140	318755	4411020	23989330	30509245	4,233	1,49
2012	1843930	340140	4594525	25194105	31972700	4,577	6,29
2013	1909455	344015	4910700	26572980	33737150	5,230	1,13
2014	2049652	354465	5129839	27807734	35341690	4,540	2,95
2015	2149549	362265	5013950	28111773	35637537	0,830	2,15
2016	2081306	379094	4934701	28135986	35531087	-0,300	4,44

Les données publiées par la FAOSTAT (2016) indiquent que le cheptel camelin en Algérie est en évolution et augmente chaque année avec un pourcentage moyen de 3,35%. L'amélioration progressive peut être expliquée par le soutien de l'état algérien aux éleveurs de dromadaires d'un côté, et par la demande croissante du lait camelin par les habitants vu les aspects bénéfiques et thérapeutiques que possède ce lait de chamelle. En 2001 le nombre de dromadaires était 245490 têtes et en 2016 le nombre a atteint 379094 têtes ce qui correspond à une augmentation de 35,24% en quinze ans.

1.5 Les races camelines

1.5.1 Les races camelines dans le monde

Le chameau possède une biodiversité génétique, il existe de nombreuses races de chameaux dans les régions arides et semi-arides du monde. Chaque race a été développée par leur propre communauté pastorale pour leurs propres objectifs de sélection. Certaines races de chameaux ont été sélectionnés pour le travail. D'autres sont utilisés pour transport dans le désert. Aussi sont maintenant des bons animaux de course sur tous dans les pays du golfe. Certaines races ont été développées pour la production laitière dans les environnements difficiles (Raziq *et al.*, 2008). Nous présentons les races camelines les plus connues dans le monde :

Dankali (Ethiopie, Erythrée, Djibouti). C'est un animal plutôt laitier, de taille moyenne. On le rencontre principalement en Ethiopie, Erythrée et Djibouti. C'est le dromadaire des Afar. Il est utilisé principalement pour la production de lait et le bât. Sa production laitière est d'environ 1 200 l pour une lactation de 12 mois (Wardeh, 2004).

Azarghaf (Niger). C'est un dromadaire remarquable par sa robe pie. Il a les yeux vairons (un marron et un bleu). C'est un animal de grande taille (2 m au garrot chez le mâle), très résistant, utilisé comme animal de bât. Il est principalement élevé par les Touaregs de la tribu des Kel Gress. Son berceau d'origine est le sud de l'Aïr au Niger (Wardeh, 2004).

Somali (Ethiopie, Somalie, Kenya). C'est un dromadaire de très grande taille, le mâle pouvant atteindre 2,10 m au garrot et les animaux bien engraisés pouvant atteindre 900 kg. C'est un animal robuste adapté au bât. La femelle est une bonne laitière (1 800 litres en moyenne par lactation avec des maxima pouvant atteindre 2 500 litres). La viande de dromadaire Somali est appréciée sur les marchés du Proche-Orient (Wardeh, 2004).

Aftout (Maroc, Mauritanie). Le terme Aftout est un terme générique qui regroupe plusieurs types de dromadaires de la région du Sahara occidental et se caractérise par une grande variété de la couleur de robe allant de jaune clair à presque noir. Sur la photo, c'est un animal appelé « khal » du fait de sa robe noire. C'est un animal plutôt bréviligne, robuste, à la fois laitier et viandier. Il est originaire de Mauritanie (Wardeh, 2004).

Rgueïbi (Mauritanie, Maroc, Mali). C'est la seconde race présente en Mauritanie et dans le sud du Maroc. Originaire du nord de la Mauritanie, il s'est largement répandu aujourd'hui dans tout le Sahara occidental. C'est un animal d'assez grande taille (1,95 m au garrot) avec des oreilles pointues. C'est un animal bien adapté à la course mais avec un bon potentiel laitier (entre 1 200 et 1 500 litres par lactation), ce qui explique sa présence dans les élevages laitiers périurbains de Nouakchott (Wardeh, 2004).

Azawak (Niger, Mali). C'est le dromadaire de monte des Touaregs, adapté à la course. Animal à l'allure élancée, à la robe claire, il se rencontre surtout à l'ouest du Niger. Il existe de nombreux types en fonction des nuances de la robe (Wardeh, 2004).

Bikaneri (Inde). Il s'agit d'une race emblématique du Rajasthan en Inde. Animal de grande taille caractéristique par son front très marqué. Bonne laitière (1 700 l en moyenne par lactation), la chamelle Bikaneri est robuste. Les mâles et les castrés sont très utilisés pour la traction attelée (Wardeh, 2004).

Arvana (Turkménistan, Kazakhstan). Il s'agit du dromadaire le plus " septentrional " de l'aire de répartition de l'espèce. Il est d'ailleurs souvent hybridé avec le chameau de Bactriane. C'est un animal robuste, sélectionné pour la production laitière (des records de 5 000 l par lactation sont mentionnés) et le mâle peut peser plus d'une tonne (cf. les géants du Turkménistan). Son berceau d'origine est le désert du Karakoum au Turkménistan (Wardeh, 2004).

Arabi (Soudan). C'est un animal robuste, de grande taille (au moins 2 m au garrot), avec de bonnes aptitudes laitières. Il est aussi très recherché pour la course. Les effectifs de cette race sont loin d'être négligeables. C'est un animal surtout répandu dans l'est du Soudan, notamment dans le Butana (Wardeh, 2004).

L'Aïr (Niger). Répandu dans le massif montagneux de l'Aïr et sur les piémonts dans la région d'Agadez, le dromadaire de l'Aïr porte plusieurs noms (Abzin, Touareg). C'est un animal assez grand, de pelage presque toujours blanc. C'est l'animal noble par excellence, utilisé pour la selle et le bât. Les élevages laitiers autour d'Agadez se développent sur la base de cette race qui semble avoir un bon potentiel laitier (environ 1 500 litres par lactation) (Wardeh, 2004).

Jaisalmeri (Inde). Comparé au Bikaneri dont il est proche, le Jaisalmeri est plus longiligne et bien adapté au désert, mais sa productivité laitière et sa force de travail sont un peu moindres. Sa robe est en moyenne plus claire également. Il est moins répandu que le Bikaneri. Son berceau d'origine se situe autour de la ville de Jaisalmer et dans le désert de Sam. Il existe une autre race en Inde, le Kachchi, intermédiaire entre le Bikaneri et le Jaisalmeri (Wardeh, 2004).

Méhari (Algérie). C'est l'animal noble par excellence, par sa couleur, son allure, sa morphologie longiligne. C'est un animal de selle, adapté à la course et aux razzias dans le désert saharien. C'est l'animal du nomade par excellence. On le trouve dans toute la zone centrale du Sahara dans divers pays où il porte différents noms, mais son berceau d'origine reste le centre et le sud de l'Algérie (Wardeh, 2004).

Châambi (Tunisie, Algérie). Le Chaâmbi est à l'opposé du précédent : petite taille, de type médioligne, corpulent, robuste dans le transport bâti. C'est l'animal du paysan, l'auxiliaire des oasiens. Il est utilisé couramment pour les travaux agricoles, la noria. Il est apprécié pour sa

viande. On le retrouve dans toute l'Afrique du Nord mais principalement en Tunisie et l'est de l'Algérie (Wardeh, 2004).

Al-Chaelae (Arabie saoudite, Emirats Arabes Unis). C'est une race reconnaissable à sa robe marronne tirant sur le rouge. Il existe de nombreux noms de race en Arabie Saoudite et les Emirats essentiellement distinctes sur la couleur de la robe, mais il est probable comme partout ailleurs que les distances génétiques sont faibles entre ces types d'animaux. Le dromadaire Al-Chaelae est assez bon laitier et est apprécié pour le bât (Wardeh, 2004).

EL-Khawar (Emirats Arabes Unis). C'est un animal longiligne adapté à la course et élevé aussi pour son lait. Il existe des fermes laitières avec traite mécanique par exemple à Al-Ain. Les animaux destinés à la course ont une alimentation spéciale (cf. l'alimentation du dromadaire de course dans le site) pour leur permettre d'avoir des protéines de grande qualité et de l'énergie rapidement utilisable. Sa robe est claire, parfois presque blanche (Wardeh, 2004).

Almajahim (Arabie Saoudite). Animal puissant, de grande taille et d'excellente qualité laitière. Certaines femelles arrivent à produire 20 à 25 litres par jour. Cette race se reconnaît à sa robe noire, sombre et au poil ras, très lisse. Initialement utilisé pour le transport (c'est un animal de caravane), sa sélection sur son potentiel laitier en fait une race très recherchée par les producteurs de lait (Wardeh, 2004).

Majorero (Espagne : îles Canaries). La race dite Majorero est limitée aux Iles canaries (Espagne) où l'animal, introduit depuis le Sahara occidental au début du XV^{ème} siècle s'est bien adapté au climat aride des îles. Il est donc probablement très proche de la race Rguebi. Son usage est quasi-exclusivement tourné vers les activités touristiques (promenade à dos de dromadaire, méharées). Aucun usage zootechnique (production de viande ou de lait) n'est mentionné. Les effectifs sont assez faibles (quelques centaines) mais les animaux bénéficient d'un suivi vétérinaire sérieux car les exportations sont possibles vers les pays d'Europe et les USA (Wardeh, 2004).

Balouchistani blanc (Pakistan). Le dromadaire blanc du Balouchistan est une race plus ou moins en déclin du fait de sa proximité avec l'Afghanistan en guerre et de la sécheresse récurrente qui sévit dans la zone. C'est pourtant un type réputé pour la qualité gustative de sa viande et de son lait qui lui vaut d'être recherché par des éleveurs d'Iran voire du Moyen-Orient. Il y aurait aujourd'hui environ 100 000 têtes (Raziq et al., 2008).

Al-Homor (Arabie Saoudite). La race Al-Homor, comme la race Al-Majaheem a son origine en Arabie Saoudite. Elle se reconnaît à sa robe uniformément brune, un peu plus sombre chez le mâle. Moins bonne laitière, elle est cependant appréciée pour la qualité de sa viande et sa

docilité. Elle fait l'objet aussi d'un travail de sélection et est parmi les races dominantes dans le pays (Wardeh, 2004).

Al-Waddah (Arabie Saoudite). La race Al-Waddah cohabite souvent dans les mêmes troupeaux que la race Al-Homor, elle s'en distingue par sa belle robe blanche qui lui confère une notoriété sentimentale importante (à cause de la chamelle blanche du prophète décrite dans le Coran). Du reste, elle est appréciée dans les concours de beauté organisés parfois par les éleveurs saoudiens. Toutefois, elle serait moins bonne laitière que la race Al-Majaheem (Fuquay *et al.*, 2011).

1.5.2 Les races camelines Algériennes

Les différentes races camelines rencontrées en Algérie se retrouvent dans les trois pays d'Afrique du Nord (Maroc, Algérie, Tunisie); ce sont des races de selle, de bât et de traite, leur répartition est illustrée dans la (**Fig. 7**). Il s'agit des races suivantes :

La race Chaambi. Un dromadaire médialigne, musclé, c'est une race fortement croisée avec du sang de dromadaire arabe. Très bon pour le transport, moyen pour la selle. Sa répartition va du grand erg occidental au grand erg oriental. On le retrouve aussi dans le Metlili des Chaambas (Ben Aissa, 1989, Titaouine, 2006).

La race Ouled Sidi Cheikh. C'est un dromadaire adapté aussi bien à la pierre qu'au sable. C'est un animal de selle ou de bât, il est assez grand. On le trouve dans les hauts plateaux du grand erg occidental (Titaouine, 2006).

Saharaoui. C'est un dromadaire issu du croisement de Chaambi et Ouled Sidi Cheikh. C'est un excellent Méhari de troupe, son territoire va du grand erg occidental au Centre du Sahara (Titaouine, 2006).

La race Ait Khebbach. C'est un dromadaire bréviligne de taille moyenne. C'est un puissant animal de bât. On le trouve dans l'aire Sud-Ouest.

Le Chameau de la Steppe. C'est un dromadaire commun, petit bréviligne. Il est utilisé pour le nomadisme rapproché. On le trouve aux limites Sud de la steppe (Titaouine, 2006).

La race Targui ou race des Touaregs du Nord.

Les dromadaires Targuis sont des animaux habitués aussi bien aux arides escarpements du Tassili et du Massif central du Hoggar, qu'aux sables. Excellent Méhari, animal de selle par excellence souvent recherché au Sahara comme reproducteur. Réparti dans le Hoggar et le Sahara Central (Titaouine, 2006).

La race Berberi. C'est un dromadaire de forme fine, avec une arrière main bien musclée, rencontré surtout dans les zones sahariennes et telliennes. Il est très proche du Chaambi et du Ouled Sidi Cheikh (Titaouine, 2006).

Synthèse bibliographique

La race Ajjer. Dromadaire bréviligne de petite taille. Bon marcheur et porteur. Se trouve dans le Tassili d'Ajjer (Titaouine, 2006).

La race Reguibi. Ce dromadaire est réparti dans l'ouest saharien. C'est un animal d'assez grande taille, bien adapté à la course mais avec un bon potentiel laitier (entre 1 200 et 1 500 litres par lactation) (Ben Aissa, 1989 ; Titaouine M, 2006).

La race Aftouh. Il est utilisé comme un dromadaire de trait et de bât. On le trouve dans la région de Tindouf et Bechar. Le terme Aftout est un terme générique qui regroupe plusieurs types de dromadaires de la région du Sahara occidental et se caractérise par une grande variété de la couleur de robe allant de jaune clair à presque noir (Ben Aissa, 1989, Titaouine, 2006).

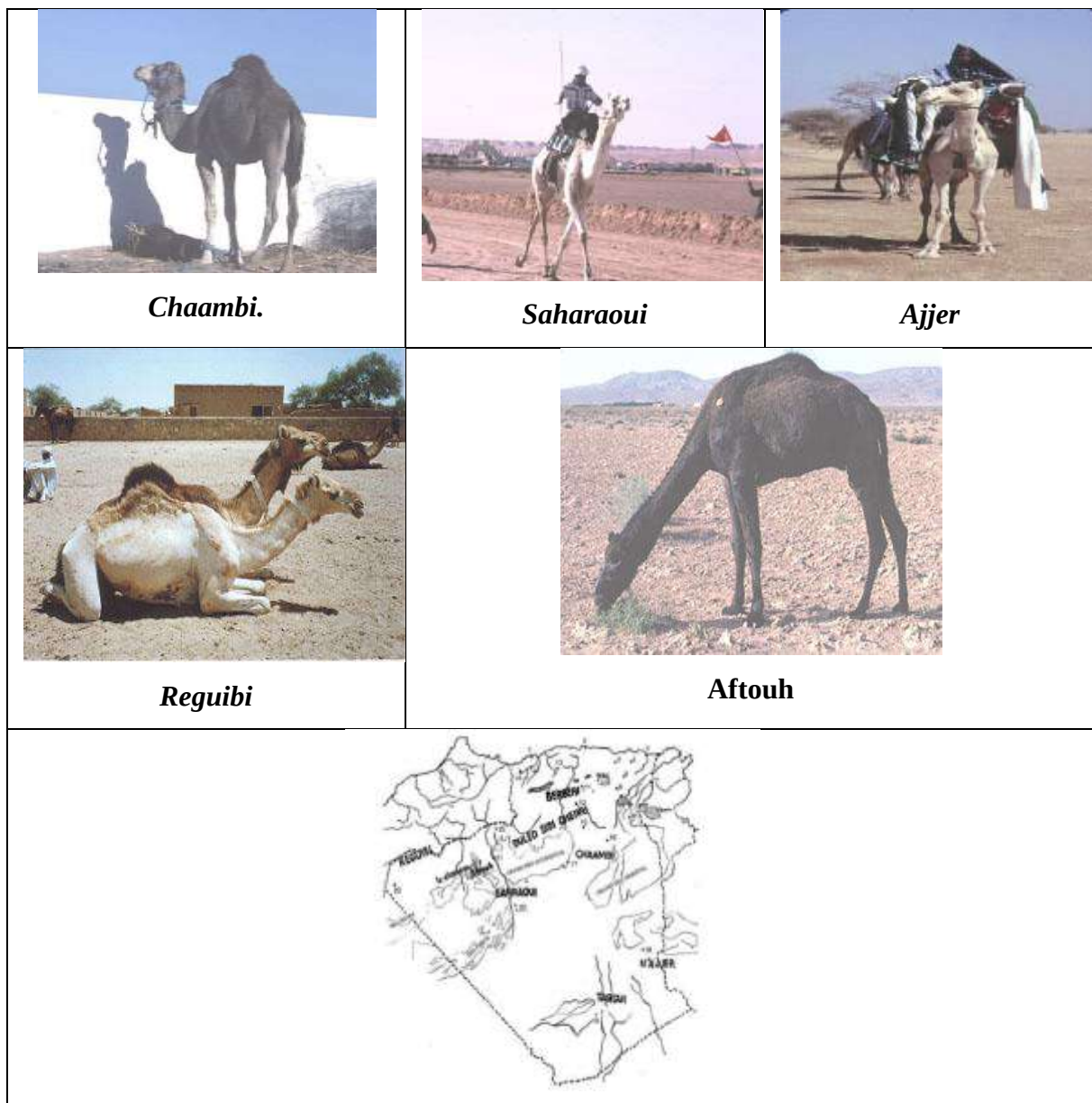


Figure 7 . Répartition des principales races de dromadaire en Algérie (Ben Aissa, 1989)

2. Le lait de dromadaire

Le lait de dromadaire depuis des temps très lointains est la principale ressource alimentaire pour les nomades qui le consomment habituellement à l'état cru ou fermenté (rarement). Il est considéré comme l'aliment de base pour une période annuelle prolongée, dans la plupart de ces zones pastorales sahariennes. Néanmoins, le lait de chamelle peut être considéré comme l'une des solutions de rechange de lait bovin avec des fonctions améliorées et une meilleure digestibilité que le lait bovin dans le système gastro-intestinal humain (Yaqoob et Nawaz, 2007, Salami *et al.*, 2009). Le lait de chamelle ne fournit pas seulement la nutrition requise pour les populations locales, mais offre également plusieurs propriétés thérapeutiques (Bai et Zhao, 2015). L'ensemble de la production de lait de chamelle a été estimé à $1,3 \times 10^6$ tonnes (Ziane *et al.*, 2016), avec un commerce mondial de 10 milliards de dollars par an. Cependant, dans le proche avenir, on s'attend à ce que les industries laitières produisent une quantité plus élevée de lait de chamelle (Al-Ashqar *et al.*, 2015). L'absence de β -lactoglobuline dans le lait de chamelle, ainsi que la présence de grandes quantités d'acides gras et de fructose, vitamine C de 3 à 5 fois supérieure à celle du lait bovin, des teneurs élevées en agents antimicrobiens tels que le lysozyme, la lactoperoxydase, la lactoferrine, l'immunoglobuline et aussi la présence de bactériocines, le lait de chamelle est considéré comme un produit nutritif à forte stabilité. Il est possible de conserver le lait de chamelle à 30 ° C pendant 5 jours, tandis que le lait bovin est contaminé après 48 h (Ahamad *et al.*, 2017).

Au cours des dernières années, le lait de dromadaire a reçu beaucoup d'attention en raison de ses propriétés thérapeutiques et devenu une nouvelle source de production de produits laitiers (Agrawal *et al.*, 2007, Tsuda et Miyamoto, 2008). En outre, le lait de chamelle a été recommandé d'être consommé pour traiter l'hydropisie, la jaunisse, la tuberculose, l'asthme, le leishmaniose viscérale (Abdelgadir *et al.*, 1998, El-Agamy *et al.*, 2009). Par conséquent, les produits de lait de dromadaire pourraient avoir un potentiel de croissance sur le marché futur de l'industrie laitière. Depuis de longues années, le lait de dromadaire est considéré comme un aliment sain utilisé dans de nombreux pays à travers le monde pour remédier à différents problèmes de santé. Il a été démontré que le lait de dromadaire fermenté présente certains avantages pour la santé, prouvés ou non, comme l'effet hypocholestérolémiant, l'activité antimicrobienne, l'activité antioxydante, l'activité inhibitrice de l'enzyme de conversion de l'angiotensine et l'activité anticancéreuse. Les espèces lactiques provenant du lait de dromadaire ont également été testées pour leur potentiel probiotique et ont montré des résultats intéressants à travers des expériences *in vitro* (Ismaili *et al.*, 2016, Konuspayeva et Faye, 2011). De nos

Synthèse bibliographique

jours, les chercheurs analysent ces propriétés dans le but d'identifier les avantages pour la santé inconnus en mettant l'accent sur les expériences in vitro, in vivo et in silico pour faire ressortir la nouveauté sur le marché et pour satisfaire les exigences des consommateurs (Solanki *et al.*, 2017, Ayyash *et al.*, 2018).

Selon le rapport de la FAOStat 2016 la production laitière de toutes espèces confondues a atteint 746,7 10⁶ tonnes en 2013, les espèces non bovines ont produit 111,1 10⁶ tonnes dont le lait camelin représente 2,61%. En 2013, la production du lait bovin a doublé ($\times 2,03$) par rapport à 1961, aussi le rapport a révélé une croissance de la production du lait non bovin qui a plus que triplé ($\times 3,64$) (Tab. 2).

Tableau 2. Production totale de lait (en tonnes) par espèce et pourcentage de lait non bovin (NCM) dans les différents continents et régions (Tsakalidou et Papadimitriou, 2016)

Région	Buffalo	Chamelle	Bovine	Caprin	Ovine	Total	NCM	%NCM
Afrique	2 614 500	2 722 814	34 120 566	4 184 887	2 250 650	45 893 417	11 772 851	25,7
Afrique est		2 237 600	13 004 052	860 655	606 730	16 709 037	3 704 985	22,17
Afrique centrale		24 600	667 015	89 000	32 460	813 075	146 060	17,96
Afrique du nord	2 614 500	85 300	14 633 402	1 929 251	1 111 000	20 373 453	5 740 051	28,17
Sud Afrique			3 717 295	4125		3 721 420	4125	0,11
Afrique d'Ouest		375 314	2 098 802	1 301 856	500 460	4 276 432	2 177 630	50,92
Amérique			185 227 147	592 500	42 095	185 861 742	634 595	0,3
Amérique du nord			99 666 528			99 666 528	00	00
Caraïbe			1 758 271	216 984		1 975 255	216 984	10,99
Amérique centrale			14 687 010	155 354		14 842 364	155 354	1,05
Amérique du sud			69 115 338	220 162	42 095	69 377 595	262 257	0,38
Asie	77 290 169	205 294	177 475 135	10 653 509	4 823 340	270 447 447	92 972 312	34,4
Est de l'Asie	3 050 000	18 564	45 750 093	382 731	1 581 226	50 782 614	5 032 521	9,91
Asie Centrale		900	17 040 768	141 331	68 429	17 251 428	210 660	1,22
Asie Sud est	349 035		4 042 571	298 938	127 560	4 818 104	775 533	16,10
Asie sud	73 794 517	8000	84 465 529	8 837 255	779 550	167 884 851	83 419 322	49,69
Asie Ouest	96 617	177 830	26 176 174	993 254	2 266 575	29 710 450	3 534 276	11,90
Europe	203 791	80	210 277 938	2 526 426	3 021 664	216 029 899	5 751 961	2,7
Europe de l'Est	8728	80	72 405 226	613 417	809 957	73 837 408	1 432 182	1,94
Europe Nord			34 971 058		27 472	34 998 530	27 472	0,08
Europe Sud	195 063		24 679 183	1 006 632	1 935 842	27 816 720	3 137 537	11,28
Europe Ouest			78 222 471	878 905	275 865	79 377 241	1 154 770	1,45
Océanie			28 475 109	50		28 475 159	50	00
Total	80 108 460	2 928 188	635 575 895	17 957 372	10 137 749	746 707 664		

Les données statistiques ont montré une augmentation significative de la production de lait camelin d'une proportion 467,74 % entre 1961 et 2013 (Tab. 3 et Fig. 8). La forte production du lait camelin est un indice significatif de la demande croissante des habitants des zones arides et semi-arides. Ces données présentées par la FAO indiquent aussi l'importance et l'intérêt remarquable porté par les producteurs et les différentes industries pour la production et la valorisation du lait camelin. Cette augmentation de production nécessite une méthode de conservation adéquate adaptée au lait camelin et à son environnement.

Malgré l'absence d'une relation claire entre l'importance des espèces laitières non bovines et la richesse d'une région, la contribution à la sécurité alimentaire est importante par ces espèces et

leur utilisation pour fournir du lait, doit être considérée non seulement pour des raisons économiques mais aussi pour des raisons culturelles.

Tableau 3. Production totale de lait (en millions de tonnes), pourcentage de la contribution des espèces et indice de 2013 comparé à l'indice 100 en 1961 pour les différents laits (FAOSTAT, 2015).

Espèces	Production mondiale de lait (en million de tonnes)		Pourcentage lait/espèces		Indice 1961-2013
	1961	2013	1961	2013	
Bovine	313,6	635,6	91,1	85,1	202,7
Buffle	17,8	80,1	5,2	10,7	448,6
Ovine	5,1	10,1	1,5	1,4	198,8
Caprine	6,9	17,9	2,0	2,4	257,6
Cameline	0,62	2,9	0,2	0,4	465,4
Totale de non bovin	30,6	111,1	8,9	14,9	363,7

2.1. Production laitière

Le lait de dromadaire est l'or blanc du désert, le dromadaire étant le meilleur des animaux domestiques adaptés aux zones arides, la production de lait de chamelle est étroitement liée à la région désertique de l'ancien monde de la Mauritanie à la Mongolie, mais avec une production prédominante dans la Corne de l'Afrique (Somalie, Soudan, Ethiopie et Kenya), où 60% de la population mondiale cameline et où 10% du lait produit est d'origine camelin (Faye et Konuspayeva, 2012, Nagy *et al.*, 2013).

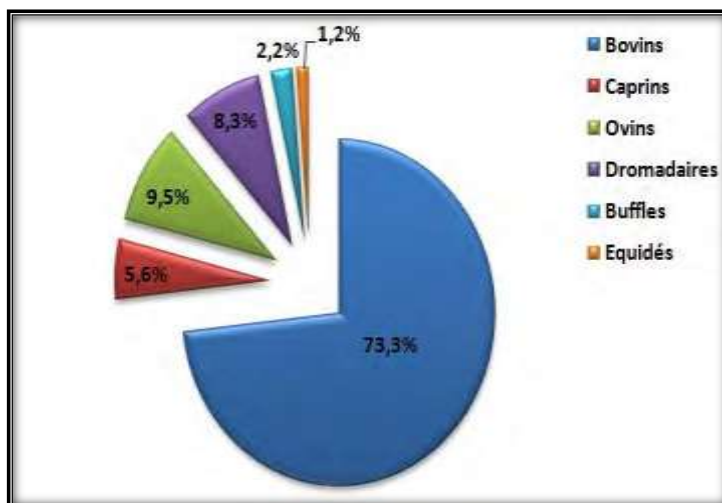


Figure 8 . Importance relative du dromadaire dans le monde arabe en 2012 (FAOSTAT, 2014)

Les camélidés produisent du lait pour une plus longue période, même pendant la saison sèche. En raison de leur performance exceptionnelle où de navigation et de l'eau sont limitées, les éleveurs comptent principalement sur les chameaux pour leur subsistance (Farah *et al.*, 2007, Seifu *et al.*, 2012).

Le lait de dromadaire est naturellement salé et mousseux. Bu frais, il est nettement plus riche en vitamine C que le lait de vache ou le lait humain (Dahl et Hjort, 1976). Les nomades le considèrent comme un aliment complet et celui qui boit du lait de chamelle ne nécessite donc pas d'autre aliment, ni solide ni même liquide : il peut se dispenser de boire de l'eau en plus. D'ailleurs, les bergers qui passent plusieurs mois dans le désert à garder les chameaux s'en nourrissent exclusivement pendant cette période.

Le nombre total de chameaux utilisés pour la production laitière, principalement *Camelus dromedarius*, est en constante augmentation, ainsi que le rapport annuel de production (Faye et Konuspayeva, 2012). Donc le dromadaire est plus nombreux que le Bactriane et représente près de 90% du genre *Camelus* (Kadim *et al.*, 2008). En 2010, environ 5,25 millions de chameaux ont produit 2,12 millions de tonnes de lait. La plus grande production mondiale de lait de chamelle se trouve dans les pays du Nord-Est d'Afrique, y compris la Somalie, l'Éthiopie et le Soudan (El-Agamy, 2006, Faye et Konuspayeva, 2012) (Tab. 4).

Les besoins algériens en lait et produits laitiers sont considérables. Avec une consommation moyenne de 110 litres de lait par habitant et par an, estimée à 115 litres en 2010, l'Algérie est le pays le plus important consommateur de lait dans le Maghreb.

Les premières études réalisées sur les capacités de production du lait de chamelle datent de la fin des années cinquante avec les travaux de Rossetti et Congiu (1955) qui marquent véritablement le point de départ du mouvement d'exploration de ce produit dont l'objectif premier était sa valorisation. Par la suite, d'autres recherches ont été réalisées sur cette production en liaison avec les populations et races inventoriées et leur biotope (Yagil, 1982, Faye et Konuspayeva, 2012).

Les résultats de ces travaux peuvent être répartis en deux principaux lots reflétant deux populations de dromadaires qui diffèrent par le type d'élevage pratiqué :

- Les dromadaires soumis à un élevage traditionnel type extensif, dont la production varie de 4 à 14 kg avec un maximum de 19 kg par femelle laitière et par jour ;
- Les dromadaires soumis à un élevage de type intensif, dont la production varie de 15 à 35 kg, avec un maximum estimé selon Field (1979), à 50 kg par chamelle et par jour.

Tableau 4. Production mondiale de lait de chamelle (tonnes/an) (FAOStat, 2008).

Pays	Production du lait (tonnes /an)	% de production
Somalie	850000	65,91
Saudi Arabie	90000	6,98
Soudan	82250	6,38
Mali	55200	4,28
Émiratie	39350	3,05
Kenya	25200	1,95
Ethiopie	23500	1,82
Tchad	22050	1,71
Mauritanie	22000	1,71
Chine	14400	1,12
Yémen	13600	1,05
Algérie	12599	0,98
Niger	10800	0,84
Qatar	9900	0,77
Djibouti	5900	0,46
Eretria	5100	0,40
Maroc	3800	0,29
Lybie	2000	0,16
Mongolie	1000	0,08
Tunisie	1000	0,08
Totale	1289649	100

La durée de la lactation en moyenne est de 14 mois, alors que la production totale par lactation est estimée à 3931 kg par chamelle en élevage extensif contre 7869 kg en élevage intensif (Yagil, 1982, Farah, 2011) (Tab. 5). Globalement, si la population mondiale de dromadaires est estimée à 20 millions de têtes dont les femelles laitières représentent 18 % avec une production moyenne de 1500 litres par an, la production mondiale en lait de chameelles serait de l'ordre de 5,4 millions de tonnes dont 55 % environ est prélevée par les chamelons (Siboukeur, 2007).

Tableau 5. La production laitière cameline de différents pays (Farah, 2011).

Pays	Moyenne de production journalière du lait (kg/j)	Durée de lactation (mois)	Rendement (kg/an)
Pakistan	10,0	16–18	5400
Inde	6,8	18	3672
Ethiopie	5,0	12–18	2700
Somalie	5,0	9–18	2700
Kenya	4,5	11–16	2116
Tunisie	4,0	9–16	1920
Algérie	3,0	9–16	1440

Tableau 6. La production du lait de chamelle dans le monde et en Algérie (en tonne de lait selon (FAOSTAT, 2014).

Année	Production mondiale	Production en Algérie	Pourcentage de la production algérienne
2003	1 812 813,10	10 700,00	0,59
2004	2 000 198,95	11 700,00	0,58
2005	1 814 828,50	11 500,00	0,63
2006	1 880 027,40	12 300,00	0,65
2007	2 520 217,80	12 500,00	0,49
2008	2 860 181,80	12 599,00	0,44
2009	2 760 339,63	12 271,00	0,44
2010	2 981 506,00	13 300,00	0,45
2011	2 920 573,00	13 500,00	0,46
2012	2 790 372,00	14 600,00	0,52
2013	2 928 188,00	15 000,00	0,51

L'évolution de la production du lait camelin en Algérie a augmenté de 10700 tonnes en 2003 à 15000 tonnes en 2013. Le rapport de cette production varie de 0,44 à 0,65 par rapport à la production mondiale du lait camelin (Tab. 6).

2.2. Caractéristiques du lait de dromadaire

Le lait est un produit naturellement périssable du fait de sa teneur élevée en eau, de son pH voisin de la neutralité et de sa composition en éléments nutritifs. Le lait referme inévitablement une microflore dont la nature et l'importance sont conditionnées par l'état sanitaire de l'animal, les conditions de traite, la température, la durée de conservation. etc. Sous des conditions rigoureuses de collecte, sa charge ne dépasse cependant pas 5.10^3 ufc/ml (Larpent, 1997).

La composition physicochimique du lait de chamelle est variable selon l'alimentation des animaux, la race, l'âge, les conditions environnementales ainsi que la période de lactation (Al-Saiady *et al.*, 2012).

Le lait de dromadaire a une couleur blanc mat, en raison notamment de la structure et de la composition de sa matière grasse, relativement pauvre en β -carotène, gout un peu salé et d'un aspect plus visqueux que le lait de vache, qui est de couleur jaunâtre. Ces caractéristiques et surtout le gout qui est parfois amer, différent selon l'alimentation des animaux et la disponibilité en eau, le pH du lait de chamelle se situe autour de 6,6 ; il est similaire à celui du lait de brebis, mais légèrement inférieur à celui du lait de vache, l'acidité doronic est de l'ordre de 15° doronic avec un point de congélation variant de -0,53 à -0,61 °C. Sa densité varie entre 0,99 et 1,03 avec une viscosité moyenne de 2,2 centpoises (Zibae *et al.*, 2015). Cette variabilité dans le goût et l'aspect physique est liée au type de fourrage ingéré ainsi qu'à la disponibilité en eau. Les principales propriétés physico-chimiques qui intéressent l'industrie laitière sont la densité, le point de congélation, l'acidité et le Ph (Sawaya *et al.*, 1984) (Tab. 7 et 8). La

Synthèse bibliographique

composition chimique globale du lait de chamelle même si elle fluctue selon les auteurs (donc selon les animaux et l'environnement considéré), montre néanmoins des teneurs importantes et équilibrées en nutriments de base (protéines, matière grasse et lactose (avec des proportions similaires à celles présentes dans le lait de vache).

Tableau 7. Composition approximative du lait de chamelle par rapport au lait d'autres espèces (Berhe *et al.*, 2017).

Espèces	Matière sèches total (%)	Matière grasse (%)	Protéine (%)	Lactose (%)	Minéraux (%)
Chamelle	12,0	3,5	3,1	4,4	0,8
Bovine	12,7	3,7	3,4	4,8	0,7
Caprine	12,3	4,5	2,9	4,1	0,8
Ovine	19,3	7,4	4,5	4,8	1,0
Human	12,2	3,8	1,0	7,0	0,2

Cependant des études ont montrées que la composition protéique du lait de chamelle est plus stable en calories que celui du lait de vache. Les teneurs en protéines et en matières grasse varient respectivement de 2,5 à 4% et de 1,1 à 4,6% (avec la fréquence élevée à des taux supérieurs à 3%), alors que la teneur en lactose fluctue entre 2,5 et 5,6%. Les concentrations élevées observées pour ce dernier nutriment expliqueraient la saveur parfois sucrée du lait de chamelle rapportée par plusieurs études (Siboukeur, 2007, Berhe *et al.*, 2017).

Tableau 8. Comparaison des paramètres physico-chimiques du lait de chamelle, chèvre, vache et humain (Mati *et al.*, 2011, Berhe *et al.*, 2017)

Constante	Vache	Chamelle	Chèvre	Humain
Energie K/H/L	705	-	600-750	690
Densité dans 20°C	1,028-1,033	0.99-1.03	1,027-1,0356	1,031
Point de congélation C°	0,520-0,55	(-0.53)-(-0.61)	0,55 – 0,583	0,530
pH 20°C	6,60-6,80	6.60-6.70	6,45-6,60	7,01
Acidité dornic °D	15 -17	15-16	14 – 18	-
Mouvement azotique à 25°C	45. 10 ⁴	-	43 – 56.10 ⁴	-

Tableau 9. Composition chimique moyenne du lait cru de chamelle et du lait de vache (El-Agamy, 2006).

Constituants	Lait camelin	Lait bovine
Matière sèche (%)	11,56	12,75
Matière grasse (%)	3,3	3,9
Protéine (%)	3,1	3,2
Lactose (%)	4,5	4,9
Eau	88,4	87,6
Minéraux (mg/100 ml)		
Ca	114	120
Mg	11	12
P	55	56
K	126	137
Na	59	51
Zn	0,59	0,4
Fe	0,29	0,03
Mn	0,005	0,003
Vitamines (mg/kg)		
Vitamine C	149	77
Thiamine	322	421
Riboflavine	169	888
Niacine	260	37
Acide Pantothénique	40	168
Vitamine B ₆	473	455
Folacine	80	100
Vitamine B ₁₂	400	1000
Vitamine A	54	48
Vitamine E	13	26
Energie (Kcal)	107	113
Cholestérol	ND	100
Acides aminés (mg/kg)		
Arginine	127	111
Histidine	99	107
Lysine	70	82
Threonine	67	87
Valine	78	93
Phenylalanine	122	108
Methionine	178	144
Leucine	100	98
Isoleucine	126	132
Tryptophane	240	280

Les principaux composants du lait de chamelle sont la sérumalbumine, l'ALA, les immunoglobulines, la lactoferrine mais pas la β -lactoglobuline. Il a été rapporté que le lactosérum du lait de chamelle contenait de plus grandes quantités de facteurs de défense tels que la lactoferrine et l'immunoglobuline que le lactosérum bovin. Les valeurs moyennes de lactoferrine et d'IgG dans le lait de chamelle cru étaient de 0,23 et 0,72 mg/ml, respectivement. La concentration de ces composants variait significativement selon la saison ; la valeur la plus élevée de lactoferrine ayant été observée au printemps, alors que l'IgG était la plus élevée en hiver (Konuspayeva, 2007). Le tableau (9) résume la composition chimique moyenne du lait cru de chamelle et du lait de vache et montre clairement une composition presque identique dans les composants comme il indique clairement une différence dans la

concentration de certains composés tels que quelques vitamines. Chez le lait de chamelle on constate une richesse en vitamine C et de niacine (El-Agamy, 2006).

2.3. Les dérivés de lait camelin

Divers produits de lait de chamelle fermentés naturellement comme le Gariss, le Chal, le Shubat, le Dhanaan, l'Airag, le Butsalgaa, l'Arkhi, le Tsagaa, le Shmen et le Yaourt sont disponibles dans différents pays comme le Turkménistan, le Kazakhstan, la Mongolie Arabie Saoudite, la Mauritanie et l'Inde. Comme la littérature sur les bienfaits du lait de chamelle fermenté est très limitée, Cette recherche a pour but de donner un bref aperçu des propriétés bio-fonctionnelles de la microflore du lait de chamelle à fermenter le lait (Abu-Taraboush *et al.*, 1998). Les propriétés bio-fonctionnelles présentées comprennent l'effet hypocholestérolémiant, antimicrobien, antioxydant, l'activité inhibitrice de l'enzyme de conversion de l'angiotensine ou l'effet antihypertenseur, l'activité contre la diarrhée, l'activité anticancéreuse, l'activité contre le tétrachlorure de carbone et la défense contre la contamination par le plomb (Solanki et Hati, 2018).

3. Les bactéries lactiques

Les aliments fermentés sont parmi les plus anciennes formes d'aliments transformés qui ont évidemment survécu dans le régime alimentaire moderne d'aujourd'hui. Ils sont produits lors de la biotransformation des matières premières en produit final par l'action de microorganismes. La grande majorité des biotransformations alimentaires repose soit sur la fermentation de l'éthanol réalisée par la levure *Saccharomyces cerevisiae*, soit sur la fermentation lactique réalisée par une large gamme de bactéries appelées bactéries lactiques (LAB) (Papadimitriou *et al.*, 2015). Si la microflore du lait bovin a fait l'objet de nombreuses études, cela est loin d'être le cas du lait camelin auquel quelques travaux seulement ont été consacrés (Larpent, 1997, Siboukeur, 2007, Merzouk *et al.*, 2013). L'une des raisons principales de cette carence est la relative absence des moyens matériels et humains (laboratoires, chercheurs...) tout près des lieux de collecte, ce qui éviterait à recourir à la congélation ou à l'utilisation d'agents antimicrobiens, comme c'est généralement le cas des études physico-chimiques.

Les LAB ont été parmi les premières bactéries à être étudiées en raison de leur implication dans les fermentations alimentaires et dans la santé humaine. Dans les premiers temps, la taxonomie des LAB reposait sur des caractéristiques morphologiques et physiologiques. La première définition technique, par Orla-Jensen (1919), a reconnu les LAB comme des Cocci ou des bâtonnets à Gram positif non sporulants et non mobiles et capables de cataboliser les sucres en

acide lactique. Ces critères de classification ont conduit à une définition large de LAB comprenant diverses bactéries.

Ce sont des bactéries Gram-positives, non-spoires formants, microaérophiles ou anaérobies qui produisent de l'acide lactique comme principal produit final de la fermentation du sucre. Les LAB sont typiquement catalase et cytochrome négatifs, fastidieux, aérotolérants et tolérants aux acides. Les genres de LAB considérés comme les plus communs sont *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Tetragenococcus*, *Carnobacterium* et *Weissella*. Même s'il a été suggéré que les LAB présentent un groupe hétérogène de bactéries et qu'une définition technique universelle n'existe peut-être pas, il a été démontré que tous les genres susmentionnés ont divergé d'un ancêtre commun. Au cours des années 1990, les progrès des techniques moléculaires ont permis une description plus élaborée de LAB (Klein *et al.*, 1998, Stiles et Holzapfel, 1997). Les LAB ont généralement une faible teneur en GC (-50 mol%), tandis que certains lactobacilles atteignent jusqu'à 57 mol% (Sun *et al.*, 2015).

Le gène de l'ARNr 16S et les phylogénies du génome entier ont révélé que les espèces du «core» LAB forment l'ordre distinct des lactobacilles dans la classe des bacilles du phylum Firmicutes (Klein *et al.*, 1998, Stiles et Holzapfel, 1997, Makarova *et al.*, 2006). Sur la base de cette observation, une approche non phylogénétique pour définir les LAB devient rapidement obsolète. Par exemple, les bifidobactéries ou certaines espèces de *Bacillus*, qui présentent certaines caractéristiques communes avec les LAB, ne sont plus incluses dans ce groupe stricto sensu. Selon la dernière revue sur la taxonomie des LAB, l'ordre des lactobacilles est composé de six familles de 38 genres et de plus de 400 espèces (Vandamme et Peeters, 2014). L'implication des LAB dans la production alimentaire est loin d'être involontaire. Les liées aux aliments font partie des très rares micro-organismes domestiqués par l'homme (Douglas et Klaenhammer, 2010, Papadimitriou *et al.*, 2015). La domestication des LAB a commencé il y a plusieurs millénaires. Au cours de cette période, les génomes des LAB ont été rationalisés par la désintégration du génome en raison de l'adaptation à des environnements alimentaires riches en nutriments (Makarova *et al.*, 2006). Ce processus d'évolution réductrice a entraîné une simplification métabolique et des souches de LAB avec de multiples auxotrophies en raison de la perte de plusieurs voies de biosynthèse. D'autre part, les événements d'acquisition de gènes ont permis le gain de propriétés technologiques importantes (Douglas et Klaenhammer, 2010). La pression sélective continue pour les produits de haute qualité exercée par l'homme a conduit au développement des starters d'aujourd'hui. Cependant, tous les LAB ne sont pas liés aux fermentations alimentaires. Même à un examen superficiel de la taxonomie, certaines travaux

sur les LAB révèle que plusieurs espèces sont commensales et pathogènes. Ce fait n'a pas toujours été reflété dans la littérature. Fréquemment, les microbiologistes alimentaires et les technologues alimentaires se sont concentrés uniquement sur les LAB utiles, laissant les agents pathogènes de LAB aux microbiologistes cliniques, et vice versa, quelle que soit la relation phylogénétique sous-jacente. Des données récentes sur la métagénomique appuient les observations précoces des LAB faisant partie des microbiomes des humains et d'autres animaux (Hammes et Hertel, 2006, Cho et Blaser, 2012). Les LAB sont connus pour participer à l'équilibre complexe de l'écosystème du microbiome, qui peut être déterminant pour la santé et la maladie. Fait intéressant, dans certains cas, ceci est obtenu par une acidification de l'environnement par les LAB d'une manière similaire à celle des fermentations alimentaires (Borges *et al.*, 2014). En plus de leurs propriétés antimicrobiennes, certaines LAB peuvent stimuler des activités particulières du système immunitaire de l'hôte, prévenir les diarrhées après un traitement antibiotique ou des infections virales, produire des vitamines *in situ* ou réduire le taux de cholestérol dans le sang (Borges *et al.*, 2014). Ainsi, plusieurs LAB sont utilisées comme bactéries probiotiques, c'est-à-dire comme "des micro-organismes vivants qui confèrent un bénéfice à la santé de l'hôte lorsqu'ils sont administrées en quantités adéquates" (FAO/WHO, 2002). Il est à noter que les souches de LAB probiotiques peuvent provenir de fermentations alimentaires ou être commensales. Néanmoins, il existe plusieurs LAB bénéfiques et opportunistes en même temps, c'est-à-dire des commensaux qui peuvent devenir virulents dans des conditions adéquates. Ces espèces se trouvent principalement dans les genres *Streptococcus* et *Enterococcus* (Fischetti, 2006). Les streptocoques du groupe A (SGA), les streptocoques du groupe B (SGB) et *Streptococcus pneumoniae* peuvent causer des infections invasives et potentiellement mortelles, tandis que *Enterococcus faecalis* et *Enterococcus faecium* sont devenus les principaux agents responsables des infections nosocomiales (Fischetti, 2006). Compte tenu de l'implication de LAB dans la production alimentaire et la santé, il n'est pas surprenant qu'ils soient parmi les micro-organismes les mieux étudiés. Au cours des 30 à 40 dernières années, la physiologie, la biochimie, la génétique et la systématique des bactéries lactiques ont fait l'objet de recherches dans de nombreux laboratoires du monde entier.

La connaissance des LAB a été révolutionnée avec l'avènement du séquençage du génome, alors que les technologies méta-omiques récemment développées permettent de suivre leur comportement dans les écosystèmes alimentaires et microbiotiques complexes.

L'utilisation des ferments lactiques pour la production de fromage et de lait caillé a été introduite en 1890 par Weigmann et Starch, après la première découverte, en 1861, par Louis Pasteur par l'implication de microorganismes vivants dans les procédés de fermentations

alimentaires, suivi par le premier isolement d'une souche pure, *Bacterium lactis*, par Lister en 1873. (Stiles et Holzapfel, 1997). Mais les premières preuves de fermentation, impliquant fort probablement des bactéries lactiques, remontent à 7000 ans avant J.-C. Elles consistent en la découverte, principalement en Egypte, en Mésopotamie et dans le bassin méditerranéen, d'ustensiles et de contenants ayant servi à la fabrication de produits laitiers fermentés. De nombreux documents et monuments historiques font référence à la production de fromage, de yaourt et de beurre (Munoz *et al.*, 2010).

La production de l'acide lactique à partir de différents substrats carbonés est le caractère commun qui fait l'unité de ce groupe bactérien en dehors de ce point commun, le groupe montre une grande diversité de caractéristiques morphologiques et physiologiques. Cela s'exprime par l'existence de nombreuses souches possédant des propriétés technologiques différentes (Desmazeaud, 1998). Les bactéries lactiques sont caractérisées par leurs capacités de fermenter le glucose en différents isomères de l'acide lactique comme produit final principal. Les LAB peuvent avoir un métabolisme homofermentaire (plus de 90% des produits de fermentation est de l'acide lactique), hétérofermentaire facultatif (production d'acide lactique ou d'acide lactique et d'acide acétique) ou hétérofermentaire strict (production d'acide lactique, d'acide acétique ou d'éthanol et de CO₂) (Vandamme *et al.*, 1996).

Historiquement, les genres *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* et *Streptococcus* ont été les premiers à être décrits (Carr *et al.*, 2002). Actuellement, les bactéries lactiques regroupent 13 genres bactériens différents : *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Lactococcus*, *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Carnobacterium*, *Oenococcus*, *Weissella*, *Aerococcus*, *Tetragenococcus* et *Vagococcus* (Vandamme *et al.*, 1996, Carr *et al.*, 2002, Axelsson *et al.*, 2004) et très récemment le nouveau genre *Convivina* (Praet *et al.*, 2015). Stiles et Holzapfel (1997) proposent une nouvelle classification des bactéries lactiques où l'on peut distinguer quatre groupes phylogénétiques principaux.

Les bactéries lactiques sont présentes dans deux phylums distincts, à savoir Firmicutes et Actinobacteria. Dans les Firmicutes, Les LAB appartiennent à l'ordre *Lactobacillales* et comprennent les genres suivants : *Aerococcus*, *Alloiococcus*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus* et *Weissella*, qui sont tous des microorganismes à faible teneur en guanine-cytosine (31-49%) (Horvath *et al.*, 2009). Le groupe de LAB dans Le phylum des actinobactéries comprend seulement les espèces du genre *Bifidobacterium* (Tab 10).

Synthèse bibliographique

Tableau 10 Classification des grands groupes des bactéries lactiques (Stiles et Holzapfel, 1997, Carr *et al.*, 2002).

Famille	Formes	Catalase	Nitrate réductase	Fermentation	Genres bactériens
<i>Betabacterium</i>	Bacille	-	-	Hétérofermentaire	<i>Lactobacillus</i> <i>Weissella</i>
<i>Thermobacterium</i>	Bacille	-	-	Homofermentaire	<i>Lactobacillus</i>
<i>Streptobacterium</i>	Bacille	-	-	Homofermentaire	<i>Lactobacillus</i> <i>Carnobacterium</i> <i>Streptococcus</i>
<i>Streptococcus</i>	Coque	-	-	Homofermentaire	<i>Enterococcus</i> <i>Lactococcus</i> <i>Vagococcus</i> <i>Leuconostoc</i>
<i>Betacoccus</i>	Coque	-	-	Hétérofermentaire	<i>Oenococcus</i> <i>Weissella</i>
<i>Tetracoccus</i>	Coque	+	+	Homofermentaire	<i>Pediococcus</i> <i>Tetragenococcus</i>
<i>Bifidobacteria</i>	polyomorphe	-	-	Homofermentaire	<i>Bifidobacterium</i>

Les bactéries lactiques sont constituées d'un groupe hétérogène de bactéries Gram-positives avec un métabolisme strictement fermentatif dont l'acide lactique est le métabolite clé. L'habitat naturel de ces organismes comprend les humains, les animaux et les plantes. Leur longue histoire d'utilisation assurée, communément appelé statut GRAS (*Generally Recognized As Safe*), combiné à une variété de caractéristiques métaboliques intéressantes, a conduit à un large éventail d'applications industrielles. L'activité acidifiante, l'amélioration de la saveur et la texture, la production des substances antimicrobiennes permettent la préservation et la conservation de nombreux aliments fermentés tels que le fromage, le yaourt, les saucisses, les pains à la pâte souder et l'ensilage (Holzapfel *et al.*, 2001). Sont établis par l'utilisation d'espèces appartenant à sept genres clés de LAB: *Lactobacillus* (lait, viande, légumes, céréales), *Lactococcus* (lait), *Leuconostoc* (lait, Légumes), *Pediococcus* (légumes, viande), *Oenococcus* (vin), *Enterococcus* (lait) et *Streptococcus* (lait) (Klaenhammer *et al.*, 2002). Bien que phylogénétiquement n'appartiennent pas aux bactéries lactiques, les genres *Bifidobacterium*, *Propionibacterium* et *Brevibacterium* sont utilisés dans l'industrie alimentaire, car certaines souches de ces genres présentent des propriétés similaires aux bactéries lactiques (Fig. 9). En outre, en raison de leurs bénéfices potentiels pour la santé, les stratégies de certaines espèces de bactéries lactiques sont actuellement utilisées comme probiotiques (Fuller, 1989). Les évolutions récentes des techniques biochimiques et biotechnologiques ont également conduit à l'utilisation des bactéries lactiques dans la production de polymères et d'enzymes (Klaenhammer *et al.*, 2002).

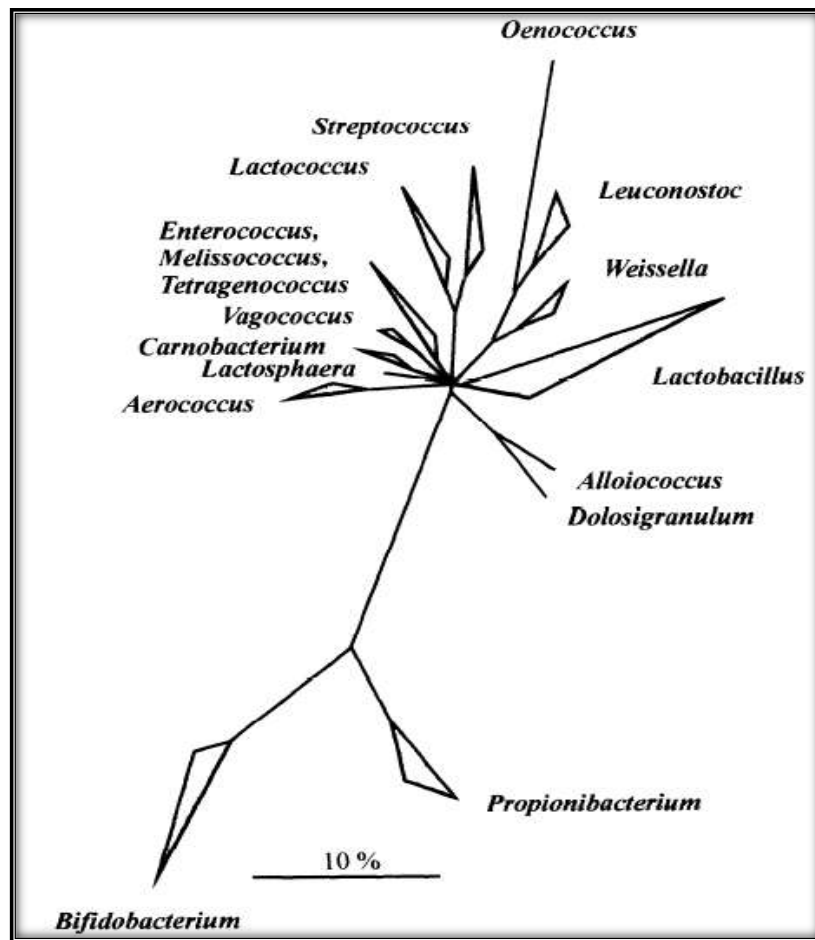


Figure 9. Distances phylogénétiques entre les principaux genres constituant le groupe des bactéries lactiques basées sur les séquences des ARNr 16S (Stiles et Holzapfel, 1997)

Un domaine de recherche qui a reçu beaucoup d'attention au début est la physiologie du stress de LAB. Comme tous les autres micro-organismes, les LAB sont exposées à des conditions stressantes, mais l'étude des réponses au stress des différentes catégories de LAB est importante pour différentes raisons. Un aspect clé des LAB de démarrage est sa robustesse pendant la production et le stockage des aliments fermentés. La vulnérabilité des starters aux obstacles technologiques peut influencer le processus de fermentation en soi, ce qui peut avoir de graves répercussions sur la qualité et la salubrité des aliments. De même, les LAB doivent être capables de résister aux contraintes technologiques pendant la préparation des formules probiotiques pour maintenir des comptes viables élevés. Après la consommation, les LAB probiotique doit survivre aux conditions difficiles dans le tractus gastro-intestinal . Les LAB commensales doit s'adapter aux diverses conditions prévalant dans les différentes niches de l'hôte, tandis que le LAB pathogène doit contrer l'immunité innée de l'hôte. Les LAB ont également émergé comme modèles pour l'étude de la physiologie du stress bactérien. Les séquences du génome disponibles indiquent que les LAB sont dépourvues d'un facteur sigma de stress dédié, tel que le gène *sigB*, présent chez *Bacillus subtilis* et de nombreuses autres bactéries Gram-positives

apparentées (Elsholz *et al.*, 2010, Franz *et al.*, 2011). Ceci est une différence majeure avec des implications importantes pour la régulation des gènes dans des conditions de stress. La dernière revue sur la physiologie globale du stress de LAB a été publiée par (van de Guchte *et al.*, 2002). De nombreuses applications des bactéries lactiques et notamment les lactobacilles dans le domaine des probiotiques sont proposées : traitement de l'intolérance au lactose, prévention et réduction de la durée des diarrhées à *Rotavirus* chez l'enfant, diminution du cholestérol, régulation du transit intestinal, rééquilibrage de la flore intestinale après un antibiothérapie ou une infection par un pathogène et traitement des maladies inflammatoires du tube digestif (Stiles et Holzapfel, 1997).

3.1. Les bactéries lactiques du lait de chamelle

Les premiers rapports scientifiques indiquaient que la composante bactérienne de la microflore des produits laitiers de chamelle fermentés traditionnels était dominée par des espèces de bactéries lactiques appartenant à plusieurs genres différents. Ces dernières années, et afin d'améliorer la fermentation traditionnelle spontanée et de développer des levains appropriés pour une production alimentaire plus sûre, de nombreuses espèces de bactéries lactiques ont été isolées et identifiées à partir du lait de 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 (11) présente la majorité des espèces dominantes de 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).

Traditionnellement, le lait fermenté de chamelle est utilisé comme agent thérapeutique pour de nombreux problèmes de santé à travers le monde. Le lait fermenté de chamelle contient des peptides bioactifs, possède de nombreux avantages multifonctionnels pour la santé qui sont déterminés par des études *in vitro*. Cependant, plusieurs études *in vivo* prometteuses doivent être réalisées pour évaluer les avantages du lait fermenté de chamelle. Les espèces lactiques isolées de lait de chamelle possèdent un fort potentiel technologique et thérapeutique et qui sont considérées comme des levains probiotiques. Une validation supplémentaire est nécessaire à travers des études approfondies *in vivo* (Solanki et Hati, 2018).

Tableau 11. Les bactéries lactiques isolées du lait cru de chamelle et les produits fermentés.

Sources et espèces	Référence
Lait du dromadaire Algérie	
<i>E. durans</i> , <i>E. faecalis</i> , <i>E. faecium</i> , <i>Lb. paracasei</i> Subsp. <i>paracasei</i> , <i>Lb. plantarum</i> , <i>Lb. rhamnosus</i> , <i>Lc. lactis</i> Subsp. <i>lactis</i> , <i>Lc. lactis</i> Subsp. <i>lactis</i> biovar <i>diacetylactis</i> <i>Leu. mesenteroides</i> Subsp. <i>mesenteroides</i> , <i>Leu. mesenteroides</i> Subsp. <i>dextranicum</i> <i>Leu. mesenteroides</i> Subsp. <i>cremoris</i> , <i>Leu. Lactis</i>	(Saidi <i>et al.</i> , 2005), (Hassaine <i>et al.</i> , 2007), (Drici <i>et al.</i> , 2010), (Boumehira <i>et al.</i> , 2011), (Marroki <i>et al.</i> , 2011), (Zarour <i>et al.</i> , 2012), (Rahli <i>et al.</i> , 2013) (Merzouk <i>et al.</i> , 2013) (Benmechernene <i>et al.</i> , 2013) (Zergui <i>et al.</i> , 2014), (Bellil <i>et al.</i> , 2014), (Zarour <i>et al.</i> , 2017)
Shmen (Beurre traditionnel du lait camelin Algerie)	
<i>E. faecium</i> , <i>Lb. delbrueckii</i> Subsp. <i>bulgaricus</i> , <i>Lb. plantarum</i> , <i>Lb. paracasei</i> Subsp. <i>paracasei</i> , <i>Lc. lactis</i> Subsp. <i>cremoris</i> , <i>Lc. lactis</i> Subsp. <i>lactis</i> biovar <i>diacetylactis</i> , <i>Leu. gelidum</i> , <i>Leu. Pseudomesenteroides</i>	(Mourad et Nour-Eddine, 2006))
Lait dromadaire Maroc	
<i>E. casseliflavus</i> , <i>E. faecalis</i> , <i>E. faecium</i> , <i>P. acidilactici</i> , <i>P. damnosus</i> , <i>P. halophilus</i> , <i>P. paravulus</i> , <i>P. pentosaceus</i> , <i>Strep. bovis</i> , <i>Strep. salivarius</i> , <i>Strep. salivarius</i> Subsp. <i>thermophilus</i> , <i>Lb. amylophilus</i> , <i>Lb. brevis</i> , <i>Lb. casei</i> Subsp. <i>casei</i> , <i>Lb. casei</i> Subsp. <i>rhamnosus</i> , <i>Lb. delbrueckii</i> Subsp. <i>bulgaricus</i> , <i>Lb. delbrueckii</i> Subsp. <i>delbrueckii</i> , <i>Lb. delbrueckii</i> Subsp. <i>lactis</i> , <i>Lb. helveticus</i> , <i>Lb. paracasei</i> Subsp. <i>tolerans</i> , <i>Lb. plantarum</i> , <i>Lc. garviae</i> , <i>Lc. lactis</i> Subsp. <i>cremoris</i> , <i>Lc. lactis</i> Subsp. <i>lactis</i> , <i>Lc. lactis</i> Subsp. <i>lactis</i> biovar <i>diacetylactis</i> , <i>Lc. raffinolactis</i> , <i>Leu. lactis</i> , <i>Leu. mesenteroides</i> Subsp. <i>cremoris</i> , <i>Leu. mesenteroides</i> Subsp. <i>dextranicum</i> , <i>Leu. mesenteroides</i> Subsp. <i>mesenteroides</i>	(Benkerroum <i>et al.</i> , 2003), (Khedid <i>et al.</i> , 2009)
Fromage et lait de dromadaire Inde	
<i>Lb. casei</i> , <i>Lb. delbrueckii</i> Subsp. <i>bulgaricus</i> , <i>Lb. fermentum</i> , <i>Lb. plantarum</i>	(Nanda <i>et al.</i> , 2011)
Gariss (Lait fermenté de dromadaire Soudan)	
<i>E. faecium</i> , <i>Strep. bovis</i> , <i>Strep. infantarius</i> Subsp. <i>infantarius</i> , <i>Lb. animalis</i> , <i>Lb. brevis</i> , <i>Lb. divergens</i> , <i>Lb. fermentum</i> , <i>Lb. gasseri</i> , <i>Lb. helveticus</i> , <i>Lb. paracasei</i> Subsp. <i>paracasei</i> , <i>Lb. plantarum</i> , <i>Lb. rhamnosus</i> , <i>Lactobacillus</i> sp., <i>Lc. alimentarium</i> , <i>Lc. lactis</i> , <i>Lc. Raffinolactis</i>	(Sulienman <i>et al.</i> , 2006), (Abdelgadir <i>et al.</i> , 2008), (Ashmaig <i>et al.</i> , 2009)
Hogormag (Lait fermenté de bactrianne Chine)	
<i>E. faecium</i> , <i>Lb. acidophilus</i> , <i>Lb. bavaricus</i> , <i>Lb. casei</i> , <i>Lb. helveticus</i> , <i>Lb. plantarum</i> , <i>Lc. Subsp. cremoris</i> , <i>Leu. lactis</i>	(Shuangquan et Miyamoto, 2004)
Shubat (Lait fermenté du lait de chamelle bactrian Chine)	
<i>E. faecalis</i> , <i>E. faecium</i> , <i>Lb. brevis</i> , <i>Lb. helveticus</i> , <i>Lb. sakei</i> , <i>Leu. lactis</i> , <i>W. helleca</i>	(Rahman <i>et al.</i> , 2009)
Suusac (Lait fermenté du dromadaire Kenya)	
<i>Lb. curvatus</i> , <i>Lb. plantarum</i> , <i>Lb. salivarius</i> , <i>Lc. raffinolactis</i> , <i>Leu. mesenteroides</i> Subsp. <i>mesenteroides</i>	(Lore <i>et al.</i> , 2005)
Tarag (Yaourt a base du lait de chamelle bactrian Mongolie)	
<i>E. faecium</i> , <i>P. paravulus</i> , <i>Lb. casei</i> , <i>Lb. delbrueckii</i> Subsp. <i>bulgaricus</i> , <i>Lb. fermentum</i> , <i>Lb. helveticus</i> , <i>Lb. kefiranofaciens</i> , <i>Lb. kefir</i> , <i>Lb. paracasei</i> Subsp. <i>paracasei</i> , <i>Lb. paracasei</i> Subsp. <i>tolerans</i> , <i>Lb. pentosus</i> , <i>Lb. plantarum</i> , <i>Lc. lactis</i> Subsp. <i>lactis</i> , <i>Leu. citreum</i> , <i>Leu. Mesenteroides</i>	(Watanabe <i>et al.</i> , 2008) (Takeda <i>et al.</i> , 2011)
<i>E</i> , <i>Enterococcus</i> ; <i>Lb</i> , <i>Lactobacillus</i> ; <i>Lc</i> , <i>Lactococcus</i> ; <i>Leu</i> , <i>Leuconostoc</i> ; <i>P</i> , <i>Pediococcus</i> ; <i>Strep</i> , <i>Streptococcus</i> ; <i>W</i> , <i>Weissella</i> .	

3.2. Ecologie des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques sont considérées comme les bactéries les plus importantes en ce qui concerne la fermentation alimentaire et les applications pharmaceutiques et diététiques spéciales. Les bactéries lactiques sont présentes dans divers habitats partout où des substrats glucidiques sont disponibles. Les souches les plus couramment utilisées de différentes espèces de LAB dans les aliments, y compris les genres *Aerococcus*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Streptococcus* et *Bifidobacterium* sont mises à jour et décrites sur la taxonomie et la description basées sur les caractéristiques physiologiques et biochimiques.

Différentes espèces de bactéries lactiques se sont adaptées pour se développer dans des conditions environnementales très différentes et elles se sont répandues dans la nature. Ils se trouvent couramment dans le tractus gastro-intestinal de divers animaux endothermiques, souris, rats, porcs, volailles et humains (Tannock et Archibald, 1984, Finegold *et al.*, 1983, Tannock, 1988), dans le lait et les produits laitiers (Vinderola *et al.*, 2002), produits de la mer (Françoise, 2010) et sur certaines surfaces végétales (Keddie, 1959). Elles sont généralement utilisées dans la production et la conservation des produits alimentaires comme le fromage, la choucroute, la viande, le yaourt et dans l'ensilage (O'sullivan *et al.*, 2002). En comparaison avec la richesse des informations disponibles sur les bactéries lactiques chez les animaux endothermiques, ces études ont démontré que les bactéries lactiques font partie du microbiote intestinal normal chez les mammifères (Fuller et Gibson, 1997).

La diversité des LAB dans différents aliments fermentés traditionnels (en particulier le lait de chamelle) est examinée dans ce travail. Plus précisément, la biodiversité des bactéries lactiques dans le lait camelin est examinée en détail dans cette thèse. Les bactéries lactiques par leur biodiversité sont largement utilisées dans l'industrie agroalimentaire et colonisent plusieurs écosystèmes. L'exploration d'autres environnements a permis la détection de nouvelles souches possédant des caractères d'intérêt industrielles et pharmaceutiques ; elles sont portées dans le tableau (12).

Les produits dérivés issu d'une fermentation traditionnelle connaissent depuis quelques années un développement considérable grâce à l'intérêt que trouvent les consommateurs sur le plan organoleptique et nutritionnel. Pour cela, plusieurs études ont été élaborées pour étudier la biodiversité de ces bactéries lactiques impliquées dans ce processus de fermentation de ces produits ainsi que pour isoler et caractériser les microorganismes responsables de la typicité et l'originalité de ces produits traditionnels (Tab. 12). Praet *et al.* (2015), ont pu identifier trois

Synthèse bibliographique

nouvelles bactéries lactiques sous le nom de *Convivina intestini* gen. nov., sp. nov., *Lactobacillus bombicola* sp. nov., et *Weissella bombi* sp. nov.

Tableau 12. Nouvelles souches de bactéries lactiques décrites récemment de différents écosystèmes.

