



DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par

GUERMOUD HIBA

HANSALI SOUHEYLA

Pour l'obtention du diplôme de

MASTER II EN BIOLOGIE

Spécialité: Nutrition et Santé

THÈME

Etude de l'activité antagoniste de quelques
souches de *Lactobacillus sp.* vis-à-vis de
quelques pathogènes

Soutenu publiquement le 5 /06/2016

DEVANT LE JURY

Président	BENBOUZIANE Bouasria	M.C.B	U. Mostaganem
Encadreur	CHAALEL Abdelmalek	M.C.B	U. Mostaganem
Examineurs	BOUKEZZOULA Nawal	M.A.A	U. Mostaganem

Thème réalisé au de Laboratoire des Microorganismes Bénéfiques, des Aliments Fonctionnels et de la santé -LMBAFS-

Remerciements

Nous remercions, tout d'abord dieu tout puissant de nous avoir donné la persévérance et l'obstination de parcourir notre chemin scientifique.

Nous voulons témoigner notre reconnaissance au Mr CHAALEL Abdelmalek, Maitre de conférence de l'Université de Mostaganem pour avoir encadré ce travail, nous le remercions particulièrement pour sa rigueur scientifique, son exigence, sa disponibilité et ses encouragements, durant la réalisation de ce mémoire, au sein du laboratoire de recherche micro-organisme bénéfique, des aliments fonctionnels et de la santé -LMBAFS- l'Université de Mostaganem.

**Nous tenons à remercier notre directeurs de laboratoire de -
LMBAFS-**

L'Université de Mostaganem, le Pr RIAZI Ali, de nous avoir donné l'opportunité d'effectuer notre mémoire dans son laboratoire.

Nous remercions le docteur BENBOUZIANE Bouasria. pour nous avoir fait l'honneur de Présider le jury de ce mémoire.

Nous nous sommes aussi très honorées que Mme BOUKEZZOULA Nawal. pour avoir accepté de juger notre travail.

Nous tenons à remercier l'ensemble du personnel du laboratoire, pour leur aide et, surtout, leur disponibilité.

Enfin, Nous tenons à remercier toutes les personnes qui nous ont aidées de près ou de loin durant l'élaboration de ce travail.

Dédicace

Je dédie ce mémoire :

A mon père que Dieu l'accueille en son vert paradis

Aux deux êtres les plus chers au monde qui ont souffert nuit et jour

Pour nous couvrir de leur amour : mes parents.

A ma source de bonheur la prunelle de mes yeux ma mère

Que le bon dieu vous garde en bonne santé.

A mon adorable frère : Abd Elazize

A ma sœurs : Amira

Et ma nièce : Assel .

A ma chère binôme : Sohayela

A ma chères promotion du parcours nutrition et santé

A tous mes amis qui m'ont encouragé et m'ont aidé

A l'encadreur Mr Chaalel

HJBA

Dédicaces

Je dédie ce travail à

Ma chère binôme HIBA

*Mon père Doc. HANSALI Lakhdar Tu es un pilier solide et incontournable
pour ma personne et mon parcours, que Dieu te donne la santé et longue vie*

*Ma mère, Que ce travail soit pour toi le témoignage de mon infinie
reconnaissance pour ton aide précieuse et toutes ces années de compréhension*

*Mon cher mari Mr. BOUBERIMA Hemza Pour ton soutien et ta
compréhension*

A mon beau père et ma belle mère

Mon bébé Boumedien qui a illuminé ma vie

A ma soeur Hanaa

Mes chers frères Moukhtar, Awni, El mansour et Chouaibe

Mes belles sœurs Dalila et leurs enfants (Sabrina, Maria) Hafida, Ahlam

Mes beaux-frères Mouhamed, Slimen, Tarik, Habib, Ben Abed

Leurs femmes (Souhila Khadra et Khadija) et leurs enfants

Mes belles sœurs Hafida et karima

A mon encadreur Mr Chaalel

Souheyla

Résumé

Ce travail consiste à montrer l'existence de l'effet antagoniste entre les souches lactiques du genre *Lactobacillus sp* isolées à partir de lait de chèvre et chamelle vis-à-vis quelques espèces pathogènes en investiguant les facteurs inhibiteurs impliqués par ces bactéries lactiques.

Nous avons étudié le pouvoir antagoniste des souches lactiques (L1, L2, L4, *Lactobacillus plantarum* LbM2a, *Lactobacillus rhamnosus* Bbv2, *Bifidobacterium lactis* Bb12, *Lactobacillus rhamnosus* GG, *Lactobacillus sake* LTH 673 vis-à-vis des souches pathogènes à savoir *E. coli* ATCC 10536, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853, *Bacillus cereus* ATCC 9884, *Shigella dysenteria* CECT 457, *Salmonella typhimurium*13311 ATCC, *Listeria monocytogenes* ATCC 13932 et *Carnobacterium maltoaromaticum* DSM 20722, en utilisant la méthode de diffusion en puits ADT. Leurs interactions ont conduit à l'apparition de zones d'inhibition importantes. La souche GG a conduit à l'enregistrement de la plus grande zone d'inhibition dont le diamètre est de (15 mm) vis-à-vis *Shigella dysenteria* par rapport à Bbv2 (13mm) vis-à-vis de *Listeria* et LbM2a (13mm) vis-à-vis *B. cereus*, *Lactobacillus sake* et Bb12 (11mm) vis-à-vis *Shigella dysenteria*, L4 (6mm) vis-à-vis DSM et *E. coli*, L1 (7mm) vis-à-vis de *Shigella dysenteria* et L2 (4mm) vis-à-vis de *Pseudomonas aeruginosa*.

La neutralisation des surnageants des souches *Lactobacillus* testées a révélé la persistance de l'action antagoniste chez les souches *Salmonella*, *B. cereus* ATCC 9884, *Carnobacterium maltoaromaticum*, *Listeria monocytogenes* ATCC 13932 avec un maximum enregistré de l'ordre de 13 mm exercé par la souche Bb12 vis-à-vis de *Salmonella*.

Les résultats obtenus ont montré que ces agents sont probablement des bactériocines, ce qui représente l'éventualité de les exploiter dans le futur en industrie agroalimentaire.

Mots clés : bactéries lactiques, bactéries pathogènes, *Lactobacillus*, inhibition, antagonisme, zones d'inhibition.

Summary

This work consists to show the existence of the antagonistic effect between lactic strains of the genus *Lactobacillus* sp. isolated from goat's and camel milk against several pathogenic species by investigating inhibiting factors involved in these lactic acid bacteria. We studied the antagonistic action of 8 lactic strains (L1, L2, L4, LbM2a *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus rhamnosus* Bbv2, *Bifidobacterium lactis* Bb12, *Lactobacillus rhamnosus* GG, *Lactobacillus sake* LTH 673 against the pathogenic strains :*E. coli* ATCC namely 10536, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853, *Bacillus cereus* ATCC 9884, *Shigella dysenteriae* CECT 457, *Salmonella typhimurium* ATCC 13311, *Listeria monocytogenes* ATCC 13932 and *Carnobacterium maltoaromaticum* DSM 20722, using the diffusion method ADT in wells. Their interactions has led to the emergence of significant inhibition zones, in effect, the GG strain recorded the largest inhibition zone with a diameter of about 15 mm against *Shigella dysenteriae*.

Neutralization of supernatants of the *Lactobacillus* strains tested showed the persistence of antagonistic action against *B. cereus*, *Carnobacterium maltoaromaticum* and *Listeria monocytogenes* with a maximum of 13 mm exerted by the Bb12 strain against *Salmonella typhimurium*.

The results showed that these inhibiting agents are likely bacteriocins, which represents the possibility of exploiting them in the future in food industry.

Keywords: Lactic acid bacteria, pathogenic bacteria, *Lactobacillus*, inhibition, antagonism, inhibition zones.

Liste des tableaux

<u>Tableau 1</u> :Caractéristiques biométriques de quelques populations en Algérie	6
<u>Tableau 2</u> :Caractéristiques zootechniques de quelques populations en Algérie.	7
<u>Tableau 3</u> : Composition chimique du lait de chèvre d'après	8
<u>Tableau 4</u> :Compositionminérale moyenne du lait de chèvre d'après.	10
<u>Tableau 5</u> :Composition minérale moyenne du lait de chèvre d'après Guegen (1997) principaux oligo-éléments indispensables en µg par litre.	10
<u>Tableau 6</u> : Composition vitaminiques de lait de chèvre (pour 100g)	11
<u>Tableau 7</u> : Indication sur la variation de la composition chimique du lait camelin (g/Kg) ; valeurs rapportées par différents auteurs.	15
<u>Tableau 8</u> : Composition moyenne en acide gras des laits de chamelle	16
<u>Tableau 9</u> : Composition en sels minéraux (mg/l) du lait de chamelle	17
<u>Tableau 10</u> : Composition en vitamines (µg/Kg) du lait de chamelle	18
<u>Tableau 11</u> : Caractéristiques de quelques bactéries lactiques	23
<u>Tableau 12</u> : La nature et l'origine de différentes souches lactiques utilisées	30
<u>Tableau 13</u> : Nature et l'origine de différentes souches pathogènes utilisées	31

LISTE DES FIGURES

<u>Figure 1</u> :	la carte des effectifs camelins et leur répartition en Algérie.	<u>12</u>
<u>Figure 2</u> :	la répartition géographique des populations camelines en Algérie.	<u>13</u>
<u>Figure 3</u> :	1a. Lactobacillus Rosell-11 observé au microscope électronique à transmission (M.E.T.).	<u>19</u>
<u>Figure 4</u> :	Leuco nostoc lactis observé au M.E.T.	<u>20</u>
<u>Figure 5</u> :	Arbre phylogénique des bactéries lactiques et comparaison avec les genres Aerococcus, Bacillus, Listeria et Staphylococcus.	<u>25</u>
<u>Figure 6</u> :	Principales voies du métabolisme du glucose des bactéries lactique.	<u>26</u>
<u>Figure 7</u> :	Mesure de la densité optique de chaque 2h	<u>33</u>
<u>Figure 8</u> :	Technique de dilution et de dénombrement par des spots.	<u>34</u>
<u>Figure 9</u> :	La technique de dénombrement sur milieu MRS s par méthode des spots	<u>35</u>
<u>Figure 10</u> :	Etude de l'antagonisme par la méthode de diffusion en puits ADT.	<u>37</u>
<u>Figure 11</u> :	La courbe de croissance de la souche L1 sur milieu MRS.	<u>39</u>
<u>Figure 12</u> :	Cinétique de croissance de la souche L1 sur milieu MRS (Nombre UFC/ml) pendant 24 heures d'incubation à 37 °C.	<u>39</u>
<u>Figure 13</u> :	La courbe de croissance de la souche L2 sur milieu MRS.	<u>40</u>
<u>Figure 14</u> :	Cinétique de croissance de la souche L2 sur milieu MRS (Nombre UFC/ml) pendant 24heures d'incubation à 37 °C.	<u>40</u>
<u>Figure 15</u> :	La courbe de croissance de la souche L4 sur milieu MRS.	<u>41</u>
<u>Figure 16</u> :	Cinétique de croissance de la souche L4 sur milieu MRS (Nombre UFC/ml) pendant 24 heures d'incubation à 37 °C.	<u>41</u>
<u>Figure 17</u> :	La courbe de croissance de la souche LBRE-LSAS sur milieu MRS	<u>42</u>
<u>Figure 18</u> :	Cinétique de croissance de la souche LBRE-LSAS sur milieu	

MRS (Nombre UFC/ml) pendant 24 heures
d'incubation à 37 °C. 42

Figure 19 : Dénombrement par La méthode de Guiraud des souches testées
sur milieu MRS (Nombre UFC/ml) après 24 heures
d'incubation à 37 °C. 43

Figure 20 : Variation des diamètres des zones d'inhibition des souches
lactiques Vis-à-vis de *E. coli* selon la méthode des
puits (Surnageant non neutralisés). 44

Figure 21 : Effet antagoniste souches lactique vis-à-vis d'*E. Coli* par la
méthode ADT (Surnageant non neutralisés). 44

Figure 22 : Variation des diamètres des zones d'inhibition des souches
lactiques vis-à-vis de *Listeria* selon la méthode des
puits (Surnageant non neutralisés). 45

Figure 23 : Effet antagoniste souches lactique vis-à-vis de *Listeria* par la
méthode ADT (Surnageant non neutralisés). 45

Figure 24 : Variation des diamètres des zones d'inhibition des souches
lactiques vis-à-vis de *B. cereus* selon la méthode des
puits (Surnageant non neutralisé). 46

Effet antagoniste souches lactique vis-à-vis de *B. cereus* par la
Figure 25 : méthode ADT (Surnageant non neutralisés). 46

Figure 26 : Variation des diamètres des zones d'inhibition des souches
lactiques Vis-à-vis de *Salmonella* selon la méthode
des puits (Surnageant non neutralisés). 47

- Figure 27** : Effet antagoniste souches lactique vis-à-vis de *Salmonelle* par la méthode ADT (Surnageant non neutralisés). **48**
- Figure 28** : Variation des diamètres des zones d'inhibition des souches lactiques Vis-à-vis de *Pseudomonas* selon la méthode des puits (Surnageant non neutralisés). **48**
- Figure 29** : Effet antagoniste souches lactique vis-à-vis de *Pseudomonas* par la méthode ADT (Surnageant non neutralisés). **49**
- Figure 30** : Variation des diamètres des zones d'inhibition des souches lactiques vis-à-vis de *Shigella* selon la méthode des puits (Surnageant non neutralisés). **50**
- Figure 31** : Effet antagoniste souches lactique vis-à-vis de *Shigella* par la méthode ADT (Surnageant non neutralisés). **50**
- Variation des diamètres des zones d'inhibition des souches
- Figure 32** : lactiques vis-à-vis de *Carnobacterium maltoaromaticum* DSM 20722 selon la méthode des puits (Surnageant non neutralisés). **51**
- Figure 33** : Effet antagoniste souches lactique vis-à-vis de *Carnobacterium maltoaromaticum* DSM 20722 par la méthode ADT (Surnageant non neutralisés). **52**
- Figure 34** : Variation des diamètres des zones d'inhibition des souches lactiques vis-à-vis de *Salmonella* selon la méthode des puits (Surnageant neutralisés). **53**

- Figure 35 :** Effet antagoniste souches lactique vis-à-vis de *Salmonella* par la méthode ADT (Surnageant neutralisés). 53
- Figure 36 :** Variation des diamètres des zones d'inhibition des souches lactiques vis-à-vis de *B. cereus* selon la méthode des puits (Surnageant neutralisés). 54
- Figure 37 :** Effet antagoniste souches lactique vis-à-vis de *B. cereus* par la méthode ADT (Surnageant neutralisés). 55
- Figure 38 :** Variation des diamètres des zones d'inhibition des souches lactiques Vis-à-vis de *Carnobacterium maltoaromaticum* DSM 20722 selon la méthode des puits (Surnageant neutralisés). 56
- Figure 39 :** Effet antagoniste souches lactique vis-à-vis de *Carnobacterium maltoaromaticum* DSM 20722 par la méthode ADT (Surnageant neutralisés). 56
- Figure 40 :** Variation des diamètres des zones d'inhibition des souches lactiques vis-à- vis de *Listeria* selon la méthode des puits (Surnageant neutralisés). 57
- Figure 41 :** Effet antagoniste souches lactique *Listeria* vis-à-vis de par la méthode ADT (Surnageant neutralisés). 58

LISTE DES ABBREVIATIONS

- **%** : Pourcentage
- **(Al)** : L'aluminium,
- **(As)** : L'arsenic
- **(Ca)** : Calcium
- **(Cd)** : Le cadmium
- **(Cl)** : Chlore
- **(Co)** : Cobalt
- **(Cr)** : Chrome
- **(Cu)** : Cuivre
- **(F)** : Fluor
- **(Fr)** : FER
- **(Hg)** : Mercure
- **(I)** : Iode
- **(k)** : Potassium
- **(Mg)** : Magnésium
- **(Mn)** : Manganèse
- **(Mo)** : Molybdène
- **(Na)** : Sodium
- **(p)** : Phosphore
- **(Pb)** : Le plomb
- **(S)** : Soufre
- **(Se)** : Sélénium
- **(Zn)** : Zinc
- **ADH** : Arginine déshydrogénase
- **ADN** : Acide désoxyribonucléique
- **ADP** : Adénosine diphosphate.
- **ARN** : Acide ribonucléique
- **ATP** : Adénosine triphosphate.
- **C°** : Degré Celsius
- **CO₂** : Dioxyde de carbone
- **g** : Gramme
- **h** : Heure

- **H₂O** : Hydroxyde d'hydrogène
- **H₂O₂** : Dioxyde de carbone
- **kDa** : Kilo Dalton
- **Kg** : Kilogramme
- **L.** : *Listeria*
- **LAB**: Lactic Acid Bacteria
- **Lb.** : *Lactobacillus*
- **LDH** : Lactate déshydrogénase
- **M.E.T** : Microscope électronique transmission
- **mg**: Milligramme
- **MH** : Muller Hinton
- **ml**: Millilitre
- **MRS** : De Man Rogosa et Sharp
- **N** : Normalité
- **NaCl** : Chlorure de sodium
- **NAD⁺/ NADH, H⁺** : Couple oxydant/réducteur du nicotinamide adénine dinucléotide.
- **Nm** : Nanomètre
- **PEP** : Phosphoénolpyruvate
- **pH** : Potentiel d'hydrogène
- **Pi** : Phosphate inorganique
- **PTS** : Système phosphatraférase PEP-dépendant
- **Stap.** *Staphylococcus*
- **T°** : Température
- **UFC** : Unité formant colonie

SOMMAIRE

Remerciement

Dédicace

RESUME

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction P01

CHAPITRE I. lait de chamelle et de chèvre

I. Généralité sur le lait P03

I.1. Définition du lait P03

I.2. Composition P03

I.3. Le lait de chèvre P04

I.3.1. Généralités sur le caprin P04

I.3.2. Taxonomie selon P07

I.3.3. Localisation et effectif P07

I.3.4. Composition du lait de chèvre P11

I.4. Le lait de chamelle P11

I.4.1. Généralités sur le dromadaire P11

I.4.2. Localisation et effectif P12

I.4. 3. Taxonomie P14

CHAPITRE II. Les bactéries lactiques

II.1. Généralité sur les bactéries lactiques P19

II.1.1. Définition des bactéries lactiques P19

II.1.2. Caractéristiques générales P20

II.2. Habitat P21

II. 3. Diversité et taxonomie P20

II.4. Voies métaboliques P26

II.4.1. Les voies fermentaires des bactéries lactiques P26

II.4.1.1. La voie homofermentaire ou EMP P26

II.4.1.2. La voie hétérofermentaire ou voie des pentoses phosphate P26

II.5. Rôle et intérêt des bactéries lactiques P28

II.5.1. Domaine alimentaire P28

II.5.1.1. Rôle sur la structure et la texture.....	P28
II.5.1.2. rôle dans la conservation.....	P28
II.5.1.3. Rôles sur les caractéristiques organoleptiques.....	P28
II.5.2. Domaine de santé.....	P28
II.5.3. Les bactéries lactiques comme probiotiques.....	P29
II.5.3.1 Définitions.....	P29
II.5.3.2. Applications des probiotiques.....	P29
CHAPITRE III : Matériel et méthodes	
III.1. L'objectif du travail.....	P30
III.2. Lieu de l'étude	P30
III. 3. Les souches bactériennes	P30
III.3.1. Les souches lactiques	P30
III.3.2. Les souches pathogènes.....	P31
III.4. Matériels.....	P31
III.4.1. Appareillage	P31
III.4.2. Verrerie et petit matériel	P32
III.4.3. Milieux De Culture	P32
III.5. Méthodes	P32
III.5.1. Réactivation des souches	P32
III.5.2. Cinétique de croissance des souches expérimentales	P33
III.5.3. Dénombrement des souches expérimentales	P33
III.5 .4. Pouvoir antibactérien de la souche	P35
III.5.5. Détermination de la nature des substances inhibitrices chez les souches isolé	P38
CHAPITRE IV : Résultats et discussion	
VI.1. La cinétique de croissance et le dénombrement des souches lactique	P39
VI.1.1. La cinétique de croissance de la souche L1	P39
VI.1.2. Dénombrement de la souche L1	P39
VI.1.3. La cinétique de croissance de la souche L2	P40
VI.1.4. Dénombrement de la souche L2	P40
VI.1.5. La cinétique de croissance de la souche L4	P41
VI.1.6. Dénombrement de la souche L1	P41
VI.1.7. La cinétique de croissance de la souche LBRE-LSAS	P42
VI.1.8. Dénombrement de la souche LBRE-LSAS	P42

VI.2. La méthode de diffusion en puits ADT (Agar Well Diffusion Test)	P44
VI.2.1. Le teste avec surnagent non neutralisés	P44
VI.2.1.1. Antagonisme des souches lactique vis-à-vis d'E. coli par la technique ADT Agar Well Diffusion Test)	P44
VI.2.1.2. Antagonisme des souches lactique vis-à-vis de Listeria par la technique ADT (Agar Well Diffusion Test)	P45
VI.2.1.3. Antagonisme des souches lactique vis-à-vis de B. cereus par la technique ADT (Agar Well Diffusion Test)	P47
VI.2.1.4. Antagonisme des souches lactique vis-à-vis De Salmonella par la technique ADT (Agar Well Diffusion Test)	P48
VI.2.1.5. Antagonisme des souches lactique vis-à-vis De Pseudomonas par la technique ADT (Agar Well Diffusion Test)	P49
VI.2.1.6. Antagonisme des souches lactique vis-à-vis De Shigella par la technique ADT (Agar Well Diffusion Test)	P51
VI.2.1.7. Antagonisme des souches lactique vis-à-vis de Carnobacterium maltoaromaticum DSM 20722 par la technique ADT (Agar Well Diffusion Test)	P52
VI.2.2. Activité antagoniste avec surnageant neutralisés	P53
VI.2.2.1. Antagonisme des souches lactique vis-à-vis De Salmonella par la technique ADT (Agar Well Diffusion Test)	P54
VI.2.2.2. Antagonisme des souches lactique vis-à-vis de B. cereus par la technique ADT (Agar Well Diffusion Test)	P55
VI.2.2.3. Antagonisme des souches lactique vis-à-vis de Carnobacterium maltoaromaticum DSM20722 par la technique ADT (Agar Well Diffusion Test)	P57
VI.2.2.4. Antagonisme des souches lactique vis-à-vis de Lestria monocytogenes ATCC13932 par la technique ADT (Agar Well Diffusion Test)	P58

Conclusion

Annexe

INTRODUCTION

Le lait occupe une place stratégique dans l'alimentation quotidienne de l'homme, de par sa composition équilibrée en nutriments de base (protéines, glucides et lipides) et sa richesse en vitamines et en minéraux, notamment en calcium alimentaire.

