MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE YAHIA FARES - MEDEA -
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



SPECIALITE : MICROBIOLOGIE APPLIQUEE

THÈSE

PRESENTEE POUR L'OBTENTION DU DIPLOME DE MASTER

PAR

MESSAOUDI TORKIA & BOUCHERIT HOURIA

THÈME

IDENTIFICATION DES BACTERIES LACTIQUES PAR LA METHODE MALDI TOF

Soutenu le: 16 /09 /2020

Devant le jury :

Promoteur	Mme MEKRI	M.R.B	CRAPC Bou Ismail
Co-promoteur	Mme DIF SABRINA	M.A.A	Université de Médéa
Président du jury	Mr AINESS MAHFOUD	M.C.A	Université de Médéa
Examinateur	Mr CHAMI BOUAAZA	M.A.A	Université de Médéa
Examinateur	Mme BMEDIENE	M.A.A	Université de Médéa

2019 /2020

Remerciement

‹‹Avant toute chose, nous remercions DIEU qui a nous a donné la force, la volonté et le courage pour accomplir ce modeste travail ››.
Nous remercions notre encadreur Mme MEKRI MEREIM qui a accepté de nous encadrer sans la moindre hésitation et qui nous a guidés et suivi tout au long de notre travail. Nous ne saurons jamais leur exprimer toute notre profonde gratitude pour leur contribution et leur soutien.

Nos vif remerciement à Mme SABRINA DIF pour l'honneur qu'il nous fait
Nous le remerciant aussi
pour son rôle durant notre formation, pour tout ce qu'il nous a
apporté tout au long de ces années d'étude.

Nous tenons à exprimer nos sincères gratitudes aux enseignants qui ont veillé à nous transmettre fidèlement leur savoir.

Nos remerciements vont également aux membres de jury
d'avoir
accepté d'évaluer ce travail.

Une forte merci a tous les étudiants de microbiologie appliquée
université de YAHIA FARES MEDEA
Ces quelques lignes ne pourront jamais exprimer la reconnaissance que nous éprouvons envers tous ceux ou celles qui, de près ou de loin, ont contribué, par leurs conseils, leurs
encouragements ou leurs amitiés à l'aboutissement de ce travail.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à mes très chers parents qui m'ont guidés durant les moments les plus difficiles, depuis toujours tout au long de mon parcours.

Ma chère mère **AICHA** *qui est ma source d'énergie, elle a été à mes côtés et n'a jamais cessé de m'encourager et de me pousser vers l'avant durant toute ma vie.*

Mon très cher père **MOHAMED** *qui est ma source d'inspiration, il a sacrifié toute sa vie afin de me voir devenir ce que je suis, merci mes parents.*

A ma chère sœur **SANAA** *pour ces conseils et encouragements*

A Mon jumeau spirituel **BASMA** *je t'aime*

A mes chers frères **MAROINE et ALI** *qui ont toujours été là pour moi*

A mes grands parents, à toutes mes tantes et mes oncles

A tous mes enseignants, je leur exprime ma profonde gratitude.

A mes chers amis HOURIA, SOUAD pour leurs amitié, leur soutien inconditionnel et leurs encouragements

A tous les étudiants de ma promotion « microbiologie appliquée » et à toute personne de connaissance.

TORKIA

Dédicaces

الحمد الله الذي بنعمته تتم الصالحات

Avant tous, Mes profonds remerciements s'adressent à ALLAH qui m'a aidé et donné le courage et la patience pour effectuer ce travail.

Je dédie ce modeste travail :

À mon très cher papa, que Dieu te donne la santé et une longue vie

À ma mère ma source de bonheur pour son soutien moral et ses conseils les plus précieux qui m'ont servi dans ma vie et son encouragement sans limite.

Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime et le respect que j'ai toujours pour vous. Puisse dieu, le très Haut, vous accorder santé, bonheur et longue vie.

À mes très chers frères Ahmed, kador et Hamza

À mon cher mari Mr. Mohamed Ait Pour son soutien moral et matériel et son compréhension.

À toute ma grande famille surtout mon grand père et ma Mani, mes tantes, mes oncles et mes cousin(e)s et à toute la famille Boucherit

À tout la famille Ben Abid Allah et Ait

À mon adorable binôme Torkia et à toute personne ayant contribué à la réalisation de ce travail et tous qui nous ont aidés de près

ou loin pendant toutes les années d'études .

Houria

RESUME

L'étude réalisée nous a permis d'identifier des bactéries lactiques à partir du lait de chamelles Algérien issu de quatre régions du sud du pays : Ouargla, Djelfa, Béchar et Tindouf. Après nous avons testé leurs caractères biochimiques, physiologiques et le profil fermentaire telles que: le test de thermorésistant, test de catalase, croissance en milieux hostiles, la fermentation des carbohydrates et l'hydrolyse de l'argenine…. Etc

Neufs souches bactériennes isolées ont subit une analyse MALDI TOF/MS et sept souches ont été identifiées au rang de l'espèce. Il s'agit de :

-LCD5, LCD3, LCB3 : Lactobacillus plantarum

-LCT4 : Lcatobacillus paracasei .

-LCT1, LCT5, LCB4 : Enterococcus faecium.

M**ots clés** : Isolats, lait de chamelle, bactéries lactiques, caractères biochimiques, physiologiques, identification, MALDI-TOF MS.

ABSTRACT

The study carried out allowed us to identify lactic acid bacteria from the milk of

Algerian camels from four regions in the south of the country: Ouargla, Djelfa, Béchar and Tindouf. After we tested their biochemical and physiological characteristics and the fermenting profile such as: heat resistance test, catalase test, growth in hostile environments, carbohydrate fermentation and hydrolysis of argenine.... Etc

Nine isolated bacterial strains underwent MALDI TOF / MS analysis and seven strains were identified as species. It is:

-LCD5, LCD3, LCB3: Lactobacillus plantarum

-LCT4: Lcatobacillus paracasei.

-LCT1, LCT5, LCB4: Enterococcus faecium.

Keywords: Isolates, camel milk, lactic acid bacteria, biochemical, physiological, identification, MALDI-TOF MS.

التلخيص

أتاحت الدراسة التي تم إجراؤها التعرف على بكتيريا حمض اللاكتيك من لبن
الإبل الجزائرية من أربع مناطق في جنوب البلاد: ورقلة ، جلفة ، بشار وتندوف. ثم قمنا باختبار ملفهم الشخصي البيوكيميائي والفسيولوجي والتخمير.
مثل: اختبار مقاومة الحرارة ، اختبار الكاتلاز ، النمو في البيئات المعادية ، تخمير الكربوهيدرات والتحلل المائي للأرجينين.... إلخ
خضعت تسع سلالات بكتيرية معزولة لتحليل MALDI TOF / MS وتم تحديد سبع سلالات كأنواع. أنه :
- LCD5، LCD3، LCB3: Lactobacillus plantarum
-LCT4: Lcatobacillus paracasei.
- LCT1، LCT5، LCB4: المكورات المعوية البرازية.
الكلمات المفتاحية: العزلات ، حليب الإبل ، بكتيريا حمض اللاكتيك ، الكيمياء الحيوية ، الفسيولوجية ، التعريف, MALDI-TOF MS.

Liste des tableaux

Tableau	Titres	Page
1	Classification de la famille des camélidés et les espèces **(Wilson 1984)**.	3
2	Caractéristiques physico-chimiques du lait de chamelle **(FAYE, 1997).**	5
3	Les concentrations moyennes des vitamines dans le lait de chamelle, de la vache et de la femme **(kenji.,2013)**	8
4	Composition moyenne en principaux minéraux du lait de dromadaire (g/l).	8
5	Teneurs en certains ions métalliques dans les laits humain, bovin et camelin; comparaison avec la teneur de la ration infantile **(AL-AWADI et STRIKUMAR, 2001).**	9
6	Familles et principaux genres des bactéries lactiques **(Brenner et al. 2005).**	13
7	Les différents genres de bactéries lactiques et leurs principales caractéristiques **(Laurent et al. 1998).**	16
8	Echantillons de laits de chamelles collectés.	25
9	Milieux utilisés et conditions d'incubation pour l'isolement des bactéries lactiques	27
10	caractéristiques des souches étudiées	35
11	Caractéristiques microscopiques des souches étudiées	37
12	Croissance en conditions hostiles	38
13	Souche Type fermentaire ADH Thermorésistante	39
14	Profils fermentaire des souches testées	41
15	identification des espèces bactériennes par MALDI TOF/MS	48

Liste des figures

Figure	Titres	Page
1	Camelus bactrianus **(Naoui,2013)**	3
2	Camelus bactrianus **(guitoun et kina,2013)**	3
3	A gauche des bactéries sous forme de coques : Streptococcus pyogenes (grossissement x900).	12
4	à droite des bactéries sous forme de bâtonnets : Lactobacillus acidophilus (Un bâtonnet mesure 1,5 à 6µm de long) **(Alyssa Carré-Mlouka,2018)**	12
5	Clef d'identification des bactéries lactiques **(Montel et al. 1991)**	19
6	Diagramme récapitulant les étapes suivies pour l'analyse microbiologique du lait camelin	26
7	schémas explicatif des étapes de la méthode MALDI TOF **(DORTET Laurent, 2010)**	31
8	Organisation du plan de travail lors de la réalisation des dépôts (originale).	31
9	Dépôt des colonies sur la plaque cible (originale)	32
10	Ajout de la solution matrice acide folique (originale)	32
11	Insertion de la plaque dans la chambre de l'automate. (Originale)	33
12	la détection des spectres et l'identification bactérienne (originale).	33
13	Aspect des colonies des deux souches bactériennes LC19 et LC26 cultivées sur milieux solides	34
14	Aspect de quelques souches étudiées sous microscope optique (GX1000)	36
15	Spectre de masse de la souche LCD5	49
16	Spectre de masse de la souche LCT4	50
17	Spectre de masse de la souche LCT7	51

LISTE D'ABRÉVIATIONS

Abréviation	Désignation
AFNOR	Association Française de Normalisation
MRS	Gélose de Man, Rogosa, Sharpe
Maldi	Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization
TOF	time-of-flight mass spectrometry
Cn	Caséine
BTS	Brevet de Technicien Supérieur
DO	Densité Optique
G+C	Guanine + cytosine
CRAPC	Centre de Recherche Scientifique et Technique en Analyses Physico-chimique
FAO	Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture
ADH	production de l'arginine dihydrolase
C°	Degré Celsius
ALB	Albumine
GLOB	Globuline
PH	Potentiel d'hydrogène
EPT	Eau peptonee temponee
ADN	Acide desoxyribonucleique

Sommaire

Remerciement

Dédicace

Liste d'abréviation

Liste de Figure

Liste de tableaux

Introduction.....**1**

Partie I : Synthèse bibliographique

Chapitre I : aperçu sur le dromadaire

I.1.Généralité……..……..….**2**

1.2.systématique des dromadaire…….....……...…**2**

1.3. Les races Algérienne .....…...**3**

1.4. Effectif et Répartition géographique du dromadaire en Algérie ……...…**4**

1.5. La production laitière .....….....**5**

2. Caractéristiques du lait de chamelle.....**5**

2.1. Caractéristiques organoleptiques et physiques de lait de chamelle.....**5**

2.2. Composition chimique.....**6**

2.2.1. Matière grasse.....**6**

2.2.2. Matière protéique.....**7**

2.2.3. Vitamines **7**

2.2.4. Les Minéraux **8**

2.3. Caractéristiques microbiologiques du lait de chamelle.....**9**

Chapitre II : les bactéries lactiques

II.1. Définition…….....**11**

II.2. Origine …….....**11**

I1.3. Caractéristiques générales des bactéries lactiques…….....**11**

II.4. Habitat …….....**12**

II.5.taxonomie et classification …….....**12**

II.6. **Genres de bactéries lactiques**…….....….**13**

II.1.6.1 le genre lactobacillus ……..…….**.....14**
II.1.6.2.le genre streptococcus ……...**14**
II.1.6.3. Le genre lactococcus ……**15**
II.1.6.4.le genre leuconostoc ……..**15**
II.1.6.5. Le genre bifidobacterium ……**15**
III Intérêts technologiques des bactéries lactiques **16**
III .1. Activité acidifiante (production d'acide lactique) **16**
III.2. Activité protéolytique **16**
III.3.Pouvoir aromatisant et pouvoir gazeux.....**17**
III.4. Activité bactériostatique (la production de bactériocines **17**
III.5. Propriété probiotique **17**
III.6.Techniques d'Identification des bactéries lactiques.....**17**
III.6.1. Analyse phénotypique.....**18**
III.6.2. Analyse sérologique.....**19**
III.6.3. Méthodes chimio-taxonomiques.....**19**
III.6.3.1.Analyse des protéines cellulaires solubles par électrophorèse en gel depolyacrylamide (PAGE) **19**
III.6.3.2. Analyse des acides gras de paroi par chromatographie en phase gazeuse...**20**
III.6.4.Méthodes étudiant la structure des acides nucléiques.....**20**
III.6.4.1.Contenu en guanine et cytosine de l'ADN chromosomique.....**20**
III.6.4.2.Hybridation ADN-AND……...….**21**
III.6.4.3. Séquençage de l'ARNr 16S ET utilisation.....**21**
III.6.4.4. Méthodes de typage basé sur l'ADN.....**22**
Partie II : Etude expérimentale
Chapitre I : Matériel et méthodes
I. objectif **25**
1. Collecte des échantillons de lait.....**25**
2. Préparation de la dilution mère **26**
3. Préparation des dilutions décimales **26**
4. Obtention des isolats.....**27**
Caractérisation phénotypique des isolats **28**
A. Examen macroscopique **28**
B. Examen microscopique **28**
C. Test de catalase **28**

5.1 Conservation des isolats.....**29**
5.2 Croissance en milieux hostiles **29**
A. Croissance à pH 9,6 et 3,3.....**29**
B. Croissance en présence de NaCl **29**
C. Croissance à différentes températures d'incubation **29**
5.3 Test de la thermorésistante **29**
5.4 Caractérisation biochimique des isolats.....**30**
5.4.1 Type fermentaire.....**30**
5.4..2 Hydrolyse de l'arginine.....**30**
5.4.3 Fermentation des carbohydrates **30**
6. Identification bactérienne par spectrométrie de masse MALDI-TOF/MS.....**30**
6.1 Appareillage.....**31**
6.3. Mode opératoire.....**31**
6.2Fonctionnement.....**32**

Chapitre II. Résultat et discussion

1 Examen macroscopique et microscopique.....**35**
1.1Caractérisation macroscopique.....**35**
1.2 Caractérisation microscopique……..……..**37**
2. Croissance en milieux hostiles.....**39**
3. Caractérisation biochimique des souches.....**40**
3.1Fermentation des carbohydrates **41**
4. Discussion générale **41**
A. Coques lactiques.....**41**
B. Les lactobacilles.....**42**
4.1 - Identification par MALDI-TOF **43**
Conclusion……**48**

Références bibliographiques

Annexe

INTRODUCTION

INTRODUCTION

Le lait de chamelle (Camelus dromaderius) est un produit fortement identitaire pour les populations élevant des dromadaires. Il joue un rôle important dans l'alimentation des nomades et les populations du sud algérien que ce soit sous sa forme crue ou transformée, Dans ces produits, la fermentation est spontanée obtenue par la flore lactique naturelle **(Badis et al., 2004).**

Ces bactéries lactiques présentent un grand intérêt dans l'industrie. Elles sont utilisées dans l'élaboration des produits alimentaires par des procédés de fermentations lactiques. Les bactéries lactiques assurent non seulement des caractéristiques particulières d'arômes et de texture mais aussi une bonne sécurité sanitaire alimentaire. Cette sécurité est favorisée grâce à la production d'acides organiques (acides lactiques et acétiques) qui font baisser le pH dans le milieu.

Face à l'industrie laitière nationale florissante et dans la perspective de la production de levains lactiques locaux, mais aussi pour répondre au manque des informations scientifiques et techniques sur le lait de chamelle produit par les populations camelines présentes en Algérie ; nous avons entrepris un travail portant sur la détermination et la distribution des bactéries lactiques de laits crus de chamelle de différentes populations algériennes.

Ainsi, pour pouvoir atteindre cet objectif, la présente étude s'articule autour de deux principaux volets :

-En premier lieu : isolement et identification phénotypique et biochimique de quelques souches de la flore lactique colonisant plusieurs échantillons de laits camelins de différentes régions du sud Algérien.

-En deuxième lieu : identification moléculaire par MALDI TOF/MS de quelques souches isolées.

Ce mémoire traite donc plusieurs parties :

- une synthèse bibliographique consacrée à la présentation du lait de chamelle et quelques généralités sur les bactéries lactiques.

- une partie pratique dans laquelle sont décrètes les différentes méthodes utilisées lors de ce travail ;

- suivie par une partie résultats et discussion.

-et enfin une conclusion générale résumant les résultats obtenus.

REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

Partie I : Synthèse bibliographique

Chapitre I : Aperçu sur le dromadaire

I.1-Généralité

Le dromadaire joue un rôle social et économique primordial car il a toujours été associé aux formes de vie dans les zones pastorales arides et semi-arides. Il réponde 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, des ceintures…etc.

Le nom « dromadaire » dérive du terme grecque « dromados » qui veut dire course. Il est donné à l'espèce de chameau à une seule bosse, appartenant au genre Camelus de la famille des Camelidae et dont le nom scientifique est Camelus dromedarius.

Le dromadaire vit dans les régions chaudes, arides et semi-arides de la planète. Il serait originaire de l'Amérique du Nord où le plus ancien fossile de Camelidae a été trouvé et d'où il aurait rejoint l'Asie et l'Afrique, à la suite des glaciations qui sévirent dans pratiquement la quasi-totalité de l'hémisphère nord de la planète durant l'ère tertiaire **(Zeuner., 1963).** Comme c'est l'un des rares animaux d'élevage à pouvoir supporter des conditions alimentaires et climatiques très défavorables, le dromadaire a longtemps constitué, l'un des principaux vecteurs de sédentarisation des populations humaines dans les régions désertiques d'Afrique et d'Asie notamment.

I. 2. Systématique du dromadaire

La famille des camélidés comprend actuellement 2 genres et 6 espèces vivantes: Genre Camelus

✓Camelus-dromedarius

✓ Camelus bactrianus

Genre Lama

✓Lama-glama

✓Lama-guanicoe

✓Lama pacos

✓Lama vicugna



Camelus bactrianus



Camelus dromedarius

Figure 01: Camelus bactrianus **(Naoui, 2013)**

Figure 02: Camelus dromedarius **(Guitoun et Kina, 2013).**

Tableau 1 : Classification de la famille des camélidés et les espèces **(Wilson 1984).**

Règne	**Animal**
Embranchment	Vertébré
Classe	Mammifere ongulé
Sous Classe	Placentaire
Ordre	Artiodactyles
Sous-ordre	Tylopode
Famille	Camelidae
Genre	Camelus
Especes	C.dromedaruis
	C.bacterianus

1.3.. Les races Algérienne

Rechard (1984) classe les dromadaires en fonction de défirent critères, selon les données de l'habitat et la région géographique sont devise en deux grands types : le dromadaire des montagnes et celui des plaines. Aussi Les critères morphologique externe comme la taille, la conformation, la coloration et la longueur du pelage, et leur mode d'utilisation (bat, selle, race

laitières) et parfois des considérations sur la résistance et la rusticité **(Y. P. Ennesser)** en négligent pas que Les mêmes races existent dans les pays d'Afrique du nord **(Lasnami., 1986)**

***LE Chaambi :** C'est une race fortement de dromadaire arabe il est utilisé comme moyen de transport et de selle.

***L'Ouled sidi cheikh :** C'est un animal de selle. On le trouve dans les hauts plateaux du grand ERG occidental **(Medjour., 2014).**

***LE Sahraoui :** Est issu du croisement Chaambi et Ouled Sidi Cheikh. Son territoire va du grand ERG Occidental au Centre du Sahara **(Medjour., 2014).**

***Le Chameau de I'Aftouh :** Utilisé comme animal de trait et de bât. On le trouve aussi dans la région des Reguibet (Tindouf, Bechar) **(Ben Aissa., 1989).**

***Le Chameau de la Steppe :** est de petite taille et peu de musculature Ce qui donne un animal qui ne support pas les grandes charges, il est utilisé dans les transhumances courts **(Dehane., 2010)** et le nomadisme rapproché **(Ben Aissa., 1989).**

***le targui :** De bons animaux de course Il est de qualité supérieure. Habitués au rude climat du tassili et au sable et aux Tanezrouft qui entourent leurs montagnes **(Medjour., 2014).**

***Reghibi :** Animaux des selles et de course, de taille moyenne, et les femelles sont des bonnes laitières par rapport aux autre, se trouve au Sahara Nord Occidentale.

1.4. Effectif et Répartition géographique du dromadaire en Algérie

L'élevage du dromadaire En Algérie joue un rôle important dans l'optique d'atteindre l'autosuffisance alimentaire de la population saharienne et steppique, L'effectif camelin algérien représente 1,32% de l'effectif mondiale, 2% de l'effectif des pays arabe et 13% de l'effectif du Maghreb ce qui a trié l'Algérie au 19 éme rang mondiale et au 8 éme rang du monde arabe en citant que la totalité du cheptel camelin algérien et exclusivement constitue de l'espèce c. dromedaruis **(Harek et al.,2007)** Le dromadaire en Algérie est confiné dans trois aires principales d'élevage (sud-est, Sud-ouest et extrême Sud repartie dans les 17 wilayat (8 sahariennes et 9 steppique) L'effectif camelin algérien a été estimé a plus de 34.400 têtes en 2013, **(Anonyme 2., 2006),** 70% du cheptel dans les Wilayat saharienne (Ouargla, Ghardaïa, El-Oued, Tamanrasset, Illizi, Adrar, Tindouf, Béchar) et 25% du cheptel dans neuf wilayat steppiques (Biskra, Tebessa, Khenchela, Batna, Djelfa, El-Bayad, Naâma ,Laghouat et Msila) **(Ben Aissa., 1989).**

1.5. La production laitière

Dans la littérature, il existe une variation des données concernant le rendement laitier de la chamelle. D'après les résultats rapportés par de nombreux chercheurs, sa période de lactation varie de 9 à 18 mois avec une productivité annuelle comprise entre 800 et3600 L de lait. Sous des conditions désertiques, la productivité quotidienne fluctue entre 2 à 6 L, mais lors d'un élevage intensif, elle peut atteindre 12 à 20 L **(Ramet.,2001 ; Abdoun et al., 2007)**.La variation de rendement laitier s'explique par des facteurs particuliers qui pouvant influencer la production laitière tels que: la race, le rang de lactation, l'état sanitaire de l'animal et les facteurs alimentaires et climatiques. Il apparait également que le nombre et la pratique de la traite peuvent influencer la production laitière journalière **(Ramet., 1993; Park et Haenlein., 2006).**

2. Caractéristiques du lait de chamelle

2.1. Caractéristiques organoleptiques et physiques de lait de chamelle

Visuellement Le lait de chamelle est un liquide blanc mate, opaque en raison de sa teneur en matière grasse, relativement pauvre en β. Carotène **(Stahl et al.,2006).**Le type de plantes désertiques broutées et la condition environnementale ainsi que la période de lactation et la disponibilité en eau influe massivement sur La composition physicochimique et le gout (**Boussouar Naceur., 2017**) qui peut être sucré a cause de L'ingestion de fourrages comme la luzerne, et parfois salé ou amer due a certaines plantes halophytes **(Siboukeur., 2008 ; Farah Et Bachman., 1987).**

Le pH du lait camelin se situe autour de 6,6 et l'acidité est de l'ordre de 15° Dornic. Sa densité oscille entre 0,99 et 1,034 avec une viscosité moyenne de 2,2 centpoises **(Hassan et al., 1987)** et un point de congélation variant de –0,53 à –0,61°C.