Espèce/Souche	Origine d'isolement	Référence
<i>Lactobacillus silaginicola</i> sp. nov. <i>Lactobacillus pentosiphilus</i> sp. nov.	Ensilage	(Tohno et al., 2017)
<i>Lactobacillus plantarum</i> , <i>Weissella cibaria</i> , <i>Lactobacillus casei</i>	Moutarde fermenté	(Chang et al., 2015)
<i>Pediococcus pentosaceus</i> , <i>Enterococcus faecium</i> , <i>Enterococcus faecalis</i> , <i>Weissella cibaria</i> , <i>Lactobacillus sakei</i> Subsp. <i>carneus</i> , <i>L. sakei</i> Subsp. <i>sakei</i> , <i>Lactobacillus curvatus</i> Subsp. <i>curvatus</i> , <i>Leuconostoc mesenteroides</i> Subsp. <i>cremoris</i>	Poisson, Produits de pêche, Fruits de mer	(Gómez-Sala et al., 2015)
<i>Convivina intestini</i> gen. nov., <i>Lactobacillus bombicola</i> sp. nov., <i>Weissella bombi</i> sp. nov., <i>Lactobacillus apis</i> , <i>Weissella hellenica</i> , <i>Leuconostoc mesenteroides</i> Subsp. <i>mesenteroides</i>	Abeille	(Praet et al., 2015)
<i>Lactobacillus apinorum</i> sp. nov., <i>Lactobacillus mellifer</i> sp. nov., <i>Lactobacillus mellis</i> sp. nov., <i>Lactobacillus melliventris</i> sp. nov., <i>Lactobacillus kimbladii</i> sp. nov., <i>Lactobacillus helsingborgensis</i> sp. nov. and <i>Lactobacillus kullabergensis</i> sp. nov.,	Abeille	(Olofsson et al., 2014)
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> strain LOCK900	Selle humaine	(Aleksandrak-Piekarczyk et al., 2013)
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> ATCC 8530	Tractus gastro-intestinal humain	(Pittet et al., 2012)
<i>Pediococcus pentosaceus</i> Strain SL4	Kimchi	(Dantoft et al., 2013)
<i>Lactococcus lactis</i> Subsp. <i>cremoris</i> Mast36	Végétale	(Plumed-Ferrer et al., 2015)
<i>Lactococcus lactis</i> SO	Produit lactière	(Zhao et al., 2015)
<i>Lactococcus lactis</i> Subsp. <i>lactis</i> KLDS 4.0325	Koumiss	(Yang et al., 2013)
<i>Leuconostoc mesenteroides</i> Subsp. <i>mesenteroides</i> J18	Kimchi	(Jung et al., 2012)
<i>Lactobacillus casei</i> ATCC 334	Yaourt	(Van de Guchte et al., 2006)
<i>Pediococcus pentosaceus</i> ATCC 25745	Fromage	(Makarova et al., 2006)
<i>Lactobacillus helveticus</i> DPC 4571	Fromage	(Callanan et al., 2008)

4. Les ferments lactiques

Les levains lactiques sont des cultures en croissance active de bactéries lactiques (LAB) pour conduire le processus de fermentation. Au début, seuls des levains artisanaux ont été utilisés. Bien qu'ils soient encore utilisés dans certains cas, leur instabilité microbiologique a favorisé une évolution vers des mélanges de bactéries lactiques plus définis afin d'obtenir une activité acidifiante plus stable et une meilleure qualité des produits. Cependant, les starters artisanaux sont de précieuses sources de nouvelles souches à usage commercial. Aujourd'hui, les cultures multi ou mono-souche sont largement utilisées dans le monde pour produire des fromages, des laits fermentés et du beurre crème. Les levains lactiques sont classés selon leurs rôles dans la fermentation : les souches acidifiantes (production uniquement de l'acide lactique), souches aromatisantes (productrices de diacétyle, acétoïne), souches texturantes (productrices de CO₂ et des exo-polysaccharides), souches protectrices (productrices de substances antimicrobiennes). Ils sont commercialisés sous forme de concentrés cellulaires congelés et lyophilisés, et d'amorces d'inoculation directe par cuve, à utiliser directement dans les cuves. Etant donné que la sensibilité aux phages des cultures lactiques constitue un élément critique lorsque les starters sont sélectionnés pour un usage industriel, de nombreuses stratégies ont été développées, parmi lesquelles l'obtention de mutants insensibles aux phages où le transfert conjugal de plasmides de résistance a été appliqué. Les starters de démarrage, utilisés à d'autres fins que la formation d'acide, sont l'objet de cultures de maturation ou de protection pour améliorer les caractéristiques organoleptiques des fromages ou réaliser une activité antimicrobienne spécifique, respectivement. Certaines bactéries lactiques à caractère probiotiques, tels que *Lactobacillus casei/paracasei*, *Lactobacillus plantarum* et *Lactobacillus acidophilus*, ont démontré une activité de démarrage, de sorte qu'ils peuvent être reconnus comme des "starters probiotiques" (Liu *et al.*, 2014).

La recherche fondamentale et appliquée est encore nécessaire pour améliorer les levains dans la technologie de production existante et pour obtenir des données quantitatives qui peuvent fournir des informations précieuses sur la relation entre l'environnement et la fonctionnalité bactérienne, contribuant ainsi à la sélection optimale des souches (Liu *et al.*, 2014). Le développement récent de la technologie des puces à ADN et de la génomique comparative permettra une analyse plus complète du génome pour une meilleure sélection des souches pour des usages spécifiques (Liu *et al.*, 2014).

Les cultures starters de LAB peuvent générer un environnement bactériostatique, voire bactéricide, pour la destruction des bactéries pathogènes en abaissant le pH de la matrice alimentaire au cours de la fermentation lactique. La fermentation de LAB combinée à des obstacles technologiques appropriés conduit à des produits alimentaires sûrs avec une durée de conservation prolongée. Les LAB jouent également un rôle important dans le développement des propriétés organoleptiques du produit. Par leurs activités métaboliques (par exemple, la lipolyse et la protéolyse), les LAB produisent des composés aromatiques importants peuvent également contribuer à la texture (par exemple, par la production d'exopolysaccharides

4.1. Cultures spécialisées de LAB

La recherche de souches ayant des propriétés intéressantes à utiliser comme nouvelles levains spécialisés peut conduire à un processus de fermentation modernisé et à une amélioration de la qualité du produit final. À cet égard, l'utilisation de cultures de LAB spécialisées avec des caractéristiques élargies est prometteuse dans la technologie laitière. Selon la fonction spécifique à accomplir, des cultures des LAB spécialisées peuvent appartenir soit au starter primaire (par exemple, les starters résistants aux phages) (Cogan et Accolas, 1996) soit à une culture secondaire (cette dernière étant également définie comme "*starter adjuncts*") (Liu *et al.*, 2014) ou les culture non starter (cette dernière étant également définie comme des cultures de maturation)(Settanni et Moschetti, 2010).

4.2. Cultures protectrices

Les cultures protectrices sont des adjuvants de démarrage présentant une activité antimicrobienne spécifique contre les bactéries pathogènes ou d'altération. Les LAB produisent plusieurs substances antimicrobiennes naturelles, y compris les acides organiques, le dioxyde de carbone, le peroxyde d'hydrogène, diacétyle, l'éthanol et les protéines antimicrobiennes (ou bactériocines) et pour cette raison, ils peuvent aider à lutter contre la contamination microbienne. Les levains LAB et NSLAB peuvent être utilisées comme cultures protectrices. Leur application dans le fromage dépendra des micro-organismes cibles, du type de produit et du spectre d'activité de l'antimicrobien produit (Liu *et al.*, 2014).

4.3. Cultures de maturation.

L'importance de la culture de maturation pour la qualité du fromage est controversée: même si certains auteurs ont avancé qu'ils sont responsables de la plupart des défauts de qualité du fromage (Herreros *et al.*, 2007, Rynne *et al.*, 2007), d'autres chercheurs ont signalé que les cultures de maturation développent ou même qu'ils peuvent influencer positivement la

protéolyse secondaire et l'arôme (Hynes *et al.*, 2003, Di Cagno *et al.*, 2006, Irigoyen *et al.*, 2007). De plus, l'adjonction de culture de maturation peut supprimer la croissance de microbiote adventice indésirable et empêcher ainsi l'apparition de défauts (Banks et Williams, 2004). Des cultures de maturation complémentaires isolées au fromage ont donc été proposées comme cultures de maturation, en fonction de leur contribution à la protéolyse secondaire et à la formation de saveur chez Cheddar (McSweeney *et al.*, 1994), Danbo (Antonsson *et al.*, 2003), Manchego (Poveda *et al.*, 2003), et le fromage Armada (Herreros *et al.*, 2007) entre autres, mais les indications semblent plutôt controversées.

4.4. Probiotique et Santé - Promouvoir les cultures

Le concept de « probiotique » a évolué depuis le début vers une notion réelle, simple et directe : les microorganismes vivants qui, lorsqu'ils sont administrés en quantités adéquates, confèrent un bienfait sanitaire à l'hôte (FAO/WHO, 2002). Par conséquent, une grande variété de genres et d'espèces pourraient être considérés comme des probiotiques potentiels même si, commercialement, les souches les plus importantes sont les lactobacilles et les bifobactéries (Vasiljevic et Shah, 2008). Un certain nombre d'avantages pour la santé ont été attribués aux produits contenant des probiotiques: réduction de l'intolérance au lactose, prévention et réduction des symptômes du rotavirus et de la diarrhée associée aux antibiotiques, traitement et prévention des allergies, réduction du risque de mutagénicité et de cancérogénicité, hypocholestérolémie effet, l'inhibition de *Helicobacter pylori* et des agents pathogènes intestinaux, la prévention des maladies inflammatoires de l'intestin, et la stimulation du système immunitaire(Vasiljevic et Shah, 2008).

Lors de la sélection des levains, une capacité fiable de formation d'acide est l'une des caractéristiques les plus importantes à prendre en considération. Cependant, pour un dépistage attentif des probiotiques, ce critère devrait être lié à l'impact sur la santé et le bien-être humains. Les probiotiques sont souvent inappropriés en tant que starters car l'environnement du tractus gastro-intestinal (l'ambiance habituelle des probiotiques) est assez différent de celui d'une matrice alimentaire. Afin d'améliorer l'aptitude de l'aliment comme substrat pour les probiotiques, des sources d'énergie (par exemple le glucose), des facteurs de croissance (par exemple, extrait de levure et hydrolysats de protéines) ou des antioxydants, minéraux ou vitamines appropriées peuvent être ajoutés. De plus, plusieurs aspects technologiques, y compris de bonnes propriétés sensorielles, la résistance aux phages, la viabilité durant le traitement et la stabilité du produit et du stockage, doivent être pris en compte lors de l'utilisation de souches probiotiques (Mattila-Sandholm *et al.*, 2002). Dans ce contexte, (Zarour

et al., 2018) ont étudié une espèce de *Ln. mesenteroides* isolée de lait de dromadaire d'Algérie qui possède la capacité et les aspects technologiques d'une souche probiotique.

5. Tendances futures et considérations finales

Étant donné que le lait cru et les cultures naturelles contiennent des souches de LAB essentielles pour produire les caractéristiques souhaitées des produits alimentaires, l'étude de leur microbiote reste un sujet majeur pour mieux comprendre les propriétés métaboliques et physiologiques de ces levains. La sélection de souche cible avec les caractères souhaités à partir de cet immense réservoir de LAB par des méthodes traditionnelles, entraîne une tâche difficile et lourde. À cet égard, l'analyse du génome entier à l'aide d'outils bio-informatiques devrait élargir la connaissance sur les voies métaboliques et les mécanismes dans différents LAB. La bio-informatique pourrait être utilisée pour rechercher dans les génomes des gènes, des groupes de gènes ou des fonctionnalités spécifiques en vue de la disponibilité de séquences génomiques de plusieurs LAB (Klaenhammer *et al.*, 2005). L'analyse des séquences par outils bio-informatiques peut être utilisée pour rechercher dans les génomes des composants essentiels impliqués dans la maturation du fromage, comme les protéases, peptidases, aminotransférases, enzymes pour la biosynthèse des acides aminés, et les systèmes de transport pour les peptides et les acides aminés (van Kranenburg *et al.*, 2002). Avec le développement récent de la technologie des puces à ADN et de la génomique comparative, de vastes collections de souches seraient rapidement et efficacement triées en fonction de la présence de certains caractères désirés. La sélection de nouvelles souches de départ à valeur ajoutée serait ainsi grandement facilitée (Liu *et al.*, 2014). La métagénomique et les méthodes de criblage à haut débit (Analyse GC - MS des profils de saveur des liquides de fermentation) permettent la sélection ciblée, par exemple, de cultures aromatisantes en fermentation laitière. La recherche appliquée est encore nécessaire pour améliorer les cultures de levain dans la technologie de production existante et pour obtenir des données quantitatives qui peuvent fournir des informations précieuses sur la relation entre l'environnement et la composition des produits et la fonctionnalité bactérienne, contribuant ainsi à la sélection optimale des souches, de la qualité, de la sécurité et de l'acceptabilité des produits laitiers fermentés traditionnels et industriels.

6. Méthodes d'étude des bactéries lactiques

Au cours de la dernière décennie, la communauté scientifique a accordé une attention particulière à l'identification correcte des bactéries utilisées pour la consommation humaine (Hamilton-Miller *et al.*, 1999), et une large gamme de techniques d'identification sont disponibles, toutes affichant des différences dans le pouvoir discriminatoire et la

reproductibilité. Un problème qui altère toutes les fermentations (industrielles) est la contamination du processus par des bactéries inconnues (environnementales), ce qui entraîne la perte des métabolites du produit final, des propriétés organoleptiques, de la fonctionnalité et/ou de la composition (bactérienne) du produit.

En raison de leurs propriétés fermentatives souhaitées, les bactéries lactiques (LAB) sont l'un des groupes bactériens les plus importants dans l'industrie alimentaire. La précision d'identification des espèces de bactéries lactiques a une importance primordiale du point de vue technologique, écologique et de sécurité alimentaire. Dans ce paragraphe on va essayer de fournir un aperçu sur les bactéries lactiques ainsi que sur les techniques phénotypiques et génotypiques qui sont actuellement utilisées pour l'identification par les méthodes de culture-dépendante et de culture-indépendante pour les bactéries lactiques. En particulier, le potentiel d'identification directe de la technique d'électrophorèse sur gel en gradient dénaturant de la culture (DGGE) est mis en évidence (Lee *et al.*, 2018). Des approches des cultures indépendantes ont été utilisées de plus en plus pour déterminer la composition des communautés microbiennes complexes. Ces procédures ont permis la caractérisation simultanée d'écosystèmes entiers et l'identification de nombreuses espèces à partir de ces sources (Quigley *et al.*, 2011). Il existe une grande quantité d'informations détenues dans les génomes de micro-organismes non cultivables de manière conventionnelle et les techniques de métagénomique sont l'une des technologies clés actuellement utilisées pour accéder à ce potentiel et l'étudier. Ces techniques ont détecté toutes les espèces communément cultivées, ainsi que certains micro-organismes non détectés auparavant. Ces dernières années, le pyroséquençage a été de plus en plus utilisée pour étudier la diversité et la dynamique des populations bactériennes d'un grain de kéfir et de ses produits fermentés (Dobson *et al.*, 2011, Leite *et al.*, 2012) et d'autres aliments fermentés (Humblot et Guyot, 2009, Park *et al.*, 2012, Elizaquível *et al.*, 2015, Guzzon *et al.*, 2017, Oh et Kim, 2018)

Des stratégies d'approches pour mesurer la diversité et l'évolution du microbiote des produits laitiers sont disponibles. La première est une caractérisation microbiologique conventionnelle encore utile pour l'isolement et l'identification des bactéries présentes dans les divers échantillons à l'étude.

Les méthodes dites culture-dépendante souffrent toutefois de lacunes comme la difficulté de détecter la présence de bactéries qui ont subi des stress et qui ont perdu leur capacité d'être cultivées. Une approche polyphasique combinant les techniques microbiologiques

conventionnelles aux techniques dites culture-indépendantes sont en mesure d'aider à dresser un portrait plus précis du microbiote (Temmerman *et al.*, 2004a).

Une vaste panoplie de méthodes moléculaires est disponible que ce soit des méthodes de profilage et de quantification des principales espèces retrouvées dans les produits laitiers par PCR quantitative (qPCR). À l'heure actuelle, ces méthodes sont en voie de remplacement par celles de métagénomique, méta-protéomique et la méta-peptidomique, capables d'une analyse plus approfondie de la diversité du microbiote des systèmes alimentaires. L'estimation de la prévalence et de la diversité du microbiote d'échantillons de lait sera effectuée par analyse métagénomique (Zaheer *et al.*, 2018).

L'approche classique de la taxonomie des bactéries lactiques a toujours été basée sur les caractéristiques morphologiques et physiologiques. Cette identification a été élargie pour inclure des marqueurs chimiotaxonomiques (acides gras cellulaires), analyse des protéines totales de la cellule et autres caractéristiques de la cellule (Holzapfel *et al.*, 2001, Temmerman *et al.*, 2003). Une identification fiable est dépendante de l'information génétique. Les méthodes génotypiques telles que le séquençage de l'ADNr 16S, ribotypage, Random Amplified polymorphic DNA (RAPD), rep-PCR fingerprinting, Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP), électrophorèse en champ pulsé (PFGE) de l'ensemble de l'ADN chromosomique digéré constituent aujourd'hui une partie importante de la taxonomie moderne des bactéries lactiques (Holzapfel *et al.*, 2001, Temmerman *et al.*, 2003).

Un aperçu général des techniques les plus importantes utilisées pour la classification et l'identification des bactéries lactiques est donné ci-dessous.

6.1. Méthodes phénotypiques

Les méthodes phénotypiques sont toujours utilisées dans les laboratoires de microbiologie alimentaire appliquée. Différents tests clés ont été largement adoptés, et de nos jours, les caractérisations morphologiques (Fig. 10) ainsi que les méthodes physiologiques, métaboliques, biochimiques et chimiotaxonomiques sont pratiquées.

Des tests physiologiques simples, tels que la croissance à différentes températures, la tolérance aux acides et au sel ainsi que la production de gaz sont utiles pour la différenciation des genres (Temmerman *et al.*, 2004b). Parmi les méthodes biochimiques utilisées, les micro-méthodes ont connu un développement important, avec la commercialisation de systèmes d'identification associant, pour un groupe bactérien donné, une galerie miniaturisée de tests biochimiques, et des documents ou des programmes informatiques permettant d'interpréter les résultats obtenus.

La première galerie biochimique miniaturisée destinée à l'identification des bactéries lactiques a été la galerie API (Analytic Programme Index) 50 CHL, commercialisée en 1970 par la société française 'biomerieux' pour l'étude des souches du genre *Lactobacillus*, puis rapidement étendue à d'autres genres (*Leuconostoc* et *Lactococcus*). Cette technique nécessite une durée d'incubation plus ou moins longue (12 heures à 48 heures) mais exige l'emploi d'un inoculum

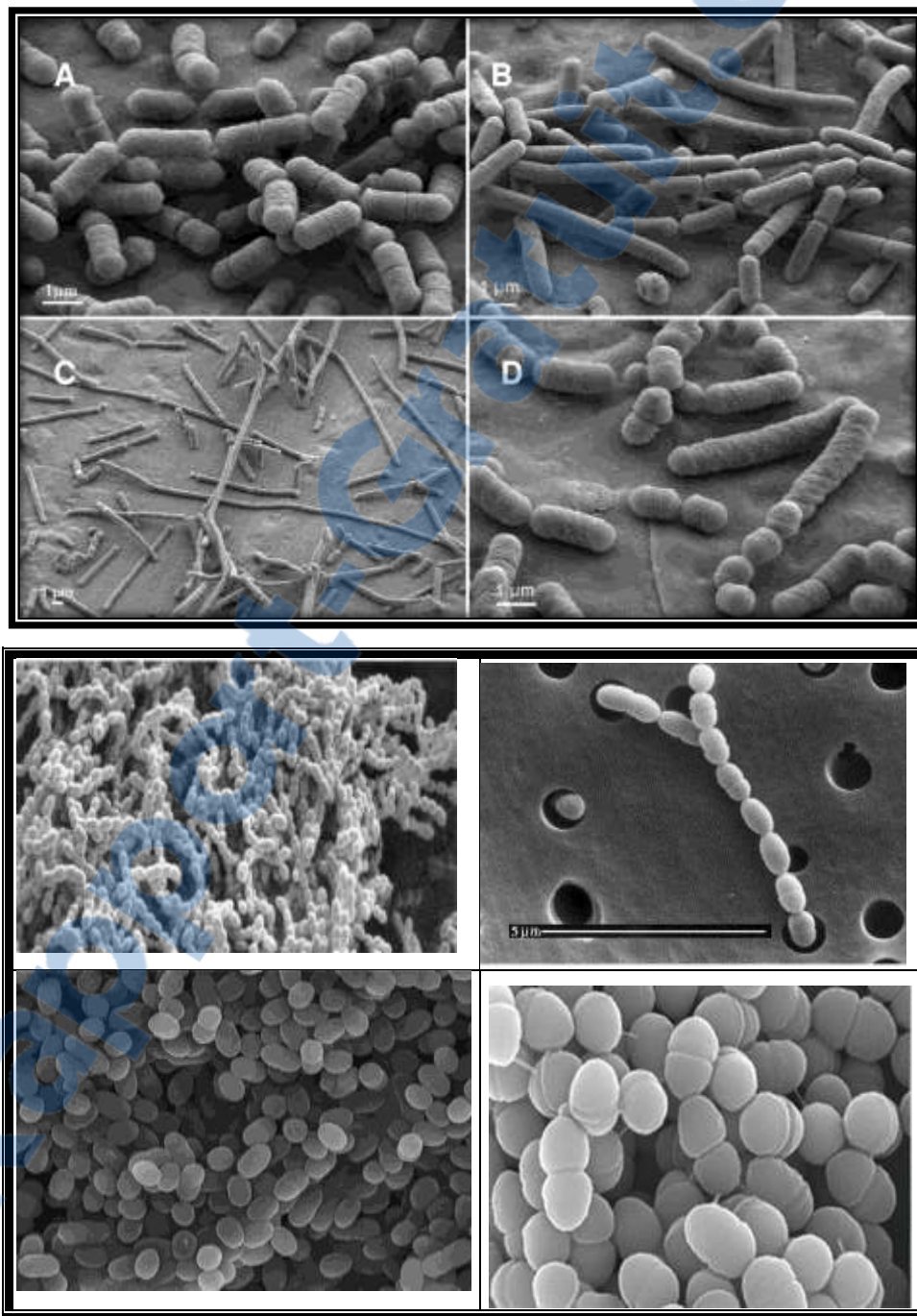


Figure 10. Morphologies cellulaires et mode d'association des bactéries lactiques observées au microscope électronique à balayage (Neve *et al.*, 2003, Limonet *et al.*, 2004, Chiaramonte *et al.*, 2009, Nomura *et al.*, 2009)

6.2. Analyse sérologique

Pour les bactéries lactiques, l'analyse sérologique est basée sur la méthode de Lancefield, par l'utilisation de polysaccharides de l'enveloppe cellulaire en tant qu'antigène (Knox et Wicken, 1976). Les techniques sérologiques dépendent des antigènes qui sont de nature chimique. Bien que le sérotypage ait été largement utilisé dans le passé pour l'identification des bactéries lactiques, son utilisation est devenue très rare à l'exception de l'identification des souches de streptocoques à intérêt médical (König et Fröhlich, 2017).

6.3. Méthode génotypique

Ce paragraphe donne un aperçu sur les techniques les plus utilisées pour les méthodes de culture-dépendante et de culture-indépendante pour l'identification phénotypique ou génotypique des bactéries lactiques.

L'identification dépendante de la culture bactérienne, bien que la plupart des applications industrielles et les effets probiotiques sur la santé de LAB dépendent des caractéristiques spécifiques d'une souche particulière, il n'est pas toujours nécessaire d'identifier les bactéries jusqu'au niveau de la déformation. Un équilibre optimal doit être trouvé entre la résolution taxonomique souhaitée d'une certaine application et la charge de travail, la vitesse et le coût du travail impliqués. En général, les méthodes phénotypiques sont moins chères par rapport aux méthodes génotypiques, ce qui a stimulé l'utilisation populaire de systèmes d'identification miniaturisés disponibles dans le commerce tels que les systèmes API (BioMérieux) ou le système BIOLOG. Bien que l'application des techniques phénotypiques se soit révélée utile pour certaines bactéries lactiques, il est généralement observé que des phénotypes similaires sont affichés par souche ne correspondent pas toujours à des génotypes similaires ou même étroitement liés. Par conséquent, il y a eu une évolution vers l'utilisation de méthodes de caractérisation génotypique afin de fournir une classification et une différenciation plus nettes (McCartney, 2002). Les faiblesses supplémentaires des méthodes phénotypiques incluent une reproductibilité insuffisante, l'ambiguïté de certaines techniques (souvent causées par des conditions de croissance complexes), une vaste expérience de la recherche à grande échelle et le faible pouvoir de différenciation. Cependant, les techniques de caractérisation génotypique ne sont pas sans limites (coût, équipement, base de données) et une approche polyphasique ou combinée est préférée. Le tableau (13) énumère un certain nombre de techniques d'identification fréquemment appliquées qui sont examinées plus en détail dans les paragraphes suivants.

Les techniques basées sur l'analyse de l'ADN permettent une meilleure différenciation des micro-organismes à différents niveaux, allant du genre jusqu'à la souche en fonction des méthodes utilisées. En général, elles ont l'avantage sur les méthodes d'identification phénotypique de ne pas être influencé par les conditions de culture. Les méthodes de typage des souches deviennent de plus en plus importantes dans l'étude des bactéries lactiques dont on peut dénombrer les méthodes suivantes :

7. Rappel sur les techniques d'identification moléculaires des microorganismes

7.1. Polymorphisme de conformation des simples brins (SSCP)

Le polymorphisme de conformation des simples brins (SSCP) simple est basé sur l'analyse directe des gènes de l'ARNr 16S après amplification par réaction en chaîne par polymérase (PCR), la séparation se fait dans une électrophorèse non-dénaturante et l'analyse se fait en utilisant le logiciel Genescan. Le logiciel Genescan analyse la conformation à un seul brin de tout fragment de gène ou d'ADNr pour générer un profil spécifique à ce brin particulier. La méthode SSCP a été utilisée pour distinguer et classer la diversité bactérienne dans le lait cru (Verdier-Metz *et al.*, 2009). La méthode SSCP est avantageuse car elle est rapide, simple et rentable (Saubusse *et al.*, 2007). En outre, elle a été jugée hautement reproductible, plus distinctive que RFLP et moins distinctive que l'AFLP et le séquençage de l'ADN (Olivares-Fuster *et al.*, 2007). Le RFLP couplé à l'analyse SSCP est une technique plus simple avec un pouvoir de différenciation par rapport à l'AFLP ou au séquençage de l'ADN (Olivares-Fuster *et al.*, 2007). L'inconvénient de cette technique réside dans le fait qu'il n'existe actuellement aucun modèle théorique pour prédire la conformation exacte d'un fragment d'ADN sous différents paramètres tels que la mutation, la taille du fragment d'ADN, la teneur en G et C, la porosité du gel, la concentration d'ADN, la force ionique et le pH. En outre, la complexité et la variabilité de la stabilité entre les différents pics d'un échantillon de lait a un autre ont été observées (Verdier-Metz *et al.*, 2009). Cependant, la standardisation des paramètres analytiques peut conduire à la reproductibilité des résultats ainsi qu'à la détection de bactéries spécifiques.

7.2. Analyse des courbes de fusion à haute résolution (HRMA)

L'analyse des courbes de fusion à haute résolution (HRMA) des fragments d'ADN est une technique simple, flexible, peu coûteuse et facile à utiliser avec une spécificité élevée utilisée dans le dépistage des variantes de bactéries par analyse de la courbe de fusion des fragments d'ADN après amplification par PCR (Vossen *et al.*, 2009). L'HRMA a été utilisée comme une approche rapide pour identifier les bactéries aérobies dominantes mésophiles et thermophiles

dans des produits laitiers variés en analysant les régions variables V3 et V6 dans le 16S ADNr et pour correspondre au profil de fusion avec celui de bactéries de référence connues (Chauhan *et al.*, 2013). L'avantage de l'analyse HRMA est qu'elle peut détecter des petits changements dans un fragment ou une séquence d'ADN, ce qui la rend appropriée pour discerner les variations entre les espèces de bactéries (Thomsen *et al.*, 2012). En outre, l'analyse HRMA s'est révélée hautement reproductible, avec un pouvoir de différenciation similaire à celui de l'AFLP (Naze *et al.*, 2010). L'inconvénient de cette technique est qu'il est possible pour différents gènes d'hétérozygote de produire des courbes de fusion qui sont similaires dans une situation où l'homologie génétique dans les segments d'ADN est analysée. Il est conseillé d'utiliser des gènes de ménage «HouseKeeping Gene» pour l'analyse de la fonction HRMA (Chauhan *et al.*, 2013).

7.3. PCR répétitive extragénique palindromique (rep-PCR)

La PCR répétitive extragénique palindromique (rep-PCR) est une technique de typage moléculaire basée sur la conception d'amorces à des séquences d'ADN répétitives spécifiques à une espèce particulière de bactéries. Les amorces REP telles que REP1R-I (5'-III ICG ICG ICA TCI GGC-3') et REP2-I (5'-III CGN CGN CAT CN GGC-3') ont été utilisées pour distinguer seize souches de bactéries lactiques isolées de différents milieux (Gevers *et al.*, 2001). Différentes empreintes digitales ont été obtenues pour 37 isolats de *Leuconostoc mesenteroides* montrant des profils distinctifs obtenus par la technique de rep-PCR (Kaur *et al.*, 2017). L'un des avantages de REP est qu'elle peut facilement être adaptée à une configuration semi-automatisée basée sur un kit dans lequel une puce microfluidique peut être utilisée pour le fractionnement et la détection des amplicons d'ADN. En outre, cette technique est rapide et reproductible et peut distinguer entre les souches de bactéries apparentées. Elle est peu coûteuse et facile à utiliser et peut générer des résultats en temps réel (Ross *et al.*, 2005). La REP-PCR a été jugée moins distinctive par rapport au PFGE, ce qui la rend appropriée pour le dépistage initial des espèces de bactéries (Ross *et al.*, 2005). En outre, on a constaté qu'elle avait un potentiel de différenciation similaire comparativement à l'analyse RAPD avec 3 à 4 amorces, mais elle est plus distinctive que la DGGE (Jeršek *et al.*, 1996, Anderson *et al.*, 2010). L'inconvénient de REP-PCR réside dans l'expertise requise pour effectuer des analyses (Ross *et al.*, 2005).

7.4. L'Amplification aléatoire d'ADN polymorphe (RAPD)

L'Amplification aléatoire d'ADN polymorphe (RAPD) est une technique à base de PCR qui sert à distinguer les différenciations intra et interspécifiques des bactéries associées aux aliments dans des conditions contrôlées. L'identification de nouveaux isolats utilisant cette

technique peut se faire en comparant son empreinte RAPD avec une base de données des empreintes RAPD (Rossetti et Giraffa, 2005). Dans cette technique, l'ADN génomique à partir d'isolats est utilisé comme matrice pour une analyse PCR par utilisation d'une amorce appropriée telle que l'amorce M13 avec la séquence 5' - GAGGGTGGCGGTTCT-3' suite à un protocole optimisé comme celui utilisé pour différencier et identifier les (LAB) isolées à partir de produits laitiers (Rossetti et Giraffa, 2005). En 2016, La RAPD-PCR a été réalisée pour distinguer les différents profils des bactéries lactiques isolées de lait d'âne et a aussi permis de distinguer les différents biotypes (Soto del Rio *et al.*, 2016). La précision de l'identification des espèces par la technique RAPD peut être améliorée par la combinaison avec d'autres types de méthodes génotypiques telles que RFLP (Yang *et al.*, 2011).

Les avantages de RAPD incluent sa pertinence d'analyser les génomes anonymes, l'efficacité, le faible coût et la rapidité et elle nécessite moins d'expertise dans la conduite de l'analyse (Hadrys *et al.*, 1992). En fonction de la facilité d'utilisation, du coût, du travail technique, de la vitesse et de la quantité d'ADN nécessaires, la technique RAPD est très préférée dans les études de profils sur RFLP.

Cependant, en fonction du degré de polymorphisme, de la précision des estimations de la distance génétique et du pouvoir statistique du test, il existe des différences négligeables entre les deux. L'inconvénient de cette méthode est la mauvaise reproductibilité des empreintes digitales et qu'elle nécessite une stricte normalisation des conditions de PCR compte tenu du fait que l'utilisation de différentes concentrations d'ADN. Les polymérases, les modèles d'ADN et les rapports d'amorces ou les températures requises peuvent entraîner des différences dans les résultats finaux (Garcia *et al.*, 2004).

7.5. Polymorphisme de longueur des fragments de restriction (RFLP)

Le polymorphisme de longueur des fragments de restriction (RFLP) implique l'amplification d'un segment d'ADN avec des amorces suivies d'une digestion du segment amplifié avec des enzymes de restriction suivi par une analyse électrophorèse sur gel. L'amplification et la restriction du gène 16S ADN de 171 souches de bactéries lactiques avec AluI, HaeIII, BsmI, TspRI et HinfI ont été utilisées pour distinguer les espèces de *Lactobacillus* (Yu *et al.*, 2009). RFLP est avantageux en étant un outil moléculaire rapide, simple et précis pour le profilage et l'identification de la population (Marty *et al.*, 2012). Cette technique peut être utilisée pour détecter le polymorphisme nucléotidique unique (SNP), et l'analyse des gènes codant pour la protéine de *Lactobacillus delbrueckii* par RFLP s'est révélée être un outil efficace pour

distinguer des sous-populations de souches étroitement liées dans *L. delbrueckii* (Giraffa *et al.*, 2003, Ota *et al.*, 2009). Comme beaucoup d'autres techniques d'empreintes digitales, RFLP a un pouvoir de différenciation inférieur et son utilisation est plus coûteuse par rapport à RAPD (Smith *et al.*, 2002). Le typage de *Salmonella gallinarum* a également indiqué que RFLP a une bonne répétabilité (Taddele *et al.*, 2011). L'analyse de restriction d'ADN ribosomique amplifiée (ARDRA) est une technique RFLP qui implique l'amplification et la restriction des gènes d'ADNr 16S. Les fragments de gènes de 16S ADNr de souches représentant des motifs spécifiques ont été utilisés pour le profil des espèces de bactéries (Collado et Hernández, 2007).

7.6. Polymorphisme de longueur de fragments de restriction terminaux (T-RFLP)

Le polymorphisme de longueur de fragments de restriction terminaux (T-RFLP) est une extension de RFLP, et dans cette technique, l'extrémité (5') d'une ou des deux amorces utilisées pour amplifier un segment de gène d'intérêt est marquée avec un colorant fluorescent tel que le « fluorescein amidite » (6-FAM) (Liu *et al.*, 1997). Le produit de PCR généré peut être restreint avec une ou plusieurs enzymes de restriction de choix et le fragment séparé en utilisant un séquenceur d'ADN comme dans RFLP. La taille des différents fragments terminaux avec le colorant fluorescent est déterminée à l'aide d'un détecteur de fluorescence. On a montré que la T-RFLP était sensible dans l'analyse de la composition de microbiote intestinal en amplifiant des gènes d'ARNr 16S en utilisant des amorces universelles marquées ENV1 (5'-6-FAM-AGA GTT TGA TII TGG CTC AG -3', *E. coli* n° 8 -27) et ENV 2 (5'-CGG ITA CCT TGT TAC GAC TT-3') (Sjöberg *et al.*, 2013). La plupart des avantages et des limites de cette technique sont similaires à ceux de RFLP. Cependant, cette technique présente l'avantage unique d'être capable de donner les quantités relatives de flore bactérienne d'un échantillon contenant différentes bactéries et convient pour le profilage d'une culture de bactéries mixtes sans culture préalable (Yu *et al.*, 2009). En outre, plus la quantité d'enzyme de restriction utilisée est grande, meilleure est la résolution des profils microbiens (Liu *et al.*, 1997).

7.7. Polymorphisme de longueur de fragment amplifié (AFLP)

L'analyse de polymorphisme à longueur de fragment amplifié (AFLP) est une technique d'empreinte génétique à base de PCR consistant à digérer l'ADN génomique avec des enzymes de restriction suivies d'une ligature à des adaptateurs à double brin pour créer des fragments avec les mêmes adaptateurs. Les amorces spécifiques aux adaptateurs sont ensuite utilisées pour amplifier des fragments individuels, qui sont ensuite analysés par électrophorèse (Fry *et al.*, 2009). L'avantage de cette méthode réside dans son pouvoir de différenciation et on a constaté

qu'il y avait un pouvoir de différenciation plus élevé par rapport à RAPD-PCR dans une étude menée sur des isolats de *L. plantarum* et *Streptococcus thermophiles* (Lazzi *et al.*, 2009, Di Cagno *et al.*, 2010). Le marqueur FAFLP (Fluorescent Amplified Fragment Length Polymorphisms) pour *L. brevis* a été utilisé pour concevoir des amorces oligonucléotidiques pour un test de PCR spécifique à l'espèce *L. brevis*, ciblant un fragment de 125 pb du gène codant pour l'aldo/ketoréductase de la famille des dicétogulonates-réductases (Fusco *et al.*, 2016). En outre, l'analyse AFLP peut être complétée dans les 24 heures et est moins susceptible de produire des résultats incohérents, contrairement à l'analyse PFGE qui nécessite souvent 3 à 4 jours pour compléter et qui est plus susceptible de générer des résultats non concluants en raison de la dégradation de l'ADN (Klaassen *et al.*, 2002). L'inconvénient de cette méthode réside dans sa variation de précision de la taille des fragments, ce qui conduit à une reproductibilité sous-optimale (Fry *et al.*, 2009).

7.8. Electrophorèse en gel à gradient dénaturé (DGGE)

L'électrophorèse en gel à gradient dénaturé (DGGE) est une technique dans laquelle des fragments d'ADN sont comparés avec l'Id d'un tampon dénaturant tel que l'urée et le formamide pendant l'électrophorèse. Les amortisseurs utilisés dans DGGE sont conçus pour s'assurer qu'une pince GC, à un domaine à haut point de fusion, est insérée dans le produit amplifié avant la séparation du gel (El Sheikha *et al.*, 2012). Les amorces universelles du gène ARN 16S peuvent être utilisées pour amplifier le segment de toute bactérie avant l'analyse DGGE. Cette technique a été utilisée pour évaluer la diversité des bactéries thermophiles dans une zone géographique particulière (Delgado *et al.*, 2013). Le principal avantage de DGGE par rapport à d'autres techniques de profilage et qu'il y est possible d'exciser la bande de gel pour l'amplification et le séquençage (El Sheikha *et al.*, 2012) et qu'elle est robuste et précieuse en tant que test de première ligne (Tardy *et al.*, 2009). Le principal inconvénient de DGGE réside dans le fait que différentes séquences d'ADN de différentes espèces de bactéries peuvent afficher la même séparation que le résultat du même contenu GC (Duarte *et al.*, 2012).

En outre, il existe une possibilité que l'hétérogénéité intraspécifique et intra-isolée dans le génome des bactéries puisse entraîner la production de différents modèles de bande pour la même espèce (Nakatsu *et al.*, 2000). La DGGE a été jugée moins distinctive que PFGE et RAPD dans une étude impliquant le sous-typage (Nielsen *et al.*, 2000).

7.9. Électrophorèse sur gel à effet pulsé (PFGE)

L'électrophorèse sur gel de champ pulsé (PFGE) est une technique d'empreinte digitale par laquelle de grands fragments de molécules d'ADN sont séparés en appliquant un champ électrique qui change de direction périodiquement dans une matrice de gel. À l'instar de REP-PCR, la méthode PFGE a été jugée distinctive entre les sous-types de *E. coli* O157: H7 bien qu'il soit plus long et inutile si le sous-typage n'est pas nécessaire (Hahm *et al.*, 2003). Cette technique est similaire mais plus distinctive que DGGE et a été utilisée pour établir la diversité microbienne des bactéries lactiques ainsi que la prévalence de *Salmonella* spp. En utilisant des filtres à lait dans un sous-ensemble de troupeaux laitiers commerciaux producteurs de lait dans la région sud de l'Irlande (Murphy *et al.*, 2008). En outre, PFGE a été jugée plus distinctive que l'AFLP dans une étude réalisée sur *Streptococcus pneumoniae* (Ross *et al.*, 2005). RAPD et PFGE ont montré des pouvoirs de différenciation dans une étude menée sur *Clostridium difficile* (Fawley *et Wilcox*, 2002). Le principal désavantage de PFGE est de fournir jusqu'à 3 à 4 jours requis pour compléter le long protocole PFGE, et elle a de fortes chances de produire des résultats non concluants par rapport à AFLP (Klaassen *et al.*, 2002).

7.10. Les puces d'ADN

Le microarray d'ADN ou puces d'ADN est une technique dans laquelle plusieurs milliers de sondes d'ADN immobilisées en surface sont utilisées comme outils d'identification de microbes dans un seul essai d'hybridation (Fukushima *et al.*, 2003). Le microarray d'ADN a été utilisé pour détecter *Listeria monocytogenes* et le distinguer des autres *Listeria* spp. Ainsi que d'autres agents pathogènes alimentaires dans le lait (Bang *et al.*, 2013). L'avantage du microarray d'ADN est qu'il est rapide et sensible, et un protocole peut être utilisé pour identifier différentes bactéries ciblées simultanément sur un seul tableau (Lin *et al.*, 2006). Les inconvénients majeurs de cette technique sont dus au fait que l'intensité du signal faible due à une pénétration insuffisante et un contact incorrect de la sonde avec des segments d'ADN réduits et l'évanouissement des fluorochromes lors de l'excitation peuvent conduire à une analyse inexacte (Moter et Göbel, 2000). En outre, la variabilité peut se produire dans la détection d'une cellule bactérienne ciblée à la suite de facteurs méthodologiques ainsi que d'une variation systématique entre les principaux types d'écosystèmes et la physiologie cellulaire (Bouvier et Del Giorgio, 2003).

7.11. PCR en temps réel (RT-PCR)

La PCR en temps réel (RT) est une technique quantitative dans laquelle les chimies de détection telles que la sonde TaqMan et SYBR Green sont utilisées pour quantifier les bactéries. L'utilisation de SYBRGreen et d'une sonde FAM (6- carboxy-fluorescéine) -labelle dTaqMan spécifique à *Enterobacter sakazakii* a été utilisée pour détecter *E. sakazakii* dans les préparations pour nourrissons et pour quantifier les spores de *C. tyrobutyricum* dans les produits laitiers (Liu *et al.*, 2006, López-Enríquez *et al.*, 2007). En plus des avantages inhérents à la PCR, l'avantage de la RT PCR réside dans le fait qu'il est plus rapide que la PCR conventionnelle et peut détecter et quantifier l'ADN bactérien dans le même réacteur en temps réel (Espy *et al.*, 2006).

7.12. Le profil plasmidique

Du fait que la plupart des souches de bactéries lactiques peuvent héberger plusieurs plasmides, la variation du nombre et de la taille de ces derniers peut être un outil de typage pour eux. Ce typage n'est cependant pas fiable vu l'habilité de ces souches à acquérir ou à perdre des plasmides (Dykes *et al.*, 1995, Holzapfel *et al.*, 2001, Ouadghiri, 2009)

7.13. Spectrométrie de masse par temps de vol de désorption / ionisation assistée par matrice

La spectrométrie de masse par temps de vol de désorption / ionisation assistée par matrice (MALDI-TOF MS) est largement utilisée pour l'identification et le typage de microorganismes au niveau de la sous-espèce (Carbonnelle *et al.*, 2011). Cette méthode, qui convient au dépistage des bactéries, a été utilisée pour identifier les isolats de *Lactobacilli* provenant d'aliments avec un taux de réussite de 93% dans l'identification au niveau de l'espèce (Dušková *et al.*, 2012). MALDI-TOF MS a également été utilisé pour la classification des sous-espèces de souches de *L. brevis* au cours de laquelle l'identification au niveau de la souche a été réalisée dans 90% des 204 spectres (Kern *et al.*, 2014). Les avantages de l'utilisation de cette méthode résident dans le fait qu'elle est précise et sensible et peut être utilisée pour l'identification de cellules bactériennes entières. En outre, elle peut également être utilisée pour identifier les cultures de bactéries qui sont difficiles à cultiver et ne sont pas sensibles aux modifications du protocole de croissance des microorganismes avant l'analyse (Biswas et Rolain, 2013, Wenning *et al.*, 2014). Les inconvénients de cette technique résident dans le fait qu'elle est coûteuse et que la précision de la détection peut être affectée par le temps de culture de la bactérie (Cobo, 2013, Wenning *et al.*, 2014).

8. Les techniques de séquençage

L'histoire du séquençage a débuté dans la deuxième moitié des années 1970, avec l'invention de deux méthodes développées indépendamment : l'une par l'équipe de Walter Gilbert (Maxam et Gilbert, 1977), aux États-Unis, et l'autre par celle de Frederick Sanger (Sanger *et al.*, 1977), au Royaume-Uni. Elles sont fondées sur des principes diamétralement opposés. L'approche de Sanger est basée sur une synthèse enzymatique, tandis que celle de Maxam et Gilbert repose sur le marquage radioactif de fragments coupés de façon sélective. Pour cette découverte, Gilbert et Sanger ont été récompensés par le prix Nobel de chimie en 1980.

8.1. Séquençage par dégradation chimique (Maxam et Gilbert, 1977).

8.1.1. Principe

Cette méthode, basée sur une coupure chimique de l'ADN, utilise les réactivités différentes des quatre bases A, T, G et C, pour réaliser des coupures sélectives. En reconstituant l'ordre des coupures, on peut remonter à la séquence des nucléotides de l'ADN correspondant.

8.1.2. Méthode

La première étape consiste à marquer l'ADN à séquencer en 5' avec du phosphore 32 radioactif (P^{32}). Le brin à séquencer est ensuite dénaturé et séparé au moyen d'une électrophorèse sur un gel de polyacrylamide. Puis, le fragment d'ADN est découpé du gel et purifié avant d'être clivé par quatre réactifs chimiques différents qui coupent respectivement au niveau de G + A, G, C + T ou C. La réaction est effectuée dans quatre tubes séparés, et de manière qu'il n'y ait qu'une seule coupure par brin. Étant donné le nombre important de copies présentes dans le tube, on obtient statistiquement toutes les possibilités. Les produits des quatre réactions sont ensuite déposés sur un gel d'électrophorèse sur lequel ils migrent en fonction de leur taille. L'examen de l'autoradiographie correspondante permet de connaître la séquence du brin analysé dans le sens 5'-3', de bas en haut du gel (Malbec, 2018)

8.1.3. Avantage/inconvénient

Cette méthode, bien qu'intéressante, nécessite l'utilisation de réactifs assez toxiques et est limitée à l'analyse de séquences de taille inférieure à environ 250 paires de bases (pb). Étant difficilement automatisable, cette technique est aujourd'hui très peu utilisée.

8.2. Séquençage par synthèse enzymatique (Sanger *et al.*, 1977)

8.2.1. Principe

La même année (1977), Sanger base sa technique de séquençage sur une synthèse enzymatique des fragments d'ADN après leur amplification par clonage. Il utilise la propriété qu'ont les

ADN polymérases de synthétiser le complémentaire d'un brin d'ADN matrice en présence de dNTP (désoxyribonucléotides triphosphates).

8.2.2. Méthode

La méthode de séquençage de Sanger est aussi dite « par terminaison de chaîne », car elle utilise des nucléotides modifiés appelés « didésoxyribonucléotides » (ddNTP) qui ont un atome d'hydrogène à la place du groupement hydroxyle OH sur le carbone 3' du désoxyribose. Ils peuvent être incorporés dans un brin d'ADN en cours de synthèse, mais ils bloquent l'incorporation d'un autre nucléotide après eux. L'absence de l'atome d'oxygène en 3' empêche ainsi la formation d'une nouvelle liaison phosphodiester entre les deux bases. L'allongement du brin d'ADN s'arrête donc au niveau du ddNTP incorporé, d'où la notion de terminaison de la synthèse de l'ADN (Mauger, 2012).

La polymérase nécessite un court fragment complémentaire (amorce nucléotidique) du brin à séquencer pour initier la synthèse du brin copie. Initialement, cette amorce était radioactive aujourd'hui, on utilise des traceurs fluorescents attachés soit à l'amorce, soit aux didésoxyribonucléotides (ddNTP).

Quatre réactions de séquençage sont donc menées en parallèle dans quatre tubes distincts, contenant chacun tous les dNTP et un seul ddNTP (ddTTP, ddATP, ddCTP ou ddGTP) :

- tube 1 : ADN matrice + amorce marquée + dNTP + ddTTP ;
- tube 2 : ADN matrice + amorce marquée + dNTP + ddATP ;
- tube 3 : ADN matrice + amorce marquée + dNTP + ddCTP ;
- tube 4 : ADN matrice + amorce marquée + dNTP + ddGTP.

Ainsi, dans chaque tube, toutes les copies d'ADN synthétisés sont interrompues derrière un seul type de nucléotide. Le rapport des concentrations entre les dNTP et les ddNTP et le nombre de réactions simultanées catalysées par la polymérase assurent statistiquement que toutes les copies partielles intermédiaires possibles de la molécule d'ADN sont synthétisées. Par conséquent, nous obtenons des fragments de taille différente à la fin de la réaction. Il suffit ensuite de faire migrer les produits d'élongation sur un gel d'électrophorèse.

Les fragments vont se séparer en fonction de leur taille et l'on pourra lire la séquence de l'ADN d'intérêt. Les gels utilisés doivent permettre de séparer deux fragments intermédiaires consécutifs qui ont une différence de taille d'un seul nucléotide (Malbec, 2018).

Cette technologie, principalement représentée par la société Applied Biosystems (maintenant Life Technologies) permet l'analyse de séquences en plaques de 96 ou 384 puits. Ces séquenceurs possèdent 1, 4, 8, 16, 48 ou 96 capillaires selon le modèle et permettent

actuellement de séquencer des fragments de 500 à 1 000 pb environ. Cette approche est considérée comme la première génération du séquençage haut débit et a permis de déchiffrer le génome humain (Fig. 11).

8.3. Séquençage à haut débit (séquençage de deuxième génération)

Le terme « nouvelle génération de séquençage à haut débit » (*Next Generation Sequencing* ou NGS) regroupe l'ensemble des technologies ou plateformes de séquençage développées depuis 2005 par quelques sociétés de biotechnologies et qui permettent de générer des millions de séquences en un seul « run ». Les technologies à haut débit dites « de deuxième génération » requièrent une étape d'amplification des molécules d'ADN en amont du décodage, contrairement à celles dites « de troisième génération » permettant le décryptage direct d'une seule molécule d'ADN (Glenn, 2011).

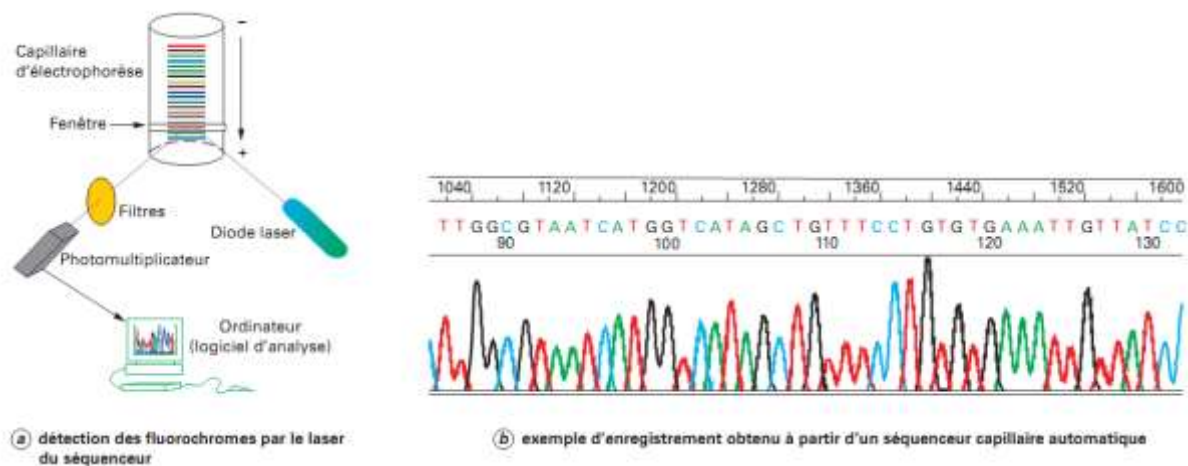


Figure 11. Principe du séquençage capillaire automatique (Véronique, 2014).

Le marché des séquenceurs de 2ème génération est couvert par les trois grands groupes que sont Roche, Illumina et Life Technologies ayant respectivement proposé leur première plateforme, à savoir : le 454, le Genome Analyser et enfin le SOLiD. Depuis, la gamme s'est étoffée en proposant un panel de technologies aux principes et aux caractéristiques propres, avec notamment la technologie Ion-Torrent commercialisée depuis peu par Life Technologies (Morozova et Marra, 2008).

Tous les séquenceurs de seconde génération présentent chacun leurs avantages et leurs inconvénients : longueur et nombre de séquences générées, durée du séquençage, problèmes liés aux homopolymères et aux erreurs de séquençage (Mauger, 2012)

Tableau 13. Liste des techniques utilisées pour l'identification des bactéries lactiques.

Technique	Principe	Discriminatoire	Reproductibilité	Référence
Les Méthodes phénotypiques				
Analyse morphologique	Analyse microscopique	Niveau Genre ou moins	M	(Gonzalez <i>et al.</i> , 2000)
Analyse physiologique	Caractéristiques de croissance, Test physiologique	Niveau Genre ou moins	F	(Corsetti <i>et al.</i> , 2001)
Caractérisation biochimique	Modèles d'assimilation et de fermentation (API, BIOLOG,)	Niveau de genre ou de l'espèce	M	(Muyanja <i>et al.</i> , 2003)
Le Profile protéique	Électrophorèse de protéines cellulaires sur Gel de PolyAcrylamide	Niveau de l'espèce	E	(Leisner <i>et al.</i> , 2001)
Les méthodes génotypiques				
Amorces spécifiques	PCR avec groupe spécifique d'amorces	Selon l'amorce	E	(Lu <i>et al.</i> , 2015)
Séquençage	Détermination des séquences de gènes	Du niveau de genre jusqu'à celui de l'espèce	E	(Abushelaibi <i>et al.</i> , 2017)
Polymorphisme de longueur de fragment de restriction (RFLP)	Analyse par enzymes de restriction	Du niveau d'espèce jusqu'à celui de la souche	E	(Moe <i>et al.</i> , 2015)
Polymorphisme de longueur des fragments amplifiés (AFLP)	Combinaison entre l'analyse par enzymes de restriction et amplification par PCR	Du niveau de l'espèce jusqu'à la souche	E	(Matsumoto <i>et al.</i> , 2016)
Amplification aléatoire d'ADN polymorphe (RAPD-PCR)	Amplification des amorces aléatoirement	Du niveau d'espèce jusqu'à la souche	F	(Franciosi <i>et al.</i> , 2015)
Amplification des régions inter-génique (ITS-PCR)	PCR ciblant les régions 16S-23S de l'ARN ribosomique	Niveau de genre jusqu'à celui de l'espèce	M	(Elizaquível <i>et al.</i> , 2015)
PCR répétitive extragénique palindromique (Rep-PCR)	PCR ciblant des séquences intercalées répétitives	Du niveau d'espèce jusqu'à la souche	E	(Dolci et Cocolin, 2017)
Electrophorèse en champ pulsé PFGE	Analyse par enzymes de restriction et électrophorèse sur gel en champ pulsé	Niveau de la souche	E	(Domingos-Lopes <i>et al.</i> , 2017)
Ribotypage	Analyse par enzymes de restriction et détection de sonde Oligo nucléotidique spécifique	Du niveau d'espèce jusqu'à la souche	E	(Säde <i>et al.</i> , 2016)
Hybridation des Sondes	Hybridation ADN-ADN utilisant des sondes marquées	Du niveau du genre jusqu'à celui de l'espèce	E	(Manero et Blanch, 2002)
Maldi-Toff	La spectrométrie de masse caractériser les molécules et leur structure chimique, par l'analyse de la masse et de la charge de leurs ions	Du niveau d'espèce jusqu'à la souche	M	(Nacef <i>et al.</i> , 2017)
Typage par séquençage multilocus (MLST)	Examiner les séquences nucléotidiques de plusieurs locus codant des gènes de ménage (housekeeping genes) ou des fragments de gènes de ménage (judicieusement choisis au départ)	Du niveau de genre jusqu'à la souche	E	(Liu <i>et al.</i> , 2016)

(F : faible, M : modérée, E : élevée)

9. Conclusion de la synthèse bibliographique

La partie synthèse bibliographique donne un aperçu sur la composition du lait de dromadaire et les propriétés et structures des principaux composants. Certains aspects généraux des procédés laitiers et leurs applications dans la fabrication de produits laitiers sont brièvement décrits. La principale composante du lait est l'eau ; le reste se compose de matière grasse, de lactose et de protéines (protéines de caséine et de lactosérum). Le lait contient également de plus petites quantités de minéraux, de protéines sanguines spécifiques, d'enzymes et de petits intermédiaires de synthèse mammaire. Les structures et les propriétés de ces composants influencent profondément les caractéristiques du lait et ont des conséquences importantes sur son traitement. Les principaux composants du lactosérum du lait de chamelle sont la sérumalbumine, l'ALA, les immunoglobulines, la lactoferrine mais pas de β -lactoglobuline. Il a été rapporté que le lactosérum de chameau contenait de plus grandes quantités de facteurs de défense tels que la lactoferrine, lysozyme, et l'immunoglobuline que le lactosérum bovin. Les valeurs moyennes de lactoferrine et d'IgG dans le lait de chamelle cru étaient de 0,23 et 0,72 mg/mL, respectivement. La concentration de ces composants variait significativement selon la saison ; la valeur la plus élevée de lactoferrine a été observée au printemps, alors que l'IgG était la plus élevée en hiver (Konuspayeva, 2007). Bien qu'il semble difficile de développer des techniques de conservation du lait autres que la production de beurre ou d'huile de beurre, dans les environnements désertiques chauds et secs, il existe une variété de produits laitiers dromadaires traditionnels tels que le lait caillé séché (oggt) en Arabie Saoudite, lait fermenté (susa) en Afrique de l'Est, la graisse clarifiée (ghee) en Somalie, et les laits fermentés de chameau de shubat au Kazakhstan (Konuspayeva *et al.*, 2004), suusac au Kenya (Lore *et al.*, 2005), Gariss au Soudan (Suliman *et al.*, 2006) et beurre de shmen en Algérie (Mourad et Nour-Eddine, 2006, Bendimerad *et al.*, 2012).

Les premières études sur la composition microbiologique des laits datent de la fin du 19^{ème} siècle. Actuellement, les espèces de bactéries lactiques des genres *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Streptococcus* et *Bifidobacterium* ont été identifiées dans les laits fermentés. Principalement des souches de *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Streptococcus* et *Bifidobacterium* sont utilisées dans les levains commerciaux. Seules des informations limitées sont disponibles concernant le microbiote impliqué dans le lait cru de dromadaire produit dans les régions arides d'Algérie.

Le but de cette thèse est la recherche des bactéries lactiques présentes dans le lait cru de chamelle par des méthodes phénotypiques et génotypique au moyen d'une étude polyphasique et déterminer la biodiversité de cette microflore. La sélection des souches possédant un pouvoir technologique est aussi abordée afin de construire un levain lactique adapté à la fermentation du lait de chamelle.

Matériel

et

Méthodes

Chapitre 2 : Matériel et méthodes

1. Cadre de l'étude

La majorité de ce travail était réalisée au niveau du Laboratoire de Microbiologie appliquée (LMA) département de Biologie, Faculté de sciences de la nature et la vie, Université Oran -1- Ahmed Ben Bella (2014-2017). L'étude et la caractérisation moléculaire des isolats étaient réalisée au niveau du laboratoire des microorganismes et des biomolécule actifs, faculté des sciences université El-Manar, Tunis, Tunisie (2017-2018).

2. Provenances des échantillons

Les isolats de bactéries lactiques (LAB) ont été obtenus à partir de 16 échantillons de lait de dromadaires collectés durant la période de 2015 et 2017 sur 8 sites situés (Fig. 12 et 13) dans les régions algériennes suivantes : El Abadela, Tabelbala, Kenadsa, Béni-Abbès, Timimoun, Ghardaya, Adrar, Mecheria. Pour chaque échantillon, une quantité d'un litre a été prélevée dans des bouteilles préalablement stérilisées. Après prélèvement, les bouteilles sont placées immédiatement dans une glacière contenant des blocs de glaces et transportés vers le laboratoire. Les durées de transport ont varié de 2 à 24 heures selon l'éloignement des lieux de prélèvement. Les échantillons ont été analysés dans les 2 jours suivants.

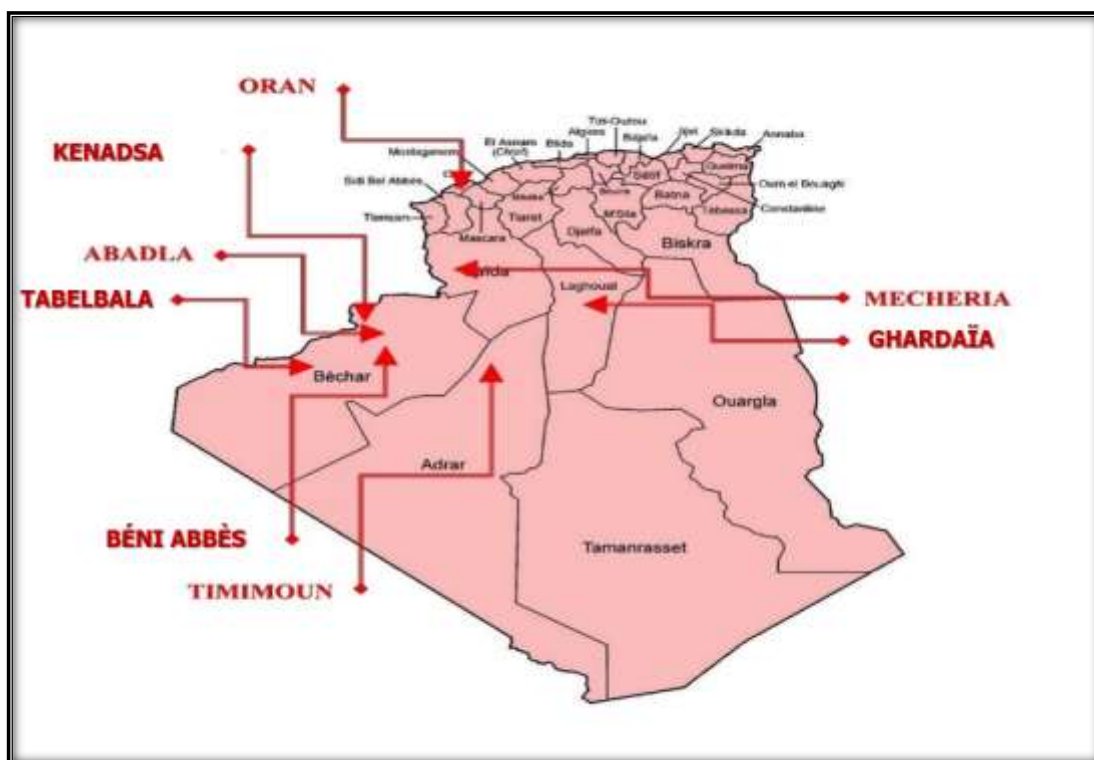


Figure 12. Position géographique des zones de provenance des échantillons du lait.

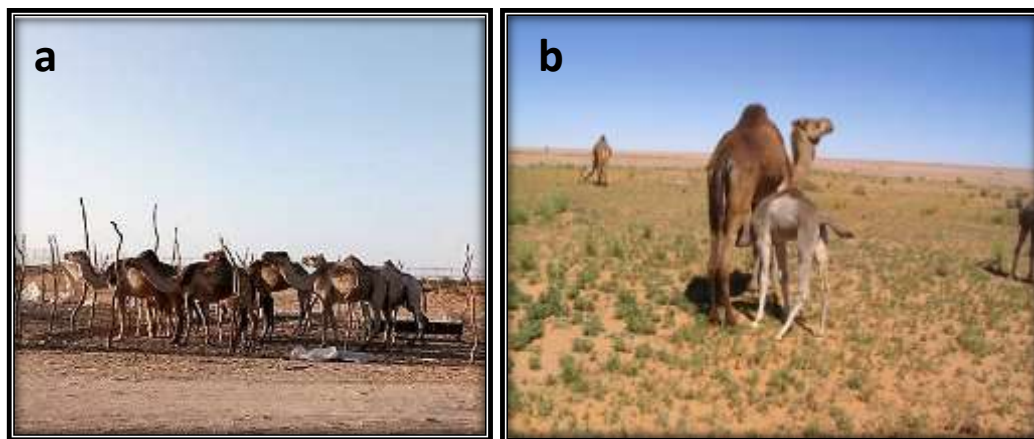


Figure 13. Lieu de prélèvement des échantillons du lait de chamelle de la ville d'ADRAR (a) et de la plaine de Béni-Abbès (b) sud-ouest d'Algérie

3. Analyses physico-chimiques

Les paramètres chimiques déterminés sont la teneur en matière sèche ou extrait sec total, la teneur en cendres totales, la matière grasse, lactose, protéines totales, la vitamine C, l'activité anti-oxydante et les éléments minéraux, à savoir Mg, K, Ca, Chlorure. Trois paramètres physiques sont de routine évaluée. Il s'agit du pH, de l'acidité et de la densité de chaque échantillon de lait. Ces analyses permettent de connaître la composition chimique du lait cru de chamelle (Fig. 14). Certaines analyses chimiques ont été effectuées au niveau d'un laboratoire privé El-Fath Oran.

3.1. Mesure de pH

La mesure du pH est réalisée à l'aide d'un pH mètre numérique, Avant toute mesures, le pH-mètre doit être calibré à l'aide des solutions tampons selon les instructions de la manufacture. La mesure de pH peut être faite en passant l'électrode dans une suspension sous agitation. La lecture du pH se fait après stabilisation de la valeur.

3.2. Acidité Dornic

L'acidité dornic a été mesurée selon la norme Française 04-206 (Janvier 1969). Elle n'est pas applicable au lait additionné d'un conservateur, ce dernier pouvant fausser les résultats. Un échantillon précis de 10 ml de lait est placé dans un bécher de 100 ml en présence de 0,1 ml de phénolphthaléine à 1% dans l'alcool à 95%. La soude dornic (N/9) est ajoutée à la burette graduée, le titrage de l'acidité de l'échantillon du lait se fait par versement goutte à goutte de la soude dornic jusqu'au virage au rose. La coloration rose doit persister au moins 10 secondes. Dans ces conditions, l'acidité exprimée en degrés dornic est équivalente au nombre de dixièmes de ml de soude dornic versée pour avoir le virage de l'indicateur. C'est-à-dire en décigrammes d'acide lactique par litre. 1 D correspond à 0,1 g d'acide lactique par litre de lait.

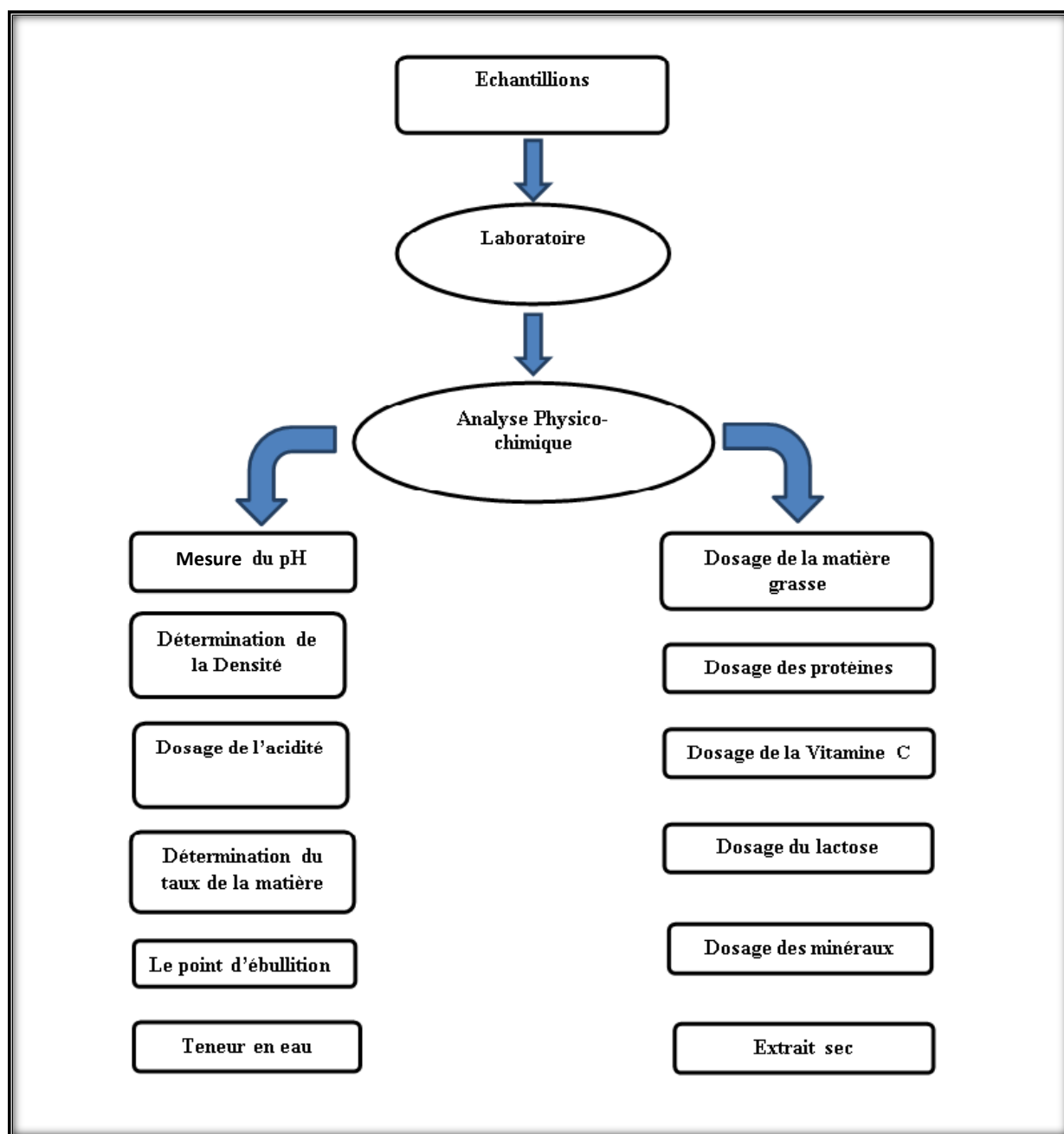


Figure 14. Diagramme de la procédure expérimentale des analyses physico-chimiques

3.3. Détermination de la densité

La densité nous renseigne sur le taux de matières solides et sur la viscosité de la solution. La densité du lait dépend de tous ses constituants. Elle varie avec le taux butyreux et la teneur en matière sèche dégraissée. Diminuant lorsque le taux butyreux augmente et augmentant en même temps que la teneur en matière séchée dégraissée. La densité permet de soupçonner un mouillage ou un écrémage du lait puisque celui-ci l'augmente et l'addition d'eau a un effet inverse (Mathieu, 1998). La mesure de la densité est réalisée à l'aide d'un lactodensimètre. Le

Matériel et méthodes

principe consiste à plonger un lactodensimètre dans une éprouvette de 100 ml remplie de lait à analyser. Lorsqu'il se stabilise, une lecture directe, nous donne le résultat.

3.4. Le point d'ébullition

Il est défini comme la température atteinte lorsque la pression de vapeur de la solution est égale à la pression appliquée à l'aide d'un thermomètre (GTH 175/PT).

