

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE

جامعة فرحات عباس - سطيف-

UNIVERSITE FERHAT Abbas -SETIF-

Faculté des sciences de la nature et de la vie

Département de Microbiologie

Mémoire

Présenté Pour l'obtention du Diplôme de

MAGISTER

En Microbiologie

Option : Génie microbiologique

Par

BOUGUERRA Asma

THEME

**Caractérisation des bactéries lactiques du lait de
chamelle**

Soutenu le : 07/03/2012

devant le jury :

Président Pr. GUECHI Abdelhadi

Prof U.F.A Sétif

Rapporteur Pr. HARZALLAH Daoud

Prof U.F.A Sétif

Examineur Pr. MEZIANE Toufik

Prof Université de Batna

Examineur Dr. ZERROUG Mohamed Mihoub

M.C.A U.F.A Sétif

Remerciements

Je remercie tout d'abord Allah qui m'a donné la patience, la volonté et le courage pour finir ce mémoire.

Sans lui ce travail n'observera la lumière un jour, l'homme qui m'a encouragé pour entamer ce thème, que Allah le protège et accepte son pèlerinage ; à monsieur le Pr. HARZALLAH Daoud mon respect et mes remerciements les plus sincères.

J'exprime mes respectueux dévouements à monsieur le Pr. GUECHI Abdelhadi pour l'honneur qu'il me fait en acceptant de présider la commission d'examen de ce mémoire.

Que messieurs le Pr. MEZIANE Toufik et le Dr. ZERROUG Mohamed Mihoub, trouvent ici l'expression de ma profonde gratitude pour avoir accepté de participer au jugement de ce mémoire.

Je tiens également à présenter mes plus vifs remerciements à monsieur le Pr. Ali BEN OUADEH qui a mis son laboratoire à ma disposition, sans perdre l'aide de son fils.

Je remercie chaleureusement mon père pour sa patience aux longs trajets, et messieurs BOUKHARI Ramdan, HOUARI Yazid et FERRAH Nacer pour leur aide.

J'éprouve un réel plaisir à exprimer mon éternelle reconnaissance aux éleveurs pour leur compréhension.

Enfin, que tout ceux et celles qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail, soient assurés de ma profonde sympathie.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à

Mon père

Ma mère

Ma grand-mère

Mes chers frères et sœurs

Mes élèves

Mes copines, mes collègues de promotion, de laboratoire et de travail

&

À tous ceux qui ont participé à ma formation

Résumé

L'analyse physicochimique du lait de chamelle collecté à partir d'une région steppique de sud-est algérien «M'sila», révèle une teneur en matière grasse, protéines, lactose, S.N.F et minéraux variant de (3.43-5.36%), (3.44-3.92%), (4.99-5.69%), (9.27-10.55%), (0.28-0.32%) respectivement. Il se congèle à une température comprise entre (-0.59 et -0.67°C). Sa conductivité fluctue entre (11.05 et 12.61 mS.cm⁻¹) et son pH varie de (6.42 et 6.57). À l'exception des minéraux, la composition du lait examiné s'avère riche par comparaison à celle du lait bovin et à celles de la plupart des laits de dromadaire décrites dans la littérature.

Afin de caractériser la microflore lactique du lait de chamelle, sept femelles saines ont été prélevées aseptiquement à partir de trois régions de sud-est algérien (M'sila, Biskra et l'Oued). Le lait a étéensemencé dans les milieux sélectifs (MRS et M17) d'isolement des LAB. Après identification phénotypique, les 48 isolats obtenus ont été rattachés à quatre genres qui sont par ordre de dominance: *Lactococcus* (50%), *Leuconostoc* (31.25%), *Lactobacillus* (16.66%) et *Enterococcus* (2.08%). La présence de ces genres dans le lait de chamelle a été aussi rapportée par d'autres auteurs.

Les LAB ont été testées pour leur antagonisme vis-à-vis de cinq bactéries pathogènes (*Staphylococcus aureus* ATCC: 25923, *Salmonella* sp., *Escherichia coli* ATCC: 25922, *Bacillus subtilis* et *Enterobacter cloacae*) par le test des spots sur agar. Elles ont montré une inhibition de toutes les souches pathogènes dont le diamètre varie de 7 à 32 mm.

Une souche appartenant au genre *Lactobacillus* a montré les meilleurs diamètres d'inhibition contre presque toutes les bactéries pathogènes. On l'a utilisée pour examiner son pouvoir probiotique *in vitro*. Elle a résisté à l'acidité (pH: 2 et 3 après 3h d'exposition) ainsi qu'au 0.3% (après 4h et 24h) de sels biliaires. Pour valider son utilisation en tant que probiotique il faut réaliser d'autres tests *in vitro* et *in vivo*.

Mots clés : dromadaire, lait de chamelle, composition physicochimique, bactéries lactiques, probiotique

Abstract

Present study was carried out to investigate the physicochemical composition of camel milk. A wide variation was observed between three samples of milk collected from (M'sila). Fat, protein, lactose, solids not fat, and minerals contents ranged between: 3.43 and 5.36%, 3.44 and 3.92%, 4.99 and 5.69%, 9.27 and 10.55%, 0.28 and 0.32% respectively. While fpp, conductivity and pH ranged between - 0.59 and - 0.67°C, 11.05 and 12.61 mS.cm⁻¹, 6.42 and 6.57. With the exception of minerals, the composition of milk is considered rich in comparison to that of bovine milk and those of most of camel milk described in the literature.

To characterize the lactic microflora of camel milk, seven samples were collected aseptically from healthy females of three regions in south-eastern Algeria (M'sila, Biskra and l'Oued). The milk was inoculated in selective media (MRS and M17) for isolation of LAB. After phenotypic identification, the 48 isolates obtained were associated to four genera which are in order of dominance: *Lactococcus* (50%), *Leuconostoc* (31.25%), *Lactobacillus* (16.66%) and *Enterococcus* (2.08%). The presence of these genera in camel milk was also reported by other authors.

The LAB were tested for their antagonism effect against five pathogenic bacteria (*Staphylococcus aureus* ATCC: 25923, *Salmonella* sp., *Escherichia coli* ATCC: 25922, *Bacillus subtilis* and *Enterobacter cloacae*) by the test of spot-on-the lawn. They inhibit all pathogenic strains and the best activity was obtained by lactobacilli strains.

An isolate (O8) belonging to the genus *Lactobacillus* showed the best inhibition against almost pathogenic bacteria. It was used to examine its probiotic potential *in vitro*. This strain showed resistance to acidity (pH: 2 and 3 after 3 hours of exposure) and to 0.3% of bile salts after 4h and 24h of incubation. To validate their use as a probiotic we must perform other tests *in vitro* and *in vivo*.

Key words: dromedary, camel milk, physicochemical composition, lactic acid bacteria, probiotic

الملخص

تم تقدير التركيب الفيزيوكيميائي لحليب نوق جلب من منطقة سهبية في الجزائر (مسيلة) بواسطة جهاز (Lactostar) حيث أظهرت نتائج تحليله احتواءه على كل من المادة الدسمة، البروتينات، اللاكتوز، S.N.F، و المعادن بالنسب التالية: (3.43 - 5.36%) ، (3.44 - 3.92%) ، (4.99 - 5.69%) ، (9.27 - 10.55%) ، (0.28 - 0.32%) على الترتيب. تتغير درجة تجمده بين (- 0.59 و - 0.67 °م) ، أما نفاذيته فتختلف بين (11.05 و 12.61 ms.cm^{-1}). كما يتميز حليب النوق ب pH حامضي نوعا ما مقارنة مع حليب البقر وهذا ما يتوافق مع القيم التي تحصلنا عليها في هذه الدراسة حيث وجد أنه يتغير بين (6.42 و 6.57). من خلال النتائج المتوصل إليها يظهر جليا أن نسب كثيرة من العناصر تفوق حليب البقر وحليب نوق أماكن أخرى من العالم، قد يعود ذلك لطبيعة المنطقة و للفترة التي تم خلالها الحلب مما يجعل منه ذو قيمة غذائية عالية.

لمعرفة خصائص البكتيريا الموجودة في حليب الناقة، تم حلب سبع نوق في ظروف معقمة من ولايات تقع في الجنوب الشرقي للجزائر (مسيلة، بسكرة و الوادي). حيث عزلت 48 بكتيريا بعد زرع الحليب في أوساط خاصة ببكتيريا اللبن، ثم التعرف عليها بالاعتماد على خصائصها المورفولوجية، البيوكيميائية و الفيزيولوجية. تم تحديد أربعة أجناس بالنسب التالية: (50%) *Lactococcus* ، (31.25%) *Leuconostoc* ، (16.66%) *Lactobacillus* و (2.08%) *Enterococcus*. هذه الأجناس قد تم عزلها في دراسات سابقة من حليب النوق.

تتميز بكتيريا اللبن بتركيبها لمواد تثبط أو تقضي على البكتيريا الممرضة، قمنا باختبار ذلك بواسطة طريقة البقع على الأجار (Test des spots sur agar). أظهرت النتائج أن جميع العزلات قامت بتثبيط جميع البكتيريا الممرضة المستعملة في هذه الدراسة وهي: (*Staphylococcus aureus* ATCC: 25923) ، *Salmonella* sp ، (*Escherichia coli* ATCC: 25922 و *Bacillus subtilis* و *Enterobacter cloacae*) حيث يتغير قطر هالة التثبيط بين (7 و 32 مم).

من خلال الاختبار السابق تحصلنا على عزلة (O8) تنتمي إلى جنس *Lactobacillus* أظهرت نشاطية ضد بكتيرية عالية. من أجل معرفة ما إذا كانت ذات تأثير بروبيوتيك، تم معاملتها مع وسط ذو حموضة عالية (pH: 2) و (pH:3)، أيضا في وجود تركيز 0.3 % من الأملاح الصفراوية. النتائج كانت إيجابية لكن يجب أن نجري عليها اختبارات أخرى للتأكد من فعاليتها.

الكلمات المفاتيح: جمل وحيد السنام، حليب النوق، التركيب الفيزيوكيميائي، بكتيريا اللبن، بروبيوتيك

Abréviations

ATCC	American type culture collection
FAO	Food and Agriculture Organization
Fpp	Freezing point
G	Gram
g	La force relative de centrifugation
G+C	Guanine + Cytosine
GRAS	Generally recognized as safe
LAB	Lactic acid bacteria
m/v	masse /volume
MRS	Man Rogosa Sharp
nm	Nanomètre
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
PBS	Phosphate buffered saline
qsp	quantité suffisante pour
S.N.F	Solids not fat
sp.	Espèce non précisée
spp.	plusieurs espèces non précisées
U.F.C	Unité Formant Colonie
v/v	volume /volume

Liste des figures

Figure 1. Espèces du genre *Camelus*.

Figure 2. Voies majeures de fermentation chez les bactéries lactiques.

Figure 3. Dendrogramme consensus reflétant les relations phylogénétiques de l'ordre des «*Lactobacillales*» au sein de la classe «*Bacilli*».

Figure 4. Illustration des étapes du test des spots sur agar.

Figure 5. Composition physicochimique moyenne du lait de chamelle cru de M'sila.

Figure 6. Ensemencement directe du lait de chamelle cru collecté de M'sila dans les milieux spécifiques d'isolement des LAB.

Figure 7. Métabolisme du citrate chez les espèces de *Lactococcus* et *Leuconostoc*.

Figure 8. Caractères culturels et microscopiques de certaines souches isolées à partir du lait camelin.

Figure 9. Quelques tests utilisés dans l'identification des bactéries lactiques.

Figure 10. Activité antagoniste de certains isolats de LAB vis-à-vis des bactéries pathogènes.

Figure 11. Inhibition des souches indicatrices par le genre *Lactococcus*.

Figure 12. Inhibition des souches indicatrices par le genre *Lactobacillus*.

Figure 13. Inhibition des souches indicatrices par le genre *Leuconostoc*.

Figure 14. Inhibition des souches indicatrices par *Enterococcus* sp.

Liste des tableaux

Tableau 1. Pourcentage des paramètres physicochimiques du lait de dromadaire de différents pays.

Tableau 2. Tests différentiels utilisés dans l'identification phénotypique des LAB au stade genre.

Tableau 3. Principales espèces utilisées comme probiotiques.

Tableau 4. Effets positifs des probiotiques sur la santé humaine (effets probables ou suspectés).

Tableau 5. Composition chimique moyenne des trois échantillons du lait de chamelle cru analysés au mois de Mai et collectés à partir de M'sila.

Tableau 6. Paramètres physiques des trois échantillons du lait de chamelle analysés au mois de Mai et collectés à partir de M'sila.

Tableau 7. Caractéristiques morphologiques, biochimiques et physiologiques des isolats appartenant au genre *Lactococcus*.

Tableau 8. Caractéristiques morphologiques, biochimiques et physiologiques des isolats appartenant au genre *Leuconostoc*.

Tableau 9. Caractéristiques morphologiques, biochimiques et physiologiques des isolats appartenant au genre *Lactobacillus*.

Tableau 10. Caractéristiques morphologiques, biochimiques et physiologiques de l'isolat appartenant au genre *Enterococcus*.

Tableau 11. Inhibition des bactéries pathogènes par les lactococci.

Tableau 12. Inhibition des bactéries pathogènes par les lactobacilli.

Tableau 13. Inhibition des bactéries pathogènes par les leuconostocs.

Tableau 14. Inhibition des bactéries pathogènes par *Enterococcus* sp.

Tableau 15. Inhibition des bactéries pathogènes à Gram positif et à Gram négatif par chaque genre de LAB.

Tableau 16. Détermination de la survie ou la croissance de la souche O8 (*Lactobacillus* sp.) à différentes valeurs de pH après 3 et 24h d'exposition *in vitro*.

Tableau 17. Détermination de la survie ou la croissance de la souche O8 (*Lactobacillus* sp.) à 0.3% de sels biliaires après 4 et 24h d'exposition *in vitro*.

Sommaire

Introduction	1
Revue bibliographique	
1. Notions générales sur le dromadaire	3
1.1. Phylogénèse et distribution	3
1.2. Effectif et répartition du dromadaire en Algérie	3
1.3. Description de la morphologie de l'animal	4
1.4. Adaptation aux conditions désertiques	4
1.4.1. Adaptation à la sous alimentation	5
1.4.2. Adaptation à la déshydratation	5
1.5. Potentiel laitier	6
2. Caractéristiques et composition du lait de chamelle	7
2.1. Caractéristiques physiques et organoleptiques	7
2.2. Composition chimique	7
2.2.1. Eau	7
2.2.2. Lactose	7
2.2.3. Matière grasse	8
2.2.4. Protéines	8
2.2.5. Sels minéraux	9
2.2.6. Vitamines	9
3. Bactéries lactiques	10
3.1. Généralités	10
3.2. Habitat	11
3.3. Classification des bactéries lactiques	12
3.4. Caractéristiques des genres liés aux produits laitiers	14
3.4.1. <i>Lactobacillus</i>	14
3.4.2. <i>Lactococcus</i>	15
3.4.3. <i>Leuconostoc</i>	16
3.4.4. <i>Pediococcus</i>	17
3.4.5. <i>Streptococcus</i>	18
3.4.6. <i>Enterococcus</i>	18
3.5. Propriétés fonctionnelles et technologiques des bactéries lactiques	19
4. Probiotiques	21
4.1. Définition	21
4.2. Les microorganismes probiotiques	21
4.3. Critères de sélection des probiotiques	22
4.4. Effets bénéfiques des probiotiques	24
4.4.1. Effets des probiotiques sur la microflore intestinale	24
4.4.1.1. Modulation du métabolisme	24
4.4.1.2. Modulation de la composition de la microflore intestinale	24
4.4.2. Effets des probiotiques sur l'immunité	25
4.4.3. Les autres effets des probiotiques sur la santé de l'hôte	25
4.4.3.1. Augmentation de la valeur nutritionnelle	25
4.4.3.2. Stimulation du péristaltisme	26
4.4.3.3. La prévention des infections gastro-intestinales	26
4.4.3.4. Réduction du taux de cholestérol	26
4.4.3.5. La prévention du cancer du côlon	26

Partie expérimentale

Matériels et Méthodes	28
1. Matériels	29
1.1. Echantillons	29
1.2. Appareillage	29
1.3. Produits chimiques	29
1.4. Matériel biologique	29
2. Méthodes	30
2.1. Analyse physicochimique du lait de chamelle	30
2.1.1. Collecte du lait	30
2.1.2. Analyse physicochimique du lait	30
2.2. Caractérisation de la microflore lactique	30
2.2.1. Collecte du lait	30
2.2.2. Isolement et purification des bactéries lactique	31
2.2.3. Conservation des isolats	31
2.2.4. Identification phénotypique des souches isolées	31
2.2.4.1. Identification morphologique	32
2.2.4.2. Observation macroscopique	32
2.2.4.3. Observation microscopique	32
2.2.5. Identification biochimique et physiologique	32
2.2.5.1. Test de catalase	32
2.2.5.2. Production de CO ₂ à partir de glucose	32
2.2.5.3. Hydrolyse de l'arginine	33
2.2.5.4. Croissances à différentes températures	33
2.2.5.5. Croissance à différentes concentrations d'NaCl	33
2.2.5.6. Croissance à différentes valeurs de pH	33
2.2.5.7. Croissance à 0.1% de bleu de méthylène	34
2.2.5.8. Thermorésistance	34
2.2.5.9. Résistance à l'éthanol	34
2.2.5.10. Production de dextrans	34
2.3. Potentiel probiotique des bactéries lactiques	35
2.3.1. Détection de l'antagonisme des isolats	35
2.3.2. Etude de la survie des souches lactiques dans les conditions extrêmes du tube digestif	37
2.3.2.1. Tolérance à l'acidité	37
2.3.2.2. Tolérance aux sels biliaires	37
Traitement statistique des résultats	37
Résultats et discussion	38
1. Analyse physicochimique du lait de chamelle	39
1.1. Collecte du lait	39
1.2. Composition chimique	39
2.2.1. Teneur en matière grasse	39
2.2.2. Teneur en protéines	40
2.2.3. Teneur en lactose	40
2.2.4. Extrait sec dégraissé	41
2.2.5. Les minéraux	41
2.3. Paramètres physiques	41

2.3.1. pH	42
2.3.2. Conductivité électrique	42
2.3.3. Point de congélation	43
2. Isolement et identification des bactéries lactiques	44
2.1. Isolement et purification	44
2.2. Identification phénotypique des isolats	45
2.2.1. Caractères cultureux	45
2.2.2. Examen microscopique	45
2.2.3. Caractéristiques biochimiques et physiologiques des isolats	45
2.2.3.1. Caractéristiques des isolats rattachés au genre <i>Lactococcus</i>	49
2.2.3.2. Caractéristiques des isolats rattachés au genre <i>Leuconostoc</i>	50
2.2.3.3. Caractéristiques des isolats rattachés au genre <i>Lactobacillus</i>	52
2.2.3.4. Caractéristiques de l'isolat rattaché au genre <i>Enterococcus</i>	56
2.2.4. Caractérisation quantitative des genres identifiés	57
3. Evaluation du potentiel probiotique des bactéries lactiques <i>in vitro</i>	59
3.1. Détermination de l'activité antibactérienne des bactéries lactiques	59
3.2. Choix des souches présumées d'avoir un effet probiotique	68
3.3. Etude de la survie des souches lactiques dans les conditions extrêmes du tube digestif	68
3.3.1. Tolérance à l'acidité	69
3.3.2. Tolérance aux sels biliaires	70
Conclusion et perspectives	72
Références bibliographiques	73

Introduction

Le dromadaire est connu grâce à sa résistance aux conditions de sécheresse qui sévissent dans les régions arides et semi-arides, où il dispose d'atouts remarquables pour la valorisation de faibles ressources alimentaires, rendant très précaire la présence d'autres espèces domestiques. Il vit en équilibre écologique avec les nomades et leur fournissent de la viande, de la laine et du lait (Ellouze et Kamoun, 1989). Ce dernier constitue depuis des temps très lointains leur principale ressource alimentaire qui est consommé habituellement à l'état cru ou fermenté.

Le lait de chamelle est particulièrement riche en glucides, en protéines, en lipides, en minéraux et en vitamines (notamment la vit. C). Il possède des propriétés anti-infectieuses, anti-cancéreuses, anti-diabétiques, etc. Ces allégations santé peuvent être attribuées à certains de ses composants tant sur le plan quantitatif que qualitatif (Konuspayeva et *al.*, 2004). Parmi ceux, les métabolites antimicrobiens, tels que le peroxyde d'hydrogène, les acides organiques, les bactériocines, etc., synthétisés par les bactéries lactiques qui se trouvent en abondance dans les laits fermentés. Ces bactéries sont employées depuis des millénaires dans la fabrication des aliments. Elles permettent, de part leur métabolisme, d'augmenter la qualité nutritionnelle, organoleptique et la durée de conservation des denrées alimentaires.

Les bactéries lactiques sont également retrouvées dans d'autres secteurs d'application. Ainsi, certains membres de ce groupe bactérien (les lactobacilli notamment) sont utilisés comme probiotiques, c'est-à-dire comme une préparation microbienne vivante ayant une action bénéfique sur l'hôte après ingestion.

Dans ce contexte, cette présente étude s'intéresse d'une part au lait de chamelle en tant qu'une source alimentaire dans une région steppique algérienne où les conditions de vie sont moins sévères pour l'animal, par l'examen de sa composition physicochimique en comparaison à celle du lait vache. D'autre part, elle vise à caractériser sa microflore lactique qui reste très peu étudiée, et d'évaluer leur potentialité probiotique.

Revue bibliographique

1. Notions générales sur le dromadaire

1.1. Phylogénèse et distribution

Le nom dromadaire dérive du terme grec « *dromeus* » qui veut dire « coureur ». Il est associé aux chameaux ayant une seule bosse (*Camelus dromedarius*) (Park et Haenlein, 2006).

Sur le plan taxonomique, le dromadaire appartient à l'ordre des Artiodactyles, au sous-ordre des Tylopodes, à la famille des Camélidés et au genre *Camelus* auquel appartient aussi le chameau de bactriane ou "chameau à deux bosses" (*Camelus bactrianus*) (Ould Ahmed, 2009). (Fig. 1)

Tous les Camélidés sont originaires d'Amérique du Nord. A la fin de l'ère tertiaire, ils ont migré vers différentes parties du monde.

Le dromadaire se rencontre dans les régions chaudes en Afrique, en Asie et en Moyen – Orient. Tandis que le chameau de bactriane est adapté au froid et vit dans les régions arides comme le désert froid de Mongolie, la Chine et les pays de la Communauté des Etats Indépendants (Park et Haenlein, 2006).

Dans cette étude, le terme de « chamelle » désigne la femelle de *Camelus dromedarius*.

1.2. Effectif et répartition du dromadaire en Algérie

Estimé à 260 000 têtes en 1890, l'effectif camelin en Algérie a connu une forte régression au cours des années pour chuter aujourd'hui à 140 000 têtes environ concentrées dans les wilayate sahariennes (plus de 80%).

Le dromadaire est présent sur trois grandes aires de distribution:

- dans le Sud-Est avec 62 432 têtes, soit plus de 44 % de l'effectif total;
- dans l'Extrême-Sud avec 46 050 têtes, représentant 33.13 % de l'effectif total;
- dans le Sud-Ouest qui compte 30 390 têtes, représentant 21.87 % de l'effectif total (Adamou, 2008).

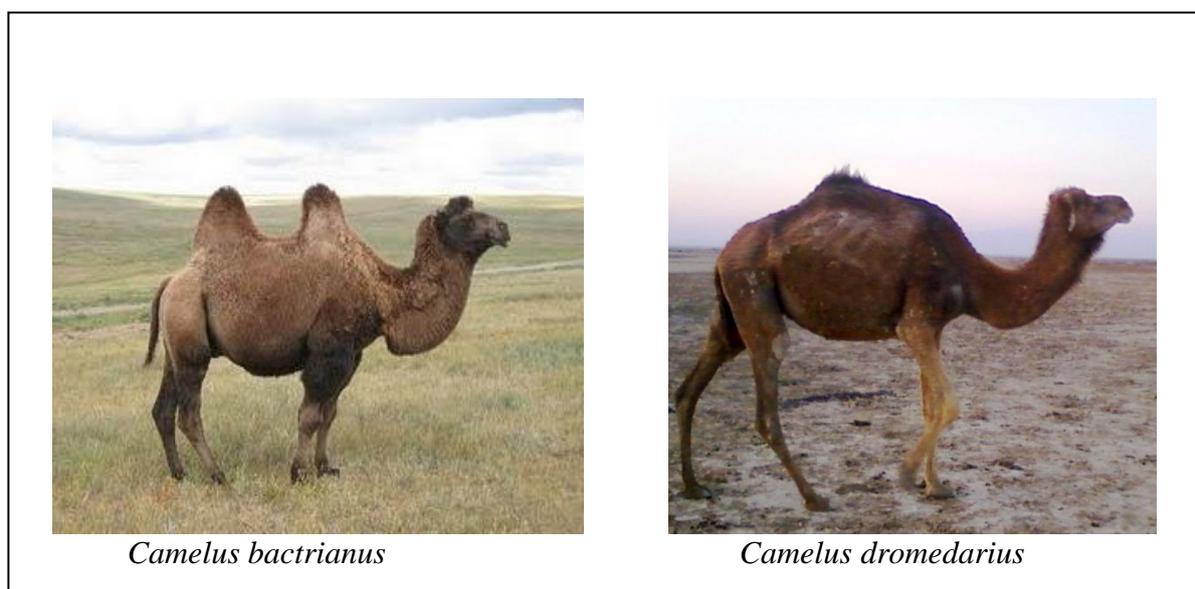


Figure 1. Espèces du genre *Camelus*.