Tableau 2 : Caractéristiques physico-chimiques du lait de chamelle **(Faye., 1997).**

Caractéristiques	Moyenne	Maximum	Minimum
pH	6,56	6,8	6,2
Densité spécifique	1,035	1,038	1,025
Point de congélation	-0,58° C	-0,60°C	-0,55°C
Teneur en eau	87,90%	90%	84,80%
Extrait sec total	12,10%	15,20%	10,00%

Taux de matières grasses	3,80%	5,60%	2,50%
extrait sec dégraissé	8,20%	10,30%	6,20%
Teneur azotée totale	3,50%	5,50%	2,20%
Dont caséines	2,60	4,10	1,50
dont alb.et glob.	0,90	1,40	0,50
Teneur en lactose	3,90%	5,10%	2,60%
Teneur en Cl	0,16%	0,17%	0,14%
Teneur en cendres	0,76%	0,90%	0,60%

2.2. Composition chimique

La 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.

Les teneurs en protéines et en matière grasse varient respectivement de 2,5 à 4% et de 1,1 à 4,6% (avec une 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 auteurs **(Gnan et Shereha., 1986 ; Bayoumi., 1990).**

La teneur en eau du lait camelin, qui varie selon son apport dans l'alimentation, atteint son maximum pendant la période de sécheresse. En effet, il a été montré que la restriction en eau alimentaire des chamelles se traduit par une dilution du lait : un régime riche en eau donne un lait ayant un taux de 86% alors que dans un régime déficient, celui-ci s'élève à 91% **(Yagil et Etzion., 1980 ; Faye et Mulato., 1991).** Cette dilution pourrait être l'effet d'un mécanisme d'adaptation naturelle pour voyante eau les chamelons durant la période de sécheresse.

2.2.1. Matière grasse

Le lait de chamelle est en moyenne plus faible en matière grasse que le lait de vache. Cependant, les globules gras du lait de chamelle sont de très petites tailles (1,2 à 4,2 µ de diamètre) et restent donc en suspension même après 24 heures de repos, contrairement au lait de

vache dans lequel ces globules constituent une couche grasse en surface au bout de quelques heures.

Par ailleurs, la matière grasse du lait de chamelle apparait liée aux protéines, tout ceci explique la difficulté à baratter le lait de chamelle pour en extraire le beurre. Comparée au lait de vache, la matière grasse du lait de chamelle contient moins d'acides gras à courtes chaines **(Siboukeur., 2007).**Cependant sa teneur en acide gras volatils et en acides gras non saturés est importante.

2.2.2. Matière protéique

Le taux de caséine totale est un peu plus faible dans le lait de dromadaire que dans le lait de vache ; il représente 75 à 79 pour cent de la matière protéique contre 77 à 82 pour cent pour le lait de vache **(Jenness et Sloan., 1969; Mehaia., 1987).** De plus l'équilibre entre les différentes fractions caséiniques est très différent et se caractérise par une proportion limitée à 5 pour cent de caséine Kappa alors qu'elle est de 13,6 pour cent dans le lait de vache **(Jardali., 1988; Jardali et Ramet., 1991).**

La composition en acides aminés de ces fractions caséiniques n'est pas non plus la même que pour le lait de vache **(Sawaya., 1984; Larsson-Raznikiewicz et Mohamed., 1986; Farah et Ruegg., 1989; Mohamed., 1990).**

Une autre particularité de la caséine du lait de dromadaire est qu'elle est distribuée sous forme de micelles ayant un diamètre double de celui du lait de vache **(farah et Bachmann., 1987; JARDALI., 1988; Farah et Ruegg., 1989; Jardali et Ramet., 1991**). La composition des protéines solubles du lait de dromadaire est également différente de celle du lait de vache; leur quantité est supérieure (0,9 à 1 pour cent contre 0,7– 0,8 pour cent). Deux types d'a-lactalbumine **(Conti Et Al., 1985)** et une protéine originale **(Beg Et Al., 1987)** y ont été décelés; de plus la présence de ß-lactoglobuline est controversée.

2.2.3. Vitamines

Le lait de chamelle contient moins de vitamines que le lait de vache **(Sawaya Et Al., 1984 ; Farah Et Al, 1992 ; Mehaïa, 1994).** Il se distingue par sa richesse en vitamine C (acide ascorbique) dont la concentration est supérieure à celle trouvée dans le lait bovin et humain **(Farah Et Al., 1992)** ,se qui prouver leur utilisation comme « médicament » dans certains pays asiatiques pour stimuler les fonctions du foie et lutter contre la fatigue générale**(Sharmanov Et Al., 1978; Farah Et Al., 1992).**

Tableau 3 : Les concentrations moyennes des vitamines dans le lait de chamelle, de la vache, et de la femme. (Mg /kg) **(Kenji., 2013).**

Vitamines	Chamelle	Vache	Femme
A (retinol)	0.21	0.28	0.55
B1 (thiamine)	0.41	0.59	0.15
B2 (riboflavine)	1.1	1.6	0.38
B3 (niacine)	0.78	0.7	1.7
B5 (acide pantothénique)	2.3	3.8	2.7
B6 (pyridoxine)	0.54	0.5	0.14
B7 (biotine)	ND	0.04	0.01
B9 (acide folique)	0.0046	0.055	0.042
B12	0.0053	0.009	0.0005
C	140	13	40
D	0.003	0.009	0.014
E	0.18	0.6	8

2.2.4. Les Minéraux

Le lait de dromadaire représente une bonne source d'apport en minéraux (macro et oligoéléments) pour le chamelon et le consommateur humain **(Bengoumi Et Al., 1994).**

Tableau 4: Teneurs en certains ions métalliques dans les laits humain, bovin et camelin; comparaison avec la teneur de la ration infantile **(AL-AWADI et STRIKUMAR., 2001).**

Origine	Zinc (mg/l)	Cuivre (mg/l)	Manganèse (µg/l)	Sélénium (µg/l)	Fer (mg/l)
Lait camelin	4,9 ± 0,5	0,36 ± 0,02	79,6 ± 7,4	13,9 ± 2,4	3,16 ± 0,03
Lait bovine	6,2 ± 0,3	0,27 ± 0,04	27,8 ± 5,2	12,6 ± 3,6	0,29 ± 0,02
Lait humaine	2,9 ± 0,4	0,6 ± 0,1	4,4 ± 0,4	14,3 ± 2,1	0,26 ± 0,05
Ration infantile	5,7 ± 0,3	0,53 ± 0,03	36,9 ± 0,4	14,1 ± 3,6	0,71 ± 0,1

Tableau 5: Composition moyenne en principaux minéraux du lait de dromadaire (g/l).

(Na)	(K)	(Ca)	(Mg)	(P)	(Fe) mg/l	Références
0,59	1,73	1,15	0,14	0,84	-	**ABU-LEHIA., (1987)**
0,36	0,6	1,32	0,16	,58	-	**GNAN et SHERIHA., (1986)**
0,36	0,62	1,16	0,08	,71		**HASSAN et al., (1987)**
0,39	1,61	0,76	0,04	0,49		**Mohamed (1990)**
0,43	0,72	0,30	0,045	-		**El-amin et all.,(1992)**
0,90	2,11	0,78	0,11	1,46	3,41	**Bengoumi et al ., (1994)**
0,66	1,72	1,23	0,09	1,02		**Attia et al., (2000 b)**
[0,35-0,6]	[1,35 1,55]	[1,01,40]	[0,1-0,15]	[0,7-1,10]		**Alais., (1984)**

2.3. Caractéristiques microbiologiques du lait de chamelle

Le lait d'un animal parfaitement saint trait aseptiquement, est normalement dépourvue de micro-organismes. A la sortie de la mamelle le nombre de germes très faible généralement inférieur à 5000/ml. Ils proviennent de l'extérieur et pénètrent dans la mamelle par le canal du trayon. Dans le cas d'infections de la mamelle, le nombre de germes augmente un peu (sauf dans le cas de mammites cliniques). Ce sont en majorité des bactéries pathogènes, notamment des staphylocoques ou des streptocoques. Ainsi, hormis les maladies de la mamelle, la contamination du lait se fait pour l'essentiel au cours des diverses manipulations dont il est l'objet à partir de la traite.

A la sortie de la mamelle, le lait est à la température de l'animal (37°C). Malgré cette condition favorable à la multiplication de nombreux germes, celle-ci est inexistante pendant les quelques heures qui suivent la traite, en raison du pouvoir bactériostatique du lait frais.

Dans la mesure où l'on dispose des moyens nécessaires, il est hautement souhaitable de profiter de cette période pour refroidir le lait afin de ralentir la prolifération des microorganismes dès la phase bactériostatique passée **(Anonyme2., 1992).**

L'étude réalisée par **(Barbour et al., 1984)** ont mis en évidence l'inhibition des bactéries pathogènes par le lait camelin **(Mohizea et al., 1994),** en s'appuyant sur la numération de quatre groupes de micro-organismes (la flore aérobie totale, les psychrotrophes, les coliformes et bactéries sporulantes) déduisent que la qualité hygiénique du lait camelines satisfaisante. Selon **(Farah., 1996)** et **(Kappeler.,1998)**, les propriétés antimicrobiennes et protectrices des protéines du lait de chamelle permettent d'avoir un produit frais à plus de 24 heures, si les conditions d'hygiène (lavage et désinfection des ustensiles) et de température (inférieure à 15 °C) sont appliquées. Dans le cas contraire, le lait subit une détérioration. Cette détérioration est plus prononcée dans le cas du lait de vache **(Bonfohet al., 2003).** L'activité antimicrobienne du lait de chamelle, due à la présence des protéines protectrices citées précédemment (Lysozyme, lactopéroxydase, lactoferrine…), serait responsable de cet état **(Barbour et al., 1984).**

Dans ce contexte, d'autres auteurs ont montré l'effet inhibiteur du lysozyme extrait et purifié à partir du lait camelin, sur Escherichia coli et Micrococcus lysodeikticusen le comparant à celui de l'ovalbumine **(Durhaiman., 1988).** Dans le même ordre d'idée, l'efficacité de l'activité des protéines protectrices du lait de chamelle contre Lactococcus lactis subspcremoris, Escherichia coli, Staphylococcus aureus,Salmonella typhimurium et rotavirus, a été également signalée **(El-Sayed et al., 1992).** Par ailleurs, on reconnaît depuis longtemps, aux bactéries lactiques, la propriété de produire des substances antagonistes tels que les acides organiques (acide lactique et acide citrique), le peroxyde d'hydrogène et des protéines antimicrobiennes **(Klaenhammeret al., 1994).**

(Yagil et al ., 1994) soutiennent que la pasteurisation du lait de chamelle n'est pas indispensable si tous les dromadaires des troupeaux ont en bonne santé. Cependant, selon **(Male et al., 2003)** la pasteurisation serait indispensable pour réduire une charge microbienne élevée due aux mauvaises conditions d'hygiène lors de la traite ou de l'exposition du lait aux fortes températures qui règnent dans les zones arides et semi-arides et qui sont favorables à la croissance des micro-organismes.

II. généralité sur les bactéries lactique

II.1. Définition

Les bactéries lactiques décrites pour la première fois par **Orala Jensen** au début du siècle, Elles ont isolées pour la première fois à partir du lait **(Carr et al., 2002).** Produisent l'acide lactique comme produit final principal pendant la fermentation des carbohydrates **(Kandler., 1983).**Habituellement connues comme des micro-organismes GRAS. **(Cintas et al., 2001).**

II.2.Origine

Les bactéries lactiques ont été retrouvées dans des sédiments datant de 2,75 milliards d'années bien avant l'apparition d'oxygène dans l'atmosphère, ce qui pourrait expliquer leur caractère anaérobie ; de plus, des études sur la phylogénie bactérienne mentionnent leur apparition avant celle des cyanobactéries **(Quiberoni et al., 2001).**

II.3.Caractéristiques générales des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques sont des Gram-positives, organotrophes **(Badis et al., 2005)** procaryotes, sans noyau appartiennent à un groupe hétérogène de microorganismes **(Dortu et al., 2008),**qui peuvent être observées au microscope sous formes de bâtonnets (bacilles : Lactobacillus) ou de coques (sphériques : Streptococcus, Lactococcus), ou ovoïdes (coccobacilles : Leuconostoc sp) **(Gálvez et al., 2011),** généralement immobiles non pigmentées, incapable de sporulées, dépourvues de nitrate réductase, de cytochromes oxydases et de catalase à l'exception de certains genres à pseudo-catalase **(Doguiet Koffi- Denis., 2010)** .

Les bactéries lactiques sont des germes de culture difficile qui exigent des milieux riches et complexes, contenant de nombreux nutriments : glucides, acides aminés, acides gras, sels, vitamines **(Alyssa., 2018).**Elles sont également incapables de fermenter le glycérol **(Salminen et al., 2004).**



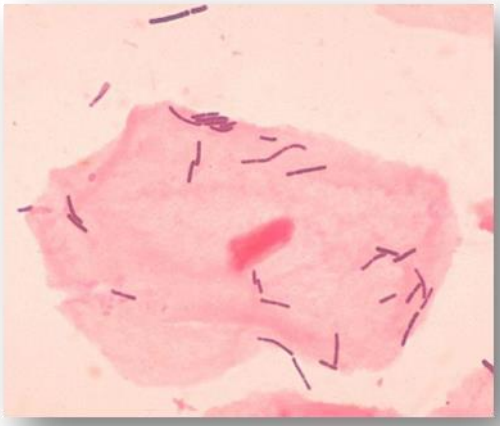


Figure 3 : à gauche des bactéries sous forme de coques : *Streptococcus pyogenes* (grossissement x900).

Figure4 : à droite des bactéries sous forme de bâtonnets : *Lactobacillus acidophilus* (Un bâtonnet mesure 1,5 à 6µm de long) **(Alyssa., 2018).**

II.4. Habitat

les bactéries lactiques sont très fréquentes dans la nature , ubiquistes, elles sont présentes à l état libre dans l environnement ou vivent en association avec un hôte ,tel que l homme ou l animal ,dans un écosystème bactérien comme le tractus gastro-intestinal ou génital des mammifères**(Makhlofi .,2001)** , par exemple : on les trouve dans différentes niches écologiques comme le lait et les produites laitiers, les végétaux, la viande, le fromage, la crème fraiche, le beurre, les régions gastro-intestinales et urogénitales des humains et des animaux **(Lopez-Diaz et al., 2000 ; Navarro et al., 2000 ; El Shafei et al., 2000 ; Mathara et al., 2004)** , elles sont aussi présents dans la flore normale de la bouche, de l'intestin et du vagin des mammifères **(Salminen et al., 2004 ; Carina Audisio et Maria.,2010)**

II.5. Taxonomie et classification

La première classification des bactéries lactiques basées sur les propriétés observables à savoir les propriétés morphologiques, biochimiques et physiologiques a été établies en 1919 par **Orla-Jensen** cité par **(Belarbi., 2011).** La taxonomie bactérienne moderne basée sur les caractéristiques phénotypiques et génotypiques a eu comme conséquence la reclassification de beaucoup d'espèce de bactéries lactiques. Elles sont un groupe phylogénétique divers avec un GC de 50%(guanine et cytosine) en leur ADN **(Novel., 1993).** Les bactéries lactiques ont été

classées sur la base des propriétés phénotypiques : morphologie, le mode de fermentation du glucose, la croissance à différentes températures, l'isomère de l'acide lactique produit et la fermentation des différents hydrates de carbone **(De Roissart et Luquet., 1994;Holzapfel et al., 2001).**

Selon l'édition de bergey's manual de systématique bactériologique en **2009**, les bactéries lactiques sont classes dans le phylum des firmicutes, la classe de bacilli et l'ordre des Lactobacillales **(De Vos et al., 2009).** Cet ordre renferme 35 genres repartis sur six familles qui sont classées selon une analyse phylogénétiques des séquences de l'ARNr 16S **(Ludwig et al., 2009) .**

Tableau 1 : Familles et principaux genres des bactéries lactiques **(Brenner et al., 2005).**

Familles	**Principaux genres**
Lactobacillaceae	Lactobacillus sp., Pediococcus sp.
Leuconostocaceae	Leuconostocsp., Oenococcussp., Weissellasp.
Streptococcaceae	Streptococcus sp., Lactococcus sp.
Carnobacteriaceae	Carnobacteriumsp
Enterococcaceae	Enterococcus sp., Tetragenococcussp., Vagococcussp.
Aerococcaceae	Aerococcus sp.

Les bactéries du genre Bifidobacterium sont parfois considérées comme faisant partie du groupe des bactéries lactiques grâce à la similarité de leurs propriétés physiologiques et biochimiques et à leur présence dans le même habitat écologique. Cependant, ces microorganismes appartiennent au phylum Actinobacteria et sont donc phylogénétiquement éloignées des bactéries lactiques **(Trias., 2008**). Les bactéries lactiques forment donc un groupe hétérogène en raison non seulement de leur métabolisme mais aussi de leur aspect, leur habitat.

II.6. Genres de bactéries lactiques

Parmi Les genres les plus étudiés des bactéries lactiques sont : Lactobacillus, Lactococcus, Streptococcus, Leuconostoc, Enterococcus et Pediococcus **(Drouault et Corthier., 2001)**.

Actuellement le groupe des bactéries lactiques associes aux aliments renferme les 12genres suivantes : Carnobacterium, Enterococcus, Lactobacillus, Lactococcus,Leuconostoc,

Oenococcus, Pediococcus, Streptococcus, Tetragenococcus, Vagococcus et Weissella et Bifidobacterium.

II.6.1- Le genre Lactobacillus

Les bactéries du genre Lactobacillus ont des aspects variés allant du bacille long et fin au coccobacille en passant par la forme bâtonnet court ou légèrement flexueux.fréquemment associés en chaînettes et habituellement immobiles. Les lactobacilles se montrent généralement plus résistants au stress acide que le lactocoques **(Siegumfeldt et al., 2000).**et sesont répartissent en trois groupes selon leur profil fermentaire, d'après la classification de **Kandler et Weiss (1986).**

Groupe 1 : il comprend les espèces homofermentaires obligatoires, c'est-à-dire produisant exclusivement de l'acide lactique à partir du glucose. Ce groupe est constitué d'environ 25espèces, la plupart sont thermophiles (croissance à 45°C) dont *Lb. delbrueckii, Lb. Acidophiluset Lb. helveticus*. La plupart des espèces sont présentes dans le lait et les produits laitiers.