3.5. La teneur en eau

On mesure l'humidité de l'échantillon de lait, on tare la capsule du dessiccateur à infrarouge, on pèse 2 à 3g de l'échantillon on règle la température selon le tableau (14)

Tableau 14. Paramètres de préparation des échantillons pour l'obtention du poids sec. (D'après Laboratoire El Fath).

Matériaux	Poids de l'échantillon (g)	Température de séchage (°C)	% humidité	Temps de déshydratation (min)
Lait	2-3	120	88	6-8
Beurre	2-5	138	16,3	4,5
Yaourt	2-3	110	86,5	4,5-6,5
Margarine	3-4	138	16	10
Poudre de lait	2-4	90	5	6
Sucre	4-5	138	11,9	10

3.6. Teneur en matière sèche (Extrait sec E.S.)

Dans une capsule préalablement tarée on introduit 5 ml de lait à l'aide d'une pipette jaugée puis on la place dans une étuve réglée à $105 \pm 2^\circ\text{C}$ pendant 3 heures dans un dessiccateur garni d'anhydride phosphorique ou un autre déshydratant efficace, après dessiccation les capsules refroidies sont pesées. La différence dans le poids initial et final nous donne le taux d'humidité (Shafiee *et al.*, 2010) .

3.7. Dosage des protéines

La teneur en protéines (protéines totales, protéine sériques et caséines) est déterminée par la méthode de Lowry (1969). Le principe repose sur le développement d'une coloration bleu foncé suite à l'addition à la solution protéique d'un sel de cuivre en milieu alcalin, puis du réactif de Folin-Ciocalteu. La coloration résulte de la réaction du cuivre avec les liaisons peptidiques et la réduction de l'acide phospho-tungstomolybdique par la tyrosine, le tryptophane et la cystéine. Les espèces réduites absorbent la lumière à 750nm. Le dosage des protéines est réalisé par l'emploi d'un spectrophotomètre visible. La concentration en protéines de l'échantillon analysé est déterminée en se référant à une courbe d'étalonnage établie en employant de l'albumine

sérique bovine (BSA) (Waterborg, 2002). En comparons avec les méthodes internes du laboratoire d'analyse de la qualité EL-FETH.

3.8. Dosage de la matière grasse

La matière grasse du lait se compose principalement de glycérides (99%), de phospholipides, de cérebrosides, du cholestérol et des acides gras libres (Lapointe-Vignola, 2002). Les lipides sont généralement solubles dans les solvants organiques (éther, chloroforme), mais peu ou non miscible dans les milieux aqueux. La détermination de la matière grasse peut se faire directement sur le lait par méthode acido-butyrométrique (GERBER) (norme AFNOR : NFV04-210 de décembre 1974). Cette technique de dosage rapide, applicable au lait entier et partiellement écrémé, n'est pas applicable aux laits homogénéisés tels les laits UHT. Les protéines du lait sont dissoutes par l'acide sulfurique, les matières grasses, résistantes à l'action de l'acide sulfurique concentré sont séparées par centrifugation, à chaud en présence d'alcool isoamylique (3-méthyl-1-butanol) qui facilite la séparation. On en mesure le volume vers 65-70°C dans un butyromètre de Gerber (Tafti et Fooladi, 2006)

3.9. Dosage des glucides

On classifie généralement les glucides en trois groupes : les monosaccharides, les oligosaccharides et les polysaccharides. Les glucides du lait sont essentiellement constitués de lactose et de quelques autres sucres en faible quantité, dont le glucose. Le lactose est un disaccharide qui comprend le glucose et galactose. La détermination du lactose est réalisée sur le filtrat (Norme FIL-IDF1974/28A). Une solution cupro-alkaline est réduite à chaud par le filtrat obtenu. Le précipité d'oxyde cuivreux formé est oxydé par une solution de sulfate ferrique et le sulfate ferreux formé est dosé par manganimétrie en présence d'orthophénantroline ferreuse comme Indicateur.

3.10. Dosage de la vitamine C

Les vitamines sont des substances qui sont indispensables à la croissance et au maintien de notre équilibre vital. Ces substances doivent être apportées par l'alimentation, étant donné que notre organisme est incapable de les fabriquer. La vitamine C est un solide blanc soluble dans l'eau et présent dans de nombreux fruits et légumes. Une carence en vitamine C provoque le scorbut (d'où le nom acide ascorbique), le lait de chamelle se singularise par sa richesse relative en vitamines B3 (niacine) et en vitamine C.

A une solution contenant la vitamine C en concentration inconnue, on ajoute lentement une solution d'iode de concentration connue (Hoffer *et al.*, 1981). Une molécule d'iode réagit avec une molécule de vitamine C. Réaction d'iode avec la vitamine



Lorsqu'il n'y a plus de molécules de vitamine C, les molécules d'iode vont s'accumuler dans la solution. Cette accumulation indique la fin du titrage et est mise en évidence par la formation d'un composé de grande intensité. Ce composé est formé par l'iode et l'amidon.

3.11. Teneur en oligo-éléments (minéraux)

Les minéraux ont été déterminés comme suit; sodium, potassium et calcium, Magnésium, le contenu a été déterminé, souvent, par une méthode de calcination utilisant un photomètre à flamme (Corning 410, Sherwood Scientific Limited, Royaume-Uni), décrite par Kirk et Sawyer (1991), phosphore inorganique par la méthode colorimétrique décrite par Fiske et Subbarow (1925), et dirigé par un spectrophotomètre d'absorption (Perkins Elmer Instrument Modèle 2380, Perkin Elmer, Michigan, USA) tel que décrit par AOAC (1995).

3.12. Mesure de l'activité antioxydant

Les antioxydants sont des molécules naturellement présentes dans de nombreux aliments et qui ont une fonction de capteurs des radicaux libres responsables, entre autres, du vieillissement des cellules. 20 ml d'acétone 80% sont ajoutés à 2 g de chaque échantillon ; les mélanges sont homogénéisés pendant 2 min puis centrifugés (5000 tr/20 min). Le dosage des polyphénols totaux est basé sur la réaction d'oxydoréduction. Le réactif de Folin-Ciocalteu, acide de couleur jaune, est un mélange d'acide phosphotungstique ($\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($\text{H}_3\text{Mo}_{12}\text{O}_{40}\text{P}$) qui est réduit lors de l'oxydation des polyphénols en un mélange d'oxydes bleus de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_{23}). La coloration bleue produite est proportionnelle au taux de composés phénoliques présents dans le milieu réactionnel (Gülçin *et al.*, 2010). La teneur en composés phénoliques a été déterminée selon la méthode rapportée par Virtanen *et al.* (2007). Un volume de 500 µl de filtrat sont additionnés de 750 µl de réactif de Folin-Ciocalteu et de 600 µl de carbonate de sodium (7,5%). Après 30 minutes d'incubation à l'obscurité, la lecture a été réalisée à l'aide d'un spectrophotomètre à 750 nm. La concentration en composés phénoliques exprimée en mg équivalent d'acide gallique par 100 g de matière sèche d'échantillon est déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage (Fig. 15).

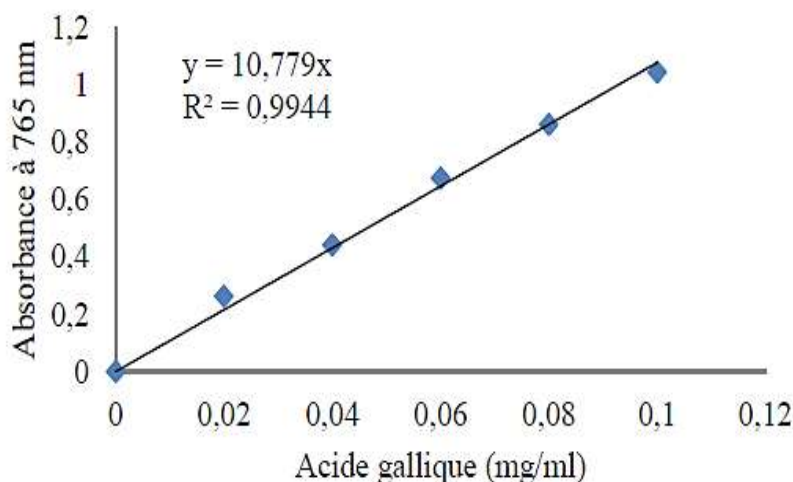


Figure 15. Courbe d'étalonnage pour le dosage des polyphénols totaux.

4. Analyses microbiologiques

4.1. Préparation des suspensions de dilution

Des volumes de 10 ml de chaque échantillon de lait de chamelle ont été transférés de manière aseptique dans des tubes a essayés et incubés en anaérobiose à 30° C pendant 72 h dans des conditions d'anaérobiose afin de stimuler la croissance de la microflore lactique. Après incubation, les échantillons ont été analysés en procédant à la préparation des suspensions de dilutions décimales dans une solution de NaCl à 9 g/l stérile. Des fractions de 1 ml des dilutions comprises entre 10^{-5} et 10^{-8} ont été inoculées en profondeur dans MRS-Agar (De Man *et al.*, 1960) additionné de 0,05% de CaCO_3 , M17-Agar (Terzaghi et Sandine, 1975) et sur milieu MSE+vancomycine (24mg/l) (Mathot *et al.*, 1994) en triple exemplaires. Les boîtes ont été incubées dans les mêmes conditions.

Après 72 h d'incubation, les boîtes contenant des colonies bien séparées ont été prises en compte pour l'isolement et la purification des isolats. Les colonies possédant un aspect similaire et proche des bactéries lactiques ont été prélevées etensemencée sur milieu liquide MRS, M17 et MSE (Fig. 16).

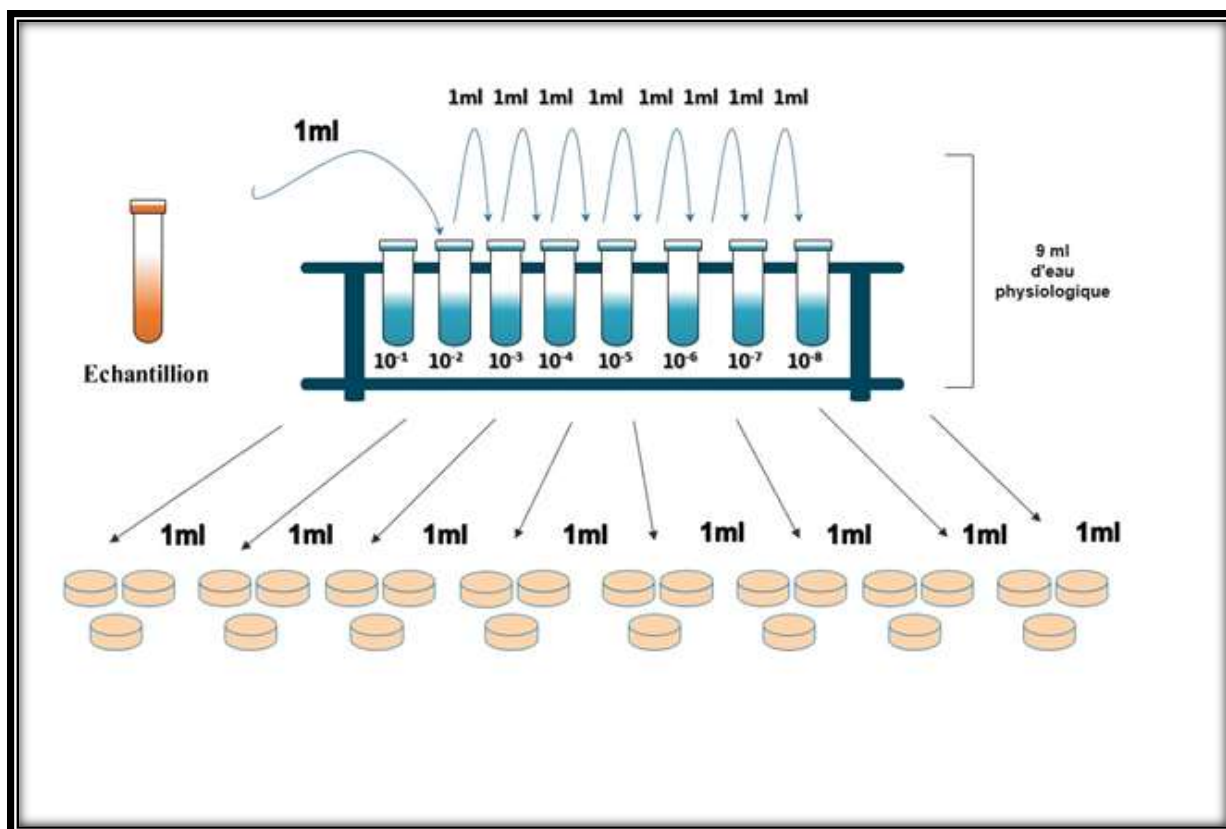


Figure 16. Schéma représentatif de préparation des suspensions de dilutions et l'isolement.

4.2. Isolement des bactéries lactiques

Au total, 16 échantillons mentionnés ci-dessus ont été prélevés pour l'isolement de bactéries lactiques potentielles. La solution mère a été effectuée à partir de ces échantillons en ajoutant 1 ml d'échantillon dans 9 ml d'eau physiologique. Des suspensions de dilution décimale ont été réalisées pour tous les échantillons du lait cru (de 10^{-1} à 10^{-8}). Des volumes (0,1 ml chacun) de chaque dilution ont été transférés et étalés sur des boîtes de Pétri stériles contenant du milieu gélose MRS modifié (De Man *et al.*, 1960), M17 (Terzaghi et Sandine, 1975) et MSE (Mayeux *et al.*, 1962). Pour l'isolement des colonies bactériennes, les boîtes ont été incubées à 37 °C pendant 48 h dans des conditions anaérobies. Après incubation, des colonies individuelles ont été sélectionnées, prélevées et ensemencées sur milieu liquide MRS, M17 et MSE et purifiées en utilisant la technique de striée sur milieu gélosé.

Suite aux difficultés rencontrées dans l'isolement et la conservation des espèces de lactocoques qui vivent en association étroite avec les entérocoques en formant un consortia. Ce phénomène d'interaction synergique nous a incités à la recherche d'un milieu de culture très sélectif pour les lactocoques. Afin de résoudre ce problème, nous avons utilisés le milieu de culture usuel M17 et Elliker (Elliker *et al.*, 1956) additionné d'agent sélectif à base d'antibiotiques qui sont la trimethoprime (0,3 µg/ml) et la rifampicine (0,3 µg/ml).

Matériel et méthodes

Les microorganismes prédominants dans les échantillons de lait de dromadaire ont été identifiés en utilisant les caractères morphologiques macroscopiques et microscopiques, et les autres caractères phénotypiques et biochimiques. Les isolats ont été examinés principalement en fonction de la morphologie des colonies, de la réaction de catalase et de la réaction de Gram.

4.3. Conservation des isolats

A partir des cultures jeunes de 18 h sur bouillon MRS, les cellules sont récupérées par centrifugation à 6000 tr/min pendant 10 min à 4 °C. Une fois le surnageant éliminé on procède à la conservation des isolats purs par deux méthodes.

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

La conservation à long terme des isolats purifiés est réalisée dans un milieu contenant 70% de lait écrémé (enrichi par 0.05 % d'extrait de levure et 0.05 % de glucose) et 30% de glycérol et stockés à une température de -20 °C (Samelis *et al.*, 1994, Herrero *et al.*, 1996) (Fig. 17).

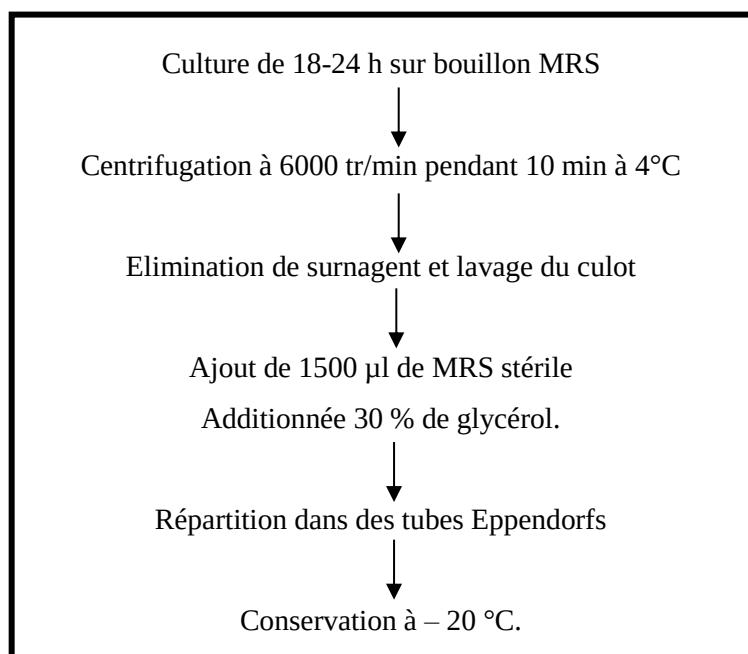


Figure 17. Technique de conservation longue durée des isolats purifiés.

4.4. Identification phénotypique des bactéries lactiques

Après purification des isolats, nous les avons identifiés par des méthodes d'identification classiques basées sur l'étude des critères phénotypiques.

Des isolats de types de colonies morphologiquement différents ont été sélectionnés à partir de milieu agar MRS et M17. Après un examen visuel, des représentants de tous les types de

colonies ont été choisis au hasard pour poursuivre les analyses des cultures. La morphologie des colonies, l'aspect cellulaire par la coloration de Gram et les tests de catalase ont été réalisés. Les isolats ont également été testés pour la production de gaz à partir du glucose, de la croissance à différentes températures (10 et 45°C), de différents pH (4,0 et 9,6) et de différentes concentrations de NaCl (3,6, 5,8 et 9%). Le test de l'hydrolyse de l'arginine, la fermentation au citrate et l'aptitude à fermenter les substrats glucidiques ont été aussi réalisés (Badis *et al.*, 2004).

4.4.1. Caractérisation morphologique

L'identification des bactéries passe par plusieurs étapes. L'étude des critères macroscopiques de culture sur gélose (description de colonies) et l'observation microscopique sont les premiers tests d'identification des bactéries.

a) Examens macroscopiques

Cette étude consiste à décrire la forme, l'aspect, la couleur et le diamètre des colonies obtenues sur gélose MRS, M17 et MSE.

b) Examens microscopiques

Les cultures ont été cultivées dans des milieux appropriés à 37 °C pendant 24 h dans des conditions anaérobies. Des cellules provenant de cultures jeunes ont été utilisées pour la coloration de Gram. Après incubation, les cultures ont été transférées de manière aseptique dans des tubes Eppendorf de 1,5 ml et centrifugées pendant 5 minutes à 6000 tr/min. Ensuite, le surnageant a été retiré et les cellules ont été remises en suspension dans de l'eau stérile. Ensuite, sous microscopie optique, on a exploré la réaction de Gram des isolats purifiés.

4.4.2. Caractérisation physiologique

Le groupe de bactéries lactiques étant hétérogène, elles nécessitent, pour leur identification, l'étude des critères physiologiques. Ce type de caractérisation permet d'orienter l'identification de souches lactiques vers un genre précis.

a) Recherche de la catalase

Ce test permet de mettre en évidence la présence d'une enzyme dont le rôle est de décomposer le peroxyde d'hydrogène qui est produit par certaines bactéries en réponse à un stress oxydatif. Le test de catalase a été réalisé pour les isolats afin d'observer leur réaction à la catalase. Pour chaque isolat une colonie a été prélevée des cultures jeunes d'isolats (18-48 h) à partir du milieu MRS gélosé et a été émulsionnée sur une lame contenant une goutte d'eau oxygénée. Un dégagement immédiat de bulles gazeuses révèle la présence de catalase (catalase+). En cas de

non dégagement de bulles gazeuses les souches sont à catalase négative, Comme les LAB sont catalase-négatifs, les isolats qui n'ont pas donné de bulles de gaz ont donc été sélectionnés pour une étude ultérieure (Badis *et al.*, 2004).

b) Croissance à 45° C

Les souches isolées et purifiées ont étéensemencées dans du bouillon MRS puis incubées à 45°C pendant 24 heures à 48 heures. Après incubation, la croissance bactérienne s'est manifestée par un trouble du bouillon de culture que nous avons noté pour chaque souche bactérienne. Ce test permet de révéler le caractère thermophile des souches étudiées (Badis *et al.*, 2005).

c) Croissance à pH 9,6

Ce test permet de caractériser le genre *Enterococcus* parmi les autres genres de bactéries lactiques. Le bouillon M17 utilisé dans ce test a été ajusté à pH 9,6. Après ensemencement et incubation à 30°C pendant 24 heures ou plus, le trouble bactérien obtenu révèle la croissance de la bactérie (Guiraud et Rosec, 2004).

d) Croissance à 6,5% de NaCl

Nous avons ensemencé les bactéries lactiques dans du bouillon M17 contenant 6,5% de NaCl. Les cultures ont été incubées à 30°C pendant 24 heures ou plus. La croissance bactérienne qui se manifeste par un trouble du bouillon de culture a été notée pour chaque bactérie (Badis *et al.*, 2004, Guiraud et Rosec, 2004).

e) Test de thermo-résistance

Ce test a pour but d'identifier les souches thermorésistantes. Chaque souche purifiée a été ensemencée dans du bouillon MRS ou M17 puis traitée à 60°C pendant 30 min. Après traitement thermique, les souches ont été incubées à 30°C pendant 24 heures ou plus. Après incubation, seules les bactéries thermorésistantes présentent une croissance (Guiraud et Rosec, 2004).

4.4.3. Caractérisation biochimique

a) Recherche de l'arginine déshydrogénase (ADH)

Le milieu utilisé pour ce test est le M16 BCP (milieu M16 solide avec un indicateur de pH qui est le pourpre de bromocrésol). Les bactéries qui possèdent l'ADH (Arginine Déshydrogénase) vont acidifier le milieu en fermentant le lactose (l'indicateur de pH vire au jaune), puis en déshydratant l'arginine, elles vont alcaliniser le milieu et de ce fait la couleur de l'indicateur

BCP redeviendra violet. Les bactéries qui ne possèdent pas cette enzyme vont seulement acidifier le milieu (Thomas, 1973).

b) Production des composés aromatiques

La production d'acétoïne (acétyl-méthyl-carbinol) est testée sur milieu Clark et Lubs. Les souches sont cultivées sur ce milieu. Après 24 h d'incubation, on teste par la réaction de V.P (Voges- Proskauer).

Dans un tube à hémolysé, 2 ml de cette culture sont transférés, additionné de 0,5 ml de NaOH 16% dans l'eau distillée (VP1) et 0,5 ml de réactif α -naphtol à 6% dans l'alcool absolu (VP2). On agite soigneusement les tubes et on laisse au repos quelques minutes à température ambiante. La production d'acétoïne se manifeste par l'apparition d'un anneau rose à la surface du milieu. Un VP positif signifie que la souche possède une voie métabolique particulière pour la fermentation des hexoses, la voie butylène-glycolique (Guiraud et Rosec, 2004, Guessas, 2006).

c) Production de dextrane

La production du dextrane à partir du saccharose est mise en évidence sur milieu solide MSE (Mayeux *et al.*, 1962) hyper-saccharose additionné de 10 % de saccharose. Les souches productrices de dextrane sont caractérisées par la formation de colonies visqueuses et gluantes (Zarour *et al.*, 2017).

d) Utilisation du citrate

L'utilisation du citrate est étudiée sur milieu (KMK) (Kempler et McKay, 1980). Ce milieu contient une solution de ferricyanide de potassium et une solution de citrate ferrique. La présence du citrate dans le milieu inhibe la réaction entre l'ion ferrique et le ferricyanide de potassium. Les colonies qui fermentent le citrate lancent la réaction entre ces ions il en résulte la formation de colonies bleues ou ayant un centre bleu foncé (après 18 h-72 h d'incubation). Les colonies incapables de fermenter le citrate restent blanches (Guiraud et Rosec, 2004).

e) Etude de l'activité protéolytique

La protéolyse est l'événement biochimique le plus important pendant la transformation des produits laitiers, avec un impact majeur sur la saveur et la texture. Des techniques ont été développées pour permettre la quantification de la protéolyse. Pour la détermination de l'activité protéolytique, des suspensions des isolats ont été déposées sur un milieu gélosé (lait écrémé en poudre à 10% (p/v) et agar à 2% (p/v) et incubées à la température de croissance de 30°C pendant 48 à 72 H, et une zone claire autour de chaque colonie était l'indication d'une activité protéolytique positive (Franciosi *et al.*, 2009, Drici *et al.*, 2010).

f) Profile fermentaire (test de fermentations des sucres)

La fermentation des sucres a été menée par la méthode décrite par Badis *et al.* (2004) et Guessas (2006) avec modification sur milieu MRS sans extrait de viande, K_2HPO_4 , acétate de sodium et sans citrate de sodium et additionné au bleu de bromocrésol (BCP) comme indicateur de pH (MRS-BCP-EV). La source de carbone est représentée par l'un des sucres suivants : mannose, arabinose, glucose, ribose, galactose, lactose, maltose, sorbitol, mannitol, raffinose, xylose, rhamnose, saccharose, et la cellobiose. Les solutions des sucres sont préparées à 3% pour les monosaccharides et à 2% pour les disaccharides et stérilisées par tyndallisation. Un millilitre de la solution sucrée est additionné à 10 ml de (MRS-BCP-EV). Des plaques 96 puits ont été utilisées (Fig. 18). Les puits de chaque ligne contiennent une source de carbone. Une culture de 18 à 24 heures de la souche appropriée est centrifugée à 4600 tr/min pendant 10 min. Le culot ainsi récupéré est additionné de 2 ml de tampon phosphate puis recentrifugé aux mêmes conditions pour enlever les restes du milieu de culture et obtenir un culot cellulaire pur. Pour ce dernier, 10 ml de milieu (MRS-BCP-EV) est additionné pour former la solution cellulaire servant à ensemencer les puits contenant les sucres ; 20 μ l de cette solution bactérienne est déposée dans chaque puits. Des puits témoins ont été utilisés pour le sucre et aussi pour le (MRS-BCP-EV) La lecture des résultats se fait après 48 heures d'incubation.

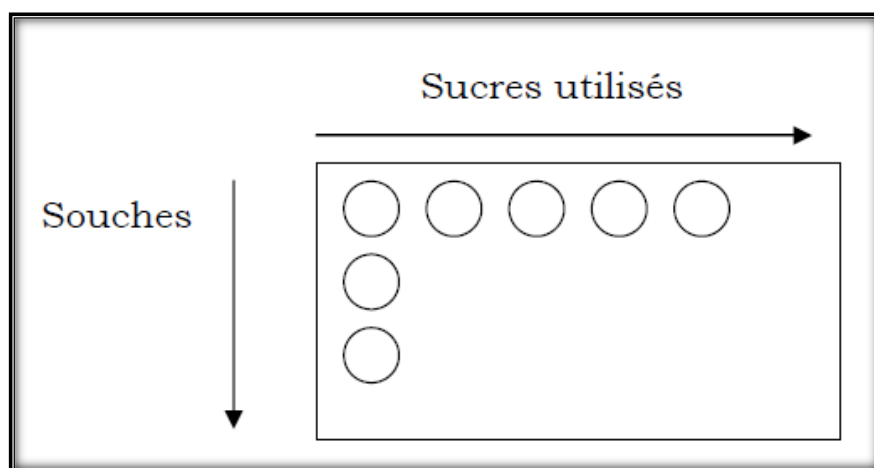


Figure 18. Schéma représentant la mini-préparation pour le test de la fermentation des sucres (Guessas, 2006).

g) Identification des isolats par galerie API 50 CHL

Les kits de test des carbohydrates API 50 CH (bioMérieux, France) ont été utilisés pour tester la capacité des isolats à fermenter 49 glucides. Des cultures jeunes (18-24 h) dans du bouillon MRS ont été centrifugées et lavées avec de l'eau physiologique. Les cellules sont introduites dans le milieu API 50 CHL. Les cupules ont été recouvertes d'huile de paraffine stérile et les résultats ont été lus après 24 h et 48 h d'incubation à 30 °C. Ces échantillons ont été traités selon

Matériel et méthodes

les instructions du fabricant, L'identifications des espèces obtenues a été établie et comparée avec Apiweb TM V5.2 (bioMérieux) (Boumehira *et al.*, 2011, Marroki *et al.*, 2011) (Fig. 19).

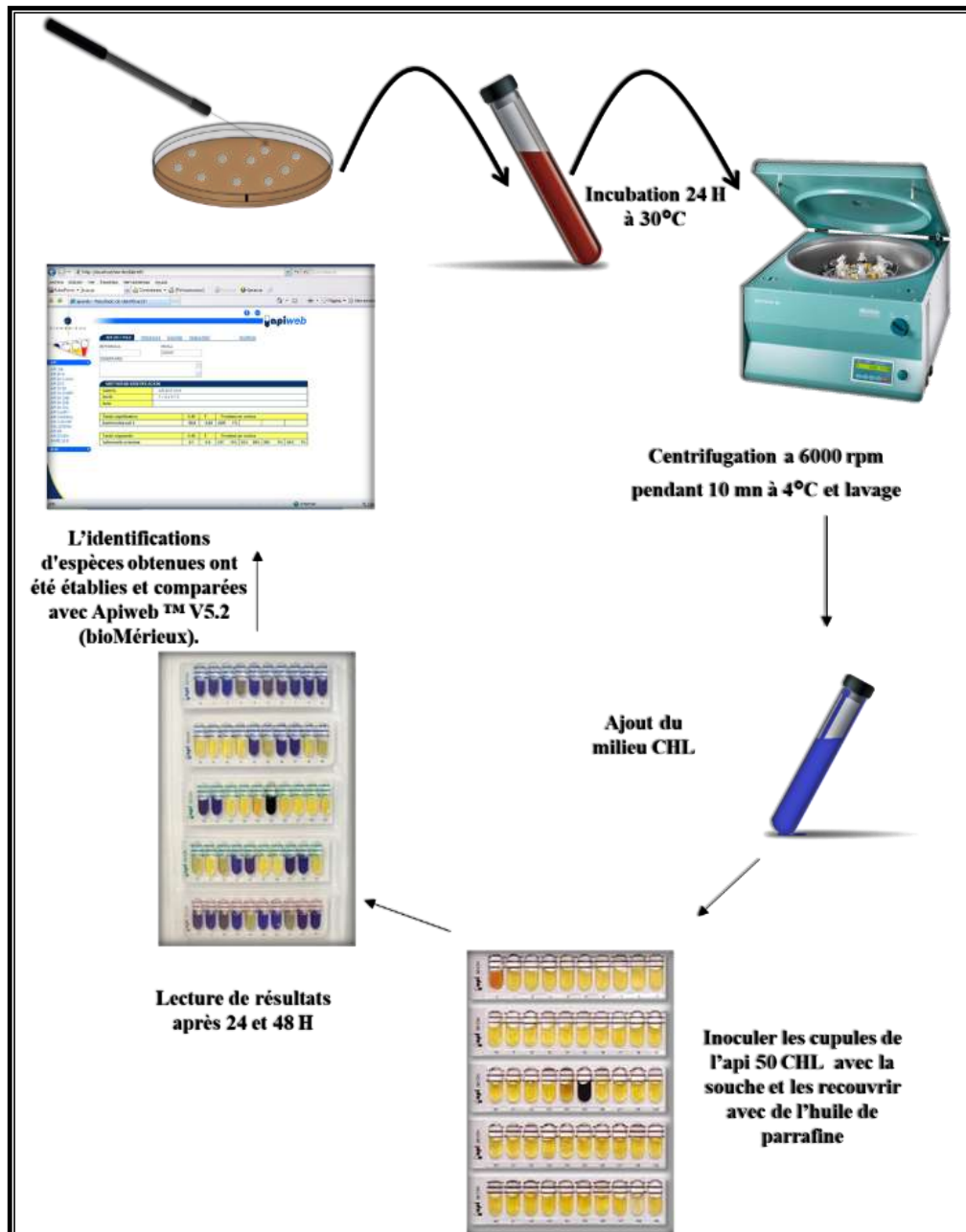


Figure 19. Schéma représentatif de préparation et lecture des galeries API 50 CHL.

4.4.4. Caractérisation moléculaire des bactéries

Afin de confirmer la caractérisation phénotypique des isolats des bactéries lactiques, nous avons procédé à une caractérisation moléculaire. Ce type d'identification nécessite une extraction d'ADN, suivi d'une amplification d'une région spécifique du génome et d'une analyse des séquences par comparaison dans une base de données.

a) Extraction de l'ADN

Dans la littérature plusieurs méthodes d'extraction d'ADN bactérien ont été décrites. L'enveloppe cellulaire constituant une barrière doit être rompue. Pour la plupart des protocoles la lyse cellulaire de bactéries à Gram positif se fait par des méthodes chimiques. Dans cette étude, nous avons adopté une méthode simple. C'est une combinaison de deux méthodes de lyse, une lyse thermique et une lyse chimique. Le principe de l'extraction utilisée est basé sur la lyse par choc thermique de cellules d'une suspension bactérienne dans un tampon de lyse. Les étapes de la méthode ont été reprises telles qu'elles ont été décrites par Reischl *et al.* (1994). Deux colonies ont été prélevées à partir de culture des isolats sur milieu gélose. Elles ont été homogénéisées dans 1 ml d'eau pure. Cette suspension bactérienne a été centrifugée à 12000 tr/min pendant 10 minutes. Le culot bactérien a été suspendu dans 200µl de tampon de lyse (1% Triton X 100, 0, 5% Tween 20, 10 mM Tris-HCl pH8, 1 mM EDTA) (Reischl *et al.*, 1994). La suspension bactérienne est mise dans un bain-marie à 100°C pendant 10 min. Les débris cellulaires sont éliminés par centrifugation (12 000 trs/min pendant 3 minutes). Le surnageant contenant de l'ADN a été directement utilisé pour les réactions de PCR.

b) Amplification de l'ADN par PCR

Le choix d'amorces spécifiques s'est fait sur la base des résultats de l'identification phénotypique. Une séquence du gène ARNr 16S a fait l'objet d'une amplification par l'amorce universelle 27F/1432R. L'amplification de cette région et son séquençage permettent l'identification des isolats.

L'amplification de l'ADN se fait par PCR (Polymerase Chain Reaction), cette technique se résume en la répétition n fois d'un cycle qui se compose de 3 étapes : dénaturation par la température permettant la séparation des deux brins, hybridation des amorces et élongation. Une paire d'amorces 27F (5'TCAACCGGGGAGGGT3') et 1432R (5'ATTACTAGCGATTCCGG3') conçues par Deasy *et al.* (2000) a été utilisée pour amplifier l'ADN des isolats.

La réaction de PCR a été réalisée en utilisant un thermocycleur (Thermal Cycler; Bio-Rad / applied biosystème TC-412). Nous avons utilisé le programme d'amplification décrit par Fhoula *et al.* (2013). Ce programme consiste en une étape de dénaturation à 94°C pendant 45 secondes, une étape d'hybridation à 55°C pendant 1 min et une étape de polymérisation à 72°C pendant 2 min. Nous avons réalisé une amplification de 35 cycles. Ces cycles ont été précédés par une étape de dénaturation initiale à 94°C pendant 4 min. L'amplification est achevée par l'étape d'élongation finale à 72°C pendant 7 min.

c) Electrophorèse sur gel d'agarose des produits de la PCR

Afin de déterminer et de vérifier la taille des produits de PCR, une électrophorèse sur gel d'agarose a été réalisée. L'électrophorèse horizontale sur gel d'agarose est une technique permettant de séparer les fragments d'ADN en fonction de leur taille et de les visualiser sous formes de bandes.

Le gel d'agarose utilisé pour analyser les produits de réactions de PCR a été préparé à une concentration de 1,5% dans du Tris Borate EDTA (TBE).

A partir de chaque produit de PCR, un volume de 5 µl est mélangé à 2 µl de tampon de charge dont la composition est la suivante :

- Saccharose 1,5 M
- Tris HCl 10 Mm

Les échantillons ainsi que le marqueur de taille moléculaire 1000 pb sont déposés au niveau des puits du gel d'agarose. La migration est effectuée à 99 Volts pendant 20 min en utilisant le tampon TBE (x1). Le gel a été photographié sur une table UV.

d) Analyse phylogénétique des bactéries.

Le génome bactérien comprend une séquence d'ADN codant pour l'ARNr 16S. L'analyse de cette séquence chez différentes espèces permet d'évaluer leur parenté évolutive.

Ainsi les produits de PCR ont fait l'objet d'un séquençage suivi d'une analyse par comparaison des séquences dans une base de données et une construction d'arbre phylogénétique.

e) Séquençage.

Les produits de PCR visualisés sur gel d'agarose ont fait l'objet d'un séquençage par la méthode de Sanger par un séquenceur automatique (BigDye Terminator cycle sequencing kit V3.1 (Applied Biosystems)). Le principe de cette méthode est basé sur l'interruption aléatoire de l'élongation de l'ADN par des didésoxynucléotides (ddNTP) marqués par un fluorochrome.

Ces derniers, excités par un faisceau de laser, produiront des signaux fluorescents dont la collecte au niveau des capillaires permettra de déterminer la séquence en nucléotides (Lassiter, 2001).

Les produits de PCR ont été purifiés selon les instructions du manufacturier. Les produits PCR purifiés sont introduits à une extrémité des capillaires par électro-injection. Les fragments sont séparés en fonction de leur taille. Les résultats se présentent sous forme d'un affichage de couleur en corbe qui est traduit par un logiciel d'analyse de séquences.

4.5. Pouvoir fermentaire des isolats.

L'acidification du lait par les bactéries lactiques est essentiellement due à la production d'acide lactique qui est plus ou moins importante selon la souche lactique. Ce caractère est très recherché en industrie laitière, il dépend de l'aptitude de la souche à dégrader le glucide et à résister à l'acidité de milieu. La mesure de l'activité acidifiante consiste à suivre d'une part l'évolution du pH des différentes cultures en fonction du temps et d'autre part à doser simultanément l'acidité Dornic totale (Hadeef, 2012).

4.5.1. La cinétique d'acidification

Les pré-cultures des isolats retenus ont été inoculées dans tubes à 10 ml de lait écrémé stérile. Le lait écrémé est stérilisé à 110 °C pendant 10 min. Dès que le lait est coagulé, on transfère 2,5 ml de la culture dans un flacon contenant 250 ml de lait écrémé stérile, puis on homogénéise. Le contenu du flacon est reparti dans des tubes stériles a raison de 10 ml par tube, puis les tubes sont incubés à 30°C dans un bain marie. La quantité d'acide lactique et le pH est calculé tous les 2h (0h, 2h, 4h, 6h, 8h, 10h, 12h, 14h, 16h, 24h, 48h). La mesure du pH a été réalisée par un pH-mètre (Fig. 20).

L'acidité totale a été déterminée en titrant 10 ml de la culture avec la solution basique NaOH N/9 en utilisant l'indicateur de pH la phénolphtaléine (Zarour *et al.*, 2012). Pour mesure en °D, il suffit de disperser 5 gouttes de phénolphtaléine dans le mélange et de titrer du NaOH 1/9 à l'aide d'une burette sachant que $1^{\circ}\text{D} = V_{\text{NaOH}} \times 10$ (Mami, 2007)

V NaOH: Volume de NaOH utilisé pour titrer l'acide lactique contenu dans les 10 ml de lait.

Un degré dornic correspond à l'acidité apportée par 0,1g d'acide lactique dans un litre de lait.

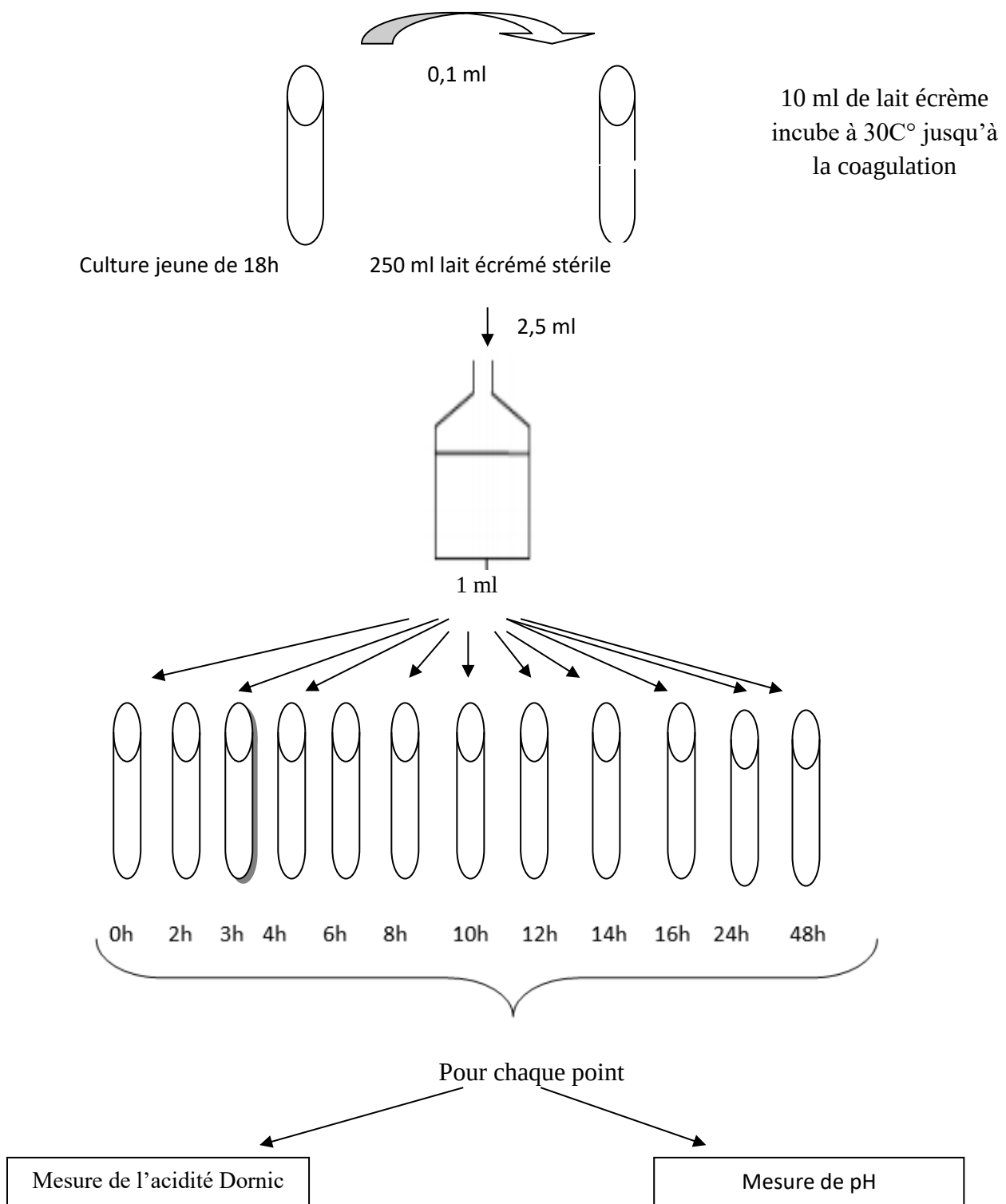


Figure 20. Les étapes de l'étude de la cinétique d'acidification



4.5.2. La cinétique de croissance

Les prélèvements ont été effectués à 0 h, 2 h, 6 h, 12 h, 24 h et 48 h dont 1 ml de chaque tube a été dilué dans 9 ml d'eau physiologique stérile. Les dilutions décimales successives appropriées ont étéensemencées en profondeur en utilisant le milieu MRS gélifié (Zarour *et al.*, 2012). On ensemence deux boîtes par dilution pour être conforme à la méthode de dénombrement en milieu solide (Kihl, 1996) . Les boîtes ont été incubées à 30°C pendant 48h (Fig. 21)

On calcule d'après la phase exponentielle de la courbe de croissance les paramètres d'évaluation du développement cellulaire :

μ : le taux de croissance spécifique (en heure⁻¹ (h⁻¹))

G : le temps de génération (temps nécessaire au dédoublement cellulaire, en minutes min)

$$U=n/t=\log N_t-\log N_0/0,301\times t$$

$$n=\log N_t-\log N_0/0,301$$

$$\mu=\log N_t-\log N_0/0,301\times t$$

Tandis que pour le temps de génération ou le temps que met une cellule à se diviser ce calcule comme suit :

$$G=60\text{min}/\mu.$$

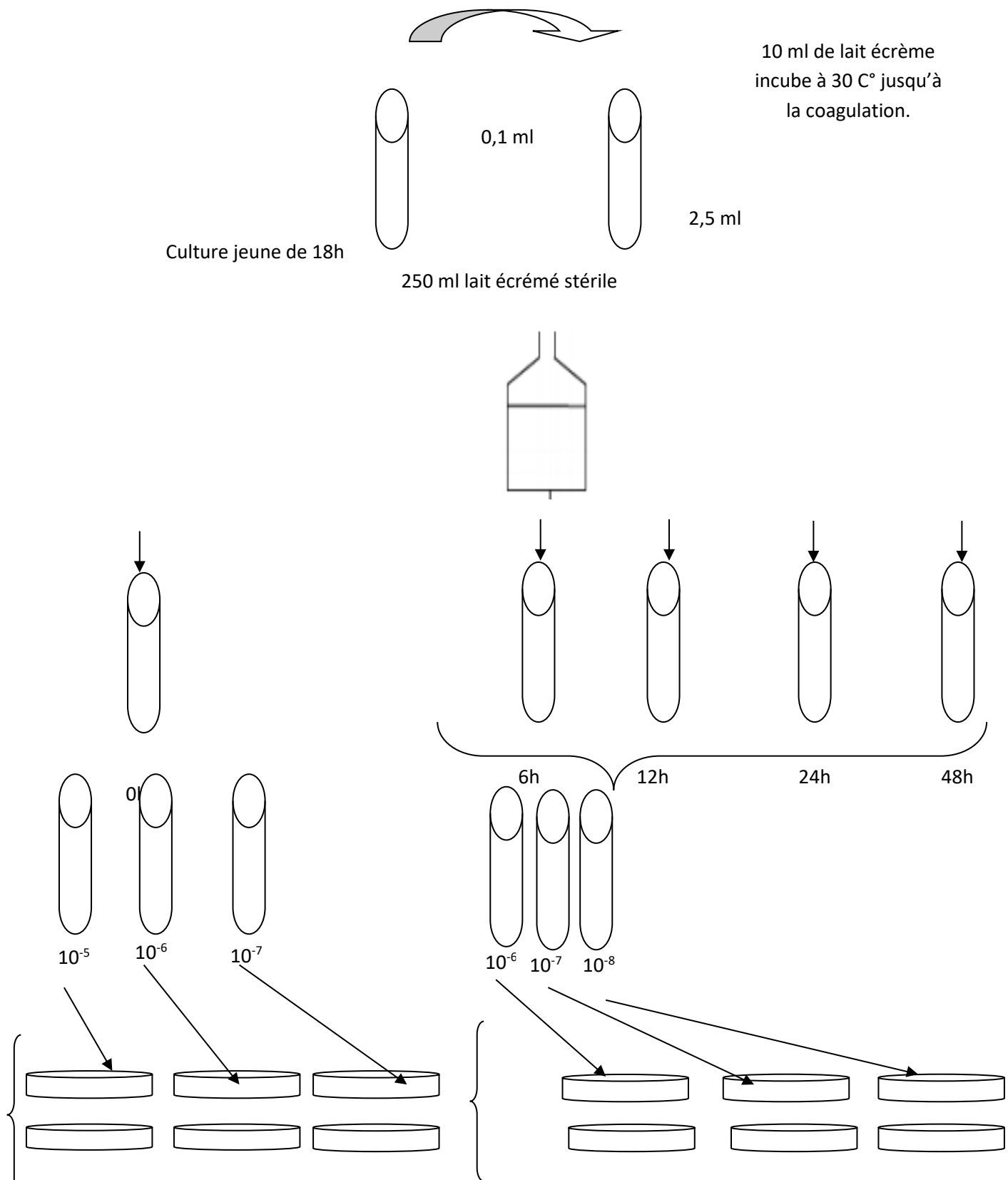


Figure 21. Schéma résumant la méthodologie utilisée pour l'étude de cinétique de croissance.

4.6. Mise en évidence des interactions bactériennes

La recherche d'éventuelles interactions entre nos isolats par production de substances inhibitrices est réalisée selon Fleming *et al.* (1975) (Fig. 22). La technique consiste à cultiver les deux isolats dans le même milieu en double couches. Des isolats sont ensemencés en touches sur MRS agar à partir des cultures jeunes et incubé à 30°C pendant 24h. après incubation, on verse 10 ml de milieu MRS. Après solidification du milieu, le 2ème isolat est inoculé par écouvillonnage les boîtes de Pétri sont mise à 30°C pendant 48h.

La lecture des résultats consiste à déterminer la présence d'un halo clair autour des isolats ensemencés en touche et de mesurer leurs dimensions.

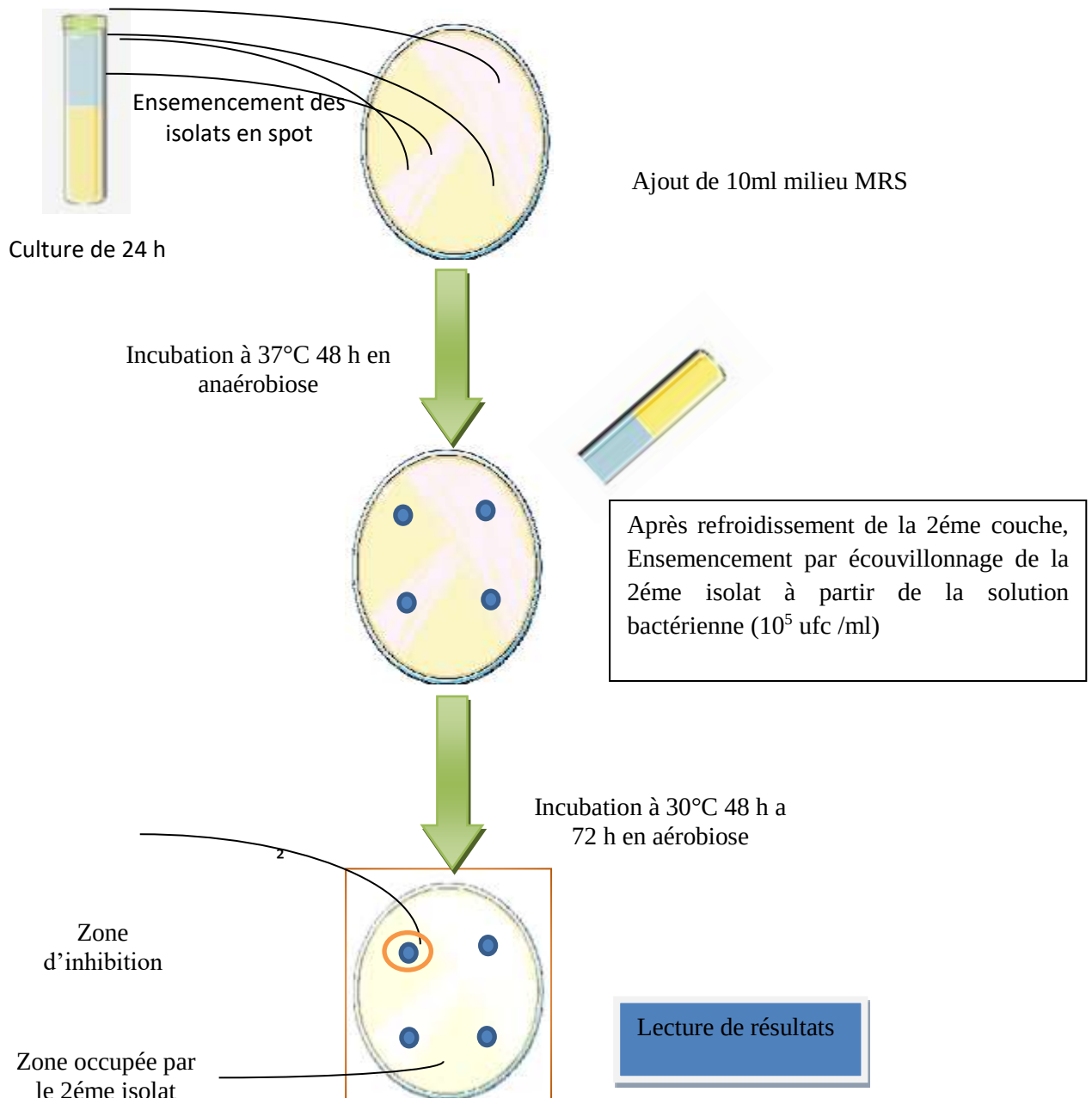


Figure 22. La méthode de doubles couches (agar overlay assays)

4.7. La cinétique de croissance en culture mixte en milieu lait.

Afin d'augmenter l'efficacité de la fermentation, des cultures mixtes sont effectuées pour détecter le type d'interaction au cours de leur croissance en milieu lait. Cette technique a été utilisée la première fois pour lutter contre les attaques phagiques. Elle permet de fermenter le lait et empêcher le développement des germes indésirables. Les pré cultures des souches pures sontensemencés sur lait et incubée pendant 18h à 30°C jusqu'à coagulation. Afin d'étudier la cinétique de croissance de nos isolats, les isolats choisis ont été choisies et inoculées dans le milieu lait écrémé qui a été préparé à partir de la poudre de lait écrémé et reconstitué à 10%, stérilisé à 110°C pendant 10 minutes, refroidi à 20°C. Les cultures sont réparties en tubes et incubées à 30°C pendant 24h. Chaque deux heures, les échantillons ont été prélevés de façon aseptique pour déterminer le pH, l'acidité Dornic, les taux de croissance (Zarour *et al.*, 2012).

Matériel et méthodes

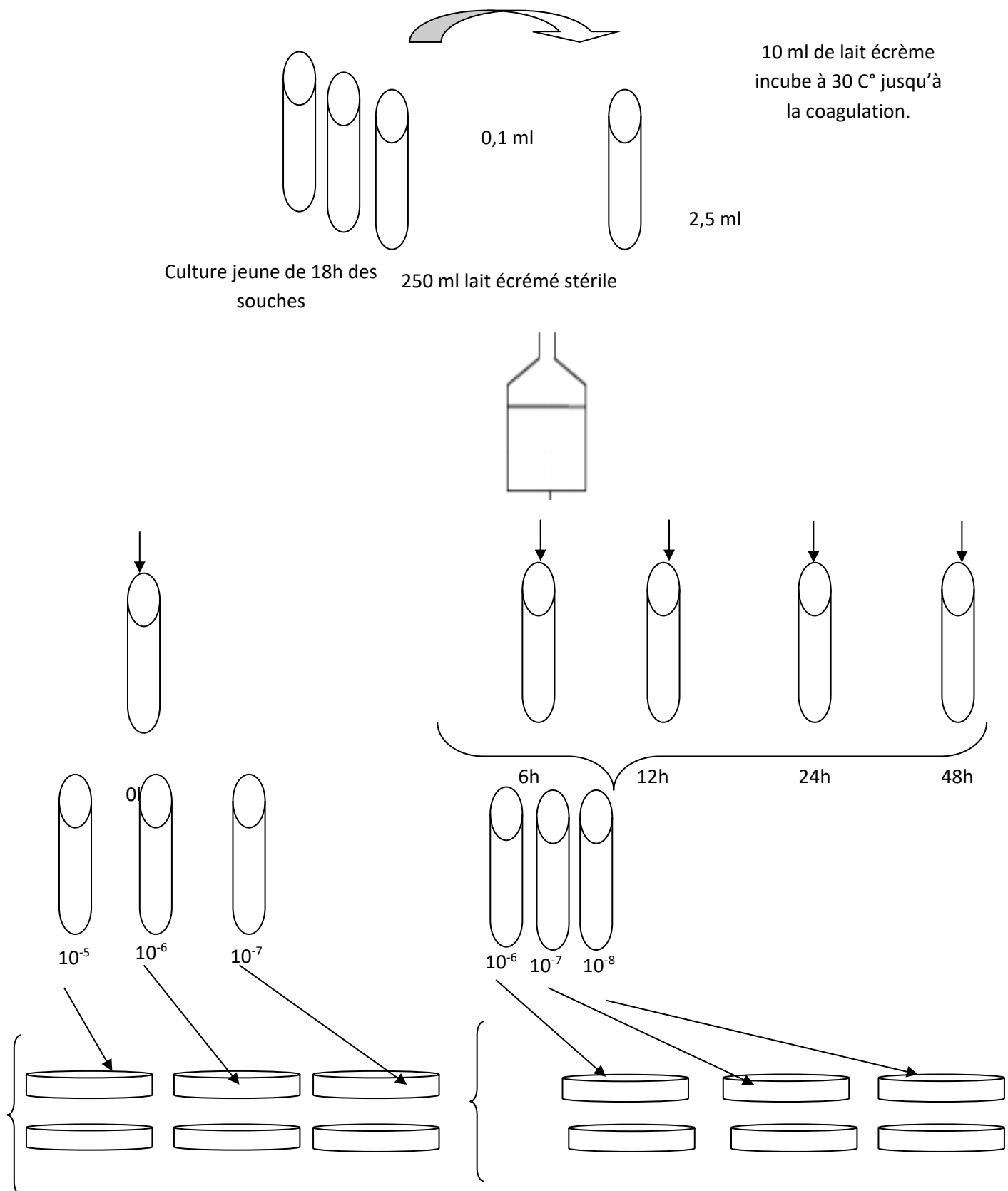


Figure 23. Schéma résumant la méthodologie utilisée pour l'étude de Cinétique de croissance en culture mixte.

Résultats et Discussion

Chapitre 3 : Résultats et discussion

Tous les prélèvements du lait cru de chamelle ont été effectués entre 2014 et 2017 dans les régions Sud-Ouest d'Algérie. Suite à une enquête avec les éleveurs de chameau, une chamelle peut produire environ 4,5 litres de lait par jour dans les régions du Sahara (El-Abdadla, Béni-Abbès et Tindouf). Dans les hauts plateaux, ce taux de production journalier est légèrement élevé et peut atteindre une quantité moyenne de 7 à 8 litres par jour. La première partie des résultats de cette thèse est consacrée à l'étude des caractères physicochimiques du lait de chamelle. L'étude microbiologique est traitée dans la deuxième partie des résultats.

1. Les analyses physico-chimiques

Les résultats des paramètres physico-chimiques du lait cru de chamelle collectés à travers les régions considérées sont présentés dans le Tableau (15). Elles ont été réalisées seulement sur deux échantillons pour donner un aperçu sur la qualité physicochimique. Nous avons comparé la composition chimique du lait cru et du lait pasteurisé commercialisé à Oran. Certaines analyses ont été effectuées au laboratoire privé El-Fath Oran. Ces analyses comprennent les paramètres suivants :

1.1. Le pH

Les valeurs moyennes de la mesure du pH obtenues montrent que le lait cru de chamelle a un pH de 6,56. En revanche le lait de chamelle pasteurisé a un pH légèrement acide et il est de 5,56. Au Maroc, le lait frais de chamelle a un pH qui varie de 6,31 à 6,64 (Ismaili *et al.*, 2016), un pH élevé de 6,7 a été enregistré en Egypte (El-Agamy, 1983). Le pH du lait se situe entre 6,5 et 6,7 (Shalash, 1979), ceci est similaire au pH du lait cru de dromadaire d'Egypte (Elhosseny *et al.*, 2018). Lorsque le lait de chamelle est laissé au repos, l'acidité augmente rapidement (Ohri et Joshi, 1961) ce que nous avons remarqué dans le lait de chamelle pasteurisé. Ce constat a été rapporté par des auteurs à travers certaines régions du monde, en Algérie ($\text{pH}=6.31\pm0.15$) (Siboukeur, 2007), et en Tunisie ($\text{pH} = 6,53$) (Boudjenah-Haroun *et al.*, 2011). La teneur en acide lactique augmente de 0,03% après 2 heures de repos à 0,14% après 6 heures.

1.2. L'acidité dornic

Les échantillons de lait cru camelin analysés (Tab. 15), présentent une acidité titrable moyenne de l'ordre de 15,4°D (1,54 g /l). Cette valeur est égale à celle du lait bovin qui est de l'ordre de 15°D (Sawaya *et al.*, 1984), se rapproche de celle rapportée par Siboukeur (2007) soit 18,2 °D. Toutefois, de nombreux auteurs rapportent des valeurs égales à 15°D, tels que Abu-Lehia (1989) en Arabie Saoudite (15°D). Le lait fraîchement trait est légèrement acide. Cette acidité

provient essentiellement, des protéines, des phosphates et du CO₂ dissous. Il acquiert ensuite une acidité, dite acidité développée car elle est provoquée par l'acide lactique et autres acides issus de la dégradation des sucres par des micro-organismes (Badaoui, 2000). L'acidité titrable du lait dépend du nombre de moles d'acides présents dans ce produit est inversement proportionnelle à son pH (Mathieu, 1998). Pour la valeur du lait camelin pasteurisé commercialisé de l'ordre de 30,6°D (3,06 g/l) elle est plus élevée que toutes les précédentes études comparées. Elhosseny *et al.* (2018) ont enregistré des valeurs d'acidité Dornic qui varient entre 9°D et 30°D dans le lait cru de chamelle de différentes régions d'Egypte. Cette valeur d'acidité Dornic coagule le lait bovin. En revanche, le lait camelin reste liquide vu l'absence de la caséine Kappa responsable de la coagulation des autres laits. Ismaili *et al.* (2016) ont noté une acidité dornic du lait cru de chamelle au Maroc variant entre 16 et 22°D.

1.3. La densité

La valeur moyenne de la densité des échantillons du lait est de 1,032 pour le lait camelin cru et pasteurisé, elle se rapproche des valeurs (1,029-1,034) signalées par Iqbal *et al.* (2001), Hadeef *et al.* (2018)). En Algérie des valeurs proches ont été rapportées par Siboukeur (2007) et Hadeef *et al.* (2018). En 2016 Ismaili *et al.* ont trouvé une densité variant entre 1,022 et 1,031 dans le lait cru de chamelle du Maroc.

1.4. Le point d'ébullition.

Les échantillons de lait camelin cru analysés ont un degré d'ébullition à 68,79°C plus élevé que le lait camelin pasteurisé commercialisé qui est de l'ordre de 58,95°C. Le point d'ébullition dans le lait est plus élevé que celui de l'eau pure à cause des composants dissous. C'est l'une des autres propriétés colligatives.

1.5. La teneur en eau.

La teneur totale en eau des échantillons de lait camelin pasteurisé commercialisé analysés est égale à 78.058%, celle-ci semble plus faible par rapport à celle du lait camelin cru qui est de l'ordre de 82.492% (Tab. 15). Les valeurs moyennes du taux d'eau dans le lait camelin trouvés en Egypte par El-Agamy (1983) et Elhosseny *et al.* (2018) sont élevées et se rapprochent de 87,84%. La teneur en eau la plus élevée de 90,20% a été enregistrée en Inde par (Konuspayeva *et al.*, 2009). En travaillant sur le lait camelin de l'Ethiopie, Kula (2016) a obtenu des valeurs d'eau qui varient de 86 à 88%.

D'une manière générale, l'eau est présente dans le lait en quantité suffisante pour couvrir les besoins du chamelon. En cas de restriction des chameaux en eau alimentaire, le lait se traduit

par une dilution (86%), dans un régime déficient, elle s'élève à 91%. Il semble que c'est un mécanisme d'adaptation au manque d'eau permettant de protéger le chamelon de la soif (Siboukeur, 2007). La teneur en humidité (ou en solides totaux) des aliments est importante pour les fabricants de produits alimentaires pour diverses raisons. L'humidité est un facteur important dans la qualité des aliments, la préservation et la résistance à la détérioration. La détermination de la teneur en humidité est également nécessaire pour calculer la teneur en d'autres constituants alimentaires sur une base uniforme (c'est-à-dire, en poids sec). La matière sèche qui reste après l'analyse de l'humidité est communément appelée solides totaux.

1.6. La matière sèche

La teneur en matière sèche totale des échantillons de lait cru analysés est égale à 175,08 g/l (Tab. 13). Celle-ci semble plus élevée par rapport à celle du lait bovin (128 g/l) (Alais, 1984). Les travaux réalisés sur le lait camelin ont enregistré des valeurs de matière sèche variant entre 92,5 g/l à 155,8 g/l (Indra et Erdenebaatar, 1998, Abdellah *et al.*, 2015, Hadeef *et al.*, 2018). Ramet (1994) a indiqué que l'une des principales caractéristiques du lait camelin est en effet, sa teneur en matière sèche réduite par rapport à celle des laits d'autres espèces. Cette teneur varie également en fonction du stade de lactation (Bengoumi *et al.*, 1994). Concernant, les échantillons de lait camelin pasteurisés commercialisés, ils présentent des valeurs inférieures par rapport au lait camelin cru. Le fait de la réduction de la charge microbienne par la pasteurisation est dû à l'effet du micro-organisme fermentatif.

1.7. Le dosage des protéines

1.7.1. Les protéines totales

Les résultats indiquent une teneur moyenne en protéines totales de lait camelin cru et pasteurisé (commercialisé) est égale à 26,55 g/l et 26,22 g/l respectivement. Celle-ci se rapproche de celles du lait bovin (32g/l). Le taux que nous avons relevé lors de la présente étude se situe dans la fourchette des travaux cités par Mohamed (1989) et (Elhosseny *et al.*, 2018). Il est plus faible que celui rapporté par Siboukeur (2007) 35,68 g/l. Il est toutefois comparable à celui rapportés par Mehaia *et al.* (1995) pour les races Majaheem et Hamra (29.1 g/l et 25.2 g/l).

La teneur protéique, varie en fonction des stades de lactation. Selon Kamoun (1995), les deux premiers mois de lactation se caractérisent par une diminution des taux protéiques et butyreux du lait camelin. Ces derniers atteignent une valeur minimale coïncidant avec le pic de lactation, puis retrouvent, en fin de lactation, un niveau comparable à celui du départ.

Néanmoins, la teneur en protéines totales dans les échantillons de lait pasteurisé semble légèrement inférieure à celle du lait cru.

1.7.2. La caséine.

La teneur moyenne en caséines des échantillons de lait cru analysé est égale à 21,03 g/l, soit 79,23% des protéines totales. Cette teneur est située dans la fourchette citée par Kamoun (1995) (23 g/l). Les échantillons de lait pasteurisé semblent présenter des teneurs en caséines, légèrement inférieures à celle du lait cru (20,77g/l).

1.8. La teneur en matière grasse

La teneur moyenne (Tab. 15) en matière grasse du lait cru de dromadaire analysé est égale à 58,14g/l. et de 38 g/l pour le lait camelin pasteurisé commercialisé. Des valeurs inférieures de matières grasses (25 et 37 g/l) ont été enregistrées en Egypte (Elhosseney *et al.*, 2018). Les valeurs obtenues dans cette étude sont comparables à celles rapportées par Alloui-Lombarkia *et al.* (2007).

Il est établi que le type de race, le rang de la traite et l'alimentation influe sur le taux de la matière grasse. En effet, la traite du matin donne un lait relativement pauvre en matière grasse en comparaison avec celui des autres traites, bien que quantitativement plus importante (Kamoun, 1995).

Les résultats enregistrés ont montré que la teneur en matière grasse, reste globalement inconstante. Après la pasteurisation. La matière grasse du lait camelin renferme des acides gras essentiels tels que l'acide linoléique contrairement à celle du lait bovin dans laquelle les acides gras à courtes chaînes non saturée est prédominante (Siboukeur, 2007).

1.9. La teneur en glucides

D'après les résultats compilés dans le tableau 15, La teneur moyenne en glucides totaux du lait cru analysé est égale à 24.03g/l. et est inférieure à celle du lait camelin pasteurisé commercialisé qui est de 48.4g/l. La teneur en lactose du lait camelin cru est de 16.88g/l comparée à la teneur en lactose du lait pasteurisé commercialisé qui est de 48.4g/l. la teneur de lactose du lait pasteurisé se situe dans la fourchette citée par Mehaia *et al.* (1995) Siboukeur (2007) et Elhosseney *et al.* (2018).

1.10. La vitamine C

La teneur en vitamine C des échantillons du lait camelin analysé est égale à 68,2 mg/l, elle est nettement supérieure à 41,40 mg/l $\pm$ 8,20 trouvé par Farah *et al.* (1992) alors que Mehaia *et al.* (1995) font état de proportions nettement plus faibles (24,9 mg/l).

Malgré cette variabilité, il demeure entendu que la teneur en vitamine C du lait camelin est très largement au-delà du seuil relevé dans le lait bovin (qui se situe autour de 20 mg/l). Cette

caractéristique recueille davantage l'intérêt nutritionnel du lait de dromadaire pour son apport important en cette vitamine C au bénéfice des populations relativement privée d'apports importants de fruits et de légumes frais. Cependant, la teneur en vitamine C du lait pasteurisé commercialisé qui est de 11,3 mg/l, semble largement inférieure par rapport au lait cru. *Renner (1989)* a signalé que la perte de la vitamine C après pasteurisation est de (10-25%).

1.11. Les sels minéraux

Le tableau 15, représente les éléments minéraux des deux échantillons du lait de chamelle. On constate que le taux de Calcium dans le lait camelin cru est élevé (1,04 g/l) par rapport au lait pasteurisé (0,67 g/l). En revanche, les éléments suivants ; Magnésium, Potassium et Chlorure, leur concentration est pratiquement doublée dans le lait camelin pasteurisé : 0,65, 0,35, 0,31 g/l respectivement. Les sels minéraux présents dans le lait de chamelle sont aussi diversifiés que ceux rencontrés dans le lait de vache. 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.). Au niveau quantitatif, si la composition en macroéléments (Na, K, Ca, Mg) est relativement similaire à celle du lait bovin, le lait camelin se caractérise néanmoins par des taux plus élevés en oligo-éléments (*Yagil et Etzion, 1980, Sawaya et al., 1984, Elamin et Wilcox, 1992, Bengoumi et al., 1994, Mehaia et al., 1995, Gorban et Izzeldin, 1997*). Les variabilités observées sont dues à des différences possibles dans les méthodes d'élevage, d'alimentation et d'analyse (*Al haj et Al Kanhal, 2010*). *Konuspayeva et al. (2010)* ont indiqué que la concentration de Fe variait de 1,00 à 2,67 mg/l avec une moyenne de 1,73 mg/l. *Konuspayeva et Faye (2011)* ont mesuré le Cu, le Zn, le Pb et le Cd dans le lait de chamelle cru et fermenté (shubat) provenant de différentes régions à haut risque de pollution. Ils ont trouvé que les concentrations de ces métaux lourds étaient en moyenne très faibles pour le Cu (<0,5 mg/L), normales pour le Zn (environ 5 mg/L) et le Cd, mais légèrement supérieures pour le Pb.