De nos jours, les besoins en lait sont de plus en plus importants vu que ce produit peut être consommé à l'état frais, mais aussi sous forme pasteurisé, stérilisé ou transformé en produits dérivés.

Le lait est un aliment dont la durée de vie est très limitée. En effet, son pH, voisin de la neutralité, le rend très facilement altérable par les micro-organismes et les enzymes. Sa richesse et sa fragilité en font un milieu idéal de reproduction pour nombreux microorganismes tels que les moisissures, les levures et les bactéries. Bien que ces microorganismes soient le principal facteur de dégradation du lait, ils sont historiquement utilisés dans sa transformation et sa conservation ([Maurizio, 1932](#)).

Depuis toujours les bactéries sont présentes dans notre alimentation, certaines d'entre elles, dont les bactéries lactiques, sont utiles, d'autres comme les bactéries pathogènes, ne le sont pas ces dernières sont très nombreuses. Elles posent beaucoup de problèmes car en plus de causer diverses maladies elles peuvent altérer et dégrader la nourriture.

Les bactéries lactiques sont connues par leur capacité d'inhiber le développement de bactéries pathogènes et de détérioration dans les aliments. Cette capacité d'antagonisme est attribuées à la production de deux types de métabolites antimicrobiens :

Les inhibiteurs non spécifiques comme les acides organiques (acide lactique, acide acétique... etc.) ([Bourgeois et al., 1996](#)), le peroxyde d'hydrogène et des inhibiteurs spécifiques tels que les bactériocines ([Klaenhammer, 1993](#)).

Les bactéries lactiques sont largement utilisées dans la fermentation de différents aliments. Leurs capacités à produire des acides organiques accompagnés de

l'abaissement du pH est le majeur facteur par lequel ces dernières inhibent la croissance des autres microorganismes concurrents.

D'autres métabolites tels que le peroxyde d'hydrogène, l'alcool et le diacetyl synthétisés par les bactéries lactiques peuvent aussi contribuer à la préservation des produits alimentaires. De plus, ces dernières peuvent synthétiser des composés inhibiteurs de nature protéique appelés bactériocines.

Dans ce contexte ce travail consiste à rechercher l'activité antagoniste des souches Lactiques appartenant au genre *Lactobacillus* et isolées à partir de laits de chamelles et de chèvres vis-à-vis d'une gamme de bactéries pathogènes.

Notre travail consiste à :

- A investiguer l'effet antagoniste des souches Lactobacilles vis-à-vis des 7 bactéries pathogènes.
- Dans la deuxième partie, nous allons déterminer la nature du facteur inhibiteur : acide ou bactériocines.
- Enfin, nous allons étudier la durée de vie de ces bactéries lactique en étudiant leur cinétique de croissance.

I. CHAPITRE I: Lait de chamelle et de chèvre

I.1. Définition du lait

Le lait est une sécrétion mammaire normale d'animaux de traite obtenue à partir d'une ou de plusieurs traites sans y ajouter ou en soustraire, destinée à la consommation comme lait liquide ou à un traitement ultérieur (FAO, 2001).

Le lait est un liquide sécrété par les glandes mammaires des femelles mammifères après la naissance du jeune. C'est un liquide de composition complexe, blanc et opaque, d'une saveur douce, d'une réaction ionique (pH) voisin de la neutralité. La fonction naturelle du lait est d'être un aliment exclusif des jeunes mammifères pendant la période critique de leur existence, après la naissance, alors que la croissance est rapide et qu'il ne peut lui être substitué d'autres aliments. La grande complexité de la composition du lait répond à cette fonction (Alais, 1984 ; Amiot *et al.*, 2002).

Selon le congrès international pour la répression des fraudes alimentaires, tenu à Genève en 1908, « le lait est le produit intégral de la traite totale et ininterrompue d'une femelle laitière ; (vache, jument, chèvre, brebis, etc.), bien portante, bien nourrie et non surmenée. Il doit être recueilli proprement et ne doit pas contenir de colostrum » (Desjeux, 1993 ; Boudier et Luquet, 1981).

Jeantet *et al.* (2008) rapportent que le lait doit être en outre collecté dans de bonnes conditions hygiéniques et présenter toutes les garanties sanitaires. Il peut être commercialisé en l'état mais le plus souvent après avoir subi des traitements de standardisation lipidique et microbienne pour limiter les risques hygiéniques et assurer une plus longue conservation.

I.2. Composition

Franworth et Mainville (2010) évoquent que le lait est reconnu depuis longtemps comme étant un aliment bon pour la santé. Source de calcium et de protéines, il peut être ajouté à notre régime sous plusieurs formes.

Les laits sont les seuls aliments naturels complets qui existent, chacun d'eux étant adapté à la race qu'il permet de développer (Mittaine, 1980).

Selon [Favier \(1985\)](#) le lait est une source importante de protéines de très bonne qualité, riches en acides aminés essentiels, tout particulièrement en lysine qui est par excellence l'acide aminé de la croissance. Ses lipides, caractérisés par rapport aux autres corps gras alimentaires par une forte proportion d'acides gras à chaîne courte, sont beaucoup plus riches en acides gras saturés qu'en acides gras insaturés. Ils véhiculent par ailleurs des quantités appréciables de cholestérol et de vitamine A ainsi que de faibles quantités de vitamine D et E. Les principaux constituants du lait par ordre croissant selon [Pougheon et Goursaud \(2001\)](#) sont :

- L'eau, très majoritaire,
- Les glucides principalement représentés par le lactose,
- Les lipides, essentiellement des triglycérides rassemblés en globules gras,
- Les sels minéraux à l'état ionique et moléculaire,
- Les protéines, caséines rassemblées en micelles, albumines et globulines solubles,
- Les éléments à l'état de trace mais au rôle biologique important, enzymes, vitamines et oligoéléments.

[Fredot \(2006\)](#) rappelle que le lait est constitué de quatre phases :

- Une émulsion de matières grasses ou phase grasse constituée de globules gras et de vitamines liposolubles (A, D).
- Une phase colloïdale qui est une suspension de caséines sous forme de micelle.
- Une phase aqueuse qui contient les constituants solubles du lait (protéines solubles,
- lactose, vitamines B et C, sels minéraux, azote non protéique).
- Une phase gazeuse composée d'O₂, d'azote et de CO₂ dissous qui représentent environ 5 % du volume du lait.

Suivant les espèces animales et les races au sein d'une même espèce ; elle varie également chez une même laitière en fonction de la période de la lactation et de l'alimentation. C'est pour cette raison qu'on ne peut parler que de compositions moyennes ([Pellerin, 2001](#) ; [Hadadji, 2006](#)).

I.3. Le lait de chèvre

I.3.1. Généralités sur le caprin

Domestiqué il y a plus de 1000 ans avant Jésus-Christ, la chèvre (*Capra Hircus*), est réputée pour sa rusticité. C'est un animal adapté aux conditions rudes et à la sécheresse (Shkolnik *et al.*, 1980).

L'espèce *Capra Hircus* se présente en Algérie sous la forme d'une mosaïque de populations très variées appartenant toutes à des populations traditionnelles.

Elle comprend en plus de ces populations locales, à sang généralement Nubien, des animaux mélangés aux sangs issus de races standardisées.

D'après (Hellal, 1986 ; Dekkiche, 1987 ; Sebaa, 1992 ; Takoucht, 1998 ; Feliachi, 2003) La population caprine d'Algérie renferme quatre types majeurs : La race Arabia, la race Makatia, la Naine de Kabylie et la chèvre du M'zab, auxquelles s'ajoute le cheptel importé (notamment races Alpine et Saanen) et les produits de croisements (Tableau 1).

- **La race Arbia** : La plus dominante de ces populations est la chèvre Arabe dite population Arabo-maghrébine. Elle se localise en zone steppique ou semi steppique et présente un format peu développé, brun foncé et dépourvue de cornes. Au niveau du phénotype elle manifeste des caractères plus homogènes : Robe noire à long poils, pattes blanches au-dessus du genou, raies blanches et fauves sur visage, taches blanches à l'arrière des cuisses. Cet animal est parfaitement adapté aux contraintes des parcours et semble posséder de bonnes aptitudes de reproduction.
- **La race Makatia** : Aux caractères assez hétérogènes, robe polychrome aux poils courts, oreilles tombantes, la race Makatia semble être le produit de multiples croisements réalisés à partir de race est peu résistante sur parcours et son intérêt réside dans sa production laitière et son adaptation et son adaptation à l'environnement.
- **La chèvre du M'zab** : Elle se retrouve surtout dans le sud, est une bonne laitière et très fertile. Cette race est très appréciée dans l'est méditerranéen pour ses capacités laitières et fait partie du rameau Nubio-Syrien. La race **MOZABITE** est très intéressante du point de vue production laitière (2,56 Kg/j) (Tableau 2).

- **La race Kabyle** : C'est une chèvre autochtone qui peuple les massifs montagneux de la Kabylie et de l'Aurès. Elle est robuste et massive, de petite taille, de couleur noirâtre ou blanchâtre avec de longs poils, c'est une mauvaise laitière qui est appréciée pour sa viande (Feliachi, 2003).

Tableau 1: Caractéristiques biométriques de quelques populations en Algérie (Kerba, 1995).

Races	Principale localisation	Hauteur au garrot moyen (cm) Mâles	Hauteur au garrot moyen (cm) Femelles	Couleurs principales	Caractères particuliers
La ARBIA	Région de laghouat	70	67	Noire	Front droit Poils longs Oreilles tombantes
La MAKATIA	Hauts plateaux	72	63	Couleurs variés	Taille grande Poils courts Pendeloques et barbe courantes
La KABYLE	Montagnes de kabylie et dahra	68	55	Unicolore et multicolores Noire et brune	Petite taille Poils longs Oreilles longues
La MOZABITE	Metliti et region de ghardaia	68	65	Unicolore chamoisée dominante	Type nubien Oreilles longues Et tombantes

Tableau 2 : Caractéristiques zootechniques de quelques populations en Algérie (Kerba, 1995).

Races	Durée de lactation (en jours)	Production laitière par Lactation (en Kg)
<i>L'ARBIA</i>	150	220
<i>La MAKATIA</i>	120	80
<i>La KABYLE</i>	150	105
<i>La MOZABITE</i>	180	460

I.3.2. Taxonomie selon Wilson et Reeder (2005)

- Règne : *Animalia*
- Embranchement : *Chordata*
- Classe : *Mammalia*
- Ordre : *Artiodactyla*
- Famille : *Bovidae*
- Sous-famille : *Caprinae*
- Genre : *Capra*

I.3.3. Localisation et effectif

Pour les trois pays du Maghreb (Tunisie, Algérie, Maroc), l'élevage caprin est pratiqué par la quasi-totalité des foyers ruraux, les chiffres suggèrent que plus d'un tiers des foyers tunisiens, la moitié des foyers marocains et trois quarts des foyers algériens sont concernés (Chiche, 1999).

Cet élevage constitue 26% du produit brut agricole du Maroc 30% celui de la Tunisie et 50% celui de l'Algérie (Chiche, 1999).

I.3.4. Composition du lait de chèvre

➤ Eau :

D'après [Amiot et al. \(2002\)](#), l'eau est le constituant le plus important du lait, en proportion. La présence d'un dipôle et de doublets d'électrons libres lui confère un caractère polaire. Ce caractère polaire lui permet de former une solution vraie avec les substances polaires telles que les glucides, les minéraux et une solution colloïdale avec les protéines hydrophiles du sérum. Puisque les matières grasses possèdent un caractère non polaire (ou hydrophobe), elles ne pourront se dissoudre et formeront une émulsion du type huile dans l'eau. Il en est de même pour les micelles de caséines qui formeront une suspension colloïdale puisqu'elles sont solides.

Le lait de chèvre est constitué de 90% de l'eau ([Tableau 3](#)) mais il existe quelques variations quant à la teneur en matière sèche : le lait de chèvre en contient environ 136 grammes par kilogramme (g/kg) de lait ([Brugère, 2003](#)).

Tableau 3 : Composition chimique du lait de chèvre d'après [Guegen \(1997\)](#)

Composants chimiques	Lait de chèvre (g/l)
Eau	900
Matière protéique	30.8
Matière grasse	34.4
Lactose	48
Calcium	1.25
Phosphore	0.95

➤ Matière azotée :

Les matières azotées du lait de chèvre représentent environ (30,85g/Kg); elles sont constituées à 92% par des protéines et à 8% par de l'azote non protéique. Les protéines sont composées à 25% par des protéines solubles non coagulables (albumine, globulines) qui ne participent pas à la formation du caillé. Il y a également des protéines coagulables (75%) représentées par les caséines indispensables à la formation du coagulum ([Mietton, 1986](#)) La valeur nutritionnelle des protéines

caprines est excellente car elles contiennent tous les acides aminés indispensables à l'organisme en proportions satisfaisantes (Le Mens, 1985).

➤ **Matière grasse :**

La matière grasse par sa seule présence et par les transformations qu'elle subit joue un rôle déterminant sur les qualités organoleptiques des fromages. Outre son influence sur la texture, elle a un rôle de solvant des composants aromatiques.

Le taux de matière grasse ou taux butyrique moyen dans le lait de chèvre est de 33g/Kg. Elle est constituée en majorité de triglycérides, en effet ils représentent 97% de la matière grasse totale, les mono- et les diglycérides ne représentent que 0,5 %. La matière grasse du lait de chèvre est produite principalement à partir des acides gras volatils (acides acétique et butyrique). Le premier est formé principalement à partir des glucides pariétaux des fourrages (cellulose) et le second à partir des glucides rapidement fermentescibles.

L'absence de bêta-carotène confère à la matière grasse du lait de chèvre et aux produits laitiers caprins une blancheur caractéristique. La matière grasse est très altérable : au niveau de la fixation des odeurs, du rancissement, et de l'oxydation (Grappin *et al.*, 1981).

➤ **Teneur en sucre :**

Le lait de chèvre contient un sucre particulier : le lactose. Sa teneur varie en fonction du stade de lactation entre 44 et 47 g/L (Le Mens, 1985).

Le lactose est indispensable lors de la fabrication fromagère, en effet le lactose est dégradé par les bactéries lactiques en acide lactique. Cette acidification est préalable à la coagulation du lait. Cet acide est éliminé dans le lactosérum (Gauzère *et al.*, 2004).

➤ **Minéraux :**

Le lait de chèvre, comme celui des autres espèces de mammifères, contient tous les éléments minéraux indisponibles que l'on classe habituellement en macroéléments :

Calcium (Ca), phosphore (P), magnésium (Mg), sodium (Na), potassium (K), chlore (Cl), soufre (S) et en oligoéléments : fer (Fr), zinc (Zn), cuivre (Cu), manganèse (Mn), iode (I), sélénium (Se), molybdène (Mo), chrome (Cr), cobalt (Co), fluor (F) (Tableau 4). Il s'y trouve aussi, à dose très faibles quelques éléments indésirables comme le plomb (Pb), le mercure (Hg), Le cadmium (Cd), l'arsenic (As), l'aluminium (Al), etc. et des radionucléides provenant de contaminations.

La composition minérale du lait de chèvre est légèrement plus riche en P et Na et nettement plus riche en Cl et surtout en Ca et K (Tableau 5) (Guegen, 1997).

Tableau 4: Composition minérale moyenne du lait de chèvre d'après (Guegen, 1997).
(Éléments minéraux majeurs en mg par litre).

Composition minérale	Quantité (mg/L)
Calcium	1260
Phosphore	970
Potassium	1900
Sodium	380
Chlore	1600
Magnésium	130

Tableau 5: Composition minérale moyenne du lait de chèvre d'après Guegen (1997)
principaux oligo-éléments indispensables en µg par litre.

Composition minérale	Quantité en µg/l
Zinc	3400
Fer	550
Cuivre	300
Manganèse	800
Iode	80
Sélénium	20

➤ **Vitamines :**

Selon [Vignola \(2002\)](#), les vitamines sont des substances biologiquement indispensables à la vie puisqu'elles participent comme cofacteurs dans les réactions enzymatiques et dans les échanges à l'échelle des membranes cellulaires.

Le lait de chèvre est riche en vitamines B 1, B 2 et B 3, B 5, B 6 et B 8. Le lait de chèvre est particulièrement pauvre en vitamine A, ce qui lui donne une coloration plus blanche que les autres laits ([Tableau 6](#)) ([Brugère, 2003](#)).

Le lait de chèvre ne contient pas de carotènes mais uniquement du rétinol ([Christel, 2010](#)).

Tableau 6: Composition vitaminiques de lait de chèvre (pour 100g) ([Grandpierre et al., 1988](#)).

Vitamines liposolubles	Quantité
A rétinol	0.040mg
Carotène	00mg
D	0.06mg
E tocophérol	0.04mg
Vitamines hydrosolubles	
B1	0.05mg
B2	0.14mg
B3	0.27mg
B5	0.31mg
B6	.05mg
B8	2.0µg
B9	1.0 µg
B12	0.06 µg
Acide ascorbique	1.3mg

I.4. Le lait de chamelle

I.4.1. Généralités sur le dromadaire

Le dromadaire s'est révélé à l'animal le mieux adapté à la zone aride, affrontée depuis une trentaine d'années à des sécheresses répétées.

Il est aussi le dérivé du terme grecque « dromados » qui veut dire course. Il est donné à l'espèce de chameau à une seule bosse ([Siboukeur, 2007](#)).

Les dromadaires d'Algérie appartiennent à la famille des camélidés, qui sont des mammifères artiodactyles d'origine nord-américaine, mais ils ont disparu de ce continent alors qu'ils se répandaient en Amérique du Sud, en Asie, puis en Afrique,

continents où ils ont survécu pour donner naissance aux espèces modernes (Ben aissa, 1989).

I.4.2. Localisation et effectif

La chamelle est répartie sur 17 wilayas (Figure 1), avec près de 92% soit 155961 têtes dans les huit wilayas sahariennes (Ouargla Ghardaia, El-Oued, Tamanrasset, Illizi, Adrar, Tindouf et Béchar), et les 8% restant (12511 têtes) dans les neuf Wilayas steppiques (Biskra, Tebessa, Khenchela, Batna, Djelfa, El-Bayad, Naâma, Laghouat et M'sila) (M.A.D.R, 2006).