1.3. Description de la morphologie de l'animal

Le dromadaire est un animal très distinct des autres animaux domestiques. Il possède une bosse constituée de tissu adipeux, un cou long, et une certaine callosité au niveau du sternum. Il n'a pas de cornes, les oreilles sont petites, les yeux larges et saillants, les narines longues peuvent être réformées pour les besoins de l'animal, la lèvre supérieure est divisée, fondue, poilue, extensible et très sensitive, la lèvre inférieure est large et pendante, les membres sont puissants.

La peau est souple recouverte de poils de couleur généralement brune variant du chocolat foncé à presque noir à rouge ou rouille fauve à presque blanche chez quelques types (Ould Ahmed, 2009).

1.4. Adaptation aux conditions désertiques

Le dromadaire est l'animal domestique par excellence des zones désertiques. Sa capacité d'adaptation exceptionnelle aux contraintes imposées par le désert confère aux nomades qui l'utilisent la force de résister aux conditions de vie d'extrême rigueur.

1.4.1. Adaptation à la sous alimentation

Malgré la faiblesse des ressources alimentaires caractérisant le milieu désertique, le dromadaire tire une bonne partie de son alimentation d'une végétation rejetée par les autres ruminants comme les plantes halophytes et/ou épineuses (Narjisse, 1989).

Cette supériorité s'explique par leurs particularités anatomiques et physiologiques. En effet, une haute digestibilité des fourrages pauvres est attribuée à la grande rétention des particules solides dans les pré-estomacs, se traduisant par un temps de contact plus long des aliments avec les microorganismes qui les dégradent (Ould Ahmed, 2009; Wardeh, 2004).

Ainsi, la morphologie caractéristique des lèvres, la dureté de la table dentaire et la présence de papilles longues tapissées dans la cavité buccale, rendent l'animal insensible aux épines des plantes, ce qui lui permet de les digérer (Mukasa-Mugerwa, 1985).

Le dromadaire peut parcourir de longues distances et pâturer à des hauteurs pouvant atteindre quatre mètres, grâce à ses longues jambes et à son encolure effilée (Narjisse, 1989).

Il possède un système très performant de recyclage de l'urée pour couvrir ses besoins en azote et compenser la faible teneur des plantes du désert en cet élément (Ramet, 1993).

En cas de déficience en nourriture, il tire de l'énergie après la dégradation des lipides concentrés dans sa bosse (Ould Ahmed, 2009).

1.4.2. Adaptation à la déshydratation

Le dromadaire montre des qualités d'adaptation exceptionnelles à la déshydratation. En fonction de plusieurs facteurs, notamment la race, le climat, l'alimentation, la lactation et le travail, il peut vivre de longues périodes sans abreuvement.

À la privation d'eau plusieurs mécanismes sont impliqués tels que:

- La réduction de l'évaporation grâce à la présence des muscles sphinctériens qui entourent les nasaux et les maintiennent bouchés (Mukasa-Mugerwa, 1985);
- la capacité de faire varier la température interne en fonction de la chaleur externe avec des valeurs minimales de 34°C et maximales de 42°C;
- la diminution de la production de la salive, riche en urée qui par son action hydrophile attire plus d'eau vers les glandes salivaires;
- la réduction de la surface corporelle en contact avec les rayons solaires (orientation en face du soleil) et par la modification saisonnière du pelage qui est plus court en été (Bengoumi et Faye, 2002);

- une meilleure conservation d'eau par le biais d'une régulation de l'excrétion fécale et urinaire. Toutefois, il semble que dans les périodes de déshydratation, la quantité de lait produite n'est pas affectée mais il devient plus dilué (Narjisse, 1989).

Outre sa résistance à la privation, le dromadaire dispose d'une remarquable capacité de réhydratation par l'ingestion rapide d'une grande quantité d'eau. Il récupère les pertes hydriques accumulées en 10 jours de privation d'eau en moins de 15 minutes.

Une telle absorption rapide d'eau après déshydratation entraîne une hypotonie plasmatique qui peut provoquer une hémolyse, souvent mortelle chez les animaux domestiques.

Cependant, chez le dromadaire, les érythrocytes sont particulièrement résistants aux variations de l'osmolarité (Mukasa-Mugerwa, 1985; Bengoumi et Faye, 2002).

1.5. Potentiel laitier

Le dromadaire peut non seulement survivre et travailler dans les conditions hostiles du milieu désertique, mais aussi il produit un lait de haute qualité nutritionnelle. Il en fournit presque toute l'année avec des quantités beaucoup plus élevées que les autres animaux vivants dans les mêmes conditions (Park et Haenlein, 2006).

Dans la littérature, il existe une très grande différence entre les données concernant le rendement laitier de la chamelle. D'après les résultats rapportés par de nombreux auteurs, sa période de lactation varie de 9 à 18 mois avec une productivité annuelle comprise entre 800 et 3600 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).

L'hétérogénéité des valeurs annoncées sur le rendement laitier s'explique par le fait que les mesures ont été établies le plus souvent de manière ponctuelle et sans prendre en compte des facteurs particuliers 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 apparaît également que le nombre et la pratique de la traite peuvent influencer la production laitière journalière (Ramet, 1993; Park et Haenlein, 2006).

2. Caractéristiques et composition du lait de chamelle

2.1. Caractéristiques physiques et organoleptiques

Le lait camelin est d'une couleur blanche opaque, en raison de sa structure et de sa teneur en matière grasse, relativement pauvre en β . carotène. Il est légèrement sucré, avec un goût acide, parfois même salé et/ou amer (Siboukeur, 2008).

Il est plus visqueux que le lait bovin, mousseux quand il est légèrement secoué et considéré comme ayant un goût désagréable. Ces caractéristiques dépendent du type de fourrage ingéré ainsi que de la disponibilité en eau (Sboui et *al.*, 2009; Yagil, 1982).

Le lait de dromadaire frais a un pH compris entre 6.5-6.7, il est légèrement plus acide que le lait de vache mais similaire à celui du lait de brebis. Son point de congélation varie entre -0.57°C et -0.61°C , il est donc plus bas que celui du lait bovin (-0.51°C à -0.56°C) (Park et Haenlein, 2006; Yagil, 1982).

2.2. Composition chimique

Le lait est constitué d'une solution aqueuse de lactose, de matières salines et de plusieurs autres éléments dissous, dans laquelle se trouvent des protéines en suspension et des matières grasses en émulsion (Julien, 1985).

2.2.1. Eau

L'eau constitue le facteur le plus important dans le lait de chamelle, car elle maintient l'homéostasie des chamelons et des hommes qui habitent dans les régions arides.

Une restriction en eau pour la chamelle entraîne une augmentation de son rendement en lait passant de 86 à 91%. Cela représente un avantage pour les chamelons en période de sécheresse. La teneur des fourrages en eau peut également affecter le contenu hydrique du lait (Yagil, 1982).

2.2.2. Lactose

La majeure fraction des carbohydrates du lait est constituée du lactose qui sert comme une source d'énergie pour les chamelons (Farah et *al.*, 2004).

Le taux moyen du lactose dans le lait de dromadaire est de 4.62% contre 4.8% dans le lait de vache et sa proportion varie de 2.9% à 5.8%, et présente une plus grande variabilité que le lait de vache dont la teneur peut situer entre 4.4 et 5.2% (Ramet, 1993).

Il semble que la teneur en lactose est relativement constante tout au long de la lactation (Yagil, 1982).

2.2.3. Matière grasse

La matière grasse constitue une source énergétique et nutritionnelle importante. Elle se trouve dispersée dans le lait sous forme de globules gras et enveloppée par une membrane qui dérive des cellules sécrétoires (Karray et *al.*, 2005). Sa teneur varie de 2.9% à 5.4% selon la saison, le stade de lactation, la fréquence de traite, le type de fourrage consommé et l'état d'hydratation de l'animal (Farah et *al.*, 2004; Iqbal et *al.*, 2001; Khaskheli et *al.*, 2005). Elle est représentée principalement par les triglycérides avec une variété d'acides gras; la proportion de ceux à longues chaînes est élevée tandis que celle des acides gras à courtes chaînes est faible (Karray et *al.*, 2005; Gorban et Izzeldin, 2001).

En comparant la composition en acides gras avec le lait d'autres espèces, il apparaît que celui de la chamelle contient une concentration élevée d'acides gras insaturés ayant un intérêt nutritionnel (Karray et *al.*, 2005; Yagil, 1982; Kamoun, 1995).

2.2.4. Protéines

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

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

La proportion des protéines totale varie de 2 à 5.5 %, elle est similaire à celle du lait bovin (Yagil, 1982). Mais, c'est la valeur de la teneur en caséines et en protéines sériques qui fait la différence (Farah et *al.*, 2004; Ramet, 1993).

2.2.5. Sels minéraux

Il est bien connu que la teneur en sels minéraux influence considérablement l'état physique et la stabilisation des protéines du lait (Park et Haenlein, 2006). Une grande variabilité de contenu minéral du lait de chamelle existe, cela dépend surtout de l'état d'hydratation de l'animal (Yagil, 1982).

La composition en macroéléments (Ca, Mg, P, Na, et K) est relativement similaire à celle du lait bovin. Par ailleurs, les taux des oligo-éléments (Zn, Fe, Cu...) sont beaucoup plus élevés dans le lait de dromadaire (Park et Haenlein, 2006; Mal et Pathak, 2010).

2.2.6. Vitamines

Le lait de chamelle présente la particularité d'être riche en vitamine C (au moins 3 fois plus élevé que le lait de vache). Ceci est très important du point de vue nutritionnel dans les zones où les sources en vitamine C demeurent insuffisantes (Farah et al., 1992; Yagil, 1982). Il est également riche en niacine (B3). Par ailleurs, le taux de vitamine A est beaucoup plus faible et de plus très variable (12.9UI/100g - 50 UI/100g) (Ramet, 1993; Farah et al., 1992). Il en est de même de la teneur en vitamines B1, B2, B5 et B9 (Ramet, 1993; Park et Haenlein, 2006).

Les paramètres physicochimiques du lait de chamelle de différentes régions du monde sont représentés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 1. Pourcentage des paramètres physicochimiques du lait de dromadaire de différents pays (Park et Haenlein, 2006).

Pays	Eau (%)	S. T. (%)	M. G. (%)	S. N. F (%)	Protéines (%)	Lactose (%)	Cendres (%)	pH
Egypte	87.8	12.2	3.75	8.56	3.13	4.5	0.8	6.53
Libye	87	13	3.3	9.7	3.3	5.6	0.8	___
Arabie Saoudite	87.7	12.3	3.49	8.87	3.26	4.78	0.83	6.5
Kenya	87.7	12.3	4.33	8.62	3.2	4.34	0.82	___
Somalie	86.9	13.1	4.6	8.5	3	4.9	0.6	6.5
Ethiopie	85.6	14.4	5.5	8.9	4.5	3.4	0.9	___
Inde	90.2	9.8	3.2	6.6	2.7	4.2	0.6	6.5
Tunisie	87.9	12.1	3.76	8.37	3.43	___	0.81	6.53
Pakistan	87.1	12.9	5.22	7.71	2.68	4.3	0.73	6.6

S. T. : Solides totaux, M.G. : Matière grasse, S.N.F: Extrait sec dégraissé

3. Bactéries lactiques

3.1. Généralités

Les bactéries lactiques constituent un groupe hétérogène de microorganismes caractérisé par la production de l'acide lactique comme produit final à partir de la fermentation des carbohydrates. Elles sont, généralement, non pathogènes et considérées comme « GRAS » (Generally Recognized As Safe) (Mozzi et al., 2010).

Elles sont des cocci ou des bâtonnets à Gram positif, asporulantes, généralement immobiles, dépourvues de catalase et d'oxydase, aéro anaérobie facultatives et acidotolérantes. Toutefois, leurs caractéristiques peuvent être changées sous certaines conditions. En présence d'hème, la catalase et les cytochromes sont formés, ce qui réduit la quantité d'acide lactique produite (König et Fröhlich, 2009).

Les LAB ont la réputation d'avoir des exigences nutritionnelles nombreuses et complexes rendant parfois leur culture fastidieuse en laboratoire.

Elles ont en général une faible capacité de biosynthèse et de nombreuses auxotrophies ont été décrites en ce qui concerne acides aminés, vitamines, bases puriques ou pyrimidiques et cofacteurs (Corrieu et Luquet, 2008).

Selon le métabolisme glucidique, les bactéries lactiques sont divisées en deux groupes:

- **Homofermentaires:** (*Lactococcus*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Enterococcus* et quelques espèces de *Lactobacillus*), elles produisent de l'acide lactique à partir de glucose via la voie d'Embden-Meyerhof.

Dans les conditions défavorables de croissance (ex: limitation de glucose), ces bactéries peuvent produire, en plus du lactate, de formate, d'acétate, d'éthanol, et/ou de CO₂ par la voie de fermentation des acides mixtes (Mozzi et al., 2010).

- **Hétérofermentaires:** (*Leuconostoc*, *Weissella*, *Oenococcus* et un sous groupe de *Lactobacillus*) (Salminen et al., 2004). Ces bactéries ne possèdent pas l'aldolase et la triose-phosphate isomérase de la glycolyse. Le glucose est dégradé en acide lactique, CO₂, éthanol ou acide acétique via la voie de 6-phosphogluconate/phosphocétolase (Mozzi et al., 2010; König et Fröhlich, 2009). (Fig. 2)

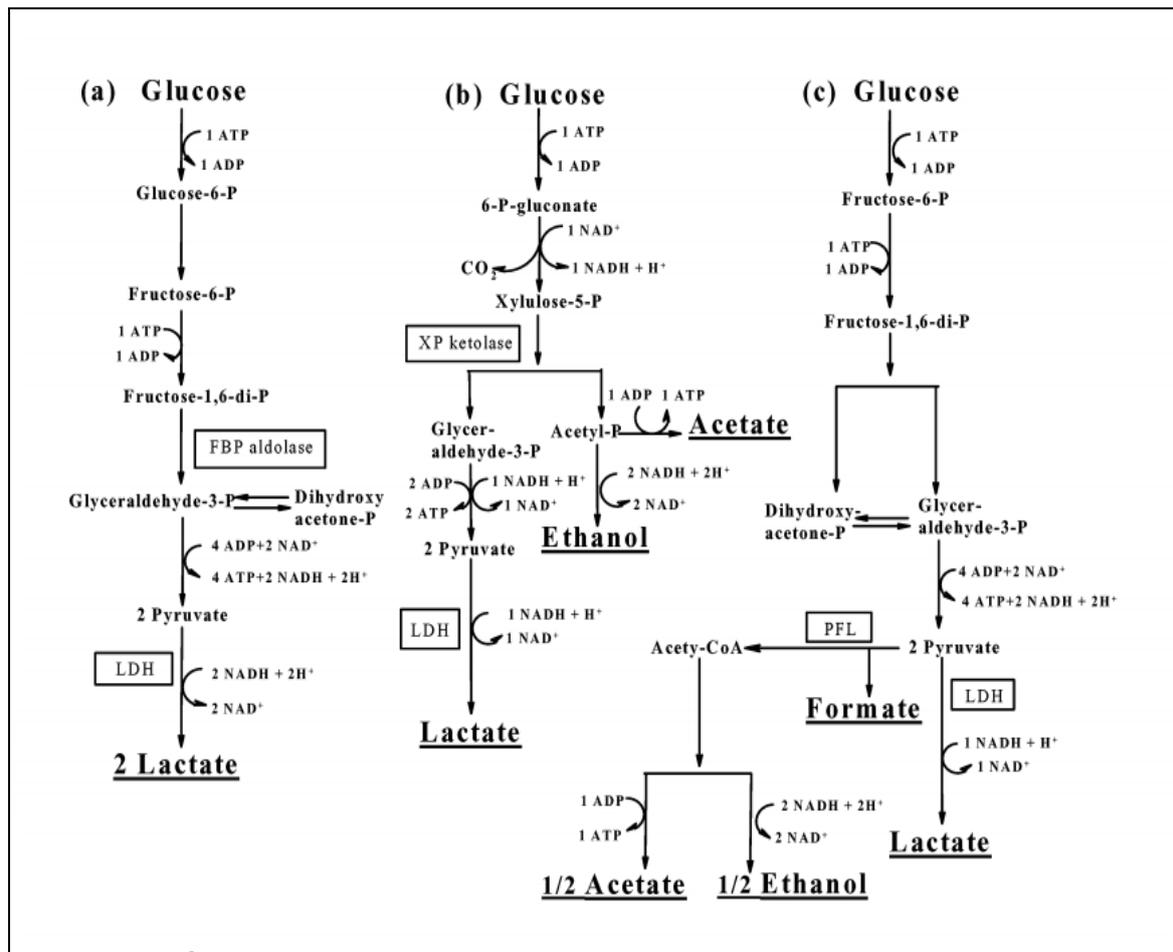


Figure 2. Voies majeures de fermentation chez les bactéries lactiques (Martensson, 2002).

(a): Homofermentation, (b): Hétérofermentation, (c): Fermentation des acides mixtes

P: Phosphate, BP: Biphosphate. Les enzymes clés : FBP: Fructose 1,6-biphosphate, XP: Xylulose 5-phosphate, PFL: Pyruvate formate lyase, LDH: Lactate déshydrogénase.

3.2. Habitat

Très ubiquistes, les bactéries lactiques colonisent de nombreux habitats, essentiellement ceux riches en carbohydrates solubles, acides aminés, vitamines et sous de faibles tensions d'oxygène.

Elles peuvent vivre dans les plantes et les fruits intacts ou en décomposition, le lait et les produits laitiers, les viandes et les poissons fermentés, l'eau et les eaux usées, les jus, l'ensilage et les cavités (buccale, génitale, intestinale et respiratoire) de l'homme et des animaux (König et Fröhlich, 2009; Aguirre et Collins, 1993).

3.3. Classification des bactéries lactiques

La classification phénotypique des LAB est largement basée sur la morphologie, le mode de fermentation de glucose, la croissance à différentes températures, la capacité de croissance à de hautes concentrations de sel (6.5%, 18%), la tolérance aux pH acides, alcalins et à l'éthanol, la configuration de l'acide lactique produit à partir de glucose, l'hydrolyse de l'arginine, la formation d'acétoïne, etc. Les marqueurs chimiotaxonomiques comme la composition en acides gras et les constituants de la paroi cellulaire peuvent aussi être utiles dans la classification (König et Fröhlich, 2009).

L'identification des espèces de LAB peut être réalisée par l'analyse de leur profil fermentaire des carbohydrates à l'aide du système API50CHL (Curk et al., 1993).

La différenciation entre les genres des bactéries lactiques par les tests phénotypiques classiques est résumée dans le tableau ci-dessous.

Tableau 2. Tests différentiels utilisés dans l'identification phénotypique des LAB au stade genre (Salminen et al., 2004).

Caractères	Bâtonnets					Cocci				
	<i>Carnob.</i>	<i>Lactob.</i>	<i>Aeroc.</i>	<i>Enteroc.</i>	<i>Lactoc. Vagoc.</i>	<i>Leucono. Oenoc.</i>	<i>Pedioc.</i>	<i>Streptoc.</i>	<i>Tetragenoc.</i>	<i>Weisse.^a</i>
Formation des tétrades	-	-	+	-	-	-	+	-	+	-
CO ₂ à partir de glucose ^b	- ^c	±	-	-	-	+	-	-	-	+
Croissance à 10°C	+	±	+	+	+	+	±	-	+	+
Croissance à 45°C	-	±	-	+	-	-	±	±	-	-
Croissance à 6.5% d'NaCl	ND ^d	±	+	+	-	±	±	-	+	±
Croissance à 18% d'NaCl	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
Croissance à pH 4.4	ND	±	-	+	±	±	+	-	-	±
Croissance à pH 9.6	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-
Configuration d'acide lactique ^e	L	D, L, DL ^f	L	L	L	D	L, DL ^f	L	L	D, DL ^f

+ : Positif, - : Négatif, ± : Réponse varie selon les espèces ; ND : Non déterminé ; *Weisse.^a* : Souches peuvent être bâtonnets. ^b : - : Homofermentaire, + : Hétérofermentaire. ^c : Petite quantité de CO₂ produite qui dépend du milieu.

^d : Absence de croissance à 8% d'NaCl ; ^e : Configuration de l'acide lactique produit à partir de glucose.

^f : Production de D-, L- ou DL- acide lactique varie selon les espèces.

Phylogénétiquement, les LAB appartiennent à l'embranchement de *Clostridium* dont l'ADN contient moins de 50 mole % de G+C. L'analyse comparative des séquences d'ARN ribosomal 16S a entraîné des changements importants dans la taxonomie des bactéries lactiques (Salminen et al., 2004).

Selon la version la plus récente de *Bergey's manual of systematic bacteriology* (2009), les LAB sont regroupées en un seul ordre (*Lactobacillales*) qui comprend six familles contenant 35 genres. (Fig. 3)

Douze genres sont considérés comme étant des bactéries lactiques principales et sont associés aux aliments: *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Enterococcus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc*, *Streptococcus*, *Aerococcus*, *Carnobacterium*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus*, *Oenococcus* et *Weissella* (Koort, 2006).

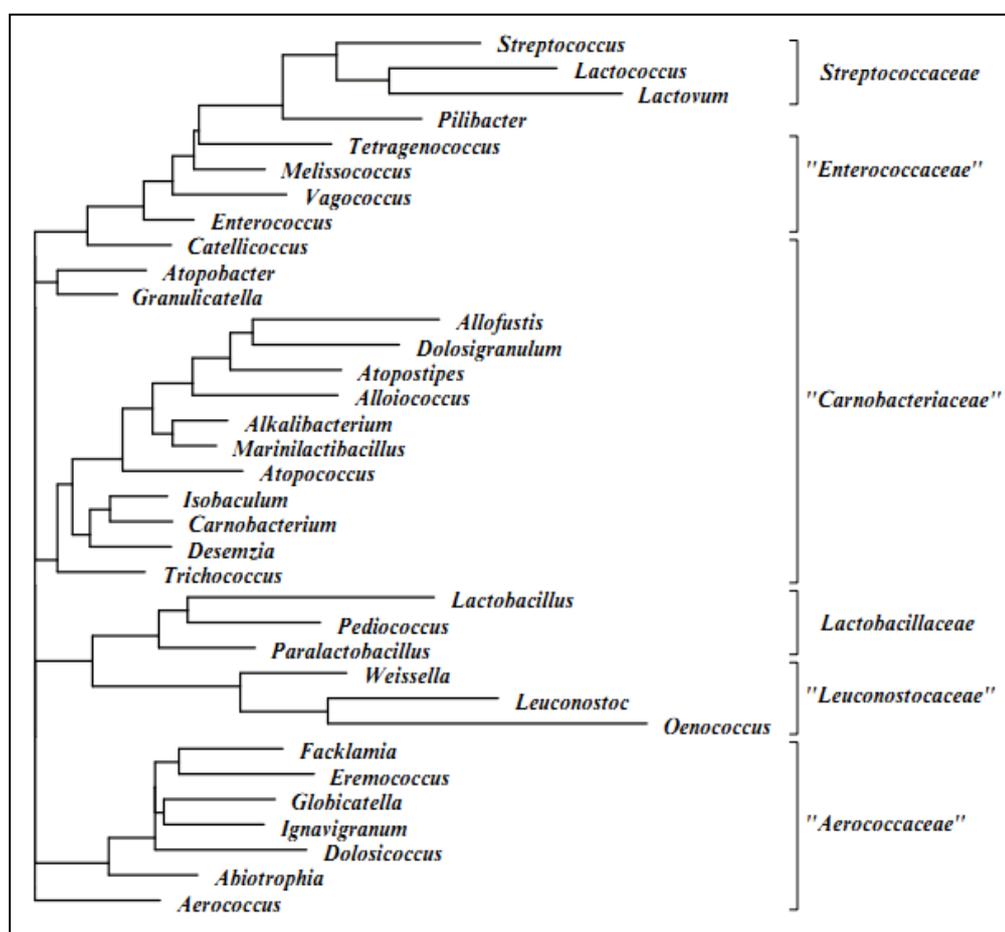


Figure 3. Dendrogramme consensus reflétant les relations phylogénétiques de l'ordre des «*Lactobacillales*» au sein de la classe «*Bacilli*» (De Vos et al., 2009).

3.4. Caractéristiques des genres liés aux produits laitiers

Six genres de bactéries lactiques sont associés au lait et aux produits laitiers; il s'agit de *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Streptococcus* et *Enterococcus* (Bulut, 2003).

3.4.1. *Lactobacillus*

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

Elles exigent toutes de nombreux facteurs nutritionnels pour leur croissance. Pour cela, tous les milieux de culture utilisés pour l'isolement sélectif ou semi sélectif des lactobacilli (MRS, le milieu APT et le milieu SL...) doivent contenir des facteurs de croissance adéquats, une source de vitamines représentée généralement par l'extrait de levure, les peptones, le manganèse, l'acétate et le tween 80. Leurs colonies sont souvent petites (2-5mm), convexes, brillantes, généralement opaques et parfois pigmentées (De Vos et al., 2009).

