

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République algérienne démocratique et populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique
بلحاج بوشعيب جامعة عين تموشنت
Université–Ain Témouchent- Belhadj Bouchaïb
Faculté des Sciences et de Technologie
Département de Sciences de la Nature et de la Vie



Projet de Fin d'Etudes
Pour l'obtention du diplôme de Master en :Sciences Biologiques
Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie
Filière : Sciences Biologiques
Spécialité : Microbiologie Appliquée

Thème

**Caractérisation de bactéries lactiques isolées à partir du lait
de dromadaire**

Présenté Par :

Boumediene Mohamed Walid

Devant le jury composé de :

Dr. TAHARI Fatima Zohra	MCB	UAT B.B (Ain Témouchent)	Président
Dr. CHIBANI Hiba	MCB	UAT.B.B (Ain Témouchent)	Examineur
Dr. SAIDI Yasmine	MCB	UAT B.B (Ain Témouchent)	Encadrant

Année Universitaire 2022/2023

Remerciements



Avant toute chose, je remercie "الله" qui m'a accordé la patience, le courage et la volonté nécessaires pour mener à bien ce travail.

Je tiens à exprimer ma profonde reconnaissance envers mon encadrant de mémoire, **Madame SAIDI Yasmine**, pour m'avoir accordé sa pleine confiance tout au long de la réalisation de ce travail, j'ai été guidé par la qualité de ses conseils scientifiques, son soutien inébranlable, sa disponibilité constante et sa motivation sans faille. Grâce à elle, j'ai pu mener à bien mon travail à tous les niveaux.

Je remercie **Madame TAHARI Fatima Zohra** maitre de conférences B à l'université UATBB d'avoir accepté la présidence du jury de la soutenance.

Je remercie **Madame CHIBANI Hiba** maitre de conférences B à l'Université UATBB qui a accepté d'examiner ce modeste travail.

Je souhaite également exprimer ma plus profonde gratitude envers l'ensemble du personnel du laboratoire de biologie de l'École Supérieure des Sciences Biologiques d'Oran (ESSBO) et de Université d'ain témouchent de belhadj bouchaib - UATBB pour leur précieuse aide et leur patience tout au long de ma pratique.

À vous tous, MERCI



A mon père et à ma mère;

A mon père, son soutien moral constant, ses conseils précieux qui ont été d'une grande utilité tout au long de ma vie, ainsi que son encouragement illimité.

A ma maman, pour ses prières, son affection et son amour constants. Ces gestes ont été une source précieuse de courage et de force pendant les moments les plus difficiles de ma vie.

A mes frères et ma sœur;

Mes frère: Ayoub; Abdelmounaim.

ma sœur: Iman

A tous mes amis;

Tous mes amis et à tous ceux qui me sont chers ;

Zaki; Sofiene; Aymen; Moussa; Farho.

Table des matières

ملخص.....	I
Abstract.....	II
Résumé.....	III
Liste des abréviations	IV
Liste des figures.....	V
Liste des tableaux.....	VI
Introduction.....	1

Synthèse bibliographique

1. Lait de dromadaire	4
1.1. Le dromadaire	4
1.2. Lait de dromadaire	4
1.3. Caractéristiques physico-chimiques et nutritionnelle du lait de dromadaire	5
2. La flore microbienne.....	5
2.1. La flore indigène	5
2.2. La flore de contamination	6
3. Les bactéries lactiques (BL).....	7
3.1. Définition	7
3.2. Classification.....	7
3.3. Intérêt des bactéries lactiques	10
3.4. Propriétés des bactéries lactiques.....	12

Matériel et méthodes

1. Cadre de l'étude.....	16
2. Echantillonnage.....	16

Table des matières

4. Méthode	17
4.1. Pré-identification des souches lactiques : caractérisation morphologique	17
4.2. Caractérisation biochimique et physiologique.....	17
4.3. Caractérisation technologique	19

Résultats et discussion

1. Caractérisation morphologique.....	21
1.1. Observation macroscopique.....	21
1.2. Observation microscopique	21
2. Caractérisations biochimique et physiologique	22
2.1. Recherche de la catalase	22
2.2. Production de CO ₂ à partir de glucose.....	22
2.3. Résultat de l'hydrolyse de l'arginine	23
2.4. Test de croissance à 45 °C	24
2.5. Croissance à concentrations 4 % et 6,5 % de NaCl et Croissance à pH 4, pH 9,6 .	25
3. Caractérisation technologique.....	27
3.1. Activité protéolytique	27
3.2. Production d'exopolysaccharides (EPS).....	28
Conclusion	31
Références bibliographiques.....	32
Annexes	38

ملخص

حليب الإبل يعد مصدرًا هامًا لاختيار سلالات البكتيريا اللبنية الجديدة ذات أهمية صناعية. يتركز عملنا على توصيف 3 سلالات بكتيرية عزلت من حليب الجمل في الجزائر والبحث عن خصائصها التكنولوجية. تمكنت التقنيات الميكروبيولوجية من تحديد تمثيلها الأيضي التخمر، سلالتين (1 ، C3) حددت على أنها *hétérofermentaires* في شكل عصيات، سلالة واحدة (Ley 2) حددت على أنها *homofermentaire* في شكل مكورات. أظهرت السلالات طابعًا محبًا للحرارة من خلال النمو عند درجة حرارة 45 درجة مئوية، والقدرة على النمو في وسط شديد الملوحة وكذلك في وسط حمضي وقلوي. تم تقييم قدراتهم التكنولوجية أيضًا من خلال دراسة خصائصها التحليلية، وقدرتها على إنتاج ديكستران وكذلك إنتاج الأسيتوين.

أظهرت النتائج أن هذه السلالات البكتيرية اللبنية تتمتع بخصائص مثيرة للاهتمام مما يجعلها واعدة للاستخدام في تكنولوجيا الألبان.

الكلمات المفتاحية:

الإبل ، حليب الإبل ، بكتيريا حمض اللاكتيك ، التحديد الميكروبيولوجي ، الخصائص التكنولوجية.

Abstract

Camel's milk represents a significant source for the selection of new lactic acid bacterial strains of industrial interest. Our work focuses on the characterization of three bacterial strains isolated from Algerian camel milk and the investigation of their technological properties. Microbiological techniques were used to identify their fermentative metabolism, with two strains **(1, C3)** being heterofermentative bacilli and one strain **(LEY 2)** being homofermentative cocci. The 3 strains showed a thermophilic nature, growing at 45°C, their ability to grow in a hypersaline medium and their capacity to grow in an acid and basic medium. Their technological capabilities were also evaluated by studying their proteolytic activity, their ability to produce dextran and acetoin.

The results demonstrated that these lactic acid bacterial strains exhibit interesting characteristics, making them promising for use in dairy technology.

Keywords:

Dromedary, camel's milk, lactic acid bacteria, microbiological identification, technological properties.

Résumé

Le lait de dromadaire représente une source significative pour la sélection de nouvelles souches lactiques d'intérêt industriel.

Notre travail porte sur la caractérisation des 3 souches bactériennes isolées à partir du lait de dromadaire d'Algérie et la recherche de leurs propriétés technologiques. Les techniques microbiologiques ont permis d'identifier leur métabolisme fermentaire, 2 souches (**1, C3**) hétérofermentaires sous forme de bacille, une souche (**Ley 2**) homofermentaire sous forme de cocci. Les souches ont montré un caractère de thermophilie en poussant à une température de 45°C, la capacité de croître dans un milieu hypersalé ainsi que dans un milieu acide et alcalin. Leurs capacités technologiques ont également été évaluées en étudiant leur caractéristique protéolytique, leur capacité de produire du dextrane ainsi que la production d'acétoïne.

Les résultats ont démontré que ces souches bactériennes lactiques présentent des caractéristiques intéressantes, les rendant prometteuses pour une utilisation en technologie laitière.

Mots clés :

Dromadaire, lait de dromadaire, bactéries lactiques, identification microbiologique, propriétés technologiques.

Liste des abréviations

% : pourcentage.

°C : unités de l'échelle de température (degré Celsius).

BL : Bactérie lactique.

Cm : Centimètre.

CO2 : Le dioxyde de carbone.

EPS : ExoPolySaccharides.

FAO : Food and Agriculture Organization.

Kg : kilogramme.

L : Litre.

M : Mètre.

Mg : Milligramme.

mm : Millimètre.

OMS : Organisation Mondiale de la Santé.

UHT : Ultra Haute Température.

VP : Voges Proskauer.

Liste des figures

Figure 1: Répartition de la population de chameaux dans le monde (FAOSTAT, 2018; Ali et al., 2019).....	4
Figure 2: Dendrogramme phylogénétique de l'ordre des " Lactobacillales " au sein de la classe " Bacilli " (De Vos <i>et al.</i> , 2009).	8
Figure 3: Utilisation industrielle des bactéries lactiques (Florou-Paneri <i>et al.</i> , 2013)	11
Figure 4: Aspect de la culture bactérienne (A) : en milieu MRS solide. (B) : en milieu MRS liquide.	21
Figure 5: Observation microscopique des bactéries au G x100 (A) :Petites cellules arrondies en diplocoques, (B) : Les bacilles en amas ou en courtes chainettes.	22
Figure 6: Résultat de la recherche de la catalase (A) : test négatif (B) : témoin positif.....	22
Figure 7: Résultat du caractère fermentaire, (A) : production du CO ₂ , souche hétérofermentaire (B) : pas de production du CO ₂ , souche homofermentaire	23
Figure 8: Résultat de l'hydrolyse de l'arginine (A) : témoin négatif, (B) : souche ADH+, (C) : souche ADH-.	24
Figure 9: Résultat du test de croissance à 45 °C (A) : témoin négatif, (B) : résultat de bactérie thermotolérante.	25
Figure 10: (A) Croissance à concentrations de 4 % et 6,5 % de NaCl, (B) Croissance à pH 4 , pH 9,6.....	26
Figure 11: L'activité protéolytique a été observée sur un milieu PCA additionné de 2 % de lait écrémé stérile pour les trois souches testées.	28
Figure 12: Absence de production d'EPS sur milieu MSE.	29
Figure 13: Absence production d'acétoïne sur milieu Clark et Lubs.	30

Liste des tableaux

Tableau 1: Flore indigène du lait cru (VIGNOLA, 2002).....	6
Tableau 2: Principales espèces utilisées comme probiotiques (Robinson, 2002)	15
Tableau 3: Identification biochimiques et physiologiques des bactéries lactiques isolées à partir du lait cru de dromadaire.	27
Tableau 4: Résumé de certaines activités technologiques (activité protéolytique, production d'EPS, production d'acétoïne) par les bactéries lactiques isolées à partir du lait cru de dromadaire	30

Introduction

Introduction

Le dromadaire est reconnu pour sa remarquable résistance aux conditions de sécheresse qui prévalent dans les régions arides et semi-arides. Dans ces environnements difficiles, il présente des atouts exceptionnels pour la valorisation de ressources alimentaires limitées, ce qui en fait une espèce domestique précieuse. Il entretient une relation d'équilibre écologique avec les nomades, leur fournissant une source de viande, de laine et de lait (Ellouze, et Kamoun, 1989). Depuis des temps immémoriaux, le lait de dromadaire est une ressource alimentaire essentielle pour les populations nomades. Traditionnellement, il est consommé cru ou fermenté, jouant un rôle central dans leur alimentation.