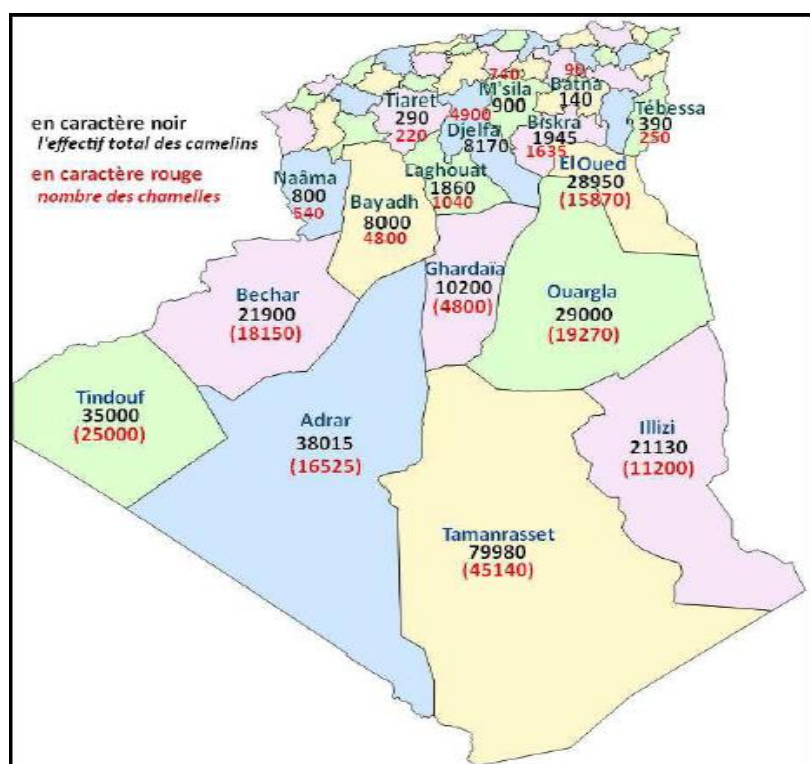
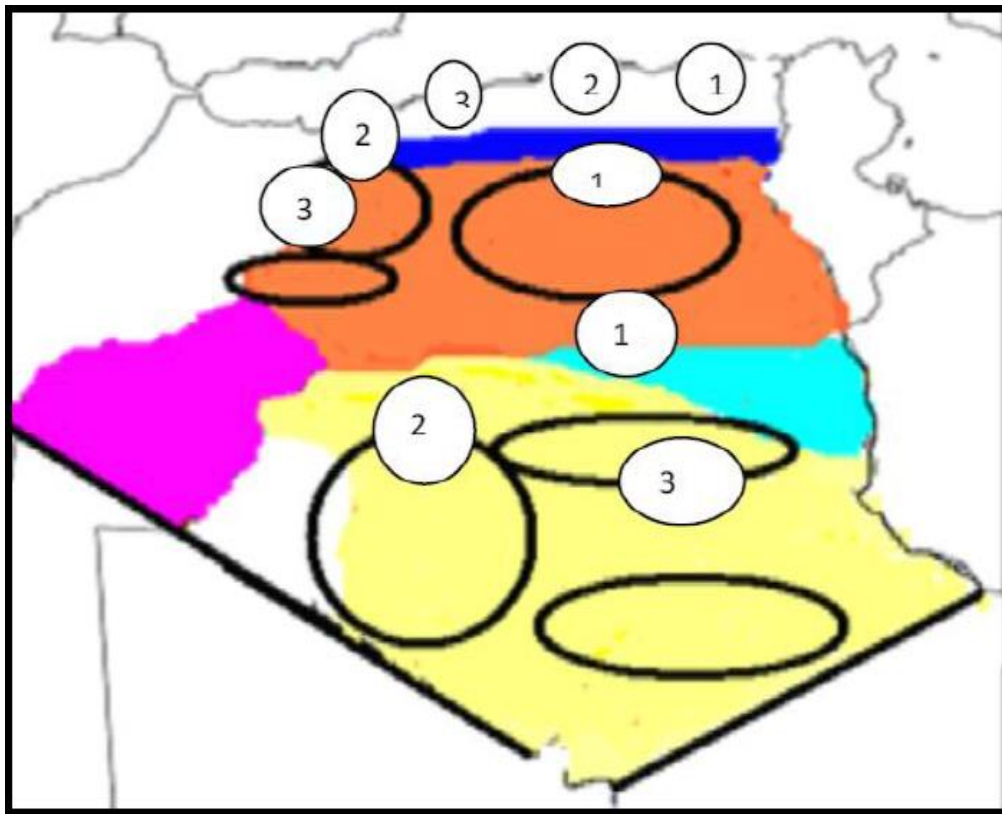


Figure 1: La carte des effectifs camelins et leur répartition en Algérie (Laameche, 2010).

Ben-aissa (1989) rapporte la présence de plusieurs races camelines en Algérie à savoir Dromadaire des steppes, Chaâmbi, Ouled Sidi-Cheikh, Sahraoui, Ait Khebach, Targui, Ajjer, Reguibi et la race Aftouh.

Alors que (Ouled belkhir, 2008), parle de population dont il les a regroupé en quatre (04) groupes (Figure 2).

- **Telli** ou le dromadaire de la steppe (Ait Khebach, Oulad Naïl et Aftouh),
- **Sahraoui** (Chaâmbi, Chaâmbi béni Abbas, Ouled Sidi-Cheikh et Sahraoui),
- **Reguibi**
- **Targui** (Amenas Nahaguar - dromadaire du Hoggar- Amenas N'Tamesna – dromadaire du Tamesna- et Amenas Nadghagh - dromadaire d'Adrar -).



- Population Sahraoui (1-Chambi ; 2-Oulad sidi-chikh ; 3-Chambi de beni-abbas)
- Population Targui (1-Amenas-Nhaggar « les dromadaires de Hoggar » ; 2-Amenas stamesna « les dromadaires de tamesna » ; 3-Amenas nadghagh « les dromadaires d'adghagh »)
- Population de Telli « population de steppe » (1-Ait khebach ; 2-Ouled Nail ; 3-Ftough).
- Population de Reguibi
- Population Araba

Figure 2: La répartition géographique des populations camelines en Algérie (Ouled belkheir, 2008).

I.4. 3. Taxonomie

La taxonomie du dromadaire selon [Wilson \(1984\)](#) est la suivante:

Règne : Animalia

Embranchement : Chordata

Classe : Mammalia

Ordre : Artiodactyla

Sous ordre : Tylopoda

Famille : Camelidae

Sous famille : Camelinae

Genre : *Camelus*

Espèce : *Camelus dromedarius*

I.4.1. Composition du lait de chamelle

Le lait de dromadaire est un liquide blanc opaque, de gout sucré selon le type d'alimentation et la disponibilité en eau ([Farah, 1993](#)).

La composition chimique globale du lait de chamelle ([Tableau 7](#)), même si elle change selon les auteurs (donc selon les animaux et l'environnement considéré), montre néanmoins des teneurs importantes et équilibrées en nutriments de base (protéines, matière grasse et lactose) ([Siboukeur, 2007](#)).

Tableau 7: Indication sur la variation de la composition chimique du lait camelin (g/Kg) ; valeurs rapportées par différents auteurs.

Extrait sec total	Matière grasse	Matières Azotées totales	Cendres	Références
144	55	34	9	Knoess,(1977)
98	32	42	6	Deasal et al.(1982)
119	36	44	8	Sawaya et al. (1984)
130	33	56	8	Gnana et al. (1986)
134	32	48	7	Abedel-Rahim, (1987)
113	33	47	9	Abu-lehia, (1987)
110	35	39	8	Hassan et al. (1987)
142	38	55	8	Abu-lehia, (1989)
122	32	52	8	Farah et Ruegg, (1989)
119	32	45	8	Mehaia et al-kanhal, (1992)
134	36	55	8	Bayoumi,(1990)
109.5	31.5	28	8.3	Elamin et Wilcox,(1992)
113.5	32.2	29.5	7.9	Mehaia et wilcox (1992)
128	34.5	31.5	9.5	Attia et al. (2000)

➤ **Eau :**

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

➤ **Matière azotée :**

Selon [Siboukeur \(2007\)](#) la fraction azotée du lait de chamelle, est répartie en deux sous fractions : l'azote protéique et l'azote non protéique.

La première fraction azotée protéique représente 90 à 95% de l'azote total du lait de chamelle. La deuxième fraction azotée non protéique, qui représente 5 à 10%, est environ deux fois plus élevée que celle généralement retrouvée dans le lait de vache, cette dernière fraction est caractérisée par une haute valeur biologique qui est due à sa

richesse en acides aminés libres, en nucléotides et en certains précurseurs de vitamines ainsi que des peptides, de l'acide urique, de l'urée, de la créatine, ...etc.

➤ **Matière grasse :**

Comme dans le lait des autres espèces de mammifères, la fraction lipidique du lait camelin est constituée essentiellement de triglycérides, qui représentent 97 à 98% de la matière grasse totale. La composition (Tableau 8) fait ressortir une faible teneur en acides gras à chaîne courte et moyenne (de C4 à C12), et une teneur relativement élevée en C14 : 0, C16 : 1, C18 : 0 et C18 : 1. Ces résultats confortent la bonne digestibilité de cette matière grasse, critère relativement important sur le plan nutritionnel (Farah et Ruegg, 1989).

Tableau 8 : Composition moyenne en acide gras des laits de chamelle (Attia *et al.*, 2000).

Nature des acides gras	Teneur (g/kg)
C 4 :0	0.60
C 6 :0	0.22
C 8 :0	0.21
C 10 :0	0.25
C 12 :0	1.19
C 14 :0	13.11
C 14 :	0.70
C 15 :0	0.10
C 16 :0	31.45
C 16 :1	11.62
C 18 :0	16.12
C 18 :1	20.70
C 18 :2	1.91
C 18 :3	1.33
C 20 :0	0.49
C4-C12 :	2.47
Insaturé/Saturé	0.57

➤ **Minéraux :**

Les sels minéraux présents dans le lait de chamelle ([Tableau 9](#)) sont diversifiés on y dénombre en effet des macros et des oligo-éléments qui se trouvent sous forme de sels (phosphates, chlorures et citrates) ou de métaux divers (sodium, potassium, magnésium, calcium, fer, cuivre, zinc...etc.) ([Cité in Elamin et Wilcox, 1992](#)) [Farah \(1993\)](#), a rapporté que la variation de la composition minérale du lait camelin est influencée par la saison, l'état sanitaire de la mamelle et le stade de lactation.

Tableau 9: Composition en sels minéraux (mg/l) du lait de chamelle ([cité in par Siboukeur., 2007](#)).

Ca	Mg	P	Na	K	Fe	Zn	Cu	Mn	I	Pb	Références
300	45	--	431	725	2.8	--	--	--	--	1.8	Elamin et Wilcox, (1992)
1462	108	784	902	2110	3.4	2.9	0.1	2.0	0.1	--	Bengoumi et al., (1994)
1180	125	889	688	1464	2.34	6.00	1.42	0.80	--	--	Mehaia et al. (1995)
1182	74	769	581	1704	1.3	5	--	0.1	--	--	Gorban et Izzeldin, (1997)
1230	90	1020	660	1720	--	--	--	--	--	--	Attia et al., (2000)

N.B : (--) : non déterminé

➤ **Vitamines :**

Le lait de chamelle se singularise par sa richesse relative en vitamines B3 (niacine) et en vitamine C ([Tableau 10](#)). Cette caractéristique est particulièrement intéressante, car elle permet au lait de cette espèce, par son apport important en cette vitamine, de répondre aux besoins nutritionnels, aussi bien du jeune chamelon que des populations locales, qui vivent dans un environnement où l'apport en ce type de vitamine est

particulièrement limité (Siboukeur, 2007). Elle expliquerait également l'utilisation du lait de dromadaire comme « médicament » dans certains pays asiatiques pour stimuler les fonctions du foie et lutter contre la fatigue générale (Farah *et al.*, 1993).

Tableau 10: Composition en vitamines ($\mu\text{g}/\text{Kg}$) du lait de chamelle (cité in par Siboukeur, 2007)

Nature des vitamines	Lait de chamelle		
	Sawaya <i>et al.</i> (1984)	Farah <i>et al.</i> (1992)	Kappeler (1998)
A (Rétinol)	150	100	150
B1 (Thiamine)	330	-	600
B2 (Riboflavine)	416	570	800
B3 (Niacine)	4610	-	4600
B6 (Pyridoxine)	523	-	520
B12 (Cobalamine)	1.5	-	2
B9 (Acide folique)	4.1	-	4
E (Tocophérol)	-	560	530
C (Acide ascorbique)*	24	37	24-36

N.B : (-) : non déterminé ; (*) : en mg / kg

CHAPITRE II: Les bactéries lactiques

II. Les bactéries lactiques

II.1. Généralité sur les bactéries lactiques

II.1.1. Définition des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques regroupent un ensemble d'espèces hétérogènes (Labiouiet *et al.*, 2005), elles sont devenues les principaux candidats probiotiques et bénéficient d'un statut GRAS (Generally Regarded As Safe) (Ait Belganaoui, 2006).

Les bactéries lactiques interviennent dans l'industrie laitière et dans la fermentation de nombreux autres produits alimentaires : saumurage des légumes, boulangerie, fabrication de vin, saurissage des poissons, des viandes etc..., en contribuant à la texture, à la saveur des aliments et à la production de composés aromatiques (Callewaert *et al.*, 2000).

Elles fermentent les glucides en acide lactique d'où une diminution du pH favorable à la bio-conservation des denrées alimentaires (Carmen *et al.*, 2000).

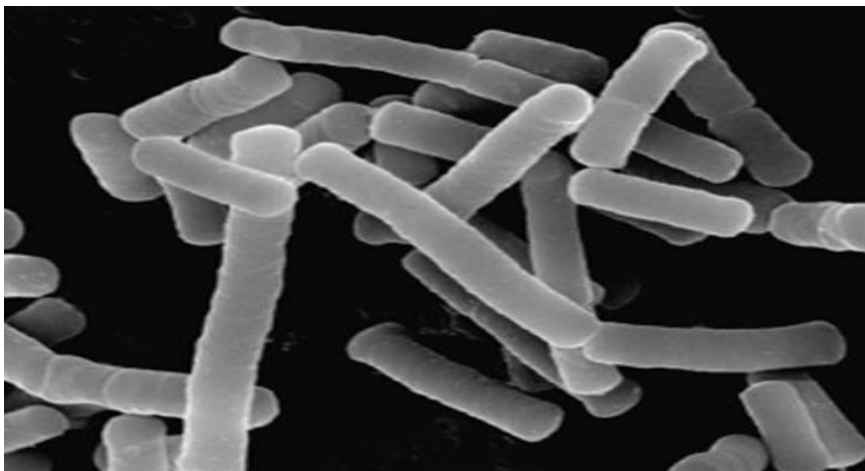


Figure 3 : *Lactobacillus* Rosell-11 observé au microscope électronique transmission (M.E.T.) (x10000).
(http://www.institutrosell.com/uploads/images/souches/lactobacillusR52_big.jpg).

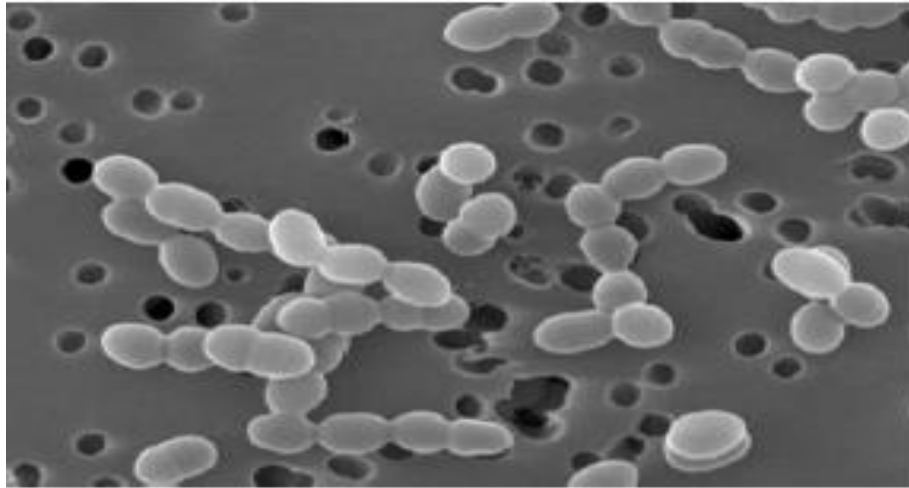


Figure 4: *Leuconostoc lactis* observé au M.E.T. (x 10000)
(<http://www.oocities.com/cheezyfr/photos/Leuconostoc.jpg>).

II.1.2. Caractéristiques générales

Les bactéries lactiques sont un groupe de bacilles ou coccobacilles à Gram positif qui ont moins de 55 mol % de contenu G+C dans leur ADN (à l'exception des bifidobactéries (Ammour, 2004). ce sont des procaryotes, hétérotrophes et chimio-organotrophes.

A quelques exceptions près, les bactéries lactiques sont généralement Gram positif, immobiles, asporulées, anaérobies mais aérotolérantes, et ne possédant pas de catalase (certaines souches possèdent une pseudocatalase), de nitrate réductase et de cytochrome oxydase. Elles ont des exigences nutritionnelles nombreuses (acides aminés, peptides, sels, acides gras et glucides) (Holzapfel *et al.*, 2001 ; Gevers, 2002). Toutes les bactéries lactiques en utilisant les glucides, elles peuvent produire soit de :

- L'acide lactique exclusivement (bactéries homolactiques strictes)
- L'acide lactique et de l'acide acétique (bactéries hétérolactiques facultatives)
- L'acide lactique, de l'acide acétique ou de l'éthanol et de CO₂ (bactéries hétérolactiques strictes) (Vandamme *et al.*, 1996). Certaines espèces ou certaines souches peuvent en outre produire de l'acide formique ou de l'acide succinique (De Roissart et Luquet, 1994).

II.2. Habitat

Les bactéries lactiques ont pour habitat de nombreux milieux naturels, des végétaux (Plantes et fruits), des animaux et des humains (cavités buccales et vaginales, fèces et dans le lait). Mais certaines espèces semblent s'adapter à un environnement spécifique et ne sont guère trouvées ailleurs que dans leurs habitats naturels (De Roissart, 1986). Les espèces du genre *Lactococcus* sont isolées du lait ou des végétaux qui sont les réservoirs naturels de la plupart de ses espèces. L'espèce *Lactococcus lactis subsp. lactis* est isolée pour la première fois à partir du lait fermenté par Lister en 1873 et reconnue comme agent primaire de l'acidification du lait caillé (Bergey, 2009).

Parmi les espèces du genre *Streptococcus*, *Streptococcus thermophilus* est isolée du lait pasteurisé, du matériel de laiterie et de levains artisanaux.

Les espèces du genre *Leuconostoc* sont isolées du lait, des produits laitiers, des fruits, des légumes (en particulier la betterave), des végétaux en fermentation (comme la choucroute), des produits de la panification et des solutions visqueuses de sucre dans les sucreries.

Les espèces du genre *Pediococcus* sont présentes surtout dans les végétaux en décomposition, parfois dans les boissons alcoolisées, le lait, les différents fromages (Parmesan et autres fromages italiens) et les préparations culinaires (Saucisses, anchois salés ou sauce de soja) (Bekhouche, 2006).

Les espèces du genre *Lactobacillus* sont présentes dans plusieurs milieux différents : dans le lait et les fromages (*Lb. casei subsp. casei*, *Lb. plantarum*, *Lb. curvatus* et *Lb. brevis*), dans les laits fermentés (*Lb. kefir*, *Lb. brevis* et *Lb. fermentum*), dans les produits végétaux fermentés, les marinades, l'ensilage, le vin et les viandes fraîches ou fermentées (*Lb. brevis*, *Lb. Curvatus*, *Lb. buchneri* et *Lb. san francisco*) (Demazeaud, 1996).

II.3. Diversité et taxonomie

La classification des levures, des bactéries, des virus et des protistes est basée sur la Taxonomie polyphasique. Ce terme est apparu dans les années 70 défini par (Colwell, 1970) et se réfère à une taxonomie basée sur un large ensemble de critères regroupant les caractéristiques écologiques, phénotypiques, biochimiques et génétiques (Pot, 2008).

Les bactéries lactiques forment un groupe hétérogène en raison non seulement de leur métabolisme mais aussi de leur aspect, leur habitat,... Cette hétérogénéité confère aux bactéries lactiques une diversité qui a permis de leur dresser une taxonomie (Tableau 11).

Tableau 11 : Caractéristiques de quelques bactéries lactiques.

Bactéries lactique	Propriétés cellulaires		Propriétés biochimiques			Informations génétiques		Référence
	Aspect	Habitat	T° optimale (C°)	CO ₂	Configuration acide lactique	%GC	Taille génome (Mpb)	
<i>Bifidobacterium adolescentis</i> ATCC15703	Bacille	Intestin	37	-	D,L(D+L)	59	2.1	Suzuki <i>et al.</i> , 2006
<i>Bifidobacterium Longum</i> DJO10A	Bacille	Intestin, tractus génital	37-41	-	D,L(D+L)	60	2.3	Lee <i>et al.</i> , 2008
<i>Carnobacterium sp.</i> AT7	Bacille chaîne	Viande, poisson	25-43	-	L	35	2.4	Bartlett <i>et al.</i> , 2007
<i>Enterococcus faecalis</i> AR01/DG	Coque isolé	Intestin	37	-	L	37	2.8	Feldgarden <i>et al.</i> , 2006
<i>Lactobacillus casei</i> ATCC334	Bacille chaîne	Lait, tractus gastro-intestinal et vaginal	25-42	+/-	D,L(D+L)	46	2.9	Makarova <i>et al.</i> , 2006
<i>Lactobacillus fermentum</i> IFO3956	Bacille	Lait, tractus gastro-intestinal et vaginal	25-41	+/-	D,L(D+L)	51	2.1	Morita <i>et al.</i> , 2008
<i>Lactobacillus helveticus</i> DPC4571	Bacille	Fromage	25-36	+/-	D,L(D+L)	37	2.	Callanan <i>et al.</i> , 2008
<i>Lactobacillus plantarum</i> WCFS1	Bacille isolé	Plantes, tractus gastro-intestinal	25-35	+/-	D,L(D+L)	44	3.3	Kleerebezem <i>et al.</i> , 2003
<i>Lactobacillus reuteri</i> DSM20016	Bacille chaîne	Lait, tractus gastro-intestinal et vaginal	25-37	+/-	D,L(D+L)	38	2	Copeland <i>et al.</i> , 2007
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG	Bacille	Lait, tractus gastro-intestinal et vaginal	25-38	+/-	D,L(D+L)	46	3	Kankainen <i>et al.</i> , 2009
<i>Lactobacillus sakei</i> subsp. <i>Sakei</i> 23K	Bacille	Lait, tractus gastro-intestinal et vaginal	25-39	+/-	D,L(D+L)	41	1.9	Chailion <i>et al.</i> , 2005
<i>Lactobacillus salivarius</i> UCC118	Bacille	gastro-intestinal et vaginal	25-40	+/-	D,L(D+L)	32	1.8	Claesson <i>et al.</i> , 2006
<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> SK11	Coque chaîne, paire	Lait, fromage, yaourt	40	-	L	35	2.4	Makarova <i>et al.</i> , 2006
<i>Leuconostoc citreum</i> KM20	Coque isolé	Viande, plante	20-30	+	D	38	1.8	Kim <i>et al.</i> , 2008
<i>Leuconostoc mesenteroides</i> subsp. <i>mesenteroides</i> ATCC8293	Coque isolé, chaîne, paire	Viande, plante	40	+	D	37	2	Makarova <i>et al.</i> , 2006
<i>Oenococcus oeni</i> PSU-1	Coque isolé, chaîne	Vin	17-25	+	D	37	1.8	Makarova <i>et al.</i> , 2006
<i>Pediococcus pentosaceus</i> ATCC25745	Tétrade	Viande, plante, fromage	30	-	D,L	37	1.8	Makarova <i>et al.</i> , 2006
<i>Streptococcus agalactiae</i> A909	Coque isolé	peau	37	-	L	35	2.1	Tettelin <i>et al.</i> , 2005
<i>Weissella paramesenteroides</i> ATCC33313	Coque isolé	plante	30	+	D,L(D+L)	37	1.9	Qin <i>et al.</i> , 2009

+ : Production de dioxyde de carbone (CO₂)/ - : Absence de production de CO₂.