Toutes les espèces de *Lactobacillus* ont une morphologie caractéristique en bâtonnet. Leurs cellules peuvent être longues et minces, courtes, courbées, coccobacilli ou coryneformes. Elles sont arrangées, généralement, en chaînes. Elles sont immobiles à l'exception de certaines souches qui sont motiles grâce aux flagelles péritriches. Elles ne peuvent pas dégrader les caséines ni liquéfier la gélatine. La réduction des nitrates est rare, elle peut avoir lieu quand le pH terminal égal à 6 ou lorsque l'hème est ajouté au milieu de croissance. Elles ne peuvent pas produire l'indole ni l'H₂S (De Vos et al., 2009).

Les lactobacilli sont des bactéries acidophiles qui croissent généralement à un pH égal à 5 ou moins avec un optimum compris entre 5.5 et 6.2 (De Vos et al., 2009).

La plupart des espèces croissent mieux à des températures mésophiles jusqu'à 40°C, celles thermophiles ne peuvent pas se développer à une température inférieure à 15°C avec une limite maximale de 55°C.

En se basant sur le caractère fermentaire, Kandler et Weiss ont proposé une classification des lactobacilli en trois groupes:

- **Les lactobacilli homofermentaires stricts**: ils fermentent les hexoses en acide lactique exclusivement par la voie homofermentaire d'Embden Meyerhof, mais ils ne peuvent pas fermenter les pentoses et le gluconate.

- **Les lactobacilli hétérofermentaires facultatifs**: ils métabolisent les hexoses presque exclusivement en acide lactique par la voie homofermentaire d'Embden-Meyerhof. Lors d'une limitation en glucose certaines espèces sont capables de le fermenter via la voie des acides mixtes. Ils peuvent transformer les pentoses en acides lactique et acétique par une phosphocétolase inductible.

- **Les lactobacilli hétérofermentaires stricts**: ils fermentent les hexoses en acide lactique, en acide acétique ou en éthanol et CO₂, via la voie hétérofermentaire de la 6-phosphogluconate/phosphocétolase comme ils peuvent dégrader les pentoses (voie des pentoses phosphate) en acides acétique et lactique (De Vos et *al.*, 2009).

3.4.2. *Lactococcus*

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

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

Elles se développent, généralement, à 4% d'NaCl à l'exception de *Lc. lactis* subsp. *cremoris* qui tolère seulement 2% de sel (De Vos et al., 2009).

Les lactococci sont des bactéries homofermentaires qui produisent de l'acide lactique L(+) à partir de glucose. Ils croissent bien à des valeurs proches de la neutralité dans les milieux tamponnés, mais ils s'arrêtent de croître lorsque le pH atteint 4.5 (De Vos et al., 2009).

3.4.3. *Leuconostoc*

Le terme leuconostoc dérive du mot grec « *leucus* » qui veut dire claire et du mot générique latin d'une algue « *nostoc* ».

Leuconostoc fait partie de la famille des *Leuconostocaceae* qui rassemble deux autres genres (*Weissella* et *Oenococcus*). Il a été isolé pour la première fois en 1878 par Cienkowski (cité aussi Tsenkovskii) suite à l'apparition d'accidents dans des sucreries (Thunell, 1995).

Il comprend dix espèces fastidieuses dans leurs exigences nutritionnelles. Elles sont isolées à partir des habitats riches en nutriments (lait, vin, plantes et des végétaux fermentés) (Thunell, 1995). Plusieurs d'entre elles sont associées à une variété de produits carnés (viandes fraîches ou emballées sous vide, volailles, viandes traitées ou fermentées), d'autres sont employées comme levains dans la production du kefir.

Plusieurs milieux de culture sont utilisés pour l'enrichissement et l'isolement des leuconostocs tels que: MRS, Rogosa SL, glucose-extrait de levure, gélose à l'acétate, le milieu HP, etc. Le choix de tel milieu dépend de l'habitat à partir duquel leurs espèces sont isolées. Après une culture de 3 à 5 jours sur un milieu spécifique, des colonies lisses, blanches grisâtres avec un diamètre inférieur à 1mm sont formées. Leurs cellules sont sphériques, souvent allongées, en paires ou en chaînes. Toutes les espèces de *Leuconostoc* ne peuvent pas hydrolyser l'arginine, non hémolytiques, non protéolytiques et sont généralement incapables d'acidifier et de coaguler le lait (De Vos et al., 2009).

Elles ne sont pas des bactéries acidophiles, le pH optimum de croissance est compris entre (6 et 7), certaines peuvent croître à pH de 4.5.

La température optimale de croissance se situe entre 20°C et 30°C mais certaines sont capables de croître à 5°C.

Les leuconostocs sont des hétérofermentaires obligatoires qui produisent le D(-)-acide lactique, le CO₂, l'éthanol ou l'acide acétique après la fermentation de glucose.

Sur un milieu concentré en saccharose, certaines espèces peuvent produire les dextrans comme (*Leuconostoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides*) (De Vos et al., 2009).

3.4.4. *Pediococcus*

Ce genre appartient à la famille des *Lactobacillaceae*. Il partage son habitat ainsi que plusieurs propriétés physiologiques avec les genres suivants: *Lactobacillus*, *Leuconostoc* et *Weissella* (le groupe LLPW).

Il renferme neuf espèces: *P. acidilactici*, *P. claussenii*, *P. cellicola*, *P. damnosus*, *P. dextrinicus*, *P. inopinatus*, *P. parvulus*, *P. pentosaceus* et *P. stilesii*. Elles peuvent être isolées à partir des plantes, des fruits et des végétaux fermentés. Certaines souches sont utilisées dans la fermentation des viandes, dans la brasserie et d'autres causent des infections chez l'homme.

Plusieurs milieux de culture sont développés pour l'isolement des pediococci mais ils ne sont pas complètement sélectifs citant par exemple: la gélose MRS, le milieu SL et la gélose à l'acétate (Dworkin et al., 2006; De Vos et al., 2009).

Les cellules de *Pediococcus* sont sphériques, parfois ovoïdes, isolées ou en paires (durant le milieu de la phase exponentielle); après leur division dans deux directions perpendiculaires elles forment les tétrades mais jamais les chaînes (De Vos et al., 2009).

Certaines souches de l'espèce *P. pentosaceus* produisent la catalase ou une pseudocatalase.

A l'exception de *P. acidilactici* et *P. pentosaceus*, toutes les espèces ne peuvent pas hydrolyser l'arginine. Elles sont non halophiles mais acidophiles, elles croissent à pH: 5 et non à pH: 9, sauf: *P. stilesii*. La température optimale de croissance varie de 25°C à 35°C.

Pour les pediococci typiques, il apparaît que le CO₂ n'est pas produit à partir de gluconate.

Toutes les espèces sont des homofermentaires, elles produisent le DL- acide lactique à partir de glucose à l'exception de: *P. claussenii*.

Deux espèces sont considérées comme pediococci atypiques, il s'agit de:

P. halophilus renommées *Tetragenococcus halophilus*, elle forme actuellement un genre séparé appelé: *Tetragenococcus*; et *P. dextrinicus* qui produit le L(+)-acide lactique à partir de glucose, le CO₂ à partir de gluconate comme elle peut hydrolyser l'amidon, cette espèce peut représenter un nouveau genre (De Vos et al., 2009).

3.4.5. *Streptococcus*

Ce genre est associé à de nombreuses maladies humaines et animales et la seule espèce qui est adaptée à l'environnement laitier est *Streptococcus thermophilus* (Chandan et al., 2008). Cette espèce rassemble des cellules ovoïdes ou sphériques, d'un diamètre variant de 0.7 à 1µm, arrangées en paires à longues chaînes, aéro anérobie facultatives. Elles croissent à 45°C mais non à 15°C et la plupart des souches survivent après un chauffage à 65°C pendant 30 minutes. Elles ne peuvent pas résister à une concentration de 0.1% de bleu de méthylène ni à un pH de 9.6. Leur croissance est variable à 2% d'NaCl mais aucune souche ne peut se développer à 3% (De Vos et al., 2009).

Toutes les souches de *S. thermophilus* exigent les vitamines de groupe B et quelques acides aminés pour leur développement. Elles sont incapables d'hydrolyser l'esculine, les caséines, la gélatine, l'hippurate et l'arginine. Certaines souches peuvent hydrolyser l'amidon. Elles produisent de l'acétoïne (réaction de Voges-Proskauer), la β. galactosidase et la leucine arylamidase. Mais elles ne peuvent pas synthétiser plusieurs enzymes comme l'uréase, DNase, α. galactosidase, etc. (De Vos et al., 2009).

3.4.6. *Enterococcus*

Il appartient à la famille des *Enterococcaceae* qui renferme trois autres genres (*Melissococcus*, *Tetragenococcus* et *Vagococcus*). *Enterococcus* est séparé du genre *Streptococcus* sur la base des résultats d'hybridation (ADN-ADN et ADN-ADNr) qui sont confirmés par les analyses phylogénétiques de l'ARN 16S (De Vos et al., 2009).

Plusieurs espèces font partie de la flore intestinale des mammifères et des oiseaux; d'autres sont isolées à partir des plantes, des eaux et des denrées alimentaires (lait, viande...). Il s'avère que leur présence dans l'eau résulte d'une contamination fécale.

Les enterococci croissent dans une variété de milieux de culture riches (Todd-Hweitt, trypticase soja, BHI...). Néanmoins, il apparaît que l'MRS défavorise la croissance de quelques espèces.

Leurs colonies sont toujours circulaires, régulières et lisses ayant un diamètre qui peut atteindre 5mm. Certaines espèces produisent un pigment caroténoïde jaune sur un milieu solide.

Les cellules des enterococci sont ovoïdes, isolées, en paires ou en courtes chaînes. La présence des flagelles rudimentaires rendent certaines espèces mobiles (De Vos et al., 2009).

Elles sont toutes dépourvues de la catalase, mais certaines espèces révèlent une pseudocatalase lorsqu'elles sont cultivées sur les milieux de culture contenant l'hème.

La température optimale de croissance de la plupart des espèces varie de 35°C à 37°C, plusieurs sont capables de croître à 42°C et même à 45°C mais lentement à 10°C. De plus, les enterococci sont très résistantes au séchage.

Toutes les espèces sont des homofermentaires, elles fermentent le glucose en L(+) Ac lactique via la voie d'Embden-Meyrehof. En présence d'oxygène, le glucose est métabolisé en acide acétique, acétoïne et CO₂. En cas de déficience en nutriments, le pyruvate est converti en éthanol et en acide acétique. Elles peuvent avoir de l'énergie en dégradant les acides aminés (arginine, tyrosine, serine, agmatine, phénylalanine et canavine).

Il est à noter que certaines caractéristiques traditionnellement considérées d'être typiques pour le genre, tels que: la résistance à 6.5% d'NaCl, à pH: 9.6, la croissance à 10°C et à 45°C, ne peuvent pas être appliquées pour plusieurs espèces décrites récemment qui ne possèdent pas une ou plus de ces caractéristiques (De Vos et *al.*, 2009; Salminen et *al.*, 2004).

3.5. Propriétés fonctionnelles et technologiques des bactéries lactiques

L'utilisation des LAB pour une application industrielle donnée est déterminée par leurs propriétés fonctionnelles et technologiques.

- **Activité acidifiante**

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

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

- **Activité aromatisante**

Les bactéries lactiques peuvent produire de nombreux composés aromatiques, principalement à partir du lactose, du citrate, des acides aminés et des matières grasses (Corrieu et Luquet, 2008). Ainsi, les acides lactique et acétique produits par *Lc. lactis* subsp. *lactis* et *Lc. lactis* subsp. *cremoris* confèrent aux laits fermentés une arôme caractéristique; celle des fromages maturés est associée à plusieurs métabolites tels que: l'acétaldéhyde, le diacétyl, l'acétoïne et le 2-3-butylène-glycol à partir du citrate par *Lc. lactis* subsp. *lactis* var. *diacetylactis* et *Leuconostoc* spp. (Salminen et al., 2004).

- **Activité gazogène**

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

- **Propriétés enzymatiques**

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

L'activité lipolytique présente, de plus, un intérêt pour les applications fromagères (Corrieu et Luquet, 2008; Mozzi et al., 2010).

- **Propriétés texturantes**

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

Ainsi, la production d'exopolysaccharides par les LAB, lors de leur développement dans le lait évite l'augmentation du taux protéique du produit ou d'avoir recours à l'ajout d'additifs, tels que des texturants et des épaississants, lors de la production de yaourt (Corrieu et Luquet, 2008).

4. Probiotiques

4.1. Définition

Le terme probiotique dérive des deux mots grecs "*pros*" et "*bio*" qui signifient littéralement "pour la vie" contrairement au terme antibiotique signifiant "contre la vie". Il a été introduit pour la première fois par Lilly et Stillwell en 1965. Selon la définition actuellement adoptée par la FAO et l'OMS; « les probiotiques sont des microorganismes vivants administrés en quantités adéquates et qui sont bénéfiques pour la santé de l'hôte » (Karna et al., 2007; Robinson, 2002).

4.2. Les microorganismes probiotiques

Les souches ou espèces probiotiques sont des composants normaux de la flore intestinale. En alimentation humaine, les genres microbiens les plus utilisés comme probiotiques sont : *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* et *Streptococcus*. Par contre, en alimentation animale de nombreux genres bactériens et fongiques sont utilisés, comme *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Bacillus*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Enterococcus*, *Propionibacterium*, *Saccharomyces*, *Aspergillus* et *Torulopsis* (Amrouche, 2005).

Les principales espèces incorporées dans les produits probiotiques sont représentées dans le tableau (3).

Tableau 3. Principales espèces utilisées comme probiotiques (Robinson, 2002).

Lactobacilli	Bifidobacteria	Enterococci	Autres
<i>Lb. acidophilus</i>	<i>B. bifidum</i>	<i>E. faecium</i>	<i>Saccharomyces boulardii</i>
<i>Lb. plantarum</i>	<i>B. infantis</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>cremoris</i>
<i>Lb. casei</i>	<i>B. adolescentis</i>		<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i>
<i>Lb. rhamnosus</i>	<i>B. longum</i>		<i>Leuconostoc mesenteroides</i>
<i>Lb. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>	<i>B. breve</i>		<i>Propionibacterium freudenreichii</i>
<i>Lb. fermentum</i>	<i>B. lactis</i>		<i>Pediococcus acidilactis</i>
<i>Lb. johnsonii</i>			<i>Streptococcus salivarius</i> subsp. <i>thermophilus</i>
<i>Lb. gasseri</i>			<i>Escherichia coli</i>
<i>Lb. salivarius</i>			
<i>Lb. reuteri</i>			

4.3. Critères de sélection des probiotiques

Afin de prétendre que l'aliment a un effet probiotique, les lignes directrices énoncées dans le rapport de la FAO/OMS (2002) doivent être suivies.

- **Désignation du genre/espèce/souche**

L'effet probiotique d'un produit est associé étroitement à la souche microbienne utilisée. Il est donc nécessaire de l'identifier par des méthodes récentes et valides combinant les tests phénotypiques et génotypiques.

- **Criblage des probiotiques potentiels par des tests *in vitro***

Les tests *in vitro* sont réalisés pour déterminer les mécanismes par lesquels les souches probiotiques exercent leurs effets bénéfiques, mais il est indispensable de les confirmer *in vivo*. Les principaux tests utilisés sont:

- Résistance à l'acidité gastrique;
- résistance aux sels biliaires;
- adhérence au mucus et/ou cellules épithéliales humaines;
- activité antimicrobienne contre les bactéries potentiellement pathogènes;
- activité de l'hydrolase sur les sels biliaires;
- capacité de réduire l'adhésion des pathogènes aux surfaces;
- résistance aux spermicides (application vaginale des probiotiques).

- **Innocuité des souches probiotiques**

Les probiotiques utilisés dans les produits alimentaires sont des microorganismes appartenant à la flore normale intestinale. Cependant, l'innocuité de la souche microbienne doit être prouvée avant toute utilisation du probiotique dans l'aliment.

Des effets secondaires rares peuvent être associés à la consommation des produits contenant certaines souches probiotiques qui sont:

- Infections systémiques;
- activités métaboliques délétères;
- stimulation immunitaire excessive chez des personnes sensibles;
- transfert de gènes entre les espèces bactériennes probiotiques et celles de la flore intestinale.

- **Etude *in vivo* sur l'homme et les animaux**

Afin de confirmer ou valider les résultats des tests *in vitro*, il serait nécessaire de réaliser des essais *in vivo* sur des animaux de laboratoire ou, de préférence, sur des sujets humains dans des conditions expérimentales appropriées.

- **Allégations-santé et marque du produit**

Lorsque les données scientifiques sont disponibles, il est fortement recommandé d'indiquer sur les produits probiotiques des mentions spécifiques exactes. Par exemple, il est préférable de citer en détail comme suit: «réduit l'incidence et la sévérité des diarrhées à rotavirus chez les enfants» au lieu de «améliore la santé de l'intestin ». La marque (étiquette) doit porter: Genre/espèce/souche, nombre minimal de cellules viables, allégation santé, conditions de stockage, etc.

4.4. Effets bénéfiques des probiotiques

Plusieurs effets bénéfiques, sur la microflore intestinale, le système immunitaire et la santé de l'être-vivant en général, ont été associés à la consommation des probiotiques.

4.4.1. Effets des probiotiques sur la microflore intestinale

Les probiotiques exercent des effets directs au cours de leur transit gastro-intestinal et peuvent modifier significativement le métabolisme et la composition de la microflore intestinale (Rambaud et *al.*, 2004).

4.4.1.1. Modulation du métabolisme

Il a été démontré que l'activité des enzymes procarcinogènes produites par les bactéries de la microflore intestinale diminue suite à une consommation de certaines souches de probiotiques (Rambaud et *al.*, 2004). Ils peuvent aussi modifier le métabolisme des microorganismes pathogènes par diminution du pH, ce qui conduit à l'inhibition de l'activité de leurs enzymes (Fooks et Gibson, 2002).

4.4.1.2. Modulation de la composition de la microflore intestinale

De nombreuses études ont démontré l'efficacité des probiotiques dans le contrôle de la croissance des microorganismes indésirables dans le tractus gastro-intestinal (Marth et Steele, 2001). Ils agissent sur l'écosystème intestinal par les mécanismes suivants:

- **Compétition pour l'adhésion**

La majorité des infections intestinales sont initiées par l'adhésion des microorganismes pathogènes aux cellules entérocytaires de l'hôte. Certaines bifidobactéries et lactobacilli auraient la capacité de bloquer physiquement l'accès des pathogènes aux entérocytes (Fooks et Gibson, 2002 ; Marth et Steele, 2001).

- **Production de substances antimicrobiennes**

Les probiotiques produisent une large gamme de substances antibactériennes telles que les acides organiques, les bactériocines, H₂O₂ contre les microorganismes entérovirus (Fooks et Gibson, 2002; Grangette, 2007).

- **Compétition au niveau de l'utilisation des nutriments**

L'inhibition de la croissance des pathogènes peut également s'effectuer par un processus d'épuisement du milieu en nutriments, ce qui diminue l'implantation des pathogènes (Fooks et Gibson, 2002).

4.4.2. Effets des probiotiques sur l'immunité

Les probiotiques jouent un rôle crucial dans la régulation des réponses immunitaires en agissant de différentes façons:

D'une part, ils stimulent le développement du système immunitaire chez l'enfant ou de sa restauration chez les personnes âgées en augmentant l'activité phagocytaire des cellules immunes circulantes impliquées dans l'immunité innée. Cette forme d'immunité permet à l'organisme de se débarrasser immédiatement des pathogènes avant l'intervention tardive des réponses immunitaires spécifiques (Fooks et Gibson, 2002; Marth et Steele, 2001)

D'autre part, ils diminuent sa suractivation dans le cas d'allergies alimentaires (eczéma atopique) (Gillingham et Lescheid, 2009) ou d'inflammations (maladies inflammatoires chroniques intestinales). Ceci peut être dû par divers mécanismes tels que, l'augmentation de la fonction « barrière » de l'épithélium, la limitation de la croissance des microorganismes pathogènes et l'immunomodulation du système immunitaire associé à la muqueuse intestinale (Grangette, 2007).

Enfin, les probiotiques augmentent la fonction barrière de la muqueuse intestinale qui assure une protection de l'hôte contre la pénétration des bactéries résidentes dans le comportement systémique et contre l'envahissement par des microorganismes pathogènes responsables des diarrhées en accentuant la production du mucus ou des anticorps de type IgA (Herich et Levkut, 2002; Doumandji et Neche, 2008).

4.4.3. Les autres effets des probiotiques sur la santé de l'hôte

4.4.3.1. Augmentation de la valeur nutritionnelle

Les probiotiques améliorent l'intolérance au lactose observée chez les sujets porteurs d'un déficit en lactase ou chez les malades ayant subi une résection intestinale, par libération de lactases microbiennes (Rambaud et *al.*, 2004). Ils permettent aussi l'assimilation et/ou la

synthèse des acides aminés essentiels pour l'organisme et favorisent l'absorption des minéraux et vitamines (Robinson, 2002).

4.4.3.2. Stimulation du péristaltisme

Le mouvement péristaltique des intestins joue un rôle important dans la diminution de la prolifération des microorganismes pathogènes dans l'intestin. Tous les essais actuels utilisant des lactobacilli ou des bifidobactéries donnent des résultats positifs dans la stimulation du péristaltisme intestinal en réduisant le temps de transit des microorganismes pathogènes (Robin et Rouchy, 2001).

4.4.3.3. La prévention des infections gastro-intestinales

Des effets protecteurs contre les infections gastro-intestinales ont été associés à la consommation de probiotiques qui atténuent significativement l'inflammation due à *Helicobacter pylori*, bactérie responsable de gastrites de type B, d'ulcères peptiques et du carcinome gastrique (cancer de l'estomac) (Chandan et al., 2008). Ils peuvent aussi contrecarrer plusieurs types de diarrhées. Parmi elles:

- Diarrhée du voyageur (*tourista*).
- Diarrhées causées par une antibiothérapie.
- Diarrhées dues à *Clostridium difficile* (Fooks et Gibson, 2002).

4.4.3.4. Réduction du taux de cholestérol

Le cholestérol constitue un facteur de risque de plusieurs maladies telles que: le cancer du côlon, l'hypercholestérolémie et les maladies cardiovasculaires. Les bactéries lactiques, particulièrement, *Lactobacillus* et des espèces du genre *Bifidobacterium* sont capables de métaboliser le cholestérol, ce qui réduit son taux sanguin (Mahrous et al., 2011).

4.4.3.5. La prévention du cancer du côlon

Le cancer colorectal représente un problème majeur de santé publique qui affecte plus d'un million de personnes dans le monde. Pour cela, il fait l'objet d'un grand nombre d'études. Des travaux chez l'animal ont montré l'effet protecteur des probiotiques sur le cancer colique par l'inhibition des processus conduisant à sa formation (Wollowski et al., 2001; Liang, 2008).

Les effets santé le plus couramment attribués aux bactéries probiotiques et leurs mécanismes d'action sont récapitulés dans le tableau (4).

Tableau 4. Effets positifs des probiotiques sur la santé humaine (effets probables ou suspectés) (Izquierdo Alegre, 2009).

Effets des probiotiques	Mécanismes d'activité proposés
Amélioration de la digestion du lactose	- Action de β -galactosidase bactérienne dans l'intestin grêle
Diminution des allergies alimentaires	- Diminution du passage de protéines alimentaires par diminution de perméabilité intestinale - Stimulation de système immunitaire
Réduction du risque des diarrhées	- Résistance à la colonisation par des pathogènes - Stimulation du système immunitaire
Traitement des maladies inflammatoires de l'intestin	- Modulation de la flore intestinale - Stimulation de système immunitaire
Réduction du cholestérol	- Assimilation de cholestérol - Déconjugaison des sels biliaires
Prévention du cancer du côlon	- Stimulation de système immunitaire - Production des composés antimutagéniques - Modulation des enzymes fécales carcinogéniques - Dégradation de carcinogènes - Eliminations des bactéries impliquées dans la production de cancérogènes

Matériels et Méthodes

1. Matériels

1.1. Echantillons

-Trois échantillons de lait collectés à partir de M'sila ont été utilisés dans l'analyse physicochimique.

- Sept échantillons de lait ont été utilisés dans la caractérisation de la microflore lactique. Ils sont collectés à partir de trois régions:

- Trois échantillons de M'sila
- Trois échantillons de Biskra
- Un seul échantillon de l'Oued

1.2. Appareillage

Etuve (Binder), Autoclave, Loupe binoculaire, Microscope optique, Vortex (Heidolph), Agitateur magnétique de paillasse chauffant (Bioblock Scientific), Balance de paillasse, Balance de précision, pH mètre (HANNA instruments « pH 211 microprocessor pH mètre »), Bain marie, Centrifugeuse (Hettich « universal 2S »), Spectrophotomètre (Pharmacia « LKB. NovaspecII »), Etuve réfrigérée (LKB Bromma « 2021 Maxicold LAB »), Lactostar (Funke Gerber).