Ce bioproduit est naturellement riche en vitamines, minéraux, protéines, glucides et immunoglobulines. Il est largement reconnu pour ses effets bénéfiques sur la santé, ce qui a suscité un intérêt considérable et de nombreuses études se concentrent sur sa caractérisation. Les résultats de ces études ont contribué à une utilisation croissante du lait de dromadaire à des fins thérapeutiques (Konuspayeva *et al.*, 2004).

Des études ont démontré que la fermentation du lait de dromadaire est principalement due à l'action des bactéries lactiques (BL) et des levures qui sont naturellement présentes dans cet écosystème (Pérez *et al.*, 2003). L'une des applications les plus significatives des BL est leur utilisation en tant que cultures starters pour la production d'aliments fermentés, en particulier dans l'industrie laitière. L'ajout direct de cultures starters sélectionnées aux matières premières a représenté une avancée majeure dans le processus de fabrication des aliments fermentés (de Vos, 2011, Gaspar *et al.*, 2013).

Ce travail vise à caractériser les BL isolées à partir de lait de dromadaire et à explorer leurs propriétés technologiques potentielles. L'objectif principal est de comprendre la diversité microbienne présente dans le lait de dromadaire et d'identifier les souches de BL qui pourraient être utilisées dans l'industrie laitière.

La première étape de cette étude consiste à identifier et à caractériser les BL cultivables isolées à partir de lait cru de dromadaire, en utilisant des méthodes phénotypiques classiques. La deuxième étape quant à elle, consiste à étudier et à évaluer le potentiel technologique des isolats sélectionnés.

La structure du manuscrit est organisée en quatre chapitres distincts : une synthèse bibliographique, une section détaillant les méthodologies utilisées dans cette étude, une partie

consacrée aux résultats et à leur discussion ainsi qu'une conclusion, et enfin, une annexe répertoriant les réactifs et les milieux de culture utilisés.

Synthèse bibliographique

1. Lait de dromadaire

1.1. Le dromadaire

Le dromadaire (*Camelus dromedarius*) est une espèce animale unique impérativement adaptée à l'environnement chaud et aride. Les chamelles produisent plus de lait pendant une période prolongée que autres espèces de bétail domestique dans les terres arides et les zones arides (Hashim *et al.*, 2009).

Dans des conditions désertiques, la production laitière quotidienne d'une chamelle varie de 3,5 L à 40 L sous gestion intensive. La composition chimique et le goût du lait de dromadaire sont grandement influencés par l'alimentation et la disponibilité de l'eau (Hashim *et al.*, 2009).

La **Figure 1** montre la répartition de la population de chameaux dans le monde.

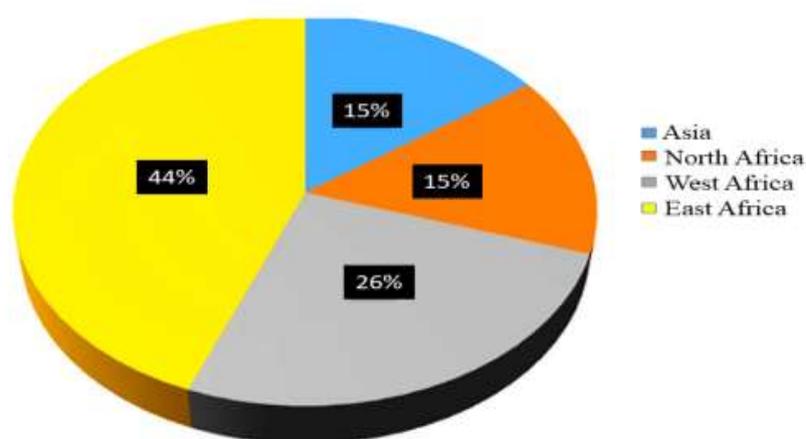


Figure 1: Répartition de la population de chameaux dans le monde (FAOSTAT, 2018; Ali *et al.*, 2019)

1.2. Lait de dromadaire

Le lait est une boisson largement utilisée et un élément indispensable de l'alimentation des grands population mondiale (Singh *et al.*, 2017).

Le lait est devenu une importante source de l'énergie alimentaire, les graisses et les protéines, ce qui le rend sain, en particulier pour les enfants et les personnes plus âgées. La production annuelle de lait de dromadaire dans le monde est estimée à 2 852 213 tonnes. Le premier producteur de lait de dromadaire est la Somalie avec 953 673 tonnes suivie du Soudan (FAOSTAT, 2018).

Le lait de dromadaire présente une couleur blanche opaque en raison de sa structure et de sa faible teneur en matière grasse. Il possède une légère douceur, accompagnée d'une touche d'acidité, parfois même une note salée et/ou amère. (Siboukeur, 2008). Il est mieux toléré que le lait des autres ruminants, augmentant potentiellement son attrait pour les consommateurs. Il contient également des vitamines, des minéraux et des immunoglobulines essentiels, conférant au lait des propriétés antioxydantes, antibactériennes et antivirales (Mahmoud *et al.*, 2022).

1.3. Caractéristiques physico-chimiques et nutritionnelle du lait de dromadaire

Le lait camelin est d'une couleur blanche opaque, Il est plus épais que le lait de vache et prend une consistance mousseuse lorsqu'il est légèrement secoué. Il est également connu pour son goût désagréable, qui peut varier en fonction du type de fourrage consommé et de la disponibilité en eau (Siboukeur, 2008).

À 20 °C, le lait de dromadaire montre une densité moyenne de 1,029 g cm⁻³ (Laleye *et al.*, 2008) et sa viscosité est de 1,72-2,04 MPa sec (Khaskheli *et al.*, 2005).

Le pH du lait de dromadaire frais (6,4 - 6,7) est légèrement inférieur à celui du lait de vache et est similaire à celui du lait de brebis (Singh *et al.*, 2017).

Le lait de dromadaire montre un point de congélation compris entre -0.57 °C et -0.6 °C. La valeur calorifique du lait camelin est inférieure (665 kcal/L) à celle du lait de vache (701 kcal/L), en raison de sa faible teneur en lactose. L'acidité titrable du lait frais de dromadaire, qui se situe entre les équivalents de 0,13 % à 0,16 % d'acide lactique, est légèrement inférieure à la valeur moyenne de 0,17 % pour le lait de vache. Le lait de dromadaire contient des quantités plus élevées de certaines vitamines et minéraux, notamment en vitamine C (24–52 mg/kg), mais contient aussi les Vitamines A, Vitamine D (Kamal M, Karoui R, 2017).

2. La flore microbienne

Les micro-organismes présents dans le lait peuvent être divisés en deux groupes principaux : **La flore indigène ou originelle et la flore contaminant (Vignola, 2002).**

2.1. La flore indigène

La flore originelle du lait et de ses dérivés est définie comme l'ensemble des micro-organismes présents dans le lait à la sortie du pis. Ces microorganismes, sont en relation étroite

avec l'alimentation, la race d'animale et d'autres facteurs. Les genres dominants de la flore originelle sont principalement des microorganismes mésophiles (Vignola, 2002).

Tableau 1: Flore indigène du lait cru (VIGNOLA, 2002)

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

2.2. La flore de contamination

La flore de contamination est l'ensemble des microorganismes ajouté au lait. Elle peut se composer d'une flore d'altération (La flore d'altération causera des défauts sensoriels de goût, d'arôme), et d'une flore pathogène (comme *Staphylococcus aureus* et les salmonelles) (VIGNOLA, 2002).

3. Les bactéries lactiques (BL)

3.1. Définition

Les bactéries lactiques (BL) sont un groupe diversifié de bactéries, mais avec des propriétés similaires produisant toutes de l'acide lactique en tant que produit final du processus de fermentation (**Ferreira 2012**).

Les BL sont des bactéries Gram positif, non sporulées, catalase négative, dépourvues de cytochromes, d'habitude non aérobies mais aéro-tolérantes, exigeantes, acido-tolérantes et strictement fermentative à l'acide lactique considéré comme le principal produit final pendant la fermentation du sucre.

Les BL sont généralement associées à habitats riches en nutriments, tels que divers aliments produits (lait, viande, légumes), mais certains sont aussi membres de la flore buccale, intestinale et vaginale des mammifères (**Whittenbury 1964**).

3.2. Classification

Les BL sont un groupe diversifié de bactéries qui se caractérisent par leur capacité à fermenter le lactose pour produire de l'acide lactique (**Hutkins, 2018**). Les BL sont classées en plusieurs genres et espèces en fonction de leurs caractéristiques biochimiques et physiologiques, ainsi que de leur utilisation industrielle (**Hutkins, 2018**).

Taxonomiquement, les espèces se trouvent dans le phylum des *Firmicutes*, la classe des *Bacilli* et l'ordre des *Lactobacillales*, et comprennent les genres *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Tetragenococcus*, *Aerococcus*, *Carnobacterium*, *Vagococcus* et *Weissella* (De Angelis *et al.*, 2007, Reddy *et al.*, 2008), qui sont tous des organismes à faible teneur en guanine-cytosine (GC) (<50%). Cependant, certains auteurs considèrent également les genres *Atopobium* et *Bifidobacterium*, du phylum *Actinobacteria*, comme appartenant au groupe de BL partageant certaines caractéristiques similaires (**Ferreira 2012, Wedajo 2015**). Les genres les plus couramment utilisés en industrie alimentaire sont *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, et *Bifidobacterium* (**Hutkins, 2018**).