D : L'isomère optique formé de l'acide lactique est de configuration D ; **L** : L'isomère optique formé de l'acide lactique est de configuration L ; **D+L** : L'acide lactique est sous forme racémique.

* : Une tétrade est formée lorsque quatre bactéries sont associées entre elles.

De nombreuses classifications des bactéries lactiques ont été proposées. Parmi elles, la classification selon la composition de la paroi cellulaire bactérienne (de Ambrosini *et al.*, 1996), incluant la nature des acides gras, tels que l'acide lactobacillique (C19:0) et les acides gras insaturés (C14:0, C16:0, C18:0) qui la composent (Gilarová *et al.*, 1994).

- Une autre classification, basée sur les différents modèles de fermentation du glucose définit 3 groupes (McLeod *et al.*, 2008).

Le groupe I renferme les bactéries réalisant exclusivement l'homofémentation. Ce groupe comporte majoritairement des *Lactobacillus*.

- Le groupe II inclut les bactéries réalisant l'hétérofémentation et regroupe les *Leuconostoc*, les *Oenococcus*, les *Weissella* et quelques espèces appartenant au genre *Lactobacillus*.
- Le groupe III regroupe quant à lui quelques espèces appartenant au genre *Lactobacillus* et la majorité des espèces appartenant au genre *Enterococcus*, *Lactococcus* et *Streptococcus*.

Ce groupe présente une position intermédiaire entre le groupe I et II réalisant ainsi l'homofémentation ou l'hétérofémentation selon les conditions environnementales (McLeod *et al.*, 2008).

Les études d'hybridation ADN ÷ ADN, puis des structures et des séquences d'ARN ribosomiaux sont aussi devenues depuis quelques années des éléments essentiels permettant l'identification et ainsi la classification taxonomique des bactéries lactiques (Mäkelä *et al.*, 1992 ; Vandamme *et al.*, 1996 ; Woese *et al.*, 1990).

- Une étude basée sur la comparaison des séquences d'ARN 16S et/ ou 23S des Bactéries lactiques propose une classification en 3 groupes restreinte à certaines bactéries lactiques :

Groupe des *Leuconostoc*, groupe des *Lactobacillus delbrueckii* (*Lb. delbrueckii*) et groupe des *Lb. casei*- *Pediococcus* (Rodrigues *et al.*, 1991 ; Vandamme *et al.*, 1996).

Les bactéries lactiques regroupent de nombreux genres bactériens tels que *Bifidobacterium*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*,

Leuconostoc, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*,
Vagococcus, *Weissella*,...

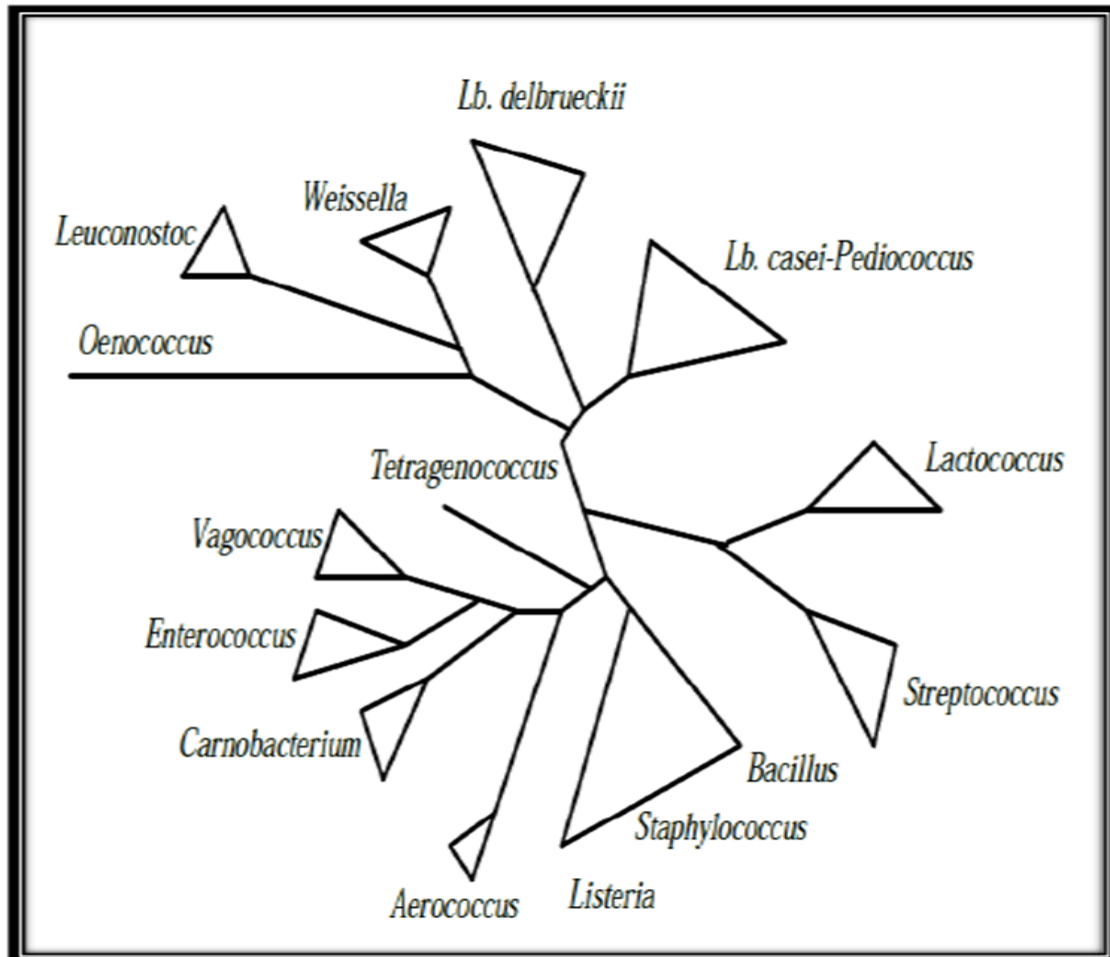


Figure 5: Arbre phylogénique des bactéries lactiques et comparaison avec les genres *Aerococcus*, *Bacillus*, *Listeria* et *Staphylococcus* d'après Axelsson (2004).

II.4. Voies métaboliques

II.4.1. Les voies fermentaires des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques utilisent principalement l'une des deux voies majeures du métabolisme des sucres. Il s'agit des voies homofermentaire (Embden-Meyerhof-Parnas ; EMP) et hétérofermentaire (voies des pentoses-phosphate) ainsi, les bactéries lactique sont divisées en deux groupe principaux d'espèces homo-ou hétérofermentaires selon la nature et la concentration des produit terminaux issus de la fermentation de glucose (Raynaud 2006).

II.4.1.1. La voie homofermentaire ou EMP

Comprenant les espèces de streptocoque, entérocoques, lactocoque, pediocoques et lactobacilles convertissent presque quantitativement le glucose en excès en acide lactique (90-95) (Djidel, 2007). Cette voie conduit dans des conditions optimales de croissance à la production de deux molécules de lactate et deux molécules d'ATP par molécule de glucose consommée. Le fructose -1,6 bisphosphate aldolase (FBA) est une enzyme clé indispensable au fonctionnement de la voie EMP (Thompson et Gentr-Weks, 1994).

II.4.1.2. La voie hétérofermentaire ou voie des pentoses phosphate

Doit sa dénomination au fait qu'en dehors du lactate, elle aboutit à la formation d'éthanol, du CO₂ et éventuellement d'acétate. Les bactéries lactique hétérofermentaires ne contiennent pas de FDP aldolase ni de triose-phosphate isomérase (Djidel, 2007). Les groupes principaux de bactéries présentant ce type de métabolisme sont les *Leuconostoc* et certains lactobacilles (Thompson et Gentry-Weks, 1994).

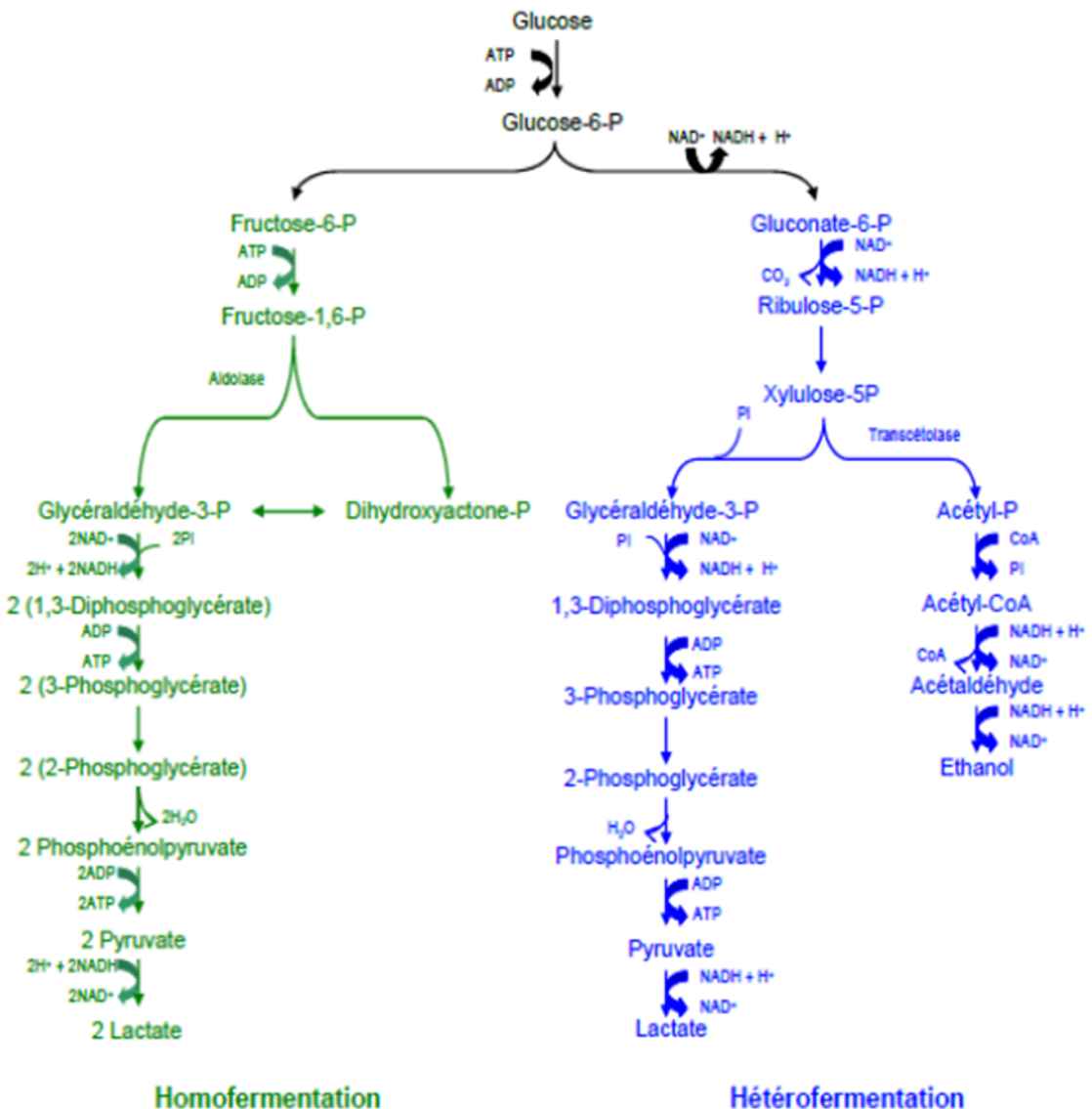


Figure 6 : Principales voies du métabolisme du glucose des bactéries lactique (Djide *et al.*, 2007).

ATP : adénosine triphosphate.

ADP : adénosine diphosphate.

NAD⁺/ NADH, H⁺ : Couple oxydant/réducteur du nicotinamide adénine dinucléotide.

Pi : phosphate inorganique

II.5. Rôle et intérêt des bactéries lactiques

II.5.1. Domaine alimentaire

II.5.1.1. Rôle sur la structure et la texture

Ce sont les laits fermentés, l'acidification provoque la formation d'un caillé plus ou moins ferme selon les bactéries lactiques présentes. Selon les produits, la texture recherchées est ferme (yaourt ferme) ou onctueuse (yaourt brassé ; kéfir). Pour obtenir une consistance déterminée ; l'utilisation des souches plus ou moins acidifiantes peut être couplée à celle des souches productrices de polysaccharides (Satura et Federighi, 1998).

II.5.1.2. Rôle dans la conservation

Production d'acide lactique : Les bactéries lactiques ont un rôle important dans l'inhibition des flores non lactiques.

Production de bactériocine : Ces peptides antimicrobiens sont synthétisés par un très grand nombre de souches de bactéries lactique, elles sont généralement thermorésistantes.

II.5.1.3. Rôles sur les caractéristiques organoleptiques

Par production en dehors de l'acide lactique, d'autres produits tels que le diacétyle et l'acétaldéhyde, qui responsable des saveurs caractéristiques (Boudjema, 2008).

II.5.2. Domaine de santé

L'intérêt des bactéries lactiques en matière de santé humaine a été initialement proposé au début du siècle, en 1907 par le Russe Metchnikoff, selon lui les *Lactobacillus sp* pouvaient réduire la putréfaction intestinale en modifiant la flore intestinale. Le rôle des bactéries lactiques sur la santé était dans le cadre des probiotiques. Les bienfaits des bactéries lactiques sont de plus en plus étudiés, certains sont bien établis d'autres restent encore controversés :

* Améliore la digestion de lactose.

* Le traitement de certaines infections ou diarrhées.

* Diminution du cholestérol sérique et dé-conjugaison des sels biliaires.

* Utilisation dans l'élaboration des vaccins (Calvez *et al.*, 2009).

II.5.3. Les bactéries lactiques comme probiotiques

II.5.3.1. Définitions

Les probiotiques sont définis comme des micro-organismes vivant qui lorsqu'ils sont ingérés en quantité appropriés ont un effet bénéfique sur la santé de l'hôte (FAO, 2001) ils contiennent uniquement les microorganismes non pathogènes. De nombreux microorganismes sont considérés comme probiotiques, parmi eux des bactéries lactiques telles que *Bifidobacterium animalis*, *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium longum*, *Lb. acidophilus*, *Lb. bulgaricus*, *Lb. casei* et *Streptococcus thermophilus* (*Sc. thermophilus*). *Lb. bulgaricus* et *Sc. thermophilus* sont les premières souches bactériennes (Makhloufi, 2012).

II.5.3.2. Applications des probiotiques

Grâce à leurs propriétés nutritionnelles et thérapeutiques utilisées par les industries agroalimentaires et pharmaceutiques, les probiotiques sont parfois utilisés comme compléments dans des produits comme les yaourts ou bien dans des préparations pharmaceutiques sous forme de gélules. De nombreuses souches bactériennes ont montré leurs bénéfices sur la santé humaine et sont déjà commercialisées par Danone telles que *Bifidobacterium lactis*.

- **Traitement des diarrhées**

Les souches probiotiques *Lb. acidophilus* et *Lb. casei*, qu'on retrouve entre autre dans le lait fermenté, ont fait l'objet d'études montrant leur efficacité contre la diarrhée associée à la prise d'antibiotiques en milieu hospitalier (Penner *et al.*, 2005).

- **Traitements gastriques**

Des travaux prometteurs sur l'amélioration des traitements gastriques sont en cours sur la conjonction des probiotiques aux antibiotiques en vue de limiter les infections à *Helicobacter pylori* (*H. pylori*), une bactérie impliquée dans la survenue et les récurrences des gastrites et ulcères gastro-duodénaux. Les études sur ce traitement se poursuivent car son efficacité reste à démontrer (Reid *et al.*, 2003).

Les applications des probiotiques se sont énormément étendues ces dernières années, tant dans le domaine agroalimentaire ?????????????? il manque la s

CHAPITRE III : Matériel et méthodes

III.1. L'objectif du travail

Les objectifs de cette étude s'articulent autour des points suivants :

- Mettre en évidence l'activité antagoniste des souches de bactéries lactiques testées vis-à-vis d'une gamme de bactéries pathogènes.
- Explorer si l'effet inhibiteur est probablement dû à une bactériocine en éliminant l'effet de l'acidité par la neutralisation du pH.

III.2. Lieu de l'étude

L'intégralité de ce travail a été réalisée au laboratoire de recherche des micro-organismes bénéfiques, aliments fonctionnels et de la santé -LMBAFS- l'Université de Mostaganem, durant la période Mars- Mai de l'année 2016.

III.3. Les souches bactériennes

III.3.1. Les souches lactiques

Les différents souches utilisées dans cette expérimentale sont reportés dans le (Tableau 12).

Tableau 12: La nature et l'origine de différentes souches lactiques utilisées.

Référence	Souches	Milieu de culture
L 1	<i>Lactobacillus</i> sp	milieu MRS, 37°C
L 2	<i>Lactobacillus</i> sp	milieu MRS, 37°C
L 4	<i>Lactobacillus</i> sp	milieu MRS, 37°C
LBM2	<i>Lactobacillus plantarum</i>	milieu MRS, 37°C
LBRE-LSAS	<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	milieu MRS, 37°C
Bb12	<i>Bifidobacterium lactis</i>	milieu MRS, 37°C
GG	<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	milieu MRS, 37°C
LTH673	<i>Lactobacillus sake</i>	milieu MRS, 37°C

III.3.2. Les souches pathogènes

Les différents souches pathogènes utilisées dans cet expérimental sont reportés dans le (Tableau 13).

Tableau 13: Nature et l'origine de différentes souches pathogènes utilisées.

Souches	Référence	Milieu de culture
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 10536	Milieux MH, 37°C
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC27853	Milieux MH, 37°C
<i>Bacillus cereus</i>	ATCC 9884	Milieux MH, 37°C
<i>Shigella dysenteria</i>	CECT 457	Milieux MH, 37°C
<i>Salmonellatyphimurium</i>	ATCC 13311	Milieux MH, 37°C
<i>Listeriamonocytogenes</i>	ATCC 13932	Milieux MH, 37°C
<i>Carnobacterium maltoaromaticum</i>	DSM 20722	Milieux MH, 37°C

III.4. Matériels

III.4.1. Appareillage

- Spectrophotomètre (Réf : JENWAY-7305, Royaume-Uni).
- Autoclave (Réf: 13245, AVX 90 E, GETINGF, France).
- Etuve bactériologique (Réf: HRDP-150AB, Chine).
- Vortex (Réf: R800003684, Stuart, Conçu par le Royaume-Uni/fabriqués en RPC).
- Balance (Réf : D-72336, KERN-KB 6000-1, Allemagne).
- Bain marie (Réf : D 3165, KOTTERMANN, Allemagne).
- Agitateur magnétique chauffant (Réf : F20520162, AREX VELP, France).
- Centrifugeuse.
- pH mètre.

III.4.2. Verrerie et petit matériel

- Pipetes Pasteur
- Flacon en verre (de 250 ml)
- Tubes à essais en verre, pipettes
- Boîtes de pétri en plastique
- Bêchers de 500 et 1000 ml
- Micropipettes (10µl, 50µl, 100µl)
- Cuvettes
- Les tubes d'Eppendorf

III.4.3. Milieux De Culture

Tous les milieux de culture sont stérilisés par autoclave à 120 °C pendant 20 minutes. Les milieux de culture liquides et solides sélectifs pour chaque type de bactérie.

Les différents milieux de culture utilisés sont :

- Milieux MRS liquide pour la réactivation des bactéries lactiques ; pour faire des différentes dilutions des bactéries lactiques
- Milieux Müller Hinton (MH) liquide pour la réactivation des bactéries pathogènes ;
- Milieux MH semi-solide pour la culture des bactéries pathogènes ;

III.5. Méthodes

III.5.1. Réactivation des souches

Les souches bactériennes ont été réactivées avant leur utilisation dans les tests d'inhibition à partir d'un stock de culture sur des milieux gélosés, réalisées sur milieu MRS liquide pour les bactéries lactiques, et le milieu MH pour les bactéries pathogènes à raison de 05 ml de milieu de culture dans chaque tube ; ensuite, elles sont incubées à 37°C pendant 24 heures.

III.5.2. Cinétique de croissance des souches expérimentales

Cette partie consiste à cultiver les souches lactiques pendant 24 h à 37°C ; et la lecture de densité optique (600nm) pour chaque souche se fait à des intervalles de temps 0 h, 2 h, 4 h, 6 h, 8 h, 10 h, 12h, 14h, jusqu'à 24 h (Figure 7).

