



UNIVERSITE  
Abdelhamid Ibn Badis  
MOSTAGANEM

République Algérienne Démocratique et populaire

Ministère De L'enseignement Supérieur

Et De La Recherche Scientifique

UNIVERSITE ABDEL HAMID IBN BADIS

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par

RAKHIS SAMIA

LADJAL HABIBA

Pour l'obtention du diplôme de

**MASTER II EN BIOLOGIE**

**Spécialité : Nutrition et Santé**

THÈME

Etude de quelques propriétés probiotiques des  
quelques souches

*Lactobacillus* isolées de lait chamelle et de chèvre

Soutenue publiquement le 19 /06/2016

DEVANT LE JURY

Président	GHELAMALLAH Amine	M.A.A	U. Mostaganem
Encadreur	BOUKEZZOULA Nawal	M.A.A	U. Mostaganem
Examineur	CHAALEL Abdelmalek	M.C.B	U. Mostaganem

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

**Année universitaire : 2015-2016.**



## **Remerciements**

Au début et avant tout, le remerciement et louange à Dieu le tout puissant, de nous avoir donné le courage, la santé de finaliser

Ce travail pour être bénéficié.

Nous tiennons à remercier tout d'abord notre encadreur, madame *BOUKEZZOULA N.* de m'avoir proposé ce sujet de recherche. La clarté et la précision de son rapport montrent à quel point elle s'est investie dans ce travail.

Ses critiques et ses conseils me sont d'ores et déjà précieux.

Nous remercier sont adressés également aux membres du jury, président ROULAMALLAH Amine et examinateur CHAALEL Abdelmalek pour bien vouloir évaluer ce travail.

Nous remercier s'adressent également aux personnes qui ont participé à réaliser ce travail, particulièrement les techniciens et techniciennes de Laboratoire des Microorganismes Bénéfiques, des Aliments Fonctionnels et de la santé -LMBAFS-..

Enfin nous remercier tous les étudiants de la promotion de master II Nutrition et santé 2015-2016.



## *Dédicace*

*Je dédie ce mémoire à mes chers parents*

*A ma chère mère boukharé Bakhta*

*A mon cher père rakhis Mohammed*

*A mes frères tarek et nasredin, merci pour vos  
encouragements pour vos soutiens*

*A mes grands parents*

*A toute la famille rakhis et boukharé*

*A Mon binôme Habiba*

*A tout mes amis et tous les étudiants de la promotion de  
master II Nutrition et santé 2015-2016.*

*Samia*

## *Dédicace*

*La louange appartient à Allah qui ordonne la bienfaisance et l'entraide dans la piété, que son salut et sa bénédiction soit sur le dernier des prophètes.*

*Je dédie ce modeste travail à :*

*A celle qui inséré le gout du vié et le sens de la responsabilité.....merci mère.*

*A celui qui a été toujours la source d'inscription et de courage.....merci père.*

*A mes frères et mes sœurs (Fatiha, Fatima, Naima, Zohra, Fouzia, Abdel Kader, Abdel l'ah).*

*A Mon binôme Samia.*

*A toute ma famille de prés et de loin. A mes amies (Siham, Naima, Dalila, Fatima).*

*Habiba*

## **Résumé :**

Notre étude a pour but l'évaluer certaines aptitudes probiotiques de 8 souches *Lactobacillus* isolées à partir du lait de chamelle et de chèvre, à savoir : S1, S2, S3, S4, S5, S6, S7 et S8. En effet la résistance au PH acides de l'estomac et aux sels biliaries a été examinée chez ces souches.

L'exposition des souches *Lactobacillus* aux PH acides de 2, 3 et 6.8 pendant 180 mn. A PH 2, c'est la souche S8 qui a révélé un maximum taux de viabilité qui est de l'ordre de 57 % par rapport aux autres souches, suivie par les souches S4, S3 et S5 avec des taux de viabilité de l'ordre de 38, 30 et 29 % respectivement.

La résistance au contact avec une solution contenant 0.5g/l de sels biliaire, a montré que les souches S4, S5, S1, S6, S3 et S7 ont montré une excellente résistance aux sels biliaries avec des taux de viabilités respectives de 90, 82.5, 80, 75, 69, 23 et 66.12%, par contre les souches S2 et S8 ont faiblement résisté à ces conditions avec des taux de viabilité enregistré de l'ordre de 55.55 et 44.94% respectivement.

**Mots clés :** *Lactobacillus*, probiotique, sels biliaries, PH gastrique.

## **Summary:**

Our study aims to evaluate certain probiotic strains *Lactobacillus* skills 8 isolated from camel milk and goat, ie S1, S2, S3, S4, S5, S6, S7 and S8. Indeed the resistance to acid PH of the stomach and bile salts was tested in these strains. Exposure of *Lactobacillus* strains to acidic pH of 2, 3 and 6.8 for 180 minutes. At PH 2, that is the S8 strain which showed a maximum viability rate which is of the order of 57% compared to other strains, followed by the strains S4, S3 and S5 with the viability rate of the order of 38,30 and 29% respectively.

Resistance to contact with a solution containing 0.5g / l bile salts, showed that strains S4, S5, S1, S6, S3 and S7 resisted to bile salts with respective viabilities rate of 90, 82.5, 80, 75, 69, 23 and 66.12%, on the other hand, strains S2 and S8 weakly resisted these conditions with viability rates of 55.55 and 44.94% respectively.

**Keywords:** *Lactobacillus*, probiotic, bile salts, gastric PH.

## Plan de travail

Introduction.....	01
<b>Chapitre I : Le lait de chamelle et de chèvre :</b>	
I-1-Production laitière du lait de chamelle .....	02
I-2-Caractéristiques du lait de chamelle .....	02
I-2-1-Caractéristiques organoleptique .....	02
I-2-2-Caractéristiques physico-chimiques.....	02
I-2-3-Composition chimique et biochimique .....	03
I-2-3-1-Eau.....	03
I-2-3-2-Glucides.....	03
I-2-3-3Matière Grasse.....	03
I-2-3-4-Vitamine.....	04
I-2-3-5-protéines camelines.....	05
I-2-3-6-Fraction azotée.....	05
I-2-3-7-Sels minéraux.....	05
I-3-Utilisation médicale et thérapeutique du lait de chamelle .....	06
I-3-1-Les facteurs antimicrobiens.....	06
I-3-2-Les facteurs anticancéreux.....	07
I-3-4-Les facteurs stimulants.....	07
I-4-Aptitudes la transformation technologique du lait de chamelle.....	07
I-4-1-Fabrication delà crème et du beurre .....	08
I-4-2-Fabrication defromage.....	08
II-Le lait de chèvre.....	09
II-1-Introduction.....	09
II-2-Définition.....	09
II-3-Valeur nutritionnelle du lait de chèvre.....	10