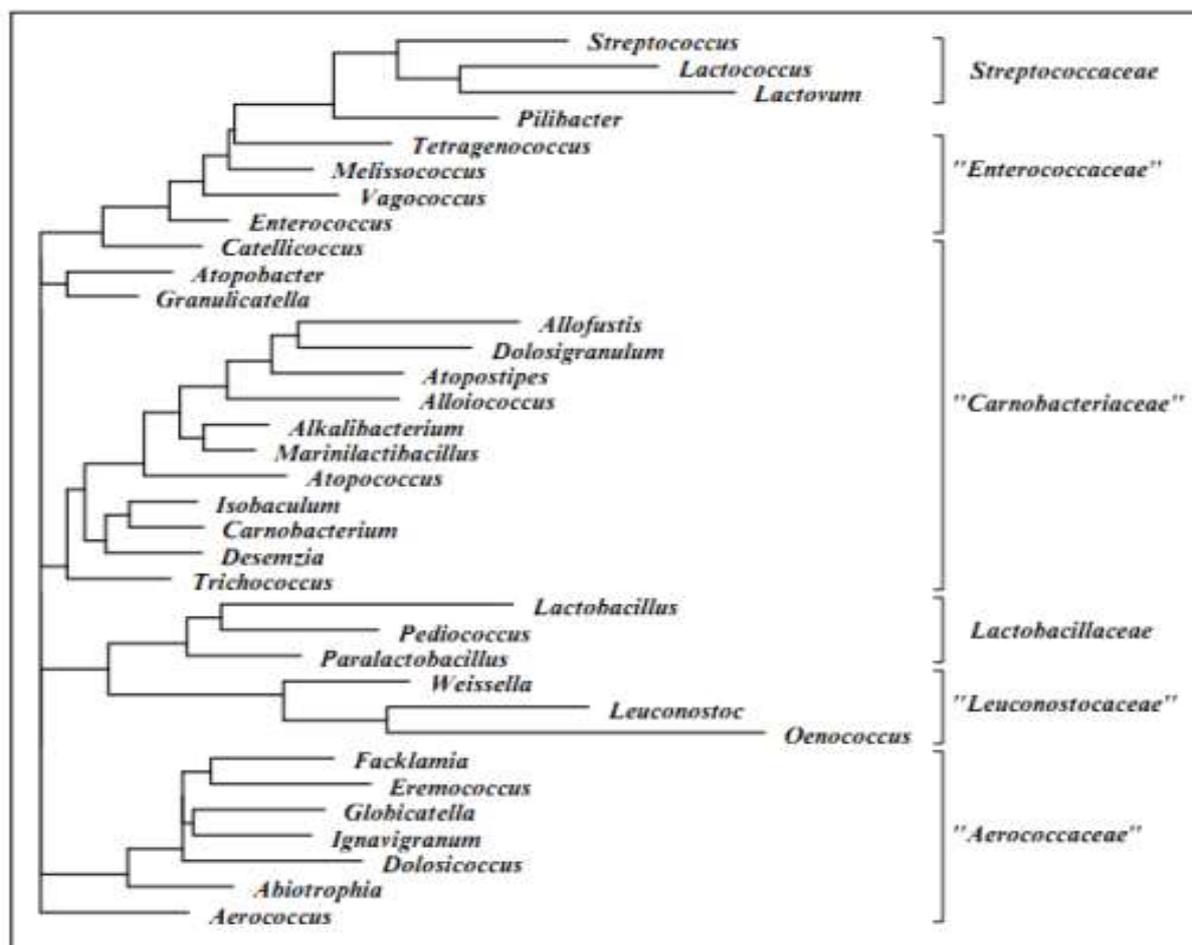


Figure 2: Dendrogramme phylogénétique de l'ordre des " Lactobacillales " au sein de la classe " Bacilli " (De Vos *et al.*, 2009).

3.2.1. Principaux genres de bactéries lactiques

Le lait et les produits laitiers sont associés à six genres de bactéries lactiques, à savoir *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Streptococcus* et *Enterococcus* (Bulut, 2003).

3.2.1.1. *Lactobacillus*

Lactobacillus est l'un des genres les plus importants des BL, appartenant à la famille des *Lactobacillaceae*, qui comprend également les genres *Paralactobacillus* et *Pediococcus*. Ce genre regroupe 96 espèces et 16 sous-espèces, qui sont adaptées à des environnements spécifiques et ne se trouvent généralement pas en dehors de leurs habitats naturels (De Vos *et al.*, 2009). Les lactobacilles sont généralement des bactéries immobiles, à Gram positif et à test de catalase négatif,

bien que certaines espèces puissent présenter une pseudo-catalase. Au microscope, les cellules de lactobacilles apparaissent généralement isolées, bien qu'elles puissent parfois être observées sous forme de chaînettes associées (Coeuret *et al.*, 2003 ; Dicks et Endo, 2009).

3.2.1.2. *Lactococcus*

Les cellules de *Lactococcus* se présentent sous forme de sphères ou d'ovoïdes, qu'elles soient isolées, en paires ou en chaînes. Elles sont non hémolytiques et peuvent être aéro-anaérobies facultatives ou microaérophiles. Toutes les espèces de *Lactococcus* sont mésophiles, ce qui signifie que leur température optimale de croissance se situe entre 10 et 40°C. Les *lactococcus* sont des bactéries homofermentaires capables de produire de l'acide lactique L (+) à partir du glucose (De Vos *et al.*, 2009).

3.2.1.3. *Leuconostoc*

Le genre *Leuconostoc* rassemble toutes les espèces de BL non sporulées, qui se caractérisent généralement par leur forme ellipsoïdale ou légèrement sphérique. Les cellules de *Leuconostoc* peuvent être observées soit isolées, soit associées en paires, mais elles ont également la capacité de former de courtes chaînettes (Dicks et Endo, 2009).

Certaines espèces de *Leuconostoc* ne possèdent pas la capacité d'hydrolyser l'arginine. De plus, en présence d'un milieu riche en saccharose, certaines espèces peuvent produire des dextrans. Les *leuconostoc* sont des bactéries hétérofermentaires (De Vos *et al.*, 2009).

3.2.1.4. *Pediococcus*

Ce genre fait partie de la famille des *Lactobacillaceae* et partage son habitat ainsi que plusieurs propriétés physiologiques avec les genres suivants : *Lactobacillus*, *Leuconostoc* et *Weissella*. Les cellules de *Pediococcus* se présentent sous forme de sphères, parfois ovoïdes. Toutes les espèces de *Pediococcus* ne sont pas capables d'hydrolyser l'arginine. Elles ne sont pas halophiles mais sont acidophiles. De plus, toutes les espèces de *Pediococcus* sont des bactéries homofermentaires (De Vos *et al.*, 2009).

3.2.1.5. *Streptococcus*

Cette espèce regroupe des cellules ovoïdes ou sphériques, disposées en paires ou en longues chaînes, et elles peuvent fonctionner comme des bactéries aéro-anaérobies facultatives (**De Vos et al., 2009**).

3.2.1.6. *Enterococcus*

Il fait partie de la famille des *Enterococcaceae*, où leurs colonies sont toujours de forme circulaire. Les cellules des *entérocoques* ont une forme ovoïde et peuvent être isolées, en paires ou en courtes chaînes. Certaines espèces sont mobiles grâce à la présence de flagelles rudimentaires. Toutes les espèces sont des homofermentaires et elles sont toutes dépourvues de la catalase (**De Vos et al., 2009**).

3.3. Intérêt des bactéries lactiques

Les LB ont été parmi les premières bactéries étudiées en raison de leur rôle dans les fermentations alimentaires ainsi que leur impact sur la santé humaine. Dès 1873, Lister a isolé la première culture bactérienne pure *Bacterium lactis*, témoignant de l'attention précoce que leur ont portée les scientifiques (**Stiles et Holzappel, 1997**).

Ce sont des micro-organismes utiles dans diverses industries, notamment dans la production de produits laitiers fermentés, de légumes lactofermentés, de viande et de poisson fermentés, ainsi que dans la production de boissons fermentées telles que la bière et le vin (**Hutkins, 2018**). Leur utilité est due à leur capacité à fermenter les sucres, produisant ainsi de l'acide lactique, ce qui peut améliorer la conservation des aliments, le goût et la texture (**Faye et Tamburello, 2008**).

En plus de leur utilisation dans l'industrie alimentaire, les BL ont également des effets bénéfiques sur la santé humaine. Certaines souches peuvent améliorer la digestion en produisant des enzymes qui dégradent les glucides et les protéines, tandis que d'autres peuvent renforcer le système immunitaire en produisant des substances antibactériennes et anti-inflammatoires (**Salminen et al., 1998**). De plus, elles ont également été étudiées pour leur potentiel dans la prévention et le traitement de diverses maladies, notamment les troubles gastro-intestinaux, le cancer et les infections. Par exemple, elles peuvent réduire la fréquence et la gravité des infections urinaires chez les femmes et ont également montré des effets bénéfiques dans le traitement de la maladie de Crohn (**Pessione, 2012**).

En conclusion, les BL présentent un intérêt important pour leur utilisation dans l'industrie alimentaire, ainsi que pour leurs effets bénéfiques sur la santé humaine (Hutkins, 2018). Les futures recherches sur les BL peuvent aider à mieux comprendre leur potentiel en tant que probiotiques et leur rôle dans la prévention et le traitement de diverses maladies (Pessione, 2012).

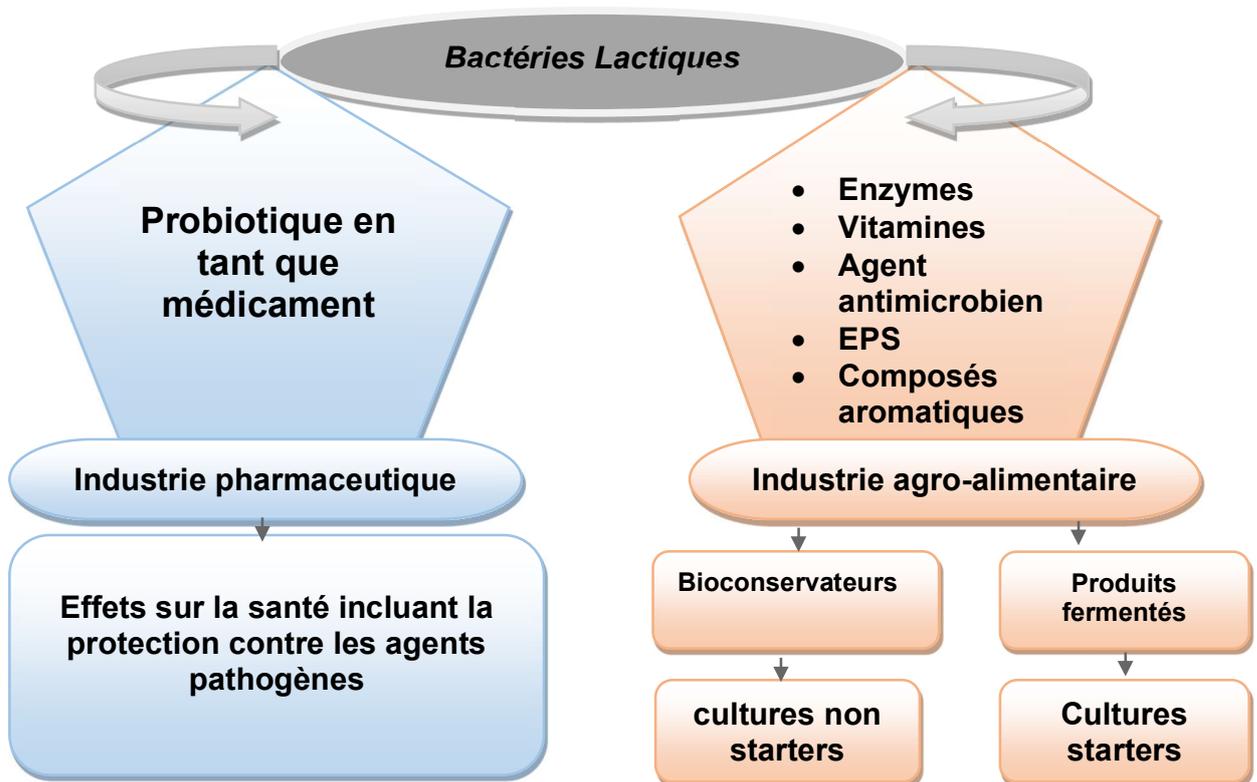


Figure 3: Utilisation industrielle des bactéries lactiques (Florou-Paneri *et al.*, 2013)

3.4. Propriétés des bactéries lactiques

Les propriétés fonctionnelles et technologiques des BL déterminent leur utilisation dans une application industrielle donnée :

3.4.1. Activité acidifiante

Chez les bactéries lactiques, l'activité acidifiante est une fonction métabolique cruciale qui implique la conversion du lactose ou d'autres sucres assimilables en acides organiques, induisant ainsi l'acidification du produit. Cette activité est un facteur déterminant pour la coagulation du lait et empêche également la prolifération de micro-organismes indésirables (**Montel *et al.*, 2005; Corrieu et Luquet, 2008**). Dans la plupart des produits laitiers, les bactéries utilisées ont un métabolisme homofermentaire car elles génèrent principalement de l'acide lactique à partir des sucres, produisant ainsi quatre moles d'acide lactique à partir d'une mole de lactose consommé (**Corrieu et Luquet, 2008**).