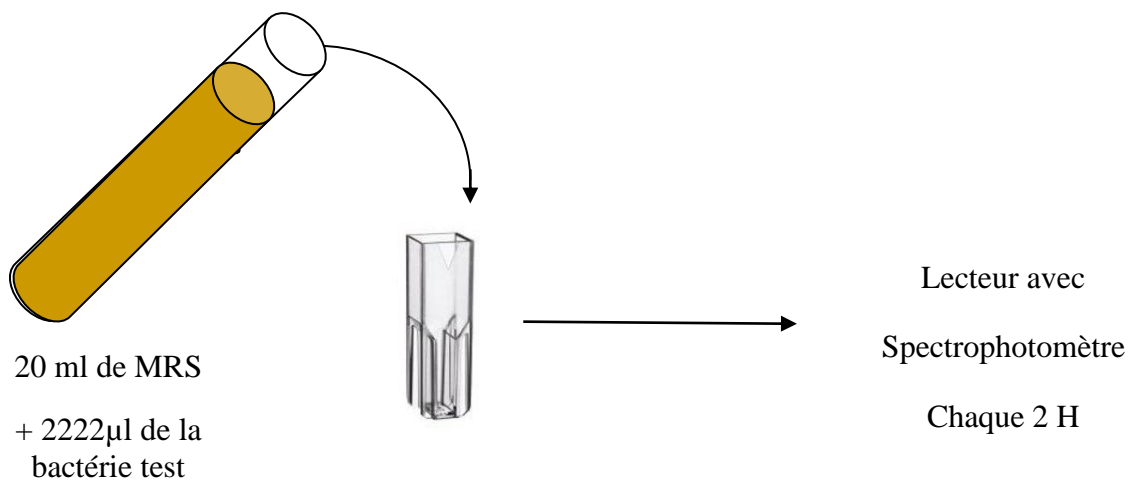


Figure 7 : Mesure de la densité optique de chaque 2h.

III.5.3. Dénombrement des souches expérimentales (Guiraud, 1998)

Les souches ont été inoculées dans 20 ml de milieu MRS, avec 2222 µl de la bactérie test, une série des dilutions (10-1, 10-2....10-3) dans 450 µl de MRS a été réalisée (figure 8), ensuite pour la réalisation de ce protocole, chaque boîte contient MRS solide est divisée en trois parties, à l'aide d'une micropipette chaque partie d'une boîte de pétrie reçoit exclusivement 3 spot de l'une des différentes dilutions de 10 µl pour chaque spot. Après avoir déposé les différents diluants dans toutes les boîtes, on incube le tout dans l'étuve à 37°C pendant 24h à 48h (Figure 8)(Guiraud, 1998).

Les colonies présentes sur les boîtes sont dénombrées après 24 à 48 h d'incubation à 37 °C. Uniquement les boîtes contenant 30 à 300 colonies ont été dénombrées, on utilise pour calculer le nombre UFC (Unités Formant Colonies) / ml la formule suivante :

$$N = \sum n \text{ colonies} \cdot 1000 \mu\text{l} / 30 \mu\text{l}$$

Où

n : nombre des colonies comptées ;

N : Unité Formant Colonies (UFC) ;

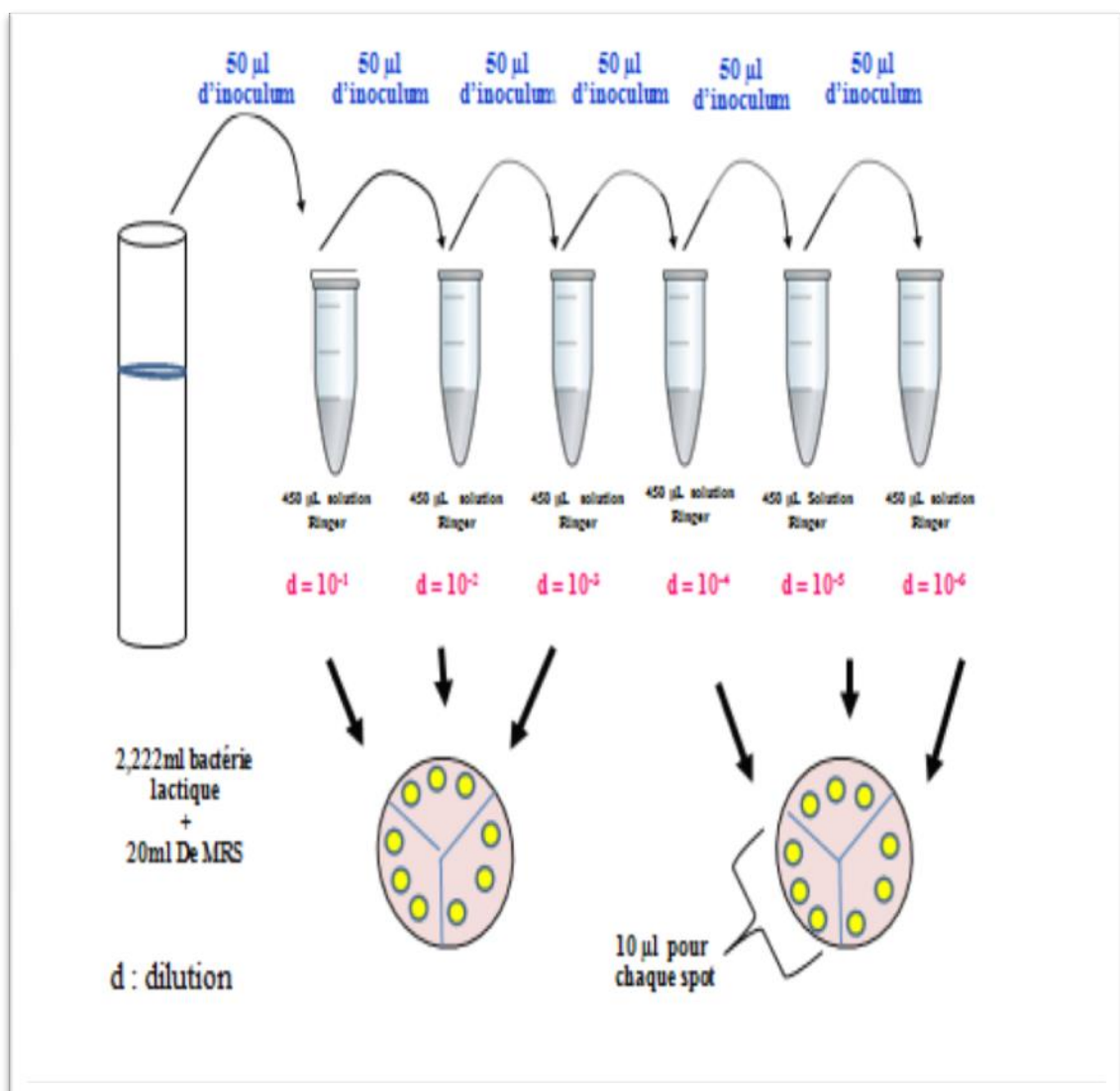


Figure 8 : Technique de dilution et de dénombrement par des spots (Guiraud, 1998).

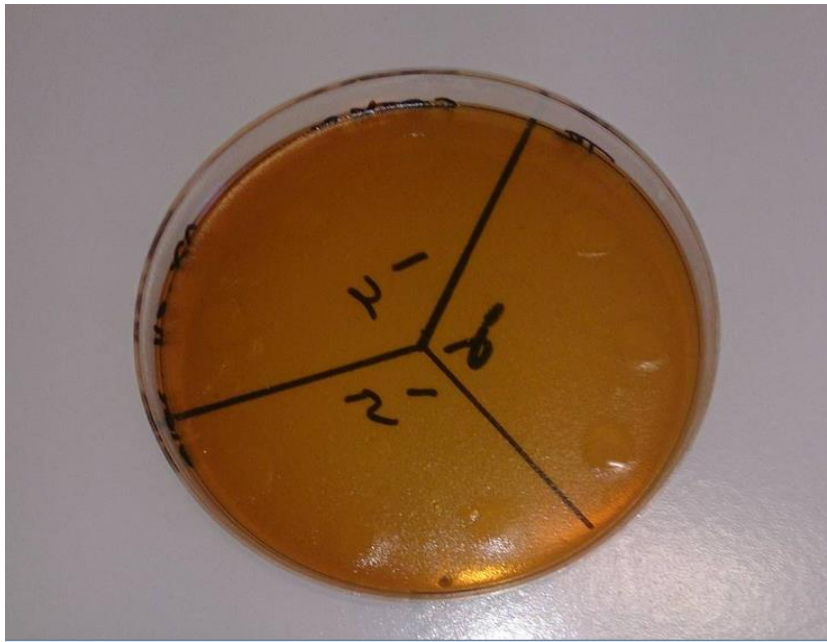


Figure 9: La technique de dénombrement sur milieu MRS solide par méthode des spots (Guiraud, 1998).

III.5.4. Pouvoir antibactérien des souches

Les nombreuses méthodes décrites pour la détection de souches lactiques productrices de bactériocines sont basées sur le principe que ces substances protéiques peuvent diffuser dans un milieu de culture solide ou semi-solide qu'on inocule préalablement avec une souche cible. La production de bactériocines est détectée par le pouvoir inhibiteur du filtrat du microorganisme testé sur la croissance du germe cible (Labioui, 2005).

Cette méthode consiste à :

1/ Les souches productrices de substances inhibitrices sont cultivées dans du milieu MRS liquide et incubées pendant 24 heures.

2/ Après incubation, le milieu est centrifugé (8000 tr/min, 10 min) et le surnageant

On a réalisé cette méthode par deux types de surnageant :

- ❖ Surnageant neutralisé à pH 7 par une solution de NaOH 0,1N.
- ❖ Surnageant non neutralisé

3/ Dans une boîte de Pétri contenant du Müller Hinton semi-solide et ensemencé par la souche test, des puits sont creusés à l'aide d'un embout jaune stérile.

4/ Ces puits recevront 100 µl du surnageant brut de la culture lactique à tester.

5/ Après 2h d'incubation à 4°C, les boîtes ont été ré-incubées en aérobiose à 37°C pendant 24 heures.

6/ Les puits entourés d'une zone claire d'inhibition de la souche test et ayant un diamètre supérieur à 2 mm sont considérées comme positive ([Figure 10](#)).

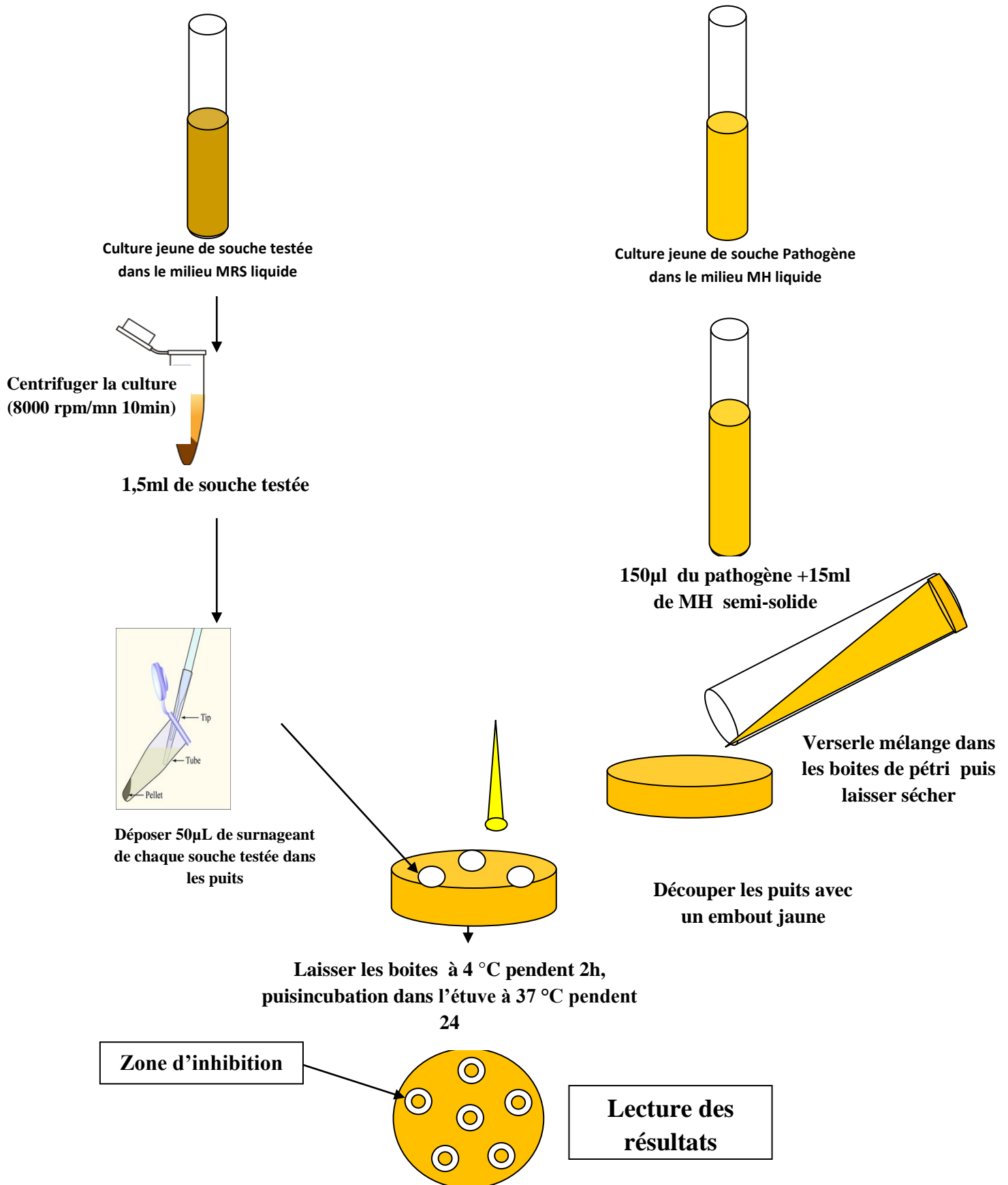


Figure 10 : Etude de l'antagonisme par la méthode de diffusion en puits ADT.

III.5.5. Détermination de la nature des substances inhibitrices chez les souches isolées

L'effet antagoniste des lactobacilles peut être attribué à plusieurs facteurs tels que la production des acides organique (Liu, 2003) et bactériocines (Klaenhamer, 1998).

Pour éliminer l'effet des acides organique, la pré-culture 18h d'incubation, sont centrifugées a une vitesse de 8000 tr 15min, cette centrifugation est suivie par une neutralisation avec NaOH 1N du surnageant.

L'effet inhibiteur probable des bactériocines contre les souches indicatrices est mis en évidence par la méthode ADT L'inhibition se traduit toujours par observation de zones claires autour ou des puits.

VI. Résultats et discussion

VI.1. La cinétique de croissance et le dénombrement des souches lactique

VI.1.1. La cinétique de croissance de la souche L1

La croissance et la cinétique de la souche lactique *L1* a été étudiée sur le milieu MRS à 37 °C pendant 24 heures, on a constaté que la souche atteint la phase stationnaire au bout de 14 heures d'incubation avec une densité optique (DO) de 2,821 (Figure11)

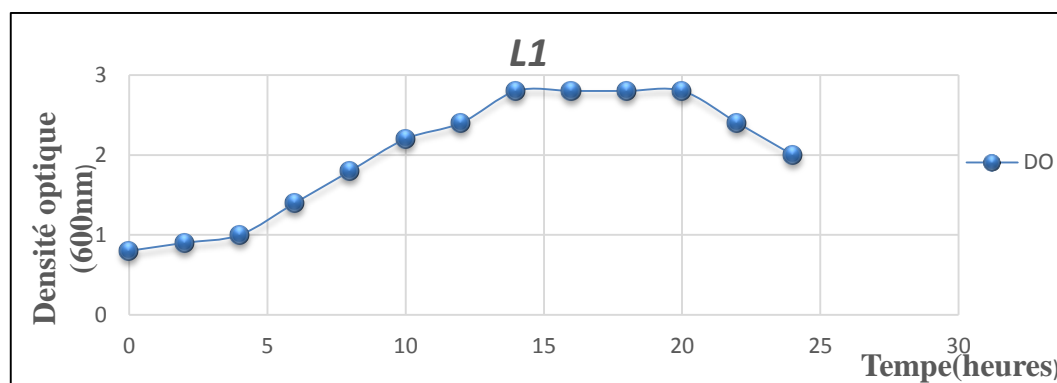


Figure 11: La courbe de croissance de la souche *L1* sur milieu MRS.

VI.1.2. Dénombrement de la souche *L1*

La méthode de Guiraud, (1998) utilisée, nous a permis d'ajuster la charge microbienne de notre souche lactique, le résultat de dénombrement de la souche *L1* est représenté $5,9 \cdot 10^9$ UFC /ml (Figure12 et 19).

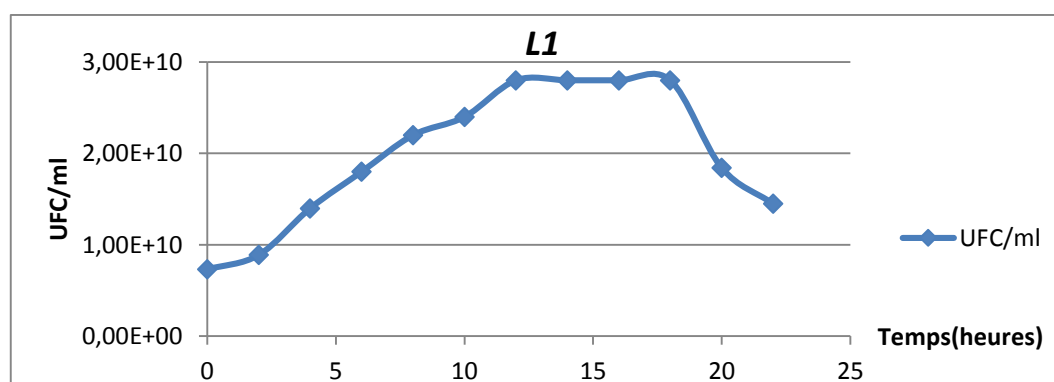


Figure 12: Cinétique de croissance de la souche *L1* sur milieu MRS (Nombre UFC/ml) pendant 24 heures d'incubation à 37 °C.

VI.1.3. La cinétique de croissance de la souche L2

La croissance et la cinétique de la souche lactique L2 a été étudiée sur le milieu MRS à 37 °C pendant 24 heures, on a constaté que la souche atteint la phase stationnaire au bout de 14 heures d'incubation avec une densité optique (DO) de 1,834 (Figure13).

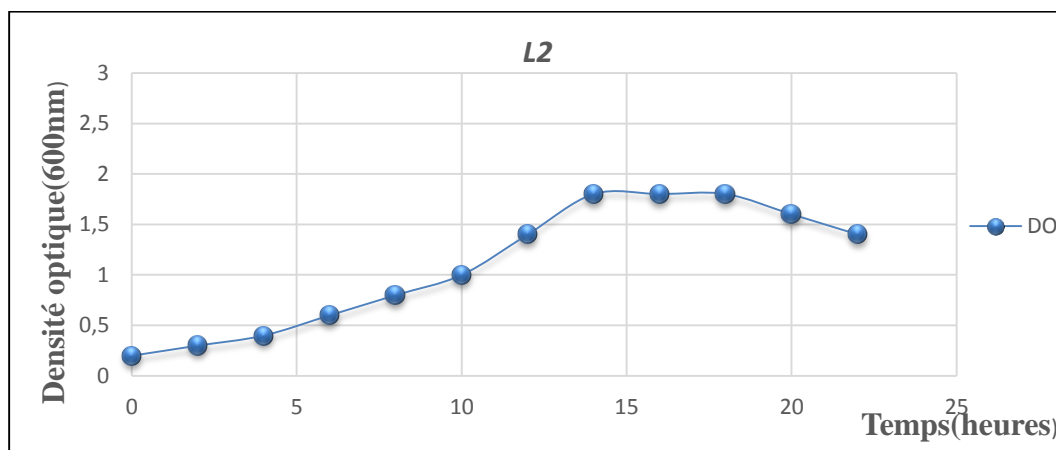


Figure 13: La courbe de croissance de la souche L2 sur milieu MRS.

VI.1.4. Dénombrement de la souche L2

La méthode de Guiraud, (1998) utilisée, nous a permis d'ajuster la charge microbienne de notre souche lactique, le résultat de dénombrement de la souche L2 est représenté 3,37. 10⁹ UFC /ml (Figure14 et 19).

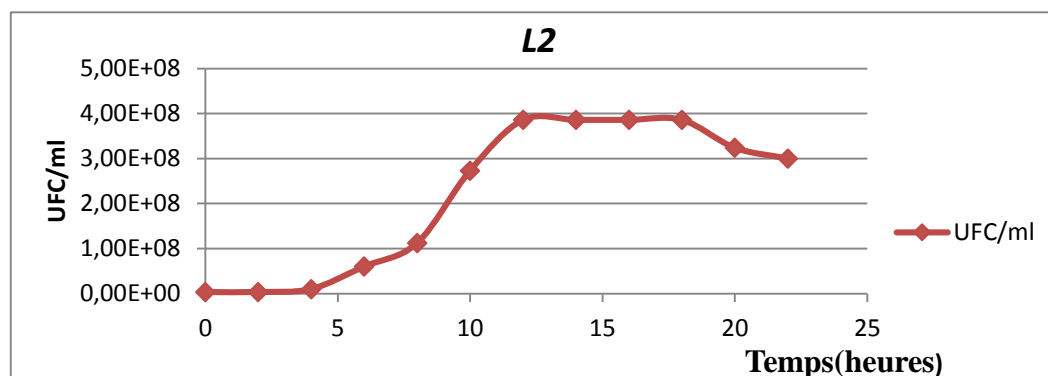


Figure 14: Cinétique de croissance de la souche L2 sur milieu MRS (Nombre UFC/ml) pendant 24 heures d'incubation à 37 °C.

VI.1.5. La cinétique de croissance de la souche *L4*

La croissance et la cinétique de la souche lactique *L4* a été étudiée sur le milieu MRS à 37 °C pendant 24 heures, on a constaté que la souche atteint la phase stationnaire au bout de 14 heures d'incubation avec une densité optique (DO) de 1,853 (Figure 15).