## **Chapitre II : Les bactéries lactiques.**

II-1-Définition et caractérisation des bactéries lactiques.....	11
II-1-1-Propriétés générales.....	11
II-1-1-1-Morphologie.....	11
II-1-1-2-Physiologie.....	12
II-1-1-2-1-Type respiratoire.....	12
II-1-1-2-3-Températures de croissance .....	12
II-1-1-2-4-PH .....	13
II-2-Classification des bactéries lactiques.....	13
II-2-1-Les Coques .....	13
II-2-1-1-Les genre lactococcus.....	14
II-2-1-2-Les Streptococcus.....	14
II-2-1-3-Le genre Enterococcus.....	15
II-2-1-4-Le genre Leuconostoc.....	15
II-2-1-5-Le genre Pediococcus.....	15
II-2-2-Le genre Lactobacillus.....	15
II-3-Habitat.....	17
II-4-Les bactéries lactiques dans la microflore intestinale.....	18
II-5-Rôle et intérêt des bactéries lactiques.....	21
II-5-1-Domaine alimentaires.....	21
II-5-1-1-Rôle sur la structure et la texture.....	21
II-5-1-2-Rôle dans la conservation.....	21
II-5-1-3- rôle sur les caractéristiques organoleptiques.....	21
II-5-2-Domaine de santé.....	21

## **Chapitre III : Les probiotiques**

II-1-Définition .....	23
II-2-Classification des probiotiques.....	24

II-3-Propriétés et critères de sélection des souches probiotiques.....	25
II-3-1-La résistance à l'acidité gastrique.....	26
II-3-2-La résistance aux sels biliaires.....	26
II-3-3-L'adhésion aux cellules épithéliales.....	27
II-3-4-La production de substances antimicrobiennes.....	27
II-3-5-Résistance aux antibiotiques.....	27
II-4-Les probiotiques et leurs effets bénéfiques sur santé.....	28
II-5-Rôle du probiotique.....	29
II-5-Rôle du probiotique.....	30
II-6-Application des probiotique.....	30
II-7-Mécanismes d'actions des probiotique.....	30
II-7-1-Inhibition de l'adhésion des pathogènes : phénomène de composition /exclusion.....	30
III-7-2-Production de substances antimicrobiennes.....	31
II-7-2- 1-Les bactériocines .....	31
II-7-2-2-Les acides organiques.....	31
II-7-3-Les peroxyde d'hydrogène.....	32
II-7-3-Stimulation de l'activité du système immunitaire intestinale.....	32
II-7-4-Allégations santé associés à la consommation des probiotiques.....	32

## **Chapitre IV : Matériels et Méthodes**

IV-1-Matériels :.....	33
IV-1-1-Objectif du travail.....	33
IV-1-2-Site d'étude.....	33
IV-1-3-Origine des souches.....	33
IV-1-4-Milieus de culture.....	33
IV-2-Méthodes.....	33
IV-2-1-Conservation des souches.....	33
IV-2-2-Etudes des propriétés probiotiques des souches lactobacillus.....	33

IV-2-2-1-Mise en évidence in vitro des propriétés probiotiques .....	33
IV-2-2-1-1-Résistance aux conditions gastro-intestinales simulées.....	34
IV-2-2-1-2-Résistance sels biliaires.....	36

## **Chapitre V : Résultats et discussion.**

V-1-Résistance aux conditions gastro intestinales simulées .....	38
V-1-1-Tolérance aux pH acide de l'estomac .....	38
V-1-2-Résistance aux sels biliaires.....	42

### **Conclusion.**

### **Référence bibliographiques.**

### **Annexes.**

## **Liste des abréviations**

G-C: Guanine- Cytosine.

S: Souche.

Min.: Minute.

°C: Degré Celsius.

G : Gramme.

h : Heure.

L : Litre

ml : Millilitre.

µl : Microlitre.

BAL : Bactérie lactique.

LB: *Lactobacillus*.

Ln: *Leuconostoc*.

St:*Streptococcus*.

GI: Gastro-intestinal.

B: *Bifidobacterium*.

LC: *Lactococcus*.

FAO: Food and agriculture organization.

H<sub>2</sub>O : Peroxyde d'hydrogène.

Ph: Potentiel d'hydrogène.

UFC : Unité formant colonie.

MRS : De Man, Rogosa et Sharpe.

O<sub>2</sub> : Oxygène.

°C : Degré Celsius.

% : Pourcentage.

m : mètre.

HCL : Chlorure l'hydrogène.

TGI : Tractus gastro-intestinale

## **Liste des figures**

<b>Figure n°01 :</b> <i>Leuconostoc lactis</i> observé au M.E.T. (x 10000)	14
<b>Figure n°02 :</b> Composition de la microflore intestinale humaine	20
<b>Figure n°03 :</b> Les principaux bienfaits des probiotiques	29
<b>Figure n°04:</b> Protocole de dénombrement des cellules viable des 4 souches dans PH gastrique simulé	35
<b>Figure n°05:</b> Protocole de dénombrement des cellules viable des 4 souches dans solution biliaire simulé	37
<b>Figure n°06 :</b> Résistance des souches S1, S2, S3 S4 S5 S6 S7 et S8 aux différents pH acides à 0 minutes de contact	38
<b>Figure n°07 :</b> Résistance des souches S1, S2, S3 S4 S5 S6 S7 et S8 aux différents pH acides à 180 minutes de contact	39
<b>Figure n°08:</b> Résultats de dénombrement de quelques souches testées après exposition à des PH acides	41
<b>Figure n°10 :</b> Résistance des souches testées à 0.5 g/l de sels biliaires	43
<b>Figure n°11:</b> Résultats de dénombrement de quelques souches testées après contact avec les Sels biliaires à 0.5 g/l	44

## Liste des tableaux

<b>Tableau n°01 :</b> Composition biochimique du lait chamelle, en composition avec celle du lait de vache	05
<b>Tableau n°02 :</b> PH et température optimale de croissance pour quelques genres des bactéries lactiques	13
<b>Tableau n°03 :</b> Les principaux groupes formés au sein du genre <i>Lactobacillus</i> , sur la base des caractéristiques phénotypes	17
<b>Tableau n°04 :</b> Liste des microorganismes considérés comme des probiotiques	25
<b>Tableau n°05 :</b> Critères de sélection utilisés pour le screening des probiotiques	26
<b>Tableau n°06 :</b> Les principaux effets bénéfiques attribués aux probiotiques	28

# Introduction

---

Les bactéries lactiques sont des microorganismes largement utilisées dans l'industrie alimentaire dans une variété de fermentations tels que le développement de produits à base de viande, de légumes et des produits laitiers, y compris de nombreux laits, fromage, yaourt ou le beurre (Dortu et Thonart, 2009). Il est aujourd'hui possible de sélectionner, identifier et cultiver des germes pour toute sorte d'usage : alimentaire (starters de fermentation), médicaux (probiotiques) ou biotechnologiques (production de molécules : bactériocine, polysaccharides). Il a été démontré que certaines souches de bactéries lactiques possèdent des propriétés intéressantes pour la santé, l'une de ces propriétés est de lutter contre les gastro-intestinaux provoqués par *Helicobacter pylori*, *Salmonella sp*, *Escherichia coli* (Hassen et Frank, 2001).

Les bactéries probiotiques sont des bactéries bénéfiques qui vivent dans l'intestin humain et qui sont maintenant employées couramment comme compléments alimentaires pour leurs effets positifs sur la santé humaine. La grande majorité des bactéries probiotiques appartiennent aux genres *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Propionibacterium* et *Streptococcus*.