3.4.2. Activité gazogène

Les ferments renfermant des BL hétérofermentaires, principalement du genre *Leuconostoc*, ou capables de métaboliser le citrate, comme les souches de *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* var. *diacetylactis*, engendrant des quantités notables de CO₂. Cette production favorise la création d'ouvertures dans certains types de fromages, mais peut également entraîner des défauts dans d'autres variétés (Corrieu et Luquet, 2008).

3.4.3. Activité arômatizante

Les BL ont la capacité de synthétiser de nombreux composés aromatiques, principalement en utilisant le lactose, le citrate, les acides aminés et les matières grasses (Corrieu et Luquet, 2008). Les bactéries *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* et *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* produisent de l'acide lactique et acétique, conférant ainsi aux laits fermentés une saveur caractéristique. Les fromages affinés doivent leur arôme à différents métabolites tels que l'acétaldéhyde, le diacétyl, l'acétoïne et le 2-3-butylène-glycol qui sont produits par la décomposition du citrate par *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* var. *diacetylactis* et *Leuconostoc* spp. (Salminen *et al.*, 2004).

3.4.4. Propriétés enzymatiques

La teneur en azote du lait constitue l'un des principaux facteurs limitant la croissance des BL auxotrophes qui ont besoin d'un nombre variable d'acides aminés. Cependant, certaines espèces possèdent un système protéolytique qui leur permet d'utiliser les acides aminés issus de la dégradation des protéines et des peptides. Cette activité participe au développement de la texture et de la saveur dans les produits laitiers. L'activité lipolytique présente, de plus, un intérêt pour les applications fromagères (Corrieu et Luquet, 2008 ; Mozzi *et al.*, 2010).

3.4.5. Propriétés texturantes

Plusieurs souches de BL ont la capacité de produire des exopolysaccharides (EPS), qui sont des polysaccharides situés à l'extérieur de la paroi cellulaire. Ces EPS peuvent être attachés à la paroi cellulaire sous forme de capsule ou excrétés dans l'environnement extracellulaire sous forme de gomme (Devoyod *et Poullain*, 1988 ; Salminen *et al.*, 2004). Cette capacité est principalement utilisée pour améliorer les propriétés organoleptiques des produits laitiers frais fermentés. Ainsi la production d'EPS par les BL lors de leur développement dans le lait permet d'éviter

l'augmentation du taux protéique du produit ou d'avoir recours à l'ajout d'additifs tels que des texturants et des épaississants lors de la production de yaourt (Corrieu et Luquet, 2008).

3.4.6. Propriétés probiotiques des bactéries lactiques

Le terme "probiotique" provient de la combinaison des mots grecs "pros" et "bio", qui signifient littéralement "pour la vie". Ce terme a été créé en 1965 par Lilly et Stillwell. Aujourd'hui, la FAO et l'OMS définissent les probiotiques comme étant des microorganismes vivants administrés en quantités adéquates et ayant des effets bénéfiques pour la santé de l'hôte. En revanche, le terme "antibiotique" signifie "contre la vie (Robinson, 2002 ; Karna *et al.*, 2007). Généralement, les probiotiques agissent après avoir été en contact avec la cible en inhibant les bactéries indésirables, en neutralisant les produits toxiques, en améliorant la digestibilité alimentaire, en particulier du lactose, en diminuant le taux de cholestérol sérique ou en stimulant l'immunité humaine (Syukur *et al.*, 2013). Conformément à la définition établie par la FAO, les microorganismes probiotiques doivent survivre dans le tractus digestif et apporter des bénéfices à l'hôte. Étant donné que ces bactéries sont administrées par voie orale, elles doivent surmonter les obstacles du transit digestif, tels que le pH acide, les sels biliaires, les enzymes pancréatiques, etc. En outre, il est important de souligner que le terme « probiotique » ne s'applique qu'aux microorganismes vivants non pathogènes ayant des effets bénéfiques sur la santé (Millette *et al.*, 2008, Jankovic *et al.*, 2010).

Jusqu'à présent, les souches de bactéries lactiques ayant un rôle probiotique les plus couramment mentionnées dans la littérature sont celles appartenant aux genres *Bifidobacterium* et *Lactobacillus*, mais il convient également de mentionner les souches des genres *Enterococcus*, *Streptococcus* et *Saccharomyces* (Rokka et Rantamäki, 2010, Gbassi *et al.*, 2011). Les BL peuvent être consommées sous forme de compléments alimentaires ou sous forme d'aliments fermentés tels que le yaourt, le kéfir, et la choucroute, qui sont riches en probiotiques lactiques (Tamang *et al.*, 2016).

Tableau 2: Principales espèces utilisées comme probiotiques (Robinson, 2002)

<i>Lactobacilli</i>	<i>Bifidobacteria</i>	<i>Enterococci</i>	Autres
<i>Lb. Acidophilus</i>	<i>B. bifidum</i>	<i>E. faecium</i>	<i>Pediococcus acidilactis</i>
<i>Lb. casei</i>	<i>B. adolescentis</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>Escherichia coli</i>
<i>Lb. rhamnosus</i>	<i>B. breve</i>		<i>Saccharomyces</i> <i>Boulardii</i>
<i>Lb. gasseri</i>	<i>B. infantis</i>		
<i>Lb. salivarius</i>	<i>B. longum</i>		
<i>Lb. reuteri</i>	<i>B. lactis</i>		
<i>Lb. Fermentum</i>			
<i>Lb. plantarum</i>			

Matériel et méthodes

1. Cadre de l'étude

L'étude a été menée au niveau du laboratoire de microbiologie au sein du Département de Biologie, Faculté des Sciences et de la Technologie, Université d'Ain Témouchent Belhadj Bouchaib – UATBB (2022 – 2023), ainsi qu'au niveau de la plateforme génomique de l'ESSBO - École Supérieure en Sciences Biologiques d'Oran.

2. Echantillonnage

Au total, 3 souches lactiques préalablement isolées à partir du lait cru de chamelle ont été étudiées lors de ce projet. A savoir les souches **1**, **C3**, **LEY 2**. Ces dernières ont été par la suite acheminés au laboratoire pour être testées en respectant les conditions de transport et de conservation adéquates.

3. Matériels

a. Appareillage

Etuve , Autoclave, , Microscope optique, Vortex, Agitateur magnétique de paillasse chauffant , Balance de précision, Bain marie.

b. Produits chimiques

- **Milieux de culture** : gélose MRS, bouillon MRS, milieu M16 BCP, milieu PCA , milieu MSE, milieu Clark et Lubs
- **Colorants et les réactifs** : colorants de la réaction de Gram: (fuchsine, violet de gentiane, lugol), VP1,VP2
- **Autres** : H₂O₂ , l'huile à immersion, éthanol.

c. Matériel biologique

Les souches lactiques : 1 , C3 , Ley 2.

4. Méthode

4.1. Pré-identification des souches lactiques : caractérisation morphologique

4.1.1. Observation macroscopique

La morphologie des différents isolats a été déterminée par observation macroscopique (taille, l'aspect, forme et couleur) (Joffin et Leyral, 2006).

4.1.2. Observation microscopique

Coloration de Gram : D'après la composition de leur paroi, les bactéries peuvent être classées en deux groupes : les bactéries Gram positif, qui incluent les bactéries lactiques, et les bactéries Gram négatif.

La méthode de coloration de Gram décrite par Joffin et Leyral (2006) a été utilisée pour différencier ces deux groupes. Elle implique la fixation de l'échantillon sur une lame de verre, l'application d'un colorant violet de gentiane suivi d'un lavage, l'application d'un agent de fixation le lugol et d'un solvant décolorant (l'alcool), puis l'application d'un de la fuchsine comme contre colorant. Les bactéries Gram positif sont colorées en violet foncé, tandis que les bactéries Gram négatif sont colorées en rose.

4.2. Caractérisation biochimique et physiologique

4.2.1. Recherche de la catalase

La catalase est une enzyme qui accélère la décomposition du peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène par le biais de la réaction suivante :



Pour ce faire, une colonie isolée, est prélevée à partir du milieu de culture MRS gélosé et est émulsionnée avec une goutte d'eau oxygénée sur une lame en verre propre. Si des bulles d'air se forment, cela indique une réponse positive. Les bactéries qui ne produisent pas de catalase sont celles qui sont retenues (Boubekri et Ohta, 1996).

4.2.2. Production de CO₂ à partir du glucose

Le caractère homofermentaire ou hétérofermentaire peut être détecté dans le bouillon MRS sans citrate (Dworkin *et al.*, 2006). On distribue le milieu dans des tubes à essai contenant chacun

une cloche de Durham inversée remplie entièrement de bouillon. Une fois autoclavés, les tubes sont inoculés avec une culture bactérienne jeune et incubés pendant 24 à 48 h à 30°C. Les souches hétérofermentaires se développent et produisent du CO₂ qui s'accumule dans la cloche, tandis que les souches homofermentaires se développent sans produire de CO₂ (Milliere *et al.*, 1989).

4.2.3. Hydrolyse de l'arginine

La méthode utilisée pour étudier l'hydrolyse de l'arginine implique la mise en évidence de l'enzyme arginine dihydrolase et du substrat arginine dans des conditions expérimentales contrôlées. Nous inoculons des tubes contenant le milieu M16 BCP et nous les incubons à 30°C pendant 2 jours. (Bulut 2003 ; Meyer *et al.*, 2004).

La croissance des bactéries lactiques (BL) sur ce milieu révèle la fermentation du lactose, entraînant la production d'acide lactique. Cette production d'acide lactique provoque un changement de couleur de l'indicateur de pH au jaune. Cependant, les BL qui possèdent une activité de dihydrolase de l'arginine (ADH) vont métaboliser l'arginine et libérer du NH₄, qui a pour effet de neutraliser l'acide lactique produit. Cette neutralisation empêche le changement de couleur de l'indicateur de pH, maintenant ainsi la couleur initiale du milieu (Thomas, 1973).

4.2.4. Test de croissance à 45 °C

Toutes les souches ont été cultivées dans les tubes de bouillon MRS et incubées à une température de 45 °C pendant 48h. Le test de croissance à 45 °C est un protocole utilisé pour évaluer la capacité des bactéries lactiques à survivre et à se développer à des températures élevées (thermo-tolérance) (Badis *et al.*, 2005).

4.2.5. Croissance en milieu MRS liquide additionné de NaCl à 4 % et à 6,5 %

La tolérance des bactéries au sel a été évaluée en utilisant du bouillon MRS supplémenté de 40 g/L et 65 g/L de NaCl. Après inoculation et incubation à 30 °C pendant 2 jours, le développement des souches a été évalué en le comparant avec un tube non ensemencé incubé à la même température (Guessas et Kihal, 2004).

4.2.6. Croissance en milieu MRS liquide à pH 4 et pH 9,6 :

La capacité de croissance des micro-organismes à différents pH peut également être influencée par leur capacité à réguler le pH intracellulaire (**Foster JW. 1999**). Le bouillon MRS a été ajusté à différents pH en utilisant une solution de NaOH ou d'HCl, puis stérilisé avant d'être inoculé avec toutes les souches bactériennes étudiées.