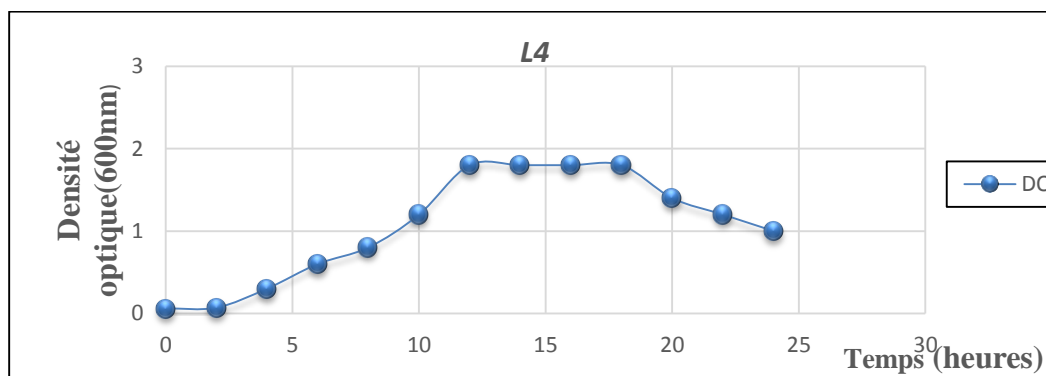


Figure 15 : La courbe de croissance de la souche *L4* sur milieu MRS.

VI.1.6. Dénombrement de la souche *L4*

La méthode de Guiraud, (1998) utilisée, nous a permis d'ajuster la charge microbienne de notre souche lactique, le résultat de dénombrement de la souche *L4* est représenté $3,8 \cdot 10^9$ UFC /ml (Figure 16 et 19).

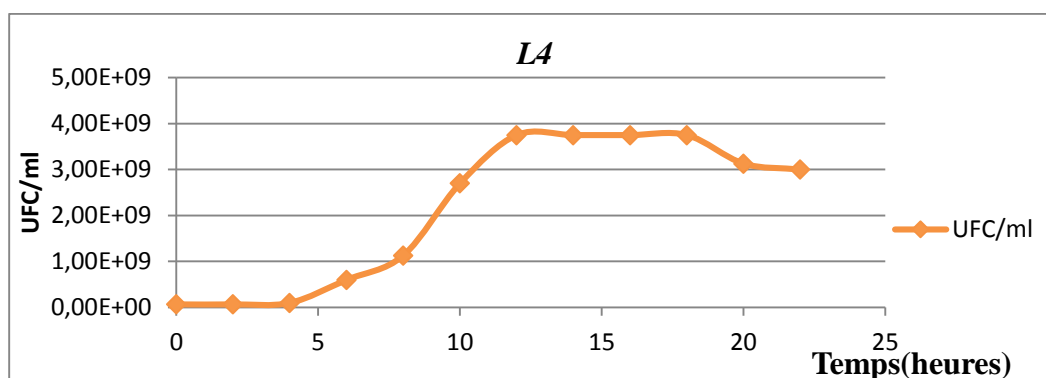


Figure 16 : Cinétique de croissance de la souche *L4* sur milieu MRS (Nombre UFC/ml) pendant 24 heures d'incubation à 37 °C.

VI.1.7. La cinétique de croissance de la souche *LBRE-LSAS*

La croissance et la cinétique de la souche lactique *LBRE-LSAS* a été étudiée sur le milieu MRS à 37 °C pendant 24 heures, on a constaté que la souche atteint la phase stationnaire au bout de 14 heures d'incubation avec une densité optique (DO) de 1,846 (Figure17).

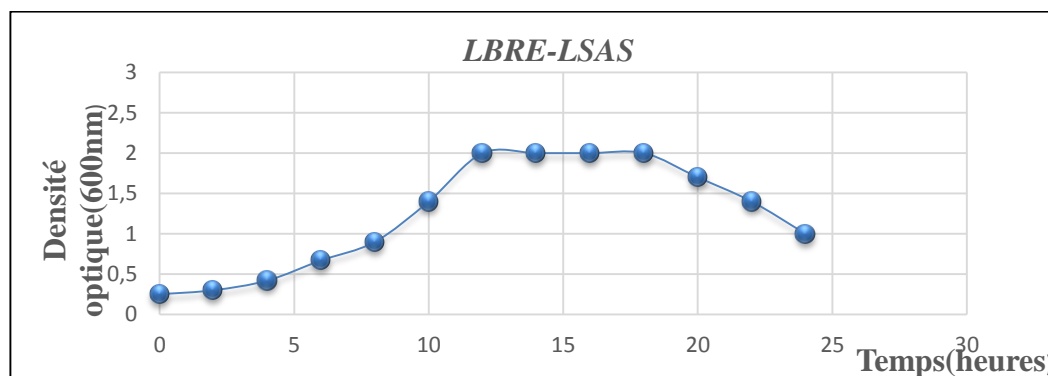


Figure 17 : La courbe de croissance de la souche *LBRE-LSAS* sur milieu MRS.

VI.1.8. Dénombrement de la souche *LBRE-LSAS*

La méthode de Guiraud (1998) utilisée, nous a permis d'ajuster la charge microbienne de notre souche lactique, le résultat de dénombrement de la souche *LBRE-LSAS* est représenté $5,85 \cdot 10^9$ UFC /ml (Figure18 et 19).

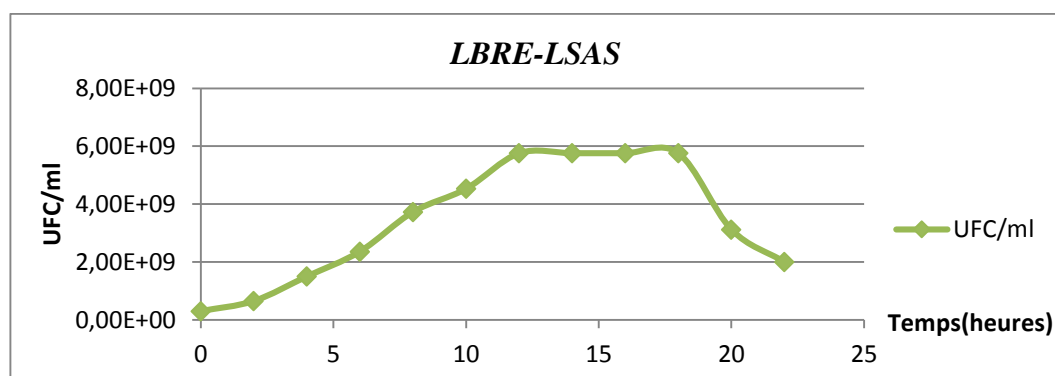


Figure 18 : Cinétique de croissance de la souche *LBRE-LSAS* sur milieu MRS (Nombre UFC/ml) pendant 24 heures d'incubation à 37 °C.



Figure 19 : Dénombrement par La méthode de Guiraud des souches testées sur milieu MRS (Nombre UFC/ml) après 24 heures d'incubation à 37 °C.

VI.2. La méthode de diffusion en puits ADT (Agar Well Diffusion Test)

VI.2.1. Le teste avec surnageants non neutralisés

Selon la méthode ADT, toutes la bactérie lactique testée présente un diamètre de zone d'inhibition vis-à-vis les bactéries pathogènes.

VI.2.1.1. Antagonisme des souches lactique vis-à-vis d'*E. coli* par la technique ADT (Agar Well Diffusion Test)



Figure 20 : Variation des diamètres des zones d'inhibition des souches lactiques Vis-à-vis de *E. coli* selon la méthode des puits (Surnageants non neutralisés).

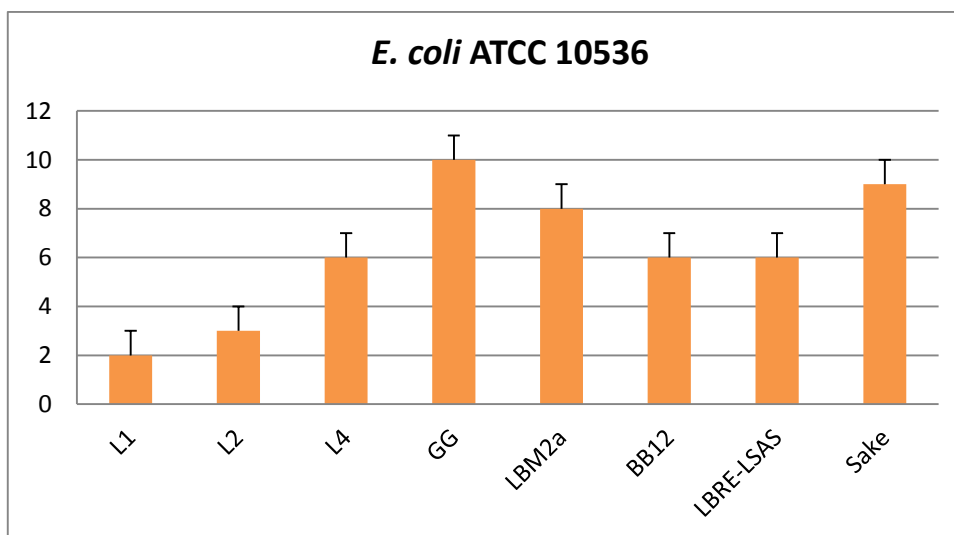


Figure 21 : Effet antagoniste souches lactique vis-à-vis d'*E. coli* ATCC 10536 par la méthode ADT (Surnageants non neutralisés).

E. coli ATCC 10536 a donnée, en contact par la méthode ADT avec la souche lactique testée, des zones ayant des diamètres variant entre 2 à 10 mm La souche présente la meilleure activité inhibitrice est GG avec une zone d'inhibition enregistrée de 10 mm.

Chaalel *et al.* (2015) ont constaté que la souche *Lactobacillus plantarum* LbM2a exerçait une activité inhibitrice vis-à-vis d'*E. coli* ATCC25122 et DH10B qui se traduit par des zones d'inhibition entre 14-17mm.

VI.2.1.2. Antagonisme des souches lactique vis-à-vis de *Listeria monocytogenes* ATCC 13932 par la technique ADT (Agar Well Diffusion Test)



Figure 22 : Variation des diamètres des zones d'inhibition des souches lactiques vis-à-vis de *Listeria monocytogenes* ATCC 13932 selon la méthode des puits (Surnageants non neutralisés).

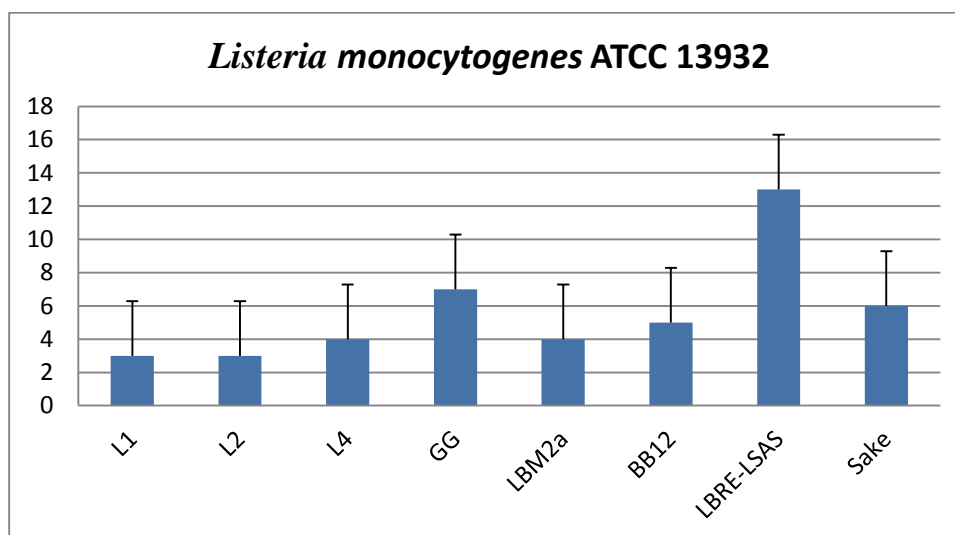


Figure 23: Effet antagoniste souches lactique vis-à-vis de *Listeria monocytogenes* ATCC 13932 par la méthode ADT (Surnageants non neutralisés).

Parmi les souches pathogènes testées, *Listeria* est le germe le plus sensible aux tests d'antagonisme exercés par nos souches *Lactobacillus* testées. La souche présentant la meilleure activité inhibitrice est *LBRE-LSAS* avec une zone d'inhibition enregistrée de 13 mm.

Chaalel et al. (2015) ont constaté que la souche *Lactobacillus plantarum* LbM2a exerçait une activité inhibitrice vis-à-vis de *Listeria innocua* BUG 498 qui se traduit par des zones d'inhibition supérieures à 17 mm.

VI.2.1.3. Antagonisme des souches lactique vis-à-vis de *Bacillus cereus* ATCC 9884 par la technique ADT (Agar Well Diffusion Test)

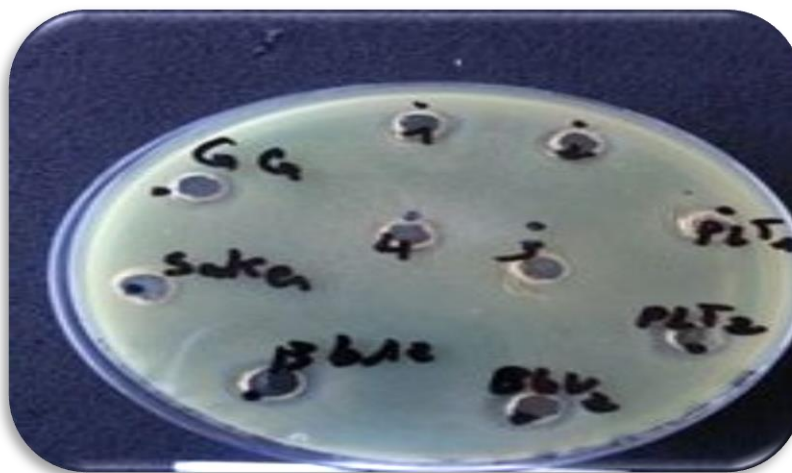


Figure 24 : Variation des diamètres des zones d'inhibition des souches lactiques vis-à-vis de *B. cereus* ATCC 9884 selon la méthode des puits (Surnageant non neutralisé).

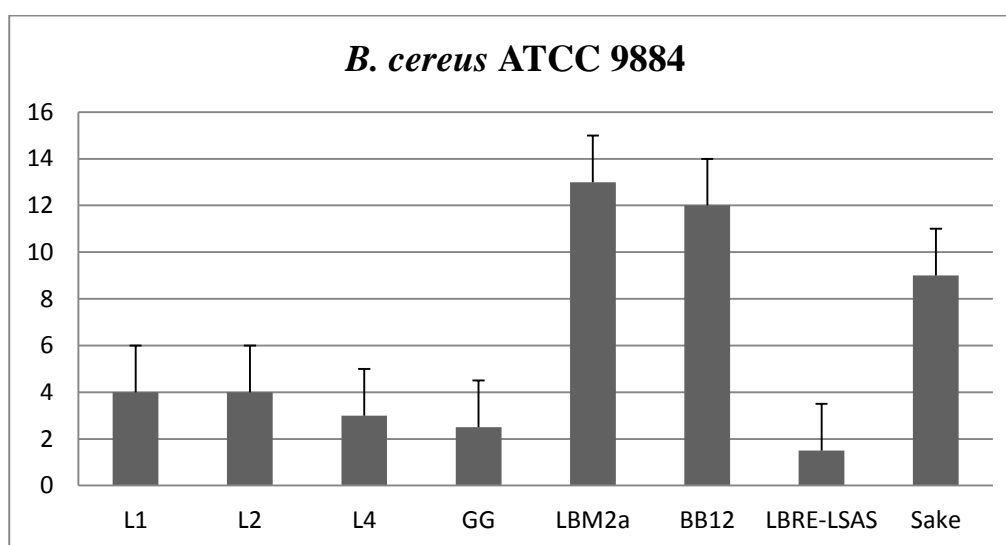


Figure 25 : Effet antagoniste souches lactique vis-à-vis de *Bacillus cereus* ATCC 9884 par la méthode ADT (Surnageants non neutralisés).

La souche *B. cereus* a été très sensible à l'action inhibitrice des souches *Lactobacillus*, puisque toutes les souches ont des zones d'inhibitions comprises entre 1 à 13 mm.

La souche présentant la meilleure activité inhibitrice est *Lactobacillus plantarum* LbM2a avec une zone d'inhibition enregistrée de 13mm.

Nos résultats sont compatibles avec les études menées par **Chaalel et al. (2015)**, qui ont démontré que la souche *Lactobacillus plantarum* LbM2a exerce une bonne activité antimicrobienne contre *B. cereus* ATCC 9884 avec un diamètre d'inhibition de l'ordre de 14 à 16 mm.

VI.2.1.4. Antagonisme des souches lactique vis-à-vis de *Salmonella typhimurium* ATCC 13311 par la technique ADT (Agar Well Diffusion Test)



Figure 26 : Variation des diamètres des zones d'inhibition des souches lactiques vis-à-vis de *Salmonella typhimurium* ATCC 13311 selon la méthode des puits (Surnageants non neutralisés).

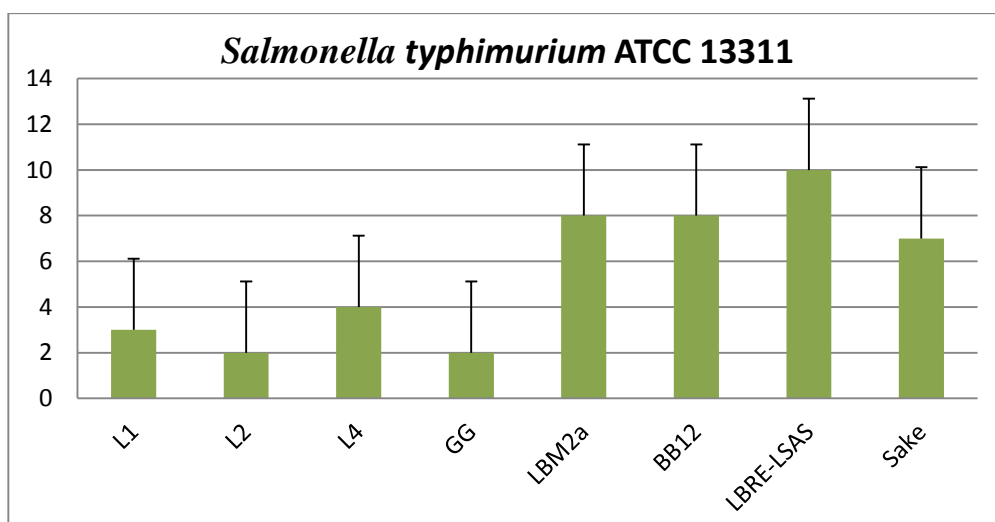


Figure 27: Effet antagoniste souches lactique vis-à-vis de *Salmonella typhimurium* ATCC 13311 par la méthode ADT (Surnageants non neutralisés).

Les souches *Lactobacillus* dévoilent un effet antagoniste très important vis-à-vis de *Salmonella*, notamment de la part de *LBRE-LSAS* avec une zone d'inhibition enregistrée de 10mm ; et un effet moins important est noté par les souches L2 et GG avec une zone d'inhibition enregistrée de 2mm.

VI.2.1.5. Antagonisme des souches lactique vis-à-vis De *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 par la technique ADT (Agar Well Diffusion Test)



Figure 28: Variation des diamètres des zones d'inhibition des souches lactiques vis-à-vis de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 selon la méthode des puits (Surnageants non neutralisés).

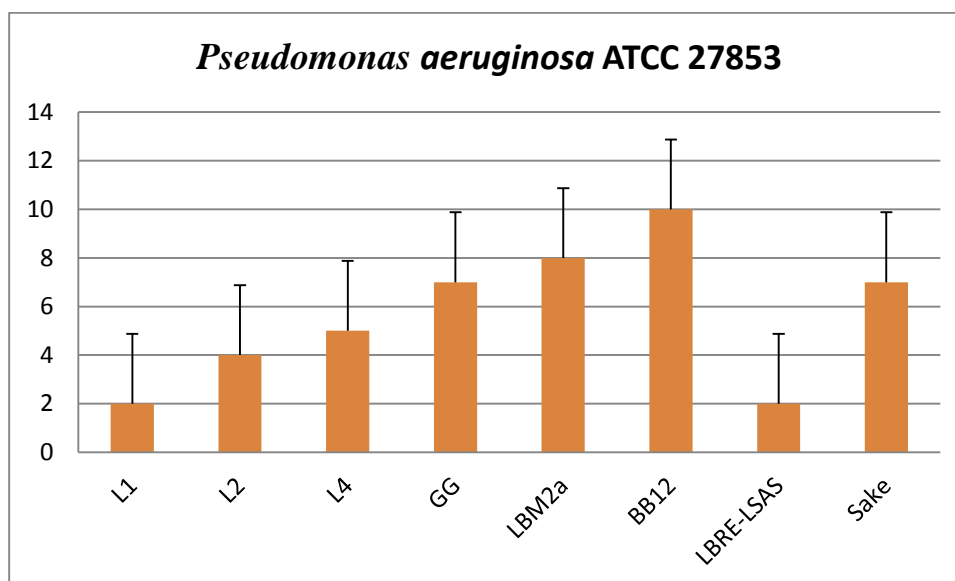


Figure 29: Effet antagoniste souches lactique vis-à-vis de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 par la méthode ADT (Surnageants non neutralisés).

Selon les résultats obtenus la plupart souches lactique présentent une activité inhibitrice vis-à-vis de *Pseudomonas* avec des diamètres d'inhibition importants.