Notre travail consiste à étudier *in vitro* certaines propriétés probiotiques de 8 souches nouvellement isolées, notamment la résistance au pH acide simulé de l'estomac et aux sels biliaires.

### **I-1-Production laitière du lait de chamelle**

Les études sur les capacités de production du lait par la chamelle datent de la fin des années cinquante avec les travaux de **(Rosetti *et al.*, 1955 cités par Yagil, 1982)** qui marquent véritablement le point de départ du mouvement d'exploration de ce produit.

La production du lait de chamelle a été sous-estimée en raison de la méconnaissance de cette espèce et de son potentiel laitier. Selon les estimations de la **FAO en 2002**, 85% du lait produit et commercialisé à travers le monde provient de la vache. La femelle du dromadaire occupe une place minime, loin derrière la chèvre et même la brebis. Avec un cheptel camelin 70 fois moins que le cheptel bovin, un tel décalage peut sembler justifié. Cette production laitière est variable, on peut citer comme production moyenne 5 à 10 l/j mais parfois plus quand le type de l'élevage est intensif, pendant 12 à 18 mois **(Siboukeur, 2007)**.

### **I-2- Caractéristiques du lait de chamelle**

Le lait de chamelle présente des caractéristiques originales, il a la particularité d'être léger, laxatif, et très doux. Il est celui à la teneur la plus élevée de toutes les espèces analysées (bovin, caprin), quand il constitue un apport nutritionnel important. Une des caractéristiques principales de lait, qui peut se conserver à l'état cru pour une durée plus longue, du fait qu'il est riche en anticoagulant, en substances bactéricides, et bactériostatiques, qui ralentissent la prolifération des micro-organismes, d'où l'on conclut que le lait de dromadaire peut être d'une qualité très bonne **(Eldjnabiet *al.*, 1990 cité par Guerradi, 1998)**.

#### **I-2-1- Caractéristiques organoleptiques**

Le lait de chamelle est de couleur blanche opaque, en raison de la structure et de la composition de sa matière grasse, relativement pauvre en  $\beta$ -carotène **(Sawayaet *al.*, 1984)**. Il est d'un aspect moins visqueux que le lait de vache, et légèrement sucré, avec un goût acide, parfois même salé ou amer **(Ramet, 2003)**. Il a une saveur douce **(Farah, 2004)**, cette variabilité dans le goût est liée au type de fourrage ingéré **(Wangoh *et al.*, 1998 b)**.

#### **I-2-2- Caractéristiques physico-chimiques**

La densité moyenne du lait de chamelle est de 1,029 g /cm<sup>3</sup>. Il est moins visqueux que le lait de vache, alors que sa viscosité moyenne est de 2,2 centipoises **(Hassan *et al.*, 1987 cité par Seboukeur 2007)**, avec une valeur de PH est entre 6,57 et 6,97 **(Khaskheli *et***

*al.*,2005). Le lait de dromadaire a une acidité Dornic plus faible que les autres espèces, son acidité moyenne en degré Dornic est de 14,66° D (**Ghennamet *al.*, 2007**), et leur point de congélation s'est avéré entre -0,57°C et -0,61°C (**Wangoh, 1997**).

### **I-2-3- Composition chimique et biochimique (propriétés nutritionnelle)**

on peut considérer le lait comme une émulsion de matière grasse dans une solution aqueuse. D'après (**Doyle *et al.*, 2001**), le lait renferme une grande quantité d'eau (87%), le lactose (4,8%), les lipides (3,7%), la caséine (2,6%), l'azote non protéique (urée, créatinine), les protéines du petit lait (0,6%) et les sels minéraux.

Le dromadaire joue un rôle majeur dans l'approvisionnement des habitants du désert, par un lait de bonne qualité nutritionnelle dans des conditions extrêmement hostiles de température, de la sécheresse et du manque de pâturages.

Le lait chamelle est plus riches en énergie (665 Kcal /litre) à cause de sa richesse en lipides et en protéine (**El Agamy, 2006**), il contient tous les nutriments essentiels présents Dans les autres espèces (**Salmenet *al.*, 2012**). Sa composition chimique globale en relation avec sa valeur nutritionnelle a fait l'objet de plusieurs rapports, et les teneurs indiquées sont des teneurs importantes et équilibrées en nutriments de base (protéines, matière grasse et lactose) avec des proportions assez importantes (**Tableau 1**).

#### **I-2-3-1- Eau**

L'eau est un facteur important qui affecte la composition du lait de chamelle, dont sa teneur varie selon son apport dans l'alimentation. En effet, il a été montré que la restriction en eau des chameles se traduit par une dilution du lait (un régime riche en eau donne un lait ayant un taux moins que dans un régime déficient) (**Faye et Mulato, 1991**).

#### **I-2- 3-2-Glucides**

Comme dans le lait bovin, le lactose est le glucide majoritaire présent dans le lait camelin. Sa teneur (valeur max=56 g /Kg) varie avec la période de lactation (**Hassan *et al.*, 1987**).

#### **I-2-3-3-Matière grasse**

La matière grasse est considérée comme une source d'énergie, elle agit comme un solvant pour les vitamines liposolubles et fournit des acides gras essentiels. Le lait de

chamelle est plus faible en matière grasse que le lait de vache, avec une moyenne de 3,5% (**Al Haj et Al Kanhal, 2010**). Cependant, leur globules gras sont de très petite tailles (1,2 à 4,2  $\mu\text{m}$  de diamètre) et restent donc en suspension, contrairement au lait de vache (**Chakhounia, 2011**).

#### **I-2-3-4-Vitamines**

Le lait de chamelle contient des diverses vitamines, telles que les vitamines : A, C, D, E et le groupe B. Mais ce lait se singularise par sa richesse relative en vitamines B3 (niacine) et en vitamine C, trois à cinq fois plus élevée que dans le lait bovin.

Les teneurs signalées sur l'apport de vitamine C, autour de 36 à 37, 4 mg /l. Cette caractéristique est particulièrement intéressante, car l'apport en ce type de vitamine est limité (**Chethouna, 2011**).

D'après (**Haddadinet al., 2008**), les concentrations moyennes en acide pantothénique (B5), en acide folique (B9) et en vitamine B12 dans ce lait seraient aussi beaucoup plus élevées (**Tableau 1**).

**Tableau 01** : Composition biochimique du lait de chamelle, en comparaison avec celle du lait de vache.

<b>Composition biochimique</b>	<b>Lait de chamelle</b> (Haddadin <i>et al.</i> , 2008)	<b>Lait de vache</b> (Farah <i>et al.</i> , 1992)
<b>Vitamines mg/kg :</b>		
- Acide ascorbique ©	33	11
- Acide folique (B9)	0,087	0,053
- Niacine (B3)	0,780	-
- Acide pantothénique (B5)	3,680	3,6
<b>Minéraux mg/l</b> (kappeler, 1998)		
- Calcium	1060-1570	1000-1400
- Fer	1,3-2,5	0,3-0,8
- Potassium	600-2100	1350-1550

**I-2-3-5- Protéines camelines**

Pour le lait dromadaire, Les teneurs en protéines variant de 2,5 à 4 %. La teneur moyenne en caséine et en protéines lactosériques varie entre 1,9 et 2,3 % et entre 0,7 et 1,0 % respectivement (Farah, 1996 ; 2011).