4.3. Caractérisation technologique

4.3.1. Activité protéolytique : méthode qualitative

Pour détecter l'activité protéolytique, le milieu PCA a été ensemencé avec 2 % de lait écrémé stérile UHT. Après avoir déposé chaque culture jeune à la surface du milieu en utilisant la méthode du multipoint, l'incubation a été effectuée pendant 48 heures à 30 °C. L'activité protéolytique est mise en évidence par la présence d'un halo transparent autour de chaque point d'inoculation (**Moulay *et al.*, 2006, Bettache *et al.*, 2012**).

4.3.2. Production d'exopolysaccharides (EPS)

La production d'exopolysaccharides (EPS) à partir du saccharose peut être mise en évidence sur un milieu solide appelé MSE (**Mayeux *et al.*, 1962**). Les boîtes ont été ensemencées et incubées à une température de 30°C pendant une période allant de 24 à 48 heures. Les souches qui produisent du dextrane se distinguent par la formation de colonies larges, présentant une texture visqueuse et gluante (**Mayeux *et al.*, 1962, Zarour *et al.*, 2017, Benhoua *et al.*, 2019**).

4.3.3. Production d'acétoïne

La production d'acétoïne (acétyl-méthyl-carbinol) a été testée en utilisant le milieu Clark et Lubs. Les souches sont cultivées dans ce milieu et après une incubation de 24 à 48 heures, la réaction de Voges-Proskauer (VP) est réalisée (**Samelis *et al.*, 1994**).

Dans des tubes à hémolyse, on transfère 2 mL de cette culture, auxquels on ajoute 0,5 mL d'une solution de soude (NaOH) à 16 % préparée dans de l'eau distillée (VP1), ainsi que 0,5 mL de réactif α -naphtol à 6 % préparé dans de l'alcool absolu (VP2). Les tubes sont agités soigneusement, puis laissés au repos pendant 5 à 15 minutes à température ambiante. La production d'acétoïne est indiquée par la formation d'un anneau de couleur rose à la surface du

milieu. Un résultat positif au test de Voges-Proskauer (VP) indique que la souche possède la voie métabolique spécifique du butylène glycol pour la fermentation des hexoses (**Boumehira, 2010**).

Résultats et discussion

1. Caractérisation morphologique

1.1. Observation macroscopique

Les souches **1**, **C3**, **LEY 2** ont été revivifiées et cultivées dans le milieu MRS liquide et MRS solide.

L'examen macroscopique des colonies a révélé une variété d'aspects (de couleur blanchâtre, sous formes arrondies, bombées, lenticulaires) (**Fig. 4A**).

En milieu liquide, Dans la partie profonde du tube, les cultures présentent une apparence trouble et la partie supérieure reste claire, sans présenter de turbidité (**Fig. 4B**).

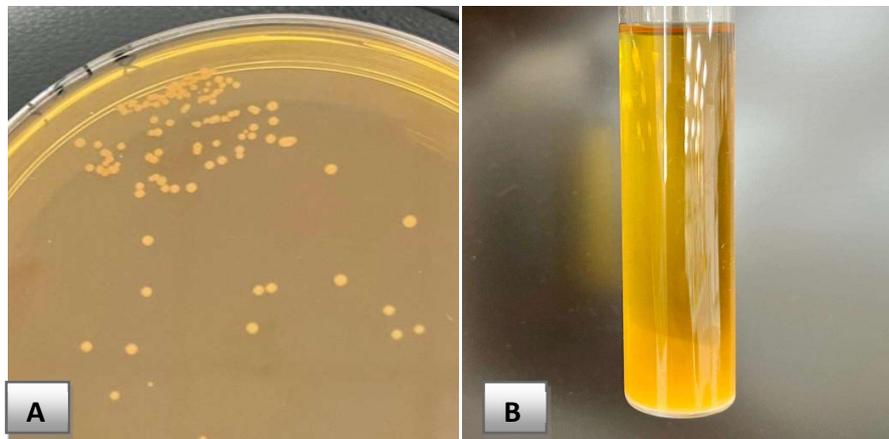


Figure 4: Aspect de la culture bactérienne (A) : en milieu MRS solide. (B) : en milieu MRS liquide.

1.2. Observation microscopique

L'observation microscopique des frottis préparés à partir de colonies, a révélé 2 types de cellules : des cocci, petites cellules arrondies et bacilles, bâtonnets courts à Gram positif. Les bacilles peuvent être disposés en amas ou en courtes chainettes. Les coques peuvent être isolées ou disposées en paires.

Les souches **1** et **C3** sont sous forme de bâtonnets (**Fig. 5B**), La souche **LEY 2** est sous forme de *cocci* (**Fig. 5A**).

Les BL sont un groupe diversifié de bactéries à Gram positif. Les genres de bactéries lactiques les plus couramment identifiés comprennent *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Streptococcus*. Par conséquent, des méthodes spécifiques et fiables sont nécessaires pour leur identification (**Salminen, et al., 2004**).

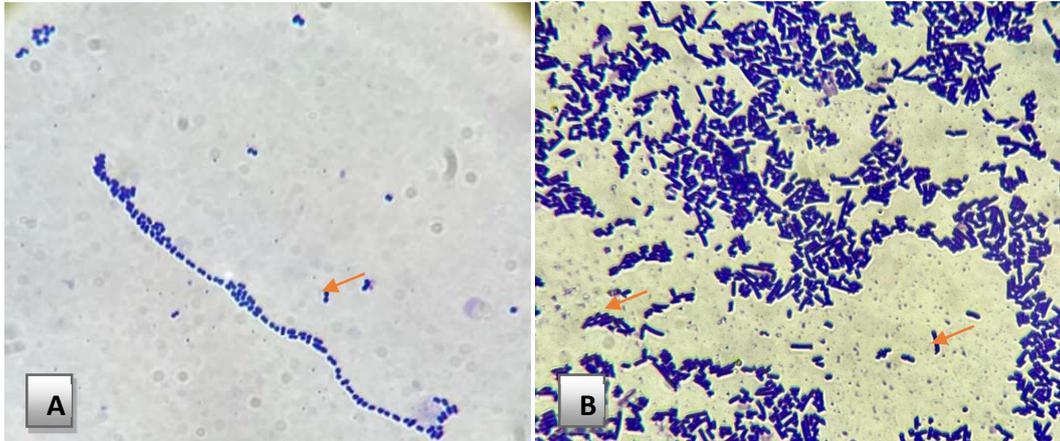


Figure 5: Observation microscopique des bactéries au G x100 (A) :Petites cellules arrondies en diplocoques, (B) : Les bacilles en amas ou en courtes chainettes.

2. Caractérisation biochimique et physiologique

2.1. Recherche de la catalase

Le test de la catalase a montré que les 3 souches n'avaient pas de catalase comme montré dans la (fig. 6A), ce qui nous oriente vers la famille des BL, étant des bactéries Gram positive et catalase négative (Whittenbury 1964). La (fig. 6B) représente le témoin positif.

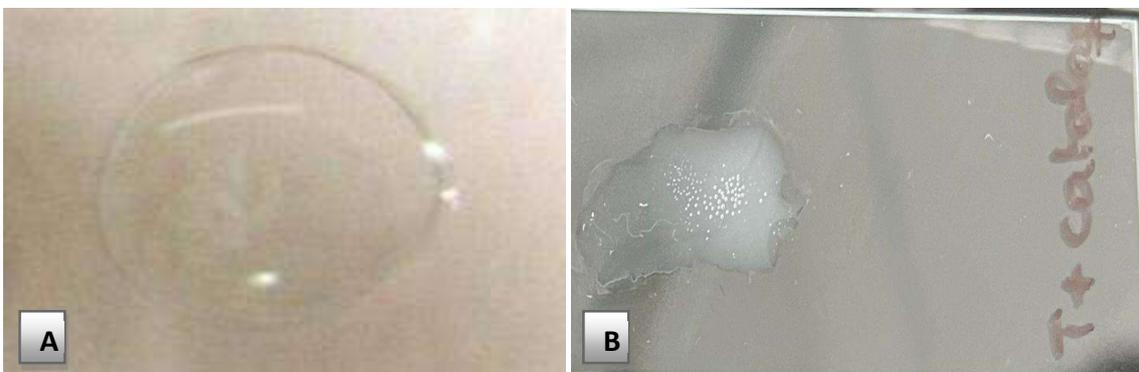


Figure 6: Résultat de la recherche de la catalase (A) : test négatif (B) : témoin positif

2.2. Production de CO₂ à partir de glucose

Le caractère fermentaire a été évalué sur bouillon MRS afin de s'assurer que le CO₂ produit lors de la fermentation du glucose provient de la voie hétérofermentaire.

Les résultats du test montrent que les souche 1 et C3 ont produit le CO₂ à partir du glucose et sont donc considérées comme des bactéries hétérofermentaires (Fig. 7A). La souche LEY 2 qui

n'a pas produit de CO₂ est quant à elle considérée comme homofermentaire comme montré dans la **figure 7B**.

Certaines espèces de BL sous forme de bacilles sont connues comme étant des lactobacilles hétérofermentaires parmi elles on peut citer : *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus brevis* montrant une forte production de CO₂, tandis que d'autres genres comme *Leuconostoc* ont présenté une production plus faible (**Salminen et al., 2004**).

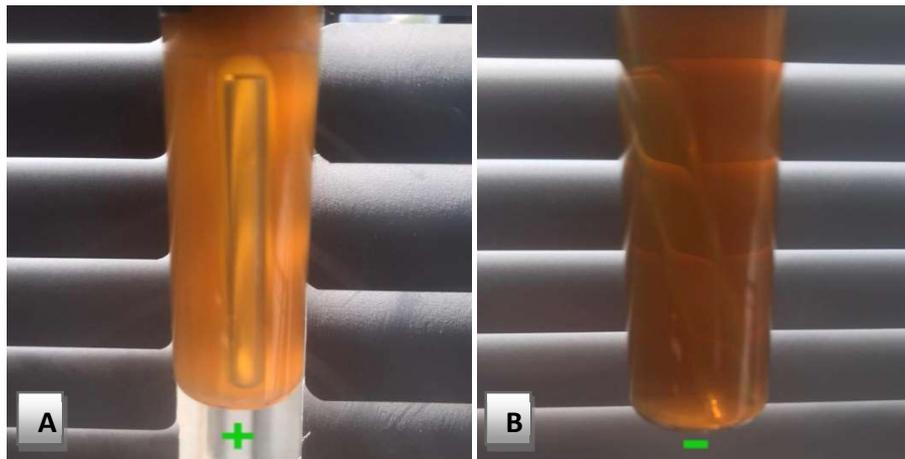


Figure 7: Résultat du caractère fermentaire, (A) : production du CO₂, souche hétérofermentaire (B) : pas de production du CO₂, souche homofermentaire

2.3. Résultat de l'hydrolyse de l'arginine

Le test d'hydrolyse de l'arginine permet d'évaluer la capacité des BL à hydrolyser ce substrat spécifique qu'est l'arginine.

Les résultats que nous avons obtenus, ont montré un changement de couleur dans une partie de la boîte de culture de la souche 1, montrant un virage vers le jaune. Celle-ci sera considérée comme ADH négative (**Fig. 8C**). A l'inverse, comme montré dans la (**fig. 8B**), les souches C3 et LEY 2 ou le milieu est resté coloré en violet sont considérés comme ADH positive. La **figure 8 A** représente le témoin négatif.