1.3. Produits chimiques

- **Milieux de culture:** gélose MRS, bouillon MRS, gélose M17, bouillon et gélose nutritif.
- **Colorants:** colorants de la réaction de Gram: (fushine, violet de gentiane, lugol), bleu de méthylène, pourpre de bromocrésol.
- **Sels et tampons:** Na_2HPO_4 , NaH_2PO_4 , NaCl , sels biliaires (Sigma product number B3301).
- **Autres:** NaOH , HCl , lait écrémé, saccharose, l'huile d'immersion, éthanol (96%).

1.4. Matériel biologique

Les souches pathogènes utilisées dans la détection de l'activité antibactérienne proviennent du laboratoire de Microbiologie appliquée (Université de Sétif).

- *Escherichia coli* ATCC: 25922
- *Staphylococcus aureus* ATCC: 25923
- *Salmonella* sp.
- *Bacillus subtilis*
- *Enterobacter cloacae*

2. Méthodes

2.1. Analyse physicochimique du lait de chamelle

2.1.1. Collecte du lait

Trois femelles saines ont été prélevées au mois de Mai à partir de M'sila (Chellal) en 2011. A la fin du pâturage, 100 à 150 ml du lait ont été recueillis dans des flacons de 250 ml puis transportés à 4°C jusqu'au laboratoire.

2.1.2. Analyse physicochimique du lait

Après moins de 24h de prélèvement des échantillons du lait, les paramètres physicochimiques (matière grasse, protéines, lactose, minéraux, extrait sec dégraissé (S.N.F), point de congélation et conductivité) ont été déterminés à l'aide du lactostar qui est calibré et rincé préalablement par l'eau distillée.

Une mesure de pH du lait a été effectuée à l'aide d'un pH mètre à 20°C. Chaque échantillon de lait a été analysé trois fois.

2.2. Caractérisation de la microflore lactique

2.2.1. Collecte du lait

L'échantillonnage du lait a été réalisé à partir de trois régions de sud-est algérien (M'sila, Biskra et l'Oued). Au cours de la période comprise entre Octobre et Novembre (2010), et vers la fin du jour, sept femelles saines ont été choisies pour le prélèvement du lait.

Après la désinfection de leurs pis et les mains des éleveurs avec de l'alcool éthylique, le lait est récupéré dans des flacons stériles de contenance de (250ml), transporté jusqu'au laboratoire à 4°C et analysé le jour qui suit le prélèvement.

2.2.2. Isolement et purification des bactéries lactique

L'isolement des LAB a été fait après la réalisation d'une série de dilution décimale par le transfert d'un volume de 1ml du lait, directement ou après enrichissement par incubation des échantillons du lait à 30°C et à 37°C jusqu'à sa coagulation, à 9ml de solution d'eau physiologique stérile (0.85% m/v) pour l'obtention d'une dilution initiale de 10^{-1} ; elle est utilisée par la suite pour réaliser une série de dilution jusqu'à 10^{-7} (Khedid et *al.*, 2009). 100µl de chaque dilution a été étalé sur des boites contenant un milieu MRS solide et d'autres contenant un milieu M17 solide. Elles sont incubées en anaérobiose dans des jarres d'anaérobiose à 30°C et d'autres à 37°C pendant 48 à 72h.

Après incubation, les colonies individuelles sont prélevées et transférées à des tubes contenant 5ml de bouillon MRS stérile (Lore et *al.*, 2005). La purification a été faite par des repiquages répétés sur le milieu gélosé approprié jusqu'à l'obtention des isolats homogènes. La pureté des bactéries isolées est confirmée par examen microscopique (Thapa et *al.*, 2006).

2.2.3. Conservation des isolats

Les souches présumées comme LAB (Gram positif et catalase négative) sont conservées à court terme sur la gélose MRS ou M17 inclinée; après ensemencement et croissance à la température optimale, les cultures sont maintenues à 4°C et le renouvellement des souches se fait par repiquage toutes les quatre semaines sur bouillon MRS. Les bactéries sont conservées à long terme dans un bouillon MRS contenant 20% (v/v) de glycérol et sont maintenues à -20°C (Guessas et Kihal, 2004).

2.2.4. Identification phénotypique des souches isolées

Afin d'identifier les LAB, les méthodes phénotypiques comprenant une examination morphologique, des tests physiologiques et biochimiques ont été réalisées. Elles sont faites selon les méthodes décrites dans l'ouvrage *The prokaryotes*.

Tous les tests ont été réalisés sur le milieu de culture ajusté à pH: 6.2, stérilisé et ensemencé par une culture jeune (développée dans le bouillon MRS pendant 16h); ils sont répétés deux fois. Le résultat de chaque test est comparé à un témoin (non inoculé par la bactérie) incubé à la même température.

2.2.4.1. Identification morphologique

2.2.4.2. Observation macroscopique

Afin de déterminer leurs caractères cultureux (taille, forme et couleur), les colonies obtenues sont observées à la loupe binoculaire (Joffin et Leyral, 2006).

2.2.4.3. Observation microscopique

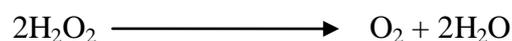
Coloration de Gram

Selon la nature de la paroi, les bactéries sont distinguées en: Gram positif, dont les bactéries lactiques en font partie et en Gram négatif. La coloration de Gram a été réalisée selon le protocole décrit par Joffin et Leyral (2006). (Annexe 2)

2.2.5. Identification biochimique et physiologique

2.2.5.1. Test de catalase

La catalase est une enzyme catalysant la décomposition de peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène selon la réaction suivante:



Cette enzyme est produite par plusieurs microorganismes et utilisée pour l'identification des bactéries. Une colonie isolée est prélevée de la gélose et déposée dans une goutte d'eau oxygénée sur une lame de verre propre. L'apparition de bulles d'air indique une réponse positive. Les bactéries retenues sont celles dépourvues de catalase (Boubekri et Ohta, 1996).

2.2.5.2. Production de CO₂ à partir de glucose

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

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

2.2.5.3. Hydrolyse de l'arginine

L'arginine est dégradée en ammoniac et en ornithine par l'arginine dihydrolase selon la réaction suivante:



Elle est mise en évidence sur le bouillon de Reddy (annexe 1). Des tubes contenant 5ml de milieu sont inoculés et incubés à 30°C pendant 5 jours. Les bactéries utilisant l'arginine libèrent l'ammoniac ce qui alcalinise le milieu et entraîne un changement de couleur vers le pourpre (Meyer et *al.*, 2004; Bulut, 2003).

2.2.5.4. Croissances à différentes températures

Toutes les souches ont été cultivées sur 5 ml de bouillon MRS et incubées à 10°C pendant une semaine et à 45°C pendant 48h (Badis et *al.*, 2005).

2.2.5.5. Croissance à différentes concentrations d'NaCl

La tolérance des bactéries au sel a été testée sur bouillon MRS additionné avec 40g/l et 65g/l d'NaCl. Après inoculation et incubation à 30°C pendant 5 jours, le développement des souches est apprécié par comparaison avec un tube non ensemencé incubé à la même température (Guessas et Kihal, 2004).

2.2.5.6. Croissance à différentes valeurs de pH

Le bouillon MRS ajusté à des pH différents avec une solution de NaOH ou de l'HCl, stérilisé puis inoculé avec toutes les souches pour les pH: 4.5 et 9.6. Les cocci hétérofermentaires sont cultivés aussi sur pH: 4.8 et les cocci homofermentaires sur pH: 9.2. La croissance des bactéries a été suivie pendant 24 à 48 h à 30°C (Badis et *al.*, 2005).

2.2.5.7. Croissance à 0.1% de bleu de méthylène

Un volume de 5 ml du lait écrémé additionné de 1g/l de bleu de méthylène a été versé dans chaque tube à essais. Les tubes sont stérilisés à 110°C pendant 10 min,ensemencés puis incubés à 30°C pendant (16-72h).

Si le lait reste entièrement bleu, la bactérie ne peut pas se développer et elle est donc **sensible au bleu de méthylène**.

Le virage de couleur du lait vers le blanc est traduit par une réduction de bleu de méthylène, résultat des fermentations bactériennes. Un anneau bleu, dû à l'action de l'oxygène présent dans le tube, se forme à la surface. Dans ce cas la bactérie est **résistante au bleu de méthylène** (Joffin et Leyral, 2006; Mami et *al.*, 2008).

2.2.5.8. Thermorésistance

Des tubes à essai contenant 5 ml de bouillon MRS stérile sont inoculés et placés dans le bain marie à une température de 60°C pendant 30min. L'apparition d'un trouble après une incubation d'une semaine à 30°C détermine la résistance des bactéries (Joffin et Leyral, 2006).

2.2.5.9. Résistance à l'éthanol

L'alcool éthylique est ajouté aux tubes contenant le bouillon MRS stérile à une concentration finale de 100 ml/l puisensemencé par les cocci hétérofermentaires. La croissance a été suivie après incubation à 30°C pendant trois jours (Boubekri et Ohta, 1996).

2.2.5.10. Production de dextranes

Les dextranes sont des homopolysaccharides synthétisés par certaines espèces des genres *Streptococcus* et *Leuconostoc* cultivées sur un milieu hypersaccharosé (Devoyod et Poullain, 1988).

La production des dextranes a été mise en évidence dans le milieu MRS solide modifié par l'addition de 10% (m/v) de saccharose. Elle se traduit par la formation de colonies larges et gluantes sur les boîtes de Pétri après une incubation d'une semaine (Milliere et *al.*, 1989).

2.3. Potentiel probiotique des bactéries lactiques

2.3.1. Détection de l'antagonisme des isolats

Les effets antagonistes de toutes les bactéries lactiques isolées ont été décelés par le test des spots sur agar. Cette méthode consiste à cultiver deux souches bactériennes dans le même milieu en double couche (Mami et *al.*, 2008). Elle a été réalisée en suivant les étapes décrites par (Hernandez et *al.*, 2005; Fazeli et *al.*, 2007; Maragkoudakis et *al.*, 2006):

- Les bactéries lactiques sont réactivées sur 5ml de bouillon MRS stérile pendant (16-18h) à 30°C;
- des aliquots (2µl) de cultures bactériennes jeunes ont été déposés sur la surface sèche de la gélose MRS (1.5% (m/v) agar, pH: 6.2);
- dans le centre de la boîte, un volume de 2µl de bouillon MRS (pH: 6.2) non inoculé a été déposé qui sert comme contrôle négatif;
- les boîtes inoculées sont laissées auprès du bec bunsen pendant 15min pour que les spots s'assèchent;
- elles sont incubées en anaérobie à une température de 30°C pendant 24h;
- après croissance des spots de LAB, on transfère 0.1ml ($\approx 10^5$ UFC/ml) de suspension pathogène jeune (16h) cultivée sur bouillon nutritif stérile à des tubes contenant 10 ml de gélose nutritive molle (0.75% (m/v) agar) fondue (45°C);
- après une agitation légère des tubes, les milieux inoculés sont versés prudemment sur les boîtes contenant les spots des bactéries lactiques;
- après solidification du milieu, les boîtes sont incubées une autre fois pendant 24h à 37°C et en aérobie;
- l'inhibition de la souche pathogène (indicatrice) se traduit par la formation des zones claires autour du spot dont le diamètre est mesuré à partir du centre en millimètre.

Les étapes du test sont représentées dans la figure (4).

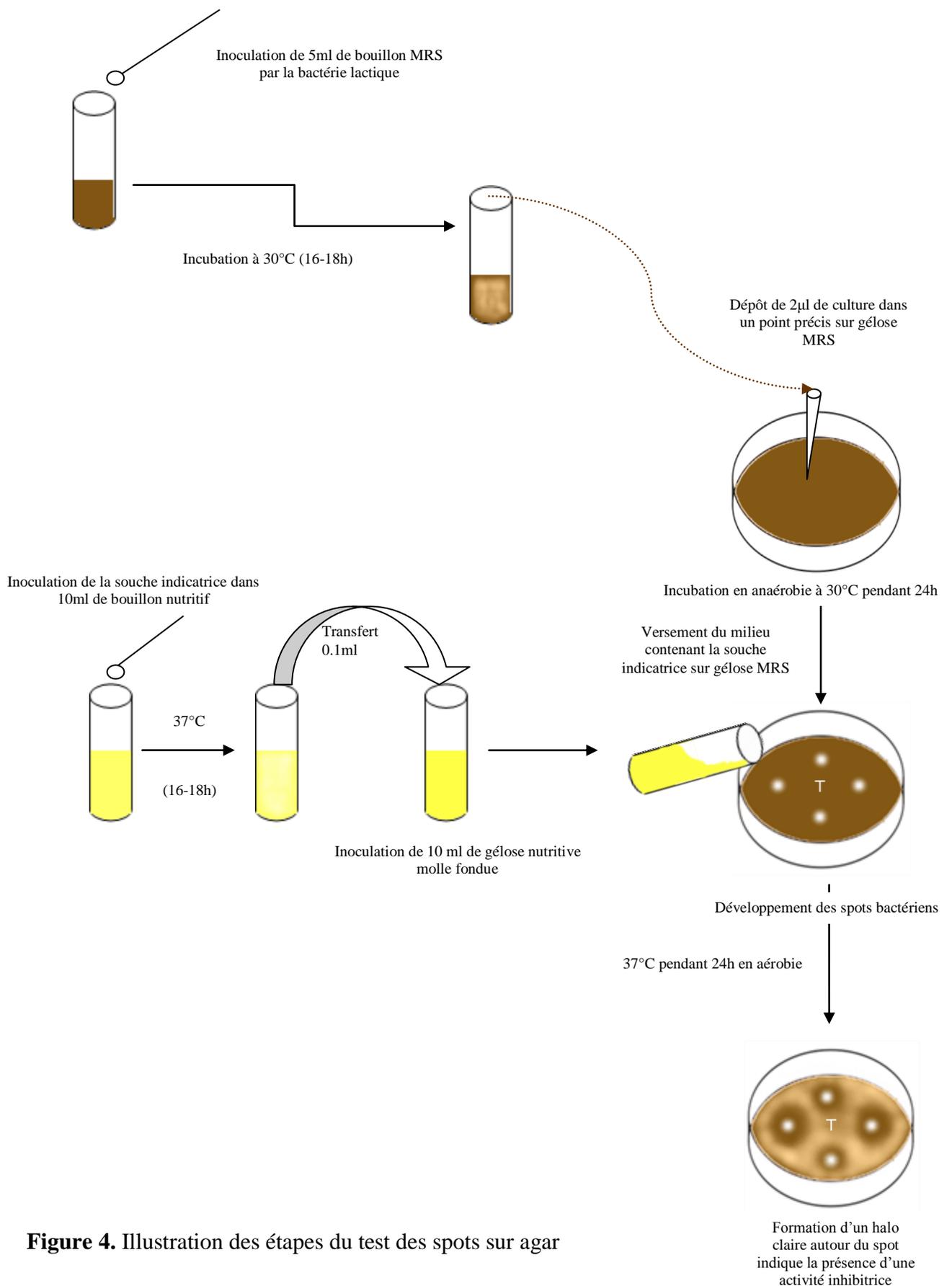


Figure 4. Illustration des étapes du test des spots sur agar

2.3.2. Etude de la survie des souches lactiques dans les conditions extrêmes du tube digestif

2.3.2.1. Tolérance à l'acidité

La résistance des bactéries aux pH acides a été déterminée selon la méthode décrite par Bakari *et al.* (2011) avec quelques modifications. Elle consiste à:

- Réactiver les souches bactériennes sur un volume de 10 ml de bouillon MRS stérile à 37°C pendant (16 à 18h);
- centrifuger les cultures bactériennes à une vitesse de 3000 g pendant 15min puis laver deux fois avec le tampon PBS (0.1M phosphate buffer, 0.8% NaCl, pH 7.2) (Yateem *et al.*, 2008) (annexe 3);
- transférer 100µl de culture à des tubes contenant 10 ml de bouillon MRS ajusté à pH: (2, 3 et 6.2) par HCl (25%).

La survie ou la croissance des bactéries dans les pH: 2 et 3 a été suivie en mesurant l'absorbance à 600nm dès l'inoculation 0h, après 3h et après 24h d'incubation à 37°C en comparant au pH optimum (6.2). Des bouillons MRS ajustés à pH: (2, 3 et 6.2) non inoculés servent comme des blancs.

2.3.2.2. Tolérance aux sels biliaires

La tolérance des bactéries aux sels biliaires a été déterminée en suivant les étapes:

- Les souches sont d'abord réactivées dans des tubes contenant 10ml de bouillon MRS stérile;
- 100µl de chaque culture bactérienne à la phase logarithmique (16-18h) ont été transférés dans des tubes contenant 10 ml de bouillon MRS additionné avec 0.3% (m/v) de sels biliaires et d'autres contenants 10ml de bouillon MRS utilisés comme contrôle.

La survie des bactéries est suivie dès l'ensemencement 0h, après 4h et 24h d'incubation à 37°C, en mesurant l'absorbance à 600nm. Des bouillons MRS et MRS (0.3%) non inoculés servent comme des blancs (Bakari *et al.*, 2011; Sukumar et Ghosh, 2010).

Traitement statistique des résultats

Les résultats obtenus des tests réalisés sont exprimés en moyennes \pm sd de trois répétitions et traités par l'analyse de variance (Anova). Le seuil de signification de 0.05 est retenu.

Résultats et discussion

1. Analyse physicochimique du lait de chamelle

1.1. Collecte du lait

La collecte du lait camelin a été faite au printemps (Mai) et à partir d'une zone steppique (M'sila). On a choisi la saison ainsi que la région, représentant des conditions moins sévères pour le dromadaire, afin de déterminer la composition physicochimique du lait de chamelle et de la comparer avec celle du lait bovin.

Des chammes saines ont été prélevées car certains paramètres physicochimiques du lait peuvent varier en cas de mammites.

1.2. Composition chimique

La composition chimique des échantillons du lait cru analysés est résumée dans le tableau ci-dessous.

Tableau 5. Composition chimique moyenne des trois échantillons du lait de chamelle cru analysés au mois de Mai et collectés à partir de M'sila.

Composition (%)	A	B	C
Matière grasse	5.36±0.02 ^a	3.43±0.28 ^b	5.09±0.08 ^a
Protéines	3.92±0.01 ^a	3.71±0.08 ^b	3.44±0.02 ^c
Lactose	5.69±0.01 ^a	5.46±0.11 ^b	4.99±0.03 ^c
S.N.F	10.55±0.02 ^a	10.08±0.21 ^b	9.27±0.06 ^c
Minéraux	0.28±0.01 ^a	0.29±0.06 ^a	0.32±0.07 ^a

S.N.F: extrait sec dégraissé, A, B, C: les échantillons du lait

Les valeurs représentent la moyenne de trois essais ± sd (%). ^{a, b, c}: Les moyennes avec des lettres différentes dans le même rang sont significativement différentes ($p < 0.05$) (Anova).

2.2.1. Teneur en matière grasse

Le pourcentage de la matière grasse obtenu est de 4.62%. Cette valeur appartient à la gamme variant de 2.90 à 5.40% citée dans la littérature (Farah et *al.*, 2004).

Elle est supérieure à celle du lait bovin (3.6%) et à d'autres laits de dromadaire en Algérie (2.8% selon Siboukeur, 2008) ou dans d'autres pays comme la Mauritanie (2.92% selon Meiloud et *al.*, 2011), la Tunisie (3.5% selon Kamoun, 1995; 3.75% selon Sboui et *al.*, 2009) et le Pakistan (2.63% selon Khaskheli et *al.*, 2005; 3.57% selon Iqbal et *al.*, 2001).

La haute teneur en matière grasse est expliquée par le régime hydraté des dromadaires (Iqbal et *al.*, 2001). Ainsi, dans une expérience faite par Yagil et *al.* (1994) sur des chammelles allaitantes qui ont été privées en eau pendant des semaines, il a été constaté que le lait devient plus dilué et sa contenance en matière grasse diminue.

La concentration de la matière grasse diffère significativement ($p < 0.001$) entre les trois échantillons de lait, ceci peut être associé à d'autres facteurs comme la race de l'animal et le rang de lactation (Kamal et *al.*, 2007; Mal et Pathak, 2010).

2.2.2. Teneur en protéines

D'après les résultats consignés dans le tableau (5), le lait de chamelle contient une teneur moyenne en protéines totales égale à 3.69%.

Elle est supérieure à celle du lait bovin (3.24%) (Park et Haenlein, 2006), proche de la valeur trouvée par Siboukeur (2008): 3.56%, mais supérieure aux résultats rapportés par Meiloud et *al.* (2011): 2.5%; Khaskheli et *al.* (2005): 2.54 %; Kamoun (1995): 2.76%; Iqbal et *al.* (2001): 2.85% et Sboui et *al.* (2009): 3.41%.

Bien que de nombreux facteurs affectent le contenu protéique du lait de chamelle comme le stade de lactation et le type de fourrage brouté, il apparaît que l'état d'hydratation de l'animal a un effet direct sur les résultats obtenus. Ainsi, un faible pourcentage de protéines a été décelé dans le lait des chammelles déshydratées (Kamal et *al.*, 2007; Yagil, 1982).

2.2.3. Teneur en lactose

Selon les résultats obtenus, il apparaît que le lait de chamelle est plus riche en lactose que celui bovin (4.65%) (Park et Haenlein, 2006). Sa teneur moyenne dans les échantillons du lait analysés est de 5.38%. Elle est supérieure aux valeurs citées par plusieurs auteurs; Khaskheli et *al.* (2005): 3.65%; Siboukeur (2008): 4.38%; Sboui et *al.* (2009): 4.27% et Meiloud et *al.* (2011): 4.91%.

Yagil (1982) a constaté que le stade de lactation n'a pas un effet sur la concentration du lactose dans le lait camelin qui reste stable à partir du premier mois et jusqu'à la fin de la lactation. La haute teneur en lactose obtenue peut être associée donc à l'état d'hydratation de l'animal (Yagil, 1982).

2.2.4. Extrait sec dégraissé

Dans le lait camelin analysé, l'extrait sec dégraissé varie de 9.27-10.55% avec une valeur moyenne de 9.97%, supérieure à celle du lait bovin (8.65%) (Park et Haenlein, 2006), et aux valeurs rapportées par Khaskheli et *al.* (2005) et par Iqbal et *al.* (2001) (7.12% et 9% respectivement) à partir du lait de chamelle. Par comparaison des trois échantillons du lait analysés, il s'avère que le S.N.F augmente avec l'élévation de contenu du lait en protéines, en lactose et en minéraux.

2.2.5. Les minéraux

Le taux des minéraux du lait de toutes les chammelles est faible ($p>0.05$). Il varie de (0.28% - 0.32%) avec une valeur moyenne égale à 0.3%. Cette dernière est plus faible que celle du lait bovin (0.76%) mais proche de celle du lait humain (0.27%) (Park et Haenlein, 2006). En la comparant avec les valeurs rapportées par plusieurs auteurs (0.72% selon Siboukeur, 2008; 1.3% selon Meiloud et *al.*; 2011; 0.75% selon Sboui et *al.*, 2009 et 0.94% selon Khaskheli et *al.* 2005), il semble qu'elle reste très faible.

Selon Yagil (1982), le contenu minéral diminue avec la privation en eau. Toutefois, la saison du prélèvement et la disponibilité d'eau sur les lieux de l'élevage ne s'accordent pas avec les résultats obtenus. D'autres facteurs peuvent être associés comme le type de fourrage consommé (Park et Haenlein, 2006).

2.3. Paramètres physiques

Les paramètres physiques des trois échantillons du lait de chamelle sont représentés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 6. Paramètres physiques des trois échantillons du lait de chamelle analysés au mois de Mai et collectés à partir de M'sila.

Paramètres physiques	A	B	C
pH à 20°C	6.57±0.005 ^a	6.56±0.01 ^a	6.42±00 ^b
C. (mS.cm ⁻¹) à 30± 3°C	11.05±0.35 ^a	11.47±2.54 ^a	12.61±2.60 ^a
fpp (°C)	- 0.67 ±0.001 ^a	- 0.62±0.01 ^b	-0.59±0.004 ^c

fpp: le point de congélation, C.: la conductivité électrique, mS.cm⁻¹ (milliSiemens par centimètre)

A, B, C: les échantillons du lait. Les valeurs représentent la moyenne de trois essais ± sd.

^{a, b, c} : Les moyennes avec des lettres différentes dans le même rang sont significativement différentes ($p<0.05$) (Anova).

2.3.1. pH

Les valeurs de pH mesurées pour les échantillons du lait de dromadaire se situent entre 6.42 et 6.57 avec une moyenne égale à 6.51. Elle est inférieure à celle du lait de vache (6.68) (Park et Haenlein, 2006), ainsi que celle rapportée par Khaskheli et *al.* (2005) (6.77). La même valeur a été obtenue par Kamoun (1995). Siboukeur (2008) et Sboui et *al.* (2009) ont rapporté des valeurs inférieures (6.31 et 6.41 respectivement).

L'acidité du lait de chamelle est due à la haute teneur en acide ascorbique (vit C) qui participe à la conservation du lait pendant de longues périodes (Mal et Pathak, 2010). Il est remarquable que le pH de l'échantillon C soit plus bas que celui des autres échantillons. Ceci peut être associé à d'autres facteurs tels que les concentrations en acides gras volatiles (Siboukeur, 2008).

2.3.2. Conductivité électrique

La conductivité électrique est la propriété d'un corps ou d'une substance à transmettre le courant électrique. Elle dépend du nombre des ions ou de particules chargées présents dans le lait (principalement les ions Na^+ , K^+ et Cl^-) (Jacquinet, 2009; Julien, 1985). La présence de l'acide lactique produit par fermentation peut aussi l'augmenter (Fox et Mc Sweeney, 1998).