**I-2-3-6-Fraction azotée**

La fraction azotée du lait de chamelle comme celle du lait de vache, cependant la quantité en azote non protéique dans le lait de chamelle un peu plus élevée.

**I-2-3-7- Sels minéraux**

Le lait de chamelle est une source riche en sels minéraux en raison de certains fourrages consommés par les dromadaires (Yagil, 1982). Les sels présents sont diversifiés, et la teneur totale en minéraux varie de 0,60 à 1,05 %. On y dénombre en effet des Macro et des Oligoéléments qui se trouvent sous forme de sels (phosphates, chlorures, et citrates).

### I-3-Utilisation médicale et thérapeutique du lait de chamelle

Le lait chamelle est apprécié traditionnellement pour ses propriétés anti-infectieuse, anti-cancéreuse, anti-diabétique et plus généralement comme reconstituent chez les malades convalescents. Ces propriétés peuvent être reliées à la composition du lait de chamelle, et certain des composants pourraient être associés à ces propriétés à particulièrement les facteurs antibactériens, l'insuline et la vitamine C.

#### I-3-1- Les facteurs antimicrobiens

Parmi les facteurs antimicrobiens, on retient essentiellement :

##### ❖ Lactoferrine

La Lactoferrine (LF) est une glycoprotéine contenant deux sites capables chacun de fixer un ferrique ( $Fe^{3+}$ ). Cette capacité explique en partie son rôle dans le contrôle de la croissance de certaines bactéries pathogènes, telles que *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli* (Diarra *et al.*, 2002). Sur le plan des propriétés physiques, la Lactoferrine de la chamelle, comme beaucoup d'autres protéines laitières camelines, est plus thermorésistante que chez les autres espèces.

##### ❖ Lysozyme

Le lysozyme est une protéine naturellement présente dans les laits de mammifères où il représente un facteur antimicrobien puissant. Il se lie électrostatiquement sur les surfaces anioniques des bactéries. Les bactéries gram-négatif sont plus résistantes au lysozyme car elles contiennent une membrane externe de lipopolysaccharides, qui peut les protéger. En revanche, les bactéries telles que *Staphylococcus aureus*, *St.lentus*, *Lactobacillus casei*, *Lb.plantarum*, *Salmonella typhimurium*, *Clostridium perfringens*,...etc., sont sensibles au lysozyme (Kanuspayeva *et al.*, 2003).

##### ❖ Immunoglobulines

Les IgG jouent un rôle dans le système immunitaire chez les nouveau-nés. Le taux des immunoglobulines est très élevé dans le colostrum chez tous les mammifères. Cependant, la concentration d'immunoglobulines dans le lait varie selon les espèces concernées, dont trois classes fonctionnelles d'IgG sont définies chez le dromadaire. Du point

de vue structural, les IgG du dromadaire sont plus proches des immunoglobulines humaines que de celles des autres ruminants.

### **I-3-2- Le facteur anticancéreux**

La Lactoferrine joue un rôle reconnu dans le traitement de certains cancers et ses effets anti-tumoraux ont été étudiés notamment chez le rat (**Jouan, 2002**). Partant de ces résultats observés en laboratoire, (**Chissovet *al.*, 1995**) ont élaboré une préparation à base de Lactoferrine à utiliser dans les zones oro-pharyngiennes après une chimiothérapie.

### **I-3-3-Le facteur antidiabétique : l'insuline**

L'amélioration du statut glycémique chez les diabétiques traités au lait de chamelle serait due à la présence d'insuline en quantité importante. En tout état de cause, il semble que la consommation régulière de lait de chamelle a une action hypoglycémiante et régulatrice de la glycémie chez les patients insulinodépendants (**Kanuspayeva *et al.*, 2003**).

### **I-3-4-Les facteurs stimulants : la vitamine C**

La réputation du lait de chamelle est en grande partie due à sa richesse en vitamine C. De tous les laits de mammifères collectés pour les besoins de l'homme, celui de la chamelle est le plus riche en cette vitamine, dont il joue un rôle biologique considérable par ses propriétés anti-oxydantes. Récemment, il a été montré qu'elle avait aussi action une action positive sur la réponse immunitaire des organismes agressés par diverses maladies (**Kanuspayeva *et al.*, 2011**).

### **I-4-Aptitudes à la transformation technologique du lait de chamelle**

L'industrie laitière occupe une place importante et particulière dans l'Agroalimentaire. D'une part parce que l'industrie laitière se caractérise par la transformation d'une unique matière première et d'autre part parce qu'elle produit une multitude de fabrications et de produits différents. Le lait de dromadaire a des particularités qui limitent sa transformation en industrie, aux produits dérivés par rapport à celle de la vache :

- ❖ Il comporte une résistance particulièrement élevée à la prolifération bactérienne, dans les premières heures de son existence. En raison de sa teneur élevée en lysozyme, et en vitamine C (**Kamoun et Ramet, 1989**).

- ❖ On retiendra que ce lait est pauvre en matière sèche dans sa composition totale. Aussi sa composition minérale diffère ; il y a moins de  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Na}^{2-}$ , phosphore (**Kamoun, 1995**).
- ❖ L'acidification du lait de dromadaire, réalisée par voie fermentaire, soit par voie exogène, donc était plus lente (**Kamoun et Ramet, 1989**).
- ❖ Leur matière grasse est difficile à séparer par écrémage. Ceci est dû à la faible taille des globules gras et à leur composition particulière en acide gras (**Rüegg et Farah, 1991**).
- ❖ Le lait de dromadaire est pauvre en composition fromagers et son équilibre minéral, particulier, amplifie son inaptitude à la transformation en fromage (**Kamoun, 1990**).

Toutefois, moyennant des adaptations technologiques pour le corriger, ce lait devient transformable en produits laitiers avec des rendements et des qualités organoleptiques satisfaisants. On peut citer à titre d'exemple les adaptations suivantes :

- Dans la fabrication du yoghourt et pour renforcer le gel, le lait est corrigé par un apport de caséinates de poudre de lait de vache ou de brebis (**Ramet, 1994**).
- L'adjonction de phosphate de calcium pour le rétablissement de l'équilibre minéral.
- L'utilisation des extraits d'enzymes gastriques de dromadaires (**Siboukeur et al., 2005**).

Plusieurs produits peuvent être dérivés de ce lait comme le beurre, le fromage, la crème glacée...etc.

#### **I-4-1-Fabrication de la crème et du beurre**

La séparation de la crème par décantation prend un temps plus long que pour le lait bovin. Ce comportement pourrait s'expliquer par une densité de la crème proche de celle du lait écrémé, et /ou par les propriétés physicochimiques des globules gras (**Yagil et Etzion, 1980b**).

De ce fait, la préparation de la crème à partir du lait de dromadaire devrait s'opérer plus avec appareils appropriés (type centrifugeuse) qu'avec des procédés traditionnels utilisés (écrémage, spontané) (**Farah et al., 1989**).

### **I-4-2-Fabrication de fromage**

Certains fromages traditionnels de lait camelin sont élaborés par thermo-coagulation des protéines et obtention d'une pâte humide en forme de galette à consommer rapidement ou après séchage naturel et/ou salage. Toutefois, les particularités des constituants du lait de chamelle (petite taille des globules gras, présence d'un système antibactérien...etc.), ne permettent pas le transfert aisé de la technologie fromagère du lait bovin au lait camelin.