1.12. L'activité anti-oxydante

Les résultats des teneurs en composant phénolique sont représentés dans le tableau 15 qui montre que le lait camelin cru à une teneur 820 mg EAG/100 g qui est supérieure au lait camelin pasteurisé (commercialisé): 410 mg EAG/100 g Les laits crus pasteurisés et stérilisés semblent présenter une capacité antioxydante proche (*Zulueta et al., 2009, Habib et al., 2013*) et le chauffage du lait à 63°C pendant une heure n'affecte pas la capacité antioxydante (*Chen et al., 2003*). Si les traitements thermiques peuvent dénaturer certains antioxydants du lait comme le rétinol (l'une des trois formes de la vitamine A), les tocophérols (*Fox, 2003*), des temps plus

longs et/ou des températures plus élevées peuvent générer de nouveaux antioxydants en relation avec la réaction de Maillard, comme les mélanoidines (Calligaris *et al.*, 2004). Par conséquent, la combinaison temps-température des traitements thermiques joue un rôle important sur la capacité anti-oxydante du lait. Par ailleurs, durant le stockage la capacité anti-oxydante du lait tend à diminuer (Cloetens *et al.*, 2013). La capacité anti-oxydante des laits diffère selon l'espèce: des valeurs de 1,0, 1,7, 1,7, 2,1 et 2,8 mm TE/ml ont ainsi été rapportées respectivement pour le lait maternel, de vache, de jument, de bufflonne et de chèvre (Oner *et al.*, 2011). Ces différences s'expliquent principalement par des compositions différentes des laits en composés antioxydants. La capacité anti-oxydante plus élevée du lait de chèvre pourrait aussi être attribuée à une possible plus grande accessibilité en cours de digestion, comme suggéré chez des rats sevrés où la peroxydation lipidique s'avère plus élevée avec le lait de vache qu'avec le lait de chèvre (Khan *et al.*, 2017).

Cependant, les variations observées dans la composition du lait de chamelle pourraient être attribuées à plusieurs facteurs tels que les procédures analytiques de mesure, l'emplacement géographique, les conditions d'alimentation et les échantillons étant prélevés à partir de différentes races, en sus des d'autres facteurs, y compris le stade de lactation, et l'âge (Khaskheli *et al.*, 2004). L'origine géographique et les variations saisonnières ont été jugées également des facteurs les plus efficaces dans la composition du lait de chamelle. Konuspayeva (2007) a étudié l'effet de l'origine géographique sur le lait de chamelle et a montré que la composition du lait de chamelles qui vivent dans l'Est d'Afrique ont un contenu élevé de matières grasses que le lait de chamelle vivant en Afrique et en Asie occidentale.

La variation de la composition du lait de chamelle a également été observée pour les chameaux de la même race (dromadaire), mais domestiqués dans différentes parties du monde (Mehaia *et al.*, 1995). Une relation inverse a été constatée entre la matière solide totale dans le lait de chamelle et la consommation d'eau par les chameaux. Les données cités par Merzouk *et al.* (2013) indiquent que tous les composants à l'exception du lactose ont atteint leur maximum à la mi-hiver et étaient plus faibles dans la saison estivale. Par exemple, le taux de la matière sèche est de 13,9% en décembre et janvier, et de 10,2% en août en raison de la disponibilité de l'eau potable (Kamal *et al.*, 2007). Dans une autre étude, la teneur en matière grasse du lait de chamelle a diminué, passant de 4,3% à 1,1% en raison de l'augmentation de la teneur en eau du lait produit par les chameaux assoiffés (Yagil et Etzion, 1980). L'augmentation observée de la teneur en eau pourrait être attribuée à la diminution totale de matières sèches produites par les chameaux assoiffés. Le lait de chamelle de la région sud-ouest de l'Algérie est de couleur blanc

Résultats et discussion

mat, goût légèrement salé et d'un aspect plus visqueux que le lait de vache, qui est de couleur jaunâtre. Ces caractéristiques et surtout le goût du lait de chamelle diffèrent selon l'alimentation des animaux et la disponibilité en eau (Farah, 1993). L'ingestion de fourrages comme la luzerne, donne un goût sucré, certaines plantes halophytes le rendent salé (Farah et Bachmann, 1987). Le pâturage en milieu riche en plantes halophiles donne un goût salé au lait.

L'analyse physicochimique de lait du dromadaire de l'Ouest algérien a montré sa richesse en matière organique, protéines, glucide et matières grasses. Divers sels minéraux ont été détectés. Ce lait est très riche en vitamine C et possède un pouvoir antioxydant important

Résultats et discussion

Tableau 15. Représente les résultats récapitulatifs des analyses physico-chimiques et organoleptiques

Caractéristiques physico-chimiques et organoleptiques												
Echantillons		Couleur	Gout	Aspect	pH	Acidité (g/l)	Densité	Point d'ébullition (°C)		Activité antioxydante mg/100ml		
Echantillon I (Cru)	Test 1	Jaunâtre	L'égerment salé	Plus visqueux que celui du lait de vache	6,57	1,50	1,032	68,79		815		
	Test 2				6,56	1,58	1,032	68,80		825		
Moyenne					6,565	1,54	1,032	68,79		820		
Echantillon II (Pasteurisé)	Test 1	Blanc mat	L'égerment salé	L'égerment plus épais	5,56	3,06	1,032	57,9		405		
	Test 2				5,57	3,06	1,032	60		415		
Moyenne					5,565	3,06	1,032	58,95		410		
Compositions chimiques												
Echantillons		Teneur en eau %	Matière sèche %	Protéine totale (g/l)	Caséine (g/l)	Matière grasse (lipide) (g/l)	Glucides (d'oxyde cuivreux) (mg)	Lactose (mg)	Glucose (mg)	Vitamine C) (mg/l)	Oligoélément (minéraux) (mg/l)	
Echantillon I (cru)	Test 1	82,492	17,508	26,550	21,03	58,14	24,03	16,88	11,7	68,30	Calcium	1040
											Magnésium	340,2
	Test 2	82,492	17,508	26,551	21,03	58,14	24,03	16,88	11,7	68,10	Potassium	1950
											Chlorure	1775
MOYENNE		82,492	17,508	26,5505	21,03	58,14	24,03	16,88	11,7	68,20		
Echantillon II (pasteurisé)	Test 1	78,058	12,942	26,220	20,77	31,007	48,4	34,78	22,2	11,35	Calcium	760
											Magnésium	656,1
	Test 2	78,058	12,942	26,223	20,77	45	48,4	34,78	22,2	11,25	Potassium	3510
											Chlorure	3195
MOYENNE		78,058	12,942	26,2215	20,77	38,0035	48,4	37,78	22,2	11,30		

2. Isolement et identification des bactéries lactiques du lait de chamelle

L'analyse microbiologique a été effectuée sur 16 échantillons du lait cru de chamelle provenant des régions citées précédemment. Chaque échantillon est un mélange de lait de 5 chameaux. A partir des milieux MRS et M17-triméthoprine, 30 colonies présentant une morphologie macroscopique proche des bactéries lactiques ont été choisies (Fig. 24 et 25). Tous les isolats représentatifs ont subi la coloration de Gram et le test de la catalase. Ces deux derniers tests nous ont permis d'écarter tous les isolats à Gram négative et catalase positive.

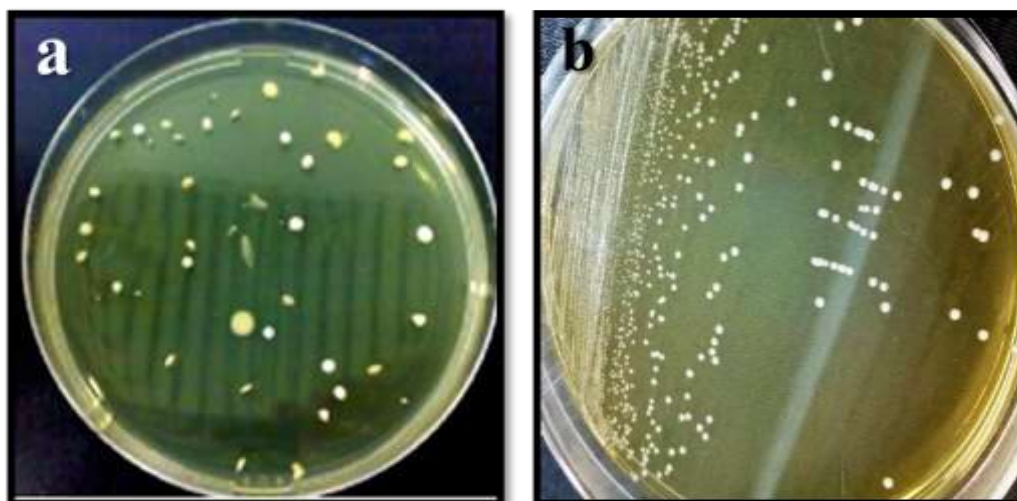


Figure 24. Aspect morphologique de différentes colonies des bactéries lactiques sur milieu MRS
a : isolement, b : purification.

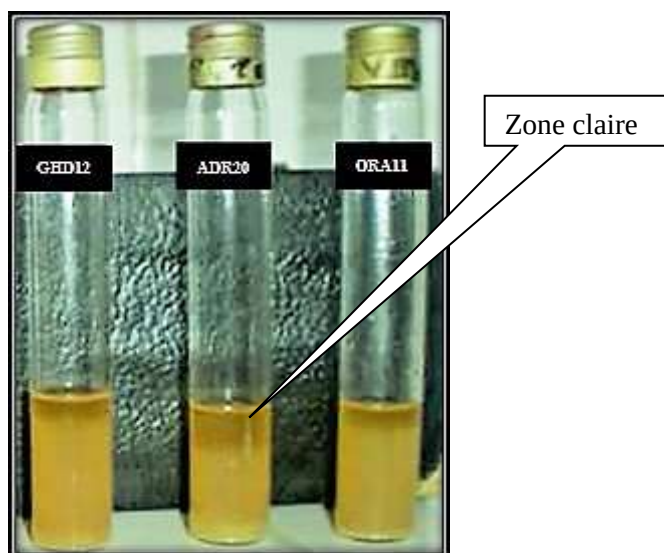


Figure 25. Aspect des cultures des isolats retenus sur milieu MRS liquide, la zone transparente supérieure indique le type respiratoire microaérophile

2.1. Sélection des bactéries lactiques

A partir des boîtes des dilutions les plus élevées, 460 isolats ont été purifiés et pré-identifiés avec l'observation morphologique macroscopique et microscopique. Le type de gram et la réaction de la catalase, la mobilité, la non-présence de spores ont permis de retenir que les 246 souches qui répondent à ces critères. Les isolats qui ont été isolés à partir de différents échantillons étudiés sont repartis comme le suivant (Tableau 16)

Tableau 16. Répartition et nombre d'isolats lactique selon la forme et le point d'échantillonnage.

Position géographique	Point d'échantillonnage	Nombre des isolats			Proportions (%)	
		Total	Bacille	Cocci	Cocci	Bâtonnet
Sud-ouest de l'Algérie	El Abdadla	31	15	16	51,61	48,39
L'ouest de Algérie	Oran	26	8	18	69,23	30,77
Sud-ouest de Algérie	Tabelbala	33	11	22	66,67	33,33
Sud-ouest de Algérie	Adrar	34	13	21	61,76	38,24
Sud-ouest de Algérie	Mecheria	32	12	20	62,50	37,50
Sud-ouest de Algérie	Beni-Abbès	30	7	23	76,67	23,33
Sud-ouest de Algérie	Timimoun	32	9	23	71,88	28,13
Centre de Algérie	Ghardaya	28	5	23	82,14	17,86
Total		246	80	166	67,48	32,52

Le nombre d'isolats retenu par zone varie de 26 isolats (10%) de la région d'Oran à 34 isolats (14%) de la région d'Adrar. En général, nos résultats montrent que les isolats sont repartis selon la forme, en cocci et en bâtonnet, qui représente respectivement 67,48% et 32,52 %. La proportion en cocci et bâtonnet des échantillons de la région d'El-Abdadla est presque équilibrée (51,61 et 48,39 %). Les analyses ont démontré la dominance des formes cocci dans tous les échantillons. Les échantillons de Ghardaïa révèlent la dominance la plus importante des formes cocci avec une proportion de 82,14 % (Tab.16, Fig.26 et Fig. 27).

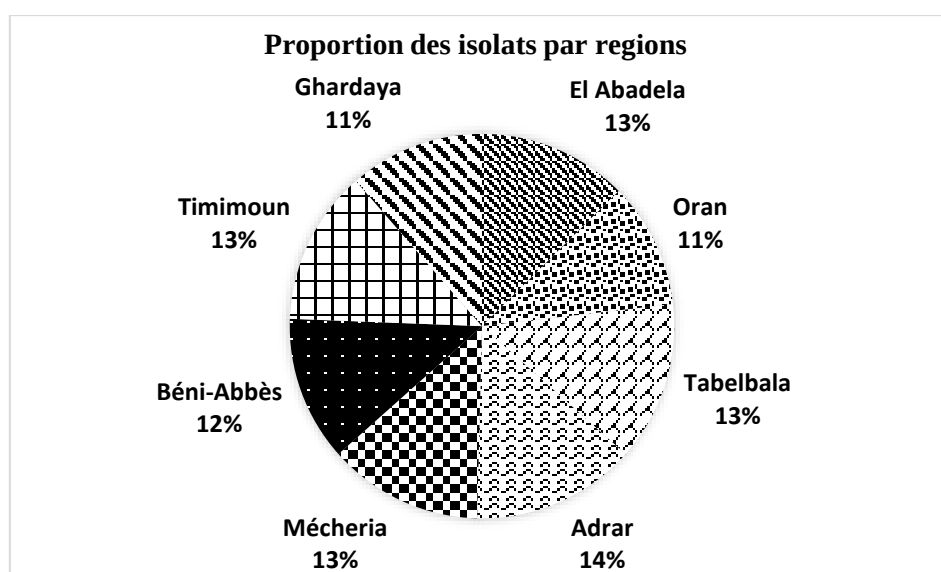


Figure 26. Pourcentage des isolats de bactéries lactique selon les régions d'échantillonnage.

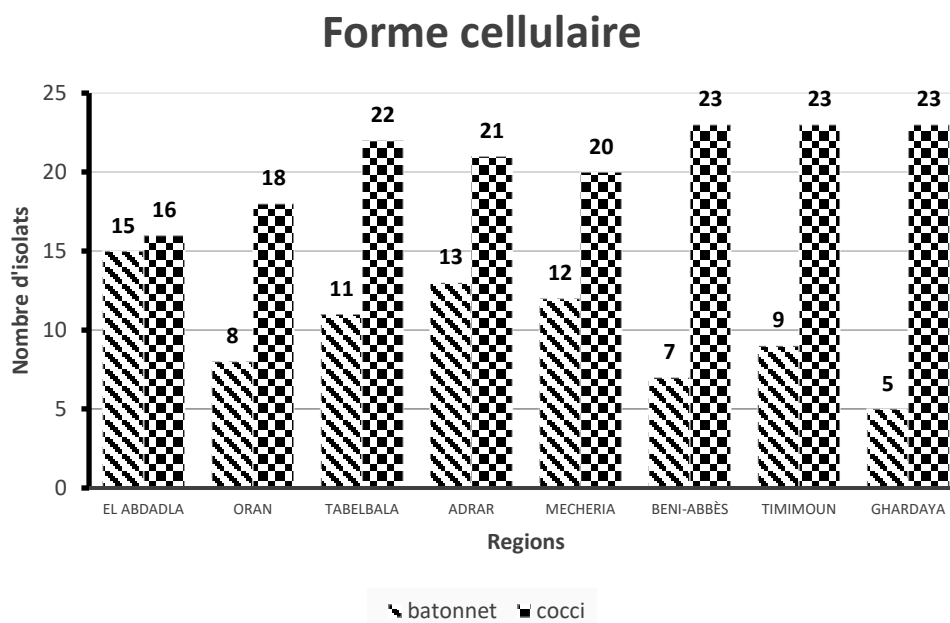


Figure 27. Distribution des formes cellulaires cocci et bâtonnet en fonction des régions d'échantillonnage.

Les travaux réalisés en Algérie sur le lait de chèvres par Saidi *et al.* (2005), Drici *et al.* (2010) et Abdellah *et al.* (2015) ont trouvé des résultats similaires concernant la dominance des cocci dans le lait cru de chèvre (plus de 60%). En Tunisie, Fguiri *et al.* (2015) ont signalé la dominance des cocci dans le lait des dromadaires (60 %). Au Maroc, Khedid *et al.* (2009) et Ismaili *et al.* (2016) ont noté un taux de formes cocci qui dépasse les 60 %. Récemment Fugl *et al.* (2017) ont trouvé un taux de cocci très élevé qui a atteint 90%. Nous pouvons expliquer cette augmentation de taux de cocci dans le lait de chèvre par plusieurs facteurs entre autres par les conditions physico-chimiques qui favorise le développement et la croissance des cocci (composition de milieu de culture, température d'incubation, oxygène... etc.).

2.2. Examen morphologique

Au total 460 bactéries étaient isolées sur milieu MRS (n= 159) , sur milieu MSE (n=58) et sur milieu M17 (n=243). Ces isolats ont été purifiés sur milieu MRS par des repiquages successifs. L'étude macroscopique des colonies montre différents aspects des colonies. Il est à noter que les formes arrondies, bombées, généralement lenticulaires, de couleur blanche, à crème translucides sont dominantes. Nous signalons que les cocci donnent de grosses colonies par rapport aux bâtonnets qui se développent lentement et produisent de petites colonies.

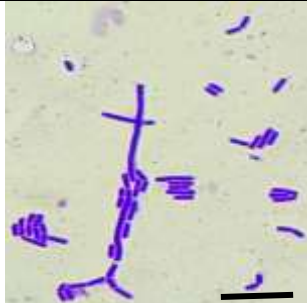
En milieu liquide, le développement des cultures par l'apparition de trouble est observé dans la partie profonde du tube. La partie supérieure reste transparente ce qui nous oriente vers le type respiratoire micro aérophile. Certains isolats ont produit des colonies visqueuses qui indiquent la production des exopolysaccharides.

Sur un total de 460 souches, 246 souches étaient Gram-positives, catalase-négatives et non-sporulées. Les observations microscopiques ont révélé deux types de formes cellulaires : les cocci avec différents modes d'associations (n=166), et les bâtonnets (n=80).

La forme cellulaire et le mode d'association ont permis de séparer les cocci en plusieurs groupes. Le premier groupe possède des petites cellules arrondies et associées en chainettes. Le second groupe forme de grosses cocci arrondies isolées, associées en diplocoques , en petites chaines et en amas. Le troisième groupe forme des cellules ovoïdes et associées en diplocoques et en chainettes plus au moins longues (n=34) (Tab.17, 18 et 19).

Le nombre de colonies donnant des formes cellulaires en bâtonnets est de 80. Le mode d'organisation et d'association cellulaire varie selon la forme (courte, longue) certaines cellules sont isolées. Le mode de regroupement cellulaire est en chainette ou palissade (Tab.17, 18 et 19).

Tableau 17. Aspect macroscopique et microscopique des isolats de forme bâtonnet (barre = 10µ)

Code isolat	Aspect Macroscopique	Aspect Microscopique
ADR9		
TMN18		
MEC5		
ADR15		
TAB14		

(Tableau 17 suite Aspect macroscopique et microscopique des isolats de forme bâtonnet (barre = 10µ))

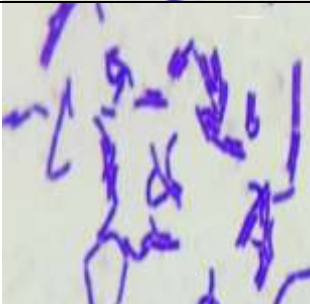
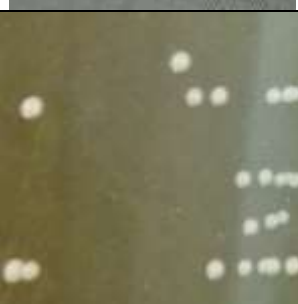
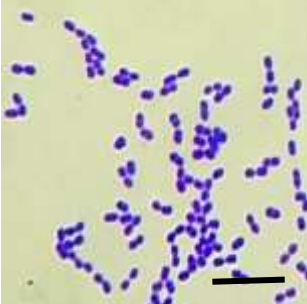
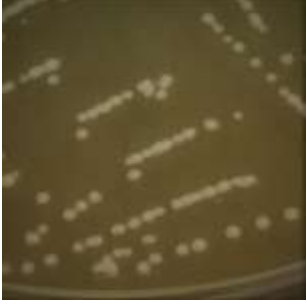
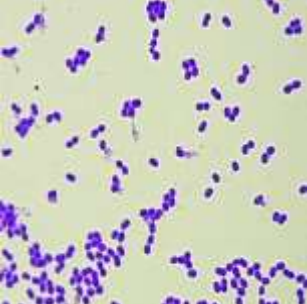
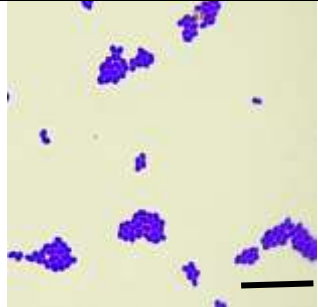
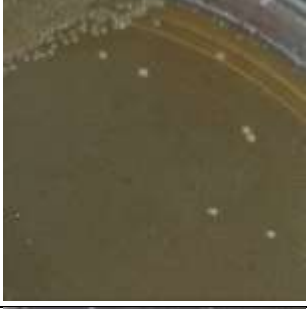
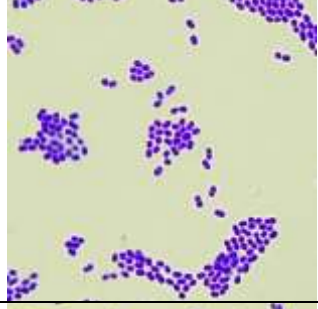
Code isolat	Aspect Macroscopique	Aspect Microscopique
ORA13		
BAB17		
GHD12		
ABD18		
BAB16		



Tableau 18. Aspect macroscopique et microscopique des isolats de forme cocci (barre = 10 μ)

Code isolat	Aspect Macroscopique	Aspect Microscopique
ABD28		
ADR34		
ORA 15		
BAB10		
GHD17		

(Tableau 18 suite. Aspect macroscopique et microscopique des isolats de forme cocci(barre = 10µ))

Code isolat	Aspect Macroscopique	Aspect Microscopique
MEC3		
ADR21		
TAB3		
TMN6		
GHD22		

Résultats et discussion

Tableau 19. Description de l'aspect microscopique des isolats retenus.

Souche	Aspect microscopique	Souche	Aspect microscopique	Souche	Aspect microscopique
ABD1	Cocci, diplocoques et en chaînette	ORA3	Diplocoques en amas	TAB1	Cocci ovoïde en petite chaîne
ABD2	Bâtonnet moyenne isolées et groupées en chaîne	ORA4	Cocci en longue chaîne	TAB2	Isolé, diplocoques et en amas
ABD3	Diplocoques en amas	ORA5	Isolée, en diplocoques	TAB3	Diplocoques et en chaînette
ABD4	Bâtonnets fins en dipolo et groupées palissade	ORA6	Cocci, diplocoques et en chaînette	TAB4	Cocci, diplocoques et en chaînette
ABD5	Isolée, en diplocoques	ORA7	Bâtonnets fins en dipolo et groupées palissade	TAB5	Bâtonnets fins en dipolo et groupées palissade
ABD6	Bâtonnet isolé, en diplo et en petite chaîne	ORA8	Cocci en longue chaîne	TAB6	Isolée, en diplocoques
ABD7	Bâtonnet isolé, en diplo et en petite chaîne	ORA9	Isolé, en diplo et en petite chaîne	TAB7	Bâtonnet isolé, en diplo et en petite chaîne
ABD8	Cocci en longue chaîne	ORA10	Cocci ovoïde en petite chaîne	TAB8	Isolée, en diplocoques
ABD9	Diplocoques et en chaînette	ORA11	Bâtonnet isolé, en diplo et en petite chaîne	TAB9	Bâtonnet isolé, en diplo et en petite chaîne
ABD10	Bâtonnets fins en dipolo et groupées palissade	ORA12	Isolé, diplocoques et en amas	TAB10	Isolée, en diplocoques
ABD11	Bâtonnet moyenne isolées et groupées en chaîne	ORA13	Bâtonnet moyenne isolées et groupées en chaîne	TAB11	Bâtonnet moyenne isolées et groupées en chaîne
ABD12	Diplocoques en amas	ORA14	Cocci ovoïde en petite chaîne	TAB12	Bâtonnet isolé, en diplo et en petite chaîne
ABD13	Bâtonnet isolé, en diplo et en petite chaîne	ORA15	Diplocoques et en chaînette	TAB13	Isolé, diplocoques et en amas
ABD14	Bâtonnet isolé, en diplo et en petite chaîne	ORA16	Bâtonnets fins en dipolo et groupées palissade	TAB14	Bâtonnets fins en dipolo et groupées palissade
ABD15	Isolée, diplocoques	ORA17	Isolé, diplocoques et en amas	TAB15	Diplocoques en amas
ABD16	Bâtonnets fins en dipolo et groupées palissade	ORA18	Isolée, en diplocoques	TAB16	Diplocoques en amas
ABD17	Diplocoques	ORA19	Bâtonnet moyenne isolées et groupées en chaîne	TAB17	Bâtonnet isolé, en diplo et en petite chaîne
ABD18	Bâtonnet isolé, en diplo et en petite chaîne	ORA20	Isolé, diplocoques et en amas	TAB18	Cocci ovoïde en petite chaîne
ABD19	Isolé, diplocoques et en amas	ORA21	Cocci ovoïde en petite chaîne	TAB19	Isolé, diplocoques et en amas
ABD20	Cocci ovoïde en petite chaîne	ORA22	Bâtonnet moyenne isolées et groupées en chaîne	TAB20	Bâtonnet moyenne isolées et groupées en chaîne
ABD21	Bâtonnet isolé, en diplo et en petite chaîne	ORA23	Diplocoques en amas	TAB21	Cocci, diplocoques et en chaînette
ABD22	Cocci, diplocoques et en chaînette	ORA24	Bâtonnet isolé, en diplo et en petite chaîne	TAB22	Bâtonnet moyenne isolées et groupées en chaîne
ABD23	Bâtonnet isolé, en diplo et en petite chaîne	ORA25	Diplocoques et en chaînette	TAB23	Diplocoques en amas
ABD24	Diplocoques	ORA26	Cocci ovoïde en petite chaîne	TAB24	Bâtonnets fins en dipolo et groupées palissade
ABD25	Bâtonnets fins en dipolo et groupées palissade	MEC1	Bâtonnet moyenne isolées et groupées en chaîne	TAB25	Isolé, diplocoques et en amas
ABD26	Diplocoques	MEC2	Diplocoques et en chaînette	TAB26	Diplocoques et en chaînette
ABD27	Bâtonnet moyenne isolées et groupées en chaîne	MEC3	Isolée, en diplocoques	TAB27	Isolé, diplocoques et en amas
ABD28	Cocci ovoïde en diplocoque	MEC4	Bâtonnets fins en dipolo et groupées palissade	TAB28	Bâtonnet moyenne isolées et groupées en chaîne
ABD29	Isolée et en diplocoques	MEC5	Bâtonnet moyenne isolées et groupées en chaîne	TAB29	Cocci ovoïde en petite chaîne
ABD30	Bâtonnet moyenne isolées et groupées en chaîne	MEC6	Cocci, diplocoques et en chaînette	TAB30	Diplocoques en amas
ABD31	Diplocoques	MEC7	Cocci ovoïde en petite chaîne	TAB31	Isolée, en diplocoques

Résultats et discussion

(Suite Tableau 19. Description de l'aspect microscopique des isolats retenus.)

Souche	Aspect microscopique	Souche	Aspect microscopique	Souche	Aspect microscopique
ORA1	Cocci, diplocoques et en chaînette	MEC8	Cocci ovoïde en petite chaîne	TAB32	Diplocoques et en chaînette
ORA2	Isolé, diplocoques et en amas	MEC9	Cocci en longue chaîne	TAB33	Isolé, diplocoques et en amas
ADR1	Bâtonnet isolé, en diplo et en petite chaîne	MEC10	Diplocoques et en chaînette	TMN12	Diplocoques en amas
ADR2	Diplocoques et en chaînette	MEC11	Cocci ovoïde en petite chaîne	TMN13	Cocci ovoïde en petite chaîne
ADR3	Bâtonnets fins en dipolo et groupées palissade	MEC12	Cocci ovoïde en petite chaîne	TMN14	Isolé, diplocoques et en amas
ADR4	Isolé, diplocoques et en amas	MEC13	Isolé, diplocoques et en amas	TMN15	Cocci ovoïde en petite chaîne
ADR5	Isolé, diplocoques et en amas	MEC14	Bâtonnet isolé, en diplo et en petite chaîne	TMN16	Isolé, diplocoques et en amas
ADR6	Cocci ovoïde en petite chaîne	MEC15	Bâtonnet isolé, en diplo et en petite chaîne	TMN17	Diplocoques en amas
ADR7	Bâtonnet isolé, en diplo et en petite chaîne	MEC16	Diplocoques et en chaînette	TMN18	Bâtonnets fins en dipolo et groupées palissade
ADR8	Isolé, diplocoques et en amas	MEC17	Diplocoques et en chaînette	TMN19	Isolé, diplocoques et en amas
ADR9	Isolé, en diplo et en petite chaîne	MEC18	Bâtonnets fins en dipolo et groupées palissade	TMN20	Bâtonnet moyenne isolées et groupées en chaîne
ADR10	Cocci, diplocoques et en chaînette	MEC19	Cocci ovoïde en petite chaîne	TMN21	Cocci ovoïde en petite chaîne
ADR11	Cocci en longue chaîne	MEC20	Isolée, en diplocoques	TMN22	Isolé, diplocoques et en amas
ADR12	Isolé, en diplo et en petite chaîne	MEC21	Bâtonnet moyenne isolées et groupées en chaîne	TMN23	Cocci en longue chaîne
ADR13	Isolé, diplocoques et en amas	MEC22	Cocci ovoïde en petite chaîne	TMN24	Diplocoques en amas
ADR14	Diplocoques et en chaînette	MEC23	Diplocoques en amas	TMN25	Bâtonnet isolé, en diplo et en petite chaîne
ADR15	Bâtonnets fins en dipolo et groupées palissade	MEC24	Bâtonnet isolé, en diplo et en petite chaîne	TMN26	Isolée, en diplocoques
ADR16	Isolé, diplocoques et en amas	MEC25	Cocci ovoïde en petite chaîne	TMN27	Bâtonnet isolé, en diplo et en petite chaîne
ADR17	Cocci ovoïde en petite chaîne	MEC26	Bâtonnets fins en dipolo et groupées palissade	TMN28	Isolée, en diplocoques
ADR18	Bâtonnet moyenne isolées et groupées en chaîne	MEC27	Isolé, diplocoques et en amas	TMN29	Isolé, diplocoques et en amas
ADR19	Diplocoques et en chaînette	MEC28	Cocci en longue chaîne	TMN30	Isolé, diplocoques et en amas
ADR20	Cocci ovoïde en petite chaîne	MEC29	Bâtonnets fins en dipolo et groupées palissade	TMN31	Cocci ovoïde en petite chaîne
ADR21	Cocci ovoïde en petite chaîne	MEC30	Diplocoques en amas	TMN32	Bâtonnet moyenne isolées et groupées en chaîne
ADR22	Bâtonnets fins en dipolo et groupées palissade	MEC31	Bâtonnet moyenne isolées et groupées en chaîne	GHD1	Cocci ovoïde en petite chaîne
ADR23	Isolé, diplocoques et en amas	MEC32	Bâtonnet isolé, en diplo et en petite chaîne	GHD2	Isolé, diplocoques et en amas
ADR24	Diplocoques et en chaînette	TMN1	Bâtonnet isolé, en diplo et en petite chaîne	GHD3	Diplocoques et en chaînette
ADR25	Bâtonnet isolé, en diplo et en petite chaîne	TMN2	Isolée, en diplocoques	GHD4	Diplocoques en amas
ADR26	Bâtonnet moyenne isolées et groupées en chaîne	TMN3	Bâtonnets fins en dipolo et groupées palissade	GHD5	Diplocoques en amas
ADR27	Bâtonnet isolé, en diplo et en petite chaîne	TMN4	Diplocoques en amas	GHD6	Cocci, diplocoques et en chaînette
ADR28	Cocci en longue chaîne	TMN5	Diplocoques et en chaînette	GHD7	Diplocoques et en chaînette
ADR29	Diplocoques en amas	TMN6	Bâtonnet isolé, en diplo et en petite chaîne	GHD8	Cocci ovoïde en petite chaîne

Résultats et discussion

(Suite Tableau 19. Description de l'aspect microscopique des isolats retenus.)

Souche	Aspect microscopique	Souche	Aspect microscopique	Souche	Aspect microscopique
ADR30	Diplocoques et en chaîne	TMN7	Isolée, en diplocoques	GHD9	Cocci ovoïde en petite chaîne
ADR31	Bâtonnet isolé, en diplo et en petite chaîne	TMN8	Isolée, en diplocoques	GHD10	Diplocoques et en chaîne
ADR32	Bâtonnet isolé, en diplo et en petite chaîne	TMN9	Cocci ovoïde en petite chaîne	GHD11	Isolé, diplocoques et en amas
ADR33	Cocci en longue chaîne	TMN10	Cocci, diplocoques et en chaîne	GHD12	Bâtonnet moyenne isolées et groupées en chaîne
ADR34	Isolée, en diplocoques	TMN11	Bâtonnet isolé, en diplo et en petite chaîne	GHD13	Diplocoques et en chaîne
BAB1	Diplocoques et en chaîne	BAB18	Diplocoques et en chaîne	GHD14	Isolé, diplocoques et en amas
BAB2	Cocci, diplocoques et en chaîne	BAB19	Diplocoques en amas	GHD15	Isolé, diplocoques et en amas
BAB3	Isolée, en diplocoques	BAB20	Cocci ovoïde en petite chaîne	GHD16	Cocci en longue chaîne
BAB4	Bâtonnets fins en dipolo et groupées palissade	BAB21	Cocci, diplocoques et en chaîne	GHD17	Cocci ovoïde en petite chaîne
BAB5	Isolée, en diplocoques	BAB22	Diplocoques en amas	GHD18	Isolé, diplocoques et en amas
BAB6	Cocci ovoïde en petite chaîne	BAB23	Cocci ovoïde en petite chaîne	GHD19	Bâtonnet isolé, en diplo et en petite chaîne
BAB7	Bâtonnet isolé, en diplo et en petite chaîne	BAB24	Cocci en longue chaîne	GHD20	Diplocoques et en chaîne
BAB8	Cocci, diplocoques et en chaîne	BAB25	Isolé, diplocoques et en amas	GHD21	Bâtonnet isolé, en diplo et en petite chaîne
BAB9	Bâtonnet isolé, en diplo et en petite chaîne	BAB26	Bâtonnet isolé, en diplo et en petite chaîne	GHD22	Diplocoques en amas
BAB10	Cocci ovoïde en petite chaîne	BAB27	Diplocoques et en chaîne	GHD23	Bâtonnets fins en dipolo et groupées palissade
BAB11	Diplocoques et en chaîne	BAB28	Bâtonnet moyenne isolées et groupées en chaîne	GHD24	Isolée, en diplocoques
BAB12	Diplocoques en amas	BAB29	Cocci ovoïde en petite chaîne	GHD25	Cocci, diplocoques et en chaîne
BAB13	Diplocoques en amas	BAB30	Isolée, en diplocoques	GHD26	Bâtonnet isolé, en diplo et en petite chaîne
BAB14	Diplocoques et en chaîne			GHD27	Diplocoques en amas
BAB15	Diplocoques en amas			GHD28	Cocci en longue chaîne

2.3. Etude physiologique des isolats

Sur un total de 460 souches obtenues à partir de lait cru de chamelle algérien provenant de différentes régions de sud-ouest algérien, 246 souches étaient Gram-positives, catalase-négatives et non-sporulées (Tab. 20). Une culture simultanée dans des conditions de stress salin NaCl à 6,5%, alcalin pH 9,6 et thermique de croissance à 45°C et thermorésistance à 65°C pendant 30 min ont permis de classer 80 souches comme étant des entérocoques. L'analyse physiologique : type fermentaire, température optimale de croissance, de l'arginine, production de dextrans, utilisation du citrate (Fig.28, 29 et 30) et la fermentation de différents types de sucres des 166 isolats ont révélé une diversité de bactéries lactiques qui ont été subdivisées en plusieurs groupes :

Le groupe 1 représente 80 isolats qui sont des cocci homofermentaires mésophiles, qui poussent à 10 °C et à 45 °C, se développent en présence de 4% NaCl et 6,5% de NaCl et à pH 9,6 ont été considérées comme des entérocoques.

Le groupe 2 rassemble 40 isolats homofermentaires mésophiles qui se développent à 10°C, et à 4% NaCl, mais pas à 6,5% et résistent à la triméthoprimine et à la rifampicine, ont été pré-identifiées comme des lactocoques (Carr *et al.*, 2002).

Le groupe 3 englobe 12 cocci thermophiles et homofermentaires en diplocoque et en chaîne, qui ont poussé à 45°C, et ont un profil fermentaire réduit, ont été considérées comme *Streptococcus thermophilus* (Carr *et al.*, 2002).

Les isolats hétérofermentaires mésophiles (n=34), incapable à hydrolyser l'arginine et résistent à la vancomycine, ont été considérés comme des leuconostocs (Garvie *et al.*, 1981, Carr *et al.*, 2002).

Les isolats en forme de bâtonnets homofermentaires stricts, Gram positif, catalase négative, qui ont poussé à 45 °C mais pas à 15 °C, ne fermentent pas les pentoses et le gluconate, absence de production de gaz à partir du glucose, ont été considérés comme des lactobacilles homofermentaires (Carr *et al.*, 2002).

Les isolats en bâtonnets produisant du CO₂ à partir de glucose sont des hétérofermentaires stricts. En revanche les bâtonnets hétérofermentaires facultatifs, Gram positif, catalase négative, qui se sont développés à 15 °C, sans production de gaz à partir de glucose, les pentoses

Résultats et discussion

ont été fermentés, sont considérés comme probables lactobacilles hétérofermentaires facultatives (Carr *et al.*, 2002).

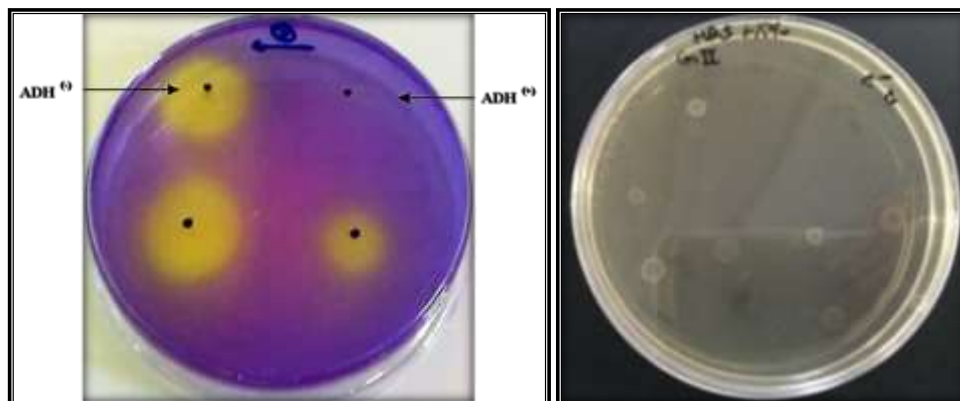


Figure 28. Réaction des isolats vis-à-vis du Test d'ADH, et la croissance à 6,5% de NaCl

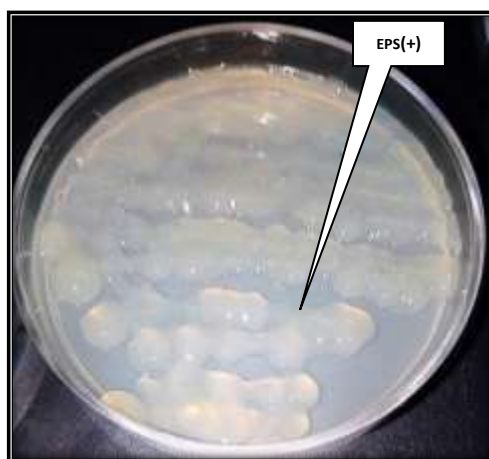


Figure 29. Production des exopolysaccharides par l'isolat MEC25 *Leuconostoc mesenteroides*

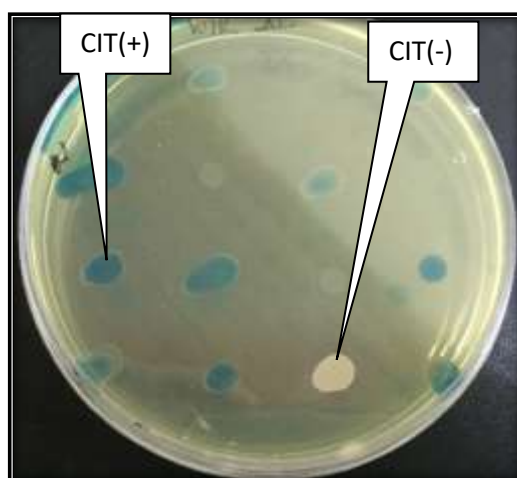


Figure 30. Utilisation des citrates par production de pigment bleu pour les isolats lactiques.

Les résultats ne peuvent pas donner des informations complètes sur la diversité des bactéries lactiques dans le lait cru de chamelle et sur la diversité de la microflore par région. Cependant, il donne une idée de la microflore du lait de chamelle d'Algérie sud-ouest, qui n'a pas encore été étudiée en profondeur. L'identification a été réalisée sur du lait cru mélangé, provenant d'une population hétérogène de chameaux ; il n'était pas possible de présenter les résultats par race et de déterminer une différence spécifique potentielle.

Nos résultats (Tab. 21) montrent que les genres *Enterococcus* et *Lactococcus* sont bien présents dans le lait cru de chamelle. Des résultats similaires sur les coques lactiques prépondérant le lait de chamelle par rapport au lait d'autres espèces ont déjà été rapportés dans la littérature (Khedid *et al.*, 2009, Rahman *et al.*, 2009, Akhmetsadykova *et al.*, 2015)}. Ceci est opposé aux données du lait de jument et au lait fermenté « koumiss » où les souches de *Lactobacillus*, dominant (Wang *et al.*, 2008, Hao *et al.*, 2010, Bai et Ji, 2017)}. En Ethiopie, dans un lait de chamelle fermenté traditionnellement, Seifu *et al.* (2012), ont trouvé 58% de *Lactobacillus*, 25% de *Lactococcus* et 17% d'*Enterococcus*, mais l'identification de leurs isolats était basée uniquement sur des tests phénotypiques. En Chine, la flore lactique du lait de Bactriane, a été examinée en utilisant à la fois les tests biochimiques (API 50 CHL) et les méthodes moléculaires (amplification PCR du gène 16S rDNA), 48 isolats de bactéries lactiques où le genre *Lactobacillus* et *Enterococcus* étaient prédominants (Rahman *et al.*, 2009). Récemment au Maroc Ismaili *et al.* (2016) ont signalé également un taux élève $4,45 \cdot 10^7$, $4,25 \cdot 10^7$ et $3,55 \cdot 10^7$ ufc/ml pour les leuconostocs, les lactocoques et les lactobacilles respectivement.

Résultats et discussion

Tableau 20. Récapitulatif des tests d'identification biochimiques et physiologiques des isolats étudiés.

Code souche	T° 10°C	T° 15°C	T° 45°C	Résistance à 63,5°C	pH 4.4	pH 9.6	4% NaCl	6,5% NaCl	0,1% bleu de Sharman	0,3% bleu de Sharman	CO ₂	ADH	Citrate	Acétoïne	EPS
ABD1	+	+	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
ABD2	+	+	-	ND	+	+	+	+	ND	ND	-	-	-	-	+
ABD3	-	-	+	-	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-
ABD4	+	+	-	ND	+	+	+	+	ND	ND	-	-	-	-	+
ABD5	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-
ABD6	+	+	-	ND	+	+	+	+	ND	ND	-	-	-	-	+
ABD7	+	+	-	ND	+	+	+	+	ND	ND	-	+	+	+	+
ABD8	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-
ABD9	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	-
ABD10	+	+	-	ND	+	+	+	+	ND	ND	-	+	+	+	+
ABD11	+	+	-	ND	+	+	+	+	ND	ND	-	-	-	-	+
ABD12	-	-	+	-	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-
ABD13	+	+	-	ND	+	+	+	+	ND	ND	-	+	+	+	+
ABD14	+	+	-	ND	+	+	+	+	ND	ND	-	-	-	-	+
ABD15	-	-	+	-	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-
ABD16	+	+	-	ND	+	+	-	-	ND	ND	-	-	+	+	-
ABD17	-	-	+	-	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-
ABD18	+	+	-	ND	+	+	+	+	ND	ND	-	-	-	-	+
ABD19	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-
ABD20	+	+	+	+	+	ND	-	-	ND	ND	+	-	-	-	+
ABD21	+	+	-	ND	+	+	+	-	ND	ND	-	-	+	-	-
ABD22	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
ABD23	+	+	-	ND	+	+	+	+	ND	ND	-	-	-	-	+
ABD24	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-
ABD25	+	+	-	ND	+	+	+	+	ND	ND	-	+	+	+	+
ABD26	-	-	+	-	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-
ABD27	+	+	-	ND	+	+	+	+	ND	ND	-	-	-	-	+
ABD28	+	+	-	-	+	ND	-	-	ND	ND	+	-	+	+	+
ABD29	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-
ABD30	+	+	-	ND	+	+	+	+	ND	ND	-	-	-	-	+
ABD31	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-
ORA1	+	+	-	+	-	-	+	-	+	+	-	+	+	+	-
ORA2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-
ORA3	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-
ORA4	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-
ORA5	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+	+
ORA6	+	+	-	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	+	-
ORA7	+	+	-	ND	+	+	+	+	ND	ND	-	-	-	-	+
ORA8	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
ORA9	+	+	-	ND	+	+	+	+	ND	ND	-	+	+	+	+
ORA10	+	+	-	-	+	ND	-	-	ND	ND	+	+	-	+	+
ORA11	+	+	-	ND	+	+	+	+	ND	ND	-	-	-	-	+
ORA12	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-
ORA13	+	+	-	ND	+	+	+	+	ND	ND	-	-	-	-	+
ORA14	+	+	-	-	+	ND	-	-	ND	ND	+	+	-	+	+
ORA15	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-	+	+	+	-
ORA16	+	+	-	ND	+	+	+	+	ND	ND	-	-	+	-	-
ORA17	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-

Résultats et discussion

(SUITE Tableau 20. Récapitulatif des tests d'identification biochimiques et physiologiques des isolats étudiés)

Code souche	T° 10°C	T° 15°C	T° 45°C	Résistance à 63,5°C	pH 4,4	pH 9,6	4% NaCl	6,5% NaCl	0,1% bleu de Sharman	0,3% bleu de Sharman	CO ₂	ADH	Citrate	acétone	EPS
ORA18	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-
ORA19	+	+	-	ND	+	+	+	+	ND	ND	-	-	-	-	+
ORA20	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-
ORA21	+	+	+	+	+	ND	-	-	ND	ND	+	-	-	-	+
ORA22	+	+	-	ND	+	+	+	+	ND	ND	-	+	+	+	+
ORA23	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+
ORA24	+	+	-	ND	+	+	-	-	ND	ND	-	-	+	-	-
ORA25	+	+	-	-	-	+	+	-	+	+	-	+	+	+	-
ORA26	+	+	-	-	+	ND	-	-	ND	ND	+	-	+	-	+
TAB1	+	+	-	-	+	ND	-	-	ND	ND	+	+	-	+	+
TAB2	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-
TAB3	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	+
TAB4	+	+	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
TAB5	+	+	-	ND	+	+	+	+	ND	ND	-	-	-	-	+
TAB6	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-
TAB7	+	+	-	ND	+	+	+	+	ND	ND	-	-	+	-	+
TAB8	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+
TAB9	+	+	-	ND	+	+	+	+	ND	ND	-	-	+	-	-
TAB10	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-
TAB11	+	+	-	ND	+	+	+	+	ND	ND	-	-	-	-	+
TAB12	+	+	-	ND	+	+	+	+	ND	ND	-	-	-	-	+
TAB13	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+	-
TAB14	+	+	-	ND	+	-	+	+	ND	ND	-	-	-	-	+
TAB15	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	-	+	-
TAB16	-	-	+	-	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-
TAB17	+	+	-	ND	+	+	+	+	ND	ND	-	-	-	-	+
TAB18	-	-	+	+	+	ND	-	-	ND	ND	+	-	+	-	+
TAB19	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-
TAB20	+	+	-	ND	+	+	-	-	ND	ND	-	-	+	-	-
TAB21	+	+	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
TAB22	+	+	-	ND	+	+	-	-	ND	ND	-	-	+	-	-
TAB23	-	-	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	-	+
TAB24	+	+	-	ND	+	+	+	+	ND	ND	-	-	-	-	+
TAB25	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-
TAB26	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	-	-	+	-	-
TAB27	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-
TAB28	+	+	-	ND	+	+	+	+	ND	ND	-	-	+	-	-
TAB29	+	+	-	-	+	ND	+	-	ND	ND	+	+	+	-	+
TAB30	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-
TAB31	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-
TAB32	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-
TAB33	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-
ADR1	+	+	-	ND	+	+	+	+	ND	ND	-	-	-	-	+
ADR2	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+	-	+	+	+	-
ADR3	+	+	-	ND	+	+	+	+	ND	ND	-	-	-	-	+
ADR4	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-
ADR5	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-
ADR6	+	+	+	+	+	ND	-	-	ND	ND	+	-	+	-	+

Résultats et discussion

(SUITE Tableau 20. Récapitulatif des tests d'identification biochimiques et physiologiques des isolats étudiées)

Code souche	T° 10°C	T° 15°C	T° 45°C	Résistance à 63,5°C	pH 4,4	pH 9,6	4% NaCl	6,5% NaCl	0,1% bleu de Sharman	0,3% bleu de Sharman	CO ₂	ADH	Citrate	acétoïne	EPS
ADR7	+	+	-	ND	+	+	+	+	ND	ND	-	-	-	-	+
ADR8	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-
ADR9	+	+	-	ND	+	+	+	+	ND	ND	-	-	-	-	+
ADR10	+	+	-	+	-	-	+	-	+	+	-	+	+	+	-
ADR11	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-
ADR12	+	+	-	ND	+	+	+	+	ND	ND	-	-	+	-	-
ADR13	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-
ADR14	+	+	-	-	-	-	+	-	+	-	-	+	+	+	-
ADR15	+	+	-	ND	+	+	+	+	ND	ND	-	-	-	-	+
ADR16	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-
ADR17	+	+	-	+	+	ND	-	-	ND	ND	+	-	+	-	+
ADR18	+	+	-	ND	+	+	-	-	ND	ND	-	-	+	-	-
ADR19	+	+	-	+	-	-	+	-	+	+	-	+	+	+	-
ADR20	+	+	-	+	+	ND	-	-	ND	ND	+	-	+	-	+
ADR21	+	+	+	+	-	ND	+	-	ND	ND	+	-	-	-	-
ADR22	+	+	-	ND	+	+	+	+	ND	ND	-	-	-	-	+
ADR23	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-
ADR24	+	+	-	+	-	-	+	-	+	-	-	+	+	+	-
ADR25	+	+	-	ND	+	+	+	+	ND	ND	-	-	-	-	+
ADR26	+	+	-	ND	+	+	+	+	ND	ND	-	-	+	-	-
ADR27	+	+	-	ND	+	+	+	+	ND	ND	-	-	-	-	+
ADR28	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-
ADR29	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-
ADR30	+	+	-	+	-	-	+	-	+	+	-	+	+	+	-
ADR31	+	+	-	ND	+	+	+	+	ND	ND	-	-	+	-	-
ADR32	+	+	-	ND	+	+	+	+	ND	ND	-	-	+	-	-
ADR33	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-
ADR34	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-
MEC1	+	+	-	ND	+	+	+	+	ND	ND	-	-	-	-	+
MEC2	+	+	-	+	-	-	+	-	+	+	-	+	+	+	-
MEC3	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-
MEC4	+	+	-	ND	+	+	+	+	ND	ND	-	-	+	-	-
MEC5	+	+	-	ND	+	+	+	+	ND	ND	-	-	-	-	+
MEC6	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+	-	+	+	+	-
MEC7	-	+	-	+	+	ND	-	-	+	-	+	-	+	-	-
MEC8	-	+	+	+	+	ND	-	-	-	-	+	-	+	-	-
MEC9	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	+	-
MEC10	+	+	-	+	-	-	+	-	+	-	-	+	+	+	-
MEC11	+	+	+	-	+	ND	-	-	ND	ND	+	-	+	-	+
MEC12	+	+	-	-	+	ND	-	-	ND	ND	+	+	-	+	+
MEC13	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-
MEC14	+	+	-	ND	+	+	+	+	ND	ND	-	-	-	-	+
MEC15	+	+	-	ND	+	+	+	+	ND	ND	-	-	-	-	+
MEC16	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
MEC17	+	+	-	+	-	-	+	-	+	+	-	+	+	+	-
MEC18	+	+	-	ND	+	+	-	-	ND	ND	-	-	+	-	-
MEC19	+	+	-	-	+	ND	-	-	ND	ND	+	+	-	+	+
MEC20	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-

Résultats et discussion

(SUITE Tableau 20. Récapitulatif des tests d'identification biochimiques et physiologiques des isolats étudiées)

Code souche	T° 10°C	T° 15°C	T° 45°C	Résistance à 63,5°C	pH 4,4	pH 9,6	4% NaCl	6,5% NaCl	0,1% bleu de Sharman	0,3% bleu de Sharman	CO ₂	ADH	Citrate	Acétoïne	EPS
MEC21	+	+	-	ND	+	+	+	+	ND	ND	-	-	-	-	+
MEC22	+	+	+	+	+	ND	+	+	ND	ND	+	+	-	+	+
MEC23	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-
MEC24	+	+	-	ND	+	+	+	+	ND	ND	-	-	-	-	+
MEC25	+	+	-	-	+	ND	-	-	+	+	+	-	+	-	+
MEC26	+	+	-	ND	+	+	+	+	ND	ND	-	-	+	-	-
MEC27	+	+	+	-	+	+	+	+	ND	ND	-	+	-	+	-
MEC28	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-
MEC29	+	+	-	ND	+	+	-	-	ND	ND	-	-	+	-	-
MEC30	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-
MEC31	+	+	-	ND	+	+	+	+	ND	ND	-	-	-	-	+
MEC32	+	+	-	ND	+	+	+	+	ND	ND	-	-	-	-	+
BAB1	+	+	-	+	-	-	+	-	+	+	-	+	+	+	-
BAB2	+	+	-	+	-	-	+	-	+	-	-	+	+	+	-
BAB3	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-
BAB4	+	+	-	ND	+	+	+	+	ND	ND	-	-	-	-	+
BAB5	-	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	-
BAB6	+	+	-	-	+	ND	-	-	ND	ND	+	-	-	-	-
BAB7	+	+	-	ND	+	+	+	+	ND	ND	-	-	-	-	+
BAB8	+	+	-	+	-	-	+	-	+	+	-	+	+	+	-
BAB9	+	+	-	ND	+	+	+	+	ND	ND	-	-	-	-	+
BAB10	-	-	-	-	+	ND	-	-	-	-	+	-	-	-	-
BAB11	+	+	-	+	-	-	+	-	+	+	-	+	+	+	-
BAB12	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	-	+	-
BAB13	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-
BAB14	+	+	-	+	-	+	+	-	+	-	-	+	+	+	-
BAB15	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-
BAB16	+	+	-	-	+	+	-	-	ND	ND	-	-	+	-	-
BAB17	+	+	-	-	+	+	+	+	ND	ND	-	-	-	-	+
BAB18	+	+	-	+	-	+	+	-	+	-	-	+	+	+	-
BAB19	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-
BAB20	-	-	+	-	-	+	ND	-	ND	ND	+	+	-	+	-
BAB21	+	+	-	+	-	+	+	-	+	-	-	+	+	+	-
BAB22	-	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	-
BAB23	+	+	-	+	+	+	ND	-	ND	ND	+	-	+	-	+
BAB24	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-
BAB25	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-
BAB26	+	+	-	-	+	+	-	-	ND	ND	-	-	+	-	-
BAB27	+	+	-	+	-	+	+	-	+	-	-	+	+	+	-
BAB28	+	+	-	-	+	+	+	+	ND	ND	-	-	-	-	+
BAB29	+	+	+	+	+	-	ND	-	ND	ND	+	-	+	+	+
BAB30	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-
TMN1	+	+	-	ND	+	+	-	-	ND	ND	-	-	+	-	-
TMN2	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-
TMN3	+	+	-	ND	+	+	+	+	ND	ND	-	-	+	-	-
TMN4	-	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	-
TMN5	+	+	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
TMN6	+	+	-	ND	+	+	+	+	ND	ND	-	-	-	-	+

Résultats et discussion

(SUITE Tableau 20. Récapitulatif des tests d'identification biochimiques et physiologiques des isolats étudiées)

Code souche	T° 10°C	T° 15°C	T° 45°C	Résistance à 63,5°C	pH 4,4	pH 9,6	4% NaCl	6,5% NaCl	0,1% bleu de Sharman	0,3% bleu de Sharman	CO ₂	ADH	Citrate	acétoïne	EPS
TMN7	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-
TMN8	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-
TMN9	-		-	-	+	-	ND	-	ND	ND	+	-	+	-	-
TMN10	+	+	-	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	+	-
TMN11	+	+	-	ND	+	+	-	-	ND	ND	-	-	+	-	-
TMN12	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-
TMN13	+	+	-	-	+	-	ND	-	ND	ND	+	-	-	-	-
TMN14	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	-	+	-
TMN15	+	+	+	-	+	+	ND	-	ND	ND	+	-	-	-	+
TMN16	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-
TMN17	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-
TMN18	+	+	-	ND	+	+	-	-	ND	ND	-	-	+	-	-
TMN19	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-
TMN20	+	+	-	ND	+	+	-	-	ND	ND	-	-	+	-	-
TMN21	+	+	-	-	+	-	ND	-	ND	ND	+	-	+	-	-
TMN22	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-
TMN23	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-
TMN24	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-
TMN25	+	+	-	ND	+	+	+	+	ND	ND	-	-	-	-	+
TMN26	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	-	+	-
TMN27	+	+	-	ND	+	+	-	-	ND	ND	-	-	+	-	-
TMN28	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-
TMN29	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-
TMN30	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	-	+	-
TMN31	+	+	+	+	+	+	ND	-	ND	ND	+	+	+	-	+
TMN32	+	+	-	ND	+	+	+	+	ND	ND	-	-	-	-	+
GHD1	-	+	+	+	+	+	ND	-	ND	ND	+	+		+	+
GHD2	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-
GHD3	+	+	-	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	+	-
GHD4	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-
GHD5	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	-	+	-
GHD6	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
GHD7	+	+	-	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	+	-
GHD8	+	+	+	+	+	+	ND	+	ND	ND	+	+	+	+	+
GHD9	+	+	+	-	+	-	ND	+	ND	ND	+	+	+	-	+
GHD10	+	+	-	-	-	+	+	-	+	-	-	+	+	+	-
GHD11	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-
GHD12	+	+	-	ND	+	+	+	+	ND	ND	-	-	-	-	+
GHD13	+	+	-	+	-	+	+	-	+	-	-	+	+	+	-
GHD14	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-
GHD15	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-
GHD16	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-
GHD17	+	+	-	-	+	-	ND	-	ND	ND	+	-	+	-	+

Résultats et discussion

(SUITE Tableau 20. Récapitulatif des tests d'identification biochimiques et physiologiques des isolats étudiés)

Code souche	T° 10°C	T° 15°C	T° 45°C	Résistance à 63,5°C	pH 4,4	pH 9,6	4% NaCl	6,5% NaCl	0,1% bleu de Sharman	0,3% bleu de Sharman	CO ₂	ADH	Citrate	acétoïne	EPS
GHD18	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-
GHD19	+	+	-	ND	+	+	-	-	ND	ND	-	-	+	-	-
GHD20	+	+	-	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	+	-
GHD21	+	+	-	ND	+	+	+	+	ND	ND	-	-	-	-	+
GHD22	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-
GHD23	+	+	-	ND	+	+	+	+	ND	ND	-	-	-	-	+
GHD24	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-
GHD25	+	+	-	-	-	-	+	-	+	-	-	+	+	+	-
GHD26	+	+	-	ND	+	+	-	-	ND	ND	-	-	+	-	-
GHD27	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-
GHD28	-	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-

L'identification du genre des 460 isolats a montré la présence de cinq genres LAB dans le lait de chamelle à savoir *Lactobacillus* (32,5%) *Lactococcus* (16,3%) *Enterococcus* (32,5%) *Leuconostoc* (13,8%) *Streptococcus* (4,9%).

Tableau 21. Répartition des isolats selon la région d'échantillonnage.

Zone d'échantillonnage	Genre possible des isolats
El Abadela	<i>Lactobacillus</i> (15) <i>Lactococcus</i> (03) <i>Enterococcus</i> (10) <i>Leuconostoc</i> (02) <i>Streptococcus</i> (01)
Oran	<i>Lactobacillus</i> (08) <i>Lactococcus</i> (04) <i>Enterococcus</i> (08) <i>Leuconostoc</i> (04) <i>Streptococcus</i> (02)
Tabelbala	<i>Lactobacillus</i> (11) <i>Lactococcus</i> (05) <i>Enterococcus</i> (14) <i>Leuconostoc</i> (03)
Adrar	<i>Lactobacillus</i> (13) <i>Lactococcus</i> (06) <i>Enterococcus</i> (08) <i>Leuconostoc</i> (04) <i>Streptococcus</i> (3)
Mecheria	<i>Lactobacillus</i> (12) <i>Lactococcus</i> (05) <i>Enterococcus</i> (06) <i>Leuconostoc</i> (07) <i>Streptococcus</i> (2)
Béni-Abbès	<i>Lactobacillus</i> (07) <i>Lactococcus</i> (08) <i>Enterococcus</i> (09) <i>Leuconostoc</i> (05) <i>Streptococcus</i> (1)
Timimoun	<i>Lactobacillus</i> (09) <i>Lactococcus</i> (02) <i>Enterococcus</i> (15) <i>Leuconostoc</i> (05) <i>Streptococcus</i> (1)
Ghardaya	<i>Lactobacillus</i> (05) <i>Lactococcus</i> (07) <i>Enterococcus</i> (10) <i>Leuconostoc</i> (04) <i>Streptococcus</i> (02)
Total	<i>Lactobacillus</i> (80) <i>Lactococcus</i> (40) <i>Enterococcus</i> (80) <i>Leuconostoc</i> (34) <i>Streptococcus</i> (12)
Pourcentage (%)	<i>Lactobacillus</i> (32,5%) <i>Lactococcus</i> (16,3%) <i>Enterococcus</i> (32,5%) <i>Leuconostoc</i> (13,8%) <i>Streptococcus</i> (4,9 %)

Dans notre travail, les souches LAB ont été isolées en utilisant trois milieux de culture différents. Les espèces de *Leuconostoc* (13,8%) ont été principalement isolées de MRS-agar à la vancomycine. Les souches de *Lactobacillus* ont été isolées de MRS. Les souches de *Lactococcus* et de *Streptococcus* ont été isolées sur milieu M17. Dans notre travail, la plupart des souches de LAB ont été isolées à partir de MRS-agar, parmi lesquelles les formes cocci dominaient la microflore. Une proportion de 32,5% des souches isolées sur milieu MRS-agar étaient des bâtonnets appartenant au genre *Lactobacillus*. Ainsi, le milieu MRS-agar a montré un faible degré de sélectivité pour le genre *Lactobacillus*, bien que ce milieu soit décrit comme un milieu d'isolement et de culture des lactobacilles. Le milieu M17-agar, a permis l'isolement

Résultats et discussion

de la plupart des entérocoques *Enterococcus* (32,5%), *Lactococcus* (16,3%) et *Streptococcus* (4,9 %). Le milieu M17 n'a pas montré une sélectivité élevée pour le genre *Lactococcus*, bien que des *Streptococcus* et les *Enterococcus* aient été isolés sur ce milieu. Nos résultats sont également en accord avec les résultats d'autres études, dans lesquelles le manque de sélectivité des milieux de culture dans l'étude de la biodiversité dans différents produits laitiers a été démontré (Devriese *et al.*, 2006, Holzapfel et Wood, 2012, Ruggirello *et al.*, 2014). Les résultats obtenus sont indiqués dans le tableau 21.

Nos résultats sur la distribution des genres lactiques par région ont révélé un taux réduit du genre *Streptococcus* (moyenne de 4,9%). Ce genre est absent dans le lait camelin de la région de Tabelbala. Dans la région d'Adrar, 3 isolats de *Streptococcus* ont été révélés. Une moyenne de 13,8% des isolats appartiennent au genre *Leuconostoc*. Le nombre des isolats de *Leuconostoc* varie entre 2 et 7 dans les régions Abadela et Mecheria respectivement. Les résultats de l'analyse montrent que le nombre de *Lactococcus* varie de 2 à 8 isolats, avec une moyenne globale de 16,3 % (Tab. 21). Cette analyse a permis de noter un taux similaire de 32,5% pour les genres *Enterococcus* et *Lactobacillus*. Leur nombre varie selon la région de 5 à 15 isolats (Tab.21).

Le résultat de la caractérisation morphologique et physiologique obtenu pour les isolats lactiques retenus montre que tous les isolats appartiennent aux cinq genres de bactéries lactiques, *Enterococcus* (80), *Lactobacillus* (80), *Lactococcus* (40), *Leuconostoc* (34) et *Streptococcus* (12). Le tableau 22 illustre la distribution de l'ensemble des isolats avec leur code suivant les caractères spécifiques au genre.

Tableau 22. Code des différents isolats identifiés selon leurs genres.

Genre	Code d'isolats
<i>Lactococcus</i> (40)	ABD1, ABD9, ABD22, ORA1, ORA6, ORA15, ORA25, TAB3, TAB4, TAB21, TAB26, TAB32, ADR2, ADR10, ADR14, ADR19, ADR24, ADR30, MEC2, MEC6, MEC10, MEC16, MEC17, BAB1, BAB2, BAB8, BAB11, BAB14, BAB18, BAB21, BAB27, TMN5, TMN10, GHD3, GHD6, GHD7, GHD10, GHD13, GHD20, GHD25.
<i>Enterococcus</i> (80)	ABD3, ABD5, ABD12, ABD15, ABD17, ABD19, ABD24, ABD26, ABD29, ABD31, ORA2, ORA3, ORA5, ORA12, ORA17, ORA18, ORA20, ORA23, TAB2, TAB6, TAB8, TAB10, TAB13, TAB15, TAB16, TAB19, TAB23, TAB25, TAB27, TAB30, TAB31, TAB33, ADR4, ADR5, ADR8, ADR13, ADR16, ADR23, ADR29, ADR34, MEC3, MEC13, MEC20, MEC23, MEC27, MEC30, BAB3, BAB5, BAB12, BAB13, BAB15, BAB19, BAB22, BAB25, BAB30, TMN2, TMN4, TMN7, TMN8, TMN12, TMN14, TMN16, TMN17, TMN19, TMN22, TMN24, TMN26, TMN28, TMN29, TMN30, GHD2, GHD4, GHD5, GHD11, GHD14, GHD15, GHD18, GHD22, GHD24, GHD27.
<i>Streptococcus</i> (12)	ABD8, ORA4, ORA8, ADR11, ADR28, ADR33, MEC9, MEC28, BAB24, TMN23, GHD16, GHD28.
<i>Leuconostoc</i> (34)	ABD20, ABD28, ORA10, ORA14, ORA21, ORA26, TAB1, TAB18, TAB29, ADR6, ADR17, ADR20, ADR21, MEC7, MEC8, MEC11, MEC12, MEC19, MEC22, MEC25, BAB6, BAB10, BAB20, BAB23, BAB29, TMN9, TMN13, TMN15, TMN21, TMN31, GHD1, GHD8, GHD9, GHD17.
<i>Lactobacillus</i> (80)	ABD2, ABD4, ABD6, ABD7, ABD10, ABD11, ABD13, ABD14, ABD16, ABD18, ABD21, ABD23, ABD25, ABD27, ABD30, ORA7, ORA9, ORA11, ORA13, ORA16, ORA19, ORA22, ORA24, TAB5, TAB7, TAB9, TAB11, TAB12, TAB14, TAB17, TAB20, TAB22, TAB24, TAB28, ADR1, ADR3, ADR7, ADR9, ADR12, ADR15, ADR18, ADR22, ADR25, ADR26, ADR27, ADR31, ADR32, MEC1, MEC4, MEC5, MEC14, MEC15, MEC18, MEC21, MEC24, MEC26, MEC29, MEC31, MEC32, BAB4, BAB7, BAB9, BAB16, BAB17, BAB26, BAB28, TMN1, TMN3, TMN6, TMN11, TMN18, TMN20, TMN25, TMN27, TMN32, GHD12, GHD19, GHD21, GHD23, GHD26.

2.4. Identification au niveau de l'espèce

L'identification des isolats jusqu'au niveau des espèces a nécessité des tests complémentaires tel que l'utilisation des différents sucres permettant la discrimination. Le test des sucres a été effectué sur des plaques Elisa en testant la capacité des isolats à fermenter les 18 sucres (Tab. 23).