La mesure de la conductivité électrique du lait est utile dans le dépistage des mammites; elle augmente lorsque le pis est infecté, et qui est due à une élévation des ions Na^+ et Cl^- (Julien, 1985).

Elle est de 11.71 mS.cm^{-1} en moyenne dans les échantillons du lait de chamelle analysés qui est hautement supérieure à celle du lait bovin variant de (4 à 5.5 mS.cm^{-1}) chez une vache saine (Jacquinet, 2009), et même à celle du lait de chamelle (4.6 mS.cm^{-1}) (Park et Haenlein, 2006). Cette élévation ne peut pas être associée à la concentration de l'acide lactique, car les microorganismes présents dans le lait sont inhibés par la température basse (4°C) de transport des échantillons, ni à une infection du pis (mammité) à cause de la faible teneur en minéraux et élevée en lactose, et du pH acide du lait (Robinson, 2002; Jacquinet, 2009; Fox et Mc Sweeney, 1998). D'autres facteurs comme la race de l'animal, l'alimentation et le stade de lactation peuvent être à l'origine de cette élévation (Jacquinet, 2009).

2.3.3. Point de congélation

Le point de congélation est l'une des constantes les plus stables du lait qui résulte du fait que la pression osmotique est maintenue en équilibre avec celle du sang. Il est mesuré pour indiquer le mouillage dans le lait (Julien, 1985).

Les résultats obtenus (tableau 6) montrent que le fpp des échantillons du lait analysés fluctue entre -0.59 et -0.67°C avec une valeur moyenne de -0.63°C .

D'après la littérature, le point de congélation du lait de chamelle est inférieur à celui du lait bovin (-0.54°C) et ceci concorde avec le résultat obtenu (Park et Haenlein, 2006; Julien, 1985).

Park et Haenlein (2006) ont mentionné que la haute teneur en sels minéraux ou en lactose pouvant contribuer à la diminution du fpp. Dans le cas de notre étude, elle est associée au taux élevé du lactose puisque la teneur en sels minéraux est très faible.

La composition physicochimique moyenne des échantillons du lait analysés est représentée dans la figure ci-dessous.

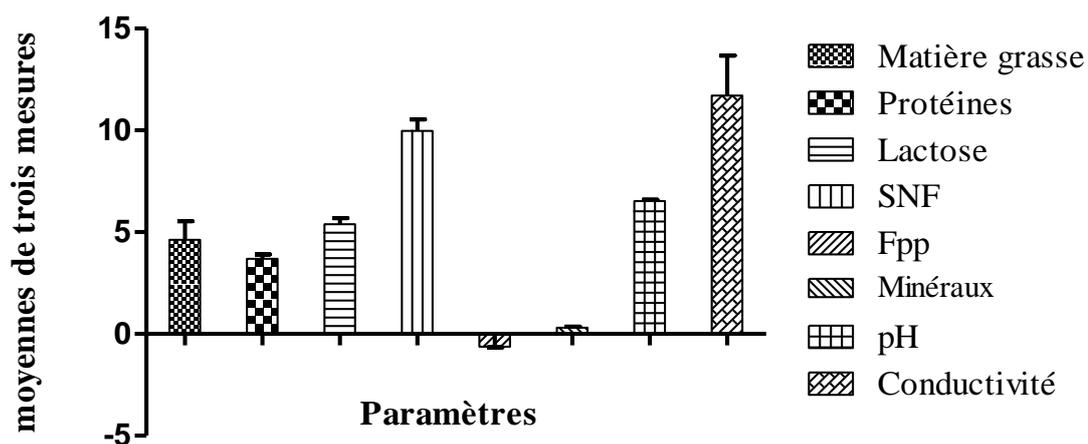


Figure 5. Composition physicochimique moyenne du lait de chamelle cru de M'sila.

2. Isolement et identification des bactéries lactiques

2.1. Isolement et purification

Afin d'isoler les LAB à partir du lait de chamelle, le milieu MRS a été utilisé pour favoriser la croissance de *Lactobacillus*, *Pediococcus* et *Leuconostoc* et le milieu M17 pour permettre la croissance de *Lactococcus*, *Enterococcus* et *Streptococcus* (Dworkin et al., 2006).

L'ensemencement direct du lait cru dans les milieux de culture n'a pas abouti à l'isolement des bactéries lactiques dans la plupart des échantillons de lait analysés. Ceci peut être expliqué par ses propriétés de résistance particulièrement élevées à la multiplication bactérienne dans les premières heures de son existence (Kamoun, 1995).

Une étape d'enrichissement par fermentation spontanée est donc essentielle pour favoriser la croissance des bactéries lactiques (Liu et al., 2011). Zadi Karam et Karam (2006) ont aussi réalisé cette étape lors de l'isolement des LAB à partir du lait de chamelle.

Après ensemencement du lait cru ou fermenté et de leurs dilutions dans les milieux spécifiques d'isolement, les boîtes sont incubées aux températures 30°C et 37°C, optimales pour la croissance des genres de LAB, et en anaérobiose pour minimiser la formation de H₂O₂ qui n'est pas éliminé efficacement par ces bactéries car elles ne synthétisent pas la catalase. Cinquante colonies bactériennes sont isolées et purifiées dont deux sont catalase positive. Les quarante-huit colonies restantes sont conservées et retenues pour les autres tests d'identification. La figure (6) représente des colonies de bactéries lactiques obtenues après ensemencement direct du lait cru sur les milieux spécifiques utilisés pour leur isolement.

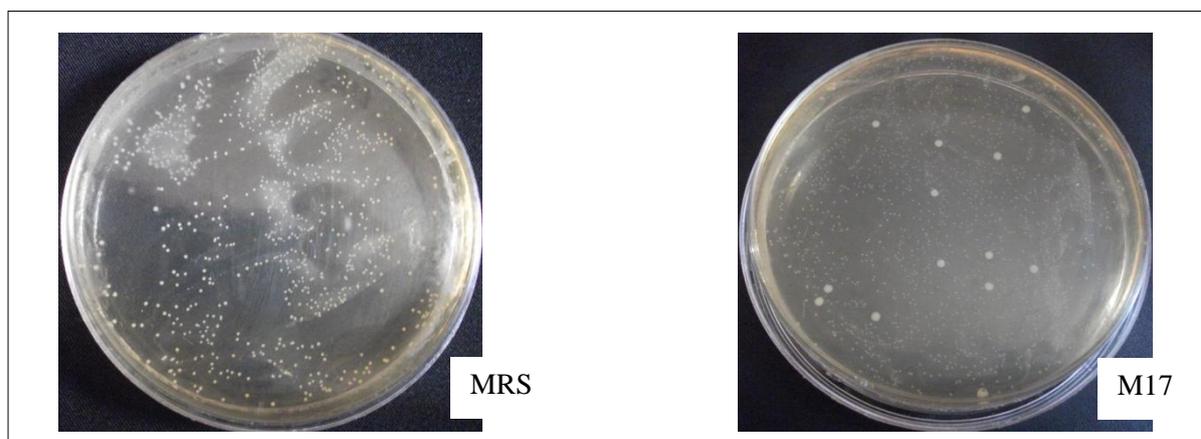


Figure 6. Ensemencement directe du lait de chamelle cru collecté de M'sila dans les milieux spécifiques d'isolement des LAB.

2.2. Identification phénotypique des isolats

2.2.1. Caractères culturels

Les colonies développées sur le milieu de culture utilisé pour leur isolement sont observées avec la loupe binoculaire. La forme, la taille et la couleur des colonies sont illustrées dans les tableaux (7, 8, 9, 10). Il est à noter que la pigmentation n'est pas remarquée chez aucune colonie.

2.2.2. Examen microscopique

Après la coloration de Gram, tous les isolats sont examinés sous microscope optique. La forme, le type de Gram ainsi que l'arrangement cellulaire ont été décrits.

Les bactéries apparaissent homogènes, ce qui indique leur pureté, à Gram positif avec les formes suivantes: (coccoïde, ovoïde et bacillaire). (Fig. 8)

Les cocci prédominent avec un pourcentage de 83.33%. Tandis que, les bâtonnets ne constituent que 16.66% de la totalité des isolats.

L'examen de la morphologie des isolats séparent les genres: *Lactobacillus*, *Carnobacterium* et certaines espèces de *Weissella* ayant une forme bacillaire des autres genres. Tous les cocci ont divisé dans une seule direction ce qui indique l'absence des genres: *Pediococcus*, *Aerococcus* et *Tetragenococcus* qui forment les tétrades après division des cellules dans deux directions perpendiculaires.

2.2.3. Caractéristiques biochimiques et physiologiques des isolats

Toutes les bactéries dénuées de la catalase ont été soumises à une série de tests physiologiques et biochimiques.

Le caractère fermentaire a été déterminé sur bouillon MRS sans citrate pour que le CO₂ produit lors de la fermentation de glucose provienne de la voie hétérofermentaire (6-phosphogluconate/phosphocétolase) et non du citrate qui peut être métabolisé par de nombreux genres de LAB (Mozzi et al., 2010; Salminen et al., 2004). (Fig. 7)

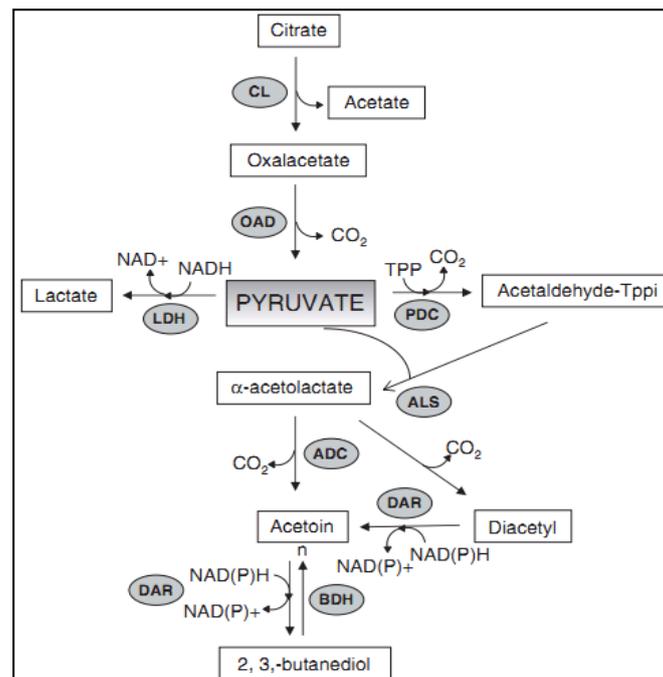


Figure 7. Métabolisme du citrate chez les espèces de *Lactococcus* et *Leuconostoc* (Mozzi et al., 2010).

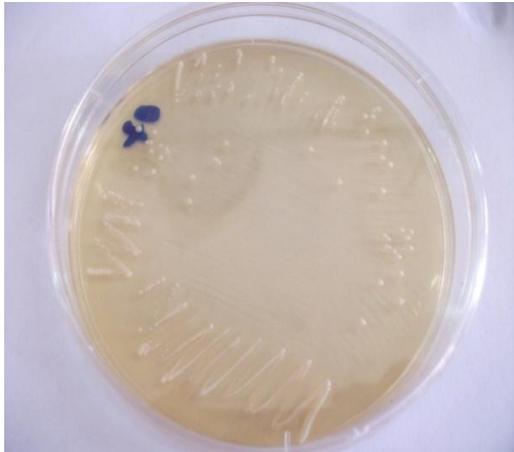
Les enzymes clés : CL : Citrate lyase; OAD: Oxalo-acétate décarboxylase; LDH: Lactate déshydrogénase; PDC: Pyruvate décarboxylase; ALS: α-acétolactate synthase; ADC: α-acétolactate décarboxylase; DAR: Diacétyl acétoïn réductase; BDH: 2,3- butanediol déshydrogénase; Tppi: Thiamine pyrophosphate.

Les résultats du test montrent que tous les bâtonnets sont des homofermentaires. Sur quarante cocci, quinze isolats ont produit le CO₂ à partir de glucose; ils représentent les cocci hétérofermentaires: *Leuconostoc*, *Oenococcus* et *Weissella*. Les vingt-cinq isolats qui n'ont pas produit le CO₂ sont des homofermentaires; ils peuvent être associés aux genres: *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Enterococcus* et *Vagococcus*.

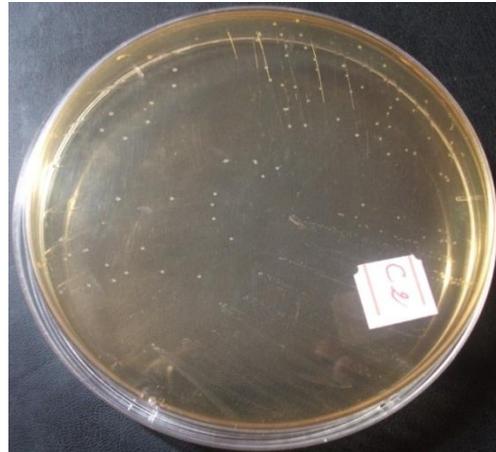
La croissance à certaines températures, à différentes valeurs de pH et d'NaCl permet la distinction entre les cocci homofermentaires.

A coté de ces tests, d'autres ont été réalisés (ADH, croissance à 0.1% de bleu de méthylène, thermorésistance, résistance à l'éthanol et la production de dextrans) afin d'identifier les isolats jusqu'au stade espèce. Toutefois, les tests appliqués dans cette étude restent insuffisants (Salminen et al., 2004).

La figure (9) illustre quelques tests utilisés dans l'identification des bactéries lactiques.



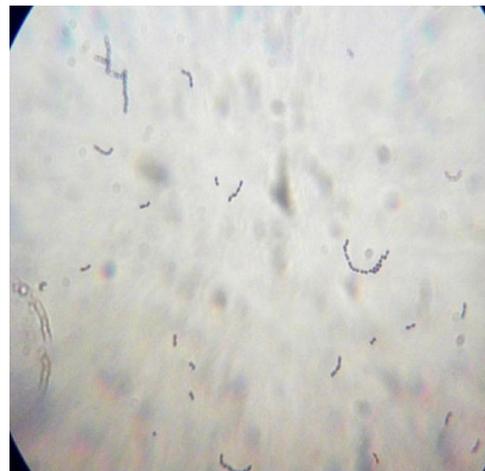
Aspect des colonies d'un isolat pur cultivé sur MRS



Aspect des colonies d'un isolat pur cultivé sur M17



Frottis bactérien montre des bacilles à G + arrangés en chainettes (x100)



Frottis bactérien montre des cocci à G+ arrangés en diplococci et en courtes chaines (x100)

Figure 8. Caractères cultureux et microscopiques de certaines souches isolées à partir du lait camelin.

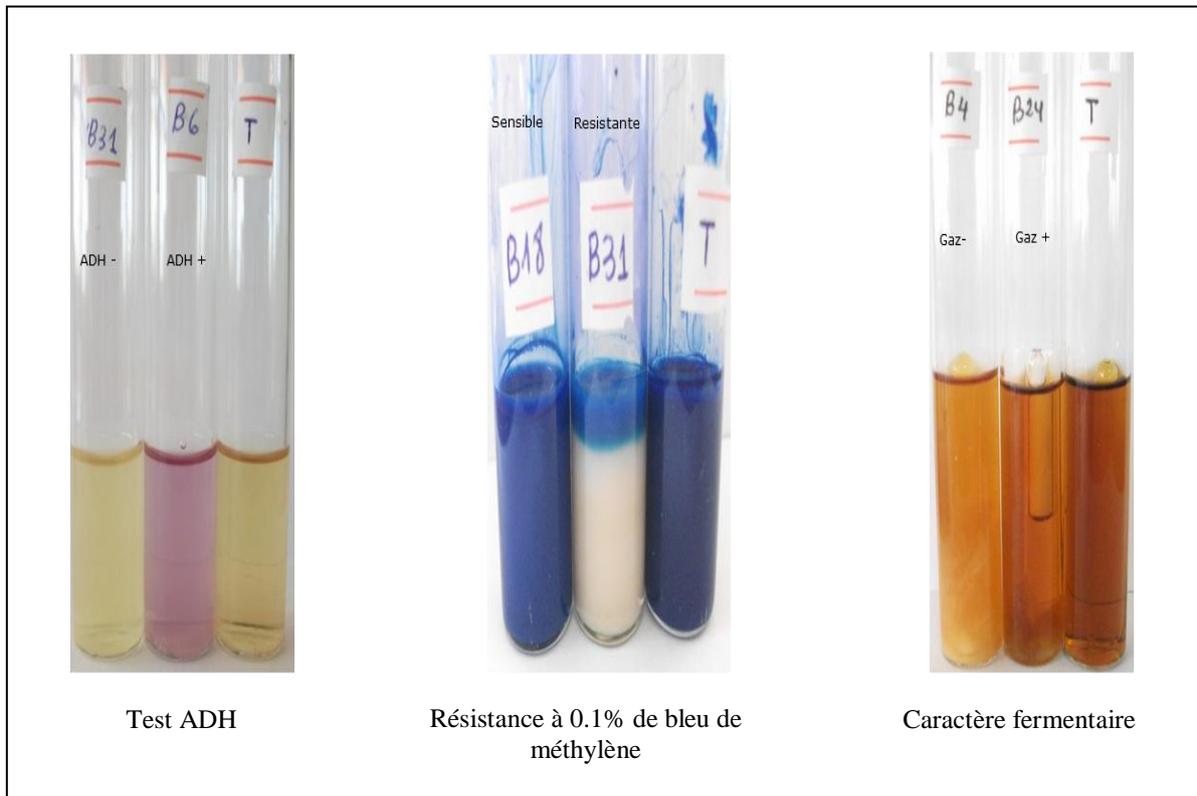


Figure 9. Quelques tests utilisés dans l'identification des bactéries lactiques.

Les 48 isolats caractérisés ont été rattachés à quatre genres différents: *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Lactobacillus* et *Enterococcus*.

2.2.3.1. Caractéristiques des isolats rattachés au genre *Lactococcus*

Sur la totalité des isolats, vingt-quatre sont réunis par les caractéristiques suivantes: ils sont des cocci ou ovoïdes, arrangés en paires, en courtes ou en longues chaînes, homofermentaires qui ont résisté à une concentration de 4 % d'NaCl mais non à 6.5 %. Une croissance a été obtenue à 10 °C, mais non à 45°C. Ils n'ont pas pu se développer dans un milieu dont le pH égal à 4.5 (à l'exception d'une seule souche), comme ils n'ont pas résisté à un pH de 9.6; néanmoins tous les isolats ont crû à pH: 9.2 et en présence d'une concentration de 0.1 % de bleu de méthylène. Aucune souche n'était thermorésistante.

Le test d'ADH a divisé ces bactéries en deux groupes, quatorze isolats sont ADH + mais les dix restants sont dépourvus de l'arginine dihydrolase.

Le tableau (7) résume les propriétés phénotypiques des isolats identifiés comme *Lactococcus*.

Le genre *Lactococcus* est différencié des autres cocci homofermentaires par leur croissance à 10°C mais non à 45°C et par leur intolérance à 6.5% d'NaCl et à pH: 9.6 (Salminen et al., 2004). Toutefois, il ne peut être distingué de *Vagococcus* que par la composition des acides gras.

Les isolats caractérisés ont été rattachés au *Lactococcus* car ce genre est intimement associé au lait et aux produits laitiers et d'après les auteurs: Khedid et al. (2009); Hassaïne et al. (2008); Kacem et Karam (2006); Zadi Karam et Karam (2006); Rihab et al. (2008) et Ashmaig et al. (2009), le genre *Vagococcus* n'est pas isolé à partir du lait de chamelle cru ou fermenté.

En raison de leur importance économique, la physiologie, la biochimie, la génétique et la biologie moléculaire des espèces de *Lactococcus* font l'objet de nombreuses études. Elles sont largement utilisées dans les fermentations industrielles, surtout dans les produits laitiers (production de plusieurs types de fromages, laits fermentés, beurre...), grâce à leurs propriétés métaboliques qui améliorent les qualités organoleptique, nutritionnelle et hygiénique des produits (Dworkin et al., 2006; Samaržija et al., 2001).

Bien que les tests utilisés sont insuffisants pour identifier leurs espèces, il est très évident que l'espèce *Lc. lactis* subsp. *cremoris* est absente chez le lait de chamelle; car tous les lactococci

ont développé à 4% d'NaCl, à pH: 9.2 et ont résisté au bleu de méthylène (Dworkin et *al.*, 2006). Ce résultat est en parfait accord avec celui obtenu par Hassaïn et *al.* (2008). Toutefois, cette espèce a été isolée à partir du lait de chamelle cru par Khedid et *al.* (2009) ou fermenté par Zadi Karam et Karam (2006) mais avec une faible fréquence (1.7% et 4.9% respectivement).

2.2.3.2. Caractéristiques des isolats rattachés au genre *Leuconostoc*

Quinze isolats ont représenté les caractéristiques suivantes:

Ils sont des cocci, ovoïdes, en paires, en courtes ou en longues chaînes, hétérofermentaires, dépourvus de l'arginine dihydrolase (ADH -). Ils ont crû à 4% d'NaCl, certains ont développé même à 6.5%. La plupart ont pu croître à 10°C, mais aucun isolat n'a pas résisté à une température de 45°C.

Tous les isolats ont toléré aux pH acides (4.5 et 4.8), mais non à pH: 9.6. Ils n'ont pas produit les dextrans, ni résisté à 10% d'éthanol et aucune croissance n'est remarquée après un chauffage à 60°C pendant 30min.

Le tableau (8) résume les caractéristiques phénotypiques des isolats appartenant au genre *Leuconostoc*.

Leuconostoc est aisément distinguable des autres cocci par leur caractère hétérofermentaire. Toutefois, il le partage avec les genres *Weissella* et *Oenococcus*.

Malgré l'acidotolérance de toutes les souches isolées qui est l'une des caractéristiques d'*Oenococcus*; l'intolérance à l'éthanol ainsi que l'habitat séparent le genre *Leuconostoc* de celui *Oenococcus* adapté aux conditions du vin (Dworkin et *al.*, 2006).

La tolérance à l'acidité des leuconostocs peut être liée à leur adaptation à l'acidité du lait camelin qui le caractérise.

Les tests phénotypiques utilisés ne peuvent pas distinguer *Leuconostoc* de *Weissella*. Par ailleurs, il s'avère que les leuconostocs sont fréquemment associés au lait et aux produits laitiers que *Weissella* (Dworkin et *al.*, 2006). D'après les résultats rapportés par plusieurs auteurs sur le lait de chamelle cru (Khedid et *al.*, 2009; Hassaïne et *al.*, 2008) ou fermenté (Kacem et Karam, 2006; Zadi Karam et Karam, 2006; Rihab et *al.*, 2008; Ashmaig et *al.*, 2009), aucune souche isolée n'est associée à *Weissella*.

Tableau 7. Caractéristiques morphologiques, biochimiques et physiologiques des isolats appartenant au genre *Lactococcus*.

Nombre d'isolats	Caractéristiques morphologiques			Caractéristiques biochimiques et physiologiques											
	Aspect des colonies	M. micros.	Gram	Cat.	T. F.	ADH	4%	6.5%	10°C	45°C	4.5	9.2	9.6	Bet	Ter.
14	petites, arrondies, blanchâtres	cocci, ovoïdes, en paires, courtes ou en longues chaînes	+	-	homo	+	+	-	+	-	-	+	-	+	-
10		diplocoques, courtes chaînes de cocci	+	-	homo	-	+	-	+	-	V	+	-	+	-

M. micros: Morphologie microscopique, Cat.: Test de catalase, T.F.: Type fermentaire, Bet: Résistance au bleu de méthylène, Ter: Résistance à une température de 60°C pendant 30 min, V: Variable

Grâce à leurs propriétés métaboliques, les espèces de *Leuconostoc* sont largement employées dans l'industrie laitière comme levains.

En plus de l'acide lactique produit lors de la fermentation, elles produisent le CO₂ qui contribue à la formation des yeux dans les fromages et inhibe certaines moisissures contaminantes (Arizcun *et al.*, 1997).

Quelques espèces de *Leuconostoc* éliminent certains défauts de goût par la production de substances aromatiques (diacétyl et acétoïne à partir du citrate) (Devoyod et Poullain, 1988).

Devoyod et Poullain (1988) ont mentionné que certaines espèces de *Leuconostoc* utilisent le citrate très rapidement mais elles ne produisent le diacétyl et l'acétoïne que lorsque le milieu devient acide. Après confirmation de leur production de substances aromatiques, les souches isolées des échantillons du lait de chamelle peuvent être utilisées comme des agents aromatiques dans les fermentations, car elles résistent aux pH acides.

Il est à noter que toutes les souches soient incapables de produire les dextrans jouant un rôle dans la texture des produits laitiers et ceci ne s'accorde pas avec les résultats de Khedid *et al.* (2009) et Zadi Karam et Karam (2006).