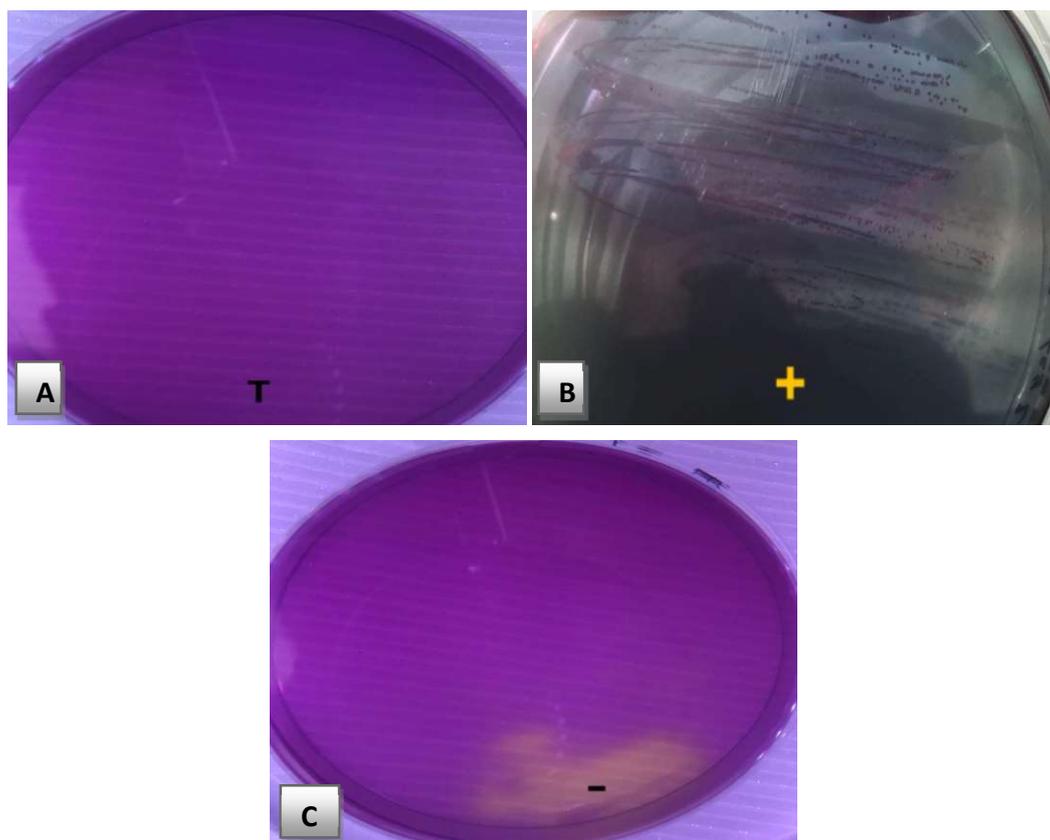


Figure 8: Résultat de l'hydrolyse de l'arginine (A) : témoin négatif, (B) : souche ADH+, (C) : souche ADH-.

2.4. Test de croissance à 45 °C

Le test de croissance à 45 °C a été réalisé pour évaluer la capacité des BL à survivre et à se développer à des températures élevées.

Dans notre étude, les milieux de cultures inoculés, après incubation, apparaissent troubles dans la partie profonde du tube (**Fig. 9B**). Donc les souches ont montré une leur tolérance à une température de 45 °C .

Le test de thermo-résistance permet d'évaluer la capacité des BL à survivre et à se développer à des températures élevées. Des études antérieures ont montré des souches de *Lactobacillus* et *streptococcus* ayant une bonne thermo-résistance, tandis que d'autres genres tel que *Leuconostoc* ont présenté des niveaux de thermo-résistance variables. Ces résultats soulignent l'importance de comprendre la thermo-résistance spécifique de chaque souche de BL pour des applications industrielles et alimentaires appropriées (**Settanni et al.,2008**).

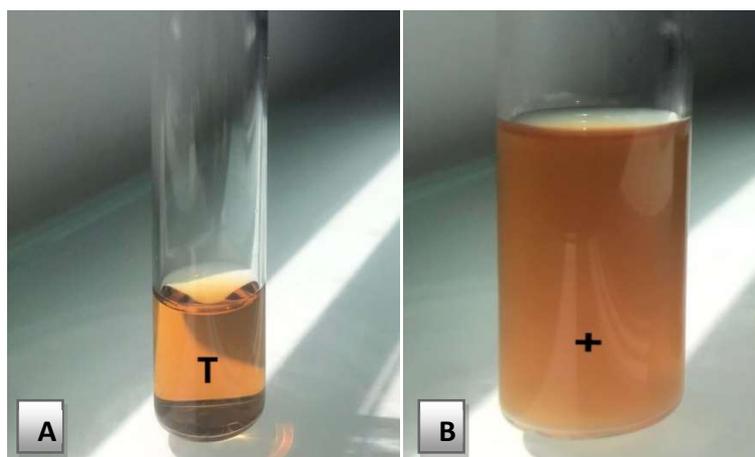


Figure 9: Résultat du test de croissance à 45 °C (A) : témoin négatif, (B) : résultat de bactérie thermotolérante.

2.5. Croissance à concentrations 4 % et 6,5 % de NaCl et Croissance à pH 4, pH 9,6

Toutes les souches testées ont montré la capacité à résister à une hypersalinité du milieu à des concentrations de NaCl de 4 % et 6,5 % (**Fig. 10A**). Ainsi que la capacité de croître en milieu acide pH 4 et milieu alcalin pH 9,6 (**Fig. 10B**). Ceci est démontré par l'apparition d'un trouble dans le milieu de culture après incubation.

Des études antérieures ont également rapporté, que certaines souches de BL sont mieux adaptées à des concentrations de sel et pH plus élevées, tandis que d'autres sont plus sensibles (**Ogunbanwo et al., 2003**).

En effet, des souches de BL ont été testées pour leur tolérance aux concentrations élevées de sel, ainsi que leur capacité à croître dans des milieux présentant un pH acide et un pH alcalin. Les souches comprenaient des lactobacilles et des *cocci* lactiques. Par exemple, l'étude de **Johnson et al. (2010)** a rapporté la présence de souches de *Lactobacillus* capables de croître dans des milieux contenant jusqu'à 8 % de NaCl. Et l'étude de **Salovuori et al. (2012)** a rapporté la présence de lactobacilles tolérants à l'acidité, capables de croître à des pH aussi bas que 3. L'étude de **Zhou et al. (2014)** a identifié des souches de cocci lactiques capables de croître à des pH alcalins.

En conclusion, les résultats obtenus dans cette étude mettent en évidence la diversité des lactobacilles et *cocci* lactiques capables de tolérer des concentrations élevées de sel, ainsi que des variations de pH acide et alcalin. Ces caractéristiques de tolérance sont importantes pour leur utilisation dans diverses applications industrielles et alimentaires. Des études futures pourraient se

concentrer sur la compréhension des mécanismes moléculaires de tolérance et l'optimisation de l'utilisation de ces souches dans des applications spécifiques (Zhou *et al.* 2014).

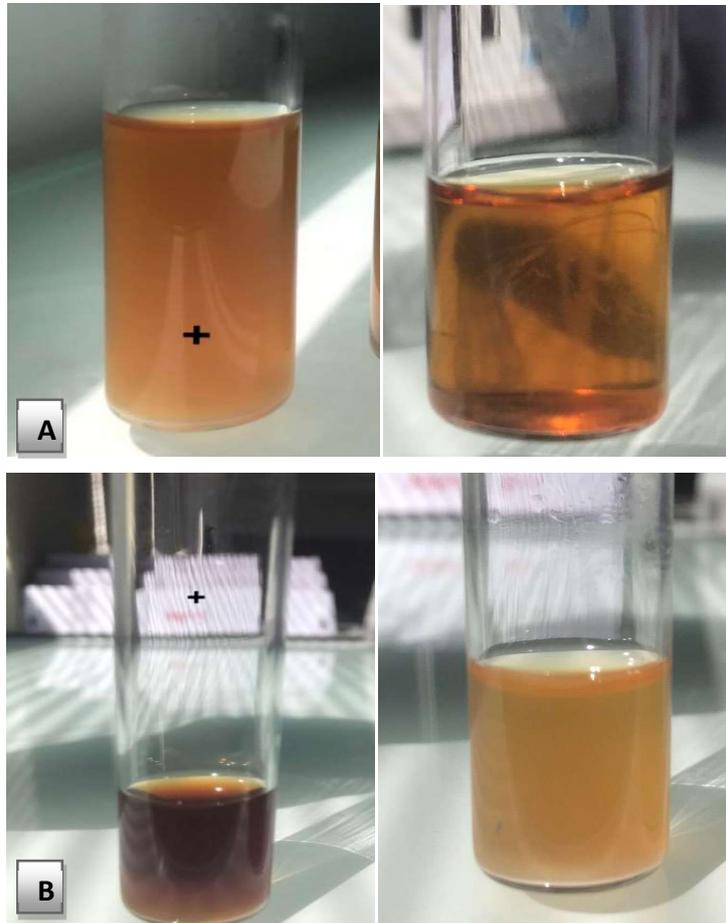


Figure 10: (A) Croissance à concentrations de 4 % et 6,5 % de NaCl, (B) Croissance à pH 4 , pH 9,6.

Le tableau ci-dessous montre un résumé des résultats biochimiques et physiologiques des souches isolées à partir du lait de dromadaire testées :

Tableau 3: Identification biochimiques et physiologiques des bactéries lactiques isolées à partir du lait cru de dromadaire.

Les souches	Forme	Catalase	CO ₂	ADH	45 °C	pH 4	pH 9,6	NaCl 4 %	NaCl 6,5%
1	Batônnets	-	+	-	+	+	+	+	+
C 3	Batônnets	-	+	+	+	+	+	+	+
Ley 2	Cocci	-	-	+	+	+	+	+	+

(-) : pas de croissance

(+) : Croissance

3. Caractérisation technologique

3.1. Activité protéolytique

Dans notre étude, l'activité protéolytique a été évaluée de manière qualitative en utilisant la croissance des bactéries lactiques en milieu PCA supplémenté de 2 % de lait écrémé UHT. Les résultats obtenus ont montré qu'aucune des souches testées n'avaient une activité protéolytique, se traduisant par l'absence de zone d'hydrolyse autour des colonies comme montré dans la (**Fig. 11**).

Des études antérieures ont montré que certaines souches présentaient une forte activité protéolytique, démontrant leur capacité à dégrader les protéines en peptides et en acides aminés. D'autres souches ont montré une activité protéolytique plus faible ou ont été incapables de dégrader efficacement les protéines (**Parvez et al., 2006**).

En conclusion, les résultats obtenus dans cette étude mettent en évidence la variabilité de l'activité protéolytique des BL. Certaines souches présentent une activité protéolytique élevée, tandis que d'autres ont une activité plus faible. Cette variation peut avoir des implications significatives dans le développement et l'utilisation de ces souches dans l'industrie alimentaire. Des recherches supplémentaires sont nécessaires pour approfondir notre compréhension de l'activité protéolytique des BL et pour exploiter pleinement leur potentiel dans diverses applications (**Ogunbanwo et al., 2003**).