En premier lieu l'approche adoptée pour l'identification des isolats au niveau d'espèces durant notre étude est basée essentiellement sur la caractérisation phénotypique. Les isolats ont été maintenus sur du milieu adéquat et repiqués au besoin. Après avoir confirmé la pureté des isolats, ils ont été soumis à des analyses macroscopiques, microscopiques et biochimiques. Cette caractérisation est déterminée selon les critères morphologiques, physiologiques et biochimiques, et ce selon les clefs d'identifications proposées (Sharpe *et al.*, 1979, Kandler et Weiss, 1986, Dellaglio *et al.*, 1994, Stiles et Holzapfel, 1997, Carr *et al.*, 2002, Axelsson *et al.*, 2004)}. Cette détermination des souches est complétée par l'étude du profil fermentaire des isolats retenus, et ce, par l'étude de la fermentation des sucres suivants (amidon, arabinose, esculine fructose, galactose, glucose, lactose, maltose, mannitol, mannose, mélibiose, raffinose, rhamnose, ribose, saccharose, sorbitol, tréhalose, xylose) et également par l'utilisation de la galerie biochimique (API 50 CHL).

En se référant aux critères taxonomique et clefs d'identifications proposées par les différents auteurs cités ci-dessus, et selon les résultats obtenus pour les tests de production du CO₂ à partir du glucose, de NH₄ à partir de l'arginine, de l'utilisation du citrate et le profil fermentaire des sucres on peut subdiviser les isolats du genre *Lactococcus* étudiés en une espèce avec deux sous-espèces qui diffèrent par l'utilisation de citrate, production de diacétyle et par l'absence de l'ADH. La première sous espèce est capable d'utiliser le citrate, elle est ADH⁺. Elle produit de l'acétoïne et est identifiée comme *Lactococcus lactis* Subsp. *lactis* biovar. *diacetylactis*. Cette dernière représente 29 isolats. La sous-espèce *Lactococcus lactis* Subsp. *cremoris* qui est ADH (-), incapable d'utiliser le citrate et acétoïne (-). Elle a un profil réduit de fermentation de sucre (ABD1, ABD22, ORA6, TAB3, TAB4, TAB21 TAB26, Tab32, MEC16, TMN5, et GHD6). Drici *et al.* (2010) ont isolé une espèce de *Lactococcus lactis* Subsp. *lactis* biovar. *diacetylactis* du lait cru de chamelle d'Algérie. Cette souche est capable à la fois de croître sur milieu lait à une température élevée (50°C) et possède des protéases capables d'hydrolyser les caséines du lait et de métaboliser l'acide citrique pour produire les composés aromatiques. Une autre étude sur la microflore lactique du lait cru de chamelle réalisée au Maroc par Ismaili *et al.* (2016) indique que les lactocoques représentent 24% de la microflore totale du lait cru. La

fréquence des sous espèces de *Lactococcus lactis* Subsp. *lactis* est de 17,50% (Khedid *et al.*, 2009).

Les isolats appartenant au genre *Streptococcus* sont caractérisés par leur incapacité à croître à une température de 10°C et à une concentration de NaCl 6,5%. Tous les isolats sont homofermentaires, ADH et acétoïne négative. Ils se développent à 45 °C. Ils ne croissent pas à 4% de NaCl et tous les isolats fermentent glucose, saccharose, lactose et galactose. L'absence de l'hémolysé et le profil fermentaire réduit ont conduit à l'identification de 12 isolats appartenant à l'espèce de *Streptococcus thermophilus* (ABD8, ORA4, ORA8, ADR11, ADR28, ADR33, MEC9, MEC28, BAB24, TMN23, GHD16 et GHD28). Une proportion de 83% des *Streptococcus thermophilus* sont isolés des régions sud d'Algérie, Adrar (03), Ghardaia (02), Mécheria (02), Abadela (01), Béni-Abbès (01) et Timimoun (01). Khedid *et al.*, (2009) ont trouvé des résultats similaires du taux de *Streptococcus thermophilus* dans le lait cru de chamelle au Maroc. Au Kenya, Jans *et al.* (2012) ont isolé et identifié *Streptococcus thermophilus* dans le lait cru de dromadaire. En revanche, Akhmetsadykova *et al.* (2015) n'ont pas signalé la présence de *Streptococcus thermophilus* dans le lait cru de *Camelus bacterianus* à Kazakhstan. Nous pouvons considérer que l'environnement aride et chaud favorise le développement des espèces de *Streptococcus thermophilus* dans le lait de dromadaire.

Les isolats en diplocoques ovales et en chaînes, Les mésophiles hétérofermentaires, à gram positif, catalase négative, incapables de d'hydrolyser l'arginine, résistent à la vancomycine sont considérés comme des leuconostocs (Garvie *et al.*, 1981). Un nombre de 34 isolats répartis dans les différentes régions de prélèvement, répondent à ces critères. La région de Mecheria possède le nombre le plus élevé 07 isolats et le nombre le plus réduit (02 isolats) est détecté dans la région d'Abadela. L'identification au niveau de l'espèce est réalisée par la comparaison des profils fermentaires des sucres avec les différentes sources bibliographiques spécialisés (Sharpe *et al.*, 1979, Garvie *et al.*, 1981, Stiles et Holzapfel, 1997, Carr *et al.*, 2002, Axelsson *et al.*, 2004). Dans notre laboratoire (LMA, Université d'Oran 1), les chercheurs ont déjà isolé des souches qui résistent à des températures atypiques, comme c'est le cas de Drici *et al.* (2010), qui ont réussi à isoler des souches de *Lactococcus lactis* Subsp. *lactis* biovar. *diacetylactis* à partir du lait cru de chamelle, qui sont thermotolérantes jusqu'à 50°C, et dont l'identification a été vérifiée par les méthodes moléculaires.

L'isolation de souches appartenant à l'espèce *Lactobacillus plantarum* à partir du lait cru Algérien de chèvre et de chamelle a été déjà décrite dans plusieurs études (Guessas et Kihal, 2004, Badis *et al.*, 2004, Badis *et al.*, 2005, Sellami *et al.*, 2007, Mami, 2007, Boumehira *et al.*, 2011).

Tableau 23. Résultats du profil fermentaire des isolats étudiés

Code souche	Amidon	Arabinose	Esculine	Fructose	Galactose	Glucose	Lactose	Maltose	Mannitol	Mannose	Melibiose	Raffinose	Rhamnose	Ribose	Saccharose	Sorbitol	Tréhalose	Xylose
ABD1	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-
ABD2	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	-
ABD3	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-
ABD4	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+
ABD5	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-
ABD6	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+
ABD7	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	+	+
ABD8	-	+	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-
ABD9	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-
ABD10	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	+	-
ABD11	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-
ABD12	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-
ABD13	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	+	-
ABD14	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	-	+	+
ABD15	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-
ABD16	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	+	-
ABD17	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-
ABD18	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ABD19	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-
ABD20	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+
ABD21	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-
ABD22	-	-	+	+	+	+	+	/	-	/	-	-	-	+	+	-	+	/
ABD23	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	+	-
ABD24	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-
ABD25	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	+	+
ABD26	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-
ABD27	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	-	+	+
ABD28	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	+	-	+	+
ABD29	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	+
ABD30	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
ABD31	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-
ORA1	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-
ORA2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-
ORA3	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-
ORA4	-	+	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-
ORA5	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	-	-	-
ORA6	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-
ORA7	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+
ORA8	-	-	-	+	-	+	+	-	-	+	-	+	-	+	+	-	-	-
ORA9	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	+	+
ORA10	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+
ORA11	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+
ORA12	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	+	+	-	-	-
ORA13	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+
ORA14	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	-	+	+	+	+
ORA15	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-

Résultats et discussion

(SUITE Tableau 23. Résultats du profil fermentaire des isolats étudiés)

Code souche	Amidon	Arabinose	Esculine	Fructose	Galactose	Glucose	Lactose	Maltose	Mannitol	Mannose	Melibiose	Raffinose	Rhamnose	Ribose	Saccharose	Sorbitol	Tréhalose	Xylose
ORA16	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-
ORA17	-	-	+	+		+	+	+	-	+	-	+	-	+	+	-	-	+
ORA18	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-
ORA19	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	-	+	+
ORA20	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+	+	+	-	+
ORA21	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+	+	-	+	+
ORA22	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	+	+
ORA23	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	-	-	+
ORA24	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	+	-
ORA25	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-
ORA26	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-	+	-
TAB1	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+
TAB2	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	-	-	-
TAB3	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-
TAB4	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-
TAB5	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	-	+	+
TAB6	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	-	-	+
TAB7	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	+	-
TAB8	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-
TAB9	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	+	+
TAB10	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-
TAB11	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
TAB12	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+
TAB13	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	+	+	-	-	+
TAB14	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+
TAB15	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+	+	+	-	+
TAB16	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-
TAB17	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+
TAB18	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+
TAB19	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-		+	+	+	+	-		+
TAB20	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	+	-
TAB21	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-
TAB22	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	+	-
TAB23	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+		+	-	+	+	-		-
TAB24	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+
TAB25	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-		+	-	+	+	+		+
TAB26	-	-	-	+	+	+	+	/	-	/	-	-	-	-	+	-	-	/
TAB27	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-
TAB28	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	+	+
TAB29	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-
TAB30	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	+
TAB31	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-
TAB32	-	-	-	+	+	+	+	/	-	/	-	-	-	-	+	-	-	/
TAB33	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+		-	-	+	+	-		+
ADR1	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	+	-
ADR2	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-

Résultats et discussion

(SUITE Tableau 23. Résultats du profil fermentaire des isolats étudiés)

Code souche	Amidon	Arabinose	Esculine	Fructose	Galactose	Glucose	Lactose	Maltose	Mannitol	Mannose	Melibiose	Raffinose	Rhamnose	Ribose	Saccharose	Sorbitol	Tréhalose	Xylose
ADR3	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+
ADR4	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	+
ADR5	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	+
ADR6	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	+	-	+	-
ADR7	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+
ADR8	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-
ADR9	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+
ADR10	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-
ADR11	-	-	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-
ADR12	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	+	+
ADR13	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-
ADR14	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-
ADR15	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+
ADR16	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	+
ADR17	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+
ADR18	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	+	-
ADR19	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-
ADR20	-	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-	+	-
ADR21	-	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+
ADR22	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	-	+	+
ADR23	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-
ADR24	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-
ADR25	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-
ADR26	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	+	+
ADR27	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+
ADR28	-	+	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-
ADR29	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-
ADR30	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-
ADR31	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	+	+
ADR32	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	+	+
ADR33	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-
ADR34	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-
MEC1	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+
MEC2	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-
MEC3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-
MEC4	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	+	-
MEC5	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	-	+	+
MEC6	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-
MEC7	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	+	+	-	+	-
MEC8	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-	+	+
MEC9	-	+	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+
MEC10	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-
MEC11	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	+	-	+	+
MEC12	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+
MEC13	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+
MEC14	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-

Résultats et discussion

(SUITE Tableau 23. Résultats du profil fermentaire des isolats étudiés)

Code souche	Amidon	Arabinose	Esculine	Fructose	Galactose	Glucose	Lactose	Maltose	Mannitol	Mannose	Melibiose	Raffinose	Rhamnose	Ribose	Saccharose	Sorbitol	Tréhalose	Xylose
MEC15	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+
MEC16	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-
MEC17	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-
MEC18	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	+	-
MEC19	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+
MEC20	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	+
MEC21	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+
MEC22	-	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+
MEC23	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	+
MEC24	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+
MEC25	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+
MEC26	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-
MEC27	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-
MEC28	-	-	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-
MEC29	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	+	-
MEC30	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	+
MEC31	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
MEC32	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
BAB1	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-
BAB2	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-
BAB3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-
BAB4	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
BAB5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-
BAB6	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+
BAB7	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+
BAB8	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-
BAB9	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
BAB10	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	+	-	+	+
BAB11	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-
BAB12	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+	+	+	-	+
BAB13	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-
BAB14	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-
BAB15	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-
BAB16	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-
BAB17	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+
BAB18	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-
BAB19																		
BAB20	-	-	+	+	-	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-	+	+
BAB21	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-
BAB22	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-
BAB23	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+
BAB24	-	+	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-
BAB25	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-
BAB26	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	+	-
BAB27	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-
BAB28	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+

Résultats et discussion

(SUITE Tableau 23. Résultats du profil fermentaire des isolats étudiés)

Code souche	Amidon	Arabinose	Esculine	Fructose	Galactose	Glucose	Lactose	Maltose	Mannitol	Mannose	Melibiose	Raffinose	Rhamnose	Ribose	Saccharose	Sorbitol	Tréhalose	Xylose
BAB29	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-	+	-
BAB30	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-
TMN1	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	+	-
TMN2	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-
TMN3	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-
TMN4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-
TMN5	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-
TMN6	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
TMN7	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+	+	+	-	+
TMN8	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-
TMN9	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-
TMN10	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-
TMN11	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	+	-
TMN12	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-
TMN13	-	+	-	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	+	+	-	+	+
TMN14	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+	+	+	-	+
TMN15	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-
TMN16	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-
TMN17	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-
TMN18	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	+	-
TMN19	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-
TMN20	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-
TMN21	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	+
TMN22	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-
TMN23	-	-	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-
TMN24	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-
TMN25	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+
TMN26	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-
TMN27	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	+	-
TMN28	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-
TMN29	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-
TMN30	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-
TMN31	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	+	-	+	-
TMN32	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+
GHD1	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	+	-	+	+
GHD2	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-
GHD3	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-
GHD4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-
GHD5	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-
GHD6	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-
GHD7	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-
GHD8	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	+	-	+	-
GHD9	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-
GHD10	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-
GHD11	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-
GHD12	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+

Résultats et discussion

(SUITE Tableau 23. Résultats du profil fermentaire des isolats étudiés)

Code souche	Amidon	Arabinose	Esculine	Fructose	Galactose	Glucose	Lactose	Maltose	Mannitol	Mannose	Melibiose	Raffinose	Rhamnose	Ribose	Saccharose	Sorbitol	Tréhalose	Xylose
GHD13	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-
GHD14	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-
GHD15	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-
GHD16	-	+	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-
GHD17	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	+	-	+	+
GHD18	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-
GHD19	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-
GHD20	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-
GHD21	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
GHD22	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-
GHD23	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
GHD24	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-
GHD25	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-
GHD26	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	+	-
GHD27	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-
GHD28	-	+	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-

Les isolats producteurs de dextrane et métabolisent l'arabinose sont assignés à la sous-espèce de *Leuconostoc mesenteroides* Subsp. *mesenteroides* (13 souches). Les isolats producteurs de dextrane et n'utilisent pas l'arabinose appartiennent à la sous-espèce de *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *dextranicum* (12 souches). Nous pouvons classer les isolats incapables de produire du dextrane et de fermenter l'arabinose à l'espèce de *Leuconostoc lactis* (02 isolats : TMN9 et TMN 21). Les isolats non producteurs de dextrane et fermentent l'arabinose sont assignés à l'espèce de *Leuconostoc pseudomesenteroides* (ADR21, MEC7, MEC8, BAB6, BAB10, BAB 20 et TMN13). Les travaux sur le lait de dromadaire au Maroc Khedid *et al.* (2009), Ismaili *et al.* (2016) ont rapporté la présence des espèces *Leuconostoc mesenteroides*. Bendimerad *et al.* (2012) ont repéré que l'espèce de *Leuconostoc mesenteroides* existe dans le lait cru de dromadaire de la région ouest d'Algérie.

Le genre *Enterococcus* a la même morphologie de coloration de Gram que les lactocoques et peut se différencier par sa capacité à se développer à la fois à 10 °C et à 45 °C. Par définition, les entérocoques sont des cocci homofermentatives, anaérobies facultatifs à Gram positif avec une croissance à 10°C et 45°C, une croissance dans un bouillon salé à 6,5% de NaCl, une croissance à pH 9,6, une réduction de 0,1% de Milieu Bleu de méthylène et résistent à 60°C pendant 30 min. Dans ce travail 80 isolats répondent aux caractères des *Enterococcus*. L'identification des espèces qui représentent 32,5% des isolats retenus, passe par les tests de

Résultats et discussion

fermentation des sucres. Selon les tests biochimiques proposés par Manero et Blanch (1999) qui sont basés sur la fermentation de l'arabinose, du mannitol, du ribose et du sorbitol nous isolats appartiennent aux espèces suivantes : *Enterococcus faecium* qui est Arabinose (+), mannitol (+) dominant avec 40 isolats (50%). *Enterococcus durans* avec 19 isolats (23.75%) Arabinose (-) et mannitol (-). Une proportion de 16.25% des espèces d'*Enterococcus* sont représentés par l'espèce *faecalis*. 4 isolats d'*Enterococcus hirae* (5%) ont été identifiés et qui sont ADH (+) amidon (+) et mannitol (-). L'espèce *Enterococcus gallinarum* qui est arabinose (+) sorbitol (+) mannitol (+) et amidon (+) est représentée par 6 isolats (7.5%). Alaoui Ismaili *et al.*, (2016) ont signalé que le lait de chamelle du Maroc contient un taux d'*Enterococcus* de $3,75 \times 10^6$ ufc/ml. Les espèces d'*Enterococcus casseliflavus* et *Enterococcus faecalis* ont été détectées dans le lait de dromadaire du Maroc par Khedid *et al.* (2009). Les entérocoques sont aussi utilisés dans les levains dans certains aliments et sont disponibles dans le commerce sous forme de probiotiques pour la prévention et le traitement des troubles intestinaux chez l'homme (Lewenstein *et al.*, 1979) et chez les animaux (Ushe et Nagy, 1985). En particulier, *E. faecium* est associée à la fermentation d'un certain nombre de fromages d'Europe du Sud et est souvent utilisé dans leur fabrication.

Nos résultats révèlent la présence du genre *Lactobacillus* avec une proportion 32,52% de l'ensemble des isolats. Le genre *Lactobacillus* consiste en un groupe diversifié sur le plan physiologique et génétique, constitué d'organismes en forme de bâtonnet, à Gram positif, non sporulé, non pigmenté, catalase négatif et microaérophile à strictement anaérobie. Les lactobacilles présentent un groupe divers d'espèces homofermentaires et hétérofermentaires qui peuvent produire diverses substances telles que l'acide lactique, l'éthanol, l'acide formique, l'acétone, le peroxyde d'hydrogène, le diacétyle et les exopolysaccharides (EPS). L'identification au niveau de l'espèce a été réalisée par la comparaison de 35 caractères morphologiques, physiologiques et biochimiques (18 sucres). L'ensemble des isolats sont des mésophiles, poussent à un pH 4,4 et fermentent glucose mannose fructose lactose saccharose et tréhalose. La séparation des espèces de *Lactobacillus* est effectuée selon les autres facteurs cités dans le tableau 20 et 23. La comparaison des résultats avec la littérature révèle la présence des espèces de *Lactobacillus plantarum* (ADH-) (33 souches) doté d'un profil fermentaire large suivi de *Lactobacillus casei* (ADH+) (32 souches). Les espèces mineures sont représentées par *Lactobacillus rhamnosus* (09 souches), *Lactobacillus paracasei* (05 souches) et deux isolats ont été pré-identifiés comme *Lactobacillus pentosus* et *Lactobacillus bulgaricus*.

Un nombre de 19 sur 246 isolats pré-identifiés ont été choisis aléatoirement pour confirmer l'identification phénotypique par le système de galerie API 50CHL. Les entérocoques, les lactocoques et les streptocoques n'ont pas été pris en considération dans cette étape de travail. Les résultats de l'analyse confirment la présence des espèces suivantes *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus pentosus*, *Leuconostoc mesenteroides* et *Leuconostoc lactis* (Tab. 24 et Fig. 31).

Le tableau 26 illustre la présence des espèces lactiques dans les laits de dromadaire dans les différentes régions d'étude. Nous remarquons la diversité des espèces dans les régions soit par le nombre ou bien par le genre et l'espèce. Nous notons la présence d'*Enterococcus faecium* et *E. durans* dans toutes les régions. En revanche *Enterococcus faecalis* est absente dans la région d'Adrar, Mécherie et Béni-Abbès ce qui laisse penser que les prélèvements du lait ont été réalisés dans des conditions d'hygiène correctes. Dans cette dernière région *Enterococcus gallinarum*, et *Enterococcus hirae* ont été détectées. Nous signalons la présence de *Lactobacillus plantarum* et *Lactobacillus paracasei* dans tous les échantillons du lait de dromadaire dans toutes les régions étudiées. En Iran, Davati *et al.* (2015) en évaluant l'activité probiotique des souches lactiques, ont signalé la présence des espèces d'*Enterococcus durans*, *Enterococcus faecium*, *Lactobacillus casei*, *Leuconostoc mesenteroides* dans le lait de dromadaire. Des résultats similaires sur la présence des espèces lactiques ont été rapportés par plusieurs chercheurs (Jans *et al.*, 2012, Benmechernene *et al.*, 2013, Bendimerad *et al.*, 2012, Ismaili *et al.*, 2016).

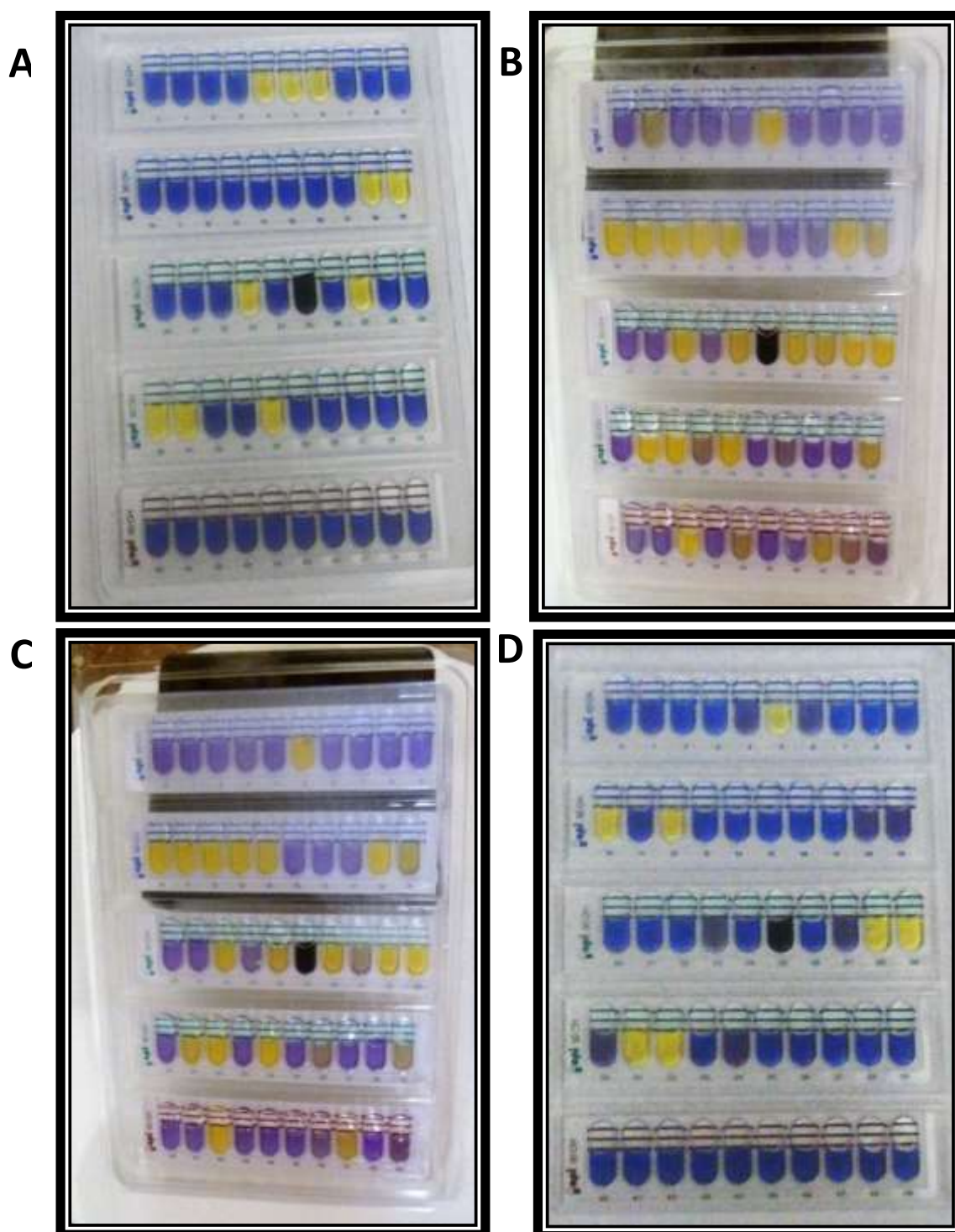


Figure 31. Test de fermentation des glucides par les Isolats à l'aide des systèmes Api 50 CHL.

A-*Leuconostoc lactis* ; B- *Lactobacillus rhamnosus* ; C- *Lactobacillus plantarum* ;D- *Leuconostoc mesenteroides* Subsp. *mesenteroides*

Résultats et discussion

Tableau 24. Résultats du profil fermentaire (Galerie API 50CHL) des souches lactiques.

Isolats	ABD2	ABD2	ADR3	ADR32	BAB9	BAB16	BAB29	GHD12	GHD23	MEC21	MEC14	MEC25	ORA7	ORA11	TAB11	TMN9	TMN11	TMN21	TMN32
T	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
GLY	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ERY	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
DARA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
LARA	+	-	+	-	+	-	-	+	+	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+
RIB	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	-	+	-	+
DXYL	-	-	-	-	+	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
LXYL	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ADO	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MDX	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
GAL	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	-	+
GLU	-	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	-	+	+	+	-	+	-	+
FRU	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+
MNE	-	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+
SBE	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-
RHA	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
DUL	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
INO	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MAN	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	-	+	+	+	-	+	-	+
SOR	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	-	+	+	+	-	+	-	+
MDM	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+
MDG	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
NAG	-	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	-	+	+	+	-	+	-	+
AMY	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	-	+	+	+	-	-	-	+
ARB	-	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	-	+	+	+	-	+	-	+
ESC	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	-	+	+	+	-	+	-	+
SAL	-	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	-	+	+	+	-	+	-	+
CEL	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+
MAL	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+
LAC	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
MEL	+	-	+	-	+	-	-	+	+	-	-	-	+	-	+	-	-	+	+
SAC	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	+	+	+	+	+

Résultats et discussion

Suite **tableau 24**. Résultats du profil fermentaire (Galerie API 50CHL) des souches lactiques.

TRE	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	-	+	-	+
INU	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MLZ	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	-	+	+	+	-	+	-	+
RAF	-	-	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+
AMD	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
GLYG	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
XLT	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
GEN	-	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+	-	+	+	+	-	+	-	+
TUR	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	-	+	+	+	-	-	-	+
LYX	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
TAG	-	+	-	+	+	+	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-
DFUC	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
LFUC	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
DARL	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
LARL	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
GNT	-	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+
2KG	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5KG	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Identification	<i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Lactobacillus paracasei</i>	<i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Lactobacillus paracasei</i>	<i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Lactobacillus paracasei</i>	<i>Leuconostoc mesenteroides</i> Subsp. <i>dextranicum</i>	<i>Lactobacillus pentosus</i>	<i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Lactobacillus delbrueckii</i> Subsp. <i>bulgaricus</i>	<i>Lactobacillus paracasei</i>	<i>Leuconostoc mesenteroides</i> Subsp. <i>mesenteroides</i>	<i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	<i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Leuconostoc lactis</i>	<i>Lactobacillus paracasei</i>	<i>Leuconostoc lactis</i>	<i>Lactobacillus plantarum</i>

T: Témoin, GLY: Glycérol, ERY: Erythritol, DARA: D- Arabinose, LARA: L- Arabinose, RIB: D- Ribose, DXYL: D- Xylose, LXYL: L-Xylose, ADO: D- Adonitol, MDX: Méthyl-D-Xylopyranoside, GAL: D- Galactose GLU: D- Glucose, FRU: D- Fructose, MNE: D- Mannose, SBE: L- Sorbose, RHA: L-Rhamnose, DUL: Dulcitol, INO: Inositol, MAN: D-Mannitol, SOR: D- Sorbitol, MDM: Méthyl-D-Mannopyranoside, MDG: Méthyl-D-Glucopyranoside, NAG: N-AcétyleGlucosamine, AMY: Amygdaline, ARA: Arbutine, ESC: citrate de fer Esculine SAL: Salicine, CEL: D- Celiobiose, MAL: D- Maltose, LAC: D- Lactose, MEL: D- Melibiose, SAC: D-Saccharose, TRE: D-Tréhalose, INU: Inuline, MLZ: D- Mélézitose, RAF: D- Raffinose, DMLA: Amidon, GLYG: Glycogène, XLT: Xylitol, GEN: Gentiobiose, TUR: D-Turanose, LYX: D-Lyxose, TAG: D-Tagatose, DFUC: D- Fructose, LFUC: L-Fructose, DARL: D- Arabitol, LARL: L-Arabitol, GNT: Gluconate de Potassium, 2KG: 2-Cétogluconate de Potassium, 5KG: 5-cétogluconate de potassium.

Tableau 25. Répartition des espèces lactiques selon les régions étudiées.

Région	Code isolat	Identification	Nombre
Abadela	ABD19	<i>E. durans</i>	1
	ABD24 ; ABD5	<i>E. faecalis</i>	2
	ABD15 ; ABD29 ; ABD3 ; ABD31	<i>E. faecium</i>	4
	ABD12 ; ABD17 ABD26 ;	<i>E. gallinarum</i>	3
	ABD10 ABD13 ABD16 ABD21 ABD25	<i>Lb. casei</i>	5
	ABD7 ABD23	<i>Lb. paracasei</i>	2
	ABD2 ABD14 ABD18 ABD30 ABD4 ABD6	<i>Lb. plantarum</i>	6
	ABD11 ABD27	<i>Lb. rhamnosus</i>	2
	ABD1 ABD22	<i>Lc. lactis</i> Subsp. <i>cremoris</i>	2
	ABD9	<i>Lc. lactis</i> Subsp. <i>lactis</i> biovar. <i>diacetylactis</i>	1
	ABD28	<i>Ln. mesenteroides</i> Subsp. <i>dextranicum</i>	1
	ABD20	<i>Ln. mesenteroides</i> Subsp. <i>mesenteroides</i>	1
	ABD8	<i>St. thermophilus</i>	1
Oran	ORA18	<i>E. durans</i>	1
	ORA17	<i>E. faecalis</i>	1
	ORA2 ORA3 ORA5 ORA12 ORA20 ORA23	<i>E. faecium</i>	6
	ORA9 ORA16 ORA22 ORA24	<i>Lb. casei</i>	4
	ORA7 ORA13 ORA19	<i>Lb. plantarum</i>	3
	ORA11	<i>Lb. rhamnosus</i>	1
	ORA6	<i>Lc. lactis</i> Subsp. <i>cremoris</i>	1
	ORA1 ORA15 ORA25	<i>Lc. lactis</i> Subsp. <i>lactis</i> biovar. <i>diacetylactis</i>	3
	ORA26	<i>Ln. mesenteroides</i> Subsp. <i>dextranicum</i>	1
	ORA10 ORA14 ORA21	<i>Ln. mesenteroides</i> Subsp. <i>mesenteroides</i>	3
	ORA4 ORA8	<i>St. thermophilus</i>	2
Tabelbala	TAB10 TAB27 TAB31	<i>E. durans</i>	3
	TAB8 TAB19	<i>E. faecalis</i>	2
	TAB2 TAB6 TAB15 TAB23 TAB25 TAB30 TAB33	<i>E. faecium</i>	7
	TAB16 TAB13	<i>E. gallinarum</i>	2
	TAB9 TAB20 TAB22 TAB28	<i>Lb. casei</i>	4
	TAB5 TAB11 TAB12 TAB14	<i>Lb. plantarum</i>	4
	TAB7 TAB17 TAB24	<i>Lb. rhamnosus</i>	3
	TAB3 TAB4 TAB21 TAB26 TAB32	<i>Lc. lactis</i> Subsp. <i>cremoris</i>	5
	TAB18 TAB29	<i>Ln. mesenteroides</i> Subsp. <i>dextranicum</i>	2
Adrar	TAB1	<i>Ln. mesenteroides</i> Subsp. <i>mesenteroides</i>	1
	ADR8 ADR13 ADR23 ADR29 ADR34	<i>E. durans</i>	5
	ADR4 ADR5 ADR16	<i>E. faecium</i>	3
	ADR12 ADR18 ADR26 ADR31 ADR32	<i>Lb. casei</i>	5
	ADR7 ADR22	<i>Lb. paracasei</i>	2
	ADR1 ADR3 ADR15 ADR27	<i>Lb. plantarum</i>	4
	ADR9 ADR25	<i>Lb. rhamnosus</i>	2
	ADR2 ADR10 ADR14 ADR19 ADR24 ADR30	<i>Lc. lactis</i> Subsp. <i>lactis</i> biovar. <i>diacetylactis</i>	6
	ADR6	<i>Ln. mesenteroides</i> Subsp. <i>dextranicum</i>	1
	ADR17 ADR20	<i>Ln. mesenteroides</i> Subsp. <i>mesenteroides</i>	2
	ADR21	<i>Ln. pseudomesenteroides</i>	1
	ADR11 ADR28 ADR33	<i>St. thermophilus</i>	3

(Suite Tableau 25 Répartition des espèces lactiques selon les régions étudiées).

Région	Code isolat	Identification	Nombre
Mecheria	MEC27	<i>E. durans</i>	1
	MEC3 MEC13 MEC20 MEC23 MEC30	<i>E. faecium</i>	5
	MEC4 MEC18 MEC26 MEC29	<i>Lb. casei</i>	4
	MEC21	<i>Lb. delbrueckii</i> Subsp. <i>bulgaricus</i>	1
	MEC1 MEC5 MEC14 MEC15 MEC24 MEC31 MEC32	<i>Lb. plantarum</i>	7
	MEC16	<i>Lc. lactis</i> Subsp. <i>cremoris</i>	1
	MEC2 MEC6 MEC10 MEC17	<i>Lc. lactis</i> Subsp. <i>lactis</i> biovar. <i>diacetylactis</i>	4
	MEC11	<i>Ln. mesenteroides</i> Subsp. <i>dextranicum</i>	1
	MEC12 MEC19 MEC22 MEC25	<i>Ln. mesenteroides</i> Subsp. <i>mesenteroides</i>	4
	MEC7 MEC8	<i>Ln. pseudomesenteroides</i>	2
	MEC9 MEC28	<i>St. thermophilus</i>	2
Béni-abbès	BAB15 BAB19 BAB30	<i>E. durans</i>	3
	BAB3 BAB5 BAB12 BAB25	<i>E. faecium</i>	4
	BAB13	<i>E. gallinarum</i>	1
	BAB22	<i>E. hirae</i>	1
	BAB16 BAB26	<i>Lb. casei</i>	2
	BAB9	<i>Lb. paracasei</i>	1
	BAB4 BAB7 BAB17 BAB28	<i>Lb. plantarum</i>	4
	BAB1 BAB2 BAB8 BAB11 BAB14 BAB18 BAB21 BAB27	<i>Lc. lactis</i> Subsp. <i>lactis</i> biovar. <i>diacetylactis</i>	8
	BAB29	<i>Ln. mesenteroides</i> Subsp. <i>dextranicum</i>	1
	BAB23	<i>Ln. mesenteroides</i> Subsp. <i>mesenteroides</i>	1
	BAB6 BAB10 BAB20	<i>Ln. pseudomesenteroides</i>	3
Timimoun	BAB24	<i>St. thermophilus</i>	1
	TMN2 TMN17 TMN29	<i>E. durans</i>	3
	TMN8 TMN12 TMN16 TMN26 TMN30	<i>E. faecalis</i>	5
	TMN4 TMN7 TMN14 TMN19 TMN24 TMN28	<i>E. faecium</i>	6
	TMN22	<i>E. hirae</i>	1
	TMN1 TMN3 TMN11 TMN18 TMN20 TMN27	<i>Lb. casei</i>	6
	TMN6 TMN25 TMN32	<i>Lb. plantarum</i>	3
	TMN5	<i>Lc. lactis</i> Subsp. <i>cremoris</i>	1
	TMN10	<i>Lc. lactis</i> Subsp. <i>lactis</i> biovar. <i>diacetylactis</i>	1
	TMN9 TMN21	<i>Ln. lactis</i>	2
	TMN31	<i>Ln. mesenteroides</i> Subsp. <i>dextranicum</i>	1
	TMN15	<i>Ln. mesenteroides</i> Subsp. <i>mesenteroides</i>	1
	TMN13	<i>Ln. pseudomesenteroides</i>	1
	TMN23	<i>St. thermophilus</i>	1
Ghardaia	GHD15 GHD22	<i>E. durans</i>	2
	GHD5	<i>E. faecalis</i>	1
	GHD4 GHD14 GHD18 GHD24 GHD27	<i>E. faecium</i>	5
	GHD2 GHD11	<i>E. hirae</i>	2
	GHD19 GHD26	<i>Lb. casei</i>	2
	GHD21 GHD23	<i>Lb. plantarum</i>	2
	GHD12	<i>Lactobacillus pentosus</i>	1
	GHD6	<i>Lc. lactis</i> Subsp. <i>cremoris</i>	1
	GHD3 GHD7 GHD10 GHD13 GHD20 GHD25	<i>Lc. lactis</i> Subsp. <i>lactis</i> biovar. <i>diacetylactis</i>	6
	GHD1 GHD8 GHD9 GHD17	<i>Ln. mesenteroides</i> Subsp. <i>dextranicum</i>	4
	GHD16 GHD28	<i>St. thermophilus</i>	2

2.5. Activité protéolytique et lipolytique des isolats

L'activité protéolytique des isolats lactiques est un facteur qui permet le choix des souches pour l'industrie agroalimentaire. Les espèces protéolytiques sont classées en deux grandes groupes les germes protéolytiques qui se développent rapidement sur milieu lait et permettent le déclenchement rapide de la fermentation. Les espèces lactiques non protéolytiques sont nécessaires dans la maturation des fromages grâce à leurs enzymes protéolytiques intracellulaires. Le tableau 26 et figure 32, montrent que toutes les souches étudiées montrent une croissance avec une activité protéolytique d'un halo clair autour des disques. Selon Vuilleumard *et al.* (1986), la souche est appelée protéolytique si elle a une zone de lyse de diamètre compris entre 15 et 21 mm. Comparativement à ces données, nos souches ont révélé que les diamètres de la zone protéolytique est proche de ces valeurs. Nos résultats montrent que les isolats retenus sont tous protéolytiques mais l'intensité diffère d'une souche à l'autre. L'activité protéolytique des bactéries lactiques laitières est essentielle pour la croissance bactérienne dans le lait et participe au développement des propriétés organoleptiques de différents produits laitiers fermentés. La production de produits laitiers fermentés de haute qualité dépend de systèmes protéolytiques de bactéries de départ, car les peptidases et les acides aminés formés ont un impact direct sur la saveur ou servent de précurseurs de saveur dans ces produits (Christensen *et al.*, 1999, Axelsson *et al.*, 2004, Fguiri *et al.*, 2015).

Les résultats de l'activité lipolytique des souches lactiques sont présentés dans le tableau 26. L'activité lipolytique a été détectée dans 33 isolats ce qui représente 41,25% des isolats testés. Les bactéries lactiques sont considérées comme faiblement lipolytique en comparaison avec d'autres espèces bactériennes telles que *Pseudomonas*, *Acinetobacter* et *Flavobacterium*. Nos résultats ne sont pas en accords avec ceux obtenus par Crow *et al.* (1994), Sahnouni *et al.* (2012) qui ont montré que les lactocoques possèdent une faible activité lipolytique. Les travaux de Fernández *et al.* (2000), ont montré que l'activité estérasique n'était pas nécessaire à la croissance des bactéries lactiques ni dans un milieu synthétique, ni dans du lait écrémé ou entier.

Yadav *et al.* (2007), ont déclaré que l'ajout de LAB autochtone dans les produits laitiers contribue à la production d'acides gras libres et d'acide linoléique à partir de la lipolyse des graisses laitières, produisant un effet hypolipidémique chez l'hôte. Ces bactéries se retrouvent en grande quantité sur les produits laitiers en raison de leur capacité d'adaptation dans ce substrat riche en lipides et en acides gras. Leur large distribution est une conséquence de leur propriétés lipolytique, leur capacité à fermenter / assimiler le lactose et à utiliser des acides

Résultats et discussion

gras. Dans l'industrie agro-alimentaire, les bactéries lactiques sont utilisées comme starter grâce à leur pouvoir protéolytique et ont été citées comme faisant partie du microbiote humain.

La production de composés d'arômes est une fonctionnalité technologique très recherchée lors de l'élaboration des produits laitiers. D'après nos résultats (Tab. 20), il apparaît que les souches retenues sont capables de métaboliser le citrate et arrivent à produire l'acétoïne et le diacétyl dans le milieu synthétique par la production d'un anneau rouge qui indique la présence de l'acétoïne. Donc les isolats testés ont un pouvoir aromatisant qui va contribuer aux caractéristiques organoleptiques des produits fermentés (Kihal, 1996).

Dans le lait cru et les produits laitiers tels que les fromages, les yaourts et les laits fermentés, les bactéries lactiques sont ajoutées intentionnellement, pour des raisons technologiques ou bénéfiques pour la santé, car ils déterminent fortement la saveur, la texture et la valeur nutritionnelle de l'aliment ainsi que la bio préservation du produit final.

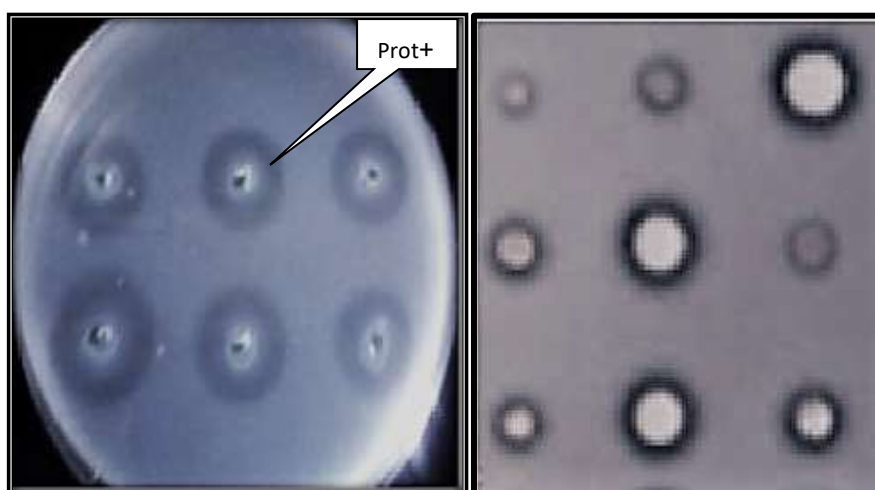


Figure 32 . Les zones d'hydrolyses claires autour des colonies indiquent la dégradation des caséines du lait par les isolats sur milieu PCA 2% lait écrémé.

Résultats et discussion

Tableau 26. Résultats des activités protéolytique et lipolytique pour l'ensemble des souches.

Souche	Activité protéolytique	Activité lipolytique	Souche	Activité protéolytique	Activité lipolytique	Souche	Activité protéolytique	Activité lipolytique
ABD1	++	-	TAB26	++	-	BAB9	++	-
ABD2	+	-	TAB27	+	-	BAB10	+	-
ABD3	+++	-	TAB28	+	+	BAB11	++	-
ABD4	+	+	TAB29	+	-	BAB12	++	-
ABD5	++	-	TAB30	+	-	BAB13	++	-
ABD6	+	+	TAB31	++	-	BAB14	++	-
ABD7	+	-	TAB32	++	-	BAB15	++	-
ABD8	+	-	TAB33	+	-	BAB16	+	+
ABD9	++	-	ADR1	+	-	BAB17	+	-
ABD10	+	+	ADR2	++	-	BAB18	+	-
ABD11	+	+	ADR3	+	-	BAB19	++	-
ABD12	++	-	ADR4	++	-	BAB20	+	-
ABD13	+	+	ADR5	+++	-	BAB21	+	-
ABD14	+	-	ADR6	+	-	BAB22	+	-
ABD15	+++	-	ADR7	+	-	BAB23	+	-
ABD16	+	+	ADR8	++	-	BAB24	+	-
ABD17	++	-	ADR9	+	-	BAB25	++	-
ABD18	+	-	ADR10	++	-	BAB26	+	-
ABD19	+	-	ADR11	+++	-	BAB27	++	-
ABD20	++	-	ADR12	+	-	BAB28	+	-
ABD21	++	+	ADR13	++	-	BAB29	++	-
ABD22	+++	-	ADR14	++	-	BAB30	+++	-
ABD23	+	+	ADR15	+	+	TMN1	+	-
ABD24	+++	-	ADR16	++	-	TMN2	+	-
ABD25	+	-	ADR17	++	-	TMN3	+	-
ABD26	++	-	ADR18	+	-	TMN4	++	-
ABD27	+	+	ADR19	+++	-	TMN5	+++	-
ABD28	++	-	ADR20	++	-	TMN6	+	-
ABD29	+	-	ADR21	+	-	TMN7	+	-
ABD30	+	+	ADR22	+	-	TMN8	++	-
ABD31	+++	-	ADR23	++	-	TMN9	++	-
ORA1	++	-	ADR24	++	-	TMN10	+	-
ORA2	+++	-	ADR25	+	+	TMN11	++	+
ORA3	++	-	ADR26	+	-	TMN12	+++	-
ORA4	+	-	ADR27	+	+	TMN13	+	-
ORA5	++	-	ADR28	+	-	TMN14	++	-
ORA6	++	-	ADR29	++	-	TMN15	+	-
ORA7	+	-	ADR30	+++	-	TMN16	++	-
ORA8	+	-	ADR31	+	-	TMN17	+++	-
ORA9	+	-	ADR32	+	+	TMN18	+	-
ORA10	++	-	ADR33	+	-	TMN19	++	-
ORA11	+	+	ADR34	++	-	TMN20	+	+
ORA12	+++	-	MEC1	+	-	TMN21	+++	-
ORA13	+	-	MEC2	++	-	TMN22	++	-
ORA14	++	-	MEC3	+++	-	TMN23	+	-

Résultats et discussion

(SUITE Tableau 26. Résultats des activités protéolytique et lipolytique pour l'ensemble des souches).

Souche	Activité protéolytique	Activité lipolytique	Souche	Activité protéolytique	Activité lipolytique	Souche	Activité protéolytique	Activité lipolytique
ORA15	++	-	MEC4	+	-	TMN24	+++	-
ORA16	+	-	MEC5	+	-	TMN25	+	-
ORA17	+	-	MEC6	++	-	TMN26	++	-
ORA18	+	-	MEC7	+	-	TMN27	+	-
ORA19	++	+	MEC8	+	-	TMN28	++	-
ORA20	++	-	MEC9	+	-	TMN29	+	-
ORA21	++	-	MEC10	++	-	TMN30	+++	-
ORA22	+	+	MEC11	++	-	TMN31	+	-
ORA23	+++	-	MEC12	+	-	TMN32	+	+
ORA24	+	-	MEC13	+++	-	GHD1	++	-
ORA25	++	-	MEC14	+	+	GHD2	+	-
ORA26	+	-	MEC15	+	-	GHD3	+++	-
TAB1	+	-	MEC16	++	-	GHD4	++	-
TAB2	++	-	MEC17	+++	-	GHD5	+++	-
TAB3	+++	-	MEC18	+	-	GHD6	++	-
TAB4	++	-	MEC19	+	-	GHD7	+++	-
TAB5	+	-	MEC20	++	-	GHD8	+	-
TAB6	++	-	MEC21	+	-	GHD9	+	-
TAB7	+	-	MEC22	+	-	GHD10	++	-
TAB8	++	-	MEC23	+	-	GHD11	+	-
TAB9	+	-	MEC24	+	-	GHD12	+	-
TAB10	+++	-	MEC25	+	-	GHD13	++	-
TAB11	+	-	MEC26	+	-	GHD14	+++	-
TAB12	+	-	MEC27	++	-	GHD15	+	-
TAB13	++	-	MEC28	+	-	GHD16	+	-
TAB14	+	-	MEC29	+	-	GHD17	+	-
TAB15	+++	-	MEC30	++	-	GHD18	+	-
TAB16	++	-	MEC31	+	+	GHD19	+	+
TAB17	+	-	MEC32	+	-	GHD20	++	-
TAB18	+	-	BAB1	++	-	GHD21	+	-
TAB19	+++	-	BAB2	+++	-	GHD22	++	-
TAB20	+	+	BAB3	+	-	GHD23	+	-
TAB21	++	-	BAB4	++-	-	GHD24	+++	-
TAB22	+	-	BAB5	+	-	GHD25	++	-
TAB23	++	-	BAB6	++	-	GHD26	+	+
TAB24	+	-	BAB7	+	+	GHD27	++	-
TAB25	++	-	BAB8	+++	-	GHD28	+	-

Les espèces mésophiles de bactéries lactiques les plus utilisées sont *Lactococcus lactis* Subsp. *lactis*, *L. lactis* Subsp. *lactis* biovar *diacetylactis*, *Lactococcus lactis* Subsp. *cremoris*, *Leuconostoc mesenteroides* Subsp. *cremoris*, et *Leuconostoc lactis*. Les cultures mésophiles peuvent être encore classifiées sur la base de la fermentation du citrate et de la production de

Résultats et discussion

dextrane. Dans l'industrie alimentaire, les bactéries lactiques sont largement utilisées comme starter et ont été citées comme faisant partie du microbiote humain et de l'écosystème lait cru. Dans le lait cru et les produits laitiers tels que les fromages, les yaourts et les laits fermentés, les différentes espèces de bactéries lactiques sont naturellement présentes ou ajoutés volontairement, pour des raisons technologiques et sanitaires.

Le lait cru de dromadaire présente une source importante de pléthore d'espèces de bactéries lactiques. Une grande majorité des efforts sont canalisés sur l'isolement des bactéries lactiques et leur exploitation pour des bénéfices liés à la santé. La présente étude visait à isoler les différents genres et espèces de bactéries lactiques présentent dans les échantillons du lait cru de dromadaire d'Algérie. Un nombre de 246 isolats ont répondu aux caractères des bactéries lactiques et ont été identifiées jusqu'à l'espèce.

3. Etude moléculaire des bactéries lactiques

3.1. Etude de la diversité par les régions ITS

L'analyse du polymorphisme de longueur de l'espaceur transcrit interne (ITS) 16S-23S amplifié a été utilisée pour sélectionner des souches représentatives des différentes unités taxonomiques issues de la collection. En fait, différentes études ont déjà rapporté l'utilité de la dérégulation de l'ITS pour l'inter-différenciation et l'intra-différenciation au niveau du genre / de l'espèce (Gürtler et Stanisich, 1996, Daffonchio *et al.*, 2000).

Cependant les techniques basées sur l'analyse de l'ADN et des séquences signatures dans les régions très conservées offrent des solutions pour les problèmes de systématique rencontrés avec les espèces proches non distinguables. Actuellement la taxonomie bactérienne s'est orientée vers les approches polyphasiques incluant la caractérisation phénotypique et génotypique des nouvelles bactéries (Santos *et al.*, 2005, Gala *et al.*, 2008).

L'intérêt de la technique ITS réside dans la diversité génétique qu'elle génère entre les genres et les espèces étudiés ainsi de les grouper sous des haplotypes. Au cours de notre travail les amorces ITS sont utilisées (s-d-bact-1494-a-20 et s-d-bact-0035-a-15). Les résultats obtenus rendent plus robustes les subdivisions génétiques des différentes espèces (Fig. 33).

En raison de la grande variabilité de ces espaceurs internes, nous avons observé l'apparition des bandes différentes (nombre et taille) pour les isolats étudiés. 15 différents ITS-haplotypes désignés de « A » à « O » ont été distingués. Les profils ITS-PCR ont montré de 1 à 6 bandes reproductibles de taille variable entre 175 pb et inférieure au t'égale 1000 pb (Fig. 33).

L'haplotype 'G' est le plus dominant avec 10 isolats (TAB11, ORA16, ADR26, ABD10, TAB22, TMN18, ADR12, ABD14, ORA19 et TAB20), suivis par le groupe 'D' avec 5 isolats (ORA7, ADR15, MEC31, GHD19, BAB4). Les groupes 'B' (ADR32, GHD), 'C' (ABD3, MEC12), 'E' (TAB5, ADR25), 'F' (TMN27, TMN1) et 'H' (MEC25, BAB23) sont représentés chacun par 2 isolats. Les autres haplotypes (8) sont représentés par un seul isolat pour chaque haplotype. ('A' ABD18 ; 'I' BAB29, 'J' BAB17 ; 'K' TMN 21 ; 'L' ORA11 ; 'M' GHD12 ; 'N' ORA14 ; 'O' ADR6). Cette méthode d'analyse a permis de grouper la microflore lactique de la rhizosphère de l'olivier en 16 groupes génétique avec un profil de 1 à 4 bandes de taille variant de 275 pb à 600 pb. Cette analyse a permis de détecter six genres *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Lactococcus*, *Weissella* et *Leuconostoc* (Fhoula *et al.*, 2013).

Cette technique nous a permis de classer nos isolats groupe afin de d'entamée l'analyse de l'ARNr 16S.

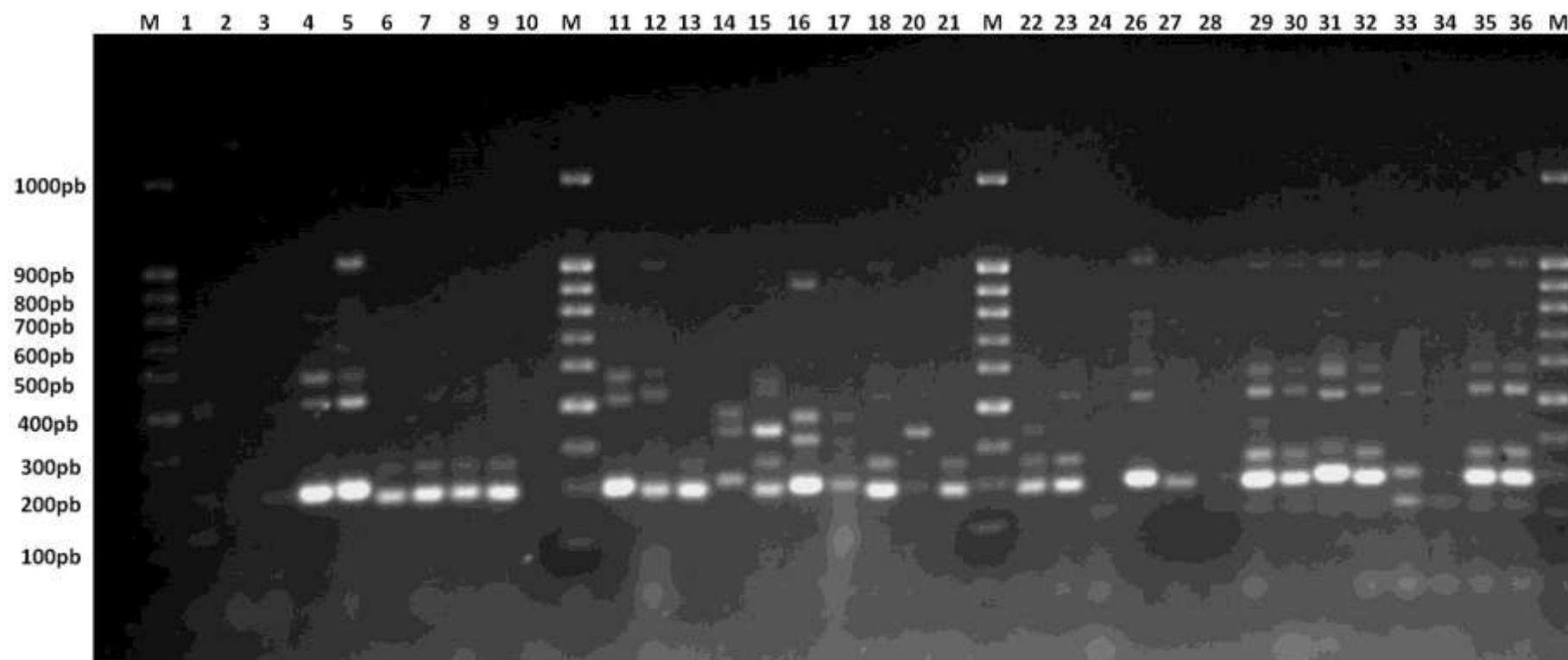


Figure 33. Profil de migration de la région *ITS* (Internal transcribed spacer) 16S/23S des isolats sur gel d'agarose à 2%.

1 :ABD18 ; 2 :ADR32 ; 3 :GHD26 ; 4 :ABD3 ; 05 :ORA11 ; 6 :ORA7 ; 7 :ADR15 ; 8 :MEC31 ; 9 :GHD19 ; 11 :MEC12 ; 12 :TAB5 ; 13 :BAB4 ; 14 :TMN27 ; 15 :GHD12 ; 16 :TMN21 ; 17 :TMN1 ; 18 :TAB11 ; 20 :ORA14 ; 21 :ORA16 ; 22 : ADR26 ; 23 :BAB17 ; 24 :ADR25 ; 26 :ABD10 ; 27 :ADR6 ; 28 :BAB23 ; 29 :TAB22 ; 30 :TMN18 ; 31 :ADR12 ; 32 :ABD14 ; 33 :BAB29 ; 34 :MEC25 ; 35 :ORA19 ; 36 :TAB20

3.2. Identification des isolats l'ARNr 16S

L'identification génotypique des isolats repose sur l'analyse de l'ADN en utilisant la technique de PCR, par des amorces encadrant des régions de l'ARNr 16S (approximativement 1500 pb). Les isolats qui ont un type d'ITS différents ont été identifiés par analyse de la séquence de ce gène. Cette identification a été réalisée à l'aide d'une paire d'amorces spécifiques utilisées pour différencier entre les espèces. La partie du gène codant pour l'ARNr 16S a été amplifiée par deux amorces universelles (27F/ 1492R). Les produits d'amplification des isolats ont été analysés par l'électrophorèse sur gel d'agarose à 1,5%. Les résultats obtenus montrent que chacun des isolats a présenté une bande de même intensité. Ces bandes correspondent à des fragments d'ADN de 1500 pb (Fig. 34).

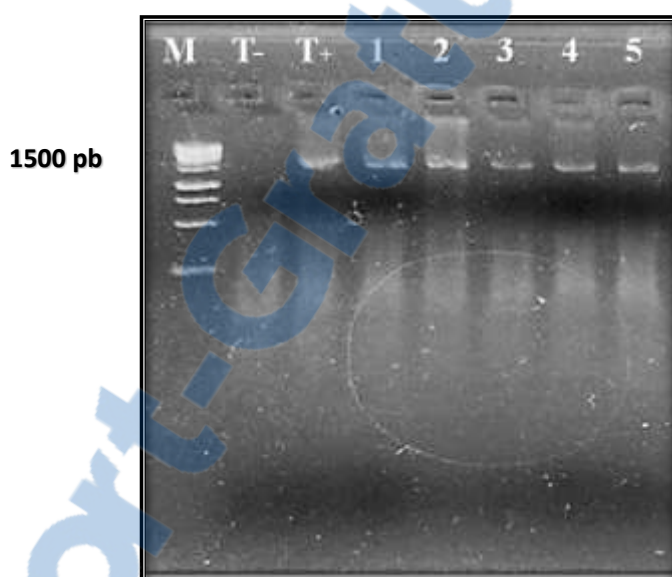


Figure 34. Profile de migration des produits d'amplification de la région codant l'ARNr 16S sur gel d'agarose à 1.5%.

(M : marqueur de taille 1Kb, T- : témoin négatif, T+ : témoin positif, 1 : MEC12, 2 : BAB17, 3 : TMN21, 4 : ADR15, et 5 : ORA11)

Les similarités des séquences ont été trouvées par analyse BLAST en utilisant les bases de données NCBI GenBank (<http://www.ncbi.nih.gov>). L'analyse phylogénétique des séquences de l'ADNr 16S a été réalisée avec le logiciel d'analyse génétique évolutive moléculaire (MEGA), version 7 en utilisant des séquences de références de la base de données Ribosomal Database Project (RDP) (<http://rdp.cme.msu.edu>). L'arbre a été construit en utilisant la méthode de voisinage (Neighbor-joining).

Un pourcentage de similitude $\geq 97\%$ avec des séquences d'espèce de référence classifiée permettra d'assigner l'isolat inconnu à l'espèce correspondante avec certitude (Janda et Abbott, 2007). Les séquences obtenues (> 716 pb) ont été introduites dans la base de données NCBI qui

Résultats et discussion

les a alignés (annexe). Les séquences des isolats ABD28 et MEC12 sont attribuées comme *Leuconostoc mesenteroides* Subsp. *dextranicum* avec un pourcentage de 99% et 100% respectivement. La séquence de MEC25 est similaire à la séquence de *Leuconostoc mesenteroides* strain ATCC 8293 avec 100% de similitude. L'isolat ADR12 a été assigné (99%) comme *Lactobacillus paracasei*. Les isolats TMN18, BAB17 et GHD12 ressemblent à 99 % de certitude à l'espèce *Lactobacillus paraplantarum*. Les isolats ADR9 et ORA11 sont identifiés comme *Lactobacillus rhamnosus* avec une affinité de 100%. Les isolats ADR15, ADR32 et TMN21 sont identifiés comme *Lactobacillus pentosus*, *Lactobacillus plantarum* et *Enterococcus gallinarum* avec une similitude de 99% (Tab. 27).

Les *Lactobacillus* peuvent montrer parfois des profils variables chez les mêmes espèces (Gala *et al.*, 2008 ; Puertas *et al.*, 2014) et parfois des espèces différentes partageant plus de 99% de similitude dans leur gène après analyse de l'ARNr 16S. Ces mêmes auteurs ont obtenu une meilleure résolution des résultats en utilisant d'autres marqueurs génétiques comme *dnaK*, *recA* ou l'hybridation ADN/ADN. Les isolats ORA11, ADR9, ADR12, ADR32, MEC12, et BAB1 seront utilisés en culture simple ou mixte dans les différentes préparations de lait fermenté.

Tableau 27. Caractérisation phénotypique et génotypique des différents isolats retenus.

Isolats	% de similarité	La souche la plus proche (Séquence d'ADNr 16S)	Numéro d'accension de la souche proche dans la base NCBI
ABD28	99%	<i>Leuconostoc mesenteroides</i> Subsp. <i>dextranicum</i> strain SKB3032	MH844904.1
ADR12	99%	<i>Lactobacillus paracasei</i> strain HBUAS54287	MH817736.1
MEC12	100%	<i>Leuconostoc mesenteroides</i> Subsp. <i>dextranicum</i> strain SKB3032	MH844904.1
ADR15	99%	<i>Lactobacillus pentosus</i> strain SKB1213	MH844897.1
ADR9	100%	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> strain NBRC 3425	NR_113332.1
TMN18	99%	<i>Lactobacillus paraplantarum</i> strain HBUAS52332	MH656815.1
MEC25	100%	<i>Leuconostoc mesenteroides</i> strain ATCC 8293	MH844904.1
BAB17	99%	<i>Lactobacillus paraplantarum</i> strain DSM 10667	NR_025447.1
TMN21	99%	<i>Enterococcus gallinarum</i> strain LMG 13129	NR_104559.2
ORA11	100%	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> strain NBRC 3425	NR_113332.1
GHD12	99%	<i>Lactobacillus paraplantarum</i> strain DSM 10667	NR_025447.1
ADR32	99%	<i>Lactobacillus plantarum</i> strain CIP 103151	NR_104573.1

3.3. Phylogénétique des isolats

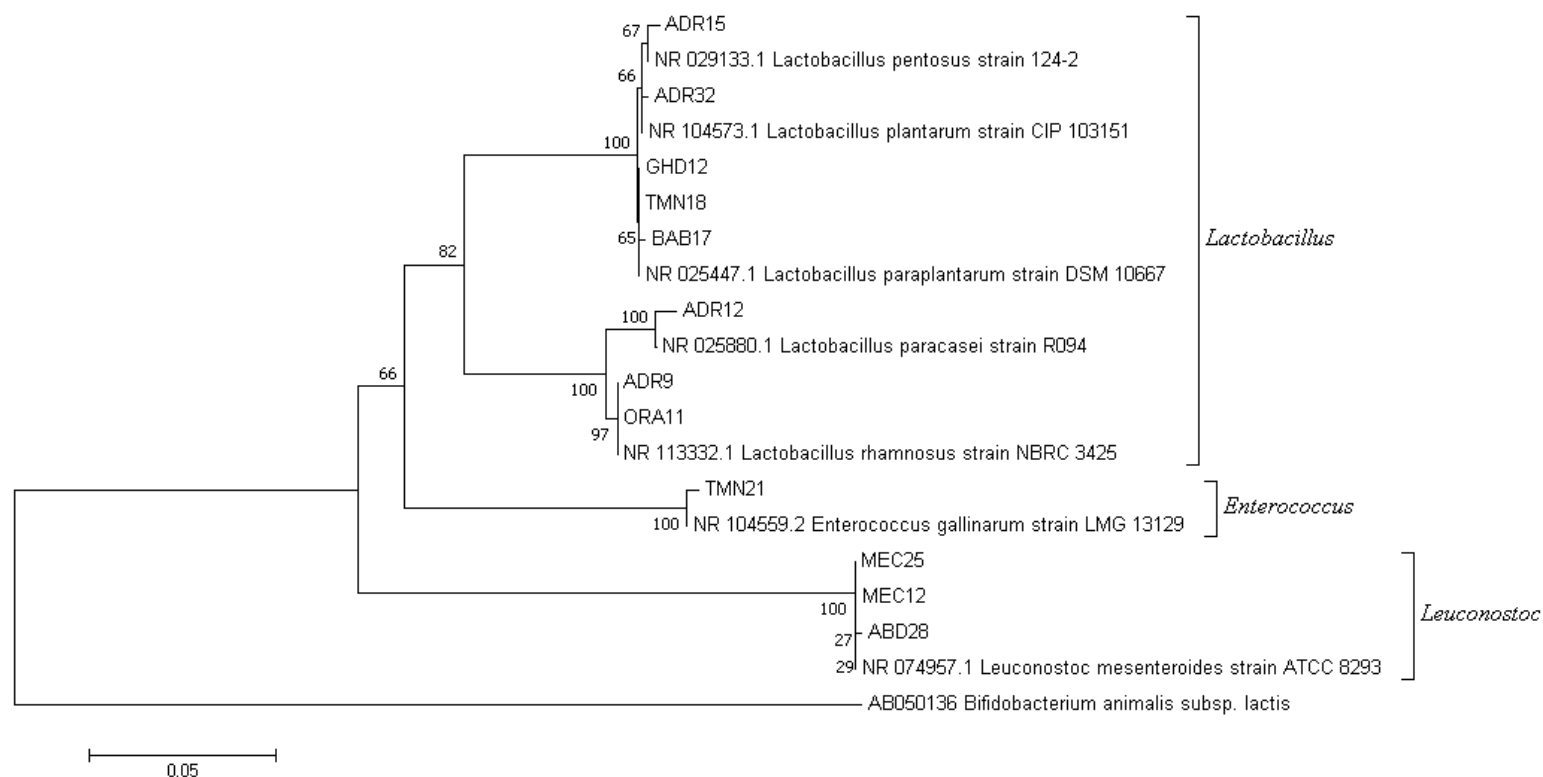


Figure 35. Arbre phylogénétique (méthode de Neighbor-joining) basée sur l'analyse comparative partielle des séquences du gène de l'ARNr 16S des bactéries lactiques montrant l'affinité phylogénétique des souches isolées. La Séquence de *Bifidobacterium animalis* Subsp. *lactis* a été utilisé comme out-group.

4. Cinétique de croissance en milieu lait

4.1. Cultures pures

Nous avons étudié la cinétique de croissance de six souches retenues afin de déterminer les différents paramètres de croissance, à savoir la durée de la phase latence, le taux de croissance (μ), le temps de génération (G), la densité cellulaire maximale, ainsi la vitesse d'acidification par la mesure du pH et l'évolution de l'acidité Dornic (Tab.28, Fig.36,37,38 et 39).

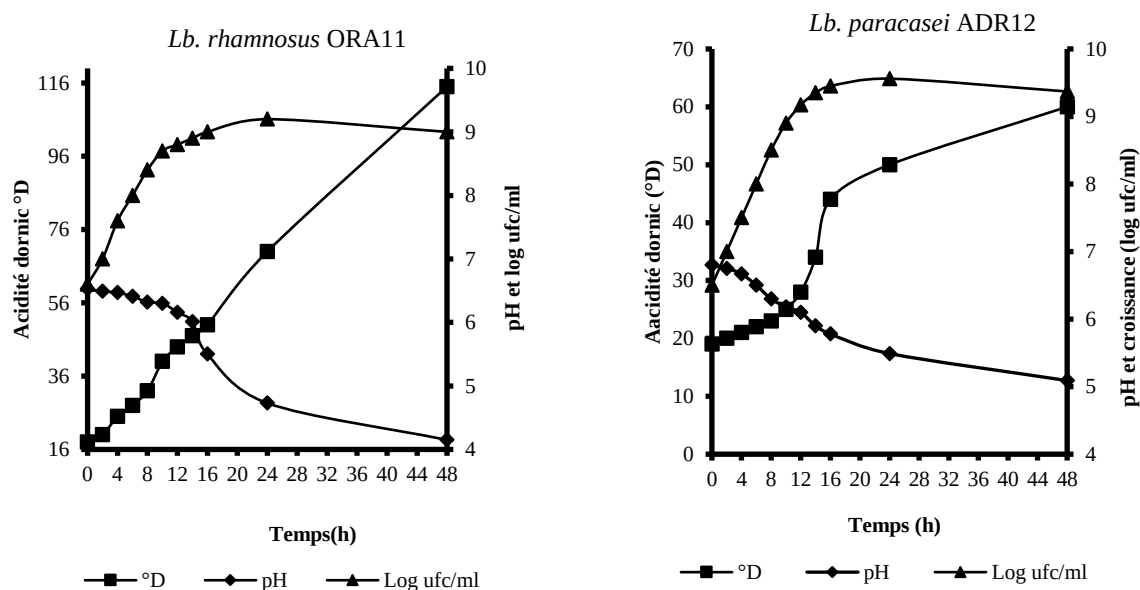


Figure 36. Cinétique de croissance et de l'évolution du pH et de l'acidité Dornic de la souche *Lactobacillus rhamnosus* et *Lactobacillus paracasei* en milieu lait écrémé à 30°C en cultures pures.