Groupe 2 : ce sont les espèces hétéro fermentaires facultatives, c'est-à-dire capables d'utiliser la voie hétéro fermentaire dans certaines conditions comme une concentration en glucose limitante. Il est constitué d'une vingtaine d'espèces dont Lb. *casei, Lb. curvatus, Lb.sake et Lb. plantarum*, majoritairement mésophiles **(Laurent et al., 1998).**

Groupe 3 : il est constitué des espèces hétéro fermentaires obligatoires, c'est-à-dire utilisant la voie des pentoses phosphate pour la fermentation des hexoses et des pentoses. C'est un groupe qui rassemble des espèces relativement hétérogènes, mésophiles, comme *Lb. brevis, Lb. kefir et Lb. Sanfransisco.* Outre leur présence dans les produits laitiers et carnés, certaines espèces se développent dans le tube digestif de l'homme, et participent à l'équilibre de la flore intestinale **(Laurent et al., 1998).**

II.6.2 Le genre Streptococcus

Les Streptocoques se présentent sous forme cocci (coque arrondie), formant des chaînes ou des paires **(Laurent et al., 1998)** et exprimant une résistance à haute température, et la capacité de croitre à 52 °C **(Pilet., 2005).** Ce groupe comprend essentiellement des espèces d'origine humaine ou animale dont certaines sont pathogènes comme S. pyogenes et S. agalactiae d'autres sont impliquées dans la formation de la plaque dentaire *(*S. mutans). L'espèce thermophile Streptococcus thermophilus se différencie par son habitat (lait et produits

laitiers), et son caractère non pathogène. Du fait de ses propriétés technologiques, c'est la seule espèce considérée comme un streptocoque lactique **(Laurent et al., 1998).**

II.6.3 Le genre Lactococcus

Le genre Lactoccoccus est formé de bactéries à Gram positif dont les cellules, en forme de coques, sont associées par paires ou en chaînettes de longueur variable. Elles sont dépourvues de catalase et ne sont pas capables d'utiliser l'oxygène mais se multiplient en sa (anaérobies aérotolérantes). Ces bactéries sont thermosensibles et ne peuvent pas croître en présence de 6.5% de NaCl ou à pH 9.6. Leur température optimale de croissance s'étend de 25 à 35°C, respectivement pour les souches de *Lc. cremoris et Lc. lactis. Les Lactococcus* sont capables de croître à 10°C mais pas à une température supérieure à 40°C **(Dellaglio et al., 1994).**

II.6.4 Le genre Leuconostoc

La famille des leuconostocaceae, contient des coques ovoïdes, pouvant être allongés ou elliptiques. Ce sont des cellules sphériques disposent en paire ou en chaîne, elles sont caractérisées par un métabolisme hétérofermentaire en convertissant le glucose en D lactate et éthanol ou en acide acétique par la voie de transcétolase, elles sont incapables de dégrader l'arginine ce qui leurs distinguent des lactobacilles hétérofermentaires **(Gonzalez et al., 2007).**

On range habituellement les leuconostocs dans les anaérobies facultatifs, mais certainsles considèrent comme des anaérobies aérotolérants. Ils sont exigeants et présentent souvent une auxotrophe pour les acides aminés, les peptides, les vitamines, les sels minéraux et les glucides **(Dellaglio et al., 1994).**Ce genre comprend les espèces suivantes : Ln. mesenteroides avec ces sous espèce mesenteroides cremoris et dextranicum et Ln. lactis et Ln. Pseudomesenteroides et Ln.paramesenteroides **(Collins et al., 1993 ; Laease., 2005).**

II.6.5 Le genre Bifidobacterium

Les cellules de Bifidobacterium se caractérisent par leur forme très irrégulière, souventen V et Y, mais pouvant être coccoïde. Elles se différencient des autres bactéries lactiquespar leur caractère anaérobie, leur G + C % élevé, et la présence d'une enzyme, la fructose-6-phosphate phosphocétolase. Celle-ci leur permet de fermenter les hexoses en produisant l'acide acétique et de l'acide lactique, ainsi qu'en moindre proportion de l'éthanol et d'autres acides organiques. Cette fermentation « lactique » a conduit à les rapprocher du groupe des bactéries lactiques. Leur

température optimale de croissance est comprise entre 37°C et 41°C. Elles se développent à pH supérieur à 5. Elles sont isolées de l'homme et des animaux **(Laurent., 1998).**

Tableau 07: Les différents genres de bactéries lactiques et leurs principales caractéristiques **(Laurent et al., 1998)**

Genre	Morphologie	fermentation	Temperature optimal	nombre d'espèces
Lactobacilles	Bacilles	Homo ou hétérofermentaires	Thermophiles ou Mésophiles	G1 :23 G2 :16 G3 :22
Lactococcus	Coques	homofermentaires	Mésophiles	5
Streptococcus	Coques	homofermentaires	Mésophiles ou thermophiles	19
Leuconostoc	Coques	hétérofermentaires	Mésophiles	11
Bifidobacterium	Forme Irrégulière	Acide acétique et lactique	Mésophiles	25

III Intérêts technologiques des bactéries lactiques

III .1. Activité acidifiante (production d'acide lactique)

Le pouvoir acidifiant des bactéries lactiques permet la coagulation du lait (en facilitant l'action de la présure) et l'augmentation de la synérèse du caillé, la participation aux propriétés rhéologiques du produit final; l'inhibition de la croissance des bactéries nuisibles **(Papamanoli et al., 2003).**

III.2. Activité protéolytique

Les bactéries lactiques possèdent des protéinases et des peptidases nécessaires à La dégradation des protéines du lait en peptides et acides amines Ceux-ci peuvent alors Etre transformé en alcools et en acides. Cette activité protéolytique intervient de ce fait sur lerendement fromager, la texture et la saveur typique du fromage et par conséquent sur lescaractéristiques du produit final **(Buist et al., 1998).**

III.3.Pouvoir aromatisant et pouvoir gazeux

Certaines bactéries lactiques sont capables de produire des composés d'arômes qui participent aux qualités organoleptiques des fromages. La plupart des composés d'arôme sontissus du métabolisme du citrate, l'acétoine et le diacétyle sont les plus importants **(Georgalaki et al., 2002, Francois et al., 2007).**

III.4. Activité bactériostatique (la production de bactériocines)

Les bactéries lactiques produisent des substances antimicrobiennes de nature protéique appelées bactériocines. Cette caractéristique est utilisée industriellement pour la destruction des bactéries indésirables et pathogènes dans la fabrication d'aliment comme la nisine produite par les lactocoques dirigée contre Bacillus et Clostridium, la plantaricine et lasakacine produites toutes deux par les lactobacilles actives sur E. coli, Listeria et certaines levures **(Ogunbanwo et al., 2003 ; Zambunelli et Chiavari, 2002),** contribuant ainsi à la préservation de l'équilibre microbien et organoleptique du fromage **(Harris et al., 1989 ;Georgalaki et al., 2002).**

III.5. Propriété probiotique

Le terme "probiotique", dérive de deux mots grecs “pros” et “bios” qui signifient « pour la vie» **(Bernier., 2010).**La définition actuelle des" probiotiques" est celle adoptée par le comité mixte d’experts (FAO/WHO 2002) qui les définit comme "des microorganismes vivants qui, lorsqu’ils sont administrés en quantités adéquates, exercent un effet bénéfique sur la santé de l’hôte".

III.6.Techniques d’Identification des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques sont de nombreuses propriétés métaboliques dont les industriels et les nutritionnistes cherchent à tirer le meilleur parti. Ces propriétés (technologiques, sensorielles, antimicrobiennes ou probiotiques) sont spécifiques de l'espèce ou de la souche bactérienne, ce qui implique qu'on puisse les mettre en évidence par des techniques d'identification et de différenciation. Cela est d'autant plus important que certaines bactéries lactiques sont un caractère pathogène (pour exemple : streptocoques type D).

III.6.1. Analyse phénotypique

Les tests traditionnels phénotypiques constituent la base de description, de différenciation et d'identification des bactéries lactiques. Différents tests clefs sont largement adoptés. La morphologie ainsi que les méthodes physiologiques, métaboliques/biochimiques et chimio-

taxonomiques sont les plus utilisées. Les méthodes physiologiques incluent, principalement, la croissance à certaines températures, à certaines concentrations de sel et sur gélose acétate. Les méthodes métaboliques/biochimiques incluent, principalement, la production de gaz à partir de glucose **(Sperber & Swan., 1976),** le profil d'hydrolyse des sucres, l'hydrolyse de l'arginine **(Montel et Champomier., 1987)** et la détermination de la configuration de l'acide lactique **(Gutmann et Wahlfeld., 1974).** Les méthodes chimio-taxonomiques incluent, principalement, la détection de l'acide meso-diaminopimelique(mDAP) dans le peptidoglycane **(Bousfield et al., 1985 ; Marconi et al., 2000).**

Schillinger et Lücke (1987) ont été les premiers à proposer une clef d'identification des bactéries lactiques de la viande basée sur la comparaison des caractéristiques physiologiques et biochimiques typiques des différentes espèces. Néanmoins cette clef permettait uniquement d'orienter l'identification et non une identification précise. Elle différenciait aussi entre Lactobacillus carnis et Lactobacillus piscicola alors que ces microorganismes ont été génétiquement désignés comme Cb. maltaromaticum (ex. Cb. piscicola) **(Collins et al., 1987), (Montel et al.,1991)** ont proposé par la suite une simple clef pour l'identification des Lactobacillus et Carnobacterium homofermentaires de la viande (Figure 07). Cette clef basée sur des tests biochimiques, physiologiques et chimiotaxonomiques mentionnés en dessus, a été vérifiée par hybridation ADN-ADN et reste encore valable, sic en 'est le fait que Lactobacillus viridescens et Lactobacillus halotolerant sont été reclassés dans un autre genre, en l'occurrence Weissella**(Collins et al., 1993).** Aussi, Cb. piscicola a été reclassé comme Cb. Maltaromaticum **(Mora et al. 2003).**

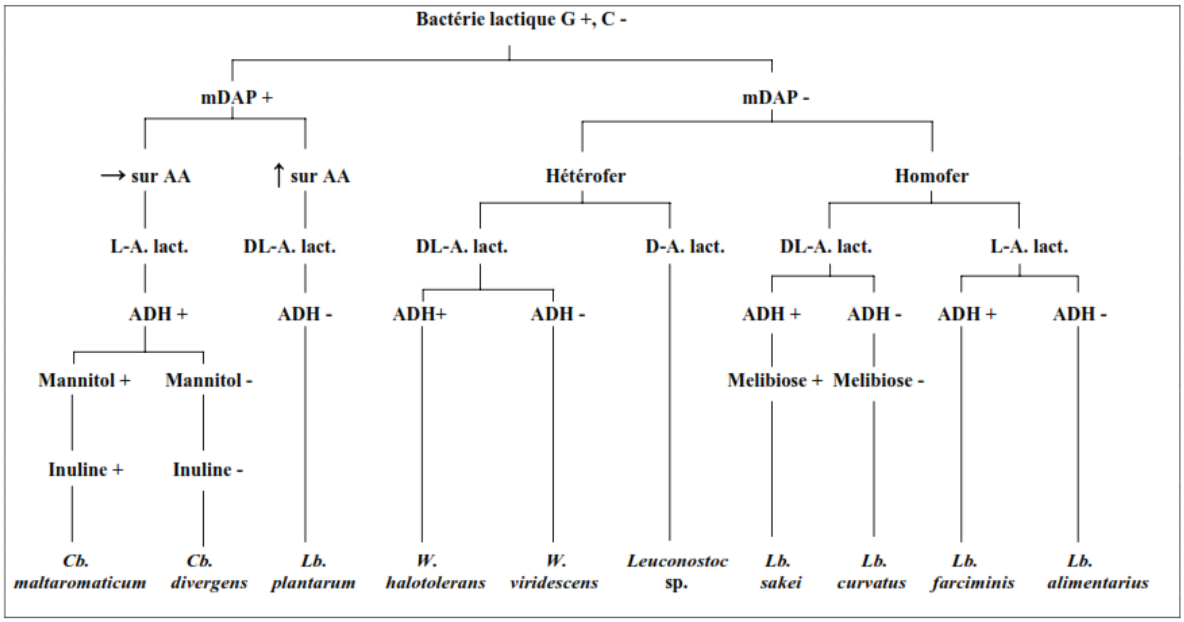


Figure 5: Clef d'identification des bactéries lactiques (Montel et al. 1991).

III.6.2. Analyse sérologique

Les techniques sérologiques dépendent de la capacité des constituants chimiques de la cellule bactérienne à se comporter comme des antigènes. Pour les bactéries lactiques, l'analyse sérologique se fait principalement suivant la méthode de **Lancefield (1933),** basée sur l'utilisation de polysaccharides de l'enveloppe cellulaire en tant qu'antigènes **(Knox et Wicken., 1976)**. Bien que le sérotypage ait été largement utilisé dans le passé pour l'identification des bactéries lactiques, son utilisation est devenue êtres rare à l'exception de l'identification des streptocoques pathogènes.

III.6.3. Méthodes chimio-taxonomiques

III.6.3.1.Analyse des protéines cellulaires solubles par électrophorèse en gel depolyacrylamide (PAGE)

Le principe de cette méthode repose sur le fait que deux souches bactériennes possédant un niveau d'hybridation ADN-ADN de 90 à 100% et cultivées dans les mêmes conditions, produisent un même ensemble de protéines visualisé sous la forme d'une empreinte. Ainsi, leur sélectrophorégrammes (ou profils protéiques) résultant de la séparation du mélange de protéines cellulaires par PAGE ne présenteront que des différences minimes. Les souches partageant une homologie d'ADN d'au moins 70%, présentent des empreintes protéique sayant aussi un niveau

élevé de similitude et produisent des électrophorégrammes encore assez semblables **(Kersters., 1985).** Des banques de profils ont été créées grâce au développement d'un protocole très standardisé **(Pot et al., 1994)** et d'outils informatiques adaptés facilitant les comparaisons et les regroupements à l'aide de coefficients de similitude **(Vauterin ., 1992).** L'électrophorèse des protéines est donc une méthode très sensible qui permet de différencier les bactéries lactiques à un niveau taxonomique fin, en l'occurrence la sous espèce **(Gatti et al., 2001)** ou la souche **(Sánchez et al. 2003).** Cette méthode a été appliquée pour la différenciation entre Lb.sakei et Lb.curvatus isolés de produits carnés fermentés **(Dykes & van Holy., 1995).**

III.6.3.2. Analyse des acides gras de paroi par chromatographie en phase gazeuse

L'analyse des acides gras (A.G) des parois bactériennes par l'utilisation de la chromatographie en phase gazeuse est une méthode rapide, sensible et sélective, permettant l'identification des bactéries lactiques moyennant une comparaison des chromatogrammes obtenus à des banques de données de profils d'A.G **(Dykes et al., 1995).** Néanmoins les conditions de culture (apport nutritionnel, température de croissance, âge de la culture) doivent bien établies et normalisées **(Gilarová et al., 1994).**

Les bactéries lactiques contiennent différents types d'A.G. Les lactobacilles et les pédiocoques sont principalement caractérisés par une prépondérance d'A.G à longues chaînes linéaires saturées ou mono-insaturées, très souvent à nombre pair d'atomes de carbone et d'A.G. cyclo-propanoïques. Les A.G. à chaîne ramifiées iso ou antes iso et les A.G hydroxyliques ou polyinsaturés sont absents de ce type de bactéries **(Rizzo et al., 1987; Rementzis et Samelis., 1996**). Cette méthode a été utilisée pour la différenciation entre Lb. sakei et Lb. Curvatus isolés de produits carnés fermentés **(Rementziset Samelis., 1996).**

III.6.4.Méthodes étudiant la structure des acides nucléiques

III.6.4.1.Contenu en guanine et cytosine de l'ADN chromosomique

L'intérêt de la mesure du contenu en G+C (mol %) est liée à la grande diversité de la composition en guanine et en cytosine de l'ADN des micro-organismes, puisqu'elleva de 25%pour Mycoplasma capricolum à 75% pour Micrococcus luteus **(Muto et Osawa., 1987).** On peut conclure que deux isolats bactériens sont d'espèces différentes que si la différence de leur contenu G+C est d'au moins 5% toutefois, deux souches ayant le même G+C ne sont pas

forcément semblables parce que cette valeur ne prend pas en compte l'arrangement linéaire 9O des nucléotides dans l'ADN.

Le contenu G + C des bactéries lactiques est généralement inférieur à 50 mol% étant donné qu'elles appartiennent au phylum Clostridium. Le genre Lactobacillus montre une grande diversité génétique. En effet, le contenu G + C varie entre un minimum de 32% pour Lactobacillus mali et un maximum de 54% pour Lactobacillus fermentum ou Lactobacillus pontis. Cette amplitude est deux fois plus grande que le seuil de 10% proposé pour l'identité du genre **(Schleifer et Stackebrandt., 1983).** En outre, ces contenus G + C maximum excèdent les 50 mol% proposés comme seuil de séparation entre les phylums des Clostridium et des Actinomyces. Le contenu G + C de Lb. Sakei est de l'ordre de 42-44% **(Champomier-Vergès et al., 2002).**

III.6.4.2.Hybridation ADN-ADN

L'hybridation ADN-ADN repose sur la dénaturation de molécules d'ADN totaux appartenant à deux souches, puis à leurré appariement. La formation d'hétéro- duplex (brin de chaque souche) sera gouvernée par le degré de ressemblance des deux génomes. Le pourcentage de réassociation hétérologues est ensuite calculé. La stabilité thermique est également un paramètre important car elle permet de mesurer le degré de mauvais ré-appariement au sein de l'hétéro-duplex. Il est généralement admis qu'au-dessus de 70%d'homologie, deux souches font partie de la même espèce **(Wayne et al., 1987).** Néanmoins, le niveau exact permettant d'affirmer que deux bactéries sont d'espèces différentes varie selon le genre bactérien **(Zakrzewska-Czerwinska et al., 1988).**

Cette méthode a été utilisée pour l'identification des bactéries lactiques fréquemment isolées de la viande. En l'occurrence Lb. sakei, Lb. curvatus, Lb. plantarum, Lb. farciminis, Lb. alimentarius, Weissellah alotolerans, W. viridescens, Leuconostoc mesenteroides, Cb.divergens et Cb. Piscicola **(Montel et al., 1991).**

III.6.4.3. Séquençage de l'ARNr 16S ET utilisation

Les séquences ribosomiques reflètent le génotype des bactéries. La stratégie de séquencer l'ARNr contenant des morceaux de régions variables et d'effectuer une analyse comparative de la séquence avec celles contenues dans des bases de données déjà existantes permet de déterminer les régions présentant une variabilité. Ces régions variables sont utilisées pour la synthèse des sondes oligonucléotides ou d'amorces PCR.

C'est principalement l'ARNr 16S pour lequel un grand nombre de séquences sont données. Malgré que la région de l'ARNr 16S spécifique à l'espèce est localisée dans les régions V1 à V3, l'identification est plus précise, si tout le gène est séquencé **(Stackebrandt et Goebel., 1994).** Dans certains cas l'analyse de séquence de la région entre les gènes 16S et23S (Intergenic Spacer Region = ITS) a une expression beaucoup plus forte concernant la spécificité de l'espèce, que l'ARNr 16S lui-même et souvent des espèces comme Lb. plantarum, Lb. pentosus et Lactobacillus pseudoplantarum ou Lactobacillus casei et Lactobacillus rhamnosus peuvent être discriminées **(Berthier et Ehrlich, 1998 ; Tannock et al., 1999).** D'autres gènes spécifiques au genre **(Ke et al., 1999)** ou à l'espèce **(Dutka-Malen et al., 1995)** ont été aussi séquencés.

Ainsi, des amorces espèce-spécifique sont été développées pour la plupart des bactéries lactiques fréquemment isolées de la viande et des produits carnés : Lb. sakei, Lb. curvatus, Lb.plantarum **(Berthier et Ehrlich., 1998),** Lb.farciminis, Lb.Alimentarius **(Rachman et al., 2003),** Cb. divergens, Cb. piscicola **(Rachman et al., 2004),** Ec. Faecium **(Dutka-Malen et al., 1995),** Ln. mesenteroides subsp. Mesenteroides **(Moschetti et al., 2000).**

III.6.4.4. Méthodes de typage basé sur l'ADN

Contrairement aux méthodes décrites ci-dessus, ces méthodes sont basées sur la génération d'empreintes issues d'une séparation électro-phorétique des fragments d'ADN. Aujourd'hui les plus importantes méthodes utilisées pour distinguer les bactéries au niveau de l'espèce ou de la sous-espèce sont l'ADN polymorphe amplifié au hasard (Random Amplified Polymorphic DNA, RAPD), le polymorphisme de longueur des fragments d'amplification (Amplified Fragment Length Polymorphism, AFLP) et l'analyse de restriction de l'ADN ribosomique amplifié (Amplified Ribosomal DNA Restriction Analysis, ARDRA). Elles comportent une restriction enzymatique successive à une étape PCR. D'autres méthodes, aussi basées sur l'analyse des acides nucléiques, sont l'analyse de restriction de l'ADN génomique, les profils plasmidiques et le ribotypage **(Rodtong et Tannock., 1993).**

- **RAPD**

Introduite par **(Williams et al., 1990),** elle consiste à amplifier les fragments d'ADN en utilisant comme amorce un oligonucléotide d'une dizaine de bases. Afin de permettre l'hybridation de l'amorce à l'ADN cible, l'étape d'hybridation est réalisée sous faibles conditions astringentes. Il en résulte la génération de séquence d'amorces non spécifiques à l'espèce ainsi qu'une empreinte spécifique à la souche. Cette méthode présente un avantage en

absence de données de séquences sur le génome en question ; néanmoins, elle doit être particulièrement standardisée pour être reproductible **(Tailliez et al., 1998).**

Cette méthode a été appliquée pour l'identification des bactéries lactiques fréquemment isolées des produits fermentés charcutiers, notamment Lb. sakei et Lb. Curvatus **(Berthier et Ehrlich., 1999 ; Andrighetto et al., 2001).**

- **AFLP**

Elle a été introduite au début par **(Vos et al., 1995)** pour l'analyse des génomes des plantes. Comme la technique RAPD, cette méthode est basée sur la mise en évidence conjointe de polymorphisme de sites de restriction et de polymorphisme d'hybridation d'une amorce de séquence arbitraire. Le principe de cette méthode repose sur le fait que des variations dans les profils de bandes reflètent une relation génétique entre les souches bactériennes examinées et donc que ces profils de bandes peuvent être considérés comme des empreintes génétiques pouvant être analysées numériquement dans un but d'identification et de caractérisation **(Janssen et al., 1996).** Le concept AFLP consiste en trois étapes :

1-L'ADN génomique est coupé à l'aide de deux enzymes de restriction qui donnent des extrémités cohésives. Les enzymes ciblent, pour l'une, des sites de coupures fréquemment rencontrés sur le génome (4 Pb) et pour l'autre, des sites moins fréquents (6 Pb).

2-Des adaptateurs d'une vingtaine de paires de bases ayant les extrémités cohésives correspondantes sont ligaturés aux fragments d'ADN coupés.

3- Des amorces ciblant ces adaptateurs sont utilisées de manière à amplifier par PCR les fragments coupés. Ces amorces contiennent à l'extrémité 3' (lieu d'attachement de la polymérase) une, deux ou trois bases supplémentaires choisies au hasard, permettant d'effectuer une sélection parmi les fragments d'ADN disponibles lors de la PCR réalisée en conditions non astringentes.

La technique peut évoluer en échangeant les enzymes de restriction, le nombre et la nature des bases supplémentaire s'accrochées à l'amorce. Une seule des amorces est marquée pour permettre la détection. Les fragments sont séparés par une électrophorèse en gel depolyacrylamide. Les profils sont révélés en fonction de la procédure de marquage utilisée **(Aarts et al., 1999 ; Janssen et al., 1996).**

Cette méthode a été utilisée pour l'identification de bactéries lactiques isolées de produits fermentés à base de poudre de Sorghum, notamment Lb. sakei et Lb. Curvatus **(Kunene et al.,**

2000). Aucune étude utilisant cette méthode n'a concerné l'identification des bactéries lactiques isolées des produits fermentés charcutiers.

- **ARDRA**

C'est une technique combinant d'une part, la connaissance des séquences d'ARN ribosomiques et leur amplification spécifique et d'autre part la caractérisation des souches avec leur profile de restriction. Ce type de RFLP a été nommé ARDRA par **(Vaneechoutte et al.,1992).** L'avantage principal de cette méthode est qu'aucune information de séquence de l'ARN 16S amplifié n'est nécessaire **(Weidner et al., 1996).** L'ADN génomique total de la communauté microbienne est extrait sans cultiver les micro-organismes participants. La présence de séquences universelles conservées aux extrémités 5' et 3' permet l'amplification de presque tous les fragments des gènes ARNr 16S de l'ADN extrait. Le produit PCR peut donc être cloné et la bibliothèque de gène ARNr 16S résultante peut être testée par différentes méthodes. Une hybridation de colonies peut être utilisée moyennant des amorces spécifiques. Les inserts peuvent être amplifiés et caractérisés par une digestion restrictive. Alternativement, un séquençage à une ligne peut être fait pour permettre une détection de grande résolution **(Ward et al., 1990)** suivi par un séquençage complet et une identification comme décrit avant. Cette méthode a été appliquée pour l'identification des bactéries lactiques isolées des vins **(Rodas et al., 2003)** et pour la différenciation entre les sous-espèces de Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus et subsp. Lactis **(Giraffa et al., 1998).**

MATERIEL ET METHODES

Partie expérimentale

1. Objectif

Ce travail a été réalisé au niveau du laboratoire de microbiologie du Centre de Recherche Scientifique et Technique en Analyses Physico-chimique CRAPC.