C'est le cas de la fabrication des fromages à pâte fraîche où la formation du caillé est assez du fait que l'acidification est limitée par le système antimicrobien du lait. En revanche, des travaux ont montré qu'elle était possible moyennant ou un ajout de lait d'autres espèces, ou par l'utilisation parallèle de ferments lactiques (Mohamed *et al.*, 1990).

D'autres agents coagulants sont proposés en dehors de la présure bovine. Il s'agit de la pepsine bovine, de la présure cameline et enfin des protéases coagulantes microbiennes de *Mucomiehei* et d'*Endothia parasitica* (Ramet, 1990).

## **II- Le lait de chèvre**

### **II-1-Définition du lait**

Le congrès international de la répression des fraudes a défini en 1909 le lait comme suit : «le lait est le produit intégral de la traite totale et ininterrompu d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée, il doit être recueilli proprement et ne pas contenir de colostrum».

Le lait est un édifice physico-chimique extrêmement complexe dont la valeur nutritionnelle est articulée autour de quatre nutriments principaux qui sont : Les protéines, les lipides, les glucides et les sels minéraux ainsi que d'autres éléments (vitamines). Le lait cru est un produit intéressant car n'ayant subi aucun traitement d'assainissement il conserve sa valeur nutritive (Larpent et Bourgeois, 1996).

### **II-2-Le lait de chèvre**

#### **II-2-1-Définition**

Le lait de chèvre est plus blanc que le lait de vache et dont la saveur est plus prononcée, les matières grasses du lait de chèvre contenant un peu moins de cholestérol que celles du lait de vache entier et sont plus digestibles (Anonyme, 2000).

**II-2-2-Valeur nutritionnelle du lait de chèvre**

Sa valeur alimentaire est en relation directe avec sa consommation ou son utilisation industrielle, la principale utilisation est sa transformation en fromages, et à un degré moindre pour la fabrication du yaourt et du beurre (**Katant zopuolor, 1996**).

L'importance de la valeur alimentaire du lait de chèvre se traduit par sa composition riche en eau, lactose, protéines et acides aminés, acide citrique, sels minéraux et matières grasses ce qui traduit sa bonne valeur nutritionnelle (**Hachelaf et al., 1993**).

## II- Les Bactéries Lactiques

### II-1-Définition et caractérisation des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques sont des micro-organismes unicellulaires, procaryotes, hétérotrophes et chimio-organotrophes (**De Roissart, 1986**) C'est-à-dire qu'elles tirent leur énergie de la dégradation de matière organique. Il s'agit de réaction d'oxydation qui se fait par déshydrogénation (parfois couplée à une hydratation ou à une décarboxylation) (**Guiraud, 1998**).

En plus de ces caractères biochimiques, il convient de prendre en compte leurs caractères microbiologiques :

- Les bactéries lactiques sont Gram (+).
- Elles ne sont pas sporulées.
- Elles sont pour la plupart immobiles.
- Elles sont dépourvues de cytochromes, étant incapables d'effectuer la synthèse du noyau hème des porphyrines donc sont incapables de respirer mais peuvent seulement effectuer un métabolisme fermentaire (**Guiraud, 1998**)

#### II-1-1-Propriétés Générales

##### II-1-1-1-Morphologie

Il existe deux grands groupes morphologiques : Les coques et les bacilles. Les coques (Cocci) : sont des sphères plus au moins ovoïdes de 0,5 à 1,5  $\mu$  m de diamètre dont la division peut engendrer les paires, des tétrades, des tétrades, des chaînettes ou des amas. Ce sont des bactéries non sporulées et immobiles.

Les bacilles : sont des bactéries en forme de bâtonnets qui peuvent avoir différents aspect. Acôté de bâtonnets droits classique, on peut trouver des coccobacilles ou de longues chaînes de bacilles. Le bâtonnet peut s'incurver dans certains cas ou s'allonger en filaments. Ils sont de 0,5 à 0,2  $\mu$ m de diamètres et 1,5 à environ 10  $\mu$ m de long (**Hermier *et al.*, 1992**).

## II-1-1-2-Physiologie

### II-1-1-2-1-Type respiratoire

Les bactéries lactiques sont des microorganismes hétérotrophes anaérobies qui tolèrent l'O<sub>2</sub> dans certaines mesures, l'O<sub>2</sub> affecte leurs métabolismes mais aussi leur croissance, leur survie et l'intégrité de leur génome (**Duwatet al., 1995**).

Elles ne sont pas particulièrement adaptées à la vie aérobie mais elles peuvent très bien tirer profit de l'oxygène présent dans un environnement micro-aérobie en présence de faible quantité de substrat carboné.

Ces conditions sont souvent celles que rencontrent ces bactéries dans leur environnement naturel actuel (**Fenton, 1987**).

### II-1-1-2-2-Mobilité

Le test de mobilité peut être fait par les méthodes habituelles. Les bactéries lactiques sont en majorité immobiles.

### II-1-1-2-3-Température de croissance

Généralement l'action de la température intervient à plusieurs niveaux : activation du métabolisme selon la loi d'Arrhenius, stress thermique et dénaturation des constituants cellulaires.

- Le froid ralentit et bloque le métabolisme microbien, sans tuer la cellule. Pour les bactéries lactique, la température optimale de croissance est variable selon les genres, comme exemple les lactobacilles, *Streptococcus thermophiles* qui sont thermophiles (**Tableau 02**).

**II-1-1-2-4- pH** : Variable selon les genres et les espèces (Tableau 02)

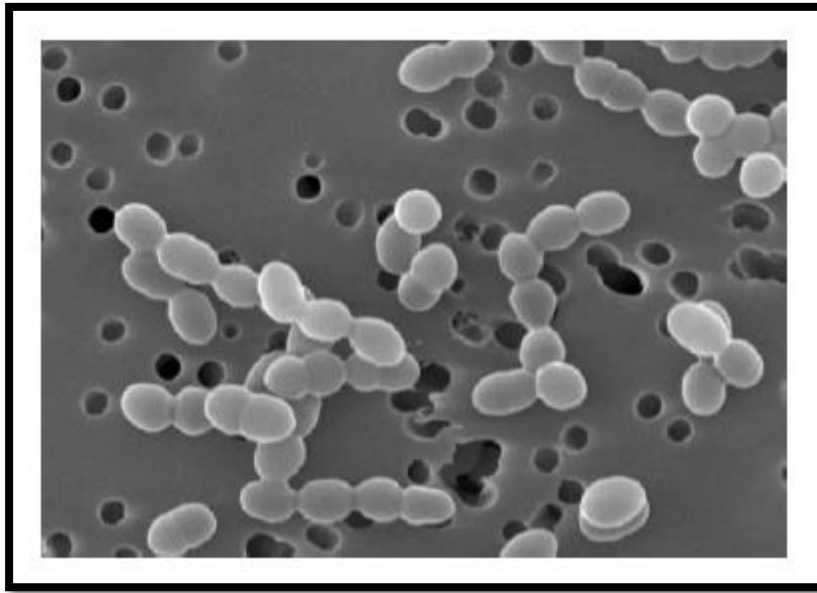
**Tableau 02** : pH et température optimale de croissance pour quelques genres des bactéries lactiques.