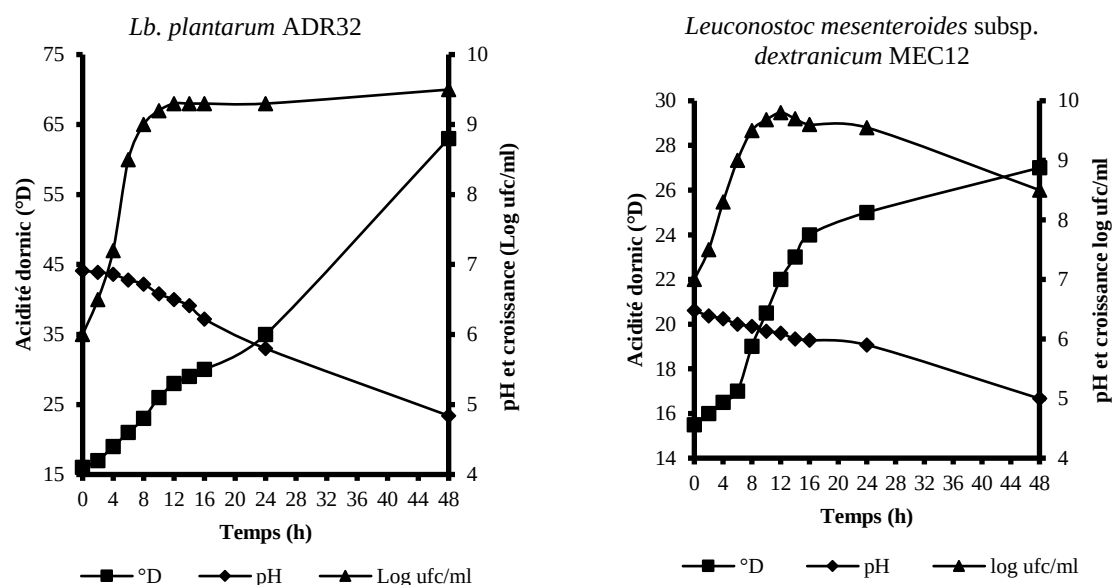


Figure 37. Cinétique de croissance et de l'évolution du pH et de l'acidité Dornic de la souche *Lactobacillus plantarum* et *Leuconostoc mesenteroides* Subsp. *dextranicum* en milieu lait écrémé à 30°C en cultures pures.

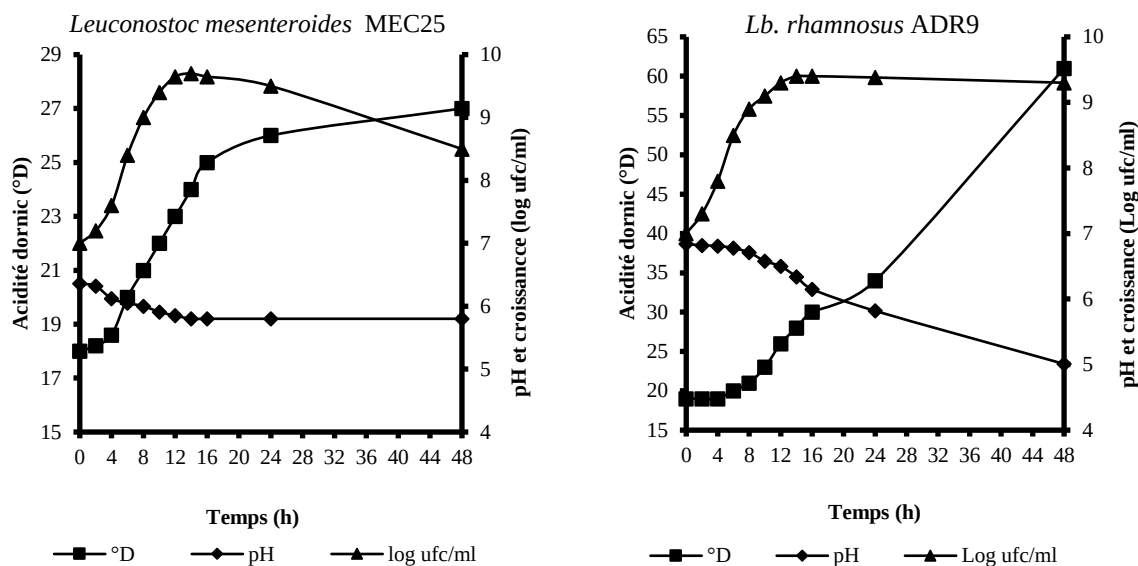


Figure 38.: Cinétique de croissance et de l'évolution du pH et de l'acidité Dornic de la souche *Leuconostoc mesenteroides* et *Lactobacillus rhamnosus* en milieu lait écrémé à 30°C en cultures pures.

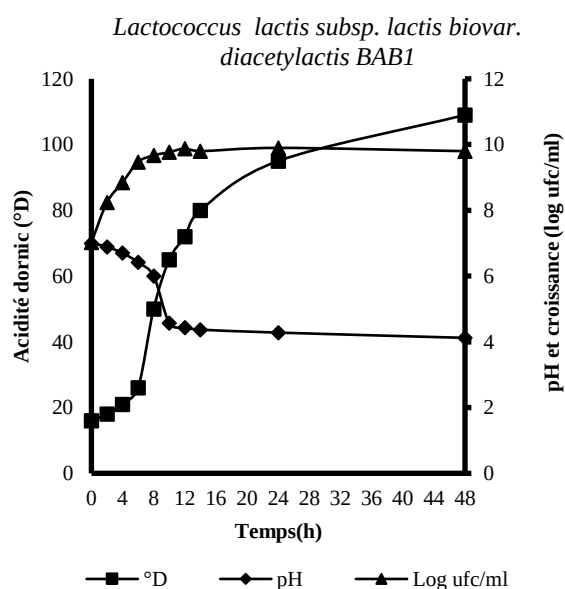


Figure 39. Cinétique de croissance et de l'évolution du pH et de l'acidité Dornic de la souche de *Lactococcus lactis* en milieu lait écrémé à 30°C. en cultures pures.

Résultats et discussion

Dans le cas des cultures pures, l'analyse de régression fournit une valeur d'en unité de log ufc h⁻¹. A partir de ces valeurs le taux de croissance et le temps de génération sont calculés. Après 48 h, la concentration cellulaire finale est déterminée. La vitesse de l'acidification de la culture est estimée par le calcul de la pente de la droite de régression de la courbe de variation du pH et de l'acidité Dornic pour chaque souche. La croissance bactérienne, pour six souches choisies dans le lait se déroule selon un schéma classique d'une culture discontinue. La phase exponentielle de la croissance débute après 2h pour toutes les souches qui continuent à croître pour atteindre la phase stationnaire au bout de 16 h d'incubation. Les souches étudiées ont montré des valeurs du taux de croissance variants 0,19 à 0,89 ufc/ml/h et un temps de génération varie entre 66,8 min à 300 min. Kosikowski (1977) a signalé que les souches lactiques ont un temps de génération qui varie entre 79 et 110 min.

Tableau 28. Les valeurs moyennes de la croissance des différents isolats lactiques en culture pure, en milieu lait écrémé et les paramètres spécifiques

Espèce	Code	Taux de croissance (μ =div/h)	Temps de génération (min)	Vmax pH	Vmax °D	pH final	°D final	Log ufc/ml final
<i>Lb. rhamnosus</i>	ORA11	0,7	85	0,037	2,071	5,15	115	9
<i>Lb. paracasei</i>	ADR12	0,61	97	0,9	0,06	5,09	60	9,37
<i>Lb. plantarum</i>	ADR32	0,199	300	0,035	0,64	4,84	63	9,5
<i>Ln. mesenteroides</i> Subsp. <i>dextranicum</i>	MEC12	0,76	78,94	0,034	0,53	5	27	8,5
<i>Ln. mesenteroides</i>	MEC25	0,69	86,6	0,04	0,42	5,8	27	8,5
<i>Lb. rhamnosus</i>	ADR9	0,58	103	0,035	0,64	5,01	61	9,3
<i>Lc.lactis</i> Subsp. <i>lactis</i> biovar. <i>diacetylctis</i>	BAB1	0,74	81	0,18	4,57	4,12	109	9,8

Nos résultats sur le taux de croissance des bactéries lactiques retenues sont comparables à ceux obtenus par Kosikowski (1977). Pour les souches *Lb. rhamnosus*, *Lb. plantarum* et *Ln. mesenteroides*, elles ont un taux de génération presque identique (0,7 ; 0,74 et 0,76) avec une vitesse d'acidification (0,037 ; 0,047 et 0,034) et une concentration bactérienne maximale en log (9,2 ; 9,1 et 9,8) respectivement (Tab. 28). La souche la plus acidifiante est la souche *Lb. rhamnosus* qui produit 115 °D après 48h, en revanche *Ln. mesenteroides* est la moins acidifiante avec 27 °D après 48h d'incubation. La souche de *Lc. lactis* Subsp. *lactis* biovar. *diacetylactis* est la plus acidifiante par rapport à *Lactococcus lactis* ceci est en parfaite concordance avec les résultats de Cogan (1980), avec un taux de croissance aussi plus élevé (0,74 et 0,52) respectivement. Les lactocoques ont une densité cellulaire maximale variant de (9,45 et 9,9 log ufc/ml respectivement).

Lactobacillus plantarum ADR 32 possède le temps de génération le plus long (300) ce qui la classe parmi les souches à croissance lente. Boumehira *et al.* (2011) a étudié la cinétique de

croissance de *Lactobacillus plantarum* isolée du lait camelin en utilisant un inoculum initial de la souche de 7,47 log, il a trouvé un taux de croissance de 0,5 h⁻¹ et la concentration maximale enregistrée était de 9,77 log. Après 48 h, la densité cellulaire obtenue est de 9,47 log. L'espèce *Lactobacillus casei* atteint la phase stationnaire après un temps d'incubation de 12 à 14h (Ha *et al.*, 2003). Les travaux de Kihal *et al.* (2009) et Zarour *et al.* (2012) ont montré que les souches de *Ln. mesenteroides* Subsp. *mesenteroides* n'ont pas un pouvoir acidifiant fort vu qu'il y a une très faible diminution de pH de 6,5 à 5,3 pendant 72 h incubation. Alors que les espèces de *Ln. mesenteroides* ont un comportement semblable (pH diminue de 6,85 à 5 pendant 48h). Aussi la quantité d'acide lactique produite par les espèces de *Leuconostoc* après 24 heures d'incubation à 30 °C se situe entre 19 °D et 25°D. Ces valeurs indiquent que les isolats de *Leuconostoc* sont faiblement acidifiantes, ce qui est cohérent avec les travaux de Devoyod et Poullain (1988) sur ce genre. La souche *Lactococcus lactis* Subsp. *lactis* biovar. *diacetylactis* (BAB1) a la capacité de produire une quantité d'acidité Dornic 109 °D et une concentration cellulaires maximales 9,8 log, ces résultats sont semblables à ceux de Moulay *et al.* (2006).

4.2. Cultures mixtes

La préparation d'un lait fermenté passe par l'inoculation de plusieurs espèces lactiques dans le lait. La présence de plusieurs espèces bactériennes permet de lutter contre les attaques phagiques en premier lieu et de maîtriser les souches acidifiantes, aromatisants et texturants. Les souches ORA11, MEC25 et BAB1 ont été choisies pour former un levain (Tab.29 et Fig.40,41). Les résultats des interactions entre les souches choisies n'a pas montré une action antagoniste. Nos résultats montrent que le couple *Lactobacillus rhamnosus* ORA11 (souche acidifiante) et *Lactococcus lactis* Subsp. *lactis* biovar. *diacetylactis* BAB1 (souche aromatisante et acidifiante) produisent la quantité la plus élevée d'acidité Dornic et de densité cellulaire (Tab. 29). Le pH final de cette culture est de 4,13 qui est le plus bas. En revanche la culture du couple *Lactobacillus rhamnosus* et *Leuconostoc mesenteroides* (souche texturante) présente une variation du pH avec une acidité Dornic faible (Vmax pH = 0.030 u/h, Vmax °D = 0.64 u/h) et avec des valeurs finales de pH (6,01) et 40°D avec aspect visqueux de lait (production d'une grande quantité d'EPS). La culture mixte de *lactobacillus rhamnosus* et *Leuconostoc mesenteroides* a montré une stimulation et augmentation de production des exopolyscharides de plus de 45% par rapport à la culture pure (Khue et Ngoc, 2013). De plus, la production d'EPS de la souche *Lb. bulgaricus* CNRZ 1187 a été plus élevée en culture mixte avec une souche non productrice de *S. thermophilus* qu'en culture pure (Bouzar *et al.*, 1996, Bouzar *et al.*, 1997).

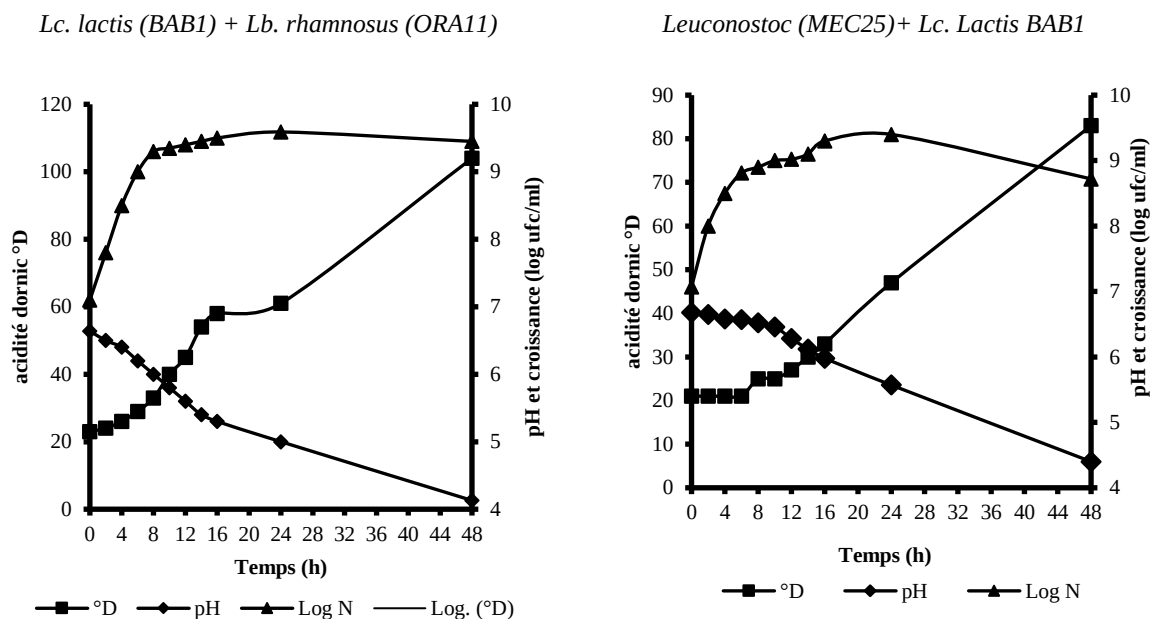


Figure 40. Cinétique de croissance et de l'évolution du pH et de l'acidité Dornic en culture mixte des deux souches lactiques en milieu lait écrémé à 30°C.

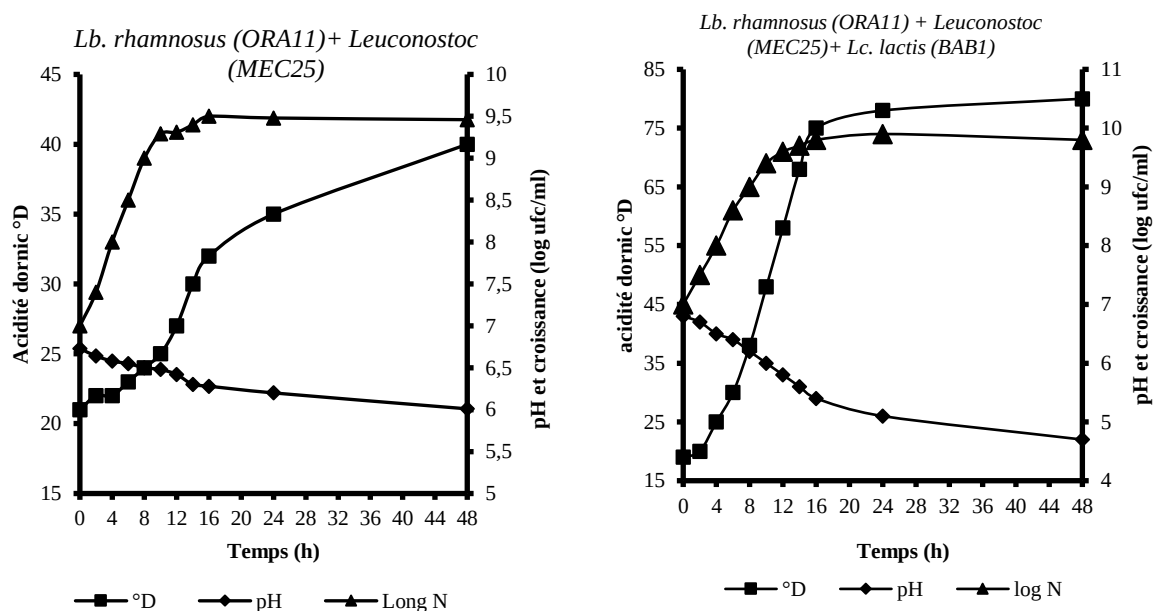


Figure 41. Cinétique de croissance et de l'évolution du pH et de l'acidité Dornic en culture mixte des souches lactiques en milieu lait écrémé à 30°C.

Résultats et discussion

Tableau 29. Les valeurs moyennes de la croissance des différents isolats lactiques en culture mixte en milieu lait écrémé et les paramètres spécifiques

Souches	Taux de croissance (μ =div/h)	Temps de génération (min)	Vmax pH	Vmax °D	pH final	°D final	Log ufc/ml
<i>Lb. rhamnosus</i> + <i>Ln. mesenteroides</i>	0,498	120	0,030	0,642	6,01	40	8,72
<i>Lb. rhamnosus</i> + <i>Lc. lactis</i> Subsp. <i>lactis</i> biovar. <i>diacetylactis</i>	0,643	93	0,075	1,571	4,13	104	9,8
<i>Ln. mesenteroides</i> + <i>Lc. lactis</i> Subsp. <i>lactis</i> biovar. <i>diacetylactis</i>	0,415	144	0,040	0,642	4,4	83	9,46
<i>Lb. rhamnosus</i> + <i>Ln. mesenteroides</i> + <i>Lc. lactis</i> Subsp. <i>lactis</i> biovar. <i>diacetylactis</i>	0,697	86	0,085	3,5	4,7	80	9,45

Les autres couples présentent des valeurs intermédiaires pour tous les paramètres étudiés. La coopération entre ces souches mène à une augmentation considérable de la vitesse d'acidification du lait. En effet, Kihal *et al.* (2009) ont démontré que certaines espèces de *Lactococcus* et de *Leuconostoc* sont en relation étroite et synergique ce qui produit une augmentations dans la croissance et l'acidification par rapport à la culture pure. Nos résultats concordent avec ceux de Lairini *et al.* (2014) qui ont trouvé que l'acidification du lait avec la combinaison de *Lactobacillus* et *Leuconostoc* est plus considérable par rapport à la culture pure de chaque souche. Roukas et Kotzekidou (1998) ont travaillé sur la production d'acide lactique à partir de lactosérum en culture pure et mixte de *Lactobacillus* et *Lactococcus*. Ils ont montré que la concentration la plus élevée en acide lactique est obtenue en culture mixte (22,5 g/l), alors qu'en culture pure de *Lactobacillus* et *Lactococcus*, les concentrations sont respectivement 16 et 10,5 g/l.

Cependant, les lactobacilles avaient de bonnes fonctionnalités technologiques. La connaissance de la cinétique de croissance et d'acidification des souches de bactéries lactiques utilisées dans l'industrie agroalimentaire offre une nouvelle voie dans le domaine de la recherche scientifique en microbiologie appliquée dont le but de produire à l'avenir de nouveaux produits laitier concurrentiels sur le plan national et international.

Conclusion générale

Conclusion générale

En Algérie, le dromadaire (*Camelus dromedarius*) est une espèce d'élevage importante uniquement adaptée à l'environnement chaud et aride. Les chameaux avec un effectif de 379094 têtes, peuvent survivre dans des conditions environnementales difficiles pour d'autres espèces animales domestiques. Le chameau a la capacité de produire plus de lait pendant une période plus longue dans les zones arides et le Sahara (environnement de température extrême, sécheresse et manque de pâturages) que chez les autres espèces de bétail domestique. Le rendement journalier en lait varie de 3,5 L (en conditions désertiques) à 40 L (en gestion intensive). L'alimentation et la disponibilité de l'eau peuvent affecter la composition chimique et le goût du lait de chamelle. Le lait de chamelle est vendu cru et une quantité limitée de lait de chamelle pasteurisé est disponible sur les marchés. En Algérie, la production annuelle de lait de chamelle est estimée à 88460 tonnes. Malgré cela, les nomades du Sahara algérien fabriquent du beurre appelé Shmen à partir de lait de chamelle selon une méthode d'agitation traditionnelle. La fabrication du beurre à partir de lait de chamelle a été rapportée dans la littérature. Ce beurre est utilisé à des fins médicinales ou comme pommade capillaire. Notre étude a montré que le lait de dromadaire contient tous les éléments du lait avec des proportions relativement différents et des éléments spécifiques. Le lait de dromadaire d'Algérie est caractérisé par un pH proche de la neutralité qui varie de 6,31 à 6,64 et avec une acidité dornic de 15,5°D. La teneur en eau du lait cru de dromadaire est légèrement faible et elle est de 82,49%. La matière sèche du lait cru enregistrée est de 175,08 g/l qui est une valeur légèrement élevée. Le taux des protéines totales du lait cru de dromadaire a atteint une concentration de 26,55g/l dont les caséines représentent 21,03 g/l. Nous avons noté un taux élevé de matière grasse dans le lait cru qui est de 58,14g/l. Nous avons remarqué une différence importante entre le taux de sucre dans le lait cru (24,03g/l) et le lait de dromadaire pasteurisé (48,4g/l). Le taux élevé de 60,2 mg/l de vitamine C a été trouvé dans le lait cru de dromadaire. Malgré cette variabilité, il demeure entendu que la teneur en vitamine C du lait camelin est très largement au-delà du seuil relevé dans le lait bovin (qui se situe autour de 20 mg/l). Cette caractéristique recueille davantage l'intérêt nutritionnel du lait de dromadaire pour son apport important en cette vitamine C au bénéfice des populations relativement privée d'apport importantes de fruits et de légumes frais. L'activité anti-oxydante du lait cru de dromadaire a été aussi mesuré et donne des valeurs de 820 mg EAG/100g de lait.

Cependant, les variations observées dans la composition du lait de dromadaire pourraient être attribué à plusieurs facteurs tels que les procédures analytiques de mesure, l'emplacement

Conclusion générale

géographique, les conditions d'alimentation et les échantillons prélevés à partir de différentes races, en plus d'autres facteurs, y compris le stade de lactation, et l'âge. L'origine géographique et les variations saisonnières ont été jugées également parmi les facteurs les plus efficaces dans la variation de la composition du lait de dromadaire. La composition du lait de dromadaire représente aussi une source importante de sels minéraux. Cette composition chimique très riche du lait cru de dromadaire favorise le développement d'une grande variété de microorganismes. Parmi ces microorganismes on cite la présence des bactéries lactiques qui possèdent les capacités physiologiques enzymatiques pour une adaptation à cet écosystème spécifique.

Les bactéries lactiques ont longtemps été consommées par l'homme dans plusieurs aliments fermentés tels que les produits laitiers. Aujourd'hui, les laboratoires font l'objet d'une recherche internationale intensive pour leur rôle essentiel dans la plupart des aliments fermentés, pour leur capacité à produire divers composés favorisant les propriétés technologiques, probiotiques et thérapeutiques dans la stabilisation de la microflore intestinale.

L'analyse microbiologique de lait de dromadaire provenant de 8 ville et régions situées en Algérie montre que le lait cru est très riche en microorganisme. Sur 460 isolats purifiés 53,47 % répondent aux caractères des bactéries lactiques. Parmi les isolats 80 sont des forme bâtonnés et 166 sont des cocci. L'analyse phénotypique a permis d'identifier les genres suivants : *Lactobacillus* 32,5%, *Enterococcus* 32,5%, *Lactococcus* 16,3%, *Leuconostoc* 13,8 % et *Streptococcus thermophiles* avec 4,9 %. Le profil fermentaire des sucres des différents genres donne les espèces suivantes : *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus casei*, *Enterococcus durans*, *Enterococcus faecium*, *Enterococcus gallinarum*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus hirae*, *Lactococcus lactis*, *Lactococcus lactis* Subsp. *cremoris*, *Lactococcus lactis* Subsp. *lactis* biovar *diacetylactis*, *Leuconostoc mesenteroides* Subsp. *dextranicum*, *Leuconostoc mesenteroides* Subsp. *mesenteroides*, *Leuconostoc lactis* et *Streptococcus thermophilus*. L'ensemble des espèces ont révèle une activité protéolytique par contre l'activité lipolytique est détecté seulement dans les lactobacilles. L'étude moléculaire montre à la fois la grande similarité des espèces de lactobacille. Les espèces d'*Enterococcus* et de *Leuconostoc* sont nettement séparées en leur groupe. Un nombre de 12 isolats identifiés ont été testés pour leur potentiel technologique. Les 2 espèces *Lactobacillus rhamnosus* et les *Lactococcus lactis* sont des souches acidifiantes rapides avec un pH final de 4. Les espèces moyennement acidifiantes sont *Lactobacillus plantarum* et *Leuconostoc mesenteroides*. Les essais de préparation de lait fermenté avec *Lactococcus lactis* et *Lactobacillus rhamnosus* a produit un lait acidifié avec les caractères

Conclusion générale

organoleptique proche de Lben commercialisé. Les souches LAB qui produisent de l'exopolysaccharide (ESP) sont utilisées dans la fabrication du lait fermenté pour améliorer sa texture et sa viscosité. De nouvelles sources de nutriments devraient être davantage exploitées pour varier le régime alimentaire humain et bénéficier de nouveaux ingrédients fonctionnels et de composants alimentaires naturels. Les pays arabes et africains, où les conditions d'élevage de vaches sont sévères et exigeantes, peuvent surmonter cette situation en développant un système d'élevage pour les animaux locaux tels que le dromadaire.

La transformation du lait de chamelle par fermentation n'est pas facile et il faut plus de recherches pour élucider le processus. Si le lait de vache a été largement étudié, jusqu'à présent, peu d'études ont été entreprises sur le lait de dromadaire pour déterminer les interactions et les associations de la microflore lactiques.

Ainsi, cette étude avait pour but de déterminer les propriétés morphologiques, physiologiques, biochimiques et génotypiques des souches lactiques isolées à partir du lait cru de dromadaire produit en Algérie. Les propriétés technologiques des isolats ont également été analysées.

Les éléments importants sont à retenir de cette étude sont : Premièrement, la présence de cinq genres de bactéries lactiques cultivables dans le lait cru de dromadaire. Les genres dominants sont les lactobacilles (32,5%) et les entérocoques (32,5%) ensuite les lactocoques (16,3%) et les leuconostocs (13,8%). Le genre *Streptococcus thermophilus* représente seulement (4,9%). La souche de *Lb. rhamnosus* est la plus performante des souches de lactobacilles acidifiantes étudiées et l'espèce de *Lactococcus lactis* se retrouve aussi parmi les meilleures. La croissance des douze espèces en milieu lait donne des cinétiques différentes.

Certaines des espèces de bactéries lactiques isolées et identifiées présentent des performances technologiques dans l'acidification (protéolyse), l'aromatisation (diacetyl acetoine), la texture (CO₂, et exopolysaccharides). Les résultats de cette étude ont indiqué que plusieurs espèces différentes de bactéries lactiques peuvent être utilisées comme levains pour la production du lait fermenté. Par conséquent, la sélection et l'utilisation potentielle d'une souche bénéfique appropriée ou d'un mélange de souches provenant des isolats identifiés en tant que levain dans la production des laits fermentés nécessitent davantage d'études sur le processus d'optimisation parmi la température, la durée, la composition des ingrédients et les concentrations d'inoculum. Une étude approfondie doit être menée pour améliorer les propriétés technologiques des laits fermentés ainsi que pour le développement des petites industries de production de levains lactiques spécifiques pour l'industrie laitière en Algérie.

References bibliographiques

- Abdelgadir, W. S., Ahmed, T. K. et Dirar, H. A. 1998. The traditional fermented milk products of the Sudan. *International Journal of Food Microbiology*, 44, 1-13.
- Abdelgadir, W., Nielsen, D. S., Hamad, S. et Jakobsen, M. 2008. A traditional Sudanese fermented camel's milk product, Gariss, as a habitat of *Streptococcus infantarius* Subsp. *infantarius*. *International Journal of Food Microbiology*, 127, 215-219.
- Abdellah, M., Ahcène, H., Benalia, Y., Saad, B. et Abdelmalek, B. 2015. Evaluation of biofilm formation by exopolysaccharide-producer strains of thermophilic lactic acid bacteria isolated from Algerian camel milk. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 513-521.
- Abu-Lehia, I. H. 1989. Physical and chemical characteristics of camel milkfat and its fractions. *Food Chemistry*, 34, 261-271.
- Abushelaibi, A., Al-Mahadin, S., El-Tarabily, K., Shah, N. P. et Ayyash, M. 2017. Characterization of potential probiotic lactic acid bacteria isolated from camel milk. *LWT - Food Science and Technology*, 79, 316-325.
- Abu-Taraboush, H., Al-Dagal, M. et Al-Royli, M. 1998. Growth, viability, and proteolytic activity of Bifidobacteria in whole camel milk. *Journal of Dairy Science*, 81, 354-361.
- Agrawal, R., Budania, S., Sharma, P., Gupta, R., Kochar, D., Panwar, R. et Sahani, M. 2007. Zero prevalence of diabetes in camel milk consuming Raica community of north-west Rajasthan, India. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 76, 290-296.
- Agrawal, R., Swami, S. et Beniwal, R. 2003. Effect of camel milk on glycemic control, lipid profile and diabetes quality of life in type 1 diabetes: a randomised prospective controlled cross over study. *Indian Journal of Animal Science*, 73: 1105-1110.
- Ahamad, S. R., Raish, M., Ahmad, A. et Shakeel, F. 2017. Potential health benefits and metabolomics of camel milk by GC-MS and ICP-MS. *Biological Trace Element Research*, 175, 322-330.
- Ahmad, S., Yaqoob, M., Bilal, M. Q., Khan, M. K., Muhammad, G., Yang, L.-G. et Tariq, M. 2012. Factors affecting yield and composition of camel milk kept under desert conditions of central Punjab, Pakistan. *Tropical Animal Health and Production*, 44, 1403-1410.
- Akhmetsadykova, S., Baubekova, A., Konuspayeva, G., Akhmetsadykov, N., Faye, B. et Loiseau, G. 2015. Lactic acid bacteria biodiversity in raw and fermented camel milk. *African Journal of Food Science and Technology*, 6, 84-88.
- Al Kanhal, H. A. 2010. Compositional, technological and nutritional aspects of dromedary camel milk. *International Dairy Journal*, 20, 811-821.
- Alais, C. 1984. La constitution du lait. *Science du Lait: principes des techniques laitières*, 29-35.
- Al-Ashqar, R. A., Salem, K. M. a.-M., Al Herz, A. K. M., Al-Haroon, A. I. et Alluwaimi, A. M. 2015. The CD markers of camel (*Camelus dromedarius*) milk cells during mastitis: The LPAM-1 expression is an indication of possible mucosal nature of the cellular trafficking. *Research in Veterinary Science*, 99, 77-81.
- Albenzio, M., Corbo, M., Rehman, S.-U., Fox, P., De Angelis, M., Corsetti, A., Sevi, A. et Gobetti, M. 2001. Microbiological and biochemical characteristics of Canestrato Pugliese cheese made from raw milk, pasteurized milk or by heating the curd in hot whey. *International Journal of Food Microbiology*, 67, 35-48.
- Aleksandrak-Piekarczyk, T., Koryszewska-Bagińska, A. et Bardowski, J. 2013. Genome Sequence of the Probiotic Strain *Lactobacillus rhamnosus* (Formerly *Lactobacillus casei*) LOCK900. *Genome Announcements*, 1.
- Alloui-Lombarkia, O., Ghennam, E., Bacha, A. et Abededdaim, M. 2007. Caractéristiques physico-chimiques et biochimiques du lait de chamelle et séparation de ses protéines par électrophorèse sur gel de polyacrylamide Physico-chemical and biochemical properties of camel milk and separation of its proteins by polyacrylamide gel electrophoresis. *Pakistan Journal of Nutrition*, 4, 112-116.
- Al-Saiady, M., Mogawer, H., Faye, B., Al-Mutairi, S., Bengoumi, M., Musaad, A. et Gar-Elnaby, A. 2012. Some factors affecting Dairy she-camel performance. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 24, 85.
- Al-Zoreky, N. S. et Al-Otaibi, M. M. 2015. Suitability of camel milk for making yogurt. *Food Science and BioTechnology*, 24, 601-606.
- Anderson, P., Hume, M., Byrd, J., Hernandez, C., Stevens, S., Stringfellow, K. et Caldwell, D. 2010. Evaluation of repetitive extragenic palindromic-polymerase chain reaction and denatured gradient gel electrophoresis in identifying *Salmonella* serotypes isolated from processed turkeys. *Poultry Science*, 89, 1293-1300.
- Antonsson, M., Molin, G. et Ardö, Y. 2003. *Lactobacillus* strains isolated from Danbo cheese as adjunct cultures in a cheese model system. *International Journal of Food Microbiology*, 85, 159-169.
- Aoac 1995. Official methods of analysis of AOAC International. Arlington, Va.: AOAC Intl. pv (loose-leaf).

Références bibliographiques

- Ashmaig, A., Hasan, A. et El Gaali, E. 2009. Identification of lactic acid bacteria isolated from traditional Sudanese fermented camels milk (Gariss). *African Journal of Microbiology Research*, 3, 451-457.
- Axelsson, L., Salminen, S., Von Wright, A. et Ouwehand, A. 2004. Lactic acid bacteria: classification and physiology. *Lactic acid bacteria: Microbiology and Functional Aspects*, 1-66.
- Ayyash, M., Al-Nuaimi, A. K., Al-Mahadin, S. et Liu, S.-Q. 2018. In vitro investigation of anticancer and ACE-inhibiting activity, α -amylase and α -glucosidase inhibition, and antioxidant activity of camel milk fermented with camel milk probiotic: A comparative study with fermented bovine milk. *Food Chemistry*, 239, 588-597.
- Badaoui, D. 2000. Contribution à la connaissance du lait de chamelle: Essai de caractérisation des protéines par Electrophorèse sur Gel de Poly-Acrylamide (PAGE). *Mémoire d'Ingéniorat, Science, s agronomiques, Université d'Ouargla*.
- Badis, A., Guetarni, D., Boudjema, B. M., Henni, D. et 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.
- Badis, A., Laouabdia-Sellami, 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". *Science, s et Technologie*. 30-37.
- Bai, L. et Ji, S. Isolation and identification of lactic acid bacteria from koumiss in Eastern Inner Mongolia of China. 2017 AIP Conference Proceedings., 2017 AIP Publishing, 050005.
- Bai, Y.-H. et Zhao, D.-B. 2015. The acid-base buffering properties of Alxa bactrian camel milk. *Small Ruminant Research*, 123, 287-292.
- Bang, J., Beuchat, L. R., Song, H., Gu, M. B., Chang, H.-I., Kim, H. S. et Ryu, J.-H. 2013. Development of a random genomic DNA microarray for the detection and identification of *Listeria monocytogenes* in milk. *International Journal of Food Microbiology*, 161, 134-141.
- Banks, J. M. et Williams, A. G. 2004. The role of the nonstarter lactic acid bacteria in Cheddar cheese ripening. *International Journal of Dairy Technology*, 57, 145-152.
- Beg, O. U., Von Bahr-Lindström, H., Zaidi, Z. H. et Jörnval, H. 1985. The primary structure of α -lactalbumin from camel milk. *European Journal of Biochemistry*, 147, 233-239.
- Belkhir, A. O., Chehma, A. et Faye, B. 2013. Phenotypic variability of two principal Algerian camel's populations (Targui and Sahraoui). *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 231-237.
- Bellil, Y., Benmechernene, Z., Chahrou, W., Naoui, N. et Kihal, M. 2014. Selection and evaluation of anti-listerial activity of *Leuconostoc mesenteroides* wild strains isolated from algerian raw dromedary milk. *Journal of Food Processing et Technology*, 5, 1.
- Ben Aissa 1989. Le dromadaire en Algérie. *Options Méditerranéennes*, 2, 19-28.
- Bendimerad, N., Kihal, M. et Berthier, F. 2012. Isolation, identification, and technological characterization of wild *Leuconostocs* and lactococci for traditional Raib type milk fermentation. *Dairy Science et Technology*, 92, 249-264.
- Bengoumi, M., Faye, B. et Tresol, J. Mineral composition of camel's milk in southern Morocco. *Proceeding of Symposium on Dromedaries and Camels, Milking Animals–October 1994, 1994*. 145-147.
- Benirschke, K. 1967. Sterility and fertility of interspecific mammalian hybrids. *Comparative Aspects of Reproductive Failure*. Springer, Berlin, Heidelberg, 1967. p. 218-234.
- Benkerrou, 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.
- Benmechernene, Z., Chentouf, H. F., Yahia, B., Fatima, G., Quintela-Baluja, M., Calo-Mata, P. et Barros-Velázquez, J. 2013. Technological aptitude and applications of *Leuconostoc mesenteroides* bioactive strains isolated from Algerian raw camel milk. *BioMed Research international*. vol. 2013.
- Berhe, T., Seifu, E., Ipsen, R., Kurtu, M. Y. et Hansen, E. B. 2017. Processing challenges and opportunities of camel Dairy products. *International Journal of Food Science*, , vol. 2017.
- Biswas, S. et Rolain, J.-M. 2013. Use of MALDI-TOF mass spectrometry for identification of bacteria that are difficult to culture. *Journal of Microbiological Methods*, 92, 14-24.
- Borges, S., Silva, J. et Teixeira, P. 2014. The role of lactobacilli and probiotics in maintaining vaginal health. *Archives of Gynecology and Obstetrics*, 289, 479-489.
- Boudjenah-Haroun, S., Laleye C, L., Moulti-Mati, F., Saliha, S. A., Nasma, M., Elkhir, S. O. et Abderrahmane, M. 2011. Comparative study of milk clotting activity of crude gastric enzymes extracted from camels' abomasum at different ages and commercial enzymes (rennet and pepsin) on bovine and camel milk. *Emirates Journal of Food et Agriculture (EJFA)*, 23.
- 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.

Références bibliographiques

- Bouvier, T. et Del Giorgio, P. A. 2003. Factors influencing the detection of bacterial cells using fluorescence in situ hybridization (FISH): a quantitative review of published reports. *FEMS Microbiology Ecology*, 44, 3-15.
- Bouzar, F., Cerning, J. et Desmazeaud, M. 1996. Exopolysaccharide production in milk by *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* CNRZ 1187 and by two colonial variants. *Journal of Dairy Science*, 79, 205-211.
- Bouzar, F., Cerning, J. et Desmazeaud, M. 1997. Exopolysaccharide production and texture-promoting abilities of mixed-strain starter cultures in yogurt production. *Journal of Dairy Science*, 80, 2310-2317.
- Callanan, M., Kaleta, P., O'callaghan, J., O'sullivan, O., Jordan, K., Mcauliffe, O., Sangrador-Vegas, A., Slattery, L., Fitzgerald, G. F. et Beresford, T. 2008. Genome sequence of *Lactobacillus helveticus*, an organism distinguished by selective gene loss and insertion sequence element expansion. *Journal of Bacteriology*, 190, 727-735.
- Callon, C., Berdagué, J.-L., Dufour, E. et Montel, M.-C. 2005. The effect of raw milk microbial flora on the sensory characteristics of Salers-type cheeses. *Journal of Dairy Science*, 88, 3840-3850.
- Carbonnelle, E., Mesquita, C., Bille, E., Day, N., Dauphin, B., Beretti, J.-L., Ferroni, A., Gutmann, L. et Nassif, X. 2011. MALDI-TOF mass spectrometry tools for bacterial identification in *Clinical Microbiology laboratory*. *Clinical Biochemistry*, 44, 104-109.
- Carr, F. J., Chill, D. et Maida, N. 2002. The lactic acid bacteria: a literature survey. *Critical reviews in Microbiology*, 28, 281-370.
- Casey, M. G., Häni, J. P., Gruskovnjak, J., Schaeren, W. et Wechsler, D. 2006. Characterisation of the non-starter lactic acid bacteria (NSLAB) of Gruyère PDO cheese. *Le Lait*, 86, 407-414.
- Chang, C.-K., Wang, S.-C., Chiu, C.-K., Chen, S.-Y., Chen, Z.-T. et Duh, P.-D. 2015. Effect of lactic acid bacteria isolated from fermented mustard on immunopotentiating activity. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 5, 281-286.
- Chauhan, K., Dhakal, R., Seale, R. B., Deeth, H. C., Pillidge, C. J., Powell, I. B., Craven, H. et Turner, M. S. 2013. Rapid identification of dairy mesophilic and thermophilic sporeforming bacteria using DNA high resolution melt analysis of variable 16S rDNA regions. *International Journal of Food Microbiology*, 165, 175-183.
- Chen, J., Lindmark-Månsson, H., Gorton, L. et Åkesson, B. 2003. Antioxidant capacity of bovine milk as assayed by spectrophotometric and amperometric methods. *International Dairy Journal*, 13, 927-935.
- Chiaromonte, F., Blugeon, S., Chaillou, S., Langella, P. et Zagorec, M. 2009. Behavior of the meat-borne bacterium *Lactobacillus sakei* during its transit through the gastrointestinal tracts of axenic and conventional mice. *Applied and Environmental Microbiology*, 75, 4498-4505.
- Cho, I. et Blaser, M. J. 2012. The human microbiome: at the interface of health and disease. *Nature Reviews Genetics*, 13, 260.
- Christensen, J. E., Dudley, E. G., Pederson, J. A. et Steele, J. L. 1999. Peptidases and amino acid catabolism in lactic acid bacteria. *Antonie van Leeuwenhoek*, 76, 217-246.
- Cloetens, L., Panee, J. et Åkesson, B. 2013. The antioxidant capacity of milk-the application of different methods in vitro and in vivo. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)*, 59, 43-57.
- Cobo, F. 2013. Application of maldi-tof mass spectrometry in *Clinical virology*: a review. *The Open Virology Journal*, 7, 84.
- Cogan, T. M. et Accolas, J. P. 1996. *Dairy starter cultures*, VCH Publishers.
- Cogan, T., M. 1980. Les levains lactiques mésophiles. Une revue. *Lait*, 60, 397-425.
- Cole, D. P. 1975. *Nomads of the nomads: The Al Murrah Bedouin of the empty quarter*, Aldine Chicago.
- Collado, M. C. et Hernández, M. 2007. Identification and differentiation of *Lactobacillus*, *Streptococcus* and *Bifidobacterium* species in fermented milk products with bifidobacteria. *Microbiological Research*, 162, 86-92.
- Corsetti, A., Lavermicocca, P., Morea, M., Baruzzi, F., Tosti, N. et Gobbetti, M. 2001. Phenotypic and molecular identification and clustering of lactic acid bacteria and yeasts from wheat (species *Triticum durum* and *Triticum aestivum*) sourdoughs of Southern Italy. *International Journal of Food Microbiology*, 64, 95-104.
- Crow, V. L., Holland, R., Pritchard, G. G. et Coolbear, T. 1994. The diversity of potential cheese ripening characteristics of lactic acid starter bacteria: 2. The levels and subcellular distributions of peptidase and esterase activities. *International Dairy Journal*, 4, 723-742.
- Daffonchio, D., Cherif, A. et Borin, S. 2000. Homoduplex and heteroduplex polymorphisms of the amplified ribosomal 16s-23s internal transcribed spacers describe genetic relationships in the *Bacillus cereus* group". *Applied and Environmental Microbiology*, 66, 5460-5468.
- Dahl, G. et Hjort, A. 1976. Having herds: pastoral herd growth and household economy, *Department of Social Anthropology, University of Stockholm*.

Références bibliographiques

- Dantoft, S. H., Bielak, E. M., Seo, J.-G., Chung, M.-J. et Jensen, P. R. 2013. Complete Genome Sequence of *Pediococcus pentosaceus* Strain SL4. *Genome Announcements*, 1.
- Davati, N., Yazdi, F. T., Zibae, S., Shahidi, F. et Edalatian, M. R. 2015. Study of lactic acid bacteria community from raw milk of Iranian one humped camel and evaluation of their probiotic properties. *Jundishapur Journal of Microbiology*, 8.
- De Man, J., Rogosa, D. et Sharpe, M. E. 1960. A medium for the cultivation of lactobacilli. *Journal of Applied Bacteriology*, 23, 130-135.
- Deasy, B., Rea, M., Fitzgerald, G., Cogan, T. et Beresford, T. 2000. A rapid PCR based method to distinguish between *Lactococcus* and *Enterococcus*. *Systematic and Applied Microbiology*, 23, 510-522.
- Delbès, C., Ali-Mandjee, L. et Montel, M.-C. 2007. Monitoring bacterial communities in raw milk and cheese by culture-dependent and-independent 16S rRNA gene-based analyses. *Applied and Environmental Microbiology*, 73, 1882-1891.
- Delgado, S., Rachid, C. T., Fernández, E., Rychlik, T., Alegría, Á., Peixoto, R. S. et Mayo, B. 2013. Diversity of thermophilic bacteria in raw, pasteurized and selectively-cultured milk, as assessed by culturing, PCR-DGGE and pyrosequencing. *Food Microbiology*, 36, 103-111.
- Dellaglio, F., De Roissart, H., Torriani, S., Curk, M. et Janssens, D. 1994. Caractéristiques générales des bactéries lactiques. *Bactéries lactiques*, 1, 25-116.
- Desmaures, N., Bazin, F. et Gueguen, M. 1997. Microbiological composition of raw milk from selected farms in the Camembert region of Normandy. *Journal of Applied Microbiology*, 83, 53-58.
- Desmazeaud, M. 1998. Le rôle du génie génétique. *Biofutur*, 1998, 24-27.
- Devoyod, J. J. et Poullain, F. 1988. Les Leuconostocs. Propriétés : leur rôle en technologie laitière. *Lait*, 68, 249-279.
- Devriese, L., Baele, M. et Butaye, P. 2006. The genus *Enterococcus*. The prokaryotes. Springer.
- Di Cagno, R., Minervini, G., Sgarbi, E., Lazzi, C., Bernini, V., Neviani, E. et Gobbetti, M. 2010. Comparison of phenotypic (Biolog System) and genotypic (random amplified polymorphic DNA-polymerase chain reaction, RAPD-PCR, and amplified fragment length polymorphism, AFLP) methods for typing *Lactobacillus plantarum* isolates from raw vegetables and fruits. *International Journal of Food Microbiology*, 143, 246-253.
- Di Cagno, R., Quinto, M., Corsetti, A., Minervini, F. et Gobbetti, M. 2006. Assessing the proteolytic and lipolytic activities of single strains of mesophilic lactobacilli as adjunct cultures using a Caciotta cheese model system. *International Dairy Journal*, 16, 119-130.
- Dobson, A., O'sullivan, O., Cotter, P. D., Ross, P. et Hill, C. 2011. High-throughput sequence-based analysis of the bacterial composition of kefir and an associated kefir grain. *FEMS Microbiology Letters*, 320, 56-62.
- Dolci, P. et Cocolin, L. 2017. Direct Application of Rep-PCR on type I sourdough matrix to monitor the dominance and Persistence of a *Lactobacillus plantarum* starter throughout back-slopping. *Journal of Food Science*, 82, 8:1898-1901. .
- Domingos-Lopes, M. F. P., Stanton, C., Ross, P. R., Dapkevicius, M. L. E. et Silva, C. C. G. 2017. Genetic diversity, safety and technological characterization of lactic acid bacteria isolated from artisanal Pico cheese. *Food Microbiology*, 63, 178-190.
- Douglas, G. L. et Klaenhammer, T. R. 2010. Genomic evolution of domesticated microorganisms. *Annual Review of Food Science and Technology*, 1, 397-414.
- 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.
- Duarte, S., Cássio, F. et Pascoal, C. 2012. Denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) in microbial ecology-insights from freshwaters. *Gel Electrophoresis-Principles and Basics*. InTech.
- Dubach, M., Enkh-Amgalan, T., Indra, R., Batsukh, T. et Govisaikhan, M. 2007. Mongolian Camel. *The Pride of the Great Gobi*, 1-61.
- Dušková, M., Šedo, O., Kšicová, K., Zdráhal, Z. et Karpíšková, R. 2012. Identification of lactobacilli isolated from Food by genotypic methods and MALDI-TOF MS. *International Journal of Food Microbiology*, 159, 107-114.
- Dykes, G., Cloete, T. et Von Holy, A. 1995. Taxonomy of lactic acid bacteria associated with vacuum-packaged processed meat spoilage by multivariate analysis of cellular fatty acids. *International Journal of Food Microbiology*, 28, 89-100.
- El Hatmi, H., Hammadi, M., Moslah, M. et Khorchani, M. 2004. Intensification de la production laitière des chamelles en Tunisie. *Lait de chamelle pour l'Afrique*, 33.
- El Sheikha, A. F., Durand, N., Sarter, S., Okullo, J. B. et Montet, D. 2012. Study of the microbial discrimination of fruits by PCR-DGGE: Application to the determination of the geographical origin of Physalis fruits from Colombia, Egypt, Uganda and Madagascar. *Food Control*, 24, 57-63.
- El-Aboudi, A., Kihal, M., El-Doulayemi H. et Henni J.E. . 2005. رياض العلوم, الجزائر, المجمل في علوم الإبل.
- El-Agamy, E. 1983. Studies on camel's milk. *Alexandria University, Egypt: MSc Thesis*.

Références bibliographiques

- El-Agamy, E. 2006. Camel milk. *Handbook of milk of non-bovine mammals*, 297-344.
- El-Agamy, E. I., Nawar, M., Shamsia, S. M., Awad, S. et Haenlein, G. F. 2009. Are camel milk proteins convenient to the nutrition of cow milk allergic children?. *Small Ruminant Research*, 82, 1-6.
- Elamin, F. et Wilcox, C. 1992. Milk Composition of Majaheim Camels1. *Journal of Dairy Science*, 75, 3155-3157.
- El-Fakharany, E. M., Serour, E. A., Abdelrahman, A. M., Haroun, B. M. et Redwan, E.-R. M. 2009. Purification and characterization of camel (*Camelus dromedarius*) milk amylase. *Preparative Biochemistry and BioTechnology*, 39, 105-123.
- Elhosseney, M., Gwida, M. et Elsherbini, M. 2018. Evaluation of physicochemical properties and microbiological quality of camel milk from Egypt. *Journal of Dairy Veterinary Animals Reserch*, 7, 92-97.
- Elizaquível, P., Pérez-Cataluña, A., Yépez, A., Aristimuño, C., Jiménez, E., Cocconcelli, P. S., Vignolo, G. et Aznar, R. 2015. Pyrosequencing vs. culture-dependent approaches to analyze lactic acid bacteria associated to chicha, a traditional maize-based fermented beverage from Northwestern Argentina. *International Journal of Food Microbiology*, 198, 9-18.
- Elliker, P. R., Anderson, A. W. et Hannesson, G. 1956. An Agar Culture Medium for Lactic Acid Streptococci and Lactobacilli. *Journal of Dairy Science*, , 39, 1611-1612.
- Elsholz, A. K., Gerth, U. et Hecker, M. 2010. Regulation of CtsR activity in low GC, Gram+ bacteria. *Advances in Microbial Physiology*. Elsevier.
- Espy, M., Uhl, J., Sloan, L., Buckwalter, S., Jones, M., Vetter, E., Yao, J., Wengenack, N., Rosenblatt, J. et Cockerill, F. 2006. Real-time PCR in Clinical Microbiology: applications for routine laboratory testing. *Clinical Microbiology Reviews*, 19, 165-256.
- Fao/Who 2002. Joint FAO/WHO working group report on drafting guidelines for the evaluation of probiotics in food. FAO/WHO London, ON.
- Faostat 2017. Food and Agriculture Organization Statistical Database.
- Faostat, F. 2014. FAOSTAT statistical database. FAOSTAT statistical database.
- Faostat, F. 2015. FAO Statistics Division.
- Faostat, F. 2016. FAOSTAT statistical database.
- Faostat. 2008. FAOSTAT: Agriculture Data.
- Farah, Z. et Bachmann, M. 1987. Rennet coagulation properties of camel milk. *Milchwissenschaft (Germany, FR)*.
- Farah, Z. 1993. Composition and characteristics of camel milk. *Journal of Dairy Research*, 60, 603-626.
- Farah, Z. 2011. Milk| Camel Milk. Elsevier. 512-517.
- Farah, Z., Mollet, M., Younan, M. et Dahir, R. 2007. Camel Dairy in Somalia: Limiting factors and development potential. *Livestock Science*, , 110, 187-191.
- Farahani, Z., Rasooli, I. et Owlia, P. 2017. Isolation, identification and characterization of indigenous lactic acid bacteria for flavour improvement. *International Food Research Journal*, 24, 428.
- Fawley, W. N. et Wilcox, M. H. 2002. Pulsed-field gel electrophoresis can yield dna fingerprints of degradation-susceptible *Clostridium difficile* Strains. *Journal of Clinical Microbiology*, 40, 3546-3547.
- Faye, B. et Konuspayeva, G. 2012. The sustainability challenge to the Dairy sector–The growing importance of non-cattle milk production worldwide. *International Dairy Journal*, 24, 50-56.
- Faye, B., Abdelhadi, O., Raiymbek, G., Kadim, I. et Hocquette, J. 2013. The production of camel meat: state of knowledge, current situation and prospects. *INRA productions animales*, 26, 289-299.
- Fernández, M., Van Doesburg, W., Rutten, G. A., Marugg, J. D., Alting, A. C., Van Kranenburg, R. et Kuipers, O. P. 2000. Molecular and functional analyses of themetc gene of *Lactococcus lactis*, encoding cystathionine β -lyase. *Applied and Environmental Microbiology*, 66, 42-48.
- Fgui, I., Ziadi, M., Atigui, M., Arroum, S. et Khorchani, T. 2015. Biochemical and molecular identification of lactic acid bacteria isolated from camel milk in Tunisia. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 716-720.
- Fhoula, I., Najjari, A., Turki, Y., Jaballah, S., Boudabous, A. et Ouzari, H. 2013. Diversity and antimicrobial properties of lactic acid bacteria isolated from rhizosphere of olive trees and desert truffles of Tunisia. *BioMed Research International*, 2013.
- Field, C. 1979. Camel growth and Milk production in Mersabite district, Northern Kenya. *Preliminary Report*. 217-230
- Finegold, S. M., Sutter, V. L. et Mathisen, G. E. 1983. Normal indigenous intestinal flora. *Human Intestinal Microflora in Health and Disease*, 1, 3-31.
- Fischetti, V. A. 2006. Surface proteins on gram-positive bacteria. *Gram-Positive Pathogens, Second Edition*. American Society of Microbiology.
- Fiske, C. H. et Subbarow, Y. 1925. The colorimetric determination of phosphorus. *Journal of Biological Chemistry*, 66, 375-400.
- Fleming, H., Etchells, J. et Costilow, R. 1975. Microbial inhibition by an isolate of *Pediococcus* from cucumber brines. *Applied Microbiology*, 30, 1040-1042.

Références bibliographiques

- Fox, P. 2003. The major constituents of milk, CRC Press and Woodhead Publishing Limited. Boca Raton. pp. 5-41.
- Franciosi, E., Carafa, I., Nardin, T., Schiavon, S., Poznanski, E., Cavazza, A., Larcher, R. et Tuohy, K. M. 2015. Biodiversity and γ -aminobutyric acid production by lactic acid bacteria isolated from traditional alpine raw cow's milk cheeses. *BioMed Research international*, vol. 2015.
- Franciosi, E., Settanni, L., Cavazza, A. et Poznanski, E. 2009. Biodiversity and technological potential of wild lactic acid bacteria from raw cows' milk. *International Dairy Journal*, 19, 3-11.
- Françoise, L. 2010. Occurrence and role of lactic acid bacteria in sea food products. *Food Microbiology*, 27, 698-709.
- Franz, C., Cho, G. et Holzapfel, W. 2011. Probiotics: taxonomy and technological features. Probiotic and prebiotic Foods: Technology, stability and benefits to human health. *Nova Science Publishers* 1-23.
- Fry, N. K., Savelkoul, P. H. et Visca, P. 2009. Amplified fragment-length polymorphism analysis. *Methods Molecular Biology*, 551, 89-104.
- Fugl, A., Berhe, T., Kiran, A., Hussain, S., Laursen, M. F., Bahl, M. I., Hailu, Y., Sørensen, K. I., Guya, M. E. et Ipsen, R. 2017. Characterisation of lactic acid bacteria in spontaneously fermented camel milk and selection of strains for fermentation of camel milk. *International Dairy Journal*, 73, 19-24.
- Fukuda, K. 2013. Camel milk. *Milk and dairy products in human nutrition: production, composition and health*. John Wiley & Sons 578-593.
- Fukushima, M., Kakinuma, K., Hayashi, H., Nagai, H., Ito, K. et Kawaguchi, R. 2003. Detection and identification of *Mycobacterium* species isolates by DNA microarray. *Journal of Clinical Microbiology*, 41, 2605-2615.
- Fuller, R. et Gibson, G. R. 1997. Modification of the intestinal microflora using probiotics and prebiotics. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, 32, 28-31.
- Fuller, R. 1989. Probiotics in man and animals. *Journal of Applied Bacteriology*, 66, 365-378.
- Fuquay, J. W., Fox, P. F. et McSweeney, P. L. 2011. *Encyclopedia of Dairy Sciences*, Academic Press.
- Fusco, V., Quero, G. M., Chieffi, D. et Franz, C. M. a. P. 2016. Identification of *Lactobacillus brevis* using a species-specific AFLP-derived marker. *International Journal of Food Microbiology*, 232, 90-94.
- Gala, E., Landi, S., Solieri, L., Nocetti, M., Pulvirenti, A. et Giudici, P. 2008. Diversity of lactic acid bacteria population in ripened Parmigiano Reggiano cheese. *International Journal of Food Microbiology*, 125, 347-351.
- Garcia, A. A., Benchimol, L. L., Barbosa, A. M., Geraldi, I. O., Souza Jr, C. L. et Souza, A. P. D. 2004. Comparison of RAPD, RFLP, AFLP and SSR markers for diversity studies in tropical maize inbred lines. *Genetics and Molecular Biology*, 27, 579-588.
- Garvie, E. I., Farrow, J. A. et Phillips, B. A. 1981. A taxonomic study of some strains of streptococci which grow at 10 C but not at 45 C including *Streptococcus lactis* and *Streptococcus cremoris*. *Zentralblatt für Bakteriologie Mikrobiologie und Hygiene: I. Abt. Originale C: Allgemeine, angewandte und ökologische Mikrobiologie*, 2, 151-165.
- Gevers, D., Huys, G. et Swings, J. 2001. Applicability of rep-PCR fingerprinting for identification of *Lactobacillus* species. *FEMS Microbiology Letters*, 205, 31-36.
- Giraffa, G., Lazzi, C., Gatti, M., Rossetti, L., Mora, D. et Neviani, E. 2003. Molecular typing of *Lactobacillus delbrueckii* of Dairy origin by PCR-RFLP of protein-coding genes. *International Journal of Food Microbiology*, 82, 163-172.
- Glenn, T. C. 2011. Field guide to next-generation DNA sequencers. *Molecular Ecology Resources*, 11, 759-769.
- Gómez-Sala, B., Muñoz-Atienza, E., Sánchez, J., Basanta, A., Herranz, C., Hernández, P. E. et Cintas, L. M. 2015. Bacteriocin production by lactic acid bacteria isolated from fish, sea food and fish products. *European Food Research and Technology*, 1-16.
- Gonzalez, C., Encinas, J., Garcia-López, M. et Otero, A. 2000. Characterization and identification of lactic acid bacteria from freshwater fishes. *Food Microbiology*, 17, 383-391.
- Gorban, A. M. et Izzeldin, O. M. 1997. Mineral content of camel milk and colostrum. *Journal of Dairy Research*, 64, 471-474.
- Guessas, B. et Kihal, M. 2004. Characterization of lactic acid bacteria isolated from Algerian arid zone raw goat's milk. *African Journal of BioTechnology*, 3, 339-342.
- 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 appliquée. Université d'Oran Es-Senia*.
- Guiraud, J.-P. et Rosec, J.-P. 2004. *Pratique des normes en microbiologie alimentaire*, AFNOR.
- Gülçin, I., Bursal, E., Şehitoğlu, M. H., Bilsel, M. et Gören, A. C. 2010. Polyphenol contents and antioxidant activity of lyophilized aqueous extract of propolis from Erzurum, Turkey. *Food and Chemical Toxicology*, 48, 2227-2238.
- Gürtler, V. et Stanisch, V. A. 1996. New approaches to typing and identification of bacteria using the 16S-23S rDNA spacer region. *Microbiology*, 142, 3-16.

Références bibliographiques

- Guzzon, R., Carafa, I., Tuohy, K., Cervantes, G., Vernetti, L., Barmaz, A., Larcher, R. et Franciosi, E. 2017. Exploring the microbiota of the red-brown defect in smear-ripened cheese by 454-pyrosequencing and its prevention using different cleaning systems. *Food Microbiology*, 62, 160-168.
- Ha, M.-Y., Kim, S.-W., Lee, Y.-W., Kim, M.-J. et Kim, S.-J. 2003. Kinetics analysis of growth and lactic acid production in pH-controlled batch cultures of *Lactobacillus casei* KH-1 using yeast extract/corn steep liquor/glucose medium. *Journal of bioScience and Bioengineering*, 96, 134-140.
- Habib, H. M., Ibrahim, W. H., Schneider-Stock, R. et Hassan, H. M. 2013. Camel milk lactoferrin reduces the proliferation of colorectal cancer cells and exerts antioxidant and DNA damage inhibitory activities. *Food Chemistry*, 141, 148-152.
- Hadef, L., Aggad, H., Hamad, B. et Saïed, M. 2018. Study of yield and composition of camel milk in Algeria. *Scientific Study et Research . Chemistry et Chemical Engineering, BioTechnology, Food Industry*, 19, 1-11.
- Hadef, S. 2012. Evaluation des aptitudes technologiques et probiotiques des bactéries lactiques locales. *Thèse de doctorat. Université de Tiaret*.
- Hadrys, H., Balick, M. et Schierwater, B. 1992. Applications of random amplified polymorphic DNA (RAPD) in molecular ecology. *Molecular Ecology*, 1, 55-63.
- Hahm, B.-K., Maldonado, Y., Schreiber, E., Bhunia, A. K. et Nakatsu, C. H. 2003. Subtyping of Foodborne and environmental isolates of *Escherichia coli* by multiplex-PCR, rep-PCR, PFGE, ribotyping and AFLP. *Journal of Microbiological Methods*, 53, 387-399.
- Hamilton-Miller, J., Shah, S. et Winkler, J. 1999. Public health issues arising from microbiological and labelling quality of Foods and supplements containing probiotic microorganisms. *Public health nutrition*, 2, 223-229.
- Hammes, W. P. et Hertel, C. 2006. The genera *Lactobacillus* and *Carnobacterium*. *The prokaryotes*. Springer. p. 1535-1594.
- Hao, Y., Zhao, L., Zhang, H., Zhai, Z., Huang, Y., Liu, X. et Zhang, L. 2010. Identification of the bacterial biodiversity in koumiss by denaturing gradient gel electrophoresis and species-specific polymerase chain reaction. *Journal of Dairy Science*, 93, 1926-1933.
- Hare, J. 2008. Mysteries of the gobi: searching for wild camels and lost cities in the heart of asia, IB Tauris. 237p.
- Hassaine, O., Zadi-Karam, H. et 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.
- Herrero, M., Mayo, B., Gonzalez, B. et Suarez, J. 1996. Evaluation of technologically important traits in lactic acid bacteria isolated from spontaneous fermentations. *Journal of Applied Bacteriology*, 81, 565-570.
- Herreros, M., Arenas, R., Sandoval, M., Castro, J., Fresno, J. et Tornadijo, M. 2007. Effect of addition of native cultures on characteristics of Armada cheese manufactured with pasteurized milk: A preliminary study. *International Dairy Journal*, 17, 328-335.
- Hoffer, A., Klenner, F. et Cathcart, R. 1981. Vitamin C Dosage. *Medical Hypotheses*, 7, 1359-1376.
- Holzapel, W. et Wood, B. J. 2012. The genera of lactic acid bacteria, Springer Science et Business Media.
- Holzapel, W. H., Haberer, P., Geisen, R., Björkroth, J. et Schillinger, U. 2001. Taxonomy and important features of probiotic microorganisms in food and nutrition. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 73, 365s-373s.
- Horvath, P., Coûté-Monvoisin, A.-C., Romero, D. A., Boyaval, P., Fremaux, C. et Barrangou, R. 2009. Comparative analysis of CRISPR loci in lactic acid bacteria genomes. *International Journal of Food Microbiology*, 131, 62-70.
- Humblot, C. et Guyot, J.-P. 2009. Pyrosequencing of tagged 16S rRNA gene amplicons for rapid deciphering of the microbiomes of fermented foods such as pearl millet slurries. *Applied and Environmental Microbiology*, 75, 4354-4361.
- Hynes, E. R., Bergamini, C. V., Suárez, V. B. et Zalazar, C. A. 2003. Proteolysis on reggianito argentino cheeses manufactured with natural whey cultures and selected strains of *Lactobacillus helveticus*. *Journal of Dairy Science*, 86, 3831-3840.
- Indra, R. et Erdenebaatar, B. 1998. Camel's milk processing and its consumption patterns in Mongolia. *Colloques-CIRAD*, 257-261.
- Iqbal, A., Gill, R. et Younas, M. 2001. Milk composition of Pakistani camel (*Camelus dromedarius*) kept under station/farmer's conditions. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 7-10.
- Irigoyen, A., Ortigosa, M., Juansaras, I., Oneca, M. et Torre, P. 2007. Influence of an adjunct culture of *Lactobacillus* on the free amino acids and volatile compounds in a Roncal-type ewe's-milk cheese. *Food Chemistry*, 100, 71-80.
- Ismaili, M. A., Guilal, J., Hamama, A., Saidi, B. et Zahar, M. 2016. Identification de bactéries lactiques du lait cru de chamelle du sud du Maroc. *The International Journal of Multidisciplinary Sciences*, 1, 81-94.

Références bibliographiques

- Janda, J. M. et Abbott, S. L. 2007. 16S rRNA gene sequencing for bacterial identification in the diagnostic laboratory: pluses, perils, and pitfalls. *Journal of Clinical Microbiology*, 45, 2761-2764.
- Jans, C., Bugnard, J., Njage, P. M. K., Lacroix, C. et Meile, L. 2012. Lactic acid bacteria diversity of African raw and fermented camel milk products reveals a highly competitive, potentially health-threatening predominant microflora. *LWT-Food Science and Technology*, 47, 371-379.
- Jeršek, B., Tcherneva, E., Rijpens, N. et Herman, L. 1996. Repetitive element sequence-based PCR for species and strain discrimination in the genus *Listeria*. *Letters in Applied Microbiology*, 23, 55-60.
- Jouany, J. P. 2000. The digestion in camelids; a comparison to ruminants. *Productions Animales*, 13, 165-176.
- Jung, J. Y., Lee, S. H., Lee, S. H. et Jeon, C. O. 2012. Complete genome sequence of *Leuconostoc mesenteroides* Subsp. *mesenteroides* strain J18, isolated from kimchi. *Journal of Bacteriology*, 194, 730-731.
- Kadim, I., Mahgoub, O. et Purchas, R. 2008. A review of the growth, and of the carcass and meat quality characteristics of the one-humped camel (*Camelus dromedarius*). *Meat Science*, 80, 555-569.
- Kamal, A. M., Salama, O. A. et El-Saied, K. M. 2007. Changes in amino acids profile of camel milk protein during the early lactation. *International Journal of Dairy Sciences*, 2, 226-234.
- Kamoun, M. 1995. Le lait de dromadaire: production, aspects qualitatifs et aptitude à la transformation. *Options méditerranéennes, Séries séminaires*, 13, 81-103.
- Kandler, O. et Weiss, N. 1986. Description of the genus *Lactobacillus*. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 1209-1235.
- Kaur, J., Lee, S., Sharma, A. et Park, Y.-S. 2017. DNA profiling of *Leuconostoc mesenteroides* strains isolated from fermented foods and farm produce in Korea by repetitive-element PCR. *Food Science and Biotechnology*, 26, 1667-1673.
- Kayouli, C., Jouany, J., Dardillat, C. et Tisserand, J. 1995. Particularités physiologiques du dromadaire: conséquences sur son alimentation. *Options Méditerranéennes série B. Etudes et recherches*, 13, 143-155.
- Keddie, R. M. 1959. The properties and classification of lactobacilli isolated from grass and silage. *Applied Bacteriology*, 22, 6: 403-441.
- Kempler, G. et McKay, L. 1980. Improved medium for detection of citrate-fermenting *Streptococcus lactis* Subsp. *diacetylactis*. *Applied and Environmental Microbiology*, 39, 926-927.
- Kern, C. C., Vogel, R. F. et Behr, J. 2014. Differentiation of *Lactobacillus brevis* strains using matrix-assisted-laser-desorption-ionization-time-of-flight Mass Spectrometry with respect to their beer spoilage potential. *Food Microbiology*, 40, 18-24.
- Khan, I. T., Nadeem, M., Imran, M., Ayaz, M., Ajmal, M., Ellahi, M. Y. et Khalique, A. 2017. Antioxidant capacity and fatty acids characterization of heat treated cow and buffalo milk. *Lipids in Health and Disease*, 16, 163.
- Khaskheli, M., A. Arain, M., Chaudhry, S., Soomro, A. H. et Qureshi, T. A. 2004. physico chemical quality of camel milk. *Journal of Agriculture and Social Sciences*, 2, 164-166.
- 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.
- Khue, N. T. H. et Ngoc, N. H. 2013. Exopolysaccharide in *Lactobacillus rhamnosus* Pn04 after co-culture with *Leuconostoc mesenteroides* Vtcc-B-643. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 3, 14.
- Kihal, M. 1996. Etude de la production du dioxyde de carbone par *Leuconostoc mesenteroides*, éléments d'application en technologie fromagère type fromage bleu. Thèse de doctorat d'état. *Université d'Oran Es-Senia*.
- Kihal, M., Prevost, H., Henni, D. E., Benmechernene, Z. et Diviès, C. 2009. Carbon dioxide production by *Leuconostoc mesenteroides* grown in single and mixed culture with *Lactococcus lactis* in skim milk. *Scientific Research and Essays*, 4, 1348-1353.
- Kirk, S. et Sawyer, R. 1991. Pearson's composition and analysis of Foods, Longman Group Ltd.
- Klaassen, C. H., Van Haren, H. A. et Horrevorts, A. M. 2002. Molecular fingerprinting of *Clostridium difficile* isolates: pulsed-field gel electrophoresis versus amplified fragment length polymorphism. *Journal of Clinical Microbiology*, 40, 101-104.
- Klaenhammer, T. R., Barrangou, R., Buck, B. L., Azcarate-Peril, M. A. et Altermann, E. 2005. Genomic features of lactic acid bacteria effecting bioprocessing and health. *FEMS Microbiology Reviews*, 29, 393-409.
- Klaenhammer, T., Altermann, E., Arigoni, F., Bolotin, A., Breidt, F., Broadbent, J., Cano, R., Chaillou, S., Deutscher, J. et Gasson, M. 2002. Discovering lactic acid bacteria by genomics. *Lactic Acid Bacteria: Genetics, Metabolism and Applications*. Springer.
- 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.
- Knox, K. W. et Wicken, A. J. 1976. Grouping and cross-reacting antigens of oral lactic acid bacteria. *Journal of Dental Research*, 55, 116-122.