Le premier objectif a été d'isoler des bactéries lactiques à partir du lait cru de chamelle, de les identifier par la méthode biochimique classique. Le deuxième objectif de ce travail a été d'évaluer la pertinence d'identification bactérienne ainsi que les performances et la facilité d'utilisation du système MALDI-TOF.
Les identifications par les méthodes traditionnelles ont été réalisées en parallèle par la technique de spectrométrie de masse afin de s'assurer de la concordance des résultats.

1. Collecte des échantillons de lait

Les échantillons de lait utilisés proviennent de troupeaux de chamelles de quatre régions du sud du pays : Ouargla, Djelfa, Béchar et Tindouf qui sont caractérisées par une implantation non négligeable de l'élevage de dromadaires (tableau 8).

Les chamelles dont les échantillons de lait ont été prélevés, appartiennent à des rangs de lactation différents. Leur alimentation est basée essentiellement sur les plantes des parcours naturels sahariens.

Tableau 8 : Echantillons de laits de chamelles collectés.

N° de l'échantillon	Stade de lactation	Mois de lactation	Région	Race
E1	I	2	Ouargla	Sahraoui
E2	II	4	Djelfa	Oueled-Sidi-Cheikh
E3	I	2	Béchar	Sahraoui
E4	III	6	Tindouf	Reguibi

L'isolement des souches est effectué à partir de différents échantillons de laits en suivant les étapes suivantes :

- Les flacons de recueil doivent être stériles.
- Avant de commencer, nettoyer et désinfecter les mains à fond et enfiler des gants propres.

- Nettoyer les trayons: utiliser un désinfectant approuvé par la réglementation (l'alcool dans notre cas) et ajuster le temps de nettoyage en fonction du niveau de saleté. Essuyer à fond avec une serviette sèche. Porter une attention particulière au bout du trayon
- Eliminer les premiers jets: cette étape est incontournable pour détecter les premiers signes de mammite. Elle sert à vidanger les bactéries du canal et à stimuler l'écoulement du lait
- Désinfecter la mamelle après la traite afin d`éviter toute sorte de contaminations microbiennes
- Conserver les échantillons du lait à 4°C et transporter aussitôt au laboratoire où ils sont analysés.

2. Préparation de la dilution mère

On a prélevé aseptiquement 1 ml de chaque échantillon au quel on a ajouté 9 ml d'eau peptonée tamponnée stérile. Après homogénéisation, la suspension obtenue constitue alors la dilution mère (DM) qui correspond à la dilution 1/10 ou 10-^{1}.

3. Préparation des dilutions décimales

Un millilitre de la dilution mère (10^{-1}) est prélevé aseptiquement à l'aide d'une pipette stérile et introduit dans un tube à essai contenant 9 ml d'eau peptonée tamponnée stérile. On obtient ainsi la dilution 10^{-2}. La même procédure est répétée en prélevant 1ml à partir de cette dilution (10^{-2}) et en l'introduisant aseptiquement dans un tube à essai contenant 9 ml du diluant et ainsi de suite. On a préparé ainsi sept dilutions. Le diagramme suivant résume les étapes des analyses microbiologiques que les échantillons ont Subit.

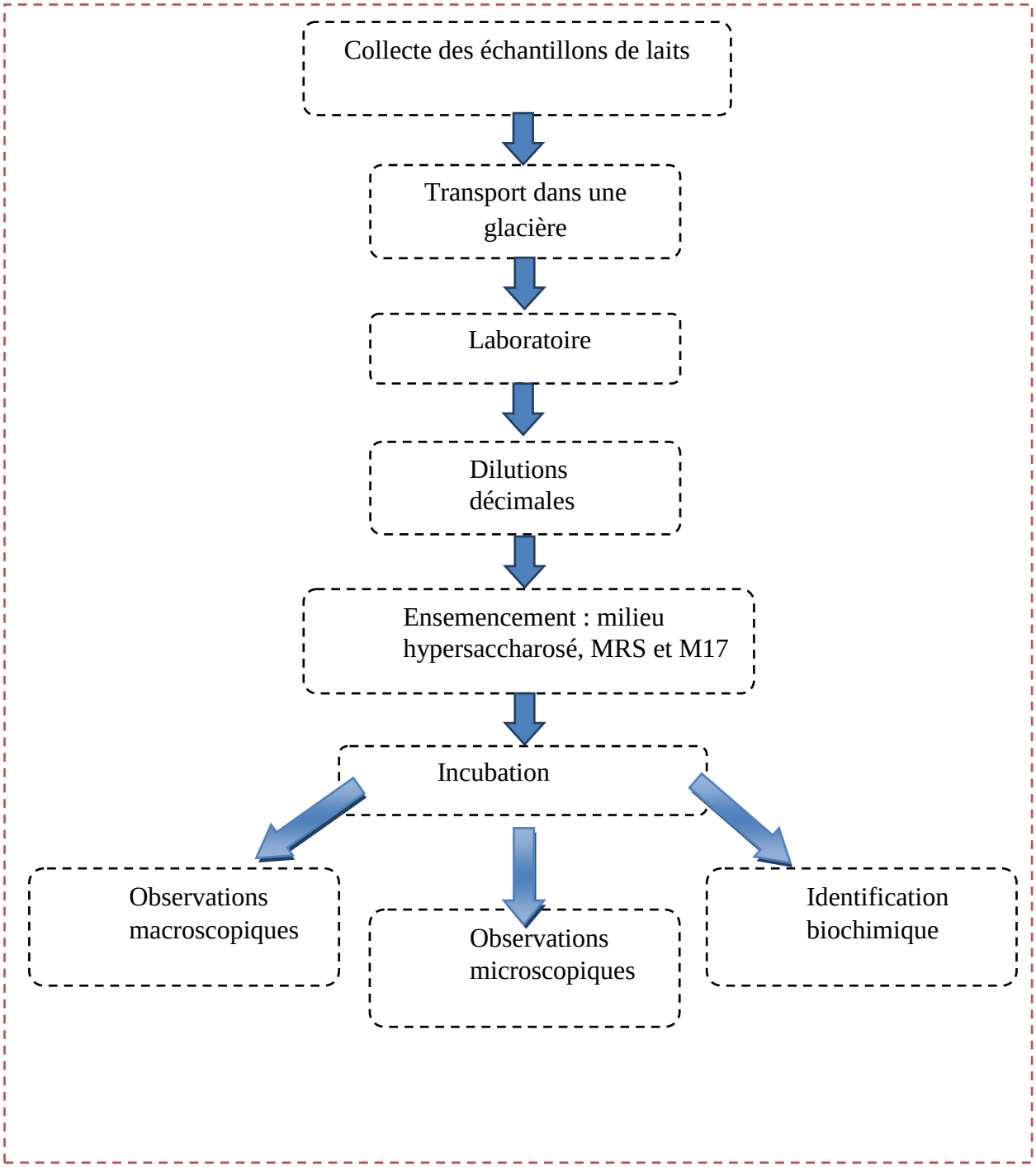


Figure 6: Diagramme récapitulant les étapes suivies pour l'analyse microbiologique du lait camelin

3.1. Obtention des isolats

L'isolement sélectif des bactéries lactiques par culture sur plusieurs milieux a été réalisé selon les méthodes décrites par la Fédération Internationale du Lait. Après dilution des échantillons, on a procédé à l'isolement des différents microorganismes mentionnés au (Tableau 9). Les analyses microbiologiques sont faites directement à partir des prélèvements.

Tableau 9: Milieux utilisés et conditions d'incubation pour l'isolement des bactéries lactiques

Microorganismes	Milieux d'isolement	Température optimal-de croissance (°C)	Durée d'incubation (h)	Incubation
Streptocoques lactiques	M17	42 – 48	72	Aérobiose
Lactocoques	M17	30	72	Aérobiose
Leuconostoc	Hyper saccharose	25	72 – 144	Aérobiose
Pediocoques	M17	30	72	Aérobiose
Lactobacilles mésophiles	MRS	30	24 - 36	Anaérobiose
Lactobacilles thermophiles	MRS	45	24 - 36	Anaérobiose

4. Caractérisation phénotypique des isolats

A. Examen macroscopique

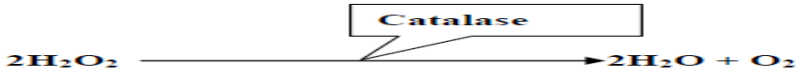
Les caractéristiques macroscopiques sont obtenues à partir des cultures bactériennes sur milieu gélosé, les caractères examinés sont l'aspect, le contour, la couleur et le diamètre de la colonie.

B. Examen microscopique

De chaque boîte, on prélève une colonie bien isolée sur laquelle on effectue une coloration de Gram. Une observation microscopique permet de noter le Gram, la taille, la forme et le mode d'association de chaque souche.

C. Test de catalase

Ce test a pour but de différencier les bactéries lactiques (catalase-) des autres bactéries non lactiques (catalase+). La catalase est une enzyme qui est capable de décomposer l'eau oxygénée selon la réaction :



La catalase est mise en évidence par émulsion d'une colonie dans une goutte d'eau oxygénée à 10 volumes. La présence de la catalase est détectée par le dégagement de bulles d'air (**Norris et al. 1981**).

5.1 Conservation des isolats

Après purification des isolats par des repiquages successifs, 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 et0.05 % de glucose) et 30% de glycérol et stockés à une température de -20°C.

5.2 Croissance en milieux hostiles

D. Croissance à pH 9,6 et 3,3

Les souches sont cultivées à pH 9,6 et pH 3,3 puis incubés à 30°C pendant 48 heures. La croissance qui se traduit par un trouble est estimée par mesure de la densité optique à une longueur d'onde de 600 nm.

E. Croissance en présence de NaCl

Les cellules bactériennes sont cultivées sur milieu M17 ou MRS liquide additionné de 6.5% et 10% de NaCl. La croissance qui se traduit par un trouble est estimée par mesure de la densité optique à une longueur d'onde de 600 nm.

F. Croissance à différentes températures d'incubation

Des tubes contenants du M17 ou MRS liquide sont ensemencés par des cultures jeunes puis incubés à différentes températures : 4°C, 10°C et 45°C. La croissance est déterminée par la présence ou l'absence de trouble après une durée d'incubation de 48 heures.

5.3 Test de la thermorésistante

Des cultures jeunes des souches à testées sont préalablement traitées par une exposition à une température de 60°C pendant 30 min au bain Marie.

A partir de chaque tube traité nous avons ensemencé un nouveau tube de milieu M17 ou MRS liquide et porté à l'incubation à 30°C pendant 24 heures à 48 heures. La croissance des bactéries thermorésistantes se révèle par l'apparition d'un trouble.

La croissance des bactéries se manifeste par un trouble du milieu qui est estimé par lecture spectral à 600nm. Ce test nous a permet de distinguer les entérocoques.

5.4 Caractérisation biochimique des isolats

5.4.1 Type fermentaire

Ce test permet de savoir le type du métabolisme (homofermentaire ou hétérofermentaire) par lequel le substrat carboné est transformé, et la production de gaz à partir de la dégradation du glucose.

Le test est réalisé en inoculant un milieu liquide (MRS ou M17) contenant le et une cloche de Durham en position inversé par la souche à étudier. La présence de gaz dans la cloche indique un métabolisme hétéro fermentaire alors que son absence indique un métabolisme homofermentaire.

5.4..2 Hydrolyse de l'arginine

L'arginine dihydrolase (ADH) est une enzyme capable de dégrader l'arginine en ammoniac, et des amines. La recherche de cette enzyme se fait sur milieu Möeller qui contient le BCP (pourpre de bromocrésol) qui est un indicateur de pH qui vire vers le mauve en milieu basique.

Les bactéries lactiques utilisent le lactose ce qui va acidifier le milieu, et donc un virage de la couleur du milieu au jaune. Si la bactérie testée est capable d'utiliser l'arginine, le milieu va subir une alcalinisation et donc un virage de l'indicateur au mauve.

Pour chaque souche testée, on ensemence un milieu Möeller-BCP liquide, puis on incube à 30°C pendant 48h.

5.4.3 Fermentation des carbohydrates

La fermentation des carbohydrates a été menée sur milieux CHL additionné de 3% du sucre à tester. Les sucres utilisés sont : Arabinose, Galactose, Glucose, Fructose, Mannose, Rhamnose, Mannitol, Cellobiose, Maltose, Lactose, Sucrose et Raffinose.

Chaque tube est ensemencé par une culture jeune de la souche testée à une concentration finale de 1%. Cette culture jeune est préparé à partir d'une culture de 18h, centrifugée à 8000 tr/min pendant 15 min. le culot ainsi récupéré est additionné de 2 ml de tampon phosphate puis centrifugé aux mêmes conditions pour éliminer les résidus du milieu de culture. Le culot obtenu est par la suite dilué dans le milieu CHL stérile jusqu'à obtenir une DO $_{600nm}$ finale de 1.A chaque tube, on ajoute une fine couche de paraffine pour créer l'anaérobiose. La lecture de résultats se fait à 24 et 48 h d'incubation.

6. Identification bactérienne par spectrométrie de masse MALDI-TOF/MS

La spectrométrie de masse MALDI-TOF ou Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization – Time Of Flight / Mass Spectrometry (MALDI-TOF/MS) est un spectromètre de masse couplant une source d'ionisation laser assistée par une matrice (MALDI, Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization) et un analyseur à temps de vol (TOF, time-of-flight mass spectrometry). C'est une technique d'analyse physico-chimique permettant de détecter, d'identifier et de quantifier des peptides ou de protéines, l'analyse de leur séquence en acides aminés ou encore la mise en évidence de modifications post-traductionnelles par mesure de leur « temps de vol » (proportionnel à leur masse et à leur charge) **(Wardi Moussaoui., 2012)**

6.1.Appareillage

L'appareillage est constitué schématiquement de 4 parties:
Une chambre d'ionisation associée à une source de type laser à azote, permettant de générer des ions en phase gazeuse.
Un analyseur de type « TOF » (time of flight) ou à temps de vol constitué d'un tube libre de tout champ magnétique fait que la distance parcourue par un ions jusqu'au détecteur (temps de vol), permettant la séparation des ions après une phase d'accélération.
Un détecteur de particules permettant la réception et la transformation du courant ionique en un courant électrique, puis sa représentation sous forme d'un spectre de masse.
Une unité informatique comportant les logiciels d'acquisition, de traitement et de comparaison des spectres obtenus à sa base de données. **(Cécile Nocon., 2013)**

6.2.Fonctionnement

Cette méthode est composée de deux étapes :
• L'échantillon est mélangé avec une matrice sur une plaque. Le mélange matrice/échantillon va se Co-cristalliser sur la plaque. Ce mélange Co-cristallisé est bombardé par un faisceau laser, entrainant l'ionisation et la désorption des molécules (MALDI*).
• Les molécules ionisées vont alors passer dans un tube de vol. Elles sont séparées selon leur rapport masse/charge (m/z) en fonction de leur temps de vol (TOF*). Les ions atteignent un détecteur qui va amplifier le signal traduit sous la forme d'un spectre caractéristique de chaque espèce.

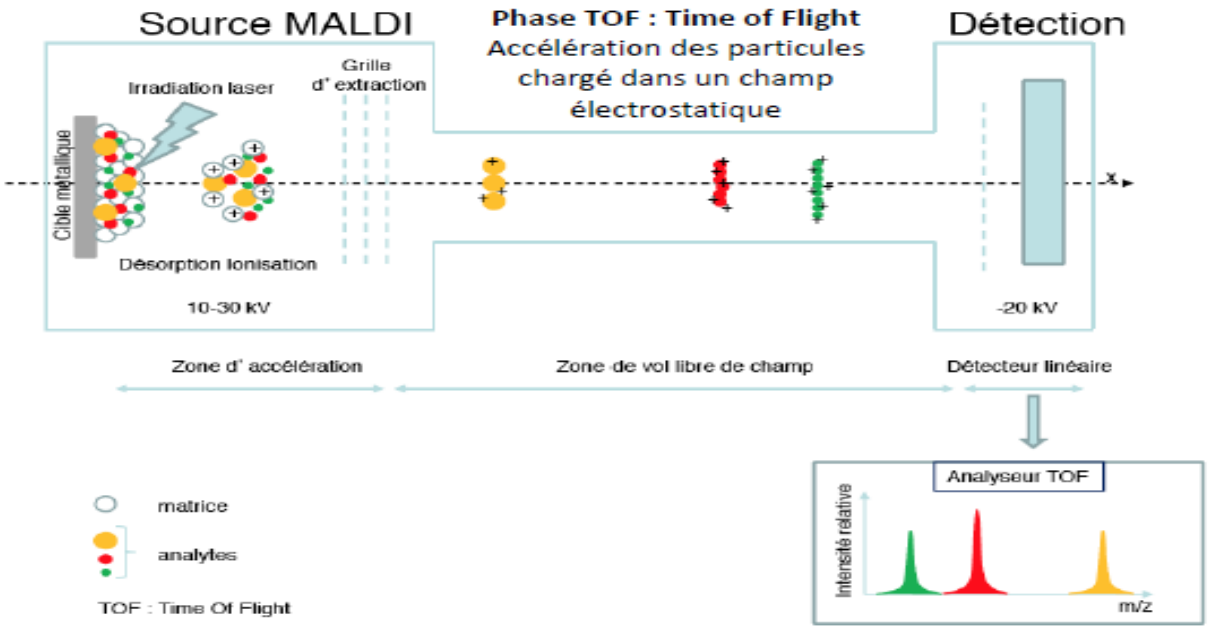


Figure 07 : schémas explicatif des étapes de la méthode MALDI TOF (**Dortet Laurent., 2010)**

6.3. Mode opératoire

Après avoir sélectionnées 21 souches pour l'identification au MALDI, nous avons purifiées les souches sur milieu solide MRS ou M17 à 30°C pendant 24h. Les boites de purification testée sont au CRAPC (DE BOUSMAIL) où l'identification a été faite comme suit.

A- Préparation et désinfection de plan de travaille



Figure 8 : Organisation du plan de travail lors de la réalisation des dépôts (**originale).**

B- Préparation de la matrice

Avant chaque série d'analyses, la matrice est préparée et conservée à 4 ºC à l'abri de la lumière **(Williams et al., 2003).**

C- Dépôt des isolats

- Déposer 1.5 µl de " BTS " (témoin positif) dans les 2 premiers puits.
- Sur la ligne suivante dans la même colonne, déposer 1.5 µl de la matrice (témoin négatif) dans 2 puits.
- Sur les lignes suivantes de la cible MALDI, après la sélection d'une colonie bactérienne intérêt on la dépose directement sous forme d'un fin frottis à la surface de la cible (en deux exemplaires), a l'aide d'une anse ou cône (figure10)
- Une fois tous les dépôts effectués, Couvrir les puits par 1.5 µl de la matrice et laisser sécher pendant quelques minutes. La matrice a pour but de lyser la paroi cellulaire du micro-organisme et de faciliter la Co-cristallisations et la mise en suspension des protéines bactériennes (figure 11).



Figure 09 : Dépôt des colonies sur la plaque cible (originale)



Figure 10 : Ajout de la solution matrice (originale)

-Introduire la cible dans le système MALDI-TOF et, en moins de 2 minutes, le premier spectre de masse est produit et analysé .Par comparaison avec la base de données, le logiciel propose l'identification la plus probable.



Figure 11 : Insertion de la cible dans la chambre de l'automate. **(Originale)**

-Acquisitions des données et Détection d'un spectre en temps réel
Le logiciel BIOTYPER RTC® compare le spectre obtenu avec les spectres de références de la base de données. Le résultat de l'identification apparait sous la forme d'un score de corrélation entre le spectre obtenu et le spectre de référence le plus proche identifié.

-Les résultats font intervenir deux paramètres, tout d'abord le score représenté par (+++), (++), (+) ou (–) ainsi qu'une couleur, puis la cohérence à l'espèce ou au genre selon des lettres A, B ou C. Le critère de cohérence à l'espèce est influencé par la notion de répétabilité de l'identification proposée. La répétabilité repose sur le nombre de choix d'espèces identiques proposées pour l'identification du micro-organisme parmi les dix spectres les plus similaires à celui d'intérêt.
La taille et les intensités des pics des molécules détectées sont tributaires de la matrice choisie pour l'expérience. Ainsi selon leur structure, les différentes protéines de l'échantillon vont se charger positivement ou négativement **(Cécile Nocon., 2013)**

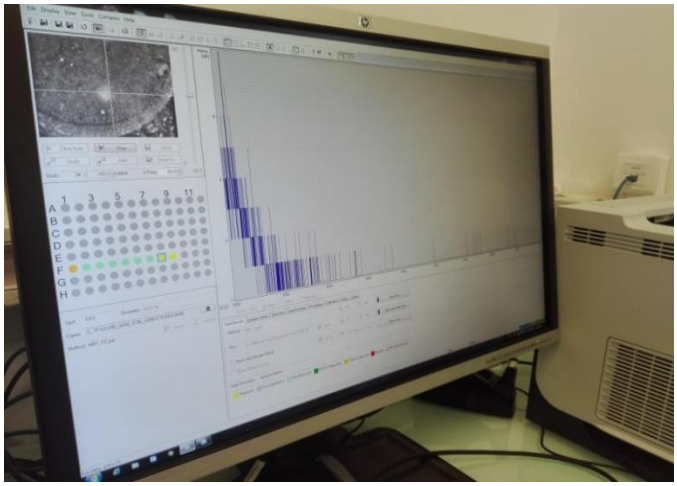


Figure 12 : Insertion de la cible dans la chambre de l'automate. **(Originale)**

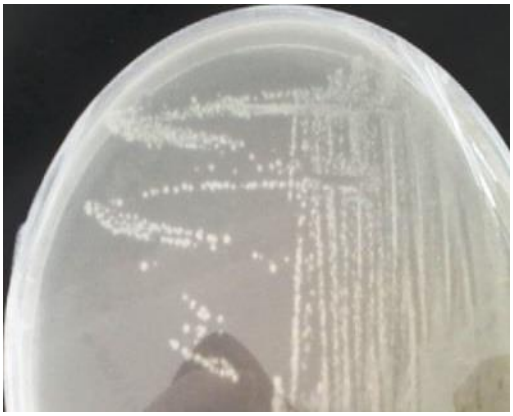
RESULTAT ET DISCUSSION

1 Examen macroscopique et microscopique

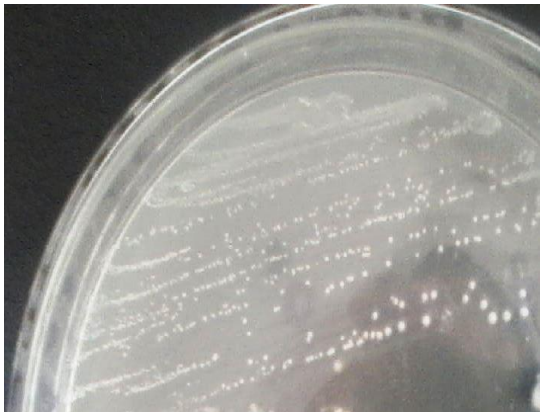
1.1Caractérisation macroscopique

Un total de vingt-sept souches ont été isolées et purifiées sur milieu MRS et M17. La caractérisation macroscopique, permet de décrire l'aspect des colonies obtenues sur milieux solides MRS et M17 après l'incubation et de déterminer les critères relatifs aux colonies des bactéries lactiques (taille, aspect, contour et pigmentation). Les caractères des colonies se diffèrent d'un échantillon à un autre et d'une souche à une autre comme le montre le tableau 10.