Genres et espèces	Température optimale de croissance	pH optimal de croissance
<i>Pediococcus acidilactici</i>	40 C °	Non identifié
<i>Pediococcus damnosus</i>	22 C °	5-5,5
<i>Lactobacillus agilis</i>	30 C °	7
<i>Lactobacillus héterohiochii</i>	30 C °	5-7
<i>Lactococcus piscium</i>	10 C °	7

## II-2-Classification des bactéries lactiques

### II-2-1-Les coques

C'est le cas de *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Leuconostoc* et *Pediococcus*. Ce sont des sphères plus ou moins ovoïdes (**Figure 01**) de 0,5 à 1,5µm de diamètre dont la division peut engendrer des paires, des tétrades, des chaînettes ou des amas.



**Figure 1** : *Leuconostoc lactis* observé au M.E.T. (x 10000).

<http://www.oocities.com/cheezyfr/photos/Leuconostoc.jpg>

#### II-2-1-1-Le genre *Lactococcus*

Le genre *Lactococcus* (streptocoque du groupe N) représente les streptocoques dits «Lactique», car ils sont associés à de nombreuses fermentations alimentaires et ne possèdent aucun caractère pathogène. Les produits végétaux constituent leur réservoir principal, mais ils sont largement présents dans le lait et les produits laitiers (Pilet *et al.*, 2005).

Les *lactocoques* se présentent sous forme de coques en paire ou en chaînes de longueur variable. Ce sont des bactéries anaérobies facultatives homofermentaires ne produisant que de l'acide lactique L(+), *seul Lactococcus lactis* produit le diacétyle. Leur température optimale de croissance est proche de 30°C, capable de se développer à 10°C mais pas à 45°C. Quelques espèces produisent des bactériocines. Elles sont capables de se développer à 3% de bleu de méthylène et d'hydrolyser l'arginine (Tamime, 2002).

#### II-2-1-2- Le genre *Streptococcus*

Le genre *Streptococcus* est toujours large et la classification est très mouvementée. Ce genre est généralement divisé en trois groupes : pyogène (la plus part des espèces pathogènes et hémolytiques), oral et les autres streptocoques (Scheilfer, 1985).

La seule espèce de *Streptocoques* qui soit utilisée en technologie alimentaire est *Streptococcus thermophilus* qui a été incluse dans le groupe des « autres streptocoques », mais ensuite transféré au groupe des streptocoques oraux à cause de leur degré d'homologie avec l'ADN de *Streptococcus salivarius* (Stiles et Holzapfel, 1997).

### II-2-1-3-Le genre *Enterococcus*

Ce genre regroupe les streptocoques fécaux qui représentent une hémolyse de type  $\alpha$  et  $\beta$  sont des commensaux de l'intestin. Les espèces rencontrées dans l'alimentation sont essentiellement *En. faecalis* et les espèces proches. Les entérocoques sont des coques qui peuvent être mobiles, homofermentaires, généralement différenciés par la fermentation de l'arabinose et le sorbitol, ils croissent entre 10°C et 45°C (Tamimeet al.,2007).

### II-2-1-4-Le genre *Leuconostoc*

Il représente les coques hétérofermentaires. La classification des espèces basée sur le GC% a permis de distinguer trois espèces : *Ln. Mesenteroides* (et ses trois sous espèces : *subsp. Mesenteroides. subsp. Dextranicum subsp. Cremoris*), *Ln. lactis*, *Ln. Paramesenteroides* et *Ln.enos* (Yang et Woese, 1989; Leveau et Bouix, 1993).

### II-2-1-5-Le genre *Pediococcus*

Il rassemble des coques homofermentaires dont la particularité qui les différencie des autres genres est le regroupement en paires ou en tétrades. Le genre *Pediococcus* est mésophile. Leur exigence nutritionnelle, leur faible activité protéolytique et le plus souvent leur incapacité à utiliser le lactose, ne leur permettent pas d'acidifier et de coaguler le lait. Leur Fermentation homolactique donne parfois de l'acide lactique racémique (acide D. L.-lactique).

Mais, fréquemment la forme lévogyre L prédomine : les espèces osmophiles non acidophiles ne donnent que cette forme. Ce genre est parfois utilisé comme levain lactique pour les charcuteries (Guiraud, 1998).

### II-2-2-le genre *Lactobacillus*

Les lactobacilles appartiennent à la flore normale de la cavité buccale, urogénitale et du tractus gastro-intestinal de l'homme et de l'animal. Ils représentent le groupe le plus important des bactéries lactiques, contenant plus de 120 espèces et 20 sous espèces.

Les lactobacilles se présentent sous forme de bacilles Gram positif, isolés ou en chaînettes, non sporulés et immobiles avec un pourcentage G+C inférieur à 50%. Les

lactobacilles appartiennent au groupe des *Firmicutes*, à la classe des *Bacilli*, à l'ordre des *Lactobacillales* et à la famille des *Lactobacillaceae*. Ces bactéries peuvent se développer à des températures basses ou extrêmes comprises entre 2 et 50°C, avec un optimum compris entre 30 et 40°C. Ils ont un métabolisme strictement fermentaire (homo ou hétérofermentaires), aérotolérant ou anaérobies et acidophiles, avec un optimum de pH entre 5,5 et 6,2 (**Kandler and Weiss, 1986**). De plus ces microorganismes sont auxotrophes avec de fortes exigences en facteurs de croissance tels que des glucides, des acides aminés, des dérivés d'acides nucléiques, des sels et des vitamines (**Morishita et al., 1981**). Les lactobacilles sont isolés de diverses niches écologiques telles que les plantes, le sol, l'eau, les produits laitiers, carnés ou végétaux fermentés ou en décomposition. Bien qu'ils y soient moins représentés que les Bifidobactéries, les lactobacilles sont des habitants naturels des tractus gastro-intestinaux et Urogénitaux de l'homme et de l'animal.

Les lactobacilles peuvent être classés en trois groupes selon leur métabolisme fermentaire (**Tableau03**).

- Groupe 1, homofermentaires obligatoires, produisant exclusivement de l'acide lactique à partir de la fermentation du glucose. Les bactéries associées à ce groupe ne fermentent pas les pentoses et parmi les espèces les plus fréquemment isolées de produits alimentaires, on trouve *L. acidophilus* et *L. delbrueckii*.
- Groupe 2, représente les hétérofermentaires facultatifs, qui produisent en plus de l'acide lactique, de l'éthanol, du CO<sub>2</sub>, de l'acide acétique ou d'autres acides organiques à courte chaîne à partir de la fermentation d'hexoses. Ces microorganismes peuvent fermenter les pentoses grâce à l'enzyme transketolase, qui catalyse la transformation du xylose-5-phosphate en glycéraldéhyde-3-phosphate (3ème maillon de la glycolyse). Les espèces les plus représentées sont *L. casei* et *L. plantarum*.
- Enfin le groupe 3, inclut les hétérofermentaires obligatoires, qui fermentent les hexoses et les pentoses en acide lactique, acide acétique et/ou éthanol et CO<sub>2</sub>. La production de gaz à partir de la fermentation du glucose est un trait caractéristique de ces bactéries. Les principales espèces de ce groupe sont *L. fermentum* et *L. brevis* (pour une revue détaillée, **Stiles and Holzapfel, 1997**).