Références bibliographiques

- König, H. et Fröhlich, J. 2017. Lactic acid bacteria: biology of microorganisms on grapes, in must and in wine. Heidelberg: Springer pp. 3-30.
- Konuspayeva, G. et Faye, B. 2011. Nutritional value of camel milk and shubat. *International Symposium. On sheep, goat and other non-cow milk*, Athens, Greece, Poster no. S4-7.
- Konuspayeva, G. 2007. Variabilité physico-chimique et biochimique du lait des grands camélidés (*Camelus bactrianus*, *Camelus dromedarius* et hybrides) au Kazakhstan. *PhD thesis. in Food Sciences, Université Montpellier II, France*.
- Konuspayeva, G., Faye, B. et Loiseau, G. 2009. The composition of camel milk: A meta-analysis of the literature data. *Journal of Food Composition and Analysis*, 22, 95-101.
- Konuspayeva, G., Loiseau, G. et Faye, B. 2004. La plus-value «santé» du lait de chamelle cru et fermenté: l'expérience du Kazakhstan. *Rencontres Recherches Ruminants*, 11, 47-50.
- Kosikowski, F. V. 1977. Cheese and fermented milk Foods, Ann Arbor, Michigan, Edwards Brothers, Inc. Vol. 572.
- Lairini, S., Beqqali, N., Bouslamti, R., Belkhou, R. et Zerrouq, F. 2014. Isolement des bactéries lactiques à partir des produits laitiers traditionnels Marocains et formulation d'un lait fermenté proche du Kéfir. *Afrique Science : Revue Internationale des Sciences et Technologie*, 10, 267-277.
- Lapointe-Vignola, C. 2002. Science et technologie du lait: transformation du lait, Presses inter Polytechnique.
- Larpent, J.-P. 1997. Microbiologie alimentaire. Lavoisier / Tec et Doc
- Lassiter, S. J. 2001. Analysis of near-infrared dye-labeled Sanger sequencing fragments with gel electrophoresis using the time-resolved fluorescence lifetime identification methods.
- Lazzi, C., Bove, C. G., Sgarbi, E., Monica, G., La Gioia, F., Sandra, T. et Neviani, E. 2009. Application of AFLP fingerprint analysis for studying the biodiversity of *Streptococcus thermophilus*. *Journal of Microbiological Methods*, 79, 48-54.
- Lee, Y., Cho, Y., Kim, E., Kim, H.-J. et Kim, H.-Y. 2018. Identification of Lactic Acid Bacteria in Galchi-and Myeolchi-Jeotgal by 16S rRNA Gene Sequencing, MALDI-TOF Mass Spectrometry, and PCR-DGGE. *Journal of Microbiology and BioTechnology*, 28, 1112-1121.
- Leese, A. S. 1927. A Treatise on the one-humped camel in health and in disease. pp.382
- Leisner, J., Vancanneyt, M., Rusul, G., Pot, B., Lefebvre, K., Fresi, A. et Tee, L. 2001. Identification of lactic acid bacteria constituting the predominating microflora in an acid-fermented condiment (tempoyak) popular in Malaysia. *International Journal of Food Microbiology*, 63, 149-157.
- Leite, A. M., Mayo, B., Rachid, C. T., Peixoto, R., Silva, J., Paschoalin, V. et Delgado, S. 2012. Assessment of the microbial diversity of Brazilian kefir grains by PCR-DGGE and pyrosequencing analysis. *Food Microbiology*, 31, 215-221.
- Leroy, F. et De Vuyst, L. 2004. Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry. *Trends in Food Science et Technology*, 15, 67-78.
- Lewenstein, A., Frigerio, G. et Moroni, M. 1979. Biological properties of SF-68, a new approach for the treatment of diarrheal diseases. *Current Therapeutic Research Clinical and Experimental*, 26, 967-981.
- Limonet, M., Cailliez-Grimal, C., Linder, M., Revol-Junelles, A.-M. et Millière, J.-B. 2004. Cell envelope analysis of insensitive, susceptible or resistant strains of *Leuconostoc* and *Weissella* genus to *Leuconostoc mesenteroides* FR 52 bacteriocins. *FEMS Microbiology Letters*, 241, 49-55.
- Lin, Y.-H., Lin, Y.-M., Teng, Y.-N., Hsieh, T.-Y. T., Lin, Y.-S. et Kuo, P.-L. 2006. Identification of ten novel genes involved in human spermatogenesis by microarray analysis of testicular tissue. *Fertility and sterility*, 86, 1650-1658.
- Liu, W., Pang, H., Zhang, H. et Cai, Y. 2014. Biodiversity of lactic acid bacteria. *Lactic acid bacteria*. Springer. 103-203
- Liu, W., Yu, J., Sun, Z., Song, Y., Wang, X., Wang, H., Wuren, T., Zha, M., Menghe, B. et Heping, Z. 2016. Relationships between functional genes in *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* isolates and phenotypic characteristics associated with fermentation time and flavor production in yogurt elucidated using multilocus sequence typing. *Journal of Dairy Science*, , 99, 89-103.
- Liu, W.-T., Marsh, T. L., Cheng, H. et Forney, L. J. 1997. Characterization of microbial diversity by determining terminal restriction fragment length polymorphisms of genes encoding 16S rRNA. *Applied and Environmental Microbiology*, 63, 4516-4522.
- Liu, Y., Cai, X., Zhang, X., Gao, Q., Yang, X., Zheng, Z., Luo, M. et Huang, X. 2006. Real time PCR using TaqMan and SYBR Green for detection of *Enterobacter sakazakii* in infant formula. *Journal of Microbiological Methods*, 65, 21-31.
- López-Enríquez, L., Rodríguez-Lázaro, D. et Hernández, M. 2007. Quantitative detection of *Clostridium tyrobutyricum* in milk by real-time PCR. *Applied and Environmental Microbiology*, 73, 3747-3751.
- Lore, T. A., Mbugua, S. K. et Wangoh, J. 2005. Enumeration and identification of microflora in suusac, a Kenyan traditional fermented camel milk product. *LWT-Food Science and Technology*, 38, 125-130.
- Lowry, O. H. 1969. Micromethods for the assay of enzymes. *Methods Enzymology*, 4, 366.

Références bibliographiques

- Lu, W., Kong, W., Yang, P. et Kong, J. 2015. A one-step PCR-based method for specific identification of 10 common lactic acid bacteria and Bifidobacterium in fermented milk. *International Dairy Journal*, 41, 7-12.
- Maaroufi, S. H., Rezaei, K., Raftaniamiri, Z. et Mirzaei, F. 2015. Evaluating the effects of herbal essences from spearmint and wild thyme on the quality of camel's milk. *International Journal of Food Science et Technology*, 50, 2168-2174.
- Makarova, K., Slesarev, A., Wolf, Y., Sorokin, A., Mirkin, B., Koonin, E., Pavlov, A., Pavlova, N., Karamychev, V. et Polouchine, N. 2006. Comparative genomics of the lactic acid bacteria. *Proceedings of the National Academy of Science*, s, 103, 15611-15616.
- Malbec, R. 2018. Microfluidic system μ LAS for the analysis of residual DNA : Application to the diagnostic of Huntington's disease and the analysis of circulating DNA. INSA de Toulouse.
- Mami, A. 2007. *Le Biocontrôle de Staphylococcus aureus par les Bactéries lactiques du genre Lactobacillus isolées du lait cru de chèvre*. Thèse de Magister. Université 'Oran 1.
- Manero, A. et Blanch, A. R. 1999. Identification of *Enterococcus* spp. with a biochemical key. *Applied and environmental Microbiology*, 65, 4425-4430.
- Manero, A. et Blanch, A. R. 2002. Identification of *Enterococcus* spp. based on specific hybridisation with 16S rDNA probes. *Journal of microbiological methods*, 50, 115-121.
- Marroki, A., Zúñiga, M., Kihal, M. et Pérez-Martínez, 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.
- Marty, E., Buchs, J., Eugster-Meier, E., Lacroix, C. et Meile, L. 2012. Identification of staphylococci and dominant lactic acid bacteria in spontaneously fermented Swiss meat products using PCR-RFLP. *Food Microbiology*, 29, 157-166.
- Mathieu, J. 1998. *Initiation à la physicochimie du lait*, Lavoisier Tec et Doc.
- Mathot, A., Kihal, M., Prevost, H. et Divies, C. 1994. Selective enumeration of *Leuconostoc* on vancomycin agar media. *International Dairy Journal*, 4, 459-469.
- Mati, A., Yabrir, B. et Zennia, S. 2011. Caractérisation physico-chimique du lait cru ovin collecté localement en milieu steppique. influence de l'étage bioclimatique. Thèse de Doctorat. *Université de Béjaia, Algérie*.
- Matsumoto, K., Shimada, K., Horinishi, N. et Watanabe, K. 2016. Evaluation of the method based on restriction fragment length polymorphism analysis as simple analysis method of lactic acid bacteria in foods. *Food and Nutrition Sciences*, 7, 163.
- Mattila-Sandholm, T., Myllärinen, P., Crittenden, R., Mogensen, G., Fondén, R. et Saarela, M. 2002. Technological challenges for future probiotic foods. *International Dairy Journal*, 12, 173-182.
- Mauger, F. 2012. Development of methods for DNA analysis using cleavage of RNA/DNA chimera and MALDI-TOF mass spectrometry. *Université Pierre et Marie Curie - Paris VI*.
- Maxam, A. M. et Gilbert, W. 1977. A new method for sequencing DNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 74, 560-564.
- Mayeux, J., Elliker, P. et Sandine, W. Selective medium for detecting *Leuconostoc* organisms in mixed-strain starter cultures. *Journal of Dairy Science*. 1962. *Amer dairy science*
- Mccartney, A. L. 2002. Application of molecular biological methods for studying probiotics and the gut flora. *British Journal of Nutrition*, 88, 29-37.
- Mcsweeney, P. L. H., Pochet, S., Fox, P. F. et Healy, A. 1994. Partial identification of peptides from the water-insoluble fraction of Cheddar cheese. *Journal of Dairy Research*, 61, 587-590.
- 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 Chemistry*, 52, 115-122.
- Merzouk, Y., Chahrour, W., Zarour, K., Zergui, A., Saidi, N., Henni, J. E. et Kihal, M. 2013. Physico-chemical and microbiological analysis of Algerian raw camel's milk and identification of predominating thermophilic lactic acid bacteria. *Journal of Food Science and Engineering*, 3, 55.
- Moe, N. K. T., Thwe, S. M., Shirai, T., Terahara, T., Imada, C. et Kobayashi, T. 2015. Characterization of lactic acid bacteria distributed in small fish fermented with boiled rice in Myanmar. *Fisheries Science*, , 81, 373-381.
- Mohamed, M. A., Mursal, A. I., Et Larsson-Raznikiewicz, M. 1989. Separation of a camel milk casein fraction and its relation to the coagulation properties of fresh milk. *Milchwissenschaft* (Germany, FR), .
- Morandi, S., Brasca, M. et Lodi, R. 2011. Technological, phenotypic and genotypic characterisation of wild lactic acid bacteria involved in the production of Bitto PDO Italian cheese. *Dairy Science et Technology*, 91, 341-359.
- Morozova, O. et Marra, M. A. 2008. Applications of next-generation sequencing technologies in functional genomics. *Genomics*, 92, 255-264.
- Moter, A. et Göbel, U. B. 2000. Fluorescence in situ hybridization (FISH) for direct visualization of microorganisms. Elsevier.

Références bibliographiques

- Moulay, M., Aggad, H., Benmechernene, Z., Guessas, B., Henni, D. et Kihal, M. 2006. Cultivable lactic acid bacteria isolated from Algerian raw goat's milk and their proteolytic activity. *World Journal of Dairy Food Sciences*, 1, 12-18.
- 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.
- Ms Gorban, A. et Izzeldin, O. M. 2001. Fatty acids and lipids of camel milk and colostrum. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 52, 283-287.
- Mukasa-Mugerwa, E. 1985. Le chameau (*Camelus dromedarius*): etude bibliographique, ILRI (aka ILCA and ILRAD).
- Munoz, R., Arena, M. E., Silva, J. et Gonzalez, S. N. 2010. Inhibition of mycotoxin-producing *Aspergillus nomius* vsc 23 by lactic acid bacteria and *Saccharomyces cerevisiae*. *Brazillian Journal of Microbiology*, 41, 1019-26.
- Murphy, B. P., Buckley, J. F., O'connor, E. M., Gilroy, D. et Fanning, S. 2008. Comparison of *Salmonella* species recovered from Irish liquid milk production holdings with temporal *Clinical* veterinary isolates. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 211, 283-291.
- Muyanja, C., Narvhus, J., Treimo, J. et Langsrud, T. 2003. Isolation, characterisation and identification of lactic acid bacteria from bushera: a Ugandan traditional fermented beverage. *International Journal of Food Microbiology*, 80, 201-210.
- Nacef, M., Chevalier, M., Chollet, S., Drider, D. et Flahaut, C. 2017. MALDI-TOF mass spectrometry for the identification of lactic acid bacteria isolated from a french cheese: The Maroilles. *International Journal of Food Microbiology*, 247, 2-8.
- Nagy, P., Skidmore, J. et Juhasz, J. 2013. Use of assisted reproduction for the improvement of milk production in Dairy camels (*Camelus dromedarius*). *Animal reproduction Science*, 136, 205-210.
- Nakatsu, C. H., Torsvik, V. et Øvreås, L. 2000. Soil community analysis using DGGE of 16S rDNA polymerase chain reaction products. *Soil Science, Society of America Journal*, 64, 1382-1388.
- 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.
- Naze, F., Jouen, E., Randriamahazo, R., Simac, C., Laurent, P., Blériot, A., Chiroleu, F., Gagnevin, L., Pruvost, O. et Michault, A. 2010. *Pseudomonas aeruginosa* outbreak linked to mineral water bottles in a neonatal intensive care unit: fast typing by use of high-resolution melting analysis of a variable-number tandem-repeat locus. *Journal of Clinical Microbiology*, 48, 3146-3152.
- Neve, H., Freudenberg, W., Diestel-Feddersen, F., Ehlert, R. et Heller, K. J. 2003. Biology of the temperate *Streptococcus thermophilus* bacteriophage TP-J34 and physical characterization of the phage genome. *Virology*, 315, 184-194.
- Nielsen, E. M., Engberg, J., Fussing, V., Petersen, L., Brogren, C.-H. et On, S. L. 2000. Evaluation of phenotypic and genotypic methods for subtyping *Campylobacter jejuni* isolates from humans, poultry, and cattle. *Journal of Clinical Microbiology*, 38, 3800-3810.
- Nomura, T., Narahara, H., Tokumoto, H. et Konishi, Y. 2009. The role of microbial surface properties and extracellular polymer in *Lactococcus Lactis* aggregation. *Advanced Powder Technology*, 20, 537-541.
- O'sullivan, L., Ross, R. et Hill, C. 2002. Potential of bacteriocin-producing lactic acid bacteria for improvements in food safety and quality. *Biochimie*, 84, 593-604.
- Oh, S. et Kim, Y. 2018. Determination of microbial diversity in gouda cheese via pyrosequencing analysis. *Journal of Milk Science and BioTechnology*, 36, 125-131.
- Ohri, S. et Joshi, B. 1961. Composition of milk of camel. *Indian veterinary Journal*, 38.
- Olivares-Fuster, O., Shoemaker, C. A., Klesius, P. H. et Arias, C. R. 2007. Molecular typing of isolates of the fish pathogen, *Flavobacterium columnare*, by single-strand conformation polymorphism analysis. *FEMS Microbiology letters*, 269, 63-69.
- Olofsson, T. C., Alsterfjord, M., Nilson, B., Butler, È. et Vásquez, A. 2014. *Lactobacillus apinorum* sp. nov., *Lactobacillus mellifer* sp. nov., *Lactobacillus mellis* sp. nov., *Lactobacillus melliventris* sp. nov., *Lactobacillus kimbladii* sp. nov., *Lactobacillus helsingborgensis* sp. nov. and *Lactobacillus kullabergensis* sp. nov., isolated from the honey stomach of the honeybee *Apis mellifera*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 64, 3109-3119.
- Oner, Z., Sanlidere-Aloglu, H. et Dedevas, T. 2011. Determination of antioxidant capacity in milk from various animals and humans. *Milchwissenschaft-Milk Science International*, 66, 133-135.
- Orla-Jensen, S. 1919. The lactic acid bacteria. Det Kongelige Danske Videnskabsbernes Selskab. Naturvidenskabelige mathematiske Afdeling.
- Ota, M., Asamura, H., Oki, T. et Sada, M. 2009. Restriction enzyme analysis of PCR products. *Single Nucleotide Polymorphisms: Methods and Protocols*, 405-414.

Références bibliographiques

- Ouadghiri, M. 2009. Biodiversité des bactéries lactiques dans le lait cru et ses dérivés «Lben» et «Jben» d'origine marocaine. Thèse de Doctorat. *Université Mohammed V- Agdal, Rabat*.
- Ould Ahmed, M., Ben Salem, F., Bedhiaf, S. et Djemali, M. 2009. Camel genetic resources in Tunisia. *Proceeding of the 2 nd Conference of the International Society of Camelid Research and Development, 12-14 March, Djerba, Tunisia, 2009*.
- Papadimitriou, K., Zoumpopoulou, G., Foligné, B., Alexandraki, V., Kazou, M., Pot, B. et Tsakalidou, E. 2015. Discovering probiotic microorganisms: in vitro, in vivo, genetic and omics approaches. *Frontiers in Microbiology*, 6, 58.
- Park, E.-J., Chun, J., Cha, C.-J., Park, W.-S., Jeon, C. O. et Bae, J.-W. 2012. Bacterial community analysis during fermentation of ten representative kinds of kimchi with barcoded pyrosequencing. *Food Microbiology*, 30, 197-204.
- Park, Y. W. et Haenlein, G. F. 2013. Milk and Dairy products in human nutrition: production, composition and health, John Wiley et Sons.
- Pittet, V., Ewen, E., Bushell, B. R. et Ziola, B. 2012. Genome sequence of *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 8530. *Journal of Bacteriology*, 194, 726.
- Plumed-Ferrer, C., Gazzola, S., Fontana, C., Bassi, D., Cocconcelli, P.-S. et Von Wright, A. 2015. Genome Sequence of *Lactococcus lactis* Subsp. *cremoris* Mast36, a Strain Isolated from Bovine Mastitis. *Genome Announcements*, 3.
- Poveda, J. M., Sousa, M. J., Cabezas, L. et Mcsweeney, P. L. H. 2003. Preliminary observations on proteolysis in Manchego cheese made with a defined-strain starter culture and adjunct starter (*Lactobacillus plantarum*) or a commercial starter. *International Dairy Journal*, 13, 169-178.
- Praet, J., Meeus, I., Cnockaert, M., Houf, K., Smagghe, G. et Vandamme, P. 2015. Novel lactic acid bacteria isolated from the bumble bee gut: *Convivina intestini* gen. nov., sp. nov., *Lactobacillus bombicola* sp. nov., and *Weissella bombi* sp. nov. *Antonie van Leeuwenhoek*, 107, 1337-1349.
- Quigley, L., O'sullivan, O., Beresford, T. P., Ross, R. P., Fitzgerald, G. F. et Cotter, P. D. 2011. Molecular approaches to analysing the microbial composition of raw milk and raw milk cheese. *International Journal of Food Microbiology*, 150, 81-94.
- Rahli, F., Saidi, N. et Kihal, M. 2013. Evaluation of the factors affecting the variation of the physicochemical composition of Algerian camel's raw milk during different seasons. *Advances in Environmental Biology*, 7, 4879-4884.
- 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.
- Ramet, J. P. 1994. Les aspects scientifiques et technologiques particuliers de la fabrication des fromages au lait de dromadaire *Communcation Colloque Dromadaires et chameaux: animaux laitiers*. . Nouakchott, Mauritanie.
- Raziq, A., Younas, M. et Kakar, M. 2008. Camel~ A potential dairy animal in difficult environments. *Pakistan Journal of Agricultural Sciences*, 45, 263-267.
- Reischl, U., Pulz, M., Ehret, W. et Wolf, H. J. 1994. PCR-based detection of mycobacteria in sputum samples using a simple and reliable DNA extraction protocol. *BioTechniques*, 17, 844-845.
- Renner, E. 1989. Micronutrients in milk and milk-based food products, Elsevier *Applied Science*, .
- Ross, T., Merz, W., Farkosh, M. et Carroll, K. 2005. Comparison of an automated repetitive sequence-based PCR microbial typing system to pulsed-field gel electrophoresis for analysis of outbreaks of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Journal of Clinical Microbiology*, 43, 5642-5647.
- Rossetti, G. et Congiu, S. 1955. Zootechnical and veterinary investigations on the domestic animals of Somalia. Mason. 207 pp.
- Rossetti, L. et Giraffa, G. 2005. Rapid identification of dairy lactic acid bacteria by M13-generated, RAPD-PCR fingerprint databases. *Journal of Microbiological Methods*, 63, 135-144.
- Roukas, T. et Kotzekidou, P. 1998. Lactic acid production from deproteinized whey by mixed cultures of free and coimmobilized *Lactobacillus casei* and *Lactococcus lactis* cells using fedbatch culture. *Enzyme and Microbial Technology*, 22, 199-204.
- Ruggirello, M., Dolci, P. et Coccolin, L. 2014. Detection and viability of *Lactococcus lactis* throughout cheese ripening. *PLoS One*, 9.
- Rynne, N. M., Beresford, T. P., Kelly, A. L. et Guinee, T. P. 2007. Effect of milk pasteurisation temperature on age-related changes in lactose metabolism, pH and the growth of non-starter lactic acid bacteria in half-fat Cheddar cheese. *Food Chemistry*, 100, 375-382.
- Saber, A. S. 2012. Theories of the dromedary camel entry into africa based on the archeological evidence. *the 3rd Conference of the ISOCARD*.
- Säde, E., Lassila, E. et Björkroth, J. 2016. Lactic acid bacteria in dried vegetables and spices. *Food Microbiology*, 53, 110-114.

Références bibliographiques

- Sahnouni, F., Matallah-Boutiba, A., Chemlal, D. et Boutiba, Z. 2012. Technological characterization of lactic acid bacteria isolated from intestinal microbiota of marine fish in the Oran Algeria coast. *African Journal of Microbiology Research*, 6, 3125-3133.
- 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*. Vol 4: 1-9.
- Salami, M., Yousefi, R., Ehsani, M. R., Razavi, S. H., Chobert, J.-M., Haertlé, T., Saboury, A. A., Atri, M. S., Niasari-Naslaji, A. et Ahmad, F. 2009. Enzymatic digestion and antioxidant activity of the native and molten globule states of camel α -lactalbumin: Possible significance for use in infant formula. *International Dairy Journal*, 19, 518-523.
- Salmen, S. H., Abu-Tarboush, H. M., Al-Saleh, A. A. et Metwalli, A. A. 2012. Amino acids content and electrophoretic profile of camel milk casein from different camel breeds in Saudi Arabia. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 19, 177-183.
- Samelis, J., Maurogenakis, F. et Metaxopoulos, J. 1994. Characterisation of lactic acid bacteria isolated from naturally fermented Greek dry salami. *International Journal of Food Microbiology*, 23, 179-196.
- Sanger, F., Nicklen, S. et Coulson, A. R. 1977. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proceedings of the National Academy of Science*, s, 74, 5463-5467.
- Santos, E. M., Jaime, I., Rovira, J., Lyhs, U., Korkeala, H. et Björkroth, J. 2005. Characterization and identification of lactic acid bacteria in "morcilla de Burgos". *International Journal of Food Microbiology*, 97, 285-296.
- Saubusse, M., Millet, L., Delbes, C., Callon, C. et Montel, M.-C. 2007. Application of single strand conformation polymorphism—PCR method for distinguishing cheese bacterial communities that inhibit *Listeria monocytogenes*. *International Journal of Food Microbiology*, 116, 126-135.
- Sawaya, W., Khalil, J., Al-Shalhat, A. et Al-Mohammad, H. 1984. Chemical composition and nutritional quality of camel milk. *Journal of Food Science*, 49, 744-747.
- Schmidt-Nielsen, B. 1955. Urea excretion in white rats and kangaroo rats as influenced by excitement and by diet. *American Journal of Physiology Legacy Content*, 181, 131-139.
- Schmidt-Nielsen, K., Crawford Jr, E., Newsome, A. E., Rawson, K. et Hammel, H. 1967. Metabolic rate of camels: effect of body temperature and dehydration. *American Journal of Physiology Legacy Content*, 212, 341-346.
- Seifu, E., Abraham, A., Kurtu, M. Y. et Yilma, Z. 2012. Isolation and characterization of lactic acid bacteria from Ititu: Ethiopian traditional fermented camel milk. *Journal of Camelid Science*, , 5, 82-98.
- Sellami, N. L., Badis, A., Guetarni, D., Ouzrout, R. et Kihal, M. 2007. Carcterisation Phenotypique of Lactic Bacteria Isolees from Believed Milk of Goat of Two Caprine Populations Local Arabia and Kabyle. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 6, 1474-1481.
- Settanni, L. et Moschetti, G. 2010. Non-starter lactic acid bacteria used to improve cheese quality and provide health benefits. *Food Microbiology*, 27, 691-697.
- Shafiee, G., Mortazavian, A. M., Mohammadifar, M. A., Koushki, M. R., Mohammadi, A. et Mohammadi, R. 2010. Combined effects of dry matter content, incubation temperature and final pH of fermentation on biochemical and microbiological characteristics of probiotic fermented milk. *African Journal of Microbiology Research*, 4, 1265-1274.
- Sharpe, M. E., Fryer, T. et Smith, D. 1979. Identification of the lactic acid bacteria. *Identification Methods for Microbiologists*, 2, 233-259.
- Shuangquan, B. et Miyamoto, T. 2004. Microflora in traditional fermented camel's milk from Inner Mongolia, China. *Milchwissenschaft*, 59, 649-652.
- Shuiep, E., El Zubeir, I. E. M., El Owni, O. et Musa, H. 2008. Influence of season and management on composition of raw camel (*Camelus dromedarius*) milk in Khartoum state, Sudan. *Tropical and subtropical Agroecosystems*, 8.
- Siboukeur, O. K. 2007. Etude du lait camelin collecté localement : caractéristiques physico-chimiques aptitudes à la coagulation. thèse de doctorat université INA EL Harrach.
- Sjöberg, F., Nowrouzian, F., Rangel, I., Hannoun, C., Moore, E., Adlerberth, I. et Wold, A. E. 2013. Comparison between terminal-restriction fragment length polymorphism (T-RFLP) and quantitative culture for analysis of infants' gut microbiota. *Journal of Microbiological Methods*, 94, 37-46.
- Smith, S., Cantet, F., Angelini, F., Marais, A., Mégraud, F., Bayerdörfer, E. et Miehle, S. 2002. Discriminatory power of RAPD, PCR-RFLP and southern blot analyses of ureCD or ureA gene probes on *Helicobacter pylori* isolates. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 57, 516-521.
- Solanki, D. et Hati, S. 2018. Fermented camel milk: A Review on its bio-functional properties. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 30.
- Solanki, D., Hati, S. et Sakure, A. 2017. In silico and in vitro analysis of novel angiotensin i-converting enzyme (ACE) inhibitory bioactive peptides derived from fermented camel milk (*Camelus dromedarius*). *International Journal of Peptide Research and Therapeutics*, 23, 441-459.

Références bibliographiques

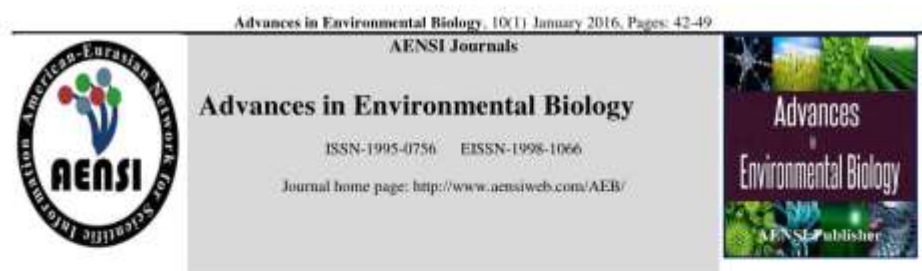
- Soto Del Rio, M. D. L. D., Andrighetto, C., Dalmasso, A., Lombardi, A., Civera, T. et Bottero, M. T. 2016. Isolation and characterisation of lactic acid bacteria from donkey milk. *Journal of Dairy Research*, 83, 383-386.
- Stiles, M. E. et Holzapfel, W. H. 1997. Lactic acid bacteria of *Foods* and their current taxonomy. *International Journal of Food Microbiology*, 36, 1-29.
- Suliman, A. M. E. H., Ilayan, A. A. et Faki, A. E. a. E. 2006. Chemical and microbiological quality of Garris, Sudanese fermented camel's milk product. *International Journal of Food Science et Technology*, 41, 321-328.
- Sun, Z., Harris, H. M., Mccann, A., Guo, C., Argimón, S., Zhang, W., Yang, X., Jeffery, I. B., Cooney, J. C. et Kagawa, T. F. 2015. Expanding the *BioTechnology* potential of lactobacilli through comparative genomics of 213 strains and associated genera. *Nature Communications*, 6, 8322.
- Taddele, M. H., Rathore, R., Dhama, K. et Agarwal, R. 2011. Epidemiological characterization of *Salmonella gallinarum* isolates of poultry origin in India, employing two PCR based typing methods of RAPD-PCR and PCR-RFLP. *Asian Journal of Animal and Veterinary Advances*, 6, 1037-1051.
- Tafti, A. G. et Fooladi, M. 2006. A study on the physico-chemical properties of Iranian Shamsaei date at different stages of maturity. *World Journal of Dairy and Food Science*, s, 1, 28-32.
- Takeda, S., Yamasaki, K., Takeshita, M., Kikuchi, Y., Tsend-Ayush, C., Dashnyam, B., Ahhmed, A. M., Kawahara, S. et Muguruma, M. 2011. The investigation of probiotic potential of lactic acid bacteria isolated from traditional Mongolian dairy products. *Animal Science Journal*, 82, 571-579.
- Tannock, G. et Archibald, R. 1984. The derivation and use of mice which do not harbour lactobacilli in the gastrointestinal tract. *Canadian Journal of Microbiology*, 30, 849-853.
- Tannock, G. 1988. The normal microflora: new concepts in health promotion. *Microbiological Science*, s, 5, 4-8.
- Tardy, F., Gaurivaud, P., Tricot, A., Maigre, L. et Poumarat, F. 2009. Epidemiological surveillance of mycoplasmas belonging to the '*Mycoplasma mycoides*' cluster: is DGGE fingerprinting of 16S rRNA genes suitable? *Letters in Applied Microbiology*, 48, 210-217.
- Taylor, K., Hungerford, D., Snyder, R. et Ulmer Jr, F. 1968. Uniformity of karyotypes in the camelidae. *Cytogenetic and Genome Research*, 7, 8-15.
- Temmerman, R., Huys, G. et Swings, J. 2004a. Identification of lactic acid bacteria: culture-dependent and culture-independent methods. *Trends in Food Science et Technology*, 15, 348-359.
- Temmerman, R., Huys, G. et Swings, J. 2004b. Identification of lactic acid bacteria: culture-dependent and culture-independent methods. *Trends in Food Science et Technology*, 15, 348-359.
- Temmerman, R., Scheirlinck, I., Huys, G. et Swings, J. 2003. Culture-independent analysis of probiotic products by denaturing gradient gel electrophoresis. *Applied and Environmental Microbiology*, 69, 220-226.
- Terzaghi, B. E. et Sandine, W. 1975. Improved medium for lactic streptococci and their bacteriophages. *Applied Microbiology*, 29, 807-813.
- Thomas, T. 1973. Agar medium for differentiation of *Streptococcus cremoris* from the other bacteria. *New Zealand journal of dairy science and technology*, 8, 70-71.
- Thomsen, N., Ali, R. G., Ahmed, J. N. et Arkell, R. M. 2012. High resolution melt analysis (HRMA); a viable alternative to agarose gel electrophoresis for mouse genotyping. *PloS one*, 7.
- Titaouine, M. 2006. Considération zootechniques de l'élevage du dromadaire dans le Sud-est Algérien influence du sexe et de la saison sur certains paramètres sanguins Thèse Magister en Science vétérinaires. Université EL Hadj Lakhdar Batna.
- Tohno, M., Tanizawa, Y., Irisawa, T., Masuda, T., Sakamoto, M., Arita, M., Ohkuma, M. et Kobayashi, H. 2017. *Lactobacillus silagincola* sp. nov. and *Lactobacillus pentosiphilus* sp. nov., isolated from silage. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 67, 3639-3644.
- Tsakalidou, E. et Papadimitriou, K. 2016. Non-bovine milk and milk products, Academic Press.
- Tsuda, H. et Miyamoto, T. 2008. Angiotensin i-converting enzyme inhibitory peptides in skim milk fermented with *Lactobacillus helveticus* 130b4 from camel milk in inner mongolia, china. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 88, 2688-2692.
- Ushe, T. et Nagy, B. 1985. Inhibition of small intestinal colonization of enterotoxigenic *Escherichia coli* by *streptococcus faecium* M74 in pigs. *Zentralblatt fur Bakteriologie, Mikrobiologie und Hygiene. 1. Abt. Originale B, Hygiene*, 181, 374-382.
- Van De Guchte, M., Penaud, S., Grimaldi, C., Barbe, V., Bryson, K., Nicolas, P., Robert, C., Oztas, S., Mangenot, S. et Couloux, A. 2006. The complete genome sequence of *Lactobacillus bulgaricus* reveals extensive and ongoing reductive evolution. *Proceedings of the National Academy of Science*, s, 103, 9274-9279.
- Van De Guchte, M., Serror, P., Chervaux, C., Smokvina, T., Ehrlich, S. D. et Maguin, E. 2002. Stress responses in lactic acid bacteria. *Lactic Acid Bacteria: Genetics, Metabolism and Applications*. Springer.
- Van Kranenburg, R., Kleerebezem, M., Van Hylckama Vlieg, J., Ursing, B. M., Boekhorst, J., Smit, B. A., Ayad, E. H. E., Smit, G. et Siezen, R. J. 2002. Flavour formation from amino acids by lactic acid bacteria: predictions from genome sequence analysis. *International Dairy Journal*, 12, 111-121.

Références bibliographiques

- Vandamme, P. et Peeters, C. 2014. Time to revisit polyphasic taxonomy. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 106, 57-65.
- Vandamme, P., Pot, B., Gillis, M., De Vos, P., Kersters, K. et Swings, J. 1996. Polyphasic taxonomy, a consensus approach to bacterial systematics. *Microbiological Reviews*, 60, 407-38.
- Vasiljevic, T. et Shah, N. P. 2008. Probiotics From Metchnikoff to bioactives. *International Dairy Journal*, 18, 714-728.
- Verdier-Metz, I., Michel, V., Delbes, C. et Montel, M.-C. 2009. Do milking practices influence the bacterial diversity of raw milk?. *Food Microbiology*, 26, 305-310.
- Véronique, A. L. 2014. Séquençage d'acides nucléiques : méthodes, applications, évolutions et enjeux. *Techniques de l'ingénieur Analyse et mesure en biotechnologie*, base documentaire : TIB160DUO.
- Vinderola, C., Mocchiutti, P. et Reinheimer, J. 2002. Interactions among lactic acid starter and probiotic bacteria used for fermented dairy products. *Journal of Dairy Science*, 85, 721-729.
- Virtanen, T., Pihlanto, A., Akkanen, S. et Korhonen, H. 2007. Development of antioxidant activity in milk whey during fermentation with lactic acid bacteria. *Journal of Applied Microbiology*, 102, 106-115.
- Vossen, R. H., Aten, E., Roos, A. et Den Dunnen, J. T. 2009. High-resolution melting analysis (HRMA) More than just sequence variant screening. *Human mutation*, 30, 860-866.
- Vuilleumard, J., Amiot, J. et Gauthier, S. 1986. Evaluation de l'activité protéolytique de bactéries lactiques par une méthode de diffusion sur plaque. *Microbiologie, Aliments and Nutrition*, 3, 327-332.
- Wang, J., Chen, X., Liu, W., Yang, M. et Zhang, H. 2008. Identification of *Lactobacillus* from koumiss by conventional and molecular methods. *European Food Research and Technology*, 227, 1555-1561.
- Wardeh, M. 2004. Classification of the dromedary camels. *Journal of Camel Science*, 1, 1-7.
- Watanabe, K., Fujimoto, J., Sasamoto, M., Dugersuren, J., Tumursuh, T. et Demberel, S. 2008. Diversity of lactic acid bacteria and yeasts in Airag and Tarag, traditional fermented milk products of Mongolia. *World Journal of Microbiology and BioTechnology*, 24, 1313-1325.
- Waterborg, J. H. 2002. The Lowry Method for Protein Quantitation. In: Walker, J. M. (ed.) *The Protein Protocols Handbook*. Totowa, NJ: Humana Press.
- Wenning, M., Breitenwieser, F., Konrad, R., Huber, I., Busch, U. et Scherer, S. 2014. Identification and differentiation of food-related bacteria: a comparison of FTIR spectroscopy and MALDI-TOF mass spectrometry. *Journal of Microbiological Methods*, 103, 44-52.
- Wilson, R. 1989. Reproductive performance of the one-humped camel. The empirical base. *Revue d'élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux*, 42, 117-125.
- Wouters, J. T., Ayad, E. H., Hugenholtz, J. et Smit, G. 2002. Microbes from raw milk for fermented dairy products. *International Dairy Journal*, 12, 91-109.
- Yadav, H., Jain, S. et Sinha, P. 2007. Production of free fatty acids and conjugated linoleic acid in probiotic dahi containing *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus casei* during fermentation and storage. *International Dairy Journal*, 17, 1006-1010.
- Yagil, R. et Etzion, Z. 1980. Effect of drought condition on the quality of camel milk. *Journal of Dairy Research*, 47, 159-166.
- Yagil, R. 1982. *Camels and camel milk*, FAO.
- Yang, X., Badoni, M. et Gill, C. O. 2011. Use of propidium monoazide and quantitative PCR for differentiation of viable *Escherichia coli* from E. coli killed by mild or pasteurizing heat treatments. *Food Microbiology*, 28, 1478-1482.
- Yang, X., Wang, Y. et Huo, G. 2013. Complete Genome Sequence of *Lactococcus lactis* Subsp. *lactis* KLDS4.0325. *Genome Announcements*, 1, e00962-13.
- Yaqoob, M. et Nawaz, H. 2007. Potential of Pakistani camel for dairy and other uses. *Animal Science Journal*, 78, 467-475.
- Yu, M., Hodgetts, J., Rossall, S. et Dickinson, M. 2009. Using terminal restriction fragment length polymorphism (T-RFLP) to monitor changes in fungal populations associated with plants. *Journal of Plant Pathology*, 417-423.
- Zaheer, R., Noyes, N., Ortega Polo, R., Cook, S. R., Marinier, E., Van Domselaar, G., Belk, K. E., Morley, P. S. et Mcallister, T. A. 2018. Impact of sequencing depth on the characterization of the microbiome and resistome. *Scientific Reports*, 8, 5890.
- 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.
- Zarour, K., Llamas, M. G., Prieto, A., Rúa-Madiedo, P., Dueñas, M. T., De Palencia, P. F., Aznar, R., Kihal, M. et López, P. 2017. Rheology and bioactivity of high molecular weight dextran synthesised by lactic acid bacteria. *Carbohydrate Polymers*, 174, 646-657.
- Zarour, K., Prieto, A., Pérez-Ramos, A., Kihal, M. et López, P. 2018. Analysis of technological and probiotic properties of Algerian *L. mesenteroides* strains isolated from dairy and non-dairy products. *Journal of Functional Foods*, 49, 351-361.

Références bibliographiques

- Zergui, A., Saidi, N., Arul, V., Venkatesh, P., Bessaiah, H., Zergui, A., Merzouk, Y., Heddadji, M. et Kihal, M. 2014. Characterization and potential probiotic attributes of *Lactobacillus plantarum* DU10 isolated from Algerian raw camel milk. *BioTechnology*, 13, 282-288.
- Zhao, F., Ma, H., Lu, Y., Teng, K., Kang, X., Wang, F., Yang, X. et Zhong, J. 2015. Complete genome sequence of *Lactococcus lactis* S0, an efficient producer of nisin. *Journal of BioTechnology*, 198, 15-16.
- Ziane, M., Couvert, O., Le Chevalier, P., Moussa-Boudjemaa, B. et Leguerinel, I. 2016. Identification and characterization of aerobic spore forming bacteria isolated from commercial camel's milk in south of Algeria. *Small Ruminant Research*, 137, 59-64.
- Zibae, S., Hosseini, S. M. a.-R., Yousefi, M., Taghipour, A., Kiani, M. A. et Noras, M. R. 2015. Nutritional and therapeutic characteristics of camel milk in children: a systematic review. *Electronic Physician*, 7, 1523-1528.
- Zulueta, A., Maurizi, A., Frigola, A., Esteve, M., Coli, R. et Burini, G. 2009. Antioxidant capacity of cow milk, whey and deproteinized milk. *International Dairy Journal*, 19, 380-385.



Eliker-trimethoprim medium: A new selective tool for the isolation and growth of *Lactococcus* species

Senouci Djamel Eddine, Benatia Saliha, Bensaid Nacera, Guessas Battache, Heddadji Miloud and Kihal Mehrouk

Applied Microbiology Laboratory, Department of Biology, Faculty of Natural Science and Life, University Oran1 Ahmed Benbella, Oran, Es-Sénia, 31100, Algeria

Address For Correspondence:

Kihal Mehrouk, Applied Microbiology Laboratory, Department of Biology, Faculty of Natural Science and Life, University Oran1 Ahmed Benbella, Oran, Es-Sénia, 31100, Algeria

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

Received 28 December 2015; Accepted 28 January 2016; Available online 24 February 2016

ABSTRACT

Lactic acid bacteria are phenotypically a very heterogeneous group. This group is characterized by the type of common criteria Gram positive, absence of catalase producing mainly lactic acid. The genus *Lactococcus* recently created includes non-hemolytic streptococci and homofermentative. The evaluation of exogenous *Lactococci* of dairy samples is frequently required for the evaluation of the milk colonization by *Lactococci*. In this study, different culture media, Eliker and M17 trimethoprim and M17 and Eliker rifampicin, have been tested for *Lactococcus* strains isolated from raw goat's milk in Oran area. A selective medium designated Eliker-trimethoprim medium (ETM) was developed for the growth of exogenous *Lactococcus* species. In quantitative assays, ETM showed a higher sensitivity than M17-Trimethoprim medium (M17-TM). The ETM medium allowed the selective growth of the following *Lactococcus* species: *Lactococcus lactis* (subsp. *Lactis*; subsp. *cremoris*; subsp. *lactis* biovar. *Diactylactis*), *Lactococcus plantarum* and *Lactococcus raffinolactis*. Whereas, the species *Lactococcus piscium* was revealed only when rifampicin was used as selective agent. No *Enterococcus* species were observed with 0.3µg/ml of Trimethoprim or rifampicin. After several tests and comparative study, the ETM medium was chosen to follow the specific isolation and growth of *Lactococcus* species. Morphological, physiological and biochemical identification tests confirmed that the 40 isolates belong to the genus *Lactococcus*. 17 isolate (42.5%) belonging to the subspecies *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* were revealed on ETM. This culture medium is a new microbiological tool that can solve a problem of isolation of *Lactococcus* species which are much researched for food industry.

KEYWORDS: selection, Eliker medium, M17 medium, *Lactococcus*, growth, raw milk, identification, Trimethoprim, Rifampicin

INTRODUCTION

The complexity of the milk microbiota, that includes members from the genus *Lactococcus*, makes research on Lactic acid bacteria difficult [1]. Terzaghi and Sandine (1975) described a selective medium M17 and Eliker medium [2, 3] designed especially for the enumeration and isolation of Streptococci, although it was recognized that it was not adequate for some dairy organisms. Starting from this, it was hoped to develop a new medium in which the *Lactococci* of dairy origin would also grow well. The microflora of raw milk is very diverse and their technological characters were useful in the food industry [4-6]. The lactic fermentation is often carried out by the following species: *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Weissella* and *Propionibacterium* [7-9].

There are many selective media that support growth of *Lactococcus* and some other non-*Lactococcus* species, including M17 agar that is the most commonly used. However, these media are not useful to distinguish between *Lactococcus* and *Enterococcus* in milk samples. Advances in molecular genetics of bacteria have allowed more reliable methods for discrimination between *Lactococcus* species, but these methods require special

instrumentation and appropriate oligonucleotide probes and do not discriminate between live and dead bacteria. We hypothesized that, starting from the original formulation of Elliker and M17 medium, it is possible to design modified media by adding selected antibiotics, on which specific, exogenous *Lactococci* can be selectively cultured and recognized on the basis of antibiotic resistance [5, 6, 10];

Cultures media for the selective isolation of technological bacteria are not very available in the literature, especially for *Lactococcus* [3, 8]). The development of a new culture medium supported the development of *Lactococcus* species necessarily requires a better understanding of growth conditions, cell physiology and metabolism of these microorganisms. *Lactococcus* and *Enterococcus* are cocci Gram-positive that often occur in pairs (diplococci) or short chains and are difficult to differentiate from streptococci on physical characteristics alone. The research of a specific medium requires, among other a good understanding of this bacterial genus and the other genera showing the same characteristics and a perception of their antibiotic susceptibility. Inhibition of the genera having the same morphotype is achieved by the addition of two antibiotics trimethoprim and rifampicin.

Trimethoprim is antibiotic agent with large spectrum commonly used in chemotherapy for the treatment of enteric, respiratory and urinary tract infections [11]. Enterococci are generally sensitive in vitro to trimethoprim [12]. Therefore, the composition of starters and the equilibrium between species and strains in mixed cultures must be controlled using differentiation and selective enumeration methods.

Swenson *et al.* [13] found the sensitivity of lactobacilli to rifampicin and trimethoprim. *Pediococcus*, *Streptococcus* and *Leuconostoc* showed also the sensitivity to rifampicin. Whereas, *Enterococcus* species are generally sensitive to trimethoprim. The mean minimal inhibitory concentration (MIC) of trimethoprim for *Enterococcus faecalis* was 0.164 µg/ml (range, 0.03 to 8 µg/ml), with a geometric mean minimal bactericidal concentration (MBC) of 0.298 µg/ml (range, 0.063 to 8 µg/ml)[14, 15]. Trimethoprim inhibits the enzyme dihydrofolate reductase (DHFR) which catalyses the reaction of dihydrofolate to tetrahydrofolate in prokaryotic and eukaryotic cells [16].

Based on these results by all these authors were selected trimethoprim and rifampicin as selective agents that could add to M17 and Elliker medium, to find a suitable medium that allows the growth and development of *Lactococcus* species. In this paper, we describe a selective medium for accurate detection and enumeration *Lactococcus* from milk samples.

MATERIALS AND METHODS

Samples collection:

Samples of goat's milk were collected from individual farm in the Oran region from healthy goats under adequate hygiene conditions. Samples were collected aseptically in sterile bottles (500 ml), leveled kept in an isothermal container at 4°C and transported directly to the laboratory of Applied Microbiology. The analysis takes place two hours after collection. Raw milk goat was chosen as a local product which is the subject for the isolation of lactic acid bacteria of the genus *Lactococcus*.

Choice of selectif agent:

According to previous reports on the comportment of LAB towards antibiotics, *Lactococcus* strains are resistant to Trimethoprim [12] and rifampicin. We investigated the behavior of *Lactococcus* strains toward these antibiotics.

Trimethoprim (Made and packaged by Farma Hikma Algeria, Amman 11118-BPN182400 Jordanie) is put into 40 ml of sterilized distilled water for an initial concentration of 0.5 mg/ml [17], the solution is sterilized by filtration (0.22 µm) aseptically and stored at 4°C. 0.1ml of the stock solution removed is introduced into each bottle containing 100 ml of M17 and Elliker agar media. The solution Rifampicin (manufacturer Tubilux Pharma SPA -Via Costa Rica Pomezia-Roma-Italia, the laboratory operator Thea) contains a concentration of 3mg/ml. The following initial concentrations: 0.1ml, 0.2ml, 0.3ml are added to 100 ml agar culture medium (M17 and Elliker).

Media and culture conditions:

The Elliker and M17 agar were selected to allow the fast growth of *Lactococcus*. Growths in these media with and without trimethoprim or rifampicin (0.3 µg / ml) were compared on the samples of raw milk.

All *Lactococcus* strains grow on both culture media without trimethoprim or rifampicin. All concentrations of trimethoprim tested allow the growth of *Lactococcus*. The culture medium of M17 and Elliker with 0.3µg/ml trimethoprim and 0.3µg/ml rifampicin were used to select and enumerate *Lactococcus* species (Table 1). A final concentration of 0.3 µg/ml was chosen for further experiments and new media were named M17-TM and ETM.

Table 1: Media and conditions for isolation of *Lactococcus* species from milk samples.

Microorganisms	Media	T (°C)	Duration Incubation (h)
----------------	-------	--------	-------------------------

<i>Lactococci</i> , <i>Pediococci</i> , <i>Enterococcus</i> , <i>Streptococcus</i> ,	Elliker	30	48 Aerobiosis
<i>Pediococci</i> , <i>Enterococcus</i> , <i>Streptococcus</i> , <i>Lactococci</i>	M17	30	48 Aerobiosis
<i>Lactococci</i>	Elliker with 0.3 µg/ml Trimethoprim	30	48 Aerobiosis
<i>Lactococci</i>	M17 with 0.3 µg/ml Trimethoprim	30	48 Aerobiosis
<i>Lactococci</i>	Elliker with 0.3 µg/ml Rifampicin	30	48 Aerobiosis
<i>Lactococci</i>	M17 with 0.3 µg/ml Rifampicin	30	48 Aerobiosis

Preparation of dilutions:

10g of milk were homogenized with 90 ml of 0.1% (w/v) sterile peptone water to obtain a 1:10 dilution. Successive decimal dilutions were carried out with sterile 0.1% (w/v) peptone water (Oxoid). From each dilution 0.1 ml volumes were surface plated in duplicate on M17 and Elliker agar [3, 18]. A witness is represented by both M17 and Elliker culture medium without antibiotics. The dishes were incubated at 30 °C for 48 h.

Purification and identification of isolates:

After incubation, colonies with different morphological aspects (4 to 6 colonies) were purified by streaking on Elliker or M17 agar, then incubating the Petri dish at 30 °C for 48 hours. Obtaining pure colonies will perform Gram stain and catalase search. Isolates Gram⁽⁺⁾ and catalase⁽⁺⁾ non spores forming are retained. Colonies of pure isolates were inoculated on liquid culture medium: The M17 and Elliker medium were used for the growth of cocci. After 48 h of incubation at 30 °C the aspect of culture was noted.

The identification of pure colonies obtained on media containing antibiotics was established by the application of conventional microbiological, morphological, physiological and biochemical characters; Gram staining, catalase reaction, fermentation type [7, 19]. The test of Sherman milk and thermoresistance of the isolates were used [1, 20]. Tolerance to alkaline pH (9.6) [21] growth in 6.5% NaCl, at different temperatures. The metabolism esculin, arginine and citrate used and production of acétoïne were also performed [20, 22-24]. Also the identification profile adopted also took into account API 50 CH galleries (BioMerieux, Marcy-l'Etoile, France).

Stored strains:

The strains of *Lactococci* were stored without appreciable loss of properties in skimmed milk. The short term conservation of the pure isolates was done on solid media. After growth at optimal temperature, the culture was maintained at 4°C and cultures were renewed every month. The long-term conservation of isolates was carried out in a medium containing 70% of skimmed milk (enriched by 0.05% of yeast extract and 0.05% of glucose) and 30% of glycerol[24-26].

RESULTS AND DISCUSSION

Enterococcus and *Lactococcus* displayed similar morphological characteristics, namely short cocci chains (mainly double cocci cells). Moreover, both genera, are Gram⁽⁺⁾ and catalase⁽⁺⁾ cocci and facultative anaerobes, optimal growth was recorded at 37°C [7, 20]. While those which grew at 45°C, 10°C, pH 9.5, NaCl 6.5% and Sherman test (at 0.1% and 0.3%), and exhibit a claire or green zone around the colony were considered as *Enterococcus* and their high resistance to 63.5°C for 30min.

The table (1) present the number of total lactic acid flora enumerated in raw goat milk after incubation at 30 °C for 48 hours, the number of colony is 184 10⁷ cfu/ml in M17 and 200 10⁷ cfu/ml in Elliker. The study of [27] reveals that the lactic acid dominant microflora reached a number of 180 10⁸ cfu/ ml.

A high access rate of the total lactic flora which has been diminished by M17 + trimethoprim and Elliker + trimethoprim (0.5 mg/ml) the colonies number is 45 10⁵ cfu/ml and 38 10⁶ cfu/ml respectively. The Elliker medium allow a total flora reduction to 98% followed by the M17 medium with 97%, this reduction is expressed firstly by the inhibitory effect exerted by the trimethoprim that was more effective than rifampicin on the M17 and Elliker. This inhibitory effect was tested on the sensitivity of total lactic microflora of raw goat's milk.

These results show that MIC (minimum inhibitory concentration) in the media could be more than 0.5 µg/ml and less than 1.5 µg/ml trimethoprim.

Table 02: Effect of different antibiotic concentration trimethoprim on the viable count of *Lactococcus* species.

Medium	Antibiotic (µg/ml)	Viable count of lactic acid bacteria (UFC/ml)	Survival rate (%)
--------	--------------------	---	-------------------

M17	0	$184 \pm 12 \cdot 10^7$	100
ELLIKER	0	$200 \pm 08 \cdot 10^7$	100
M17	0.1	$120 \pm 06 \cdot 10^8$	6.52
ELLIKER	0.1	$98.1 \pm 08 \cdot 10^8$	4.9
M17	0.2	$112 \pm 09 \cdot 10^8$	6
ELLIKER	0.2	$93 \pm 06 \cdot 10^8$	4.6
M17	0.3	$72 \pm 03 \cdot 10^8$	3.9
ELLIKER	0.3	$64 \pm 03 \cdot 10^8$	3.2
Trimethoprim + Rifampicin M17	0.5 + 0.3	00	00
Trimethoprim + Rifampicin ELLIKER	0.5 + 0.3	00	00

The enumeration of mesophilic Streptococcaceae on selective media without antibiotic revealed the presence of $184 \cdot 10^7$ and $200 \cdot 10^7$ cfu/ml on M17 and Elliker media respectively. However, the combined use of the two antibiotics trimethoprim and rifampicin (0.5 and 0.3 µg/ml) inhibit completely the microflora. The results in table (2) showed that the numbers of revealed colonies were reduced proportionally with the increase of concentration of the antibiotic used.

The result shows that the concentration of 0.3 µg/ml of trimethoprim and rifampicin allow only the growth of 3.2 % of microflora. This result shows the inhibitory effect of the two antibiotics on development of Streptococcaceae.

[14] showed that the MBC of trimethoprim is 0.3 µg/ml; while [28] obtained a CMB of 0.12 µg/ml for rifampicin for *Enterococcus* species. The significant decrease of this microflora is due to complete inhibition enterococci by both antibiotics. Trimethoprim and rifampicin have a similar effect on the growth of the genus *Enterococcus*. According to previous reports on the behavior of Lactic acid bacteria to antibiotics, *Lactococcus* strains resist to trimethoprim and rifampicin [29]. The work of [30], indicate that the *Lactococcus* sp. can resist to a 32µg/ml of rifampicin.

Recently Rezapour *et al.* [31] showed that *Lactococcus lactis* was sensitive to trimethoprim (15µg/ml), amoxicillin (10µg/ml), tetracycline (30 µg/ml), and erythromycin (15µg/ml), while was intermediate for kanamycin (30 µg/ml) and resistance to vancomycin (30µg/ml) and clindamycin (2 µg/ml). The antibiotics concentrations used by these authors were very high and cannot be compared with our results.

The study released by Khemariya *et al.* (2013)[32] indicates that All the isolates of *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* were resistant to 13 antibiotics but susceptible to ampicillin, erythromycin, spiramycin, spectinomycin, ciprofloxacin, rifampicin, and trimethoprim. The antibiotic concentration used by these authors is very high and exceed 15µg/ml.

Identification of bacterial isolates:

Among all of the raw milk samples, two types of colonies were easily differentiated according to their morphology. Colonies observed on M17 and Elliker plates were small (diameter 1 mm), compact, translucent to whitish that are circular, smooth, and entire within 24-48h of incubation. Microscopic observation of stained colonies showed that the bacteria were Gram-positive, spherical, and that cells were occurring usually in pairs and chains. All strains were nonmotile, no sporeforming, facultative anaerobes. All isolates are catalase negatives, cytochromes oxydase negative and homofermentaires. Some isolates were able to grow at 45°C, and at 15°C. They were resistant to NaCl (2% and 4%), but sensitive to the other salt concentrations (6.5% NaCl). Several isolates can growth in the presence of methylene blue (0.1%). These results indicated that the isolates belonged to the *Lactococcus* species, according to the criteria given by [7] and [1].

The general properties of 40 isolates identified in the species are shown in Table (3). The characters of the selected isolates are very close species *Lactococcus*.

The ADH test and the production of acetoin made it possible subdivide this genus in species and subspecies.

1. ADH⁽⁺⁾ and acetoin⁽⁺⁾: this 2 isolates of *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar. *diacetylactis* produced acetoin, all possessed arginine dihydrolase and all hydrolyze esculin and growth on citrate.

2. ADH⁽⁺⁾ and acetoin⁽⁻⁾: 25 isolates of *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* grow at 4% NaCl, and 1 isolat of *Lactococcus lactis* subsp. *hordnae* did not grow at 4% NaCl. This later species has a reduced sugar fermentation profile that is close to *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*.

3. ADH⁽⁻⁾ and acetoin⁽⁺⁾: 10 isolates of *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* which can used a few number of carbohydrates. *Lactococcus plantarum*, and *Lactococcus raffinolactis*, these species differ only in melezitose and sorbitol fermentations.

One isolate obtained on Elliker rifampicin, was identified as *Lactococcus piscium* which can use maltose, melibiose and melizitose and not able to ferment raffinose and ribose. This isolate can support growth on 0.1% of methylene blue.

The results of identification of isolates obtained by phenotypic tests were compared with those in standard tests [7, 8] and the isolates assigned to appropriate species. The strains of *Lactococcus piscium*, *Lactococcus*

Ribose	+	-	-	-	+	-	-	-	+	+	-	+	+	-	-	-
Maltose	+	-	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	+
Galactose	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+
Xylose	+	-	-	-	+	-	-	+	+	+	-	+	+	-	-	+
Cellobiose	+	-	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	+
Raffinose	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+
Salicine	+	-	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	+
Trehalose	+	-	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	+
Glucosamine	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i>	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>cremoris</i>	<i>Lactococcus plantarum</i>	<i>Lactococcus raffinolactis</i>	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> biovar <i>diacetylactis</i>	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>cremoris</i>	<i>Lactococcus plantarum</i>	<i>Lactococcus raffinolactis</i>	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i>	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> biovar <i>diacetylactis</i>	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> biovar <i>diacetylactis</i>	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> biovar <i>diacetylactis</i>	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> biovar <i>diacetylactis</i>	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> biovar <i>diacetylactis</i>	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> biovar <i>diacetylactis</i>	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> biovar <i>diacetylactis</i>

The results in table (4) show that rifampicin and trimethoprim have allowed the growth of two species: *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* and *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* with higher density which indicate the ability of the use of trimethoprim or rifampicin, for selected growth these two species. However *Lactococcus plantarum* and *Lactococcus raffinolactis* were only observed in medium supplemented with trimethoprim. However rifampicin does not allow growth of these later strains. *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar *diacetylactis*, *Lactococcus hordinae* and *Lactococcus piscium* were observed only on the medium supplemented with rifampicin (0.3µg/ml).

Table 4: Species of *Lactococcus* detected on M17 and Elliker media containing trimethoprim and rifampicin.

Species isolated on Trimethoprim (0.3 µg/ml)	Species isolated on Rifampicin (0.3 µg/ml)
<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>cremoris</i>	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> biovar <i>diacetylactis</i>
<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i>	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>hordinae</i>
<i>Lactococcus raffinolactis</i>	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>cremoris</i>
<i>Lactococcus plantarum</i>	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i>
	<i>Lactococcus piscium</i>

Conclusion:

The results obtained for morphological, physiological and biochemical tests were compared with those in standard tests for identification [1, 12, 34] and the isolates assigned to appropriate genera. In This study the antibiotic trimethoprim (0.3µg/ml) and rifampicin (0.3µg/ml), play a crucial role in the selection of *Lactococcus* genus. The selective effect of trimethoprim on Elliker medium permitted the isolation a high number of subspecies *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*.

REFERENCES

- [1] Badis, A., D. Guetami., B.M. Boudjema., D. Henni, M. Kihal, 2004. Identification and technological properties of lactic acid bacteria isolated from raw goat milk of four Algerian races. Food Microbiology, 21: 579-588.
- [2] Elliker, P., A. Anderson, G. Hannesson, 1956. An agar culture medium for lactic acid streptococci and lactobacilli. Journal of Dairy Science, 39: 1611-1612.
- [3] Terzaghi, B.E., W. Sandine, 1975. Improved medium for lactic streptococci and their bacteriophages. Applied microbiology, 29: 807-813.
- [4] Huggins, A.R., W.E. Sandine, 1984. Differentiation of fast and slow milk-coagulating isolates in strains of lactic streptococci. Journal of Dairy Science, 67: 1674-1679.
- [5] Casalta, E., R. Zennaro, M.-X. Maroselli, R. Legouar, 1997. Effect of specific starters on microbiological, biochemical and sensory characteristics of Venaco, a Corsican soft cheese. Sciences des aliments, 17: 79-94.

- [6] Patrignani, F., R. Lanciotti, J.M. Mathara, M.E. Guerzoni, W.H. Holzapfel, 2006. Potential of functional strains, isolated from traditional Maasai milk, as starters for the production of fermented milks. *International journal of food microbiology*, 107: 1-11.
- [7] Carr, F.J., D. Chill, N. Maida, 2002. The lactic acid bacteria: a literature survey. *Critical reviews in microbiology*, 28: 281-370.
- [8] Axelsson, L., 2004. Lactic acid bacteria: Classification and physiology. *Lactic acid bacteria: Microbiology and functional aspects*, pp: 1-66.
- [9] Quigley, L., O. O'Sullivan, C. Stanton, T.P. Beresford, R.P. Ross, G.F. Fitzgerald, P.D. Cotter, 2013. The complex microbiota of raw milk. *FEMS microbiology reviews*, 37: 664-698.
- [10] Chammas, G.I., R. Saliba, G. Corrieu, C. Béal, 2006. Characterisation of lactic acid bacteria isolated from fermented milk "laban". *International Journal of Food Microbiology*, 110: 52-61.
- [11] Huovinen, P., L. Sundström, G. Swedberg, O. Sköld, 1995. Trimethoprim and sulfonamide resistance. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 39: 279.
- [12] Gemelas, L., V. Rigobello, Y. Demarigny, 2013. Selective *Lactococcus* Enumeration in Raw Milk. *Food and Nutrition Sciences*, 4: 49.
- [13] Swenson, J., R. Facklam, C. Thornsberry, 1990. Antimicrobial susceptibility of vancomycin-resistant *Leuconostoc*, *Pediococcus*, and *Lactobacillus* species. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 34: 543-549.
- [14] Crider, S.R., S.D. Colby, 1985. Susceptibility of enterococci to trimethoprim and trimethoprim-sulfamethoxazole. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 27: 71-75.
- [15] Muñoz-Atienza, E., B. Gómez-Sala, C. Araújo, C. Campanero, R. Del Campo, P.E. Hernández, C. Herranz, L.M. Cintas, 2013. Antimicrobial activity, antibiotic susceptibility and virulence factors of Lactic Acid Bacteria of aquatic origin intended for use as probiotics in aquaculture. *BMC microbiology*, pp: 13:15.
- [16] Hitchins, A.D., R.A. Slepecky, 1969. Antibiotic inhibition of the septation stage in sporulation of *Bacillus megaterium*. *Journal of bacteriology*, 97: 1513.
- [17] AL-ZOREKY N., W. Sandine, 1991. *Lactococcus* genus: a selective and differential agar medium. *Journal of food science*, 56: 1729-1730.
- [18] Djadouni, F., M. Heddadji, B. Karima, 2015. Isolation and identification of lactic acid bacteria from algerian goat's milk and their major technological traits. *International Journal of ChemTech Research*, 8: 6-14.
- [19] Kihal, M., H. Prévost, M.E. Lhotte, D.Q. Huang, C. Diviès, 1996. Instability of plasmid-encoded citrate permease in *Leuconostoc*. *Letters in Applied Microbiology*, 22: 219-223.
- [20] Stiles, M.E., W.H. Holzapfel, 1997. Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy. *International journal of food microbiology*, 36: 1-29.
- [21] Devriese, L., B. Pot, M. Collins, 1993. Phenotypic identification of the genus *Enterococcus* and differentiation of phylogenetically distinct enterococcal species and species groups. *Journal of Applied Bacteriology*, 75: 399-408.
- [22] Thomas, T., 1973. Agar medium for differentiation of *Streptococcus cremoris* from the other bacteria. *NZJ Dairy Sci Technol*, 8: 70-71.
- [23] Kempler, G., L. McKay, 1979. Characterization of plasmid deoxyribonucleic acid in *Streptococcus lactis* subsp. *diacetylactis*: evidence for plasmid-linked citrate utilization. *Applied and environmental microbiology*, 37: 316-323.
- [24] Samelis, J., F. Maurogenakis, J. Metaxopoulos, 1994. Characterisation of lactic acid bacteria isolated from naturally fermented Greek dry salami. *International Journal of Food Microbiology*, 23: 179-196.
- [25] Herrero, M., B. Mayo, B. Gonzalez, J. Suarez, 1996. Evaluation of technologically important traits in lactic acid bacteria isolated from spontaneous fermentations. *Journal of Applied Bacteriology*, 81: 565-570.
- [26] Moulay, M., K. Benlahcen, H. Aggad, M. Kihal, 2013. Diversity and technological properties of predominant lactic acid bacteria isolated from Algerian raw goat's milk. *Advances in Environmental Biology*, 7: 999-1007.
- [27] Louembé, D., A. Brauman, F. Tchicaya, S. Kobawila, 1996. Etude microbiologique et biochimique de la bouillie de maïs, poto-poto. *MAN Microbiologie, aliments, nutrition*, 14: 245-253.
- [28] Perez, J., L. Riera, F. Valls, C. Berrocal, L. Berrocal, 1987. A comparison of the in-vitro activity of seventeen antibiotics against *Streptococcus faecalis*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 20: 357-362.
- [29] Ammor, M.S., A. Belén Flórez, B. Mayo, 2007. Antibiotic resistance in non-enterococcal lactic acid bacteria and bifidobacteria. *Food Microbiology*, 24: 559-570.
- [30] Flórez, A.B., M.S. Ammor, B. Mayo, A.H.A.M. van Hoek, H.J.M. Aarts, G. Huys, 2008. Antimicrobial susceptibility profiles of 32 type strains of *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Lactococcus* and *Streptococcus* spp. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 31: 484-486.