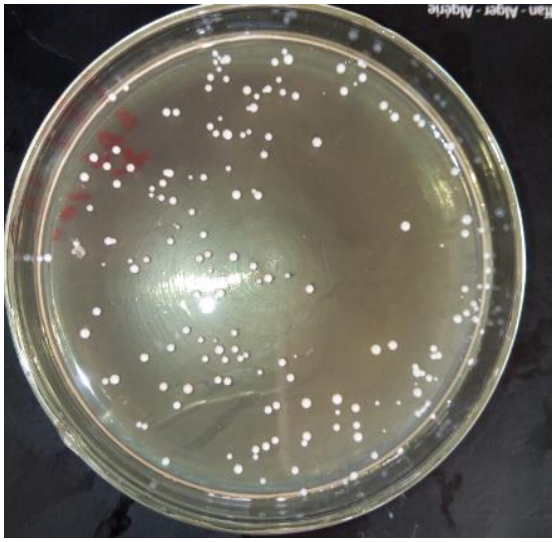
L'aspect macroscopique de deux souches est illustré dans la figure suivante :



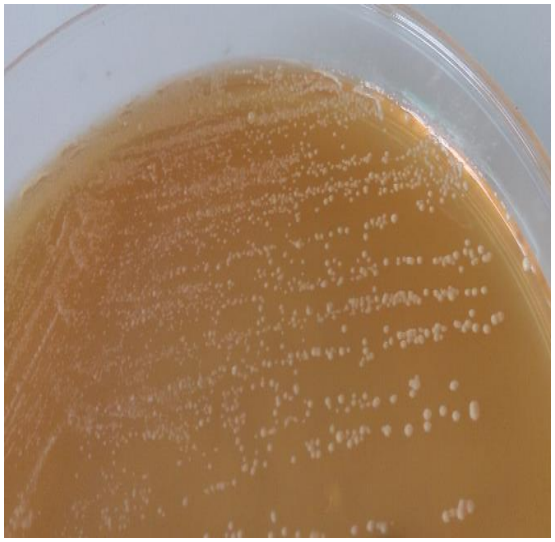
Souche LCO1



Souche LCT7



Souche LCD2



Souche LCD3

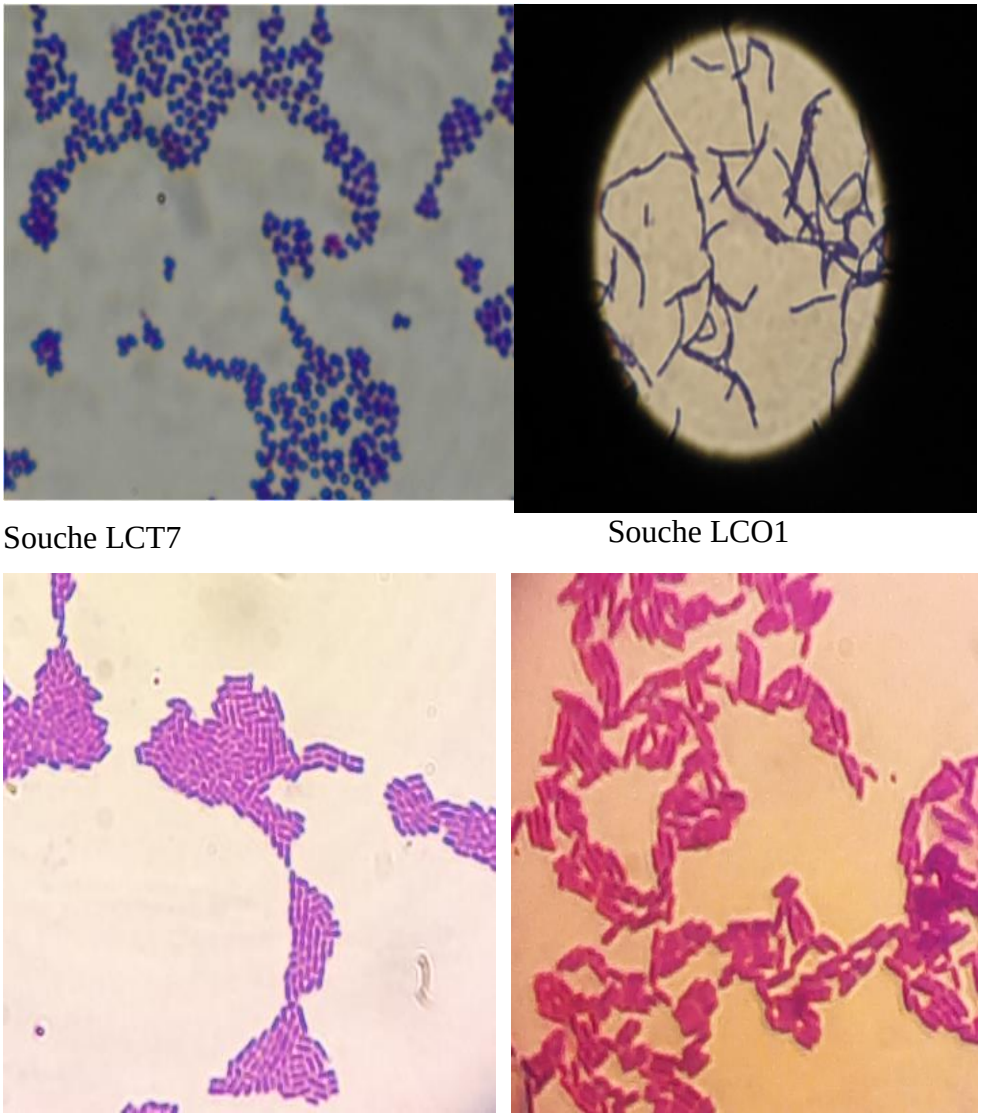
Figure 13: Aspect des colonies des deux souches bactériennes LC19 et LC26 cultivées sur milieux solides

Tableau 10: caractéristiques des souches étudiées

Code de la souche	Source d'isolement	Diamètre	Couleur	Aspect	Contour
LCO 1	Lait de chamelle Ouargla	≅1mm	Blanchâtre	Lisse	Régulier
LCO 2	Lait de chamelle Ouargla	0,5-1mm	Transparente	Lisse	Régulier
LCO 3	Lait de chamelle Ouargla	≅1mm	Transparente	Lisse	Régulier
LCO 4	Lait de chamelle Ouargla	≅1mm	Transparente	Lisse	Régulier
LCO 5	Lait de chamelle Ouargla	≅1mm	Blanchâtre	Lisse	Régulier
LCO 6	Lait de chamelle Ouargla	≅0,5mm	Blanchâtre	Lisse	Régulier
LCO 7	Lait de chamelle Ouargla	≅0,5mm	Transparente	Lisse	Régulier
LCO 8	Lait de chamelle Ouargla	≅0,5mm	Blanchâtre	Lisse	Régulier
LCB 1	Lait de chamelle Béchar	≅1mm	Blanchâtre	Lisse	Régulier
LCB 2	Lait de chamelle Béchar	≅1mm	Transparente	Lisse	Régulier
LCB 3	Lait de chamelle Béchar	≅1mm	Blanchâtre	Lisse	Régulier
LCB 4	Lait de chamelle Béchar	≅1mm	Transparente	Lisse	Régulier
LCB 5	Lait de chamelle Béchar	≅0,5mm	Transparente	Lisse	Régulier
LCD 1	Lait de chamelle Djelfa	≅0,5mm	Transparente	Lisse	Régulier
LCD 2	Lait de chamelle Djelfa	0,5-1mm	Blanchâtre	Lisse	Régulier
LCD 3	Lait de chamelle Djelfa	0,5-1mm	Blanchâtre	Lisse	Régulier
LCD 4	Lait de chamelle Djelfa	≅0,5mm	Blanchâtre	Lisse	Régulier
LCD 5	Lait de chamelle Djelfa	≅0,5mm	Blanchâtre	Lisse	Régulier
LCD 6	Lait de chamelle Djelfa	≅0,5mm	Transparente	Lisse	Régulier
LCT 1	Lait de chamelle Tindouf	≅0,5mm	Blanchâtre	Lisse	Régulier
LCT 2	Lait de chamelle Tindouf	0,5-1mm	Transparente	Lisse	Régulier
LCT 3	Lait de chamelle Tindouf	0,5-1mm	Transparente	Lisse	Régulier
LCT 4	Lait de chamelle Tindouf	≅0,5mm	Blanchâtre	Lisse	Régulier
LCT 5	Lait de chamelle Tindouf	≅0,5mm	Blanchâtre	Lisse	Régulier
LCT 6	Lait de chamelle Tindouf	≅1mm	Transparente	Lisse	Régulier
LCT 7	Lait de chamelle Tindouf	≅1mm	Transparente	Lisse	Régulier
LCT 8	Lait de chamelle Tindouf	≅1mm	Transparente	Lisse	Régulier

1.3 Caractérisation microscopique

L'observation microscopique a révélé plusieurs formes de cellules ; coccis, bacilles de différentes tailles et des coccobacilles. Ces formes sont disposées en paire, en grappe ou en chainettes plus ou moins longues. La coloration de Gram a montré que tous les isolats sont de Gram positif (Figure 14) et le test de catalase était négatif. Ces caractéristiques permettent leur classification au groupe des bactéries lactiques. Les résultats de la caractérisation microscopiques sont résumés dans le tableau 11.



Souche LCT7 Souche LCO1

Souche LCD2 Souche LCD3

Figure 14 : Aspect de quelques souches étudiées sous microscope optique (GX1000)

Tableau 11: Caractéristiques microscopiques des souches étudiées

Code de la souche	Gram	Catalase	Forme	Mode d'association
LCO 1	+	-	Bacilles	En chaine et en diplobacilles
LCO 2	+	-	Coccis	Isolées, en amas et en chaînettes
LCO 3	+	-	Coccis	Diplocoques, en amas et en chaînettes
LCO 4	+	-	Coccis	En amas et en diplocoques
LCO 5	+	-	Coccis	Diplocoques et en chaînettes
LCO 6	+	-	Coccis	Diplocoques et en chaînettes
LCO 7	+	-	Coccis	Diplocoques et en chaînettes
LCO 8	+	-	Bacilles	En chaine et en diplobacilles
LCB 1	+	-	Coccis	En grappes et isolées
LCB 2	+	-	Bacilles	Isolées, en amas et en chaînettes
LCB 3	+	-	Coccis	Isolées, en amas et en chaînettes
LCB 4	+	-	Coccis	Isolées, en amas et en chaînettes
LCB 5	+	-	Coccobacilles	En chaine et en diplo
LCD 1	+	-	Coccobacilles	En chaine et en diplo
LCD 2	+	-	Bacilles	Isolées, en chaine et en amas
LCD 3	+	-	Bacilles	En diplobacilles et en amas
LCD 4	+	-	Coccobacilles	En amas
LCD 5	+	-	Bacilles	En amas
LCD 6	+	-	Coccis	En amas et isolées
LCT 1	+	-	Coccobacilles	En amas et en chainettes
LCT 2	+	-	Coccis	En amas et isolées
LCT 3	+	-	Coccis	En amas et en chainettes
LCT 4	+	-	Bacilles	Isolées, en chaine et en amas
LCT 5	+	-	Coccis	Diplocoques, en amas et en chainettes
LCT 6	+	-	Coccobacilles	En amas et en chainettes
LCT 7	+	-	Coccis	Diplocoques, en amas et en chainettes
LCT 8	+	-	Coccobacilles	En amas et en chainettes

2. Croissance en milieux hostiles

Les souches isolées ont été cultivées sur plusieurs milieux afin de tester leur résistance aux différentes conditions de culture (tableau 12).

Comme le montre le tableau 9, la plupart des souches testées peuvent croître en présence de 6,5% de NaCl. Ce résultat est inattendu vu que la bibliographie rapporte que les bactéries lactiques tolèrent une concentration de 4% de NaCl **(De Roissart et Luquet., 1994).** Cependant une étude réalisée par Karam en 2006 a rapporté la présence de souches de Lactococcus dans un échantillon de lait de chamelle. Notre résultat peut être expliqué par l'écosystème à partir duquel les souches ont été isolées où les dromadaires s'alimentent par des plantes caractérisées par une teneur élevée en NaCl vu les conditions climatiques et les zones de croissance de ces plantes.

La croissance des isolats a été testée à 4°, 10° et 45°C. La majorité des souches testées sont signalées thermophiles, elles poussent bien à 45°C après 24 h d'incubation sauf les souches : LCO7 et LCB1 qui sont incapables à se développer à 45°C (type mésophiles). Ce test permet de diviser les souches en deux groupes : groupe des souches mésophiles et le groupes des souches thermophiles.

Presque la moitié des isolats ont résisté à un traitement thermique à 60°C pendant 30 minutes. Trois souches ont révélé une résistance intermédiaire, c'est le cas des souches LCD4, LCB3 et LCB2.

Selon **Tailliez., (2004),** la plupart des lactobacilles se multiplie dans une gamme de températures comprise entre 15 °C et 42 °C. Certaines souches de lactobacilles dites « thermophiles » restent viables à 55 °C.

Tableau 2 : croissance en conditions hostiles

6,5% NaCl	10% NaCl	pH 3,3	pH 9,6	4°C	10°C	45°C
+	-	+	+	+	+	+
-	-	+/-	-	-	-	+
+	-	+/-	+	+	+	+
+	-	+/-	+	-	-	+
+	-	+	+	+	+	+
-	-	-	+	-	-	+
-	-	-	-	-	+	-
+	-	+	+	+	+	+
+	-	-	+	-	-	-
+/-	-	-	+	-	-	+
+	-	+	+	-	-	+
-	-	+	+	-	-	+
+/-	-	+/-	+	+	+	+
+	-	+	+	-	-	+
+	-	+	+	+	+	+
+	-	+	+	+	+	+
+	-	+	+	-	-	+
+/-	-	+/-	+	+	+	+
+	-	+	+	+	+	+
+	-	+/-	+	+	+	+
+	-	+	+	+	+	+
+	-	-	-	-	+	+
+	-	+	+	+	+	+
+	-	+	+	+	+	+
+/-	-	-	-	-	-	+
+	-	+/-	+	-	-	+
+/-	-	-	-	-	-	+

+ : test positif ; – : test négatif ; ND : non déterminant ± : résultat intermédiaire

3. Caractérisation biochimique des souches

Le type fermentaire permet d'apprécier le type du métabolisme par lequel le substrat carboné est transformé pour différencier entre les souches homofermentaires et hétérofermentaires (tableau 13). Les résultats montrent que la production de gaz (CO_2) à partir du glucose a été observée chez les souches : LCO5, LCB4, LCD1, LCD5, LCT5 et LCT8. Ces isolats sont considérés comme hétérofermentaires. Le reste des souches sont considérés comme homofermentaires.

Tableau 3 : souche, type fermentaire, adh, thermorésistante

SOUCHE	TYPE FERMENTAIRE	ADH	THERMORESISTANCE
LCO 1	Hétérofermentaire	-	-
LCO 2	Homofermentaire	+	+
LCO 3	Homofermentaire	-	-
LCO 4	Homofermentaire	-	+
LCO 5	Hétérofermentaire	+	+
LCO 6	Homofermentaire	-	-
LCO 7	Homofermentaire	+	-
LCO 8	Homofermentaire	-	-
LCB 1	Homofermentaire	+	-
LCB 2	Homofermentaire	-	+/-
LCB 3	Homofermentaire	-	+/-
LCB 4	Hétérofermentaire	-	-
LCB 5	Homofermentaire	-	+
LCD 1	Hétérofermentaire	-	-
LCD 2	Homofermentaire	-	-
LCD 3	Hétérofermentaire	-	-
LCD 4	Homofermentaire	-	+/-
LCD 5	Hétérofermentaire	-	-
LCD 6	Homofermentaire	+	+
LCT 1	Homofermentaire	+	+
LCT 2	Homofermentaire	+	+
LCT 3	Homofermentaire	+/-	-

LCT 4	Homofermentaire	-	-
LCT 5	Hétérofermentaire	+	+
LCT 6	Hétérofermentaire	-	+
LCT 7	Homofermentaire	-	-
LCT 8	Hétérofermentaire	-	+

L'activité de l'arginine déshydrogénase effectuée sur les souches isolées, sur milieu Möeller a révélé que seules les souches LCO2, LCO5, LCO7, LCB1, LCD6, LCT1, LCT2, et LCT5 sont ADH positive. Le reste des souches sont dépourvues d'arginine dihydrogénase alors que la souche LCT3 a révélé un résultat intermédiaire (tableau 9).

3.1Fermentation des carbohydrates

La détermination des genres et des espèces bactériennes, réside essentiellement dans leur capacité à fermenter les sucres en acide lactique et autres acides organiques. Le résultat du profil fermentaire révèle une diversité métabolique des carbohydrates chez les isolats obtenus (tableau 14).

4. Discussion générale

La différenciation entre les espèces repose sur la base des différentes températures de croissance, de l'hydrolyse de l'arginine, le type fermentaire et essentiellement sur leur faculté à fermenter différemment les carbohydrates. Les isolats de bactéries lactiques appartiennent aux groupes suivants:

- **Coques lactiques**

Les souches LCO3, LCO4, LCO5, LCB3, LCD6, LCT2, LCT3, LCT5 et LCT7 peuvent croitre à 45°C, thermorésistantes et qui ont la capacité de pousser en présence de 6.5% de NaCl et à pH 9.6 se rapproche du genre Enterococcus selon **Shattock (1963).**

Les souches LCO2, LCO6, LCO7, LCB1 et LCT7 qui ne poussent pas en présence de 6.5% de NaCl et sont thermosensibles, on les classe dans le genre des Lactococcus.

Une étude réalisée par **Karam (2006)** a mis en évidence la présence dans le lait de chamelle, des espèces lactococcus lactis ssp lactis et lactococcus lactis ssp cremoris ayant une capacité inattendue de résister à une concentration de 6,5% de Nacl.

Tableau 14 : le profil fermentaire de sucres **.**

Souche	Glucides											
	Arabinose	Sorbitol	Glu	Fru	Mannose	Rhamnose	Mannitol	Cellobiose	Maltose	Lact	Saccharose	Raffinose
LCO 1	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
LCO 2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
LCO 3	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
LCO 4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
LCO 5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
LCO 6	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
LCO 7	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-
LCO 8	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
LCB 1	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
LCB 2	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
LCB 3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
LCB 4	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
LCB 5	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-
LCD 1	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-
LCD 2	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
LCD 3	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
LCD 4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
LCD 5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
LCD 6	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-
LCT 1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
LCT 2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
LCT 3	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-
LCT 4	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
LCT 5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
LCT 6	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-
LCT 7	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-
LCT 8	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-

➢ Les lactobacilles

La forme bâtonnet observé au microscope, le type de la coloration de Gram (+) et la catalase négative, nous ont orientés pour classer sept isolats dans le genre Lactobacillus. La division classique des lactobacilles a été basée sur leurs caractéristiques fermentaires :

(1)homofermentaire obligatoire .

(2) hétérofermentaire facultatif.

(3) hétérofermentaire obligatoire **(Stiles et Al, 1997).**

Les tests biochimiques et physiologiques et les profils fermentaires des sucres enregistrés (Tableau 14) sont comparés avec celui des souches de référence et nous a amené à définir les différentes espèces.

Les souches LCO1, LCD3 et LCD2 sont hétérofermentaires et mésophiles, elles fermentent tous les sucres testés sauf le sorbitol et le rhamnose. Selon DE **Roissart et Luquet (1994),** Lb. plantarum est capable de fermenter le saccharose, le mannitol, le maltose et le lactose. Cela permet de les identifier comme étant Lb. plantarum.

La souche LCT4, LCB2 et LCO8 aptes à se développer à 10°C, elles sont homofermentaires. Elles dégradent le mannitol, le maltose et différemment le lactose et le saccharose, propriétés trouvés chez Lb. paracasei ssp. paracasei.

Les souches LCD5 pousse à 10°C et à 45°C. Elles possèdent une capacité à fermenter le mannitol, le lactose, le maltose et le sucrose. Ces caractéristiques sont rencontrées chez Lb. rhamnosus. Elles produisent le CO à partir du glucose. Selon **StileS et Holzapfel (1997),** Lb. rhamnosus est classée dans le groupe des lactobacilles hétérofermentaire facultatifs.

Karam (2006), a montré la présence de Lb. plantarum comme seule espèce de lactobacilles retrouvée dans des échantillons de lait de chamelle étudiés. Cette espèce lactique, réputée être habituellement l'hôte de plantes, a été signalée comme espèce majoritaire de la flore lactique des laits crus de vache, de brebis ou de chèvre mais toujours auprès d'autres lactobacilles, comme par exemple Lactobacillus casei ou Lactobacillus brevis **(Bouix et Leveau, 1988).**

L'identification des souches en formes de coccobacilles n'est pas réalisée en raison de leur forme morphologique intermédiaire qui rend l'orientation de leur classification difficile d'où l'intérêt d'utiliser une méthode d'identification qui se base sur d'autres critères autre que la morphologie.

4.1 - Identification par MALDI-TOF

Neuf souches bactériennes isolées ont été soumise à une analyse de cellule entière de type MALDI-TOF MS. Cette analyse identifie les bactéries sur la base du criblage de pics caractéristiques observés en tant que biomarqueurs pour l'identification des bactéries **(Hollande et al., 1996).**En utilisant plusieurs souches de référence pour chacune des espèces, qui doivent être incluses dans la base de données **(Williams et al., 2003 ; Chen, 2008).**

Le logiciel MALDI BioTyper TM 2.0 a été utilisé pour le traitement des résultats, il peut utiliser différentes banques de données pour produire, à partir des spectres, des listes de pics ou des références de spectres. Le logiciel produit automatiquement les listes de pics à partir de tous les spectres et extrait les pics typiques qui sont présents dans les spectres répertoriés pour une espèce donnée. Quelques spectres de masse des souches identifiées sont représentés dans les figures suivantes.