La souche présentant la meilleure activité inhibitrice est la souche *Bb12* avec une zone d'inhibition enregistrée de l'ordre de 10 mm.

VI.2.1.6. Antagonisme des souches lactique vis-à-vis de *Shigella dysenteria* CECT 457 par la technique ADT (Agar Well Diffusion Test)



Figure 30 : Variation des diamètres des zones d'inhibition des souches lactiques vis-à-vis de *Shigella dysenteria* CECT 457 selon la méthode des puits (Surnageants non neutralisés).

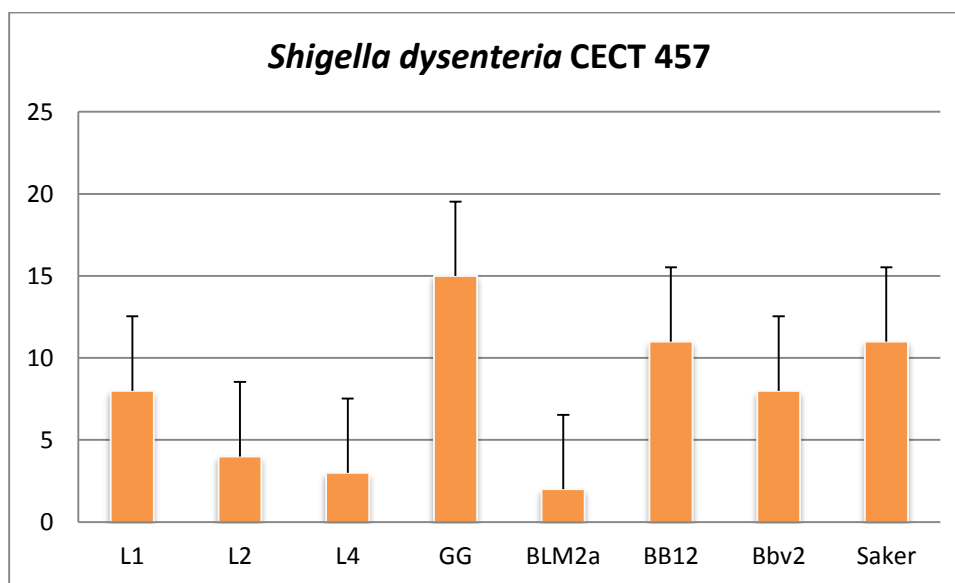


Figure 31 : Effet antagoniste souches lactique vis-à-vis de *Shigella dysenteria* CECT 457 par la méthode ADT (Surnageants nonneutralisés).

Shigella a révélée après un contact avec la plus part des souches, des zones d'inhibition avec un diamètre minimal enregistré de l'ordre de 2 mm enregistré par la souche *Lactobacillus plantarum* LbM2a. La plus large zone est obtenue par la souche GG qui a enregistré un diamètre de 15 mm.

Chaalel *et al.* (2015) ont constaté que la souche *Lactobacillus plantarum* LbM2a exerçait une activité inhibitrice vis-à-vis de *S. sonnei* CECT 584 qui se traduit par des zones d'inhibition supérieures à 17 mm.

VI.2.1.7. Antagonisme des souches lactique vis-à-vis de *Carnobacterium maltoaromaticum* DSM 20722 par la technique ADT (Agar Well Diffusion Test)



Figure 32 : Variation des diamètres des zones d'inhibition des souches lactiques vis-à-vis de *Carnobacterium maltoaromaticum* DSM 20722 selon la méthode des puits (Surnageants non neutralisés).

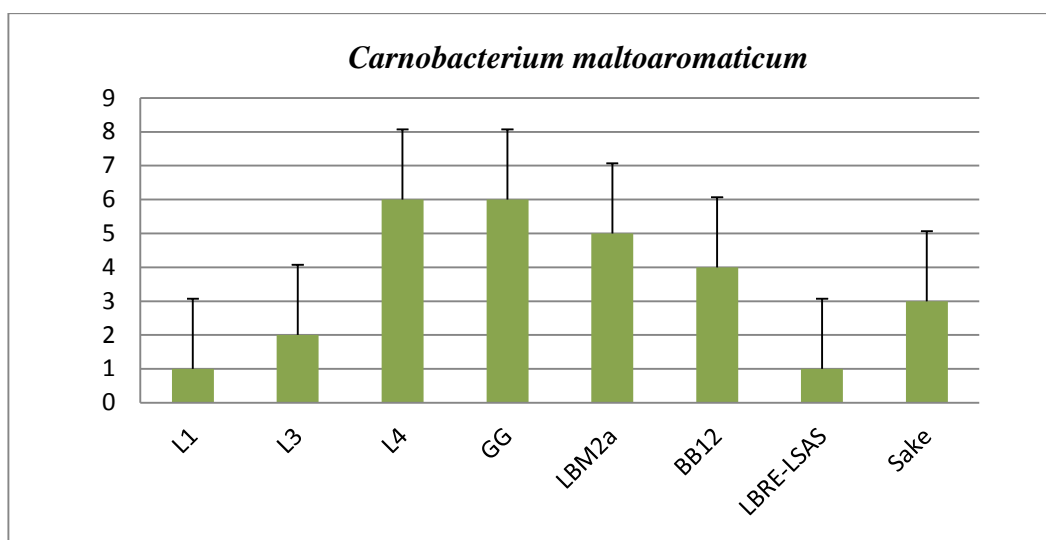


Figure 33: Effet antagoniste souches lactique vis-à-vis de *Carnobacterium maltoaromaticum* DSM 20722 par la méthode ADT (Surnageants non neutralisés).

Les résultats obtenus pour l'antagonisme de nos souches *Lactobacillus* vis-à-vis de *Carnobacterium maltoaromaticum* DSM 20722 par la technique ADT ont montré que celle-ci était plus sensible aux souches L4 et GG ou le diamètre de zone obtenu était de l'ordre de 6mm.

Les travaux réalisés par **Chaalel et al. (2015)** sur l'effet antimicrobien la souche *Lactobacillus plantarum* LbM2a par la technique ADT vis-à-vis de *Carnobacterium maltoaromaticum* DSM 20722 révèle un diamètre de zone d'inhibition supérieure à 17 mm.

VI.2.2. Activité antagoniste avec surnageants neutralisés

Dans cette partie de notre étude les souches lactiques ont été testées pour leurs activités antagonistes vis-à-vis de quelques bactéries pathogènes.

Selon les résultats obtenus, la méthode de mise en évidence d'activité antagoniste exercée par nos bactéries lactiques, dévoilent des résultats positifs avec apparition de zones d'inhibition bien distinctes autour des puits sauf pour quelques bactéries pathogènes *Salmonella*, *Pseudomonas*, *Shigella* et *E. coli* qui ont données résultats négatif.

VI.2.2.1. Antagonisme des souches lactique vis-à-vis De *Salmonella typhimurium* ATCC 13311 par la technique ADT (Agar Well Diffusion Test)



Figure 34 : Variation des diamètres des zones d'inhibition des souches lactiques vis-à-vis de *Salmonella typhimurium* ATCC 13311 selon la méthode des puits (Surnageant neutralisés).

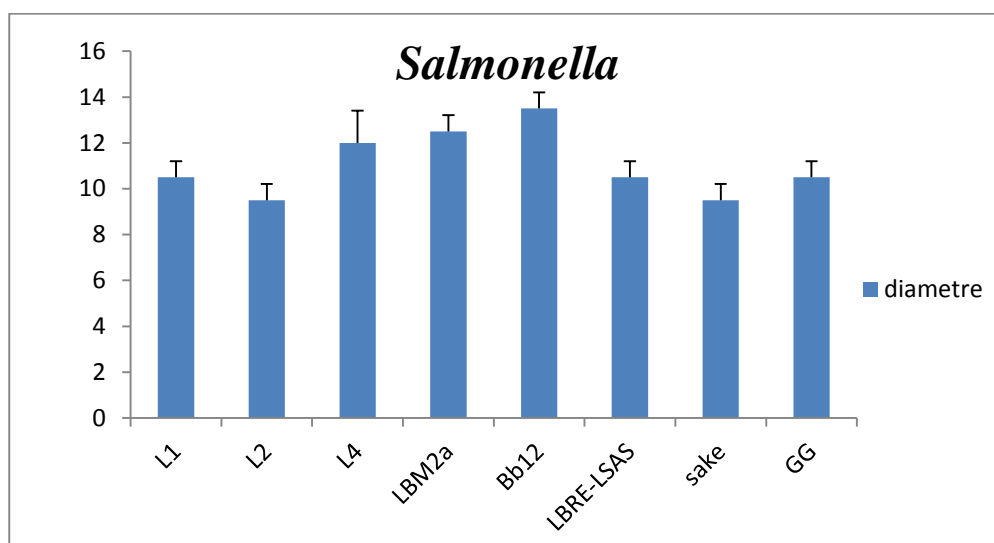


Figure 35 : Effet antagoniste souches lactique vis-à-vis de *Salmonella typhimurium* ATCC 13311 par la méthode ADT (Surnageants neutralisés).

Parmi les souches pathogènes testées, *Salmonella* est le germe le plus sensible aux tests d'antagonisme exercés par nos souches *Lactobacillus* testée.

La souche présentant la meilleure activité inhibitrice est Bb12 avec une zone d'inhibition enregistrée de 13mm.

VI.2.2.2. Antagonisme des souches lactique vis-à-vis de *B. cereus* ATCC 9884 par la technique ADT (Agar Well Diffusion Test)



Figure 36 : Variation des diamètres des zones d'inhibition des souches lactiques vis-à-vis de *Bacillus cereus* ATCC 9884 selon la méthode des puits (Surnageants neutralisés).

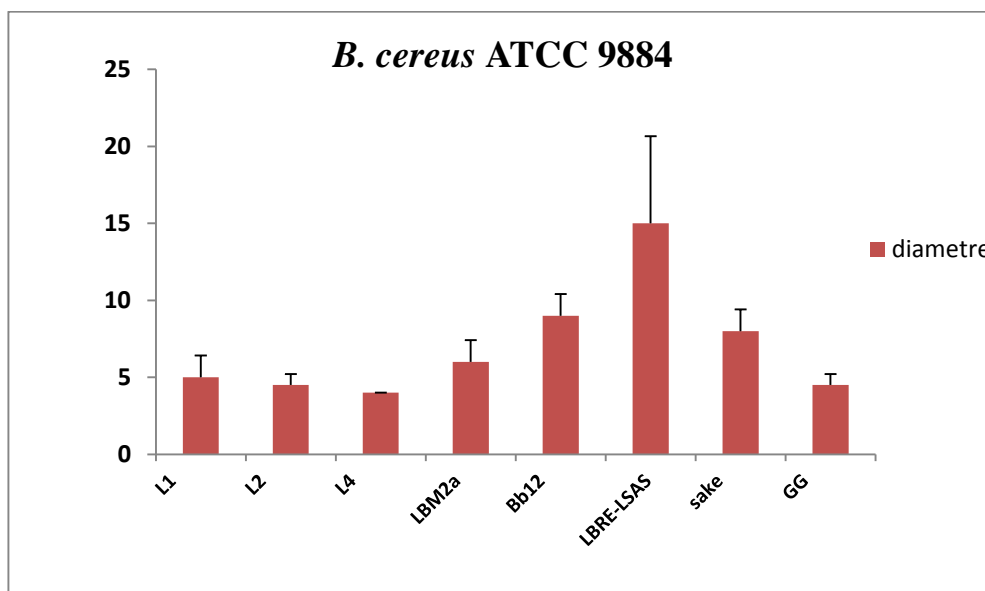


Figure 37 : Effet antagoniste des souches lactiques vis-à-vis de *B. cereus* ATCC 9884 par la méthode ADT (Surnageants neutralisés).

Parmi les souches pathogènes testées, *B. cereus* ATCC 9884 est le germe le plus sensible aux tests d'antagonisme exercés par nos souches *Lactobacillus* testée.

La souche présentant la meilleure activité inhibitrice est *LBRE-LSAS* avec une zone d'inhibition enregistrée de l'ordre de 9 mm.

VI.2.2.3. Antagonisme des souches lactique vis-à-vis de *Carnobacterium maltoaromaticum* DSM 20722 par la technique ADT (Agar Well Diffusion Test)



Figure 38: Variation des diamètres des zones d'inhibition des souches lactiques vis-à-vis de *Carnobacterium maltoaromaticum* DSM 20722 selon la méthode des puits (Surnageants neutralisés).

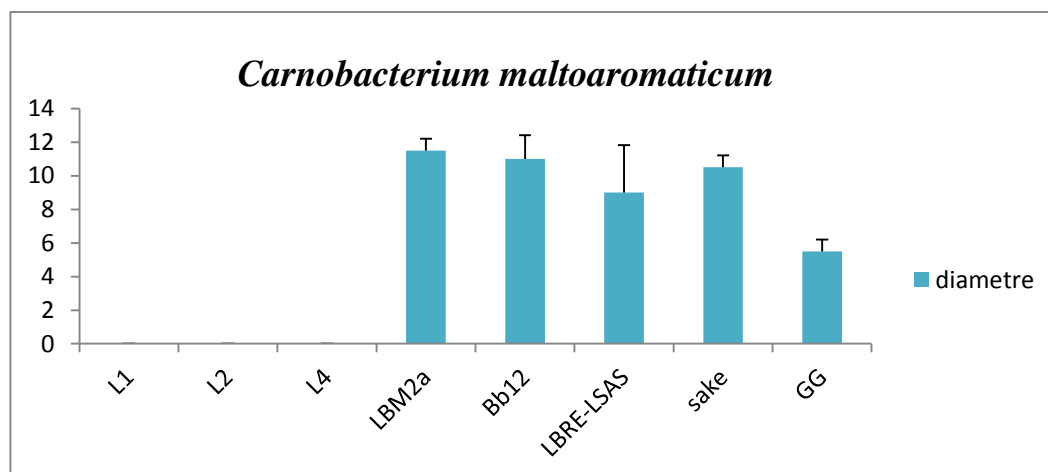


Figure 39: Effet antagoniste des souches lactiques vis-à-vis de *Carnobacterium maltoaromaticum* DSM 20722 par la méthode ADT (Surnageants neutralisés).

Les souches *Lactobacillus* dévoilent un effet antagonisme important vis-à-vis de *Carnobacterium maltoaromaticum* DSM 20722, notamment de la part de *Lactobacillus plantarum* LBM2a, Bb12 et *Lactobacillus Sake* LTH 673 et un effet moins important est noté par les souches L1, L2 et L4.

VI.2.2.4. Antagonisme des souches lactique vis-à-vis de *Listeria monocytogenes* ATCC 13932 par la technique ADT (Agar Well Diffusion Test)

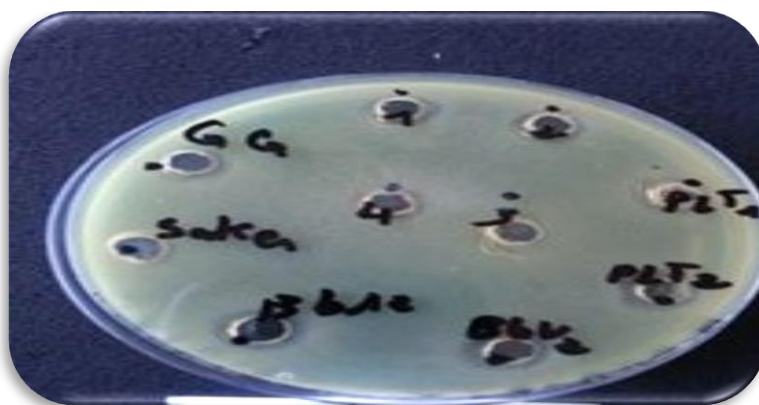


Figure 40: Variation des diamètres des zones d'inhibition des souches lactiques vis-à-vis de *Listeria monocytogenes* ATCC 13932 selon la méthode des puits (Surnageants neutralisés).

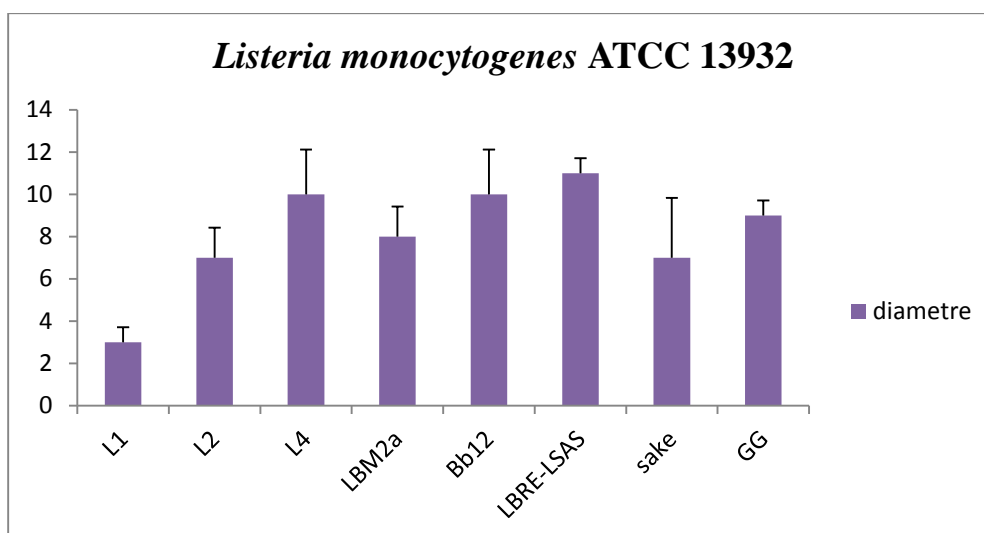


Figure 41: Effet antagoniste des souches lactiques vis-à-vis de *Listeria monocytogenes* ATCC 13932 par la méthode ADT (Surnageants neutralisés).

Selon les résultats obtenus la plupart souches lactique présentent une activité inhibitrice vis-à-vis avec des diamètres d'inhibition très importante.

La souche présentant la meilleure activité inhibitrice est la souche *LBRE-LSAS* avec une zone d'inhibition enregistrée de l'ordre de 11 mm.

Ces résultats concordent avec ceux obtenus par (Mami *et al.*, 2010). *L. plantarum* est capable d'inhiber 43 à 66 % de l'adhésion.

L. acidophilus présente un effet d'inhibition vis-à-vis *E. coli*, *E. durans*, *E. hirae*, *S. aureus* 29213, *S. aureus* 6538, *S. epidermis*, *B. subtilis*, *Listeria* 13932, *Listeria* 7644, *Salmonella*. Les diamètres d'inhibition respectifs sont : 13, 02, 15, 05, 13, 18, 08, 16, 00, 06.

Les travaux réalisés par (Mobarez *et al.*, 2008) sur l'effet antimicrobien des bactériocines produites par six souches de *Lactobacillus acidophilus* isolées par la technique ADT vis-à-vis de *Staphylococcus aureus* révèle des diamètres de zone d'inhibition compris entre 13 et 20 mm.

Plusieurs auteurs ont étudié l'effet antagoniste des bactéries lactiques (Ali *et al.*, 2007 ; Kacem *et al.*, Simon *et al.*, 2002 ; Rajaram *et al.*, 2010), lorsque ces dernières jouent un rôle essentiel dans l'inhibition de certaines bactéries, parmi celle-ci, certaines sont pathogènes et nuisibles à la qualité des aliments (Drouault et Corthier, 2001).

Plusieurs bactéries lactiques sont capables d'inhiber le développement de certaines bactéries à Gram positif telle que certaines espèces pathogène, par sécrétion des composés antimicrobiens comportant des peptides et des protéines, qui sont appelés les bactériocines (Simon *et al.*, 2010). L'effet antibactérien peut varier selon la souche et selon les conditions de cultures (Bazo, 2011).

Song et Richard (1997) ont montré chez *Listeria*, les cellules résistantes aux bactériocines ont une membrane de composition différente de celle des cellules sensibles.

Certaines Lactobacilles jouent un rôle protecteur par sa production des composés comme peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) acide lactique et les bactériocines qui inhibent la croissance potentielle des pathogènes (Liliana *et al.*, 2008).

A l'issue du présent travail nous avons constaté que l'allure de l'activité antagoniste des souches lactiques testées vis-à-vis de quelques bactéries pathogènes, diffère selon la souche considérée.

CONCLUSION

Les bactéries lactiques sont les micro-organismes dominants retrouvés au cours de la fermentation de la majeure partie des aliments, ou principalement dans les produits laitiers. Leurs principales fonctions comprennent la production d'acides organiques.

Cette étude a consisté à étudier leur activité antimicrobienne par la technique des puits vis-à-vis des souches pathogènes étudiées à savoir : *Escherichia coli* ATCC 10536, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853, *Bacillus cereus* ATCC 9884, *Shigella dysenteriae* CECT 457, *Salmonella paratyphi* ATCC 13311 et *Listeria monocytogenes* ATCC 13932.

Ces souches de bactéries lactiques ne présentent pas le même spectre d'action vis-à-vis des bactéries pathogènes. Les zones d'inhibition observées s'étendent de 4 à 15mm. Les souches lactiques étudiées représentent de bons candidats en vue de exploitation en les industries agro-alimentaire pour cela nous recommandons dans l'avenir :

- ❖ Déterminer la nature du composé actif antimicrobien.