2.2.3.3. Caractéristiques des isolats rattachés au genre *Lactobacillus*

Huit isolats ont été associés à ce genre qui est aisément distingué des autres par sa morphologie caractéristique en bâtonnet. Ils sont longs ou courts, isolés, en paires ou en longues chaînes, homofermentaires, ADH (-), croissent tous à 4% d'NaCl et certains à 6.5%. Toutes les souches peuvent se développer à 10°C, certaines à 45°C. Elles sont toutes des acidophiles (croissance à pH: 4.5) mais ne peuvent pas croître à pH: 9.6. Certains isolats survivent après un chauffage de 60°C pendant 30min. D'après les résultats obtenus, les isolats de *Lactobacillus* sont subdivisés en trois groupes:

- **groupe 1**: il comprend cinq isolats qui croissent à 45°C et non à 6.5%.
- **groupe 2**: il rassemble deux isolats qui croissent à 6.5% et non à 45°C.
- **groupe 3**: il est représenté par un seul isolat qui croit à 45°C et à 6.5%.

Les caractéristiques phénotypiques des souches appartenant au genre *Lactobacillus* sont résumées dans le tableau (9).

Tableau 8. Caractéristiques morphologiques, biochimiques et physiologiques des isolats appartenant au genre *Leuconostoc*.

Nombre d'isolats	Caractéristiques morphologiques			Caractéristiques biochimiques et physiologiques												
	Aspect des colonies	M. micros.	Gram	Cat.	T. F.	ADH	4%	6.5%	10°C	45°C	4.5	4.8	9.6	Ter.	Dex.	Eth.
02	très petites, rondes, blanches	cocci, ovoïdes, en paires, en courtes chaînes	+	-	hétéro	-	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-
13	très petites, rondes, blanches ou grisâtres	diplocoques, longues chaînes de cocci	+	-	hétéro	-	+	-	v	-	+	+	-	-	-	-

M. micros. : Morphologie microscopique, Cat. : Test de catalase, T.F. : Type fermentaire, Ter : Résistance à une température de 60°C pendant 30 min, Dex: Production de dextrans, Eth : Résistance à 10% d'éthanol.

Trois genres associés aux aliments ont en commun une morphologie caractéristique en bâtonnet; il s'agit de: *Lactobacillus*, *Carnobacterium* et certaines espèces de *Weissella*.

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

Les lactobacilli sont naturellement présents dans le lait et les produits fermentés. Ils sont couramment utilisés dans l'industrie alimentaire, notamment dans les fermentations laitières et végétales, grâce à leurs propriétés acidifiantes, aromatisantes et texturantes (Liu et al., 2011).

L'acidophilie des souches isolées traduit leur capacité de développement à des pH bas dans les milieux qu'elles acidifient par la production d'acide lactique; ce qui accroît la durée de vie du produit en limitant sa contamination par les microorganismes d'altération ou pathogènes, et il lui confère des caractéristiques organoleptiques particulières (Montel et al., 2005).

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

Une absence des lactobacilli hétérofermentaires stricts du lait examiné est notée. Elle peut être expliquée par le moindre contenu du lait de dromadaire en thiamine essentielle pour leur croissance (De Vos et al., 2009; Park et Haenlein, 2006; Yagil, 1982).

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

Khedid et al. (2009) n'ont isolé qu'une seule espèce (*Lactobacillus brevis*) productrice de CO₂ avec une faible fréquence (3%) à partir de celui du Maroc.

Les lactobacilli thermophiles sont également absents du lait de chamelle. Hassaïne et al. (2008) et Zadi Karam et Karam (2006) ont trouvé le même résultat. Cependant, Khedid et al. (2009) ont isolé plusieurs espèces avec un grand nombre.

Tableau 9. Caractéristiques morphologiques, biochimiques et physiologiques des isolats appartenant au genre *Lactobacillus*.

Nombre d'isolats	Caractéristiques morphologiques			Caractéristiques biochimiques et physiologiques									
	Aspect des colonies	M. micros.	Gram	Cat.	T. F.	ADH	4%	6.5%	10°C	45°C	4.5	9.6	Ter.
05	petites, rondes, blanches	longues chainettes de bacilles longs	+	-	homo	-	+	-	+	+	+	-	V
02		bâtonnets courts, isolés ou en paires	+	-	homo	-	+	+	+	-	+	-	V
01		longues chainettes de bacilles longs	+	-	homo	-	+	+	+	+	+	-	-

M. micros: Morphologie microscopique, Cat.: Test de catalase, T.F.: Type fermentaire, Ter.: Résistance à une température de 60°C pendant 30 min, V: Variable

2.2.3.4. Caractéristiques de l'isolat rattaché au genre *Enterococcus*

Une seule souche diplocoque et en courtes chaînes, homofermentaire, capable de croître à 4% d'NaCl mais non à 6.5%; thermosensible, ADH+ et résiste à 0.1% de bleu de méthylène. Elle peut se développer à 10°C et à 45°C, mais n'a pas toléré le pH acide (4.5) néanmoins, une légère croissance a été obtenue au pH alcalin (9.6).

Les caractéristiques phénotypiques de la souche *Enterococcus* sp. sont résumées dans le tableau (10).

Les espèces typiques d'*Enterococcus* sont séparées des cocci homofermentaires par leur résistance à 6.5% d'NaCl, à pH: 9.6 et par leur croissance à 10°C et à 45°C (Salminen et al., 2004).

Certaines espèces n'ont pas une ou plus de ces caractéristiques et sont classées parmi les enterococci (De Vos et al., 2009). Pour cela, cette souche a été rattachée à ce genre malgré leur intolérance à 6.5% d'NaCl.

Les enterococci peuvent contaminer le lait, soit directement à partir des fèces des animaux, soit indirectement à partir d'une source d'eau contaminée ou des équipements de traite mal nettoyés. Certaines espèces (principalement *Enterococcus faecium* et *E. faecalis*) sont considérées comme étant des pathogènes opportunistes par la présence des gènes de virulence et de résistance aux antibiotiques. Par ailleurs, quelques enterococci d'origine laitière montrent une sensibilité élevée aux antibiotiques et ont eu une longue histoire d'utilisation sécuritaire (Giménez-Pereira, 2005; Gelsomino et al., 2003).

Les enterococci ont également une importance technologique dans la production des aliments fermentés comme les fromages et les saucisses, certaines souches sont utilisées avec succès comme probiotiques. De plus, plusieurs espèces isolées à partir de l'environnement ou des aliments sont capables de produire des bactériocines (entérocinés) efficaces contre certaines bactéries pathogènes comme *Listeria monocytogenes* (Salminen et al., 2004).

2.2.4. Caractérisation quantitative des genres identifiés

Sur l'effectif total des isolats, le genre *Lactococcus* représente la moitié (50%), suivi par *Leuconostoc* (31.25%), *Lactobacillus* (16.66%) et *Enterococcus* (2.08%).

Comme le lait bovin, celui de la chamelle contient de faibles quantités de peptides et d'acides aminés libres essentiels pour la croissance des bactéries lactiques (Park et Haenlein, 2006; Chandan et al., 2008).

En réponse à cette limitation, les LAB ont développé un système protéolytique complexe constitué de protéinases associées à l'enveloppe cellulaire, plusieurs peptidases extracellulaires et cytoplasmiques, et des systèmes de transport spécifiques de peptides et des acides aminés. Cette fonction métabolique qui caractérise surtout *Lactococcus*, lui permettant de se multiplier activement dans le lait ce qui explique sa prédominance (Moulay et al., 2006; Mozzi et al., 2010; De Vos et al., 2009; Samaržija et al., 2001). La fréquence d'isolement de *Lactococcus* reste plus élevée par rapport à celles obtenues par les auteurs Zadi Karam et Karam (2006): (34.6%), Hassaïne et al. (2008): (21.73%) et Khedid et al. (2009): (25.8%) qui l'ont isolé à partir du lait de chamelle.

Par comparaison à celui de la vache, le lait de chamelle se caractérise par un retard d'acidification. Kamoun (1995) l'a associé aux facteurs antibactériens empêchant la multiplication des LAB. Il semble que le pourcentage élevé de *Leuconostoc* (31.25%), genre qui n'acidifie pas le lait, ainsi que la présence de *Lactobacillus* (16.66%) qui est reconnu par son pouvoir acidifiant élevé en faible fréquence participent aussi à ce retard (Dworkin et al., 2006). Ces résultats ne concordent pas avec ceux de Hassaïne et al. (2008) et Khedid et al. (2009). Par ailleurs le pourcentage de *Lactobacillus* rapproche de celui rapporté par Zadi Karam et Karam (2006): (18.5%).

Enterococcus a été isolé avec un très faible pourcentage (2.08%). Ceci peut être expliqué par les bonnes conditions de traite et de manipulation qui ont défavorisé l'isolement de ce genre associé à la contamination fécale. Ce résultat est plus loin de ceux obtenus par Zadi Karam et Karam (2006): (34.6%) et par Hassaïne et al. (2008): (30.43%). Toutefois, Khedid et al. (2009) l'ont isolé avec une fréquence relativement faible (10.80%).

Tableau 10. Caractéristiques morphologiques, biochimiques et physiologiques de l'isolat appartenant au genre *Enterococcus*.

Nombre d'isolats	Caractéristiques morphologiques			Caractéristiques biochimiques et physiologiques										
	Aspect des colonies	M. micros.	Gram	Cat	T. F.	ADH	4%	6.5%	10°C	45°C	4.5	9.6	Bet.	Ter.
01	petites, arrondies, blanchâtres	cocci, en paires, en courtes chaînes	+	-	homo	+	+	-	+	+	-	d	+	-

M. micros : Morphologie microscopique, Cat. : Test de catalase, T.F.: Type fermentaire, Bet.: Résistance à 0.1% de bleu de méthylène, Ter.: Résistance à une température de 60°C pendant 30 min. d: Détecté

3. Evaluation du potentiel probiotique des bactéries lactiques *in vitro*

Les bactéries lactiques jouent un rôle important dans bio-préservation des aliments, par leur capacité d'inhibition des bactéries pathogènes et de détérioration, et dans la biothérapie des troubles digestifs (Doumandji et Neche, 2008).

3.1. Détermination de l'activité antibactérienne des bactéries lactiques

Pour déterminer l'activité antagoniste des LAB, plusieurs méthodes peuvent être utilisées. Dans cette étude, le test des spots sur agar a été employé car il est simple et donne l'effet antibactérien total des LAB sans exclure l'influence d'un facteur (Polak-Berecka et al., 2009).

Tous les isolats des LAB ont été testés pour leurs effets antibactériens contre les souches suivantes: *Escherichia coli* ATCC: 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC: 25923, *Salmonella* sp., *Bacillus subtilis* et *Enterobacter cloacae*. Ces bactéries font partie des contaminants fréquents de lait qui le détériorent et peuvent même menacer la santé du consommateur. Elles proviennent de l'environnement, d'une contamination fécale ou présentes dans le lait lorsque le pis est infecté (Robinson, 2002).

L'inhibition ou la croissance de la souche indicatrice (bactérie pathogène) au tour du spot a été détectée par rapport au témoin (bouillon MRS) où la bactérie pathogène a développé. (Fig. 10)

Après l'application du test, tous les spots bactériens ont été entourés par une zone claire, ce qui indique la présence d'une activité inhibitrice exercée par toutes les bactéries lactiques vis-à-vis de toutes les souches indicatrices.

Il est largement admis que le diamètre d'inhibition reflète l'activité antibactérienne (Yateem et al., 2008). D'après les résultats obtenus, il apparaît que l'effet inhibiteur diffère très significativement ($p < 0.0001$) d'un isolat à un autre avec un diamètre minimum égal à 7 mm obtenu par la bactérie B5 (*Leuconostoc* sp.) contre *S. aureus*; et un diamètre de 32 mm maximum obtenu par la souche O8 (*Lactobacillus* sp.) contre *E. coli*.

À l'exception de la souche B4 (*Lactobacillus* sp.) et C12 (*Lactococcus* sp.), l'activité inhibitrice de chaque isolat diffère aussi selon la souche indicatrice.

Les tableaux (11, 12, 13, 14) montrent les moyennes des diamètres d'inhibition obtenues par les isolats de chaque genre.

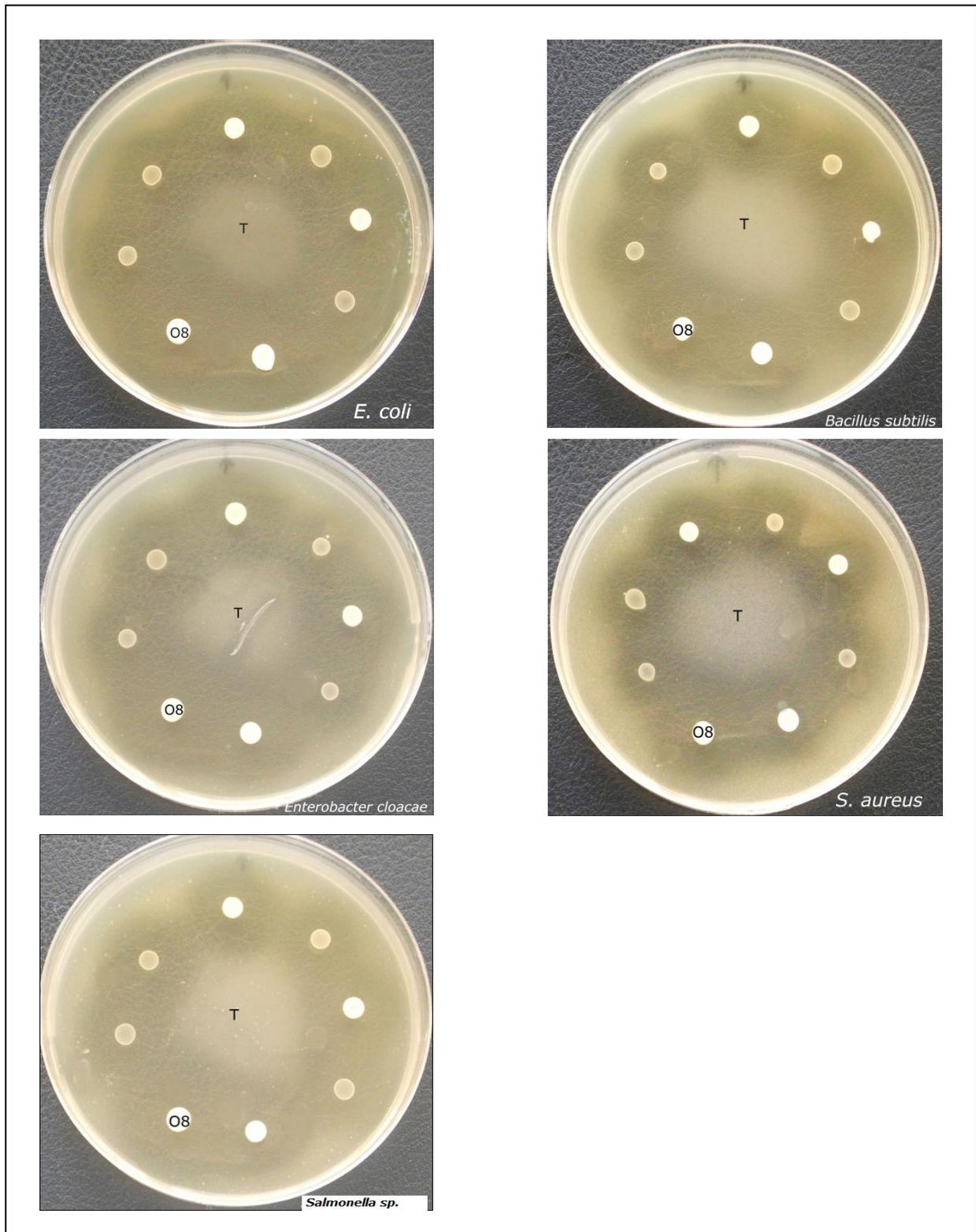


Figure 10. Activité antagoniste de certains isolats de LAB vis-à-vis des bactéries pathogènes.

Tableau 11. Inhibition des bactéries pathogènes par les lactococci.

Lactococci	<i>S. aureus</i>	<i>Salmonella</i> sp.	<i>E. coli</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>Ent. cloacae</i>
B3	12.5±0.5 ^b	13±00 ^b	17±00 ^b	15.5±0.5 ^b	24±8 ^a
B6	10.83±0.76 ^b	12.5±0.5 ^b	15.5±0.5 ^a	11.5±0.5 ^b	15±2 ^a
B7	11.5±0.5 ^c	13.5±0.5 ^b	14±00 ^{ba}	13±1 ^{bc}	15.5±1.5 ^a
B8	11.25±0.25 ^b	11.5±1.5 ^b	12±1 ^b	11±00 ^b	16.5±0.5 ^a
B10	12.66±1.25 ^c	11.16±0.28 ^c	15.5±0.5 ^b	15.5±0.5 ^b	21.5±1.5 ^a
B17	10±1 ^c	14.83±1.75 ^b	14±1 ^b	15.83±0.76 ^b	18.5±0.5 ^a
B19	14.5±0.5 ^b	14.5±1 ^b	15.5±0.5 ^b	15.16±0.76 ^b	17.5±0.5 ^a
B20	12±1 ^d	13.5±1.5 ^{dc}	16.5±00 ^{ba}	14.83±0.28 ^{bc}	18±1 ^a
B21	11±1 ^a	11±1 ^a	12.5±0.5 ^a	11.5±0.5 ^a	13±1 ^a
B22	12.5±0.5 ^c	15.16±0.28 ^c	16.5±0.5 ^b	14.5±0.5 ^c	21±1 ^a
B23	12.16±0.28 ^c	15±00 ^b	15.83±0.76 ^b	15±0.5 ^b	21±1 ^a
B30	11.5±0.5 ^a	11.5±2.5 ^a	12±1 ^a	8.5±0.5 ^a	11±1 ^a
B31	11.5±1.5 ^b	11±00 ^b	11±00 ^b	12±00 ^b	13.5±0.5 ^a
B32	10.5±1.5 ^a	15±00 ^a	15±00 ^a	12.5±2.5 ^a	14.5±2.5 ^a
C6	10±1 ^c	11±1 ^c	13.5±1.5 ^b	11±00 ^c	17.16±0.76 ^a
C9	12.5±0.5 ^b	14.5±0.5 ^a	15.16±0.76 ^a	16±1 ^a	15±00 ^a
C11	9.5±0.5 ^c	11.5±0.5 ^{bc}	13.66±1.52 ^{ba}	11.5±0.5 ^{bc}	15.5±2.5 ^a
C12	13±1 ^a	14.5±0.5 ^a	17±2 ^a	14±2 ^a	14.5±1.5 ^a
C14	10±00 ^c	10.5±0.5 ^c	14.5±0.5 ^b	13±2 ^b	20±1 ^a
C15	10.5±1.5 ^b	13±1 ^a	13.5±0.5 ^a	16±2 ^a	14.16±0.28 ^a
C19	14±1.00 ^b	15.5±0.5 ^b	19±2 ^a	16±1 ^{ba}	16.5±0.5 ^{ba}
O2	15±00 ^c	20±1 ^{ba}	19.5±0.5 ^{ba}	19±1 ^b	21.5±1.5 ^a
O3	15±1 ^d	16.5±0.5 ^c	23.5±0.5 ^a	19±1 ^b	18.5±0.5 ^b
O6	15.5±0.5 ^b	17±1 ^b	21±1 ^a	18±2 ^b	17.5±1.5 ^b

S. : *Staphylococcus*, *E.* : *Escherichia*, *B.* : *Bacillus*, *Ent.* : *Enterobacter*

Les valeurs représentent la moyenne de trois essais ± sd (mm).

^{a, b, c, d} : Les moyennes avec des lettres différentes dans le même rang sont significativement différentes (p<0.05) (Anova).

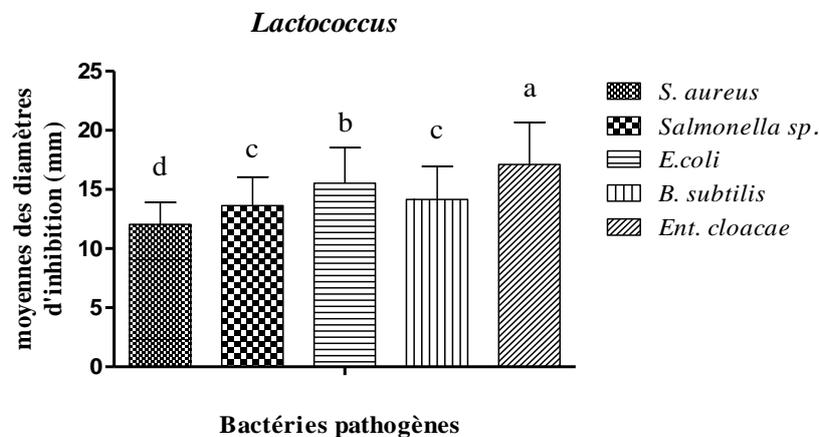


Figure 11. Inhibition des souches indicatrices par le genre *Lactococcus*.

Les valeurs représentent la moyenne des diamètres d'inhibition de tous les isolats du même genre ± sd (mm)

^{a, b, c, d} : Les moyennes avec des lettres différentes sont significativement différentes (p<0.05) (Anova).

Tableau 12. Inhibition des bactéries pathogènes par les lactobacilli.

<i>Lactobacillus</i>	<i>S. aureus</i>	<i>Salmonella</i> sp.	<i>E. coli</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>Ent. cloacae</i>
B2	15.5±0.5 ^b	16.83±0.28 ^b	18.5±1.5 ^b	19.5±0.5 ^b	26±6 ^a
B4	17.5±0.5 ^a	18±00 ^a	20.5±0.5 ^a	19±2 ^a	23.5±6.5 ^a
B18	12±2 ^c	15±1 ^b	16.5±00 ^b	17.83±1.25 ^b	26±2 ^a
O7	18±00 ^c	22.5±0.5 ^b	23.5±0.5 ^b	21±1 ^b	27.5±2.5 ^a
O8	22.5±0.5 ^b	26±00 ^b	32±2 ^a	26.5±3.5 ^b	27±1 ^b
O11	18±00 ^c	21±1 ^b	27.5±0.5 ^a	20.5±1.5 ^b	22.5±1.5 ^b
O12	18.5±1.5 ^b	19±1 ^b	27±3 ^a	23±3 ^{ba}	23.5±0.5 ^{ba}
O13	18.5±0.5 ^c	19.5±0.5 ^b	23.5±0.5 ^a	20±00 ^b	23.5±0.5 ^a

S. : *Staphylococcus*, *E.* : *Escherichia*, *B.* : *Bacillus*, *Ent.* : *Enterobacter*

Les valeurs représentent la moyenne de trois essais ± sd (mm).

^{a, b, c} : Les moyennes avec des lettres différentes dans le même rang sont significativement différentes (p<0.05) (Anova).

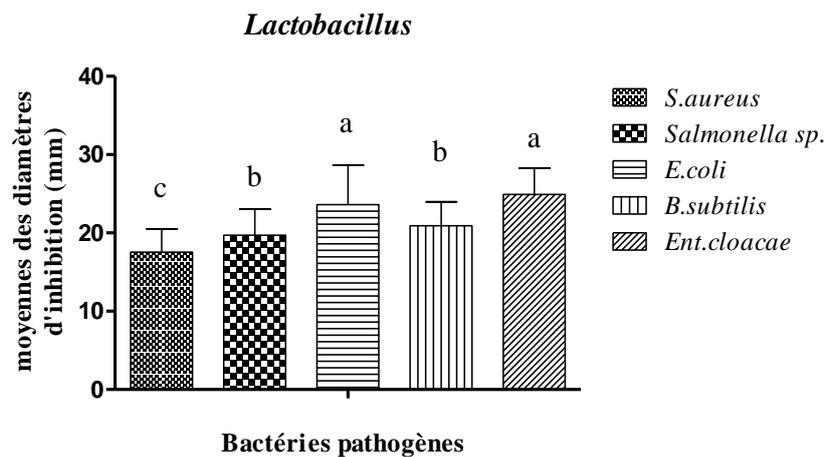


Figure 12. Inhibition des souches indicatrices par le genre *Lactobacillus*.

Les valeurs représentent la moyenne des diamètres d'inhibition de tous les isolats du même genre ± sd (mm).

^{a, b, c} : Les moyennes avec des lettres différentes sont significativement différentes (p<0.05) (Anova).

Tableau 13. Inhibition des bactéries pathogènes par les leuconostocs.