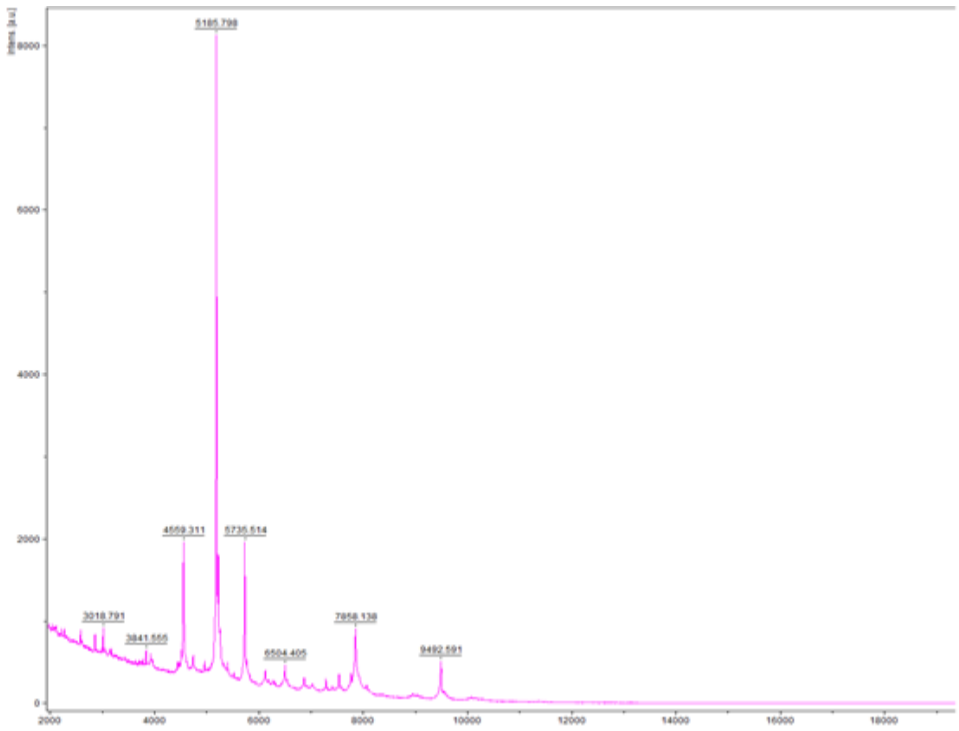


Figure15 : Spectre de masse de la souche LCD5

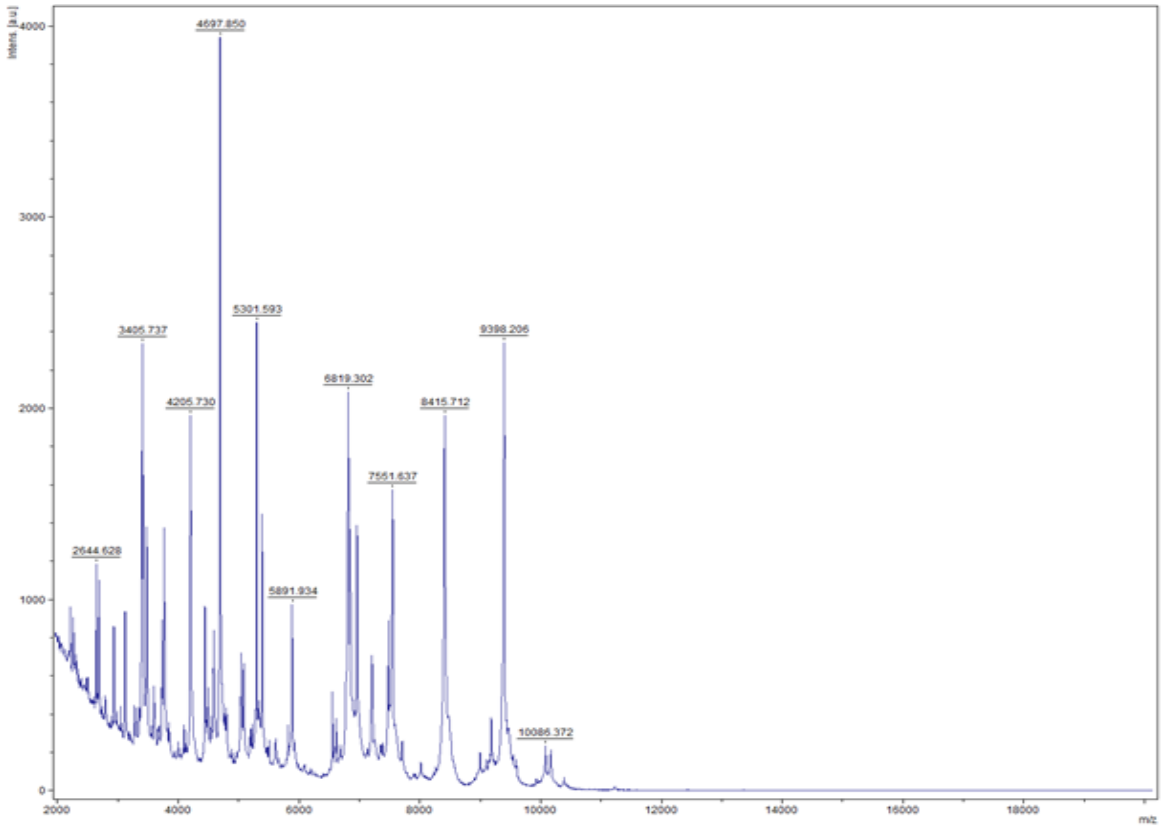


Figure 15: Spectre de masse de la souche LCT4

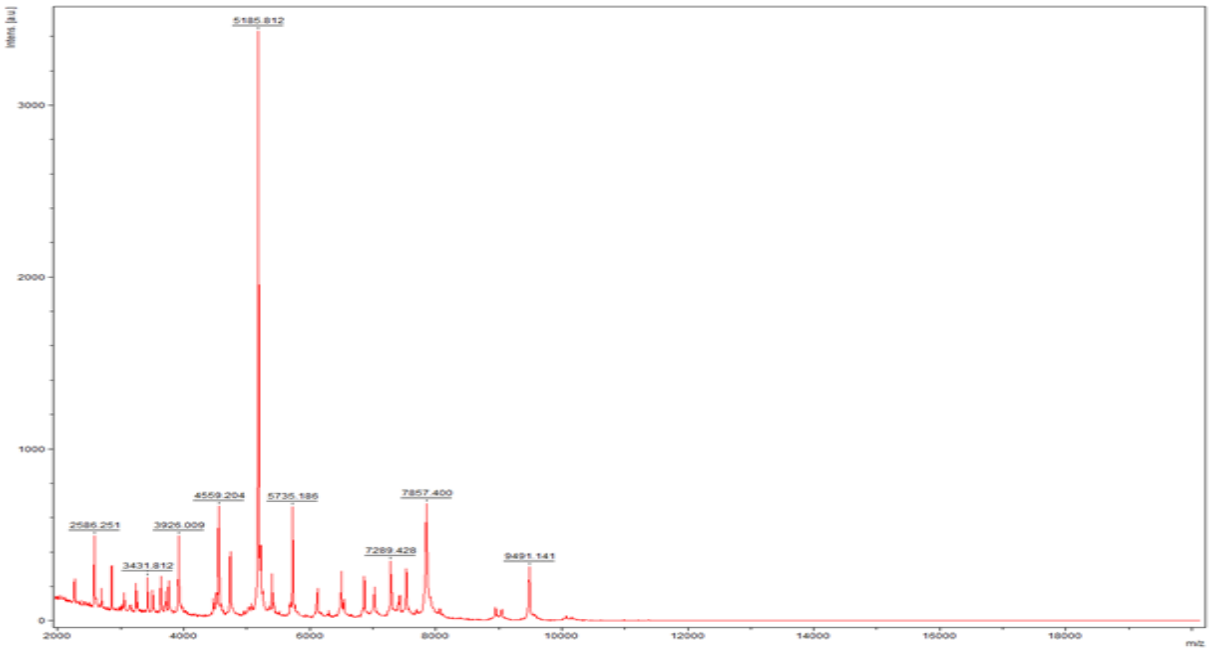


Figure16 : Spectre de masse de la souche LCT7

Les souches bactériennes isolées sont identifiées est classées selon un score d'appariement et de fiabilité d'identification, basé sur les masses identifiées et la corrélation de leurs intensités. Un score supérieur à 2,000 (ou compris entre 2,000 et 3,000) indique une bonne fiabilité et une forte probabilité d'identification de l'espèce.

Tableau 15: identification des espèces bactériennes par MALDI TOF/MS.

Souches isolées	Identification MALDI TOF	SCORE
LCB3	Lactobacillus plantarum	2.054
LCB4	Enterococcus faecium	2.303
LCD3	Lactobacillus plantarum	2.145
LCD5	Lactobacillus plantarum	2.299
LCT1	Enterococcus faecium	2.041
LCT2	Not found	
LCT5	Not found	
LCT4	Lactobacillus paracasei	2.145
LCT7	Enterococcus faecium	2.312

Ces résultats nous ont permis l'identification au rang de l'especes 7 isolats sur les 9 testées (car score > 2,000). on peut conclure à ce stade que la spectrométrie de masse de type MALDI-TOF est bien établie comme étant une méthode précise et rentable pour l'identification des espèces bactériennes. Nous remarquons une dominance du genre lactobacillus (4 souches), suivi du genres Enterococcus (3souches) dans les échantillons étudiés. Donc une présence presque équivalente des genres Lactobacillus et Enterococcus . avec l'absence de identification de deux souches (not found) Cette composition n'est pas trouvée dans la bibliographie, cela est dû au type de lait utilisé (l'espèce laitière) mais aussi de l'environnement dont il est issu **(Poznanski et al., 2004).**

D'apres nos résultats nous remarquons que toutes les espèces appartiennent au même genre préalablement identifié par la méthode phénotypique ce qui implique l'existence d'une parfaite concordance entre les deux techniques. ces résultats sont similaires aux études réalisées par plusieurs auteurs où ils mettent en évidence les performances du MALDI-TOF comparés à certains systèmes d'identifications de référence. **Blondiaux et al. (2013)** retrouvent 264 isolats

sur un total de 362 (73%) en parfaite concordance entre la technologie MALDI-TOF et le système vitek 2. **Dauxalder et al (2011),** montrent une identification cohérente avec l'identification biochimique dans 94,4% (soit 305 isolats sur 323). Ils ajoutent que, seulement "quatre souches se révélèrent impossibles à identifier par le MALDI-TOF et 14 présentèrent des identifications discordantes".

Au cours des dernières années la spectrométrie de masse (MALDI-TOF MS) a révolutionné l'identification systématique des bactéries. L'identification rapide et fiable des bactéries associées à des aliments, en particulier, l'identification des bactéries lactiques impliqué dans la production d'aliments fermentés est d'une importance cruciale pour la qualité du produit **(Doan et al., 2012, Pavlovic et al., 2013).**Les bactéries lactiques alimentaires peuvent être identifiées en utilisant MALDI-TOF MS, et son application pourrait être étendue à d'autres matrices alimentaires **(Angelakis et al., 2011).**

De nombreuses études ont comparé la technique spectrométrique aux techniques utilisées traditionnellement dans les laboratoires de microbiologie. Toutes concluent que le MALDI-TOF MS surpasse les techniques conventionnelles tant dans la qualité de l'identification des bactéries, qu'elles soient courantes ou moins fréquentes, que dans le taux de mauvaise identification observé, généralement négligeable pour le MALDI-TOF MS **(Martiny et al., 2010 ; Cherkaoui et al., 2011).** Les résultats d'identification obtenus par le MALDI-TOF MS (95 % - 97,4 % d'identifications correctes) sont comparables, voire meilleurs, à ceux des méthodes phénotypiques (75,2 % - 92,6 %) **(Basile et al., 1998 ; Demirev et al., 1999)** malgré l'existence de quelques différences entre les deux techniques citées par **Wieser et al. (2012)**

CONCLUSION

CONCLUSION

L'objectif de notre travail est d'isoler purifier et identifier des souches de bactéries lactiques provenant de lait de chamelles de quatre régions du sud du pays : Ouargla, Djelfa, Béchar et Tindouf. Et d'évaluer l'apport de techniques biomoléculaire le MALDI TOF/ MS dans l'identification bactérienne.

L'isolement des bactéries lactiques sur le milieu MRS et M17 a permis d'étudier les caractères physiologiques et biochimiques et les profils fermentaires de 27 souches dont l'ensemble font partie des genres: Entérococcus qui est le genre le plus dominant, et Lactobacillus , et Lactococcus.

Les principaux résultats obtenus au cour de notre travail sont :

Les souches LCO3, LCO4, LCO5, LCB4, LCD6, LCT1, LCT3, LCT5 et LCT7 peuvent croitre à 45°C, thermorésistantes et qui ont la capacité de pousser en présence de 6.5% de NaCl et à pH 9.6 se rapproche du genre Enterococcus .

Les souches LCO2, LCO6, LCO7, LCB1 qui ne poussent pas en présence de 6.5% de NaCl et sont thermosensibles, on les classe dans le genre des Lactococcus.

Les souches LCB3, LCD3 et LCD5 sont hétérofermentaires et mésophiles, elles fermentent tous les sucres testés sauf le sorbitol et le rhamnose. Lb. plantarum est capable de fermenter le saccharose, le mannitol, le maltose et le lactose. Cela permet de les identifier comme étant Lb. plantarum.

La souche LCT4, LCB2 et LCO8 aptes à se développer à 10°C, elles sont homofermentaires. Elles dégradent le mannitol, le maltose et différemment le lactose et le saccharose, propriétés trouvés chez Lb. paracasei ssp. paracasei.

Neufs souches bactériennes isolées ont subit une analyse MALDI TOF/MS et septs souches ont été identifiées au rang de l'espèce. Il s'agit de :

-LCD5, LCD3, LCB3 : Lactobacillus plantarum

-LCT4 : Lcatobacillus paracasei ;

-LCT1, LCT5, LCB4 : Enterococcus faecium.

La combinaison d'approches phénotypiques et moléculaires (MALDI-TOF MS) nous a permis de mettre en évidence la présence de communautés bactériennes diversifiées. La concordance entre ces deux approches confirme la fiabilité de l'identification par MALDI-TOF MS. D'aprés nos résultats nous pouvons dire que cette technique d'identification constitue un outil majeur dans la routine de microbiologie alimentaire. Cette méthode, peu coûteuse, permet

en quelques minutes, d'obtenir une identification précise et fiable et au final d'optimiser la prise en charge des échantillons.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE

A

Aarts, H. J., L. E. Hakemulder, & A. M. Van Hoef., 1999. Genomic typing of listeria monocytogenes strains by automated laser fluorescence analysis of amplified fragment length polymorphism fingerprint patterns. int. j. food microbial. 49:95-102.

Abdelgadir, W., Nielsen, D.S., Hamad, S. & 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.

Abdoun, K.A., A.S.A. Amin And A.M. Abdelatif., 2007. Milk composition of dromedary camels (camelus dromedarius): nutritional effects and correlation to corresponding blood parameters. pak. j. biol. sci., 10: 2724-2727.

Al-Awadi, F. M., Srikumar, T. S., 2001. Trace elements and their distribution in protein fractions of camel milk in composition to other commonly consumed milks. journal of dairy research, 68(3) 463-469.

Alais C., 1984. Science du lait , 1–814. ed. sepaic, paris, f.

AL-Mohizea I.S., ABU-Lehia I.H. And EL-Beheri M., 1994. Bacterial growth pattern in pasteurized camel's milk. egypt. j. dairy. sci., 22, 243-252.

Andrighetto, C., L. Zampese, & A. Lombardi., 2001. Rapd-pcr characterization of lactobacilli isolated from artisanal meat plants and traditional fermented sausages of veneto region (italy). let. appl. microbiol. 33:26-30.

Angelakis E., Million M., Henry M., Raoul D., 2011. Rapid and accurate bacterial identification in probiotics and yoghurts by maldi-tof mass spectrometry. journal of food science, 76(8): p. m568-572.

Anhalt JP, Fenselau C., 1975. Identification of bacteria using mass spectrometry. anal chem 47 :219-25.

Barbour E.K., Nabbut N.H., Frerichs W.N. Nakhli H.M., 1984. Inhibition of pathogenic bacteria by camel's milk ; relation to whey lysozyme and stage of lactation. j. food protect. 47, 838-840.

Ashmaig, A., Hasan, A. & EL Gaali, E., 2009. Identification of lactic acid bacteria isolated from traditional sudanese fermented camel's milk (gariss). african journal of microbiology research 3, 451–457.

Attia H., Kherouatou N., Fakhfakh N., Khorchani T. AND Trigui N., (2000A). Dromedary Milk Fat: Biochemical, Microscopic And Rheological Characteristics. Journal Of Food Lipids, 7, 95-112.

B

Bachmann, M.R. Et Schulthess, W., 1987. Lactation of camels and composition of camel milk in kenya. milchwissenschaft, 42: 766-768.

Badis A., Laouabdi-Sellami N., Guetarni D., Kihal M. Et Ouzrout R., 2005. Caractérisation phénotypique des bactéries lactiques isolées a partir de lait cru de chèvre de deux populations caprines locales «arabia et kabyle». sci. technol., 23: 30-37.

Barbour E.K., Nabout N.H., Friedrichs W.M., Al-Nakli H.M., 1984. Inhibition of pathogenic bacteria by camel's milk; relation to whey lysozyme and stage of lactation. j. food protection, 47, 838–840.

Basile F., Beverly M.B., Voorhees K.J., 1998. Pathogenic bacteria:theirdetection and differentiation by rapidlipid profiling and pyrolysis mass spectrometry. trends anal. chem. 17:95-109.

Bayoumi S., 1990. Studies on composition and rennet coagulation of camel milk. kieler milchwirtschaft forschungberichte, 42, 3–8.

Beg O.U., Von Bahr-Linstrom H., Zaidi Z.H., Jornvall H., 1987. Characterization of heterogeneous camel milk whey non-casein pro-protein. fed. européan bioch. society letters, 2, 270–274.

Belarbi F., 2011. Isolement et sélection des souches de bactéries lactiques productrices des métabolites antibactériennes. thèse de magister, université d'oran es senia, algérie, 8-25.

Ben Aissa R., 1989. Le dromadaire en algérie. ciheam-iamz, option méditerranéennes : série a. séminaires méditerranéens n° 2. p. 19-28.

Bengoumi, M., Faye, B., Tressol, J.C., 1994. Composition minérale du lait de chamelle du sud marocain. actes du colloque : "dromadaires et chameaux animaux laitiers", 24-26- octobre, nouakchott, mauritanie.

Benkerroum, N., Boughdadi, A., Bennani, N. & 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.

Berthier, F., & S. D. Ehrlich.,1999.Genetic diversity within lactobacillus sakei and lactobacillus curvatus and design of pcr primers for its detection using randomly amplified polymorphic dna. int j syst bacteriol 49:997-1007.

Blondiaux N., Gaillot O., Courcol R. J., 2013. Identification bactérienne par spectrométrie de masse de type maldi-tof : evaluation au chu de lille. pathol. biol. 58 : 55 – 57.

Bonfoh B, Wasem A, Traoré An, Fané A, Spillmann H, Simbé Cf, Alfaroukh Io, Nicolet J, Farah Z, Zinsstag J .,2003. Microbiological quality of cows' milk taken at different intervals from the udder to selling point in bamako (mali). food control 14:495–500.

Bousfield, I. J., R. M. Keddie, T. R. Dando, & S. Shaw., 1985. Simple rapid methods of cell wall analysis as an aid in the identification of aerobic coryneform bacteria, p. 222-234. in m. goodfellow & d. e. minnikin (ed.), chemical methods in bacterial systematic. academic press, london.

Bousouar Naceur., 2017. Caractérisation technologique et sanitaire des entérocoques isolent a partir de lait de chamelle du sud-ouest algérien.

Buist, G., Venema, G., Kok, J., 1998. Autolysis of lactococcus lactis influenced by proteolysis. journal of biotechnology. n° 22: 5974-5953.

Brenner D., J., Krieg N.R., Garrity G.M., Et Staley J.T., 2005. Bergey's manual of systematic bacteriology: the proteo-bacteria springer. .

C

Carina Audisio M,Torres Mj,Sabaté Dc,Ibarguren C,Apella Mc., 2010. Properties of different lactic acid bacteria isolated from apis mellifera l. bee-gut. microbiological research, 166(1):1-13.

Carr F.J., Chill D., Et Maida N., 2002. The lactic acid bacteria: a literature survey. critical reviews in microbiology, 28(4): 281-370.

Champomier-Verges, M. C., S. Chaillou, M. Cornet, & M. Zagorec., 2002.Erratum to "lactobacillus sakei: recent developments and future prospects" [research in microbiology 152 (2001) 839]. res. microbiol. 153:115-123.

Chen P., Lu Y., Harrington P. B., 2008. Biomarker profiling and reproducibility study of maldi-ms measurements of escherichia coli by analysis of variance-principal component analysis. anal. chem. 80: 1474–1481.

Cherkaoui A., Emonet S., Fernandez J., Schorderet D., Schrenzel J., 2011. Evaluation of matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry for rapid identification of beta-hemolytic streptococci. j. clin. microbiol. 49(8):3004-5.

Cintas L.M., Herranz C., Hernandez P.E., Casaus M.P., Et Nes L.F., 2001. Review: bacteriocins of lactic acid bacteria. food sci. tech. int, 7: 281-305.

Collins M.D., Samelis J., Metaxopoulos J., Wallbanks S., 1993. « Taxonomic studies on some leuconostoc-like organisms from fermented sausages: description of a new genus.

Collins, M. D., J. A. E. Farrow, B. A. Phillips, S. Ferusu, & D. Jones., 1987. Classification of lactobacillus divergens, lactobacillus piscicola, and some catalase-negative, asporogenous, rod-shaped bacteria from poultry in a new genus, carnobacterium. int. j. syst. bacteriol. 37:310-316.

Conti A., Godovac-Zimmermann J., Napolitano L., Liberatori J., 1985. Identification and characterization of two - lactalbumins from somali camel milk. milchwissennschaft, 40, 673–675.

D

Dehane, K., 2010. Evaluation de la production de viande cameline et estimation des poids dans la commune de metlili. thèse d'ingénieur en sciences agronomiques non publié, université kasdi merbah de ouargla, ouargla ,126p.

Dellaglio H, Roissart Hd, Torriani S, Curk Mc, Jansen D ., 1994. Caractéristiques générales des bactéries lactiques. in:de roissart h., luquet f.m., (eds), les bactéries lactiques: aspects fondamentaux et technologiques. lorica, uriage.25-116.

Demirev P.A., Ho Y.P., Ryzhov V., Fenselau C., 1999. Microorganism identification by mass spectrometry and protein data bases researches. anal. chem. 71:2732-8.