Développer sa production à l'échelle industrielle

Références bibliographiques

A

- **Abdel-rahim A.G (1987)**.The chemical composition and nutritional value of camel and goat milk. *World rev. Anim. Prod.* **23**: 9-11.
- **Abu-lehia I. H(1987)**. Lactation of camels and composition of milk in Kenya. *Milchwissenschaft*, **42**, 368-371.
- **Abu-lehia I. H (1989)**. Physical and chemical characteristics of camel milk fat and its fractions. *Food Chem.*, **34** : 261-272.
- **Ait Belghanaoui A (2006)**. Influence d'un traitement probiotique (*Lactobacillusfarciiminis*) sur les altérations de la sensibilité viscérale liées au stress : rôle de la barrière épithéliale colique. Thèse pour obtenir ingénieur d'état en biologie.
- **Alais C (1984)**. Science du lait. Principes des techniques laitières. 4ème ed. Paris : Editions Sepaic, 814 pages. Alger Algérie. Commission nationale, point focal Algérien pour les ressources génétiques.
- **Amiot J., Fournier S., Lebeuf Y., Paquin P et Simpson R (2002)**. Composition, propriétés physicochimiques, valeur nutritive, qualité technologique et techniques d'analyses du lait IN science et technologies du lait transformation du lait par Vignola Carole L. *presse internationale polytechnique*, 1- 60
- **Ammour M. S (2004)**. Ecosystème microbien d'un atelier fermier de salaison Identification et propriétés des bactéries lactiques. Thèse doctorat Agro-campus Rennes.
- **Attia H., Kherouatou N., Nasri M. and Khorchani T (2000)**. Characterization of the dromadary milk casein micelle and study of its changes during acidification. *Lait*, **80**, 503-515. *Aust. J. Dairy Techn.*, **41**, 33-35.
- **Axelsson L (2004)**. Classification and physiology. In: Salsinen, S., Wright, A.V., Ouwehand, (Eds). *Lactic acid bacteria: Microbiological and functional aspects (3ed edition)*. *Marcel Dekker, Inc. New York, USA*. vol. 633, 1 - 66.

B

- **Bayoumi S (1990).** Studies on composition and rennet coagulation of camel milk. *K. Milchwirtschaftliche Forsch.*, **42**, 3-8.
- **Bazo M (2011).** Recherche des effets de l'activité antibactérienne des bactéries lactiques sur le staphylococcus aureus résistant à la méthicilline (SARM). Thèse Présenté comme exigence partielle de la maîtrise en biologie. Université du Québec à Montreal. P13
- **Bazo M(2011).** Recherche des effets de l'activité antibactérienne des bactéries lactiques sur le staphylococcus aureus résistant à la méthicilline (SARM). Thèse Présenté comme exigence partielle de la maîtrise en biologie. Université du Québec à Montreal. P13
- **Bekhouche F (2006).** Bactéries lactiques du lait cru de vache et Microorganismes pectinolytiques des olives noires et vertes : 1. Isolement et Identification biochimique. 2. Evaluation et Optimisation de la production d'enzyme polygalacturonase. Thèse de doctorat d'état en microbiologie et enzymologie option : génie alimentaire. Université De Mentouri Constantine Institut De La Nutrition De L'alimentation Et Des Technologies.
- **Ben-aissa M (1989).** Le dromadaire en Algérie. Options Méditerranéennes - Série Séminaires (02), 19-28.
- **Bengoumi M., Faye B., et Tressol J-C (1994).** Composition minérale du lait de chamelle du sud marocain. Actes du Colloque : "Dromadaires et chameaux animaux laitiers", 24-26- octobre, Nouakchott, Mauritanie.
- **Bergy S(2004).** Manual of Systematic Bacteriology Taxonomic Outline of the prokaryotes. *second edition; Release 05 May 2004.*
- **Boudier J.F., Luquet F.M.,(1978).** Utilisation du lactosérum en alimentation humaine et animale, synthèse Biblio, N° 21, APRIA, PARIS-F.DAVIS (J.G.).1976 cheese, Churchill. Livingstone, LONDON-G.B.

- **Boudjemaa K (2008)**. Essai d'optimisation de la production d'acide lactique sur lactosérum par *Streptococcus thermophilus*. Mémoire de magister. option biochimie et microbiologie appliquées. Université M'Hmed Bougara –Boumerdés.
- **Brugère H (2003)**. Cours sur Le lait et les produits laitiers, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, 2003.

C

- **Callewaert T., and De Vuyst L (2000)**. Bacteriocin production with *Lactobacillus amylovorus* DCE471 is improved and stabilized by fed-batch fermentation. *Appl. Environ. Microbiol.* **66 (2)**: 606- 613.
- **Calvez S ; Belguesmia Y., Kergourley G (2009)**. in bactériocines : de la synthèse aux applications in bactéries lactiques : physiologique, métabolisme, génomique et applications industrielles Edition : *Economica*. p 100-122.
- **Carmen M., Jan Kok E H., Pelaez C., Requena T et Buist G (2000)**. *Applied and Environmental Microbiology*, Aug., P p: 3174-3179.
- **Chaalel A., Riazi A., Dubois-Dauphin R and Thonart P (2015)**. Screening of plantaricin EF and JK in an Algerian *Lactobacillus plantarum* isolate. *Asian Pac J Trop Dis*; 5(6): 474-482.
- **Chiche J (1999)**. L'élevage pastoral, historique, suivi, évaluation. Cours international de pastoralisme, IAMM-IAV Hassan II.
- **Colwell R. R (1970)**. Polyphasic taxonomy of the genus vibrio: numerical taxonomy of *Vibrio cholerae*, *Vibrio parahaemolyticus*, and related *Vibrio* species. *J Bacteriol.* 104:410-433
- **119** Composition, propriétés physicochimique, valeur nutritive, qualité technologiques d'analyse du lait chapitre I.

D

- **D'Ambrosini V. M., Gonzalez S., Perdigon G., De ruiz holgado A. P AND Oliver G (1996)**. Chemical composition of the cell wall of lactic acid bacteria and related species. *Chem Pharm Bull* 44: 2263-2267.

- **De Roissart H. B (1986).** Les bactéries lactiques. Dans : le lait et les produits laitiers. Luquet F. M., 3, Ed. *Techniques et Documentations Lavoisier*. Paris, pp: 343-407
- **De Roissart H et Luquet F.M (1994).** Les bactéries lactiques. Uriage, Lorica, France, vol. 1. pp. 1-286
- **Dekkiche Y (1987).** Etudes des paramètres zootechniques d'une race caprine améliorée (Alpine) et deux populations locales (MAKATIA et ARBIA) en élevage intensif dans une zone steppique (Laghouat). Thèse. Ing. Agro; INA. El Harrach. Alger, 120 p.
- **Desjeux J. F (1993)** .Effets des bactéries lactiques ingérées avec des laits fermentés sur la santé. *Vet. Res. 32 (2001) 101-117.*
- **Desmazeaud M (1996).** Les bactéries lactiques dans : L'alimentation humaines : utilisation et innocuité. *Cahiers Agricultures*, 5, pp: 331-343.
- **Djidel A (2007).** Production d'acide lactique par *Lactobacillus casei* subsp : *Rhamnosus* sur jus de dattes : cinétique et optimisation en culture discontinues semi-continues et continues. Thèse présenté pour obtenir le grade de Docteur en Biotechnologies et industries alimentaires, Institut national de polytechnique de Lorraine. P32, 33.
- **Drouault S & Corthier G (2001).** Effets des bactéries lactiques ingérées avec des Lait fermenté sur la santé. *Vet . Res. 32 (2001) 101-117*
- **Drouault S & Corthier G (2001).** Effets des bactéries lactiques ingérées avec des Lait fermenté sur la santé. *Vet . Res. 32 (2001) 101-117*

E

- **El-amin F. Met Wilcox J (1992).**Composition of Majaheim camels. *J. Dairy Sci.*, **75**, 3155-3157.
- **Elamin, F.M and C.J Wilcox (1992).** Our Industry Today. Milk Composition of Majaheim Camels. *J. Dairy Sci.*, **75**: 3155–7.

F

- **Farah Z (1993)** cité par **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. P 20

- **Farah Z et Rüegg M.W (1989):** The size distribution of casein micelles in camel milk. *Food Microstruct.*, **8**, 211-116.
- **Favier J.C(1985) :** Composition du lait de vache (lait de grand mélange). *Cah. Nutr. Diét.*, XX (4), 283-291.
- **Faye B et Mulato O.C (1991).** Facteurs de variation des paramètres protéoénergétiques, enzymatiques et minérales chez le dromadaire de Djibouti. *Rev. Elev. Méd. Vét. des Pays Trop.*, **44**, 325-334.
- **Feliachi K(2003).** Rapport national sur les ressources génétiques animales; Algérie. Commission nationale, point focal Algérien pour les ressources génétiques, Octobre, 1-4.
- **Food and Drug Administration (1988).** Nisin preparation: affirmation of GRAS status as direct human food ingredient. *United States Governemr Federal Registry*, **53**: 1 1247.
- **Franworth E et Mainville I (2010) .**Les produits laitiers fermentés et leur potentiel thérapeutique, Centre de recherche et de développement sur les aliments, Saint-Hyacinthe, 11, 95-98.
- **FredotE (2006).**Connaissance des aliments-Bases alimentaires et nutritionnelles de la diététique, Tec et Doc, Lavoisier: 25 (397 pages).

G

- **Gauzere Y. Laithier C., Chatelin Y.M., David V., Tormo H., Lefrileux Y (2004).** Development of a probiotic cheddar cheese containing human-derived *Lactobacillus paracasei* strains. *Appl. Env. Microbiol.* **64** : 2192-2199.
- **Gevers. D. (2002).** Tetracycline resistance in lactic acid bacteria isolated from fermented dry sausages. Thèse Doc. Univ. Gent. Fac. Sci. Gent. Belgium.
- **Gilarová, R., Voldrich, M., Demnerová, K., Cerovský, M., AND Goldberg M., Fessenden J.M., Racker E (1966).** Biogenic amine production by wild lactococcal and *Leuconostoc* strains. *Letters in Applied Microbiology.* **26**, 270-274.
- **Gorban A.M.S. and Izzeldin O.M. (1997).** Mineral content of camel milk and colostrum. *J. Dairy Techn.*, **64**, 471-474.

- **Grand Pierre C., Ghisolfi J., Thomsent T.H(1988).** Etude biochimique du lait de chèvre. *Edition CCAN. Nutr. DIET. 23* : 364 – 374.
- **Grappin et al. (1981).** Etude des laits de chèvre : teneur du lait de chèvre en matière grasse, matière azotée et fractions azotées, *Lait***61**, 117-133
- **Guéguen L (1997).** La valeur nutritionnelle minérale du lait de chèvre In: Intérêts nutritionnel et diététique du lait de chèvre, Nfiort, *Ed INRA*, Paris Colloques 7 nov 1996, 67-80.
- **GuiraudM(1998):** Microbiologie alimentaire. Techniques d'analyse microbiologiques. Ed, Dunod. 365S–73S.

H

- **Haddaji M (2006).** Caractérisations technologiques des bifidobactéries à intérêt thérapeutique. Thèse de Doctorat d'Etat. Université d'Oran Algérie.
- **Hassan A. A., Hagrass A. E., Soryal K. A. and EL-Shabrawy S. A(1987).** Physicochemical properties of camel milk during lactation period. *Egyptian J. Food Sci.*, **15**, 1-14.
- **Hellal F (1986).** Contribution à la connaissance des races caprines algériennes: Etude de l'élevage caprin en système d'élevage extensif dans les différentes zones de l'Algérie du nord, Thèse. Ing. Agro.INA. El Harrach. Alger.
- **Holzapfel W.H., Haberer P., Geisen R., Björkroth J. and Schillinger U. (2001).** Taxonomy and important features of probiotic microorganisms in food and nutrition. *Am. J. Clin. Nutr.* **73**(suppl): 365S–73S.

J

- **Jeantet R., Croguennec T., Mahaut M., Schuck P. et Brule G (2008).** Les produits laitiers ,2ème édition, *Tec et Doc, Lavoisier*: 1-3-13-14-17 (185 pages).

K

- **Kerba A., (1995).** Base des données sur les races caprines en Algérie base de données FAO, *ed FAO* pp19-39
- **Klaenhammer TR (1998).** Functional activities of *Lactobacillus* probiotics: Genetic mandate. *Int Dairy J* **8**:497-505.

- **Knoess .K.H. (1977).** The camel as a meat and milk animal. *World Animal Rev*, 22 ,39-44.

L

- **Laameche. F (2010).** Etude technico- économique de la conduite d'alimentation des chamelles laitières en système d'élevage intensif dans la région de Ghardaïa ; 97p.
- **Labioui H., Laroussi E., El Yachioui M. et Ouhssine M., (2005).** Sélection de souches de bactéries lactiques antibactériennes. *Bulletin Soc Pharm. Bordeaux*, 144 : 237-250.
- **Le Mens, P., (1985).** Le lait de chèvre : propriétés physico – chimiques, nutritionnelles et chimiques. In : Lait et produits laitiers, vache, chèvre, brebis, de la mamelle à la laiterie. Tome 2. Paris : technique et documentation Lavoisier, 354– 367 matière grasse, matière azotée et fractions azotées, *Lait*61, 117-133
- **Liliana M., Pascuala., Maria B. D., Ruiz F., Walter G., Pajaro C & Lucila B.(2008).***Lactobacillus rhamosus* L60, a potential probiotic islated from the human vagina.*J.Gen.Appl. Microbiol.*, 54,141-148.
- **Liliana M., Pascuala., Maria B. D., Ruiz F., Walter G., Pajaro C & Lucila B(2008).***Lactobacillus rhamnosus*L60, a potential probiotic isolated from the human vagina.*J.Gen.Appl. Microbiol.*, 54,141-148.

M

- **M.A.D.R (2005)** Rapports campagnes Labours Semaines/Moissons Battages, 2003/2004,2004/2005 du Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural, Direction de la Régulation, du Développement et de la Production Agricole.
- **Mäkelä P., Schillinger U., Korkeala H., AND Holzapfel W. H (1992).** Classification of ropy slime-producing lactic acid bacteria based on DNA-DNAhomology and identification of *Lactobacillus sake* and *Leuconostoc amelibiosum* as dominant spoilage organisms in meat products. *International Journal of FoodMicrobiology*.**16**: 167-172
- **Makhloufi K. M (2012).** Caractérisation d'une bactériocine produite par une bactérie lactique *Leuconostoc pseudomesenteroides* isolée du boza. Thèse de doctorat de

l'université pierre et marie curie. Spécialité : *microbiologie, biochimie* (école doctorale iviv).

- **Mami A., Hemedi A R., Henni J., Kerfouf A & Kihal M. (2010).**Activité Antibactérienne de *Lactobacillus plantarum* isolée du lait cru de chèvre d'Algérie vis-à-vis de *Staphylococcus aureus*. *Les techniques de laboratoire*, Volume5, N°21
- **McLeod A., Nyquist O. L., Snipen L., Naterstad, K., And Mehaia M. A. (1995).** The fat globule size distribution in camel, goat, ewe and cow milk. *Milchwissenschaft*, 50, 260-263 *Method Enzymol.*, 9, 515- 520.
- **Mehaia M.A. (1992).** Studies on camel milk coagulation using soluble and immobilized pepsin. *Egyptian J. Dairy Sci.*, 20, 31-40.
- **Mehaia M.A. and Alkanhal M.A. (1992).** Taurine and free amino acids in milk camel, goat, cow and man. *Milchwissenschaft*, 47, 351-353
- **Mehaia M.A., Hablas M.A., Abdel-Rahman K.M. and El-Mougy S.A. (1995).** Milk composition of Majaheim, Wadah and Hamra camels in Saudi Arabia. *Food Chem.*, 52, 115-122.
- **Mietton B. (1986).** La préparation des laits de fromagerie en technologie de pâtes molles. *Ind. Alim. Agric.*, 103, 951-963.
- **Mietton B. (1986).** Les rendements en fromagerie. Eléments de méthodologie pour une meilleure détermination et utilisation des données. *Rev ENIL* 104, 6-16
- **Mittaine J. (1980).** Les laits autres que le lait de vache, nutritionnelles et chimiques. In : Lait et produits laitiers, vache, chèvre, brebis, de Octobre, 1-4.
- **Mobarez A. M., Hosseini Doust R., Sattari M & N Manthegi, (2008).** Antimicrobial effects of bacteriocin like substance produced by *L. acidophilus* from traditional yoghurt on *P. aeruginosa* and *S. aureus*. *J. Biological sci.* 8 (1): (221-224).

- **Oulad Belkhir A., (2008).** – Système d'élevage camelin en Algérie chez les tribus des chaambas et touareg, mémoire de Magister en agronomie Saharienne, université KASDI Merbah, Ouargla, 97 p.

P

- **Pellerin P (2001).** Mise au point Intérêt nutritionnel de lait de chèvre connaissances actuelles et perspectives. *Ann pharm Fr.*59 :51-62
- **Penner et al. (2005).** Probiotics and nutraceuticals: no medicinal treatments of gastrointestinal diseases. In Caractérisation d'une bactériocine produite par une bactérie lactique *Leuconostoc pseudomesenteroides* isolée du boza. Thèse de doctorat 2012.
- **Pot, B., (2008).** The taxonomy of lactic acid bacteria. In: Corrieu, G., and Luquet, F. M. (Eds). Bactéries lactiques. De la génétique aux ferments. *Lavoisier. Paris, France* pp 1-152.
- **Pougheon S .et Goursaud J (2001).** Le lait caractéristiques physicochimiques In Debry Lait, nutrition et santé, Tec et Doc,Paris : 6(566 pages). pour une meilleure détermination et utilisation des données. *Rev ENIL.*, 104, 6-16.

R

- **Raynaud S. (2006).** Régulation métabolique et transcriptionnelle de l'auto acidification chez *Lactococcus lactis*. Thèse de Doctorat, Spécialité : Sciences Ecologiques, Vétérinaires, Agronomiques et Bioingénieries. Université Paul Sabatier, Toulouse. P 25.
- **Ried et al., (2003).** Potential uses of probiotics in clinical practice. In Caractérisation d'une bactériocine produite par une bactérie lactique *Leuconostoc pseudomesenteroides* isolée du boza. Thèse de doctorat 2012.

- **Rodrigues U. M., Aguirre M., Facklam R. R and Collins M. D., (1991).** Specific and intraspecific molecular typing of lactococci based on polymorphism of DNA encoding rRNA. *J Appl Bacteriol.* **71** : 509-516.

S

- **Satura et Federighi (1998).** Un Essai d'optimisation de la production d'acide lactique sur lactosérum par *Streptococcus thermophilus*. Mémoire de magister. Option biochimie et microbiologie appliquées. Université M'Hmed Bougara –Boumerdés
- **Sawaya W.N., Kalil J.K., Al-Shalhat A. et AL-Mohamed H., (1984):** Chemical composition and nutritional quality of camel milk. *J. Food. Sci.*, 49, 744–747
- **Sebaa A., 1992.** Le profilage génétique visible de la chèvre de la région de Laghouat, Thèse Ing. Etat. *Inst. Agro Blida*, 48p.
- **Shkolnik A., Maltz E. and Gordin S (1980).** Desert conditions and goat milk production. *Journal of Dairy Science*, **63**, pp.1749-1754.
- **Siboukeur O (2007).** Etude du lait camelin collecté localement : caractéristiques physicochimiques et microbiologiques ; aptitudes à la coagulation' ; Thèse de Doctorat en Sciences Agronomiques ; Institut national Agronomique El-harrach-Alger.
- **Simon L., Fremaux C., Cenatiempo Y., & Berjeaud J .M (2002).** Sakacin G, a New Type of Antilisterial Bacteriocin. *Applied and environmental microbiology*, Dec.2002, Vol. 68, No. 12, p. 6416-6420.

T

- **Takoucht A(1998).** Essai d'identification de la variabilité génétique visible des populations caprines de la Vallée de M'ZAB et des Montagnes de l'ZHAGGAR, Thèse Ing. Etat. *Inst. Agro Blida*, 52p.
- **Thompson J., Gentry-Weeks C.R (1994).** Métabolisme des sucres par les bactéries lactiques. *In : Bactéries lactiques (De Roissart H. et Luquet F.M.). Lorica, Uriage. 1:* 239-290.

V

- **Vandamme P., Pot, B., Gillis, M., DeVos, P., Kersters K and Swings J (1996).** Polyphasic taxonomy, a consensus approach to bacterial systematics. *Microbiol. Rev.* 60: 407.
- **Vignola C.L (2002).** Science et technologie du lait –Transformation du lait, École polytechnique de Montréal, ISBN: 29-34 (600 pages).

W

- **Wilson D. E& Reeder D.M (2005).** – Mammal species of the world. A taxonomic and geographic reference, 3e éd. The Johns Hopkins University Press, Baltimore.
- **Wilson R. T (1984).** The camel. The print house". Pte LTD. *Singapore.* 223p.
- **Woese, C. R., Kandler, O., AND Wheelis, M. L., (1990).** Towards a natural system of organisms: proposal for the domains Archaea, Bacteria, and Eucarya. *Proc Natl Acad Sci U S A.*87: 4576-4579

Y

- **Yagil R. and Etzion Z (1980).** Effect of drought conditions on the quality of camel milk. *J. Dairy. Res.*, **47**, 159-166.

Annexe 01

Milieu MRS (De Man *et al.*, 1960)

Extrait de levure 4,00g

Extrait de viande 8,00g

Peptone 10,00g

Acétate de sodium 5,00g

Citrate d'ammonium 2,00g

Glucose 20,00g

Phosphate dipotasique (K_2HPO_4) 2,00g

Sulfate de magnésiums ($MgSO_4$) 0,25g

Sulfate de manganèse ($MnSO_4$) 0,05

Tween 80 1,00 ml

Agar-agar 20,00 g

Eau distillée 1000 ,00 ml

pH = 6,8

Stérilisation a l'autoclave : 120°C pendant 20 minutes.

Milieu MH (Mueller Hinton)

Extrait de viande 3,00g

Hydrolysate acide de caséine 17,5g

Amidon 01,5 g

Agar 16 g

pH =7,3 (+/- 02)