<i>Leuconostoc</i>	<i>S. aureus</i>	<i>Salmonella</i> sp.	<i>E. coli</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>Ent. cloacae</i>
B1	8.66±0.28 ^c	11.5±0.0 ^b	13±00 ^{ab}	11±1 ^b	14.5±2.5 ^a
B5	7±00 ^c	10±00 ^c	13±00 ^b	8.5±0.5 ^d	18±00 ^a
B12	11.5±0.5 ^c	12.16±2.25 ^c	15.16±1.25 ^b	11.16±0.28 ^c	24±1 ^a
B14	10±1 ^b	12.5±1.5 ^b	13±00 ^b	11.5±0.5 ^b	24±6 ^a
B15	9.5±1.5 ^b	12.83±1.25 ^b	13±00 ^b	12.5±0.5 ^b	22±4 ^a
B24	15±1 ^{bc}	14±1 ^c	16.5±00 ^b	13.83±0.76 ^c	23±1 ^a
B25	14±1.5 ^c	13.83±0.76 ^c	16.5±0.5 ^b	12.16±0.28 ^c	19.16±1.04 ^a
B28	13±0.5 ^b	14.83±1.04 ^b	14.83±0.28 ^b	13.83±0.76 ^b	20±2 ^a
B29	13.16±0.76 ^{cd}	14.5±0.5 ^{bc}	15.5±0.5 ^b	12.5±0.5 ^d	18.5±1.5 ^a
C2	10.5±0.5 ^d	13.16±0.76 ^c	16±1 ^b	14.5±0.5 ^c	19±1 ^a
C4	10.5±0.5 ^c	13.83±0.28 ^b	15±2 ^b	13.5±0.5 ^b	17.16±0.28 ^a
0 6	9±00 ^b	9.5±0.5 ^b	13.5±1.5 ^a	11±1 ^b	10.16±0.28 ^b
0 B3	11.5±0.5 ^c	13.5±0.5 ^{cb}	16±1 ^b	15.5±1.5 ^b	20±2 ^a
C13	9±00 ^c	9±00 ^c	16±2 ^a	11±1 ^{cb}	12±1 ^b
C16	10±00 ^b	9±1 ^b	13±2 ^a	10.83±0.28 ^{ba}	10.83±0.76 ^{ba}

S. : *Staphylococcus*, *E.* : *Escherichia*, *B.* : *Bacillus*, *Ent.* : *Enterobacter*

Les valeurs représentent la moyenne de trois essais ± sd (mm).

^{a, b, c, d, e} : Les moyennes avec des lettres différentes dans le même rang sont significativement différentes (p<0.05) (Anova).

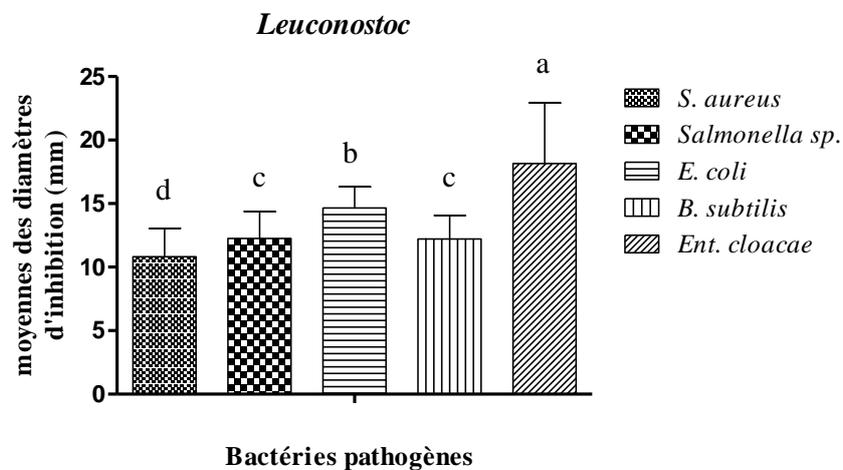


Figure 13. Inhibition des souches indicatrices par le genre *Leuconostoc*.

Les valeurs représentent la moyenne des diamètres d'inhibition de tous les isolats du même genre ± sd (mm).

^{a, b, c, d} : Les moyennes avec des lettres différentes sont significativement différentes (p<0.05) (Anova).

Tableau 14. Inhibition des bactéries pathogènes par *Enterococcus* sp.

<i>Enterococcus</i>	<i>S. aureus</i>	<i>Salmonella</i> sp.	<i>E. coli</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>Ent. cloacae</i>
C13	13 ± 1 ^b	16.5 ± 0.5 ^a	16 ± 1 ^a	17 ± 2 ^a	15.16 ± 0.76 ^a

S. : *Staphylococcus*, *E.* : *Escherichia*, *B.* : *Bacillus*, *Ent.* : *Enterobacter*

Les valeurs représentent la moyenne de trois essais ± sd (mm)

^{a, b} : Les moyennes avec des lettres différentes dans le même rang sont significativement différentes (p<0.05) (Anova).

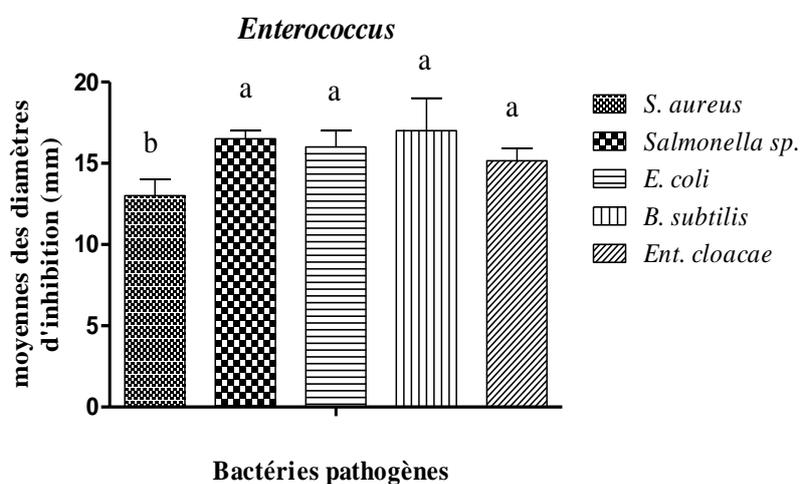


Figure 14. Inhibition des souches indicatrices par *Enterococcus* sp.

Les valeurs représentent la moyenne des diamètres d'inhibition obtenus par *Enterococcus* sp. ± sd (mm)

^{a, b} : Les moyennes avec des lettres différentes sont significativement différentes (p<0.05) (Anova).

Le nombre élevé de souches présentant une activité antibactérienne et qui n'ont pas été identifiées jusqu'au stade espèce limite l'étude de l'effet inhibiteur de chaque isolat contre les souches indicatrices. L'effet de chaque genre ainsi que l'effet global des genres de LAB vis-à-vis des souches indicatrices sera étudié.

D'après les résultats obtenus et qui sont représentés dans les figures (11, 12, 13, 14), il s'avère que l'activité inhibitrice exercée par les quatre genres de LAB vis-à-vis des bactéries pathogènes diffère très significativement ($p < 0.0001$), et que la meilleure inhibition totale a été obtenue par *Lactobacillus* suivi par *Enterococcus*, *Lactococcus* et *Leuconostoc*.

Il apparaît aussi que l'activité antibactérienne des genres *Lactococcus* et *Leuconostoc* était similaire contre toutes les souches indicatrices; la meilleure inhibition a été obtenue contre *Ent. cloacae*, suivie par *E. coli* ; le même effet inhibiteur a été obtenu contre *Salmonella* sp. et *B. subtilis* mais ils ont un moindre effet vis-à-vis *S. aureus*.

Les espèces de *Lactobacillus* ont présenté une activité inhibitrice meilleure contre *Ent. cloacae* (24.93mm) et *E. coli* (23.62mm), elles ont un même effet sur *B. subtilis* (20.91mm) et *Salmonella* sp. (19.72mm), et un effet moindre sur *S. aureus* (17.56mm).

Le genre *Enterococcus* a montré un effet inhibiteur similaire à l'encontre des bactéries: *B. subtilis*, *E. coli* et *Ent. cloacae* dont la moyenne des diamètres d'inhibition est de (17mm), (16mm), (15.16mm) respectivement. Comme les genres précédents, *Enterococcus* a présenté aussi un effet moindre contre *S. aureus* (13mm).

Il est bien clair donc que la souche indicatrice la plus sensible par tous les genres est *Ent. cloacae* avec un diamètre d'inhibition maximum égal à 27.5mm obtenu par la souche O7 (*Lactobacillus* sp.) et celui minimum de 10.16mm obtenu par O 6 (*Leuconostoc* sp.) suivie par *E. coli*, dont le diamètre d'inhibition maximum est de 32mm, résultat de l'activité de la souche O8 (*Lactobacillus* sp.) et celui minimum de 11mm obtenu par l'isolat B31 (*Lactococcus* sp.).

B. subtilis et *Salmonella* sp. avaient le même niveau de sensibilité; la meilleure inhibition contre ces deux bactéries a été exercée par la souche O8 dont le diamètre d'inhibition est de 26.5mm et de 26mm respectivement. Une faible activité antibactérienne a

été obtenue par B5 (*Leuconostoc* sp.) et B30 (*Lactococcus* sp.) dont le diamètre d'inhibition est de 8.5mm contre *B. subtilis*, et par deux souches appartenant au genre *Leuconostoc* (C16 et C13) avec un diamètre de 9mm contre *Salmonella* sp.

Par rapport aux souches indicatrices précédentes, la souche la plus résistante est *S. aureus*; un meilleur diamètre d'inhibition a été obtenu par la souche O8 (22.5mm) et celui faible est de 7mm par la souche B5.

En examinant l'activité antagoniste exercée par tous les genres à l'encontre des souches indicatrices à Gram positif et à Gram négatif, il apparait qu'à l'exception du genre *Enterococcus*, l'inhibition était plus importante vis-à-vis des bactéries à Gram négatif.

Tableau 15. Inhibition des bactéries pathogènes à Gram positif et à Gram négatif par chaque genre de LAB.

Les genres de LAB	Bactéries pathogènes à G+	Bactéries pathogènes à G-
<i>Lactococcus</i>	13.10±2.59 ^b	15.43±3.34 ^a
<i>Leuconostoc</i>	11.53±2.16 ^b	15.03±3.97 ^a
<i>Lactobacillus</i>	19.23±3.42 ^b	22.76±4.52 ^a
<i>Enterococcus</i>	15.60±2.60 ^a	15.88±0.89 ^a

G+ : Bactéries à Gram positif, G- : Bactéries à Gram négatif, Les valeurs représentent la moyenne des diamètres d'inhibition des isolats de chaque genre ± sd (mm), ^a, ^b: Les moyennes avec des lettres différentes dans le même rang sont significativement différentes (p<0.05) (Anova).

L'activité antibactérienne des LAB à l'encontre des bactéries pathogènes peut être associée à de nombreux éléments. Elle résulte de l'effet combiné de différents facteurs biologiques provenant de leurs activités métaboliques.

En effet, les LAB diminuent le pH du milieu de culture suite à une production des acides organiques qui peuvent être soit de l'acide lactique seul chez les homofermentaires; le cas des isolats appartenant aux genres: *Lactococcus*, *Lactobacillus* et *Enterococcus*, ou accompagné d'autres produits comme l'acide acétique chez les hétérofermentaires (*Leuconostoc* spp.), ce qui conduit à l'inhibition de développement des bactéries pathogènes. Cette inhibition est améliorée par la haute tolérance des LAB aux pH bas extra et intra cellulaires. Cela peut expliquer la meilleure activité antibactérienne obtenue par *Lactobacillus* qui est le genre le plus adapté aux pH acides (Salminen et al., 2004; Cotter et Hill, 2003; Dworkin et al., 2006).

Les acides organiques produits par les LAB exercent aussi un l'effet antagoniste puissant, résultant de l'action de leur forme non dissociée à pH acide et qui peut traverser passivement la membrane et acidifier le cytoplasme par libération du proton, ce qui affecte le métabolisme cellulaire en inhibant certaines fonctions (Salminen et *al.*, 2004; Cotter et Hill, 2003).

L'autre facteur qui est reconnu, depuis longtemps, comme un agent majeur de l'activité antimicrobienne des LAB particulièrement celle des lactobacilli est le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂). L'effet de ce dernier est réduit, car l'incubation des bactéries lactiques a été réalisée en anaérobie (Mami et *al.*, 2008).

L'inhibition des bactéries pathogènes peut être aussi liée à la production de diacétyl qui est synthétisé par les membres des genres *Lactococcus*, *Lactobacillus* et *Leuconostoc*. Il est plus actif lorsque le pH du milieu est inférieur à 7.

Il inhibe les levures, les bactéries à Gram négatif et à Gram positif non lactiques, mais son activité est plus élevée contre les bactéries à gram négatif. Ceci peut être dû à son interaction avec les protéines fixatrices de l'arginine des bactéries à Gram négatif ce qui limite leur utilisation de cet acide aminé (Salminen et *al.*, 2004). Il est probable que les meilleures activités inhibitrices obtenues chez les bactéries à Gram négatif par ces genres ont été associées aussi à ce métabolite.

Les LAB peuvent aussi synthétiser des peptides ou des protéines appelées: bactériocines. Ces métabolites exercent des activités antimicrobiennes, habituellement spécifiques et contre les bactéries des espèces apparentées sans être létales à la souche productrice. Les bactériocines varient considérablement du point de vue de leurs poids moléculaire, de leurs propriétés biochimiques et de leur mode d'action. Leur spectre d'activité varie de l'étroit au large mais elles sont surtout spécifiques aux bactéries à Gram positif (Bayoub et *al.*, 2006; Salminen et *al.*, 2004). Il apparait donc que les souches *S. aureus* et *B. subtilis* sont, probablement, inhibées aussi par les bactériocines.

A coté des facteurs antibactériens cités précédemment, les leuconostocs sont capables d'inhiber les bactéries pathogènes aérobies par la production de CO₂ qui crée un environnement anaérobie. L'accumulation de dioxyde de carbone dans la bicouche lipidique peut perturber sa perméabilité et inhiber les enzymes de décarboxylation.

Il a été rapporté que les bactéries à Gram négatif sont les plus sensibles au CO₂ que les bactéries à Gram positif (Salminen et al., 2004). Il est probable donc que *E. coli*, *Salmonella sp.* et *Ent. cloacae* sont inhibées également par le CO₂. Même si *Leuconostoc* possède un mécanisme inhibiteur additionnel, son activité antibactérienne reste faible par rapport aux autres genres.

Très peu de données sur l'activité antimicrobienne des bactéries isolées du lait de chamelle est disponible dans la littérature. Par ailleurs, il semble que les LAB d'origine caméline exercent une activité antagoniste plus élevée vis-à-vis des bactéries à Gram négatif. Ainsi, Yateem et al. (2008) ont déterminé un effet bactéricide de trois souches: *Lb. plantarum*, *Lb. pentosus* et *Lc. lactis* subsp. *lactis*, isolées du lait de chamelle au Kuwait, à l'encontre des bactéries indicatrices à Gram négatif (*Salmonella spp.* et *E. coli*) mais aucun effet inhibiteur n'est détecté contre *Staphylococcus spp.*

Le lait de chamelle se caractérise par une activité antimicrobienne élevée par rapport à celle du lait de vache; elle est associée à certains de ses composants: lactoferrine, immunoglobuline, lysozyme, lactoperoxydase et la vitamine C (Konuspayeva et al., 2004; Sboui et al., 2009).

Les résultats obtenus de cette étude montrent que tous les isolats inhibent la croissance des cinq bactéries indésirables. Il est probable donc que les propriétés thérapeutiques et la durée de conservation longue caractérisant le lait de chamelle sont associées aussi au rôle joué par sa microflore lactique.

3.2. Choix des souches présumées d'avoir un effet probiotique

Les microorganismes incorporés dans les produits probiotiques sont principalement ceux faisant partie de la flore intestinale (*Enterococcus*, *Lactobacillus* et *Bifidobacterium*). (Aguirre et Collins, 1993; Hyronimus et al., 2000).

Dans cette étude *Bifidobacterium* n'est pas isolé car il ne fait pas partie des bactéries lactiques, il est classé parmi les Actinomycètes ayant un pourcentage de G+C supérieur à 50% (Salminen et al., 2004).

Malgré que la seule souche appartenant au genre *Enterococcus* a présenté des effets antagonistes contre toutes les bactéries pathogènes, l'utilisation de ce genre en tant que probiotique reste limitée, car il est associé à la contamination fécale et il possède des gènes de résistance aux antibiotiques (Giménez-Pereira, 2005).

On a choisi donc la souche O8 car elle a montré les meilleurs diamètres d'inhibition contre presque toutes les bactéries pathogènes d'un coté et elle appartient au genre *Lactobacillus* qui est employé couramment dans les produits probiotiques à usage humain d'un autre coté (Ketema et al., 2009).

3.3. Etude de la survie des souches lactiques dans les conditions extrêmes du tube digestif

Pour exercer leurs effets bénéfiques sur le tractus gastro-intestinal et sur la santé de l'être-vivant en général, les probiotiques doivent résister aux barrières physiologiques du tube digestif qui sont représentées principalement par l'acidité corrosive de l'estomac et la toxicité des sels biliaires (Buntin et al., 2008).

3.3.1. Tolérance à l'acidité

La résistance à l'acidité de l'estomac constitue l'un des principaux critères de sélection des souches probiotiques.

Le milieu de culture, utilisé dans ce test, a été ajusté à pH: 2 et 3 par l'acide chlorhydrique pour simuler l'environnement gastrique (Ketema et al., 2009). La survie ou la croissance de la souche bactérienne (O8) a été déterminée après 3h, le temps qui correspond au transit habituel des aliments dans l'estomac (Ketema et al., 2009).

Les résultats obtenus sont mentionnés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 16. Détermination de la survie ou la croissance de la souche O8 (*Lactobacillus* sp.) à différentes valeurs de pH après 3 et 24h d'exposition *in vitro*.

souche		0h	3h	24h
O8 (<i>Lactobacillus</i> sp.)	pH 6.2	0.046±0.0225 ^a	0.33 ±0.0149 ^b	1.79±0.01 ^c
	pH 2	0.078 ±0.015 ^a	0.058 ±0.0079 ^a	0.055±0.0023 ^a
	pH 3	0.058 ±0.0136 ^a	0.052 ±0.0137 ^a	0.073 ±0.0144 ^a

Les valeurs représentent la moyenne de trois lectures de la densité optique ± sd

^{a, b, c} : Les moyennes avec des lettres différentes dans le même rang sont significativement différentes (p<0.05) (Anova).

D'après les résultats obtenus, il apparaît que le développement de la souche est significativement affecté ($p < 0.001$) dans les milieux acides (pH: 2 et pH: 3) par rapport à celui optimum (pH: 6.2).

La survie de la souche à pH: 2 et à pH: 3 n'a pas été affectée significativement ($p > 0.05$) après 3h d'incubation. Avec la progression du temps d'exposition, la bactérie montre une légère croissance à pH: 3 mais elle était incapable de croître à pH: 2.

Cette résistance peut résulter d'une combinaison de mécanismes constitutives ou inductibles conduisant à l'élimination des protons (H^+) du cytoplasme, l'alcalinisation de l'environnement extracellulaire, changement de la composition de l'enveloppe cellulaire, expression des régulateurs de la transcription, changement de la densité cellulaire, etc. (Cotter et Hill, 2003).

Des résultats similaires ont été obtenus par Yateem et *al.* (2008) qui ont isolé des souches appartenant au *Lactobacillus*, résistantes à une exposition de 1 à 2h à pH: 2 et 3 à partir du lait de chamelle fermenté.

Kacem et Kaid-Harche (2008) ont trouvé aussi quatre souches de *Lactobacillus plantarum* résistantes à pH: 2 parmi quatorze souches, testées pour leur tolérance à l'acidité, et qui ont été isolées d'un beurre préparé à partir du lait de chamelle algérien.

3.3.2. Tolérance aux sels biliaries

Après le passage par l'estomac, les bactéries arrivent au duodénum où sécrétée la bile qui réduit leur viabilité en détruisant la membrane cellulaire.

La tolérance à la bile est donc l'une des caractéristiques recherchées lors de la sélection des bactéries probiotiques pour que le grand nombre possible de bactéries traversent le duodénum en direction de leur site d'action, tout en restant viable et capable de se multiplier (Izquierdo Alegre, 2009; Boke et *al.*, 2010).

Dans ce travail, une concentration de 0.3% de sels biliaries a été utilisée, car elle est considérée comme critique pour la détection des souches résistantes (Sukumar et Ghosh, 2010; Hyronimus et *al.*, 2000). Les résultats obtenus du test sont montrés dans le tableau (17).

Tableau 17. Détermination de la survie ou la croissance de la souche O8 (*Lactobacillus* sp.) à 0.3% de sels biliaires après 4 et 24h d'exposition *in vitro*.

Souche		0h	4h	24h
O8	Contrôle	0.064±0.0278 ^a	0.898±0.0213 ^b	1.766±0.0215 ^c
<i>Lactobacillus</i> sp.	MRS-bile	0.132±0.021 ^a	0.292±0.0268 ^b	1.255±0.070 ^c

Les valeurs représentent la moyenne de trois lectures de la densité optique ± sd

^{a, b, c}: Les moyennes avec des lettres différentes dans le même rang sont significativement différentes (p<0.05) (Anova).

D'après les résultats obtenus, il apparaît que la présence de sels biliaires dans le milieu de culture provoque un retard de croissance significatif (p<0.001), par rapport à celui non supplémenté (MRS), ceci est essentiellement dû à l'élimination d'une partie de la population bactérienne initiale (Izquierdo Alegre, 2009).

Après une exposition de 4h et 24h aux sels biliaires, la souche montre un développement important (p<0.0001). Cette résistance peut être attribuée à sa capacité de production de la bile hydrolase, enzyme permettant la déconjugaison des sels biliaires, ce qui réduit leurs effets toxiques (Bakari et al., 2011).

L'effet de la bile sur la viabilité des lactobacilli a été étudié par plusieurs auteurs. Maragkoudakis et al. (2006) ont trouvé que la plupart des souches de *Lactobacillus* isolées à partir des produits laitiers pourraient bien survivre en présence de 0.3% de sels biliaires.

Kacem et Kaid-Harche (2008) ont isolé des souches de *Lb. plantarum* qui peuvent même résister à 2% de bile.

Conclusion et perspectives

Plusieurs facteurs contrôlent la composition physicochimique du lait camelin. L'analyse du lait des trois chamelles a montré une grande variabilité entre elles. En effet, le taux de matière grasse, protéines, lactose dépasse ceux du lait bovin et d'autres laits camelins de différentes régions du monde. Par ailleurs, le contenu en minéraux reste très faible. Les résultats ont démontré que le dromadaire produit un lait mieux que celui bovin dans sa qualité nutritionnelle, lorsqu'il vit dans des conditions environnementales moins sévères.

Par le biais des méthodes d'identification phénotypique, il apparaît que la microflore lactique du lait de chamelle de sud-est algérien est constituée de quatre genres: *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Lactobacillus* et *Enterococcus*. Ces mêmes genres ont été isolés, également, par une autre étude à partir du lait de chamelle de sud-ouest algérien.

Testées pour leur antagonisme, toutes les bactéries lactiques ont montré une activité inhibitrice à l'encontre des bactéries pouvant altérer le lait et infecter le consommateur. À côté de l'activité des facteurs antimicrobiens que contient le lait de chamelle, il semble que la microflore lactique prévient la détérioration du lait dans les régions chaudes, ce qui prolonge la durée de sa conservation et joue un rôle thérapeutique important.

Une bactérie appartenant au genre *Lactobacillus* a montré des meilleurs diamètres d'inhibition à l'encontre presque toutes les bactéries pathogènes testées, elle a résisté également à l'acidité ainsi qu'à la toxicité des sels biliaires. Cette dernière peut avoir des effets probiotiques.

A la lumière de ces résultats, des travaux complémentaires doivent être réalisés ultérieurement pour les confirmer et les améliorer. Il est nécessaire donc de:

- Réaliser des méthodes génotypiques permettant une identification fiable des isolats.
- Etudier l'intérêt technologique des souches pour transformer le lait de chamelle en une variété de produits.
- Confirmer l'effet probiotique des isolats par la réalisation d'autres tests *in vitro* et *in vivo*.

Références

Abdoun, K. A., Amin A. S. A., Abdelatif, A. M. (2007). Milk composition of dromedary camels (*Camelus dromedarius*): Nutritional effects and correlation to corresponding blood parameters. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, **10**: 2724-2727.

Adamou, A. (2008). L'élevage camelin en Algérie: quel type pour quel avenir ?. *Science et changements planétaires / Sécheresse*, **19**: 253-260.

Aguirre, M., Collins, M.D. (1993). Lactic acid bacteria and human clinical infection. *Journal of Applied Bacteriology*, **75**: 95-107.

Amrouche, T. (2005). *Contribution à l'étude du pouvoir immunomodulateur des bifidobactéries: analyse in vitro et étude ex vivo des mécanismes moléculaires impliqués*. Thèse de doctorat. Université Laval, Québec.

Arizcun, C., Barcina, Y., Torre, P. (1997). Identification of lactic acid bacteria isolated from Roncal and Idiazabal cheeses. *Le Lait*, **77**: 729-736.

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.

Badis, A. Laouabdia-Sellami, N., Guetarni, D., Kihal, M., Ouzrout, R. (2005). Caractérisation phénotypique des bactéries lactiques isolées à partir de lait cru de chèvre de deux populations caprines locales "Arabia et Kabyle". *Sciences et Technologie*, **23**: 30-37.

Bakari, D., Tatsadjieu, N. L., Mbawala, A., Mbofung, C. M. (2011). Assessment of physiological properties of some lactic acid bacteria isolated from the intestine of chickens use as probiotics and antimicrobial agents against enteropathogenic bacteria. *Innovative Romanian Food Biotechnology*, **8**: 33-40.

Bayoub, K., Elotmani, F., Assobhei, O., Jaoua, S., Soukri, A. (2006). Contribution à l'étude des bactériocines produites par des souches isolées du lait fermenté traditionnel «Raïb». *Revue des régions arides*, **21**: 270-275.

Bengoumi, M., Faye, B. (2002). Adaptation du dromadaire à la déshydratation. *Science et changements planétaires / Sécheresse*, **13**: 121-129.

Boke, H., Aslim, B., Alp, G. (2010). The role of resistance to bile salts and acid tolerance of exopolysaccharide (EPSS) produced by yogurt starter bacteria. *Archives of Biological Sciences*, **62**: 323-328.