**Tableau 03:** Les principaux groupes formés au sein du genre *Lactobacillus*, sur la base des caractéristiques phénotypiques (adapté de Stiles and Holzapfel, 1997).

Groupe 1	Groupe 2	Groupe 3
homofermentaires strictes	hétérofermentaires facultatifs	hétérofermentaires strictes
<i>L. acidophilus</i>	<i>L. acetotolerans</i>	<i>L. brevis</i>
<i>L. amylophilus</i>	<i>L. agilis</i>	<i>L. buchneri</i>
<i>L. amylovorus</i>	<i>L. alimentarius</i>	<i>L. collinoides</i>
<i>L. aviarius subsp. araffinosus</i>	<i>L. bifementans</i>	<i>L. fermentum</i>
<i>L. aviarius subsp. Aviarius</i>	<i>L. casei</i>	<i>L. fructivorans</i>
<i>L. crispatus</i>	<i>L. coryniformis</i>	<i>L. fructosus</i>
<i>L. delbrueckii subsp. bulgaricus</i>	<i>subsp. torquens</i>	<i>L. hilgardii</i>
<i>L. delbrueckii subsp.</i>	<i>L. coryniformis</i>	<i>L. kefir</i>
<i>delbrueckii</i>	<i>subsp. coryniformis</i>	<i>L. malefermentans</i>
<i>L. delbrueckii subsp. lactis</i>	<i>L. cuvatus</i>	<i>L. oris</i>
<i>L. farciminis</i>	<i>L. graminis</i>	<i>L. panis</i>
<i>L. gallinarum</i>	<i>L. hamsteti</i>	<i>L. parabuchneri</i>
<i>L. gasseri</i>	<i>L. homohiochii</i>	<i>L. parakefir</i>
<i>L. helveticus</i>	<i>L. intestinalis</i>	<i>L. pontis</i>
<i>L. jensenii</i>	<i>L. murinus</i>	<i>L. reuteri</i>
<i>L. johnsonii</i>	<i>L. paracasei subsp. paracasei</i>	<i>L. sanfrancisco</i>
<i>L. kefiranofaciens</i>	<i>L. tolerans</i>	<i>L. suebicus</i>
<i>L. kefirgranum</i>	<i>L. paraplanarum</i>	<i>L. vaccinostercus</i>
<i>L. mali</i>	<i>L. plantarum</i>	<i>L. vaginalis</i>
<i>L. ruminis</i>	<i>L. pentosus</i>	
<i>L. salivarius subsp. salicinus</i>	<i>L. rhamnosus</i>	
<i>L. salivarius subsp. salivarius</i>	<i>L. sake</i>	
<i>L. sharpeae</i>		

### II-3-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 (**Sandine, 1988**).

Parmi les espèces du genre *Streptococcus*, *Streptococcus thermophilus* est isolée du lait pasteurisé, du matériel de laiterie et de levains artisanaux (**Jones, 1978**).

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 (**Suhigara, 1985**) et des solutions visqueuses de

sucres dans les sucreries (**Devoiyode et Poullin, 1988**). 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) (**Chapman et Sharpe, 1981; Dellaglio et al., 1981A ; Uchida, 1982; Bacuset Brown, 1985B ; Villard et al., 1985**).

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. sanfrancisco*) (**Desmazeaud, 1996**).

#### II-4-Les bactéries lactiques dans la microflore intestinale

Les tractus gastro-intestinaux et urogénitaux de l'homme et des animaux sont les principaux habitats naturels des bactéries lactiques, du fait qu'ils fournissent un environnement stable et un approvisionnement continu en éléments nutritifs, sous forme d'aliments ingérés ou sécrétés par l'hôte. On y retrouve plus communément les genres *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Enterococcus* et *Bifidobacterium*. Généralement les espèces de *Lactobacillus* isolées du tube digestif de l'homme comprennent *L. acidophilus*, *L. salivarius*, *L. casei*, *L. plantarum*, *L. fermentum*, *L. brevis* et *L. reuteri* (**Mikelsaaret et al., 1987**). Dans le tractus gastro-intestinal humain, on compte une population microbienne de près de 10<sup>13</sup> à 10<sup>14</sup> organismes (**Gorbach et al., 1967**). Celle-ci est constituée de plus de 1000 espèces, et le génome total de ces commensaux ou « microbiome » est estimé à au moins 100 fois plus de gènes que le génome humain complet (**Hooper and Gordon, 2001 ; Gill et al., 2006**).

Chez l'homme, le nombre de bactéries lactiques est très variable dans les différentes sections du tube digestif, il augmente progressivement lorsqu'on passe de l'intestin grêle vers le côlon (**Figure 2**). Dans l'iléon distal, le contenu dans la lumière, est moins acide et les mouvements péristaltiques plus lents, favorisant ainsi une densité bactérienne plus élevée qui atteint 10<sup>5</sup>-10<sup>8</sup> cellules par gramme de contenu luminal (**Gorbach et al., 1967 ; Holzapfel et al., 1998**). Le côlon, quant à lui, est le plus grand réservoir de bactéries, les mouvements péristaltiques des entérocytes sont lents et les aliments y ont un temps de séjour de 18 à 68 h (**Mitsuoka, 1992**), ceci permet aux bactéries de croître dans le contenu luminal. La microflore Colique est l'une des plus diversifiées parmi celles identifiées dans les autres écosystèmes, elle compte plus de 400 espèces décrites à ce jour. Le nombre de bactéries varie entre 10<sup>10</sup> et 10<sup>12</sup> par gramme de contenu et constitue environ 30 à 50 % de la masse fécale.

Les lactobacilles comptent parmi la flore dominante du microbiota intestinal et sont présents tout au long du tractus gastro-intestinal en des quantités variables. Ils représentent environ 1% des micro-organismes, soit approximativement  $10^3$  à  $10^7$  bactéries/g de contenu intestinal (**Dal Bello et al., 2003; Tannock, 2005**). Toutefois, en raison de leur métabolisme, les lactobacilles colonisent l'intestin grêle proximal, c'est-à-dire le duodénum et le jéjunum, où ils accèdent aux réserves de glucides provenant de l'alimentation de l'hôte, qu'ils utilisent comme des sources d'éléments nutritifs (**Bongaerts and Severijnen, 2001**). Ce trait phénotypique est reflété par un nombre important de gènes codant pour des enzymes du métabolisme des glucides ainsi que pour des transporteurs d'entre eux ont été décrits pour certains lactobacilles et qui se rapportent directement à la place qu'ils occupent au sein du tractus gastro-intestinal (**Claesson et al., 2007**).

Toutefois, la croissance de ces bactéries dans le tractus gastro-intestinal (GI) dépend d'un certain nombre d'autres facteurs tels que l'acidité, les sécrétions biliaires, la présence d'immunoglobulines, d'enzymes, l'exfoliation des cellules épithéliales, la sécrétion du mucus ainsi que des mouvements péristaltiques (**Holzappel et al., 1998 ; Tannock, 1999**).