Doan N.T., Van Hoorde K., Cnockaert M., De Brandt E., Aerts M., Le Thanh B., Vandamme P., 2012. Validation of maldi-tof ms for rapid classification and identification of lactic acid bacteria , with a focus on isolates from traditional fermented foods in northern vietnam. lett appl microbiol. , 55(5): p. 265-273.

Dortu Et Al., 2008, Thèse de doctorat, académie universitaire wallonie-europeisolementd'une bactérie lactique produisant de la sakacin g et utilisation sur des matrices a limentaires, 137, 17-18.

De Roissart, H., Luquet, F.M., 1994. Les bactéries lactiques. uriage, lorica, france, 1 : 1- 286 pharmaceutiques. editions médicales internationales, lavoisier p 476.

De Vos P, Garrity G M, Jones D, Krieg N R, Ludwig F A, Schleifer K-H Et Whitman W B., 2009. Bergey's manual de vos p, garrity g m, jones d, krieg n r, ludwig f.

Drici, H., Gilbert, C., Kihal, M., & Atlan, D., 2010. Atypical citrate-fermenting lactococcus lactis strains isolated from dromedary's milk. journal of applied microbiology 108, 647–657.

Drouault, S., Corthier, G., 2001. Effets des bactéries lactiques ingérées avec des laits fermentés.

Duhaiman A.S ., 1988. Purification of camel milk lysozyme and its lytic effect on escherichia coli and micrococcus lysodeikticus. comp. biochem. phys., 91, 793-796.

Dutka-Malen, S., S. Evers, & P. Courvalin., 1995. Detection of glycopeptide resistance genotypes and identification to the species level of clinically relevant enterococci by pcr. j. clin. microbiol. 33:24-27.

Dykes, G. A., 1995. Bacteriocins: ecological and evolutionary significance .trends in ecology and evolution, 10: 186-189.

Dykes, G. A. Et Von Holy, A., 1995. Differentiation of lact.curvatus isolated from naturally fermented greek dry salami by sds-page of whole-cell proteins appl, bacterial 79,480-482.

E

El-Amin F.M. And Wilcox C.J., 1992. Milk composition of majaheim camels. journal of dairy science, 75, 3155-3157

El Sayed I., El Agamy E.Sa., Ruppanner R., Ismail A., Champagnec.P. And Assaf R., 1992. antibacterial and antiviral activity of camel milk protective proteins'. dairy res., 59 169-175.

El Shafei H.A., Abdel-Sabour H., Ibrahim N. Etmostefa Y.A., 2000. isolation, screening and characterisation of the bacteriocin-producing lactic and bacteria isolated from traditional fermented. food microbiol. res. 154: 4, 321.

F

Fao/Who., 2002. Report of a joint fao/who working group on drafting guidelines for the evaluation of probiotics in food. in guidelines for the evaluation of probiotics in food. london, ontario, canada, pp.1-11.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE

Frederick Everard Zeuner., 1963. A history of domesticated animals.

Farah Z. Et Bachman M.R., 1987. Rennet coagulation properties of camel milk. milchwissenschaft, 42, 689-692.

Farah Z., Ruegg M.W., 1989. The size distribution of casein micelles in camel milk. food microstructure, 8,211–212.

Farah Z. Et Atkins D., 1992. Heat coagulation of camel milk. journal of dairy research, 59, p. 229-231.

Faye B., Mulato C., 1991. Facteurs de variation des paramètres protéo-energétiques, enzymatiques et minéraux dans le plasma chez le dromadaire de djibouti. rev. elev. med. vet. pays trop., 44(3), 325- 334.

Faye, B. (2002). Le dromadaire pédagogique. collection les savoirs partagé. cirad. 1er edition. 54p.

Faye, B., 1997. Guide de l'élevage du dromadaire. cirad-emvt, montpellier, première edition, 126 p.

Francois ,Z.N., Nour El Houda,Florance,F.A., Paul M.F., Félicitet.M And El Soda ,M. 2007.biochemical properties of some thermophilic lactic acid bacteria strains from traditional fermented milk relevant to their technological performance as starters cultures.biotechnology.6(1):14-21.

G

Galvez A., Abriouel H., Ben Omar N., Et Lucas R., 2011. food application and regulation. in: drider d., et rebuffat s. (eds). prokaryotic antimicrobial peptides: from genes to applications. springer verlag. jaen, spain, 253-390.

Gatti, M., Fornasri, M.E.Et Neviani, E., 2001. Differentiation of lactobacillus delburkeii subsp bilgaricus and lactobacillus delburkeii subsp .lactis by sds-page of cell-wall proteins.lett appl microbial 32,352-356.

Georgalaki, M.D., Papadelli, M., Anastasiou, R., Kalantzopoulos, G., Tsakalidou, E., 2002. Purification and characterization of the x-prolyl-dipeptidyl aminopeptidase (pepx) from streptococcus macedonicus and cloning of the pepx gene. le lait, 82, 657–671.

Gilarová R., Voldrichm. Demnerová K., Cerovský M., Et Dobiás J., 1994. Cellular fatty acids analysis in the identification of lactic acid bacteria. int j food microbiol.24: p315-319. in **(makhloufi k.2011).**

Giraffa, G., P. De Vecchi, & L. Rossetti., 1998. Identification of lactobacillus delbrueckii subspecies bulgaricus and subspecies lactis dairy isolates by amplified rdna restriction analysis. j. appl. microbial. 85:918-924.

Gnan S.O. And Shereha A. M., 1986. Composition of libyan camel's milk composition of libyan camel's milk. aust. j. dairy techn., 41, 33-35.

Gonzalez, Et Al., 2007. In Boudjani, W., 2009. Action de la flore lactique sur les bactéries contamination. mémoire d'ingéniorat, institut de biologie, université de tlemcen. 73 pages.

Gutmann, I Et Wahlefield, A.W., (1974). L (+) Lactate. Determination with lactic dehydrogenase and nad. in. bergemeyer, h.u. (ed). methods of enzymatic analysis. academic press, new york, pp. 1452-1456.

Guitoun, A., & Kina, K., 2013. Étude de la qualité microbiologique du colostrum camelin. mémoire de master académique en sciences biologiques non publié, université kasdi merbah, ouargla, 86p.

H

Harek Derradji, Et Bouhadad R., 2007. Contribution a l'étude de la diversité génétique des populations camelines (genre camelus) dans la région du hoggar (sud algérien).

Harris, L., Daeschel, M., Stiles, M., Klaenhammer, T., 1989.journal of food protection, 52, 384.

Hassan, A.H., Hagrass, A.I., Soryal, K.A. & El-Shabrawy, S.A., 1987. Physicochemical properties of camel milk during lactation period in egypt. egyptian journal of food science 15, 1–14.

Holland R.D., Wilkes J.G., Rafii F., Sutherland J.B., Persons C.C., Voorhees K.J., 1996.Rapid identification of intact whole bacteria based on spectral patterns using matrix assisted laser desorption ionization with time of flight mass spectrometry. rapid commun mass spectrom. 10: 1227-1232.

Holzapfel, W.H., Haberer, P., Geisen, R., Björkroth, J., Schillinger, U., (2001). taxonomy and important features of probiotic microorganisms in food and nutrition. am. j. clin. nutr, 73(suppl): 365s–73s.

Hassaïne, O., Zadi-Karam, H. & Nour-Eddine, K., 2007. technologically important properties of lactic acid bacteria isolated from raw milk of three breeds of algerian dromedary (enterocamelus dromedaries cocci). african journal of biotechnology 6, 1720–1727.

J

Janssen, P., R. Coopman, G. Huys, J. Swings, M. Bleeker, P. Vos, M. Zabeau, & K. Kersters., 1996. evaluation of the dna fingerprinting method aflp as an new tool in bacterial taxonomy. microbiology 142:1881-93.

Jardali, Z., 1988. contribution a l'étude de la composition du lait de dromadaire. dea inst. nat. polytech., vandœuvre-lès-nancy, france.

Jardali Z., Ramet J.P., 1991. composition et taille des micelles du lait de dromadaire.

Jenness R., Sloan R.E., 1969. the composition of milk of various species; a review. dairy sci. abst., 32, 599–612.

J. Rementzis J. Samelis ., 1996.rapid gc analysis of cellular fatty acids for characterizing lactobacillus sake and lact. curvatus strains of meat origin.

K

Kandler O., Et Kunarth P., (1983). lactobacillus kefir sp. nov., a component of themicroflora of kefir. syst. appl. microbial. 4: 286-294.

Kandler, O.; Weiss, N., 1986.genus lactobacillus beijerinck 1901, 212 al. in: sneath, p.h.a.; mair, n.s.; sharpe, m.e.; holt, j.g. (eds.) bergey's manual of systematic bacteriology. vol 2, baltimore, williams & wilkins, p. 1209-1234.

Ke, D., F. J. Picard, F. Martineau, C. Menard, P. H. Roy, M. Ouellette, & M. G. Bergeron., (1999). development of a pcr assay for rapid detection of enterococci. j. clin. microbial. 37:3497-3503.

Kersters K., 1985. numerical methods in the classification of bacteria by protein electrophoresis. in m good fellow, d jones, fg priest (eds), computer assisted bacterial systematic, academic press, england, p. 337. laemmli uk 1970.

Khadidja Belkheir., 2017. caractérisation technologique de nouvelle souche de bactéries lactique isolent de lait de chamelle d'algérie réalisation de ferment lactique.

Khedid, K., Faid, M., Mokhtari, A., Soulaymani, A. & Zinedine, A., 2009. characterization of lactic acid bacteria isolated from the one humped camel milk produced in morocco. microbiological research 164, 81–91.

Kenji, F., Young W. P., George, F.W., 2013. camel milk in: milk and dairy products in human nutrition. isbn 978-1-118-53422-9 (epdf). edited by john wiley & sons, ltd.

Klaenhammer T.R., Fremaux C. Et Hechard Y., 1994. activités antimicrobiennes des bactéries lactiques ; in " bactéries lactiques i", de roissard et luquet, tech. doc., lavoisier, paris.

Knox, K. W. & Wicken, A. J., 1976. grouping and cross-reacting antigens of oral lactic acid bacteria. journal of dental research 55, a116- a122.

Konuspayeva, G., Faye, B., Loiseau, G., (2008). the composition of camel milk: a meta-analysis of the literature data. j. food compos. anal., 22, 95–101 226.

Konuspayeva, G., Faye, B., Loiseau, G., Narmuratova, M., Ivashchenko, A., Meldebekova, A., Davletov, S., (2010). Physiological Change In Camel Milk Composition (Enterocamelus Dromedaries Cocci) 1. Effect Of Lactation Stage. Trop Anim Health Prod 42:495-499

Kunene, N. F., I. Geornaras, A. Von Holy, & J. W. Hastings., (2000). characterization and determination of origin of lactic acid bacteria from a sorghum-based fermented weaning food by analysis of soluble proteins and amplified fragment length polymorphism fingerprinting. appl. environ. microbiol. 66:1084-1092.

KWAST KE, ET AL., 1999. OXYGEN SENSING IN YEAST: EVIDENCE FOR THE INVOLVEMENT OF THE RESPIRATORY CHAIN IN REGULATING THE TRANSCRIPTION OF A SUBSET OF HYPOXIC GENES. PROC NATL ACAD SCI U S A 96(10):5446-51.

.

L

Laease, (2005).In Boudjani, W., 2009. action de la flore lactique sur les bactéries contamination. mémoire d'ingéniorat, institut de biologie, université de tlemcen. 73 pages.

Lancefield, R. C., 1933.a serological differentiation of human and other groups of hemolytic streptococci. j. exper. med. 57:571-595.

Lasnami K., 1986. le dromadaire en algérie. perspective de développement. thèse. magis. agro. i.n.a. el harrach. algérie. 185p.

Larsson-Raznikiewicz M., Mohamed M.A., 1986.analysis of the casein cotent in camel (camelus dromedarius) milk. swedish j. agric. res., 16, 13–18.

Laurent, S., 1998. manuel de bactériologie alimentaire. poly technica paris.307 pages.

Lore, T.A., Mbugua, S.K. & Wangoh, J., 2005. enumeration and identification of micro flora in suusac, a kenyan traditional fermented camel milk product. lwt-food science and technology 38, 125–130.

Louardi Moussaoui., 2012. applications de la spectrométrie de masse type maldi-tof a la bactériologie et a la distinction de variantes génétiques. microbiologie et parasitologie. université de strasbourg.

Lopez-Diaz T.M., Alonso C., Roman C., Garcia-Lopez M.L. Et Moreno B. 2000. lactic acid bacteria isolated from a hand-made blue cheese. food microbial. 17: 23-32.

Ludwing W, Schleifer K-H Et Whitman X B., 2009. order: lactobacillales. in: de vosp, garrity g m , jones d, krieg n r , ludwig w, rainey f a, schleifer k-h et whitmanw b.(2009). bergey's manual of systematic bacteriology, second edition volume three: the firmicutes. springer dordrecht heidelberg london new york. p464.

M

Makhloufi, K.M., 2011.caractérisation dune bactériocine produite par une bactérie lactique leuconostoc pseudomesenteroides isolée du boza. thèse de doctorat en microbiologie, biochimie. université pierre et marie curie-paris 6. france. 200p.

Male M., Frank S. G. Via G.F. Et Bengoumi M., 2003.contrôle enzymatique de la pasteurisation du lait de chamelle et mise au point d'un test pratique actes de l'atelier international sur : "lait de chamelle pour l'afrique", 5-8 novembre, niamey, niger.

Marconi, E., E. Sorrentino, L. Mastrocola, & R. Coppola., 2000. rapid detection of mesodiaminopimelic acid in lactic acid bacteria by microwave cell wall hydrolysis. j. agric. food. chem. 48:3348-3351.

Martiny D., Dediste A., Debruyne L., Vlaes L., Ben Haddou N., Vandamme P., 2010. accuracy of the api campy system, the vitek 2 neisseria haemophilus (nh) card and the matrix-assisted laser desorption ionisation time-of-flight mass spectrometry (maldi-tof ms) for the identification of campylobacter and related organisms. clin. microbiol. infect. 17: 1001-6.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE

Mathara J.M., Schillinger U., Kutima P.M., Mbugua S.K. Etholzapfel W.H., 2004. isolation, identification and characterisation of the dominant microorganisms of kulenaoto:the maasai traditional fermented milk in kenya. int. j. food microbiol. 94: 3, 269-278. . criblagedesouchesdebactéries lactiquesdouéesd'activités antimicrobiennes.

Medjour, A., 2014. etude comparative des caractéristiques physico-chimiques du lait collecté a partir de chamelles (camelus dromedarius) conduites selon deux systèmes d'élevage (extensif et semi-intensif). mémoire de magister en biologie appliquée non publiée, université mohamed khider de biskra, biskra, 125p.

Mehaia M.A., 1987. studies on camel milk casein micelles; treatment with soluble and immobilized chymosin. milchwissenschaft, 42, 706–708

Mehaia M.A., 1992. studies on camel milk coagulation using soluble and immobilized pepsin. egyptian j. dairy sci., 20, 31-40

Meghelli, I., & Kaouadji, Z. 2016. caractérisation morpho métrique, biotech d'adn et typologie de l'élevage camelin en algérie et application bioinformatique en génétique. thèse de master en génétique non publié, université de tlemcen, tlemcen, 97p

Mohamed M.A., 1990. on the composition of somali camel milk. in : camel milk composition; thesis : swedish univ. of agr.sci., uppsala, s.

Montel, M.C Et Champomier, M.C., 1987.arginine catabolism in lactobacillus sakei isolated from meat. appl. environ. microbial. 53: 2683-2685.

Montel, M.C.; Talon, R.; Fornaud, J. Et Al.,1991.a simplified key for identifying homofermentative lactobacillus and carnobacterium spp. from meat. j. appl. bacterial., v.70, p.469-472.

Mora, D., M. Scarpellini, L. Franzetti, S. Colombo, & A. Galli.. 2003. reclassification of lactobacillus maltaromicus (miller et al. 1974) dsm 20342(t) and dsm 20344 and carnobacterium piscicola (collins et al. 1987) dsm 20730(t) and dsm 20722 as carnobacterium maltaromaticum comb. nov. int. j. syst. evol. microbial. 53:675-678.

MOSCHETTI ET AL., 2000.MICROBIAL SUCCESSION DURING RIPENING OF NAPLES-TYPE SALAMI, A SOUTHERN ITALIAN FERMENTED SAUSAGE,MEAT SCIENCEJOURNAL, PAGES 321-329

Muto, A., & S. Osawa., (1987). The Guanine And Cytosine Content Of Genomic Dna And Bacterial Evolution. Proc. Natl. Acad. Sci. Usa 84:166-169.

N

Naoui, N., 2013. caractérisation microbiologique et moléculaire des bactéries lactiques isolées du lait cru de chamelle. mémoire de magister en microbiologie fondamentale et appliquée non publié, université d'oran, oran.

Navarro L., Zarazaga M., Saenz J., Ruiz-Larrea F., Et Torres C., 2000. bacteriocin production by lactic acid bacteria isolated from rioja red wines. j. appl. microbiol. 88: 4;

novel g., (1993).les bactéries lactiques. in leveau j-y et bouix m. microbiologie industrielle : les microorganismes d'intérêt industriel. edition: tec & doc, lavoisier. paris, pp.170-330.

O

Ogunbanwo, S.T., Sanni, A.I And Onilude, A.A., (2003). characterization of bacteriocin produced by lactobacillus plantarum f1 and lactobacillus brevis og1. african journal of biotechnology vol 2 (8): 219- 227.

O. ALLOUI-LOMBARKIA, E-H. GHENNAM, A. BACHA, M. ABEDEDDAIM .,2007.CARACTERISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES ET BIOCHIMIQUES DU LAIT DE CHAMELLE ET SEPARATION DE SES PROTEINES PAR ELECTROPHORESE SUR GEL DE POLYACRYLAMIDE. LABORATOIRE DE TECHNOLOGIE ALIMENTAIRE, DEPT. D'AGRONOMIE, FACULTE DES SCIENCES, UNIVERSITE DE BATNA, 05000 ALGERIE ,RENC. RECH. RUMINANTS,14.

Orla-Jensen S., 1919. the lactic acid bacteria. a.f. hostand son, koenighichen hofboghamdel, copenhagen.

P

Pavlovic M., Huber I., Konrad R., Busch U., 2013. application of maldi-tof ms for the identification of food borne bacteria. open microbiol j., 7: p. 135-41.

Pot, B., Ludwig, W., Kersters, K. & Schleifer, K.H., 1994. taxonomy of lactic acid bacteria. in bacteriocins of lactic acid bacteria: microbiology, genetics & applications, pp. 13–90. edited by l. de vuyst & e. j. vandamme. london: blackie academic & professional.

Park, Y.W. And G.F.W. Haenlein., 2006. over view of milks of minor species. in: handbook of milk of non-bovine mammals. park, y.w. and g.f.w. haenlein, (eds). black well publishers. ames, iowa and oxford, england. pp. 3-10.

R

Rachman, C. N., P. Kabadjova, H. Prevost, & X. Dousset., 2003. identification of lactobacillus

alimentarius and lactobacillus farciminis with 16s-23s rdna intergenic spacer region polymorphism and pcr amplification using species-specific oligonucleotide. j. appl. microbial. 95:1207-1216.

Ramet J. P., 2001.the technology of making cheese from camel milk (camelus dromedary).animal production and health paper. no. 113. rome, italy: f.a.o.

Ramet J.P., 1993. la technologie des fromages au lait de dromadaire (camelusdromedarius). in etude fao: production et sante animales n°113. rome, fao, 123p.

Rechard, D., 1985. le dromadaire et son elevage. institut d'élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux. revue d'élevage et médecine vétérinaire des pays tropicaux, 69(3), 56-89

Rodas, A. M., S. Ferrer, & I. Pardo., 2003. 16s-ardra, a tool for identification of lactic acid bacteria isolated from grape must and wine. syst. appl. microbial. 26:412-422.

Rodtong, S., Et G. W. Tannock., 1993. differentiation of lactobacillus strains by ribotyping. appl. environ. microbial. 59:3480-3484.

Rizzo, A. F., H. Korkeala, Et I. Mononen., 1987. gas chromatography analysis of cellular fatty acids and neutral monosaccharide in the identification of lactobacilli. appl. environ. microbial. 53:2883-2888.

S

Salminen S, Gorbach S, Yuan-Kun L Et Benno Y., 2004. human studies on probiotics: what is scientifically proven today? in lactic acid bacteria: microbiological and functional aspects. eds salimen, s., von wright, a. and ouwerhand a., new york dekker m, pp. 515- 530.

Sanchez ,L , Sesena ,S, Et Palop ,L.,2003. identification of lactic acid bacteria from spontaneous fermentation of almagro eggplants by sds-page whole cell protein fingerprinting .int j food microbial 82,181-189

Sawaya W.N., Kalil J.K., Al-Shalhat A., Al-Mohamed H., 1984. chemical composition and nutritional quality of camel milk. j. food sci., 49, 744–747.

Schleifer, K. H., Et E. Stackebrandt., 1983. molecular systematic of lactic acid bacteria prokaryotes. annu. rev. microbiol. 37:143-187.

Schillinger, U.; Lücke, F.K., 1987. identification of lactobacilli from meat and meat products. food microbial. v.4, p.199-208.

S Dutka-Malen, S Evers, And P Courvalin., 1995.detection of glycopeptides resistance genotypes and identification to the species level of clinically relevant enterococci by pcr.

Sharmanov, T. Sh., R. Kh. Kadyrova, O. E. Shlygina, And R. D. Zhaksylykova., 1978. changes in the indicators of radioactive isotope studies of the liver of patients with chronic hepatitis during treatment with whole camels' and mares' milk. vopr. pitan. 1:9–13.

Siegum Feldt, H., Rechinger, Kb. Jakobsen, M., 2000. dynamic changes of intracellular ph in individual lactic acid bacterium cells in response to a rapid drop in extracellular ph. appl environ microbiol, 66: 2330-2335.

Singleton, P., 1999.bactériologie.4eme edition. dunod, paris. 317 pages.

Stackebrandt Et Goebel., 1994. taxonomic note: a place for dna-dna reassociation and 16s rna sequence analysis in the present species definition in bacteriology

Stahl T., Sallmann H. P., Duehlmeier R. Et Wernery U., 2006.selected vitamins and fatty acid patterns in dromedary milk and colostrums. journal of camel practice and research, 13, p. 53-57.

Sulieman, A.M.E.H., Ilayan, A.A. Et El Faki, A.E.A., 2006. chemical and microbiological quality of garris, sudanese fermented camel's milk product. international journal of food science and technology 41, 321–328

Sboui .A. Khorchani .T., Djegham .M., Agrebi .M., Elhatmi .H., Et Belhadj .O.,2009. anti-diabetic effect of camel milk in alloxan-induced diabetic dogs: a dose response experiment. journal of animal physiology and animal nutrition. tunisia.