Boubekri, K., Ohta, Y. (1996). Identification of lactic acid bacteria from Algerian traditional cheese, el-klila. *Journal of Science and Food Agriculture*, **70**: 501-505.

- Bulut, Ç. (2003). *Isolation and molecular characterization of lactic Acid bacteria from cheese*. Master of science. Izmir, Turkey.
- Buntin, N., Chanthachum, S., Hongpattarakere, T. (2008). Screening of lactic acid bacteria from gastrointestinal tracts of marine fish for their potential use as probiotics. *Songklanakarinn Journal of Science and Technology*, **30**: 141-148.
- Chandan, R. C., Kilara, A., Shah, N. P. (2008). *Dairy processing and quality assurance*. John Wiley & Sons, Inc., USA.
- Corrieu G., Luquet, F. M. (2008). *Bactéries lactiques de la génétique aux ferments*. Lavoisier, Paris.
- Cotter, P.D., Hill, C. (2003). Surviving the acid test: response of Gram-Positive bacteria to low pH. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, **67**: 429-453.
- Curk, M.C., Peladan, F., Hubert, J.C. (1993). Caractérisation biochimique des lactobacilles brassicoles. *Lait*, **73**: 215-231.
- De Vos, P., Garrity, G. M., Jones, D., Krieg, N. R., Ludwig, W., Rainey, F. A., Schleifer, K. H., Whitman, W. B. (2009). *Bergey's manual of Systematic Bacteriology Second Edition Volume Three: The Firmicutes*. Springer Dordrecht Heidelberg, USA.
- Devoyod, J.J., Poullain, F. (1988). Les Leuconostocs. Propriétés: leur rôle en technologie laitière. *Le Lait*, **68**: 249- 279.
- Doumandji, A., Neche, L. (2008). Activité antimicrobienne *in vitro* et *in vivo* de *Lactobacillus acidophilus* envers *Escherichia coli* enteropathogène. *Recherche agronomique*, **21**: 101-111.
- Dworkin, M., Falkow, S., Rosenberg, E., Schleifer, K. H., Stackebrandt, E. (2006). *The prokaryotes "third edition": A handbook on the Biology of bacteria: Firmicutes, Cyanobacteria*. Springer, Singapore.
- El-Hatmi, H., Girardet, J.-M., Gaillard, J. L., Yahyaoui, M. H., Attia, H. (2007). Characterisation of whey proteins of camel (*Camelus dromedarius*) milk and colostrum. *Small Ruminant Research*, **70**: 267-271.
- Ellouze, S., Kamoun, M. (1989). Évolution de la composition du lait de dromadaire en fonction du stade de la lactation. *Options Méditerranéennes*, **6**: 307-311.
- FAO/WHO working group report on drafting guidelines for the evaluation of probiotics in food, London, Ontario, Canada, April 30 and May 1, 2002.
- Farah, Z., Abdulkadir, O., Abdurahman, S.H. (2004). *Milk and meat from the camel: handbook on products and processing*. Vdf Hochschulverlag AG an der ETH Zurich, Zurich / Singen.
- Farah, Z., Rettenmaier, R., Atkins, D. (1992). Vitamin content of camel milk. *Internat. Journal for Vitamin and Nutrition Research*, **62**: 30-33.

- Fooks, L. J., Gibson, G. R. (2002). Probiotics as modulators of the gut flora. *British Journal of Nutrition*, **88**: S39–S49.
- Fazeli, M. R., Amirmozafari, N., Golbooi nejad, R., Jamalifar, H. (2007). Antagonistic action of watermelon juice probioticated using different strains of lactobacilli against *Salmonella typhimurium*. *Iranian Journal of Public Health*, **36**:70-73.
- Fox, P. F., Mc Sweeney, P. L. H. (1998). *Dairy Chemistry and Biochemistry*. Thomson science, London.
- Gelsomino, R., Vancanneyt, M., Cogan, T. M., Swings, J. (2003). Effect of raw-milk cheese consumption on the enterococcal flora of human feces. *Applied and Environmental Microbiology*, **69**: 312–319.
- Gillingham, L. G., Lescheid, D. W. (2009). Probiotics and mucosal immunity: Strain-specific effects on Th1/Th2 cell modulation. *IntJNM*, **4**: 18-22.
- Giménez-Pereira, M. L. (2005). *Enterococci in milk products*. Thesis of Master of Veterinary Studies. Massey University, Palmerston North, New Zealand.
- Gorban, A. M. S., Izzeldin, O. M. (2001). Fatty acids and lipids of camel milk and colostrum. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, **52**: 283–287.
- Grangette, C. (2007). Probiotiques et régulation de la réponse immune allergique et inflammatoire. *Cahier de Nutrition et Diététique*, **42**: 76- 85.
- Guessas, B., Kihal M. (2004). Characterization of lactic acid bacteria isolated from Algerian arid zone raw goats' milk. *African Journal of Biotechnology*, **3**: 339-342.
- Hassaine, O., Zadi-Karam, H., Karam, N-E. (2008). Phenotypic identification and technological properties of lactic acid bacteria isolated from three breeds dromedary raw milks in south Algeria. *Emirate Journal of Food and Agriculture*, **20**: 46-59.
- Herich, R., Levkut, M. (2002). Lactic acid bacteria, probiotics and immune system. *Veterinary Medicine – Czech*, **47**: 169-180.
- Hernandez, D., Cardell, E., Zarate, V. (2005). Antimicrobial activity of lactic acid bacteria isolated from Tenerife cheese: initial characterization of plantaricin TF711, a bacteriocin-like substance produced by *Lactobacillus plantarum* TF711. *Journal of Applied Microbiology*, **99**: 77-84.
- Hyronimus , B., Le Marrec, C., Sassi, A. H., Deschamps, A. (2000). Acid and bile tolerance of spore-forming lactic acid bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, **61**: 193–197.
- Iqbal, A., Gill, R.A., Younas, M. (2001). Milk composition of Pakistani camel (*Camelus dromedarius*) kept under station/farmer's conditions. *Emirate Journal of Food and Agriculture* , **13**: 7-10.
- Izquierdo Alegre, E. (2009). *Les protéines bactériennes en tant que biomarqueurs de l'activité probiotique*. Thèse de doctorat. Institut pluridisciplinaire Hubert Curie, Strasbourg.

Jacquinet, S. A. (2009). *Evaluation du dépistage des mammites par la conductivité électrique du lait*. Thèse de doctorat. Université de Toulouse, France.

Joffin, J. N., Leyral, G. (2006). *Microbiologie technique « Tome 1 »: Dictionnaire des techniques*. CRDP Aquitaine, Bordeaux.

Julien, J. P. (1985). *Dairy science and technology: principals and application*. La fondation de la technologie laitière du Québec, Inc., Canada.

Kacem, M., Kaid-Harche, M. (2008). Probiotic characteristics of *Lactobacillus plantarum* strains from traditional butter made from camel milk in arid regions (Sahara) of Algeria. *Grasas y aceites*, **59**: 218-224.

Kacem, M., Karam, N. E. (2006). Physicochemical and microbiological study of “shmen”, a traditional butter made from camel milk in the Sahara (Algeria): isolation and identification of lactic acid bacteria and yeasts. *Grasas y aceites*, **57**: 198-204.

Kamal, A. M., Salama, O. A., El saeid, K.M. (2007). Changes in amino acids profile of camel milk protein during the early lactation. *International journal of dairy science*, **2**: 226-234.

Kamoun, M. (1995). Le lait de dromadaire: production, aspects qualitatifs et aptitude à la transformation. *Options Méditerranéennes*, **13**: 81-103.

Karna, B.K.L., Emata, O.C. Barraquio, V.L. (2007). Lactic acid and probiotic bacteria from fermented and probiotic dairy products. *Science Diliman*, **19**: 23-34.

Karray, N., Lopez, C., Ollivon, M., Attia, H. (2005). La matière grasse du lait de dromadaire: composition, microstructure et polymorphisme. *OCL*, **12**: 439-446.

Ketema, B., Tetemke, M., Mogessie, A. (2009). *In-vitro* probiotic potential of lactic acid bacteria isolated from “wakalim”, a traditional Ethiopian fermented beef sausage. *Ethiopian Journal of Health Sciences*, **19**: 21-27.

Khaskheli, M., Arain, M.A., Chaudhry, S., Soomro, A.H., Qureshi, T.A. (2005). Physico-chemical quality of camel milk. *Journal of Agriculture Society Science*, **1**: 164–166.

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.

König, H., Fröhlich, J. (2009). *Biology of Microorganisms on Grapes, in Must and in Wine*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, Germany.

Konuspayeva, G., Loiseau, G., Faye, B. (2004). La plus-value "santé" du lait de chamelle cru et fermenté: l'expérience du Kazakhstan. *Rencontre Recherche Ruminants*, **11**: 47-50.

Koort, J. (2006). *Polyphasic taxonomic studies of lactic acid bacteria associated with non-fermented meats*. Ph.D. thesis. Department of Food and Environmental Hygiene, University of Helsinki, Finland.

- Liong, M. T. (2008). Roles of probiotics and prebiotics in colon cancer prevention: postulated mechanisms and *In-vivo* evidence. *International Journal of Molecular Sciences*, **9**: 854-863.
- Liu, S. N., Han, Y., Zhou, Z. J. (2011). Lactic acid bacteria in traditional fermented Chinese foods. *Food Research International*, **44**: 643-651.
- Lore, T.A., Mbugua, S. K., Wangoh, J. (2005). Enumeration and identification of microflora in suusac, a Kenyan traditional fermented camel milk product. *Lebensm.-Wissenschaft und-Technology*, **38**: 125-130.
- Mahrous, H., Shaalan, U.F., Ibrahim, A. M. (2011). The role of some probiotic lactic acid bacteria in the reduction of cholesterol on mice. *International Research Journal of Microbiology*, **2**: 242-248.
- Mal, G., Pathak, K.M.L. (2010). Camel milk and milk products. *Smv's dairy year book*, **7**: 97-103.
- Mami, A., Henni, J. E., Kihal, M. (2008). Antimicrobial activity of *Lactobacillus* species isolated from Algerian raw goat's milk against *Staphylococcus aureus*. *World Journal of Dairy and Food Sciences*, **3**: 39-49.
- Maragkoudakis, P. A., Zoumpopoulou, G., Miaris, C., Kalantzopoulos, G., Pot, B., Tsakalidou, E. (2006). Probiotic potential of *Lactobacillus* strains isolated from dairy products. *International Dairy Journal*, **16**: 189-199.
- Martensson, O. (2002). *Lactic acid bacteria fermentation in OAT-based suspension*. Doctoral thesis, Lund university, Sweden.
- Marth, E. H., Steele, J. L. (2001). *Applied dairy Microbiology*. Marcel Delker, Inc., USA.
- Meiloud, G.M., Ould Bouraya, I.N., Samb, A., Houmeida, A. (2011). Composition of Mauritanian camel milk: results of first study. *International Journal of Agriculture and Biology*, **13**: 145-147.
- Meyer, A., Deiana, J., Bernard, A. (2004). *Cours de microbiologie générale avec problèmes et exercices corrigés*. Doin, France.
- Milliere, J.B., Mathot, A. G., Schmitt, P., Divie, C. (1989). Phenotypic characterization of *Leuconostoc* species. *Journal of Applied Bacteriology*, **67**: 529-542.
- Montel, M. C., Béranger, C., Bonnemaire, J. (2005). *Les fermentations au service des produits de terroir*. INRA, Paris.
- Moulay, M., Aggad, H., Benmechernene, Z., Guessas, B., Henni D.E., Kihal, M. (2006). Cultivable lactic acid bacteria isolated from Algerian raw goat's milk and their proteolytic activity. *World Journal of Dairy and Food Sciences*, **1**: 12-18.
- Mozzi, F., Raya, R. R., Vignolo, G. M. (2010). *Biotechnology of lactic acid bacteria: Novel applications*. Blackwell publishing, Singapore.

- Mukasa-Mugerwa, E. (1985). *Le chameau (Camelus dromedarius): Etude bibliographique*. Centre International pour l'élevage en Afrique. Adis Abeba, Ethiopie.
- Narjisse, H. (1989). Nutrition et production laitière chez le dromadaire. *Options Méditerranéennes*, **2**: 163-166.
- Ould Ahmed, M. (2009). *Caractérisation de la population des dromadaires en Tunisie (Camelus dromedarius)*. Thèse de doctorat, Institut national agronomique de Tunisie, Tunisie.
- Park, W.Y., Haenlein, G. F. W. (2006). *Handbook of milk of non-bovine mammals*. Blackwell Publishing, USA.
- Polak-Berecka, M., Wasko, A., Koston, D. (2009). Comparison of different methods for detection of antimicrobial activity of probiotic strains of *Lactobacillus rhamnosus* against some food spoilage microorganisms. *Annales Universitatis Mariae Curie – Skłodowska Lublin–Polonia*, **64**: 15-24.
- Rambaud, J.C., Buts, J.P., Corthier, G., Fleurié, B. (2004). *Flore microbienne intestinale: physiologie et pathologie digestives*. John Libbey Eurotext, Paris.
- Ramet, J. P. (1993). *La technologie des fromages au lait de dromadaire (Camelus dromedarius)*. FAO, Rome.
- Ramet, J. P. (2001). *The technology of making cheese from camel milk (Camelus dromedarius)*. FAO, Rome.
- Rihab, H., Ibtisam, E., Babiker, S. (2008). Chemical and microbial measurements of fermented camel milk “Gariss” from transhumance and nomadic herds in Sudan. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, **2**: 800-804.
- Robin J. M., Rouchy, A. (2001). Les probiotiques. *Nutrithérapie Info*
- Robinson, R. K. (2002). *Dairy Microbiology handbook: the Microbiology of milk and milk products*. John Wiley and Sons, Inc., New York.
- Salminen, S., Wright, A. V., Ouwehand, A. (2004). *Lactic acid bacteria microbiological and functional Aspects*. Marcel Dekker, Inc., U.S.A.
- Samaržija, D., Antunac, N., Havranek, J. L. (2001). Taxonomy, physiology and growth of *Lactococcus lactis*: a review. *Mljekarstvo*, **51**: 35-48.
- Sboui, A., Khorchani, T., Djegham, M., Belhadj, O. (2009). Comparaison de la composition physicochimique du lait camelin et bovin du Sud tunisien; variation du pH et de l'acidité à différentes températures. *Afrique science*, **5**: 293-304.
- Siboukeur, O. (2008). *Etude du lait camelin collecté localement: caractéristiques physico-chimiques et microbiologiques; aptitudes à la coagulation*. Thèse de doctorat, Institut national agronomique el-Harrach, Alger.

- Sukumar, G., Ghosh, A. R. (2010). Study of the probiotic potential of lactic acid bacteria isolated from a variety of Indian fermented food. *Journal of Pharmacy Research*, **3**: 2254-2257.
- Thapa, N., Pal, J., Tamang, J. P. (2006). Phenotypic identification and technological properties of lactic acid bacteria isolated from traditionally processed fish products of the Eastern Himalayas. *International Journal of Food Microbiology*, **107**: 33-38.
- Thunell, R. K. (1995). Symposium: The dairy Leuconostocs. *Journal of Dairy Science*, **78**: 2514-2522.
- Wardeh, M. F. (2004). The nutrient requirements of the dromedary camel. *Journal of Camel Science.*, **1**: 37-45.
- Wollowski, I., Rechkemmer, G., and Pool-Zobel B. L. (2001). Protective role of probiotics and prebiotics in colon cancer. *American Journal of Clinical Nutrition*, **73**: 451-455.
- Yagil, R., (1982). *Camels and camel milk*. FAO Animal Production and health paper, Rome.
- Yagil, R., Zagorski, O., van Creveld, C. and Saran, A. (1994): Science and camel's milk production. Chameaux et dromadaires, animaux laitiers. Ed. Saint Marin, G. Expansion Scientifique Francais, Paris, 75-89.
- Yateem, A., Balba, M.T., Al-Surrayai, T., Al-Mutairi, B., Al-Daher, R. (2008). Isolation of lactic acid bacteria with probiotic potential from camel milk. *International Journal of Dairy Science*, **3**: 194-199.
- Zadi Karam, H., Karam, N. E. (2006). Bactéries lactiques du lait de chamelle d'Algérie: mise en évidence de souches de *Lactococcus* résistantes au sel. *Tropicultura*, **24**: 153-156.

Résumé

L'analyse physicochimique du lait de chamelle collecté à partir d'une région steppique de sud-est algérien «M'sila», révèle une teneur en matière grasse, protéines, lactose, S.N.F et minéraux variant de (3.43-5.36%), (3.44-3.92%), (4.99-5.69%), (9.27-10.55%), (0.28-0.32%) respectivement. Il se congèle à une température comprise entre (-0.59 et -0.67°C). Sa conductivité fluctue entre (11.05 et 12.61 mS.cm⁻¹) et son pH varie de (6.42 et 6.57). À l'exception des minéraux, la composition du lait examiné s'avère riche par comparaison à celle du lait bovin et à celles de la plupart des laits de dromadaire décrites dans la littérature.

Afin de caractériser la microflore lactique du lait de chamelle, sept femelles saines ont été prélevées aseptiquement à partir de trois régions de sud-est algérien (M'sila, Biskra et l'Oued). Le lait a étéensemencé dans les milieux sélectifs (MRS et M17) d'isolement des LAB. Après identification phénotypique, les 48 isolats obtenus ont été rattachés à quatre genres qui sont par ordre de dominance: *Lactococcus* (50%), *Leuconostoc* (31.25%), *Lactobacillus* (16.66%) et *Enterococcus* (2.08%). La présence de ces genres dans le lait de chamelle a été aussi rapportée par d'autres auteurs.

Les LAB ont été testées pour leur antagonisme vis-à-vis de cinq bactéries pathogènes (*Staphylococcus aureus* ATCC: 25923, *Salmonella* sp., *Escherichia coli* ATCC: 25922, *Bacillus subtilis* et *Enterobacter cloacae*) par le test des spots sur agar. Elles ont montré une inhibition de toutes les souches pathogènes dont le diamètre varie de 7 à 32 mm.

Une souche appartenant au genre *Lactobacillus* a montré les meilleurs diamètres d'inhibition contre presque toutes les bactéries pathogènes. On l'a utilisée pour examiner son pouvoir probiotique *in vitro*. Elle a résisté à l'acidité (pH: 2 et 3 après 3h d'exposition) ainsi qu'au 0.3% (après 4h et 24h) de sels biliaires. Pour valider son utilisation en tant que probiotique il faut réaliser d'autres tests *in vitro* et *in vivo*.

Mots clés : dromadaire, lait de chamelle, composition physicochimique, bactéries lactiques, probiotique

المخلص

تم تقدير التركيب الفيزيوكيميائي لحليب نوق جلب من منطقة سهبية في الجزائر (مسيلة) بواسطة جهاز (Lactostar) حيث أظهرت نتائج تحليله احتواءه على كل من المادة الدسمة، البروتينات، اللاكتوز، S.N.F، و المعادن بالنسب التالية: (3.43 - 5.36%)، (3.44 - 3.92%)، (4.99 - 5.69%)، (9.27 - 10.55%)، (0.28 - 0.32%) على الترتيب. تتغير درجة تجمده بين (-0.59 و -0.67 °م)، أما ناقليته فتختلف بين (11.05 و 12.61 mS.cm⁻¹). كما يتميز حليب النوق ب pH حامضي نوعا ما مقارنة مع حليب البقر وهذا ما يتوافق مع القيم التي تحصلنا عليها في هذه الدراسة حيث وجد أنه يتغير بين (6.42 و 6.57). من خلال النتائج المتوصل إليها يظهر جليا أن نسب كثيرة من العناصر تفوق حليب البقر وحليب نوق أماكن أخرى من العالم، قد يعود ذلك لطبيعة المنطقة و للفترة التي تم خلالها الحلب مما يجعل منه ذو قيمة غذائية عالية. لمعرفة خصائص البكتيريا الموجودة في حليب الناقة، تم حلب سبع نوق في ظروف معقمة من ولايات تقع في الجنوب الشرقي للجزائر (مسيلة، بسكرة و الوادي). حيث عزلت 48 بكتيريا بعد زرع الحليب في أوساط خاصة ببكتيريا اللبن، ثم التعرف عليها بالاعتماد على خصائصها المورفولوجية، البيوكيميائية و الفيزيولوجية. تم تحديد أربعة أجناس بالنسب التالية: *Lactococcus* (50%)، *Leuconostoc* (31.25%)، *Lactobacillus* (16.66%) و *Enterococcus* (2.08%). هذه الأجناس قد تم عزلها في دراسات سابقة من حليب النوق. تتميز بكتيريا اللبن بتركيبها لمواد تثبط أو تقضي على البكتيريا الممرضة، قمنا باختبار ذلك بواسطة طريقة البقع على الأجار (Test des spots sur agar). أظهرت النتائج أن جميع العزلات قامت بتثبيط جميع البكتيريا الممرضة المستعملة في هذه الدراسة وهي: (*Staphylococcus aureus* ATCC: 25923، *Salmonella* sp.)،

Escherichia coli ATCC: 25922، *Bacillus subtilis* و *Enterobacter cloacae* حيث يتغير قطر هالة التثبيط بين (7 و 32 مم). من خلال الاختبار السابق تحصلنا على عزلة (O8) تنتمي إلى جنس *Lactobacillus* أظهرت نشاطية ضد بكتيرية عالية. من أجل معرفة ما إذا كانت ذات تأثير بروبيوتيك، تم معاملتها مع وسط ذو حموضة عالية (pH: 2 و pH: 3)، أيضا في وجود تركيز 0.3% من الأملاح الصفراوية. النتائج كانت إيجابية لكن يجب أن نجري عليها اختبارات أخرى للتأكد من فعاليتها.

الكلمات المفاتيح: جمل وحيد السنم، حليب النوق، التركيب الفيزيوكيميائي، بكتيريا اللبن، بروبيوتيك

Annexe 1

Composition des milieux de culture d'isolement

Gélose MRS (Fluka) (Quantité en g)

Peptone	10
Extrait de viande	8.0
Extrait de levure	4.0
D(+)-Glucose	20
Dipotassium hydrogen phosphate	2.0
Acétate de sodium trihydraté	5.0
Citrate triammonique	2.0
Sulfate de magnésium heptahydraté	0.2
Sulfate de manganèse tetrahydraté	0.05
Agar	15
Tween 80	1 ml
Eau distillée qsp	1L

pH 6.5 +/- 0.2 à 37°C. Autoclavage à 121°C pendant 15min

Gélose M17 (Pronadisa) (Quantité en g)

Glycérophosphate sodique	19
Peptone de soja	5.0
Extrait de viande	5.0
Lactose	5.0
Peptone de viande	2.5
Peptone de caséine	2.5
Extrait de levure	2.5
Acide ascorbique	0.5
Sulfate de magnésium	0.2
Agar bactériologique	12.75
Eau distillée qsp	1L

pH final: 6.9 ± 0.2 à 25°C. Autoclavage à 121°C pendant 15min

Composition des milieux d'identification

Bouillon de Reddy (Quantité en g)

Peptone	5.0
Extrait de levure	5.0
K ₂ HPO ₄	1.0
hydrochloride Arginine	5.0
Citrate de sodium	2.0
Pourpre de bromocrésol	0.002
Eau distillée qsp	1L
pH ajusté à 6.2, 5ml du milieu est distribué dans des tubes à essais de. Autoclavage (121°C-15 min)	

La production de CO₂ à partir de glucose (Quantité en g)

Peptone	10
Extrait de viande	8.0
Extrait de levure	4.0
D(+)-Glucose	20
Dipotassium hydrogen phosphate	2.0
Acétate de sodium trihydraté	5.0
Sulfate de magnésium heptahydraté	0.2
Sulfate de manganèse tetrahydraté	0.05
Agar	15
Eau distillée qsp	1L
pH : 6.2 , 10ml du milieu est distribué dans des tubes à essais de. Autoclavage (121°C-15 min)	

Résistance à 0.1% de bleu de méthylène (Quantité en g)

Lait écrémé	100
Bleu de méthylène	1
Eau distillée qsp	1L
Autoclavage à 110°C pendant 10 min	

Annexe 2

Coloration de Gram

- Réaliser un frottis bactérien et le fixer;
- colorer au violet de gentiane phénolé durant environ 1 min;
- laver à l'eau distillée (ou du robinet);
- faire agir la solution de lugol durant environ 30 secondes;
- laver à l'eau distillée (ou du robinet);
- faire agir l'éthanol à 0.95 durant 10 secondes ou faire couler l'éthanol sur la lame jusqu'à la décoloration ;
- laver à l'eau distillée (ou du robinet);
- colorer à la fuchsine phénolée de quelques secondes à 1 min selon sa concentration ;
- laver à l'eau distillée (ou du robinet);
- observer après séchage à l'immersion (objectif x100) et à pleine lumière.

Les bactéries à Gram+ absorbent la couleur du cristal violet et demeurent bleues violettes en apparence, contrairement celles à Gram- qui apparaissent distinctement rosâtres.

Annexe 3

Préparation du tampon PBS

Na ₂ HPO ₄	1.27g
NaH ₂ PO ₄	0.44g
NaCl	8g
Eau distillée qsp	1L
<hr/>	
pH final égal à 7.2	
<hr/>	