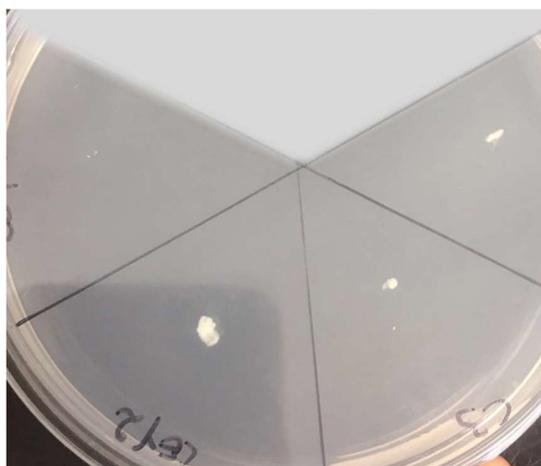


Figure 11: L'activité protéolytique a été observée sur un milieu PCA additionné de 2 % de lait écrémé stérile pour les trois souches testées.

3.2. Production d'exopolysaccharides (EPS)

La capacité de production d'EPS par les souches a été évaluée en utilisant le milieu MSE (contenant 10% de saccharose). Les souches testées étaient incapables de produire des EPS et s'est traduite par l'absence de colonies gluantes sur le milieu MSE (**Fig. 12**).

Des études ont rapporté, que des niveaux variables de production d'EPS existent entre les différentes souches, où certaines présentant une production plus élevée que d'autres (**Looijesteijn, et al., 2001**). D'autres études ont également rapporté la production d'EPS par d'autres souches de BL telles que les souches de *Leuconostoc mesenteroides*, ainsi que des souches de *Lactobacillus plantarum* montrant ainsi que cette capacité est répandue parmi les différentes espèces (**Wang et al., 2019**).

De plus, les EPS produits par les BL ont également été associés à des effets bénéfiques pour la santé. Ils peuvent agir comme des prébiotiques, favorisant la croissance des bactéries bénéfiques dans le microbiote intestinal et contribuant ainsi à l'équilibre de la flore intestinale (**Hernandez-Hernandez et al., 2012**).

En conclusion, les BL ont la capacité de produire des exopolysaccharides (EPS), ce qui peut avoir un impact significatif sur les propriétés texturales et viscosité des produits alimentaires fermentés. La production d'EPS offre des avantages tant au niveau de la qualité des produits que de leur impact sur la santé. Cependant, des études supplémentaires sont nécessaires pour mieux

comprendre les mécanismes de production d'EPS et pour optimiser leur utilisation dans l'industrie agroalimentaire (**Hernandez-Hernandez *et al.*, 2012**).



Figure 12: Absence de production d'EPS sur milieu MSE.

3.2.1. Production d'acétoïne

La production d'acétoïne est démontrée par l'apparition d'un anneau rose dans le bouillon Clark et Lubs après ajout des réactifs VP1 et VP2, conformément à la méthode décrite par Clark et Lubs (**Boumehira, 2010**).

Les résultats obtenus ont révélé qu'aucun anneau rose distinctif n'a été observé dans le bouillon (**Fig. 13**). Ce qui suggère une absence de production d'acétoïne par les 3 souches de BL étudiées.

Des études ont rapporté des différences significatives dans la production d'acétoïne entre différentes souches de BL. Par exemple, une étude menée par **Montville et al. (1987)** a montré des variations importantes dans la production d'acétoïne par différentes souches de *Lactobacillus*.

L'absence de production d'acétoïne peut être attribuée à plusieurs facteurs, tels que la souche spécifique utilisée, les conditions de culture.

La production d'acétoïne par les BL présente un intérêt majeur dans l'industrie agroalimentaire. Son rôle dans l'amélioration de l'arôme, de la saveur, de la qualité et de la conservation des produits alimentaires fermentés en fait un élément clé de nombreux processus de fabrication (**Xiong et al., 2017**). Une meilleure compréhension des mécanismes de production d'acétoïne et l'optimisation de cette production ouvrent de nouvelles perspectives pour l'industrie alimentaire et la création de produits innovants et de haute qualité.

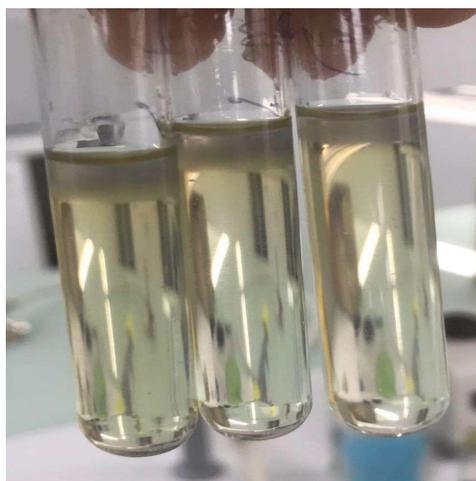


Figure 13: Absence production d'acétoïne sur milieu Clark et Lubs.

Le tableau ci-dessous résume les différents résultats obtenus lors de la recherche d'activité protéolytique :

Tableau 4: Résumé de certaines activités technologiques (activité protéolytique, production d'EPS, production d'acétoïne) par les bactéries lactiques isolées à partir du lait cru de dromadaire

Les souches	Activité protéolytique	Production d'EPS	Production d'acétoïne
1	-	-	-
C 3	-	-	-
Ley 2	-	-	-

(-): Production négative

(+): Production positive

Conclusion

Conclusion

Le lait frais de dromadaire et ses produits représentent une ressource précieuse sur le plan nutritionnel, en particulier dans les régions arides. Les variations observées dans sa composition sont liées à plusieurs facteurs, qui influencent la microflore lactique et le microbiote du lait de dromadaire. La poursuite de recherches dans ce domaine contribuera à une meilleure compréhension de la valeur nutritionnelle et des propriétés du lait de dromadaire, ainsi qu'à l'amélioration de sa production et de sa qualité pour répondre aux besoins des consommateurs.

Ce travail a porté sur la caractérisation des BL isolées à partir du lait cru de dromadaire et la recherche de leurs propriétés technologiques. En utilisant des méthodes microbiologiques classiques telles que l'analyse de la morphologie, de la physiologie et de la biochimie des différents isolats.

Nous avons constaté que ces souches bactériennes présentent des caractéristiques physiologiques qui en font des candidats prometteurs pour leur utilisation en technologie laitière. Cependant, afin de valoriser ces travaux, des expériences complémentaires sont nécessaires, notamment la mise en place de méthodes génotypiques pour assurer une identification fiable de ces isolats ainsi que d'autres tests technologiques. Ces études approfondies permettront d'évaluer et d'optimiser les propriétés sensorielles apportés potentiellement par ces bactéries aux produits laitiers, ouvrant ainsi de nouvelles perspectives quant à une éventuelle utilisation commerciale.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- Badis, A., Laouabdia-Sellami, N., Guetarni, D., Kihal, M. & Ouzrout, R. 2005. Caractérisation phénotypique des bactéries lactiques isolées à partir de lait cru de chevre dedeux populations caprines locales" arabia et kabyle". Sciences & Technologie. 30-37.
- Benhoua, I. S., Heumann, A., Rieu, A., Guzzo, J., Kihal, M., Bettache, G., Champion, D., Coelho, C. & Weidmann, S. 2019. Exopolysaccharide produced by *Weissella confusa*: Chemical characterisation, rheology and bioactivity. *International Dairy Journal*, 90, 88-94.
- Bettache, G., Fatma, A., Miloud, H. & Mebrouk, K. 2012. Isolation and identification of lactic acid bacteria from Dhan, a traditional butter and their major technological traits. *World Applied Sciences Journal*, 17, 480-488.
- Boubekri, K., Ohta, Y. (1996). Identification of lactic acid bacteria from Algerian traditional cheese, el-klila. *Journal of Science and Food Agriculture*, 70: 501-505.
- Boumehira, Z. A. 2010. Identifiction et caractérisation technologique et fonctionnelle des souches *Lactobacillus plantarum* isolées du lait cru de chèvre et de chamelle. Université Oran1-Ahmed Ben Bella
- Bulut, Ç. (2003). Isolation and molecular characterization of lactic Acid bacteria from cheese. Master of science. Izmir, Turkey
- Coeuret V., Dubernet S., Bernardeau M., Gueguen M., et Vernoux J., (2003). Isolation, characterisation and identification of lactobacilli focusing mainly on cheeses and other dairy products. *Lait*, 83 (4): 269-306
- Corrieu G., Luquet, F. M. (2008). Bactéries lactiques de la génétique aux ferments. Lavoisier, Paris.
- De Angelis, M., R. Di Cagno, G. Gallo, M. Curci, S. Siragusa, C. Crecchio, E. Parente and M. Gobbetti. 2007. Molecular and functional characterization of *Lactobacillus sanfranciscensis* strains isolated from sourdoughs. *Int. J. Food Microbiol.* 114: 69–82.
- De Vos, P., Garrity, G. M., Jones, D., Krieg, N. R., Ludwig, W., Rainey, F. A., Schleifer, K. H., Whitman, W. B. (2009). *Bergey's manual of Systematic Bacteriology Second Edition Volume Three: The Firmicutes*. Springer Dordrecht Heidelberg, USA
- De Vos, W. M. Systems solutions by lactic acid bacteria: from paradigms to practice. *Microbial cell factories*, 2011. BioMed Central, S2.
- Devoyod, J.J., Poullain, F. (1988). Les *Leuconostocs*. Propriétés: leur rôle en technologie laitière. *Le Lait*, 68: 249- 279.

Références bibliographiques

- Dicks L.M.T., et Endo A., (2009) Taxonomic Status of Lactic Acid Bacteria in Wine and Key Characteristics to Differentiate Species. *S. Afr. J. Enol Vitic.*, 30, (1):72-90
- Dworkin, M., Falkow, S., Rosenberg, E., Schleifer, K. H., Stackebrandt, E. (2006). *The prokaryotes “third edition”: A handbook on the Biology of bacteria: Firmicutes, Cyanobacteria.* Springer, Singapore
- Ellouze, S., Kamoun, M. (1989). Évolution de la composition du lait de dromadaire en fonction du stade de la lactation. *Options Méditerranéennes*, 6: 307-311
- FAOSTAT. (2018). Camel milk production in 2017, Livestock primary/Regions/World list/Production Quantity (pick lists). Retrieved from https://en.wikipedia.org/wiki/Camel_milk, Accessed on February 23, 2022
- Faye, T., & Tamburello, A. (2008). Fermented milks and milk products as functional foods—A review. *Critical reviews in food science and nutrition*, 48(7), 578-590.
- Ferreira, C.L.L.F. 2012. Grupo de bactérias lácticas e aplicação tecnológica de bactérias probióticas. pp. 1–27. In: Ferreira, C.L.L.F. (ed.). *Prebióticos e Probióticos – Atualização e Prospecção.* Rubio, Rio de Janeiro, Brasil.
- Florou-Paneri, P., Christaki, E. & Bonos, E. 2013. Lactic acid bacteria as source of functional ingredients. *Lactic Acid Bacteria-R & D for Food, Health and Livestock Purposes.* IntechOpen.
- Foster JW. 1999. When protons attack: microbial strategies of acid adaptation. *Curr Opin Microbiol* 2(2):170-174.
- Gaspar, P., Carvalho, A. L., Vinga, S., Santos, H. & Neves, A. R. 2013. From physiology to systems metabolic engineering for the production of biochemicals by lactic acid bacteria. *Biotechnology advances*, 31, 764-788.
- Gbassi, G. K., Vandamme, T., Yolou, F. S. & Marchioni, E. 2011. In vitro effects of pH, bile salts and enzymes on the release and viability of encapsulated *Lactobacillus plantarum* strains in a gastrointestinal tract model. *International Dairy Journal*, 21, 97-102
- Guessas, B., Kihal M. (2004). Characterization of lactic acid bacteria isolated from Algerian arid zone raw goats' milk. *African Journal of Biotechnology*, 3: 339-342.
- Hashim, I. B., Khalil, A. H., & Habib, H. (2009). Quality and acceptability of a set-type yogurt made from camel milk. *Journal of Dairy Science*, 92(3), 857-862