Siboukeur, O., 2008. étude du lait camelin collecté localement : caractéristiques physico-chimiques et microbiologiques, aptitude a la coagulation, thèse de doctorat, institut national agronomique el-harrach, alger.

Sperber, W.H. Et Swan, J., 1976. hot-loop test for the determination of carbon dioxide production from glucose by lactic acid bacteria. appl. environ. microbial. 31: 990-99

T

Tailliez, P., J. Tremblay, S. D. Ehrlich, & A., Chopin. 1998. molecular diversity and relationship within lactococcus lactis, as revealed by randomly amplified polymorphic dna (rapd). syst. appl. microbial. 21:530-538.

Tannock G.W., Tilsala-Timisjarvi A., Rodtong S., Ng J., Munro K., Alatossava T., 1999. identification of lactobacillus isolates from the gastrointestinal tract, silage, and yoghurt by 16s-23s rrna gene intergenic spacer region sequence comparisons, appl. environ. microbial. 65 4264–4267

Trias R., 2008. lactic acid bacteria as bioprotective agents against foodborne pathogens and spoilage microorganisms in fresh fruits and vegetables. phd thesis, university of girona.

V

Vaneechoutte, M., R. Rossau, P. De Vos, M. Gillis, D. Janssens, N. Paepe, A. De Rouck, T. Fiers, G. Claeys, & K. Kersters., 1992. rapid identification of bacteria of the comamonadaceae with amplified ribosomal dna-restriction analysis (ardra). fems microbial. lett. 72:227-233.

Vauterin, L.; Yang, P.; Hoste, B.; Pot, B.; Swings, J.; Kersters, K., 1992.taxonomy of xanthomonads from cereals and grasses based on sds-page of proteins, fatty acid analysis and dna hybridization. journal of general microbiology 138, 1467-1477.

Vos, P., R. Hogers, M. Bleeker, M. Reijans, T. Van De Lee, M. Hornes, A. Frijters, J. Pot, J. Peleman, M. Kuiper, Et Al., 1995.Aflp: a new technique for dna fingerprinting. nucleic acids res. 23:4407-4414.

W

Ward, D. M., R. Weller, & M. M. Bateson., 1990. 16s rrna sequences reveal uncultured inhabitants of a well-studied thermal community. fems microbial. rev. 6:105-115.

Wayne, L. G., D. J. Brenner, R. R. Colwell, P. A. D. Grimont, O. Kandler, M. I. Krichevsky, L. H. Moore, W. E. C. Moore, R. G. E. Murray, E. Stackebrandt, M. P. Starr, & H. G. Trüper., 1987. report of the ad hoc committee on reconciliation of approaches to bacterial systematics. int. j. syst. bacterial. 37:463-464.

Weidner, S., W. Arnold, & A. Puhler., 1996. diversity of uncultured microorganisms associated with the sea grass halophila stipulacea estimated by restriction fragment length polymorphism analysis of pcr-amplified 16s rrna genes. appl. environ. microbial. 62:766-771.

Wieser A., Schneider L., Jung J. Et Schubert S., 2012. maldi-tof ms in microbiological diagnostics identification of microorganisms and beyond (mini review). appl. microbiol. biotechnol. 93:965–974.

Williams T. L., Andrzejewski D., Lay, J. O., Musser, S. M., 2003. experimental factorsaffecting the quality and reproducibility of maldi tof mass spectra obtained from whole bacteria cells. j. am. soc. mass spectrom. 14: 342–351.

Wilson R.T., 1984. the camel. longman group ltd (ed), harlow, u.k. 223 pp.

Williams, J. G., A. R. Kubelik, K. J. Livak, J. A. Rafalski, & S. V. Tingey., 1990. dna polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. nucleic acids res. 18:6531-6535.

Y

Yagil R., Zagorski O. And Van Creveld C., 1994. Science and camel's milk production. actes du colloque : "dromadaires et chameaux animaux laitiers", 24-26-octobre,nouakchott, mauritanie.

YAGIL ET ETZION., 1980. MILK YIELD OF CAMELS(CAMELUS DROMEDARIUS) IN DROUGHT AREAS

Y. P. Ennesser., 1766. blanc 11 approche différenciation le linné, dromadaire 1766 zoo géographique (mammalïa camelus infraspécifique = dromedarius camelidae).

Z

Zakrzewska-Czerwinska Et Al., 1988. Dna base composition and homology values in the classification of some rhodococcus species

Zambunelli, C., Chiavari, C. Et Al., 2002.effect of lactic acid bacteria autolysis on sensorial caracteristics of fermented food. food technol-biotechnology 40, 347-351

Annexe

Annexe 1

1. Matériels

1.2. Verrerie

- Boites de pétri
- Tubes à essai
- Pipette Pasteur
- Eprouvettes, fioles, bécher, pipettes

Appareillage :

Bain Marie : pour liquéfier les milieux de culture.

Balance de précision : Pour peser des ingrédients de milieux de culture.

Distillateur

Etuve 44°C : Pour l'incubation des boites ensemencées.

Etuves (30 et 37°C) : Pour l'incubation des boites ensemencées.

Four Pasteur : Pour la stérilisation (par lachaleur sèche : 180°C/20min) des équipements en verrerie (erlenmeyers, tubes dans des centenaires).

L'Autoclave : Pour stérilisation (par la chaleur humide : T°120C/15min) des équipements en verrerie ainsi que des milieux de culture.

PH-mètre

Microscope Optique : observation des bactéries aux différents grossissements

Plaque chauffantes agitatrices : Faire agiter les milieux de culture durant leur préparation jusqu'à l'ébullition.

Réfrigérateur : Pour la conservation des milieux de culture.

ANNEXE 2 : QUELQUE MATERIEL UTILISEE



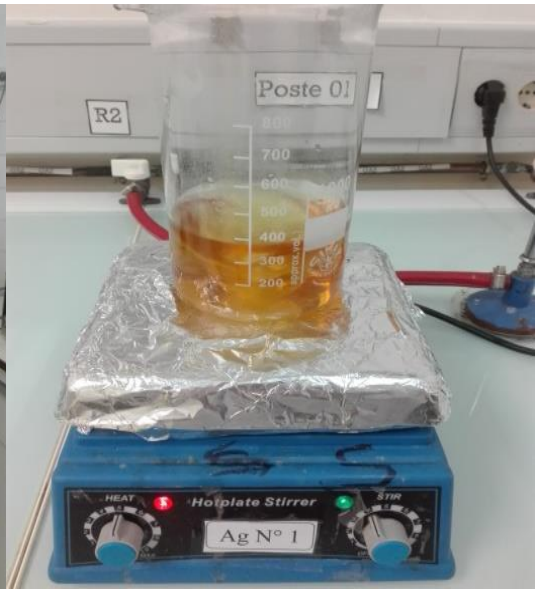
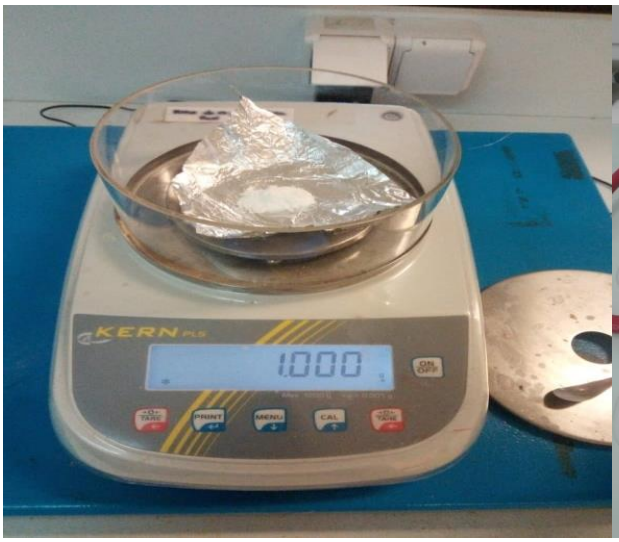


Figure 15 : Refregerateur (originale). **Figure16 :** plaque chauffante (originale).





Figure 17 : Bain marie (originale). **Figure 18 :** Micropipette de 1000ul(originale).



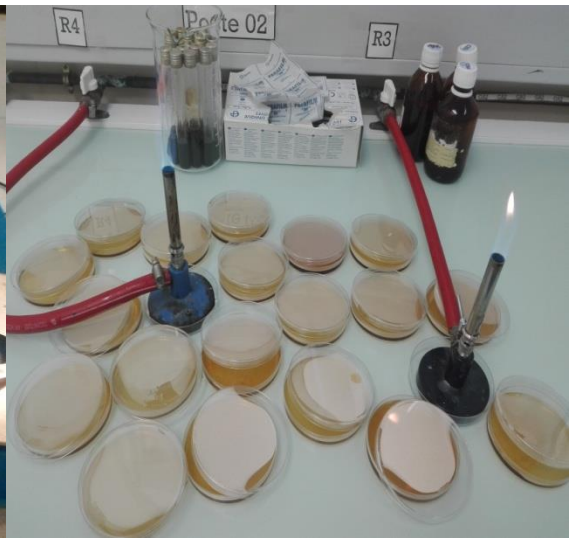


Figure 19 : balance electrique (originale)

Figure20: Bec-benzene(originale).

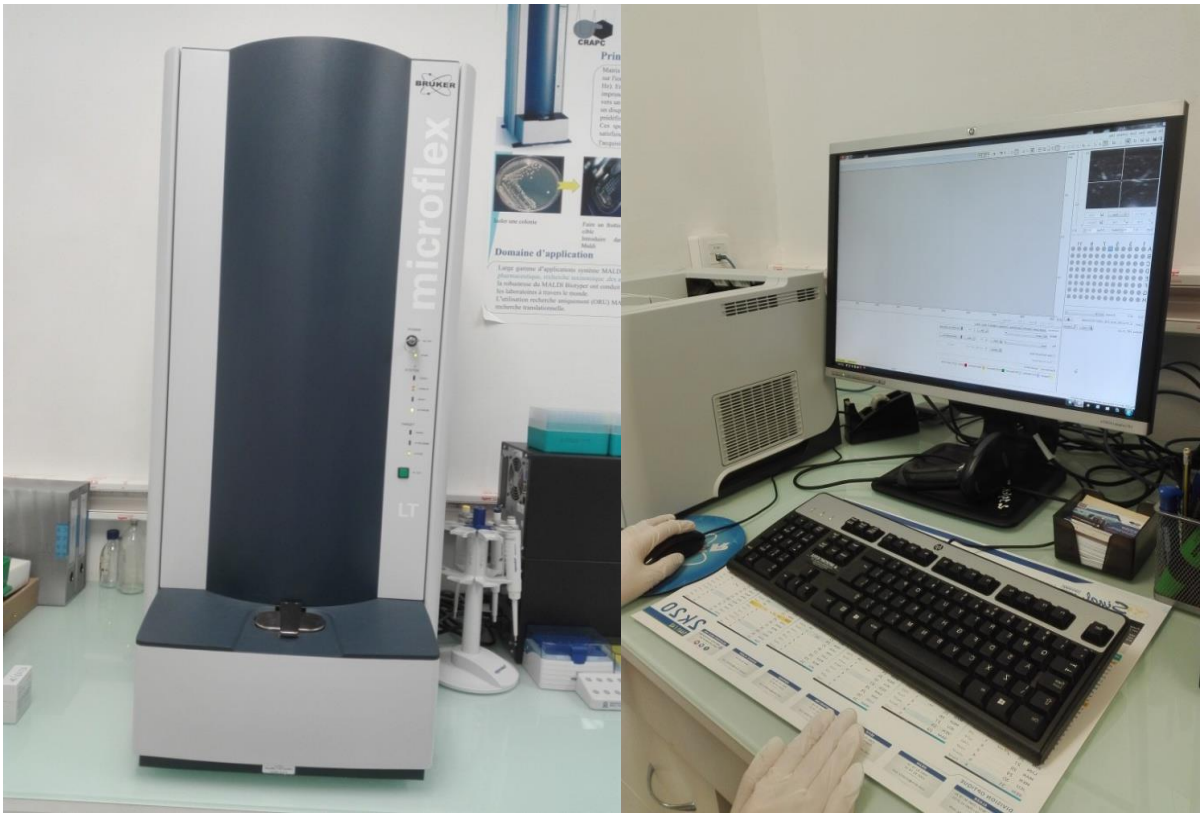


Figure 21 :L'appareil de MALDI TOF et son unité informatique (originale).

Annexe 3

- Composition et la préparation des milieux de culture, et tampons
- Préparation des milieux de culture

- Mettre en (*) g de milieu de base déshydraté dans (**) litre d'eau distillée déminéralisée.

-Porter lentement le milieu à ébullition sous agitation constante et l'y maintenir durant le temps nécessaire à sa dissolution.

- Répartir en flacons, à raison de 110 ml par flacon.

- Stériliser à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes.

(*) Et (**) la quantité et le volume portés sur l'étiquetage des produits déshydraté

- Revivification : La revivification des souches a était faite sur des milieux liquides (MRS ou M17).

1. Composition et préparation du milieu de culture MRS(Gélose de Man, Rogosa, Sharpe, 1960)

1.1: composition (g/l) : Pour 1 litre de milieu

- Polypeptone.....10,00 g
- Extrait de viande .....10,00 g
- Extrait autolytique de levure .....5,00 g
- Glucose.....20,00 g
- Tween 80.....1,08 g
- Phosphate dipotassique .....2,00 g
- Acétate de sodium.....5,00 g
- Citrate d'ammonium.....2,00 g
- Sulfate de magnésium.....0,20 g
- Sulfate de manganèse.....0,05 g
- Agar agar bactériologique ……..15, 00 g

PH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C : 5,7 + 0,1

- **Gélose MRS : Bouillon MRS additionné de gélose à raison de 1.5 %**

1.1 : préparation

- Mettre en suspension 70,3 g de milieu déshydraté dans 1 litre d'eau distillée ou déminéralisée.

- Porter lentement le milieu à ébullition sous agitation constante et l'y maintenir durant le temps nécessaire à sa dissolution. Une liquéfaction partielle de l'agar entraînera inévitablement une altération significative de la consistance du gel du milieu solidifié, après stérilisation et refroidissement. La stérilisation du milieu est réalisée a l'autoclave a une température à 120°C/20mn.

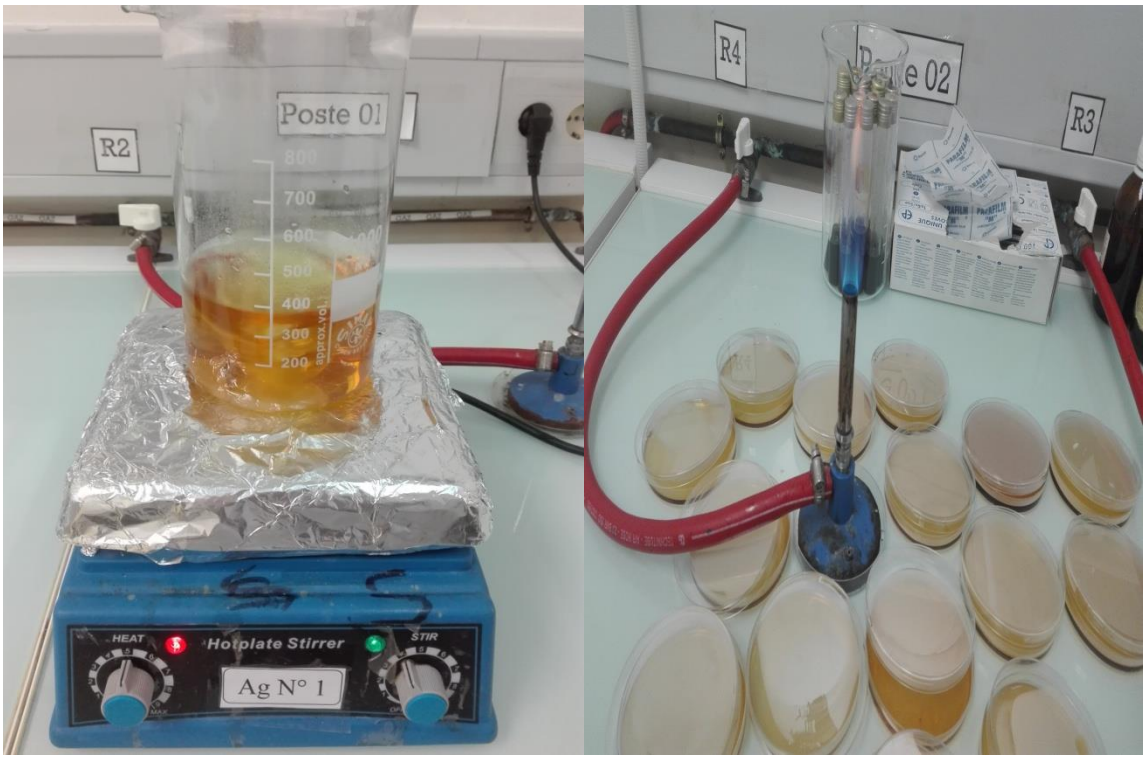


Figure 22 : le milieu de culture MRC gélose (originale).

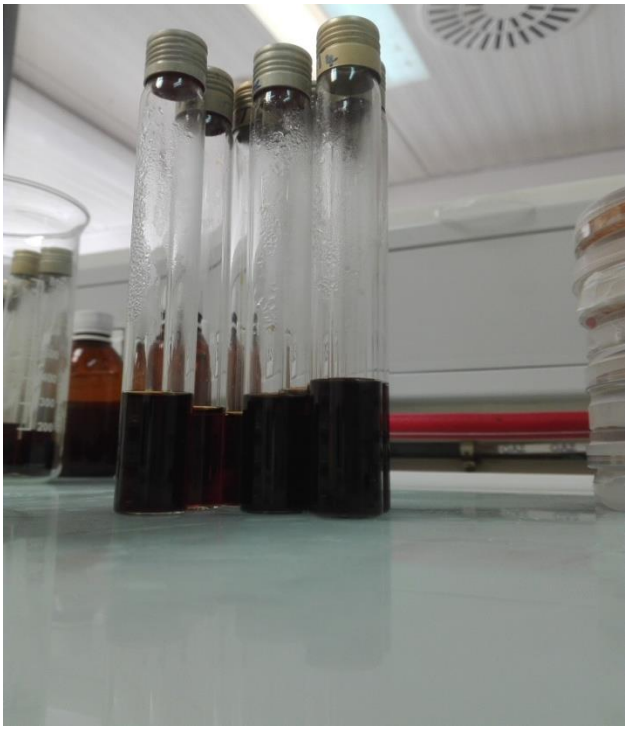


Figure 23 : le bouillant MRC (originale).

2 .Composition et préparation du milieu de culture de Möeller

2.1: composition (g/l)

- Extrait de levure ……..….. 3 g
- L-ornithine (monochlorhydrate)
- L-arginine (monochlorhydrate) ……. 5 g (suivant le cas)
- L-lysine (monochlorhydrate)
- Glucose ……..…… 1 g
- Bromocrésol pourpre ……..… 0,16 mg
- Éthanol …… 1 ml
- Chlorure de sodium …… 5 g
- pH = 6,8
  - Ce milieu est présenté en petits tubes fins ce qui favorise l'anaérobiose.

Remarque : l'extrait de levure (peptone de levure) apporte des acides aminés et des facteurs de croissance en particulier le pyridoxal, coenzyme des décarboxylase

3 .Composition et préparation du milieu de culture M17- gélose

3.1: Composition (G/L)

-TRYPTONE …… 2,5G.

-PETONE PEPSIQUE DE VIANDE……..…….. 2,5G.

-PEPTONE PAPAÏNIQUE DE SOJA ……5G.

-EXTRAIT AUTOLYTIQUE DE LEVURE ……..…2,5G.

-EXTRAIT DE VIANDE …… 5G.

-LACTOSE ……... 5G.

-SODIUM GLYCEROPHOSPHATE ……19G.

-MAGNESIUM SULFATE …… 0,25G.

-ACIDE ASCORBIQUE ……..…… 0,5G.

-AGAR AGAR ……..15G.

-PH DU MILIEU PRET A L'EMPLOI A 25°C : 7,1 ± 0,2

- Ce Milieu Est Utilise Pour Le Dénombrement Des Streptocoques Lactiques (Particulièrement Lactococcus Lactis) Dans Les Produits Laitiers.

4.Composition Et Préparation Du Milieu Api 50 Chl (Ph 6,7 -7,1)

4.1: Composition (G/L)

- Polypeptone ……..……10G
- extrait de levure……5g
- tween 80……...…….1 ml
- Phosphate dipotassique.....….2g
- sodium acetate…….…….5g
- Citrate d'ammonium ……...….2g
- magnesium sulfate……...0,20g
- Sulfate de manganèse ……. 0,05g
- Bromocrésol pourpre …… …….…….. 0,17 mg
- Eau distille …… …….…….**.....** 1000ml
-

5.Composition du Milieu hypersaccharosé

Extrait de viande……10g

Extrait de levure……. 3g

Peptone……. 2.5g

Saccharose ……150g

K2HPO4……. 2g

Nacl…… 1g

MgSo4 7H2O ……0.2g

Agar……..... 15g

Eau distillé…… 1000 ml

Autoclavage 120°C/ 20 minutes

Annexe 4 : Composition des diluants (g/l)

Eau physiologique peptonée

Peptone ..... 0 ,5g

Chlorure de sodium 8,5g

Eau distillée ..... 1000 ml

PH = 7,0 Autoclavage 120°C pendant 20 minutes.

Eau physiologique 9 /ml

Na Cl 9g

Eau distillée ..... 1000 ml

Annexe 5

Guide d'utilisation de système MALDI TOF

Tableau 15: tableau interprétatif de la cohérence d'analyse

Catégories	Description
A	Cohérence à l'espèce : le profil de référence ayant le score le plus élevé est classé en vert. les autres profils verts sont de la même espèce que la première. Les profils suivants jaunes sont au moins du même genre que le premier.
B	Cohérence au genre : le profil de référence ayant le score le plus élevé est classé en vert ou jaune. Les profils de score inférieur en vert ou jaune appartiennent au même genre que le score le plus haut. Les conditions de cohérence à l'espèce ne sont pas remplies.
C	Pas de cohérence : Aucune cohérence à l'espèce ou au genre (Vérifier les synonymies des noms ou les mélanges d'espèces).

Tableau 16: tableau interprétatif des scores de corrélation.

Score	Description	Symbole	Couleur
2,300 … 3,000	Forte probabilité d'identification à l'espèce	+ ++	
2,000 … 2,299	Identification du genre sécurisée, identification probable à l'espèce	+ +	
1,700 … 1,999	Identification probable au genre	+	
0,000 … 1,699	Degré de confiance insuffisant pour l'identification	-	