- [31] Rezapour, S., E. Ghahremani, M. Mardani, 2015. Analysis of Antibiotic Resistance and Antimicrobial Effects of *Enterococcus faecium* and *Lactococcus lactis* Isolated from Khorramabad Traditional Cheeses. *Journal of Applied Biotechnology Reports*, 2: 211-214.
- [32] Khemariya, P., S. Singh, G. Nath, A.K. Gulati, 2013. Isolation, Identification, and Antibiotic Susceptibility of *Lactococcus lactis* from Dairy and Non-dairy Sources. *Czech J Food Sci.*, 31: 323-331.
- [33] Meucci, A., M. Zago, L. Rossetti, M.E. Fornasari, B. Bonvini, F. Tidona, M. Povoletto, G. Contarini, D. Carminati, G. Giraffa, 2015. *Lactococcus hircilactis* sp. nov., *Lactococcus laudensis* sp. nov., isolated from milk. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*:ijs. 0.000225.
- [34] Kim, D.H., J.W. Chon, H. Kim, H.S. Kim, D. Choi, D.G. Hwang, K.H. Seo, 2015. Detection and Enumeration of Lactic Acid Bacteria, Acetic Acid Bacteria and Yeast in Kefir Grain and Milk Using Quantitative Real-Time PCR. *Journal of Food Safety*, 35: 102-107.

ANNEXE

Annexes

Annexe 1 : Détermination de l'acidité Dornic (acidité titrable)

Protocole

Norme Française 04-206 (Janvier 1969).

Elle n'est pas applicable au lait additionné d'un conservateur, ce dernier pouvant fausser les résultats.

Matériels et produits :

- 10 ml du lait entier.
- Un bécher de 100 ml.
- Phénolphthaléine à 1% dans l'alcool à 95%
- La soude Dornic (N/9) (0.11 N)
- Burette de 50 ml (graduée en 0,05 ml)
- Pipette jaugée à 10 ml

Mode opératoire :

Un échantillon précis de 10 ml de lait est placé dans un bécher de 100 ml en présence de 0,1 ml de phénolphthaléine à 1% dans l'alcool à 95%. La soude Dornic (N/9) est ajoutée à la burette jusqu'au virage au rose. La coloration rose doit persister au moins 10 secondes. Dans ces conditions, l'acidité exprimée en degrés Dornic est équivalente au nombre de dixièmes de ml de soude Dornic versée pour avoir le virage de l'indicateur. C'est-à-dire par exemple $1,8 \text{ ml} \times 10 = 18 \text{ }^{\circ}\text{D}$.

Annexe 2 : Détermination de la teneur en matière sèche totale et en matière sèche dégraissée (NF V 04-207 de septembre 1970)

1- Principe : Dessiccation, par évaporation, d'une certaine quantité de lait et pesée du résidu.

2- Appareillage : Matériel courant de laboratoire, et notamment : - Capsule en platine ou en autre matière inaltérable dans les conditions de l'essai, de (forme cylindrique, à fond bien plat, de 55 à 60 mm de diamètre et de 20-25 mm de hauteur de préférence avec couvercle. - Bain-marie à niveau constant, fermé par un couvercle métallique dans lequel sont aménagées des ouvertures circulaires, d'un diamètre inférieur de 5 mm à celui des capsules employées ; celles-ci sont posées d'une manière à obturer entièrement les ouvertures. La distance entre les couvercles et le niveau de l'eau doit être de 5 à 6 cm. - Etuve à $103\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$.

- Appareil de refroidissement en atmosphère ne permettant pas de reprise d'humidité, par exemple dessiccateur, contenant un agent déshydratant efficace.

- Balance analytique.

Eventuellement : Pipettes à lait de 5 ml.

3- Mode opératoire Prise d'essai

Dans la capsule séchée et tarée à 0,1mg près, introduire à la pipette 5 ml de lait ou peser à 1g près environ 5g de lait. Dans ce dernier cas, utiliser, de préférence, une capsule avec couvercle.

Détermination

Placer la capsule, découverte, pendant 30 minutes sur le bain-marie bouillant puis l'introduire dans l'étuve réglée à $103\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ et l'y laisser 3 heures. Mettre ensuite la capsule dans l'appareil de refroidissement et laisser refroidir jusqu'à la température ambiante. Peser à 0,1 mg près. Effectuer au moins deux déterminations sur le même échantillon préparé.

Mode de calcul et formule

La matière sèche, exprimée en grammes, par litre de lait, est égale à :

$$(M_1 - M_0) \cdot 1000/V.$$

La matière sèche du lait, exprimée en pour cent en masse est égale à

$$(M_1 - M_0) \cdot 100/(M_2 - M_0)$$

Où

M₀ est la masse, en grammes, de la capsule vide,

M₁ est la masse, en grammes de la capsule et du résidu après dessiccation et refroidissement.

M₂ est la masse, en grammes, de la capsule et de la prise d'essai,

V est le volume, en millilitres, de la prise d'essai.

Prendre comme résultat la moyenne arithmétique des résultats obtenus lors des déterminations si les conditions de répétabilité sont remplies. Dans le cas contraire, effectuer à nouveau les déterminations.

Annexe 3 : Détermination de la teneur en cendres (NF V 04-208 d'octobre 1989)

1- Principe

Incinération de la matière sèche à $525\text{ °C} \pm 25\text{ °C}$ dans un lent courant d'air et pesée du résidu obtenu.

2- Appareillage

Matériel courant de laboratoire et notamment :

- Balance analytique
- Capsule en silice ou en platine d'environ 50 à 70 mm de diamètre et de 20 à 25 mm de profondeur.
- Four électrique, à circulation d'air, réglable à $525\text{ °C} \pm 25\text{ °C}$.
- Dessiccateur, garni d'un agent déshydratant efficace.
- Bain d'eau bouillante, muni d'ouvertures de dimensions réglables.

2- Mode opératoire Préparation de la capsule

Chauffer la capsule dans le four électrique réglé à $525\text{ °C} \pm 25\text{ °C}$ durant 30 min.

Placer la capsule dans le dessiccateur et l'y laisser refroidir à la température de la salle des balances. Peser à 0.1 mg près.

Prise d'essai

Peser à 0,1 mg près directement ou par différence, dans la capsule ainsi préparée, environ 5 g de l'échantillon pour essai. Amener à dessiccation complète au bain d'eau bouillante.

3- Détermination

Placer la capsule dans le four électrique réglé à $525\text{ °C} \pm 25\text{ °C}$, et chauffer durant 2 à 3 heures jusqu'à disparition complète des particules charbonneuses dans la capsule. Placer la capsule dans le dessiccateur et l'y laisser refroidir à la température de la salle des balances. Peser à 0,1 mg près.

Répéter les opérations de chauffage au four électrique, de refroidissement et peser jusqu'à ce que la masse reste constante à 1 mg près ou commence à augmenter. Noter la masse minimale.

Effectuer au moins deux déterminations sur le même échantillon préparé.

5- Expression des résultats

Mode de calcul et formule

Les cendres de l'échantillon, exprimées en pourcentage en masse, sont égales à :

$$\frac{M2-M0}{M1-M0} \times 100$$

Où **M0** est la masse, en grammes, de la capsule vide préparée. **M1** est la masse, en grammes, de la capsule et de la prise d'essai. **M2** est la masse, en grammes, de la capsule et des cendres obtenues. Prendre comme résultat la moyenne arithmétique des résultats obtenus lors des déterminations si les conditions de répétabilité sont remplies. Dans le cas contraire, effectuer à nouveau les déterminations.

Annexe 4 : Dosage de la matière grasse (méthode de GERBER, acido-butyrométrique) (norme AFNOR : NF V04-210 de décembre 1990)

1- Principe

Après dissolution des protéines par addition d'acide sulfurique, séparation de la matière grasse du lait par centrifugation, dans un butyromètre, la séparation étant favorisée par l'addition d'une petite quantité d'alcool amylique.

Obtention de la teneur en matière grasse (en gramme pour 100 ml de lait par lecture directe sur l'échelle du butyromètre, ou par lecture instrumentale à l'aide d'un système automatisé.

2- Réactifs

- Acide sulfurique concentré, $\rho_{20} = 1,820 \text{ g/ml} \pm 0.005 \text{ g/ml}$, incolore ou à peine ambré ne contenant aucune impureté pouvant agir sur le résultat.
- Alcool amylique $\rho_{20} = 0,813 \text{ g/ml} \pm 0,005 \text{ g/ml}$, intervalle de distillation $130 \text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2 \text{ }^{\circ}\text{C}$.

3- Appareillage - Butyromètre à lait

Conforme à la norme NF 8 35-521 (2), muni d'un bouchon approprié. Utiliser le type de butyromètre dont l'échelle correspond le mieux à la teneur en matière grasse supposée de l'échantillon.

- Systèmes de pipetage.

a) Pipette à lait de 11 ml. Conforme à la norme NF 8 35-523. Avec la pipette de 11 ml NF B 35-523, l'échelle du butyromètre donnera directement le résultat en grammes de matière grasse pour 100 ml de lait.

b) Autres systèmes de distribution (seringues, diluteurs, etc.)

c) Pipette ou système automatique, permettant de délivrer $10.0 \text{ ml} \pm 0,2 \text{ ml}$ d'acide sulfurique.

d) Pipette ou système automatique, permettant de délivrer $1,00 \text{ ml} \pm 0.05 \text{ ml}$ d'alcool amylique

- Centrifugeuse dans laquelle les butyromètres peuvent être placés.

- Bain d'eau.

- Thermomètre approprié.

4- Mode opératoire Préparation de butyromètre et prise d'essai

Annexes

A l'aide d'une pipette ou d'un système automatique, en opérant de façon que l'acide ne mouille pas le col du butyromètre ou n'entraîne pas d'air, mesurer 10 ml d'acide Sulfurique et les introduire dans le butyromètre.

Retourner doucement trois ou quatre fois le récipient contenant l'échantillon préparé, prélever immédiatement à l'aide d'un système de pipetage le volume fixé de lait et le verser dans le butyromètre sans mouiller le col de celui-ci, de façon qu'il forme une couche au-dessus de l'acide.

A l'aide d'une pipette ou d'un système automatique mesurer 1 ml d'alcool amylique et l'introduire dans le butyromètre, sans mouiller le col du butyromètre ni mélanger les liquides. Bien boucher le butyromètre sans perturber son contenu.

Dissolution des protéines

Agiter et retourner le butyromètre, convenablement protégé contre le risque de casse ou de perte du bouchon, jusqu'à ce que son contenu soit complètement mélangé, et jusqu'à ce que les protéines soient entièrement dissoutes, c'est-à-dire jusqu'à ce qu'il n'y ait plus de particules blanches.

Centrifugation

Centrifuger durant 5 min dès que la vitesse requise est atteinte.

Lecture Cas de la lecture visuelle

Retirer le butyromètre de la centrifugeuse en ajustant le bouchon, si nécessaire, pour amener la colonne de matière grasse dans la zone de l'échelle. Placer le butyromètre, le bouchon dirigé vers le bas, dans un bain d'eau à $65\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$, pendant environ 5 min, le niveau d'eau doit être au-dessus du sommet de la colonne de matière grasse.

Enlever le butyromètre du bain d'eau, le bouchon étant toujours dirigé vers le bas, et ajuster soigneusement le bouchon en le tirant pour amener l'extrémité inférieure de la colonne grasse avec le minimum de mouvement de cette colonne devant le repère le plus proche, de préférence un trait-repère principal.

Noter le trait-repère A correspondant à l'extrémité inférieure de la colonne de matière grasse, puis, en ayant soin de ne pas bouger celle-ci, aussi rapidement que possible en moins de 10s), noter le trait-repère du haut de la colonne de matière grasse coïncidant avec le point le plus bas du ménisque B.

Annexes

Il ne doit pas s'écouler plus de 10s entre la sortie du butyromètre et la fin de la lecture.

Note : il est recommandé de choisir comme repère A la graduation 0 du butyromètre.

Effectuer la lecture à 0.025 g pour 100 ml près.

Lorsque l'on fait, les lectures, le butyromètre doit être : maintenu verticalement, l'œil doit être au niveau du point de lecture.

Si la matière grasse est trouble ou de couleur foncée, ou s'il y a un dépôt noir ou blanc au bas de la colonne de matière grasse, la valeur obtenue pour la matière grasse ne sera pas exacte.

Si une vérification du résultat obtenu est nécessaire, replacer le butyromètre dans le bain d'eau pendant, puis le retirer et faire les lectures comme indiqué précédemment.

Cas de la lecture instrumentale

Retirer le butyromètre de la centrifugeuse et ajuster le bouchon, si nécessaire, pour amener la colonne de matière grasse dans la zone de l'échelle.

Placer le butyromètre, le bouchon vers le bas, dans un bain d'eau à $65\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$ pendant environ 5 min ; le niveau d'eau doit être au-dessus du sommet de la colonne de matière grasse.

Sortir le butyromètre du bain d'eau, saisir l'ampoule terminale et essuyer rapidement la tige de mesure, contrôler que la matière grasse se situe entièrement dans la colonne de mesure ; il doit rester une zone de la phase acide au-dessus de la plage cimentée inférieure, d'au moins 2 mm.

Placer le butyromètre dans l'appareil de lecture et déclencher la mesure. Il ne doit pas s'écouler plus de 10 s entre la sortie du butyromètre et la fin de la lecture.

5- Expression des résultats Mode de calcul

La teneur en matière grasse est exprimée en grammes pour 100 ml de lait.

Cas de la lecture visuelle

La teneur en matière grasse du lait est :

$$\text{MG} = \text{B} - \text{A}$$

Où : **A** est la lecture faite à l'extrémité inférieure de la colonne de matière grasse. **B** est la lecture faite à l'extrémité supérieure de la colonne de matière grasse.

Annexe 5 : Détermination de la teneur en lactose par la méthode de la liqueur de Fehling

Solution aqueuse d'hexacyanoferrate II de potassium hydraté :

- $(K_4Fe(CN)_6 \cdot 3H_2O)$ 150 g
- Eau distillée (qsp).....1000 ml

Solution aqueuse d'acétate de zinc hydraté :

- $(Zn(CH_3COO)_2 \cdot 2H_2O)$ 300 g
- Eau distillée (qsp).....1000 ml

Solution cuivrique :

- Sulfate de cuivre II hydraté ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$) à 4% 5 P/V..... 40 g
- Acide sulfurique (d (20) = 1,83)..... 2 ml
- Eau distillée (qsp).....1000 ml

Solution tartro-alcaline :

- Tartre double de sodium et de potassium ($Na K (H_4C_4O_6) \cdot 4H_2O$).....200 g
- Hydroxyde de sodium (NaOH)..... 150 g
- Eau distillée (qsp).....1000 ml

Solution étalon lactose :

- Lactose.....5 g
- Eau distillée (qsp).....1000 ml

Mode opératoire : Défécation :

Dans une fiole jaugée de 50 ml, introduire successivement :

- 5ml de lait ;
- 0,4ml de solution d'hexacyanoferrate II de potassium, agiter ;
- 0,4ml de solution d'acétate de zinc, agiter ;
- Compléter au trait de jauge avec de l'eau distillée tout en mélangeant ;
- Ajouter 0,4ml d'eau distillée pour tenir compte du volume du précipité, agiter ;

Annexes

- Laisser reposer 15min puis filtrer ;
- Introduire ce filtre (solution S) dans une burette.

Réduction de la liqueur de Fehling :

Dans une fiole Erlen Meyer, introduire :

- 10ml de solution cuivrique ;
- 10ml de solution tartro-alcaline ;
- Agiter et porter à ébullition ;
- Verser ensuite goutte à goutte le filtrat (solution S) à l'aide d'une burette en maintenant à l'ébullition jusqu'à l'apparition d'un précipité rouge brique ;
- Lire le volume sur la burette (chute de burette), soit V2 en ml.

Etalonnage de liqueur de Fehling :

L'étalonnage est fait à l'aide d'une solution étalon de lactose de concentration $C1 = 5\text{g/l}$. Elle correspond à une chute de burette V1 (ml).

Expression des résultats La concentration en lactose inconnue C2, est donnée par la relation suivante : $C2 = (C1 \times V1 / V2) \times d$. Où d est le coefficient de dilution.

Annexe 6 : Détermination de la teneur en vitamine C par la méthode au 2-6- DCPIP

1-Solutions :

Solution de 2-6- dichlorophénol-indo-phénol à 0,05 g/l :

- Sel de sodium du 2-6-DCPIP 0,05 g
- Bicarbonate de sodium 0,02 g
- Eau distillée chaude 300 ml
- Eau distillée froide (qsp).....700 ml
- Filtrer

Solution d'acide ascorbique

- Acide ascorbique.....0,04 g
- Eau distillée (qsp).....1000 ml

2-Mode opératoire :

Dans un bécher de 10 ml, introduire :

- 1ml d'échantillon ;
- Ajouter 200 µl d'acide acétique glacial (99 à 100 %), mélanger ;
- Verser, goutte à goutte la solution de 2-6- DCPIP à l'aide d'une burette, jusqu'à l'apparition d'une coloration rose pâle persistante ; - lire le volume sur la burette (chute de burette), soit V2 (ml)

4- Etalonnage de la solution d'acide ascorbique

L'étalonnage de la solution d'acide ascorbique est fait à l'aide d'une solution étalon de concentration connue C1 = 0,04 g/l. Elle correspond à une chute de burette V1 (ml).

5-Expression des résultats

La teneur en vitamine C (C2) exprimée en mg/l, est donnée par la relation suivante :

$$C2 = (C1 \times V2 / V1) \times 1000$$

Annexe 7 : Détermination de la teneur en protéines par la méthode de Lowry *et al.* (1951)

1. Solutions :

Solution A :

- Soude 2 N.....50 ml

Solution B :

- Carbonate de sodium anhydre (Na_2CO_3) (2%).....4 g / 200 ml eau distillée

Solution C :

- $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (1 g / 100ml).....2 ml

- Tartrate double de Na et de K (1 g /100ml)..... .2 ml

Solution D :

- Solution B 50 ml

- Solution C.....1 ml

Solution mère de BSA

- BSA.....50 mg

- Eau distillée (qsp).....50 ml

Gamme étalon :

A partir de la solution de BSA, des dilutions sont préparées suivant le tableau ci-dessous

Numéro de dilution	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Concentration mère en BSA $\mu\text{g/ml}$	0	100	200	300	400	500	600	700	800	900	1000
Solution de BSA μl	0	50	100	150	200	250	300	350	400	450	500
Eau distillée	500	450	400	350	300	250	200	150	100	50	0

2. Méthode

- A 0,5 ml d'échantillon ou standard ;
- Ajouter 0,5 ml de solution A et mélanger ;
- Laisser 10 mn à température ambiante ;
- Ajouter 5 ml de solution D et mélanger ;
- Laisser 10 mn à température ambiante ;

Annexes

- Ajouter 0,5 ml de réactif de Folin-Ciocalteu ;
- Laisser 30mn minimum à l'obscurité (ne pas dépasser 60 mn) ;
- Lire la Do à 750 nm

3. Expression des résultats :

Une courbe étalon ou standard est tracée en portant sur l'axe des abscisses, les concentrations en BSA des dilutions (gamme étalon) préalablement préparées et sur l'axe des ordonnées, les DO mesurées respectivement pour chaque dilution.

La concentration de la protéine inconnue X, est déterminée en portant la valeur de la DO correspondante sur l'axe des ordonnées qui est ensuite projetée sur l'axe des abscisses.

Annexe 8 : Coloration de Gram

a) Violet de Gentiane :

Solution A : 2 g de violet de gentiane dans 20 ml d'alcool à 95°

Solution B : 0,8 g d'Oxalate d'ammonium dans 80 ml d'eau distillée

Mélanger les solutions A et B, Laisser reposer 24 heures avant l'emploi, Verser à travers un Papier filtre dans un flacon.

b) Solution iodée de gram

Dissoudre d'abord 2 g d'iodure de potassium dans environ 30 ml d'eau distillée, ajouter 1g d'iode et mélanger jusqu'à dissolution. Compléter jusqu'à 300 ml avec l'eau distillée et mélanger rigoureusement. Conserver le mélange dans un flacon en verre brun ou en plastique opaque (à l'abri de la lumière).

c) Solution de safranine

Solution A : 2,5 g de Safranine O dans qsp 100ml d'Alcool à 95°

Solution A bis : 10 ml de solution A dans 90ml d'Eau distillée

d) Décolorant

Mélanger à parties égale (v/v) alcool à 95 ° et acétone

Annexe 9 : Milieux de cultures

Milieu MRS (De Man, Rogosa and Sharpe, 1960)

Extrait de levure 5 g
Extrait de viande 10 g
Peptone 10 g
Acétate de sodium 5 g
Citrate de sodium 2 g
Glucose 20 g
 KH_2PO_4 2 g
 MgSO_4 0,25 g
 MnSO_4 0,05 g
Cystéine-HCl 0,5 g
Eau distillée 1000 ml
pH =6,8
Autoclavage 120°C, 20 min

Milieu MRS-BCP Sans Extrait De Viande

Extrait de levure 5 g
Extrait de viande 10 g
Peptone 10 g
Acétate de sodium 5 g
Citrate de sodium 2 g
Glucose 20 g
 KH_2PO_4 2 g
 MgSO_4 0,25 g
 MnSO_4 0,05 g
Pourpre de bromocrésol 0,025 mg
Eau distillée 1000 ml
pH =6,8
Autoclavage 120°C, 20 min

Milieu KMK (Kempner et Mc Kay, 1980)

Extrait de levure 3 g
Biopolytone 2,5 g
Glucose 5 g
Eau distillée qsp 1000 ml
pH=6.6

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

Annexes

Milieu M16 BCP (Thomas, 1973)

Extrait de levure 2,5 g
Extrait de viande 5 g
Lactose 2 g
Biopolytone 5 g
Peptone papaïnique de soja 5 g
Acide ascorbique 0,5 g
Acétate de sodium 1,8 g
L-Arginine 4 g
Pourpre de bromocrésol 0,05 g
Agar 10 g
Eau distillée qsp 1000 ml
pH 6,5
Autoclavage 120°C, 20 min

Milieu MSE (Mayeux, Sandine et Elliker, 1962)

Tryptone 10 g
Extrait de levure 5 g
Saccharose 100 g
Citrate de sodium 1 g
Glucose 5 g
Gélatine 2,5 g
Azothydrate de sodium 0,075 g
Eau distillée qsp 1000 ml
pH 6,5
Autoclavage 120°C, 20 min

Eau physiologique

Chlorure de sodium 8,5 g
Peptone 0,5 g
Eau distillée 1000 ml
pH =7
Autoclavage : 120° C pendant 20 minute

Lait écrémé

Lait ecreme 10 g
Extrait de levure 0.5 g
Eau distillée 100 ml
pH =7
Autoclavage 120°C, 20 min

MILIEUM17 (TERZAGHI ET SANDINE, 1975)

Peptone de caséine 10 g
Peptone pepsique de viande 2,5 g

Annexes

Peptone papaïne de soja 5 g
Extrait de levure 2,5 g
Extrait de viande 5 g
B-Glycerophosphate 19 g
MGSO₄ 0,25 G
Lactose 5 g
Acide ascorbique 0,5 g
Agar-agar 20 g
Eau distillée 1000 ml
pH=7.2
Autoclavage 120°C, 20 min

Eau peptonée

Peptone exempte d'indole 10 g
Chlorure de sodium 5 g
pH=7.2
Autoclavage 120°C, 20 min

Tampon phosphate de sodium

Solution (a): 27,8 g NaH₂PO₄ dans 100 ml d'eau distillée
Solution (b): 53,65g Na₂HPO₄, 7 H₂O dans 100 ml d'eau distillée
Tampon 0,1 M: 39ml (a) + 61 ml (b) + eau distillée
Stérilisation à 110° pendant 20 mn
Tous les milieux sont stérilisés par autoclavage à 121°C pendant 20mn sauf ceux contenant le lait (110° C pendant 10 min).

ANNEX10 : Séquences des isolats

Les séquences ont été vérifiées et supprimées les séquences chimériques de faible qualité

>ABD18

```
TACATGCAAGTCGAACGCACAGCGAAAGGTGCTTGACCTTTCAAGTGAGTGGCGAACGGGTGAGTCACACGTGGACAA
CCTGCCTCAAGGCTGGGGATAACATTTGAAACAGATGCTAATACCGAATAAACTTAGTGTCGCATGACACAAAGTTAA
AAGGCGCTTCGGCGTCACCTAGAGATGGATCCGCGGTGCATTAGTTAGTTGGTGGGGTAAAGGCCTACCAAGACAATGAT
GCATAGCCGAGTTGAGAGACTGATCGGCCACATTGGGACTGAGACACGGCCCAAACCTCTACGGGAGGCTGCAGTAGGG
AATCTTCCACAATGGGCGAAAGCCTGATGGAGCAACGCCGCGTGTGTGATGAAGGCTTTCGGGTCTGTAAGCACTGTTGT
ATGGGAAGAAGAGCTAGAATAGGAAATGATTTAGTTTGACGGTACCATAACCAGAAAGGGACGGCTAAATACGTGCCAG
CAGCCGCGGTAATACGTATGTCCCGAGCGTTATCCGATTATTGGGCGTAAAGCGAGCGCAGACGGTTTATTAAGTCTG
ATGTGAAAGCCCGGAGCTCAACTCCGGAATGGCATTGGAAGTGGTTAACTTGAGTGCAGTAGAGGTAAGTGGAAGTCCA
TGTGTAGCGGTGGAATGCGTAGATATATGGAAGAACCACAGTGGCGAAGGCGGCTTACTGGACTGCAACTGACGTT
```

>MEC25

```
TACATGCAAGTCGAACGCACAGCGAAAGGTGCTTGACCTTTCAAGTGAGTGGCGAACGGGTGAGTAACACGTGGACAA
CCTGCCTCAAGGCTGGGGATAACATTTGAAACAGATGCTAATACCGAATAAACTTAGTGTCGCATGACACAAAGTTAA
AAGGCGCTTCGGCGTCACCTAGAGATGGATCCGCGGTGCATTAGTTAGTTGGTGGGGTAAAGGCCTACCAAGACAATGAT
GCATAGCCGAGTTGAGAGACTGATCGGCCACATTGGGACTGAGACACGGCCCAAACCTCTACGGGAGGCTGCAGTAGGG
AATCTTCCACAATGGGCGAAAGCCTGATGGAGCAACGCCGCGTGTGTGATGAAGGCTTTCGGGTCTGTAAGCACTGTTGT
ATGGGAAGAAGAGCTAGAATAGGAAATGATTTAGTTTGACGGTACCATAACCAGAAAGGGACGGCTAAATACGTGCCAG
CAGCCGCGGTAATACGTATGTCCCGAGCGTTATCCGATTATTGGGCGTAAAGCGAGCGCAGACGGTTTATTAAGTCTG
ATGTGAAAGCCCGGAGCTCAACTCCGGAATGGCATTGGAAGTGGTTAACTTGAGTGCAGTAGAGGTAAGTGGAAGTCCA
TGTGTAGCGGTGGAATGCGTAGATATATGGAAGAACCACAGTGGCGAAGGCGGCTTACTGGACTGCAACTGACGTT
```

>MEC12

```
TACATGCAAGTCGAACGCACAGCGAAAGGTGCTTGACCTTTCAAGTGAGTGGCGAACGGGTGAGTAACACGTGGACAA
CCTGCCTCAAGGCTGGGGATAACATTTGAAACAGATGCTAATACCGAATAAACTTAGTGTCGCATGACACAAAGTTAA
AAGGCGCTTCGGCGTCACCTAGAGATGGATCCGCGGTGCATTAGTTAGTTGGTGGGGTAAAGGCCTACCAAGACAATGAT
GCATAGCCGAGTTGAGAGACTGATCGGCCACATTGGGACTGAGACACGGCCCAAACCTCTACGGGAGGCTGCAGTAGGG
AATCTTCCACAATGGGCGAAAGCCTGATGGAGCAACGCCGCGTGTGTGATGAAGGCTTTCGGGTCTGTAAGCACTGTTGT
ATGGGAAGAAGAGCTAGAATAGGAAATGATTTAGTTTGACGGTACCATAACCAGAAAGGGACGGCTAAATACGTGCCAG
CAGCCGCGGTAATACGTATGTCCCGAGCGTTATCCGATTATTGGGCGTAAAGCGAGCGCAGACGGTTTATTAAGTCTG
ATGTGAAAGCCCGGAGCTCAACTCCGGAATGGCATTGGAAGTGGTTAACTTGAGTGCAGTAGAGGTAAGTGGAAGTCCA
TGTGTAGCGGTGGAATGCGTAGATATATGGAAGAACCACAGTGGCGAAGGCGGCTTACTG
```

>TMN21

```
TACATGCAAGTCGAACGCTTTTCTTTACCCGAGCTTGCTCCACCGAAAGAAAAAGAGTGGCGAACGGGTGAGTAACAC
GTGGGTAACCTGCCATCACAAAGGGGATAACACTTGAAACAGGTGCTAATACCGTATAAACTATTTCCGCATGGAAG
AAAGTTGAAAGGCGCTTTTGCCTACTGATGGATGGACCCGCGGTGCATTAGCTAGTTGGTGAAGTAACGGCTCACCAAG
GCCACGATGCATAGCCGACCTGAGAGGGTATCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCGAGACTCTACGGGAGGCGAG
CAGTAGGGAATCTTCGGCAATGGACGAAAGTCTGACCGAGCAACGCCGCGTGAGTGAAGAAGGTTTTCGGATCGTAAAA
CTCTGTTGTTAGAGAAGAACAAGGATGAGAGTAAACGTTATCCCTTGACGGTATCTAACAGAAAGCCACGGCTAACT
ACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGATTATTGGGCGTAAAGCGAGCGCAGGCGGTTT
CTTAAGTCTGATGTGAAAGCCCCGGCTCAACCGGGGAGGGTCATTGGAAGTGGGAGACTTGAGTGCAGAAGAGGAGA
GTGGAATTCCATGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATATGGAGGAACCACAGTGGCGAAGGCGTCTCTGTTGTTGTAAC
TGTAAC
```

>ADR9

```
TACATGCAAGTCGAACGAGTTCTGATTATTGAAAGGTGCTTGACCTTGATTTAATTTGAACGAGTGGCGGACGGGTGAG
TAACACGTGGGTAACTGCCCTAAGTGGGGGATAACATTTGAAACAGATGCTAATACCGCATAAATCCAAGAACCGCA
TGGTTCTTGGCTGAAAGATGGCGTAAGCTATCGCTTTGGATGGACCCGCGCGTATTAGCTAGTTGGTGAAGTAACGGC
TCACCAAGGCAATGATACGTAGCCGAAGTGAAGGTTGATCGGCCACATTGGGACTGAGACACGGCCCAAACCTCTACGG
GAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCACAATGGACGCAAGTCTGATGGAGCAACGCCGCGTGAGTGAAGAAGGCTTTCGGGT
CGTAAAGTCTGTTGTTGGAGAAGAATGGTCGGCAGAGTAAGTGTGCGGCGTGACGGTATCCAACAGAAAGCCACGG
```

Annexes

CTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGATTTATTGGGCGTAAAGCGAGCGCAGGC
GGTTTTTTAAGTCTGATGTGAAAGCCCTCGGCTTAACCGAGGAAGTGCATCGGAACTGGGAACTTGAGTGCAGAAGAG
GACAGTGGAACCTCATGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATATGGAAGAACACCAGTGGCGAAGGCGGCTGTCTGGTCT
GTAACGTAACT

>ORA11

TACATGCAAGTCGAACGAGTTCTGATTATTGAAAGGTGCTTGCATCTTGATTAAATTTGAACGAGTGGCGGACGGGTGAG
TAACACGTGGGTAACTGCCCTTAAGTGGGGGATAACATTTGAAACAGATGCTAATACCGCATAAATCCAAGAACCGCA
TGGTTCTTGGCTGAAAGATGGCGTAAGCTATCGCTTTTGGATGGACCCGCGGCGTATTAGCTAGTTGGTGAGGTAACGGC
TCACCAAGGCAATGATACGTAGCCGAACAGAGGTTGATCGGCCACATTGGGACTGAGACACGGCCAACTCCTACGG
GAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCACAATGGACGCAAGTCTGATGGAGCAACGCCGCGTGAGTGAAGAAGGCTTTGGGT
CGTAAAACTCTGTTGTTGGAGAAGAATGGTCGGCAGAGTAAGTGTGTCGGCGTGACGGTATCCAACCAGAAAGCCACGG
CTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGATTTATTGGGCGTAAAGCGAGCGCAGGC
GGTTTTTTAAGTCTGATGTGAAAGCCCTCGGCTTAACCGAGGAAGTGCATCGGAACTGGGAACTTGAGTGCAGAAGAG
GACAGTGGAACCTCATGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATATGGAAGAACACCAGTGGCGAAGGCGGCTGTCTGGTCT
GTAACGTAACT

>ADR12

TACATGCAAGTCGAACGAGTTCTCGTTGATGATCGGTGCTTGACCGAGATTCAACATGGAACGAGTGGCGGACGGGTGA
GTAACACGTGGGTAACTGCCCTTAAGTGGGGGATAACATTTGAAACAGATGCTAATACCGCATAAGTCCAAGAACCGC
ATGGTTCTTGGCTGAAAGATGGCGTAAGCTATCGCTTTTGGATGAGCCCGCGGCGTATTAGCTAGTTGGTGAGGTAATGG
CTCACCAAGGCGATGATACCTAGCCGAACAGAGGTTGATCGGCCACATTGGGACTGAGACACGGCCAACTCCTACG
GGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCACAATGGACGCAAGTCTGATGGAGCAACGCCGCGTGAGTGAAGAAGGCTTTGGGT
TCGTAAAACTCTGTTGTTGGAGAAGAATGGTCGGCAGAGTAAGTGTGTCGGCGTGACGGTATCCAACCAGAAAGCCACG
GCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGATTTATTGGGCGTAAAGCGAGCGCAG
GCGGTTTTTTAAGTCTGATGTGAAAGCCCTCGGCTTACCCGAGGAAGCGCATCGGAACTGGGAACTTGAGTGCAGAAG
AGGACAGTGGAACCTCATGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATATGGAAGAACACCAGTGGCGAAGGCGGCTGTCTGGT
CTGTAACGTAACT

>ADR32

TACATGCAAGTCGAACGAACTCTGGTATTGATTGGTGCTTGCATCATGATTACATTTGAGTGAGTGGCGAACTGGTGAGT
AACACGTGGGAAACCTGCCCAGAAGCGGGGGATAACACCTGGAAACAGATGCTAATACCGCATAACAACCTTGGACCGCT
GGTCCGAGTTTGAAAGATGGCTTCGGCTATCACTTTTGGATGGTCCCGCGGCGTATTAGCTAGATGGTGGGGTAACGGCT
CACCATGGCAATGATACGTAGCCGACCTGAGAGGGTAATCGGCCACATTGGGACTGAGACACGGCCAACTCCTACGG
GAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCACAATGGACGAAAGTCTGATGGAGCAACGCCGCGTGAGTGAAGAAGGGTTTCGGCT
CGTAAAACTCTGTTGTTAAAGAAGAACATATCTGAGAGTAAGTGTTCAGGTATTGACGGTATTTAACCAGAAAGCCACGGC
TAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGATTTATTGGGCGTAAAGCGAGCGCAGGC
GGTTTTTTAAGTCTGATGTGAAAGCCTTCGGCTCAACCGAAGAAGTGCATCGGAACTGGGAACTTGAGTGCAGAAGAG
GACAGTGGAACCTCATGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATATGGAAGAACACCAGTGGCGAAGGCGGCTGTCTGGTCT
GTAACGTAACT

>ADR15

TACATGCAAGTCGAACGAACTCTGGTATTGATTGGTGCTTGCATCATGATTACATTTGAGTGAGTGGCGAACTGGTGAGT
AACACGTGGGAAACCTGCCCAGAAGCGGGGGATAACACCTGGAAACAGATGCTAATACCGCATAACAACCTTGGACCGCA
TGGTCCGAGTTTGAAAGATGGCTTCGGCTATCACTTTTGGATGGTCCCGCGGCGTATTAGCTAGATGGTGGGGTAACGGC
TCACCATGGCAATGATACGTAGCCGACCTGACAGGGTAATCGGCCACATTGGGACTGAGACACGGCCAACTCCTACGG
GAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCACAATGGACGAAAGTCTGATGGAGCAACGCCGCGTGAGTGAAGAAGGGTTTCGGCT
CGTAAAACTCTGTTGTTAAAGAAGAACATATCTGAGAGTAAGTGTTCAGGTATTGACGGTATTTAACCAGAAAGCCACGGC
TAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGATTTATTGGGCGTAAAGCCAGCGCAGGC
GGTTTTTTAAGTCTGATGTGAAAGCCTTCGGCTCAACCGAAGAAGTGCATCGGAACTGGGAACTTGAGTGCAGAAGAG
GACAGTGGAACCTCATGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATATGGAAGAACACCAGTGGCGAAGGCGGCTGTCTGGTCT
GTAACGTAACT

>GHD12

TACATGCAAGTCGAACGAACTCTGGTAATGATTGGTGCTTGCATCATGAATTACATTTGAGTGAGTGGCGAACTGGTGAGT
AACACGTGGGAAACCTGCCCAGAAGCGGGGGATAACACCTGGAAACAGATGCTAATACCGCATAACAACCTTGGACCGCA

Annexes

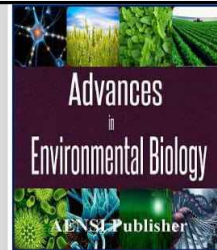
TGGTCCGAGTTTGAAAGATGGCTTCGGCTATCACTTTTGGATGGTCCCGCGGCGTATTAGCTAGATGGTGAGGTAACGGC
TCACCATGGCAATGATACGTAGCCGACCTGAGAGGGTAATCGGCCACATTGGGACTGAGACACGGCCAACTCCTACGG
GAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCACAATGGACGAAAGTCTGATGGAGCAACGCCGCGTGAGTGAAGAAGGGTTTCGGCT
CGTAAAACTCTGTTGTAAAGAAGAACATATCTGAGAGTAACTGTTTCAGGTATTGACGGTATTTAACCAGAAAGCCACGGC
TAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGATTTATTGGGCGTAAAGCGAGCGCAGGC
GGTTTTTTAAGTCTGATGTGAAGCCTTCGGCTCAACCGAAGAAGTGCATCGGAACTGGGAACTTGAGTGCAGAAGAGG
ACAGTGGAACCTCCATGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATATGGAAGAACACCAAGTGGCGAAGGCGGCTGTCTGGTCTG
TAACTGTAAC

>TMN18

TACATGCAAGTCGAACGAACTCTGGTAATGATTGGTGCTTGCATCATGAATTACATTTGAGTGAGTGGCGAACTGGTGAGT
AACACGTGGGAAACCTGCCAGAAGCGGGGATAACACCTGGAAACAGATGCTAATACCGCATAACAACCTGGACCGCA
TGGTCCGAGTTTGAAAGATGGCTTCGGCTATCACTTTTGGATGGTCCCGCGGCGTATTAGCTAGATGGTGAGGTAACGGC
TCACCATGGCAATGATACGTAGCCGACCTGAGAGGGTAATCGGCCACATTGGGACTGAGACACGGCCAACTCCTACGG
GAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCACAATGGACGAAAGTCTGATGGAGCAACGCCGCGTGAGTGAAGAAGGGTTTCGGCT
CGTAAAACTCTGTTGTAAAGAAGAACATATCTGAGAGTAACTGTTTCAGGTATTGACGGTATTTAACCAGAAAGCCACGGC
TAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGATTTATTGGGCGTAAAGCGAGCGCAGGC
GGTTTTTTAAGTCTGATGTGAAGCCTTCGGCTCAACCGAAGAAGTGCATCGGAACTGGGAACTTGAGTGCAGAAGAGG
ACAGTGGAACCTCCATGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATATGGAAGAACACCAAGTGGCGAAGGCGGCTGTCTGGTCTG
TAACTGTAAC

>BAB17

TACATGCAAGTCGAACGAACTCTGGTAATGATTGGTGCTTGCATCATGAATTACATTTGAGTGAGTGGCGAACTGGTGAGT
AACACGTGGGAAACCTGCCAGAAGCGGGGATAACACCTGGAAACAGATGCTAATACCGCATAACAACCTGGACCGCA
TGGTCCGAGTTTGAAAGATGGCTTCGGCTATCACTTTTGGATGGTCCCGCGGCGTATTAGCTAGATGGTGAGGTAACGGC
TCACCATGGCAATGATACGTAGCCACCTGAGAGGGTAATCGGCCACATTGGGACTGAGACACGGCCAACTCCTACGG
GAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCACAATGGACGAAAGTCTGATGGAGCAACGCCGCGTGAGTGAAGAAGGGTTTCGGCT
CGTAAAACTCTGTTGTAAAGAAGAACATATCTGAGAGTAACTGTTTCAGGTATTGACGGTATTTAACCAGAAAGCCACGGC
TAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGATTTATTGGGCGTAAAGCGAGCGCAGGC
GGTTTTTTAAGTCTGATGTGAAGCCTTCGGCTCAACCGAAGAAGTGCATCGGAACTGGGAACTTGAGTGCAGAAGAGG
ACAGTGGAACCTCCATGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATATGGAAGAACACCAAGTGGCGAAGGCGGCTGTCTGGTCTG
TAACTGTAAC



Elliker-trimethoprim medium: A new selective tool for the isolation and growth of *Lactococcus* species

Senouci Djamal Eddine, Benatia Saliha, Bensaid Nacera, Guessas Battache, Heddadji Miloud and Kihal Mebrouk

Applied Microbiology Laboratory, Department of Biology, Faculty of Natural Science and Life, University Oran1 Ahmed Benbella, Oran, Es-Sénia, 31100, Algeria

Address For Correspondence:

Kihal Mebrouk, Applied Microbiology Laboratory, Department of Biology, Faculty of Natural Science and Life, University Oran1 Ahmed Benbella, Oran, Es-Sénia, 31100, Algeria

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

Received 28 December 2015; Accepted 28 January 2016; Available online 24 February 2016

ABSTRACT

Lactic acid bacteria are phenotypically a very heterogeneous group. This group is characterized by the type of common criteria Gram positive, absence of catalase producing mainly lactic acid. The genus *Lactococcus* recently created includes non-hemolytic streptococci and homofermentative. The evaluation of exogenous *Lactococci* of dairy samples is frequently required for the evaluation of the milk colonization by *Lactococci*. In this study, different culture media, Elliker and M17 trimethoprim and M17 and Elliker rifampicin, have been tested for *Lactococcus* strains isolated from raw goat's milk in Oran area. A selective medium designated Elliker-trimethoprim medium (ETM) was developed for the growth of exogenous *Lactococcus* species. In quantitative assays, ETM showed a higher sensitivity than M17-Trimethoprim medium (M17-TM). The ETM medium allowed the selective growth of the following *Lactococcus* species: *Lactococcus lactis* (subsp. *Lactis*; subsp. *cremoris*; subsp. *lactis* biovar. *Diacetylactis*), *Lactococcus plantarum* and *Lactococcus raffinolactis*. Whereas, the specie *Lactococcus piscium* was revealed only when rifampicine was used as selective agent. No *Enterococcus* species were observed with 0.3µg/ml of Trimethoprim or rifampicin. After several tests and comparative study, the ETM medium was chosen to follow the specific isolation and growth of *Lactococcus* species. Morphological, physiological and biochemical identification tests confirmed that the 40 isolates belong to the genus *Lactococcus*. 17 isolate (42.5%) belonging to the subspecies *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* were revealed on ETM. This culture medium is a new microbiological tool that can solve a problem of isolation of *Lactococcus* species which are much researched for food industry.

KEYWORDS: selection, Elliker medium, M17 medium, *Lactococcus*, growth, raw milk, identification, Trimethoprim, Rifampicin

INTRODUCTION

The complexity of the milk microbiota, that includes members from the genus *Lactococcus*, makes research on Lactic acid bacteria difficult [1]. Terzaghi and Sandine (1975) described a selective medium M17 and Elliker medium [2, 3] designed especially for the enumeration and isolation of Streptococci, although it was recognized that it was not adequate for some dairy organisms. Starting from this, it was hoped to develop a new medium in which the *Lactococci* of dairy origin would also grow well. The microflora of raw milk is very diverse and their technological characters were useful in the food industry [4-6]. The lactic fermentation is often carried out by the following species: *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Weissella* and *Propionibacterium* [7-9].

There are many selective media that support growth of *Lactococcus* and some other non-*Lactococcus* species, including M17 agar that is the most commonly used. However, these media are not useful to distinguish between *Lactococcus* and *Enterococcus* in milk samples. Advances in molecular genetics of bacteria have allowed more reliable methods for discrimination between *Lactococcus* species, but these methods require special

instrumentation and appropriate oligonucleotide probes and do not discriminate between live and dead bacteria. We hypothesized that, starting from the original formulation of Elliker and M17 medium, it is possible to design modified media by adding selected antibiotics, on which specific, exogenous *Lactococci* can be selectively cultured and recognized on the basis of antibiotic resistance [5, 6, 10];

Cultures media for the selective isolation of technological bacteria are not very available in the literature, especially for *Lactococcus* [3, 8]). The development of a new culture medium supported the development of *Lactococcus* species necessarily requires a better understanding of growth conditions, cell physiology and metabolism of these microorganisms. *Lactococcus* and *Enterococcus* are cocci Gram-positive that often occur in pairs (diplococci) or short chains and are difficult to differentiate from streptococci on physical characteristics alone. The research of a specific medium requires, among other a good understanding of this bacterial genus and the other genera showing the same characteristics and a perception of their antibiotic susceptibility. Inhibition of the genera having the same morphotype is achieved by the addition of two antibiotics trimethoprim and rifampicin.

Trimethoprim is antibiotic agent with large spectrum commonly used in chemotherapy for the treatment of enteric, respiratory and urinary tract infections [11]. Enterococci are generally sensitive in vitro to trimethoprim [12]. Therefore, the composition of starters and the equilibrium between species and strains in mixed cultures must be controlled using differentiation and selective enumeration methods.

Swenson *et al.* [13] found the sensitivity of lactobacilli to rifampicin and trimethoprim. *Pediococcus*, *Streptococcus* and *Leuconostoc* showed also the sensitivity to rifampicin. Whereas, *Enterococcus* species are generally sensitive to trimethoprim. The mean minimal inhibitory concentration (MIC) of trimethoprim for *Enterococcus faecalis* was 0.164 µg/ml (range, 0.03 to 8 µg/ml), with a geometric mean minimal bactericidal concentration (MBC) of 0.298 µg/ml (range, 0.063 to 8 µg/ml)[14, 15]. Trimethoprim inhibits the enzyme dihydrofolate reductase (DHFR) which catalyses the reaction of dihydrofolate to tetrahydrofolate in prokaryotic and eukaryotic cells [16].

Based on these results by all these authors were selected trimethoprim and rifampicin as selective agents that could add to M17 and Elliker medium, to find a suitable medium that allows the growth and development of *Lactococcus* species. In this paper, we describe a selective medium for accurate detection and enumeration *Lactococcus* from milk samples.

MATERIALS AND METHODS

Samples collection:

Samples of goat's milk were collected from individual farm in the Oran region from healthy goats under adequate hygiene conditions. Samples were collected aseptically in sterile bottles (500 ml), leveled kept in an isothermal container at 4°C and transported directly to the laboratory of Applied Microbiology. The analysis takes place two hours after collection. Raw milk goat was chosen as a local product which is the subject for the isolation of lactic acid bacteria of the genus *Lactococcus*.

Choice of sélectif agent:

According to previous reports on the comportment of LAB towards antibiotics, *Lactococcus* strains are resistant to Trimethoprim [12] and rifampicin. We investigated the behavior of *Lactococcus* strains toward these antibiotics.

Trimethoprim (Made and packaged by Farma Hikma Algeria, Amman 11118-BPN182400 Jordanie) is put into 40 ml of sterilized distilled water for an initial concentration of 0.5 mg/ml [17], the solution is sterilized by filtration (0.22 µm) aseptically and stored at 4°C. 0.1ml of the stock solution removed is introduced into each bottle containing 100 ml of M17 and Elliker agar media. The solution Rifampicin (manufacturer Tubilux Pharma SPA -Via Costa Rica Pomezia-Roma-Italia, the laboratory operator Thea) contains a concentration of 3mg/ml. The following initial concentrations: 0.1ml, 0.2ml, 0.3ml are added to 100 ml agar culture medium (M17 and Elliker).

Media and culture conditions:

The Elliker and M17 agar were selected to allow the fast growth of *Lactococcus*. Growths in these media with and without trimethoprim or rifampicin (0.3 µg / ml) were compared on the samples of raw milk.

All *Lactococcus* strains grow on both culture media without trimethoprim or rifampicin. All concentrations of trimethoprim tested allow the growth of *Lactococcus*. The culture medium of M17 and Elliker with 0.3µg/ml trimethoprim and 0.3µg/ml rifampicin were used to select and enumerate *Lactococcus* species (Table 1). A final concentration of 0.3 µg/ml was chosen for further experiments and new media were named M17-TM and ETM.

Table 1: Media and conditions for isolation of *Lactococcus* species from milk samples.

Microorganisms	Media	T (°C)	Duration Incubation (h)
----------------	-------	--------	-------------------------

<i>Lactococci</i> , <i>Pediococci</i> <i>Enterococcus</i> , <i>Streptococcus</i> ,	Elliker	30	48 Aerobiosis
<i>Pediococci</i> <i>Enterococcus</i> , <i>Streptococcus</i> , <i>Lactococci</i>	M17	30	48 Aerobiosis
<i>Lactococci</i>	Elliker with 0.3 µg/ml Trimethoprim	30	48 Aerobiosis
<i>Lactococci</i>	M17 with 0.3 µg/ml Trimethoprim	30	48 Aerobiosis
<i>Lactococci</i>	Elliker with 0.3 µg/ml Rifampicin	30	48 Aerobiosis
<i>Lactococci</i>	M17 with 0.3 µg/ml Rifampicin	30	48 Aerobiosis

Preparation of dilutions:

10g of milk were homogenized with 90 ml of 0.1% (w/v) sterile peptone water to obtain a 1:10 dilution. Successive decimal dilutions were carried out with sterile 0.1% (w/v) peptone water (Oxoid). From each dilution 0.1 ml volumes were surface plated in duplicate on M17 and Elliker agar [3, 18]. A witness is represented by both M17 and Elliker culture medium without antibiotics. The dishes were incubated at 30 °C for 48 h.

Purification and identification of isolates:

After incubation, colonies with different morphological aspects (4 to 6 colonies) were purified by streaking on Elliker or M17 agar, then incubating the Petri dish at 30 °C for 48 hours. Obtaining pure colonies will perform Gram stain and catalase search. Isolates Gram⁽⁺⁾ and catalase⁽⁺⁾ non spores forming are retained. Colonies of pure isolates were inoculated on liquid culture medium: The M17 and Elliker medium were used for the growth of cocci. After 48 h of incubation at 30 °C the aspect of culture was noted.

The identification of pure colonies obtained on media containing antibiotics was established by the application of conventional microbiological, morphological, physiological and biochemical characters; Gram staining, catalase reaction, fermentation type [7, 19]. The test of Sherman milk and thermoresistance of the isolates were used [1, 20]. Tolerance to alkaline pH (9.6) [21] growth in 6.5% NaCl, at different temperatures. The metabolism esculin, arginine and citrate used and production of acétoïne were also performed [20, 22-24]. Also the identification profile adopted also took into account API 50 CH galleries (BioMerieux, Marcy-l'Etoile, France).

Stored strains:

The strains of *Lactococci* were stored without appreciable loss of properties in skimmed milk. The short term conservation of the pure isolates was done on solid media. After growth at optimal temperature, the culture was maintained at 4°C and cultures were renewed every month. The long-term conservation of isolates was carried out in a medium containing 70% of skimmed milk (enriched by 0.05% of yeast extract and 0.05% of glucose) and 30% of glycerol[24-26].

RESULTS AND DISCUSSION

Enterococcus and *Lactococcus* displayed similar morphological characteristics, namely short cocci chains (mainly double cocci cells). Moreover, both genera, are Gram⁽⁺⁾ and catalase⁽⁺⁾ cocci and facultative anaerobes, optimal growth was recorded at 37°C [7, 20]. While those which grew at 45°C, 10°C, pH 9.5, NaCl 6.5% and Sherman test (at 0.1% and 0.3%), and exhibit a claire or green zone around the colony were considered as *Enterococcus* and their high resistance to 63.5°C for 30min.

The table (1) present the number of total lactic acid flora enumerated in raw goat milk after incubation at 30 °C for 48 hours, the number of colony is 184 10⁷ cfu/ml in M17 and 200 10⁷ cfu/ml in Elliker . The study of [27] reveals that the lactic acid dominant microflora reached a number of 180 10⁸ cfu/ ml.

A high access rate of the total lactic flora which has been diminished by M17 + trimethoprim and Elliker + trimethoprim (0.5 mg/ml) the colonies number is 45 10⁶ cfu/ml and 38 10⁶ cfu/ml respectively. The Elliker medium allow a total flora reduction to 98% followed by the M17 medium with 97%, this reduction is expressed firstly by the inhibitory effect exerted by the trimethoprim that was more effective than rifampicin on the M17 and Elliker. This inhibitory effect was tested on the sensitivity of total lactic microflora of raw goat's milk.

These results show that MIC (minimum inhibitory concentration) in the media could be more than 0.5 µg/ml and less than 1.5 µg/ml trimethoprim.

Table 02: Effect of different antibiotic concentration trimethoprim on the viable count of *Lactococcus* species .

Medium	Antibiotic (µg/ml)	Viable count of lactic acid bacteria (UFC/ml)	Survival rate (%)
--------	--------------------	---	-------------------

M17	0	$184 \pm 12 \cdot 10^7$	100
ELLIKER	0	$200 \pm 08 \cdot 10^7$	100
M17	0.1	$120 \pm 06 \cdot 10^6$	6.52
ELLIKER	0.1	$98.1 \pm 08 \cdot 10^6$	4.9
M17	0.2	$112 \pm 09 \cdot 10^6$	6
ELLIKER	0.2	$93 \pm 06 \cdot 10^6$	4.6
M17	0.3	$72 \pm 03 \cdot 10^6$	3.9
ELLIKER	0.3	$64 \pm 03 \cdot 10^6$	3.2
Trimethoprim + Rifampicin M17	0.5 + 0.3	00	00
Trimethoprim + Rifampicin ELLIKER	0.5 + 0.3	00	00

The enumeration of mesophilic Streptococcaceae on selective media without antibiotic revealed the presence of $184 \cdot 10^7$ and $200 \cdot 10^7$ cfu/ml on M17 and Elliker media respectively. However, the combined use of the two antibiotics trimethoprim and rifampicin (0.5 and 0.3 $\mu\text{g/ml}$) inhibit completely the microflora. The results in table (2) showed that the numbers of revealed colonies were reduced proportionally with the increase of concentration of the antibiotic used.

The result shows that the concentration of 0.3 $\mu\text{g/ml}$ of trimethoprim and rifampicin allow only the growth of 3.2 % of microflora. This result shows the inhibitory effect of the two antibiotics on development of Streptococcaceae.

[14] showed that the MBC of trimethoprim is 0.3 $\mu\text{g/ml}$; while [28] obtained a CMB of 0.12 $\mu\text{g/ml}$ for rifampicin for *Enterococcus* species. The significant decrease of this microflora is due to complete inhibition enterococci by both antibiotics. Trimethoprim and rifampicin have a similar effect on the growth of the genus *Enterococcus*. According to previous reports on the behavior of Lactic acid bacteria to antibiotics, *Lactococcus* strains resist to trimethoprim and rifampicin [29]. The work of [30], indicate that the *Lactococcus sp.* can resist to a 32 $\mu\text{g/ml}$ of rifampicin.

Recently Rezapour *et al.* [31] showed that *Lactococcus lactis* was sensitive to trimethoprim (15 $\mu\text{g/ml}$), amoxicillin (10 $\mu\text{g/ml}$), tetracycline (30 $\mu\text{g/ml}$), and erythromycin (15 $\mu\text{g/ml}$), while was intermediate for kanamycin (30 $\mu\text{g/ml}$) and resistance to vancomycin (30 $\mu\text{g/ml}$) and clindamycin (2 $\mu\text{g/ml}$). The antibiotics concentrations used by these authors were very high and cannot be compared with our results.

The study released by Khemariya *et al.* (2013)[32] indicates that All the isolates of *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* were resistant to 13 antibiotics but susceptible to ampicillin, erythromycin, spiramycin, spectinomycin, ciprofloxacin, rifampicin, and trimethoprim. The antibiotic concentration used by these authors is very high and exceed 15 $\mu\text{g/ml}$.

Identification of bacterial isolates:

Among all of the raw milk samples, two types of colonies were easily differentiated according to their morphology. Colonies observed on M17 and Elliker plates were small (diameter 1 mm), compact, translucent to whitish that are circular, smooth, and entire within 24-48h of incubation. Microscopic observation of stained colonies showed that the bacteria were Gram-positive, spherical, and that cells were occurring usually in pairs and chains. All strains were nonmotile, no sporeforming, facultative anaerobes. All isolates are catalase negatives, cytochromes oxydase negative and homofermentaires. Some isolates were able to grow at 45°C, and at 15°C. They were resistant to NaCl (2% and 4%), but sensitive to the other salt concentrations (6.5% NaCl). Several isolates can growth in the presence of methylene blue (0.1%). These results indicated that the isolates belonged to the *Lactococcus* species, according to the criteria given by [7] and [1].

The general properties of 40 isolates identified in the species are shown in Table (3). The characters of the selected isolates are very close species *Lactococcus*.

The ADH test and the production of acetoin made it possible subdivide this genus in species and subspecies.

1. ADH⁽⁺⁾ and acetoin⁽⁺⁾: this 2 isolates of *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar. *diacetylactis* produced acetoin, all possessed arginine dihydrolase and all hydrolyze esculin and growth on citrate.

2. ADH⁽⁺⁾ and acetoin⁽⁻⁾: 25 isolates of *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* grow at 4% NaCl, and 1 isolat of *Lactococcus lactis* subsp. *hordnae* did not grow at 4% NaCl. This later species has a reduced sugar fermentation profile that is close to *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*.

3. ADH⁽⁻⁾ and acetoin⁽⁺⁾: 10 isolates of *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* which can used a few number of carbohydrates. *Lactococcus plantarum*, and *Lactococcus raffinolactis*, these species differ only in melezitose and sorbitol fermentations.

One isolate obtained on Elliker rifampicin, was identified as *Lactococcus piscium* which can use maltose, melibiose and melizitose and not able to ferment raffinose and ribose. This isolate can support growth on 0.1% of methylene blue.

The results of identification of isolates obtained by phenotypic tests were compared with those in standard tests [7, 8] and the isolates assigned to appropriate species. The strains of *Lactococcus piscium*, *Lactococcus*

Ribose	+	-	-	-	+	-	-	-	+	+	-	+	+	-	-	-
Maltose	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+
Galactose	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+
Xylose	+	-	-	-	+	-	-	-	+	+	-	+	+	-	-	+
Cellobiose	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+
Raffinose	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+
Salicine	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+
Trehalose	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+
Gluconate	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i>	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>cremoris</i>	<i>Lactococcus plantarum</i>	<i>Lactococcus raffinolactis</i>	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i>	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>cremoris</i>	<i>Lactococcus plantarum</i>	<i>Lactococcus raffinolactis</i>	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i>	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> biovar <i>diacetylactis</i>	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>hordinae</i>	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i>	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> biovar <i>diacetylactis</i>	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>cremoris</i>	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>hordinae</i>	<i>Lactococcus piscium</i>

The results in table (4) show that rifampicin and trimethoprim have allowed the growth of two species: *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* and *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* with higher density which indicate the ability of the use of trimethoprim or rifampicin, for selected growth these two species. However *Lactococcus plantarum* and *Lactococcus raffinolactis* were only observed in medium supplemented with trimethoprim, However rifampicin does not allow growth of these later strains. *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar. *diacetylactis*, *Lactococcus hordinae* and *Lactococcus piscium* were observed only on the medium supplemented with rifampicin (0.3µg/ml).

Table 4: Species of *Lactococcus* detected on M17 and Elliker media containing trimethoprim and rifampicin.

Species isolated on Trimethoprim (0.3 µg/ml)	Species isolated on Rifampicin (0.3 µg/ml)
<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> :	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> biovar. <i>diacetylactis</i>
<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i>	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>hordinae</i>
<i>Lactococcus raffinolactis</i>	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>cremoris</i>
<i>Lactococcus plantarum</i>	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i>
	<i>Lactococcus piscium</i>

Conclusion:

The results obtained for morphological, physiological and biochemical tests were compared with those in standard tests for identification [1, 12, 34] and the isolates assigned to appropriate genera. In This study the antibiotic trimethoprim (0.3µg/ml) and rifampicin (0.3µg/ml), play a crucial role in the selection of *Lactococcus* genus. The selective effect of trimethoprim on Elliker medium permitted the isolation a high number of subspecies *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*.

REFERENCES

- [1] Badis, A., D. Guetarni., B.M. Boudjema., D. Henni, M. Kihal, 2004. Identification and technological properties of lactic acid bacteria isolated from raw goat milk of four Algerian races. Food Microbiology, 21: 579-588.
- [2] Elliker, P., A. Anderson, G. Hannesson, 1956. An agar culture medium for lactic acid streptococci and lactobacilli. Journal of Dairy Science, 39: 1611-1612.
- [3] Terzaghi, B.E., W. Sandine, 1975. Improved medium for lactic streptococci and their bacteriophages. Applied microbiology, 29: 807-813.
- [4] Huggins, A.R., W.E. Sandine, 1984. Differentiation of fast and slow milk-coagulating isolates in strains of lactic streptococci. Journal of Dairy Science, 67: 1674-1679.
- [5] Casalta, E., R. Zennaro, M.-X. Maroselli, R. Legouar, 1997. Effect of specific starters on microbiological, biochemical and sensory characteristics of Venaco, a Corsican soft cheese. Sciences des aliments, 17: 79-94.

- [6] Patrignani, F., R. Lanciotti, J.M. Mathara, M.E. Guerzoni, W.H. Holzapfel, 2006. Potential of functional strains, isolated from traditional Maasai milk, as starters for the production of fermented milks. *International journal of food microbiology*, 107: 1-11.
- [7] Carr, F.J., D. Chill, N. Maida, 2002. The lactic acid bacteria: a literature survey. *Critical reviews in microbiology*, 28: 281-370.
- [8] Axelsson, L., 2004. Lactic acid bacteria: Classification and physiology. *Lactic acid bacteria: Microbiology and functional aspects*, pp: 1-66.
- [9] Quigley, L., O. O'Sullivan, C. Stanton, T.P. Beresford, R.P. Ross, G.F. Fitzgerald, P.D. Cotter, 2013. The complex microbiota of raw milk. *FEMS microbiology reviews*, 37: 664-698.
- [10] Chammas, G.I., R. Saliba, G. Corrieu, C. Béal, 2006. Characterisation of lactic acid bacteria isolated from fermented milk "laban". *International Journal of Food Microbiology*, 110: 52-61.
- [11] Huovinen, P., L. Sundström, G. Swedberg, O. Sköld, 1995. Trimethoprim and sulfonamide resistance. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 39: 279.
- [12] Gemelas, L., V. Rigobello, Y. Demarigny, 2013. Selective *Lactococcus* Enumeration in Raw Milk. *Food and Nutrition Sciences*, 4: 49.
- [13] Swenson, J., R. Facklam, C. Thornsberry, 1990. Antimicrobial susceptibility of vancomycin-resistant *Leuconostoc*, *Pediococcus*, and *Lactobacillus* species. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 34: 543-549.
- [14] Crider, S.R., S.D. Colby, 1985. Susceptibility of enterococci to trimethoprim and trimethoprim-sulfamethoxazole. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 27: 71-75.
- [15] Muñoz-Atienza, E., B. Gómez-Sala, C. Araújo, C. Campanero, R. Del Campo, P.E. Hernández, C. Herranz, L.M. Cintas, 2013. Antimicrobial activity, antibiotic susceptibility and virulence factors of Lactic Acid Bacteria of aquatic origin intended for use as probiotics in aquaculture. *BMC microbiology*, pp: 13:15.
- [16] Hitchins, A.D., R.A. Slepecky, 1969. Antibiotic inhibition of the septation stage in sporulation of *Bacillus megaterium*. *Journal of bacteriology*, 97: 1513.
- [17] AL-ZOREKY N., W. Sandine, 1991. *Lactococcus* genus: a selective and differential agar medium. *Journal of food science*, 56: 1729-1730.
- [18] Djadouni, F., M. Heddadji, B. Karima, 2015. Isolation and identification of lactic acid bacteria from algerian goat's milk and their major technological traits. *International Journal of ChemTech Research*, 8: 6-14.
- [19] Kihal, M., H. Prévost, M.E. Lhotte, D.Q. Huang, C. Diviès, 1996. Instability of plasmid-encoded citrate permease in *Leuconostoc*. *Letters in Applied Microbiology*, 22: 219-223.
- [20] Stiles, M.E., W.H. Holzapfel, 1997. Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy. *International journal of food microbiology*, 36: 1-29.
- [21] Devriese, L., B. Pot, M. Collins, 1993. Phenotypic identification of the genus *Enterococcus* and differentiation of phylogenetically distinct enterococcal species and species groups. *Journal of Applied Bacteriology*, 75: 399-408.
- [22] Thomas, T., 1973. Agar medium for differentiation of *Streptococcus cremoris* from the other bacteria. *NZJ Dairy Sci Technol*, 8: 70-71.
- [23] Kempler, G., L. McKay, 1979. Characterization of plasmid deoxyribonucleic acid in *Streptococcus lactis* subsp. *diacetylactis*: evidence for plasmid-linked citrate utilization. *Applied and environmental microbiology*, 37: 316-323.
- [24] Samelis, J., F. Maurogenakis, J. Metaxopoulos, 1994. Characterisation of lactic acid bacteria isolated from naturally fermented Greek dry salami. *International Journal of Food Microbiology*, 23: 179-196.
- [25] Herrero, M., B. Mayo, B. Gonzalez, J. Suarez, 1996. Evaluation of technologically important traits in lactic acid bacteria isolated from spontaneous fermentations. *Journal of Applied Bacteriology*, 81: 565-570.
- [26] Moulay, M., K. Benlahcen, H. Aggad, M. Kihal, 2013. Diversity and technological properties of predominant lactic acid bacteria isolated from Algerian raw goat's milk. *Advances in Environmental Biology*, 7: 999-1007.
- [27] Louembé, D., A. Brauman, F. Tchicaya, S. Kobawila, 1996. Etude microbiologique et biochimique de la bouillie de maïs, poto-poto. *MAN Microbiologie, aliments, nutrition*, 14: 245-253.
- [28] Perez, J., L. Riera, F. Valls, C. Berrocal, L. Berrocal, 1987. A comparison of the in-vitro activity of seventeen antibiotics against *Streptococcus faecalis*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 20: 357-362.
- [29] Ammor, M.S., A. Belén Flórez, B. Mayo, 2007. Antibiotic resistance in non-enterococcal lactic acid bacteria and bifidobacteria. *Food Microbiology*, 24: 559-570.
- [30] Flórez, A.B., M.S. Ammor, B. Mayo, A.H.A.M. van Hoek, H.J.M. Aarts, G. Huys, 2008. Antimicrobial susceptibility profiles of 32 type strains of *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Lactococcus* and *Streptococcus* spp. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 31: 484-486.

- [31] Rezapour, S., E. Ghahremani, M. Mardani, 2015. Analysis of Antibiotic Resistance and Antimicrobial Effects of *Enterococcus faecium* and *Lactococcus lactis* Isolated from Khorramabad Traditional Cheeses. *Journal of Applied Biotechnology Reports*, 2: 211-214.
- [32] Khemariya, P., S. Singh, G. Nath, A.K. Gulati, 2013. Isolation, Identification, and Antibiotic Susceptibility of *Lactococcus lactis* from Dairy and Non-dairy Sources. *Czech J Food Sci.*, 31: 323-331.
- [33] Meucci, A., M. Zago, L. Rossetti, M.E. Fornasari, B. Bonvini, F. Tidona, M. Povoletto, G. Contarini, D. Carminati, G. Giraffa, 2015. *Lactococcus hircilactis* sp. nov., *Lactococcus laudensis* sp. nov., isolated from milk. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*:ijs. 0.000225.
- [34] Kim, D.H., J.W. Chon, H. Kim, H.S. Kim, D. Choi, D.G. Hwang, K.H. Seo, 2015. Detection and Enumeration of Lactic Acid Bacteria, Acetic Acid Bacteria and Yeast in Kefir Grain and Milk Using Quantitative Real-Time PCR. *Journal of Food Safety*, 35: 102-107.

RESUME

Le lait de dromadaire est une source de nourriture essentielle pour les habitants des régions arides et sahariennes. Une production de 88 460 tonnes de lait de chamelle a été enregistrée en Algérie en 2016 par la FAO. La demande croissante de ce produit en raison de différentes intégrités, en particulier thérapeutiques, encourage les éleveurs à protéger cet animal. La spécificité du lait de chamelle en termes de composition chimique est une source inépuisable de nouvelles souches de bactéries lactiques. L'analyse microbiologique du lait de chamelle de 8 régions en Algérie montre que le lait cru est très riche en microorganismes. 460 isolats ont été purifiés lorsque 53,47% des souches répondaient aux critères des bactéries lactiques. Parmi les 246 isolats, 80 souches ont été identifiées comme bacilles et 166 cocci. Cependant, l'analyse phénotypique a identifié les genres suivants : *Lactobacillus* 32,5%, *Enterococcus* 32,5%, *Lactococcus* 16,3%, *Leuconostoc* 13,8% et *Streptococcus thermophilus* 4,9%. Toutes les espèces ont révélé une activité protéolytique significative ; cependant, l'activité lipolytique n'est détectée que dans les lactobacilles. L'étude moléculaire montre une grande similitude entre les espèces de lactobacilles. En outre, le potentiel biotechnologique a été testé sur 12 souches identifiées, la mesure de l'acidité a montré que *Lactobacillus rhamnosus* et *Lactococcus lactis* sont des souches à acidification rapide avec un pH final de 4. En revanche, *Lactobacillus plantarum* et *Leuconostoc mesenteroides* sont modérément acidifiants. En conclusion, la valorisation du lait de chamelle peut être développée en utilisant des souches lactiques indigènes spécifiques sélectionnées dans ce même écosystème.

Mots clés :

Lait de chamelle; Diversité; Bactéries lactiques; Identification; Fermentation; Génotypique; Technologie; Levain; Interaction; Sahara.