Références bibliographiques

- Hernandez-Hernandez, O., Torrestiana-Sanchez, B., & Ruiz-Teran, F. (2012). Exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria and their health benefits: A review. *Food and Nutrition Sciences*, 3(09), 1262-1268.
- Hutkins, R. W. (2018). *Microbiology and Technology of Fermented Foods*. John Wiley & Sons.
- Jankovic, I., Sybesma, W., Phothirath, P., Ananta, E. & Mercenier, A. 2010. Application of probiotics in food products—challenges and new approaches. *Current Opinion in Biotechnology*, 21, 175-181.
- Joffin, J. N., Leyral, G. (2006). *Microbiologie technique « Tome 1 »: Dictionnaire des techniques*. CRDP Aquitaine, Bordeaux.
- Johnson, M. C., & Larsen, C. N. (2010). Salt tolerance among lactic acid bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, 76(4), 1042-1047.
- Kamal M, Karoui R. Monitoring of mild heat treatment of camel milk by front-face fluorescence spectroscopy. *LWT- Food Science and Technology*. 2017;79:586-593. DOI: 10.1016/j.lwt.2016.11.013
- Karna, B.K.L., Emata, O.C. Barraquio, V.L. (2007). Lactic acid and probiotic bacteria from fermented and probiotic dairy products. *Science Diliman*, 19: 23-34.
- Khaskheli M, Arain MA, Chaudhry S, Soomro AH, Qureshi TA. 2005. Physico-chemical quality of camel milk. *Journal of Agriculture and Social Sciences* 2, 164-166.
- Konuspayeva, G., Loiseau, G., Faye, B. (2004). La plus-value "santé" du lait de chamelle cru et fermenté: l'expérience du Kazakhstan. *Rencontre Recherche Ruminants*, 11: 47-50.
- Laleye, L., Jobe, B., & Wasesa, A. (2008). Comparative study on heat stability and functionality of camel and bovine milk whey proteins. *Journal of Dairy Science*, 91(12), 4527-4534.
- Looijesteijn, P. J., Boels, I. C., Kleerebezem, M., & Hugenholtz, J. (2001). Regulation of exopolysaccharide production by *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* by the sugar source. *Applied and Environmental Microbiology*, 67(8), 369-377.
- Mahmoud Kandeel and Wael El-Deeb., The Application of Natural Camel Milk Products to Treat Autism-Spectrum Disorders: Risk Assessment and Meta-Analysis of Randomized Clinical Trials, 2022

Références bibliographiques

- Mayeux, J., Elliker, P. & Sandine, W. Selective medium for detecting *Leuconostoc* organisms in mixed-strain starter cultures. *Journal of Dairy Science*, 1962. American Dairy Science Association 1111 N DUNLAP AVE, SAVOY, IL 61874, 655-&
- Meyer, A., Deiana, J., Bernard, A. (2004). *Cours de microbiologie générale avec problèmes et exercices corrigés*. Doin, France.
- Millette, M., Luquet, F.-M., Ruiz, M. T. & Lacroix, M. 2008. Characterization of probiotic properties of *Lactobacillus* strains. *Dairy Science and Technology*, 88, 695-705
- Milliere J.B., Mathot A.G., Schmitt P., et Divie C., (1989). Phenotypic characterization of *Leuconostoc* species. *Journal of Applied Bacteriology*, 67: 529-542 .
- Montel, M. C., Béranger, C., Bonnemaire, J. (2005). *Les fermentations au service des produits de terroir*. INRA, Paris
- Montville T.J., Meyer M.E., Hsu A.H.M. And Huang G.T.C., 1987. High pressure liquid chromatography and wide bore capillary gas-liquid chromatography methods for quantification of acetoin and diacetyl from bacterial cultures. *Journal of microbiological methods* 7: 1- 8
- Moulay, M., Aggad, H., Benmechernene, Z., Guessas, B., Henni, D. & Kihal, M. 2006. Cultivable lactic acid bacteria isolated from Algerian raw goat's milk and their proteolytic activity. *World Journal of Dairy Food and Sciences*, 1, 12-18.
- Mozzi, F., Raya, R. R., Vignolo, G. M. (2010). *Biotechnology of lactic acid bacteria: Novel applications*. Blackwell publishing, Singapore.
- Ogunbanwo, S. T., Sanni, A. I., & Onilude, A. A. (2003). Characterization of bacteriocin produced by *Lactobacillus plantarum* F1 and *Lactobacillus brevis* OG1. *African Journal of Biotechnology*, 2(8), 273-281.
- Parvez, S., Malik, K. A., Kang, S. A., & Kim, H. Y. (2006). Probiotics and their fermented food products are beneficial for health. *Journal of Applied Microbiology*, 100(6), 1171-1185.
- Pérez, G., Cardell, E. & Zárata, V. 2003. Technological characterization of lactic acid bacteria from Tenerife cheese. *International journal of food science & technology*, 38, 537-546
- Pessione, E. (2012). Lactic acid bacteria contribution to gut microbiota complexity: lights and shadows. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 2, 86.
- Reddy, G., M.D. Altaf, B.J. Naveena, M. Venkateshwar and E.V. Kumar. 2008. Amyolytic bacterial lactic acid fermentation—a review. *Biotechnol. Adv.* 26: 22–34

Références bibliographiques

- Robinson, R. K. (2002). Dairy Microbiology handbook: the Microbiology of milk and milk products. John Wiley and Sons, Inc., New York.
- Rokka, S. & Rantamäki, P. 2010. Protecting probiotic bacteria by microencapsulation: challenges for industrial applications. *European Food Research and Technology*, 231, 1-12.
- Salminen, S., Bouley, C., Boutron-Ruault, M. C., Cummings, J. H., Franck, A., Gibson, G. R., ... & Roberfroid, M. (1998). Functional food science and gastrointestinal physiology and function. *British Journal of Nutrition*, 80(S1), S147-S171.
- Salminen, S., von Wright, A., & Ouwehand, A. (2004). Lactic acid bacteria: microbiology and functional aspects. CRC Press.
- Salovuori, N., & Salminen, S. (2012). Acid tolerance of *Lactobacillus* species: mechanisms and potential applications. *FEMS Microbiology Reviews*, 36(5), 831-846.
- Samelis, J., Maurogenakis, F. & Metaxopoulos, J. 1994. Characterisation of lactic acid bacteria isolated from naturally fermented Greek dry salami. *International Journal of Food Microbiology*, 23, 179-196.
- Settanni, L., & Corsetti, A. (2008). Application of bacteriocins in vegetable food biopreservation. *International Journal of Food Microbiology*, 121(2), 123-138.
- Siboukeur, O. (2008). Etude du lait camelin collecté localement: caractéristiques physicochimiques et microbiologiques; aptitudes à la coagulation. Thèse de doctorat, Institut national agronomique el-Harrach, Alger.
- Singh, R., Mal, G., Kumar, D., Patil, N., & Pathak, K. (2017). Camel milk: an important natural adjuvant. *Agricultural Research*, 6(4), 327-340.
- Stiles M.E., et Holzappel W. H.,(1997). Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy. *International Journal of Food Microbiology*, 36 : 1- 29
- Syukur, S., Bisping, B., Noli, Z. A. & Purwati, E. 2013. Antimicrobial properties and Lactase activities from selected probiotic *Lactobacillus brevis* associated with green cacao fermentation in West Sumatra, Indonesia. *J Probiotics Health*, 1
- Tamang J. P., Watanabe K., et Holzappel W.H., (2016). Review: Diversity of Microorganisms in Global Fermented Foods and Beverages. *Frontiers in Microbiology*, 7:1-28.
- Tamang J. P., Watanabe K., et Holzappel W.H., (2016). Review: Diversity of Microorganisms in Global Fermented Foods and Beverages. *Frontiers in Microbiology*, 7:1-28.

Références bibliographiques

- Thomas. T.D. (1973). Agar medium for differentiation of *Streptococcus cremoris* from the other bacteria”, *N.Z.J. Dairy.Sci. Technol*, 8, pp. 70-71
- VIGNOLA C.(2002). *Science et technologie du lait* éd. Presses internationales polytechnique
- Wang, Z., Wang, X., Shi, Y., & Wang, Y. (2019). Production and characterization of exopolysaccharides produced by *Lactobacillus plantarum* strains isolated from traditional Chinese fermented foods. *Carbohydrate polymers*, 219, 157-164.
- Wedajo, B. 2015. Lactic acid bacteria: benefits, selection criteria and probiotic potential in fermented food. *J. Prob. Health*. 3(2)
- Whittenbury R. 1964. Hydrogen peroxide formation and catalase activity in the lactic acid bacteria. *Journal of General Microbiology* 35, 13-26
- Xiong, T., Xie, M., & Bu, D. (2017). Enhanced production of acetoin and 2,3-butanediol by metabolically engineered *Lactococcus lactis*. *Frontiers in microbiology*, 8, 1982.
- Zarour, K., Llamas, M. G., Prieto, A., Ruas-Madiedo, P., Dueñas, M. T., De Palencia, P. F., Aznar, R., Kihal, M. & Lopez, P. 2017. Rheology and bioactivity of high molecular weight dextrans synthesised by lactic acid bacteria. *Carbohydrate polymers*, 174, 646-657.
- Zhou, X., Kong, B., & Feng, X. (2014). Biotechnological applications and potential of lactic acid bacteria and their bacteriocins for flavor development in meat products. *Trends in Food Science & Technology*, 39(2), 135-147.

Annexes

Annexe 1: Milieux de culture

- **Milieu M16 BCP (Thomas, 1973)**

Extrait de levure.....	0.75g
Extrait de viande	1.5g
Peptone.....	3g
Acide ascorbique.....	0,15g
Lactose	0.6g
L-arginine	1.2g
Pourpre de Bromocrésol.....	0,015g
Agar-agar6g
Eau distillée	qsp..... 300mL

pH 6,8

Autoclavage 120 °C pendant 20 min

- **Milieu MSE**

Tryptone	10g
Extrait de levure5g
saccharose.....	100g
Citrate de sodium	1 g
Glucose.....	.5 g
Gélatine	2,5g
Sodium azide.....	0,075g
Agar-agar	15g
Eau distillée	qsp..... 1000mL

pH 6,5

Autoclavage 120 °C pendant 20 min

- **Milieu Clark et Lubs**

Peptone.....	5g
Glucose.....	5g
Hydrogéo-phosphate de potassium.....	5g
Eau distilléeqsp.....	1000 mL

pH 7,5

Autoclavage 120 °C pendant 20 min

Annexe 2 : Les réactifs

• **VP 1**

NaOH..... 4 g

H₂O.....10 ml

• **VP 2**

Alpha-naphtol..... 0.6 g

Ethanol..... 10 ml