**Figure2** : Composition de la microflore intestinale humaine (**Isolauri *et al.*, 2004**).

Pour résister à l'entraînement par le flux de matière entrant dans la lumière intestinale, l'adhésion des bactéries aux différents constituants de la paroi intestinale est probablement un facteur important, conditionnant le succès de la colonisation de la partie supérieure de l'intestin (Savage, 1977; Fuller, 1989 ; Tannock *et al.*, 1992). L'interaction physique des Lactobacilles avec des composés de la surface intestinale de l'hôte est une fonction indispensable à la compréhension de l'écologie du *Lactobacillus* dans le tractus gastro-intestinal humain. En comparaison avec les travaux effectués sur les mécanismes d'adhésion des pathogènes de l'homme, très peu d'informations ont été rapportées dans la littérature sur les molécules de surface impliquées dans l'adhésion de lactobacilles à la muqueuse intestinale.

## II-5-Rôle et intérêt des bactéries lactiques

### II-5-1-Domaine alimentaire

#### II-5-1-1 Rôle sur la structure et la texture

L'acidification provoque la formation d'un caillé +ou- 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, ils sont généralement thermorésistants.

**II-5-1-3-Rôle 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**).

### III-Les Probiotiques

#### III-1-Définition

Un probiotique est un microorganisme vivant qui, lorsqu'il est ingéré en quantité suffisante, exerce un effet positif sur la santé. Les probiotiques sont principalement des bactéries et des levures présentes ou réintroduites dans la flore intestinale résidente (**Gaggia et al.,2010**). Il Existe quatre grands groupes de Probiotiques :

#### A) Les ferments lactiques

Ils sont capables de produire de l'acide par la fermentation de certains sucres comme le lactose.

#### B) les Bifidobactéries

D'origine humaine ou animale, elles appartiennent à la flore intestinale normale. Ils sont regroupés en deux catégories selon leur morphologie : Les lactobacilles et les coques.

#### C) les différentes levures de type saccharomyces

Elles sont principalement utilisées dans l'industrie agroalimentaire.

#### D) Les autres sporules dont *Bacillus subtilis* et *cereus*

Le concept de probiotique fait appel à quatre notions importantes

- Un probiotique est un microorganisme vivant.
- Un probiotique est ingéré par voie oral.
- Un probiotique exerce un effet bénéfique.
- Un probiotique exerce son action en l'équilibre de la flore intestinale les probiotiques peuvent être considérés comme un moyen de véhiculer des principes actifs qu'ils contiennent (enzymes, composants de paroi, peptides immuno-modulateurs, substances antibactériennes) jusqu' 'à leur cibles d'action dans le tractus digestif (**Marteau et al.,1993 et 1998**).

### III-2-Classification des probiotiques

Les probiotiques peuvent être classés en quatre catégories (**Tableau 04**). La première catégorie renferme les espèces du genre *Lactobacillus*. Les lactobacilles sont des bactéries Gram-positif, classées dans le phylum des Firmicutes et appartenant à la famille de Lactobacillaceae (**Hammes and Vogel, 1995**). Elles se présentent sous forme de bacilles ou de coques et sont anaérobies facultatives, immobiles, non flagellés et non sporogènes. Les lactobacilles forment une grande partie des bactéries lactiques qui sont capables de produire de l'acide lactique par la fermentation de certains sucres comme le lactose. Ces espèces colonisent l'être humain et sont généralement présentes dans le tractus gastro-intestinal, les muqueuses vaginales et la cavité buccale (**LandRouster-Stevens et al., 2005**). Les lactobacilles sont parmi les probiotiques les plus utilisés chez l'humain avec plus d'applications connues notamment la fabrication des produits laitiers fermentés tel que le yogourt (**Klaenhammer, 1998**). Parmi les souches commerciales les plus utilisées, on retrouve les souches de *L. acidophilus*, *L. casei*, *L. paracasei* et de *L. johnsonii* (**Holzappel and Schillinger, 2002**).

La deuxième catégorie est composée des espèces de *Bifidobacterium*. Ce sont des bacilles à Gram-positif, anaérobies strictes, immobiles et forment le groupe bactérien prédominant de la flore intestinale humaine (**Mitsuoka, 1990**). Les bifidobactéries sont majoritairement utilisées comme probiotiques surtout par l'industrie agroalimentaire en raison de leurs nombreux bienfaits sur la santé. C'est le cas de la souche commerciale *B. animalis*ssp. *Lactis*Bb12 (**Mohan et al., 2006; Kabeerdoss et al., 2011**).

Le troisième groupe de probiotiques comprend d'autres bactéries lactiques en forme de coques telles que les *Enterococcus* et les *Streptococcus*. Quant au quatrième groupe, il est constitué de micro-organismes non-lactiques notamment les bactéries sporulées (*Bacillus cereus*), les bactéries appartenant à l'espèce *Propionibacterium freudenreichii* ainsi que certaines levures de type *Saccharomyces* principalement utilisées par l'industrie agroalimentaire.

**Tableau 4:** Liste des microorganismes considérés comme des probiotiques (Holzapfel, Haberer *et al.*, 2001).

<i>Lactobacillus</i>	<i>Bifidobacterium</i>	Autres bactéries lactiques	Bactéries non-lactiques
<i>L. acidophilus</i>	<i>B. adolescentis</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Bacillus spp.</i>
<i>L. amylovirus</i>	<i>B. animalis</i>	<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Escherichia coli</i> Nissle
<i>L. brevis</i>	<i>B. bifidum</i>	<i>Lactococcus lactis</i>	<i>Propionibacterium freudenreichii</i>
<i>L. casei</i>	<i>B. breve</i>	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
<i>L. cellobius</i>	<i>B. infantis</i>	<i>Pediococcus acidilactici</i>	<i>Saccharomyces boulardii</i>
<i>L. crispatus</i>	<i>B. lactis</i>	<i>Sporolactobacillus inulinus</i>	
<i>L. curvatus</i>	<i>B. longum</i>	<i>Streptococcus thermophilus</i>	
<i>L. delbrueckii</i>	<i>B. thermophilum</i>	<i>Streptococcus diacetylactis</i>	
<i>L. farciminis</i>		<i>Streptococcus intermedius</i>	
<i>L. fermentum</i>			
<i>L. gallinarum</i>			
<i>L. gasseri</i>			
<i>L. johnsonii</i>			
<i>L. paracasei</i>			
<i>L. plantarum</i>			
<i>L. reuteri</i>			
<i>L. rhamnosus</i>			

### III-3- Propriétés et Critères de sélection des souches probiotiques

Afin qu'un microorganisme puisse être reconnu en tant que potentiel probiotique, il lui faut répondre à certains critères.

Tout d'abord, il doit être non pathogène et être reconnu comme sécuritaire. Il doit avoir la capacité de survivre et de croître dans les conditions physiologiques du tube digestif, ainsi qu'avoir une bonne tolérance au pH acide rencontré au niveau de l'estomac et sels biliaires rencontrés au niveau du duodénum (Dunne *et al.*, 2001).

L'adhérence aux cellules épithéliales de l'intestin est souvent citée comme un critère de sélection (Guarner et Schaafsma, 1998). L'importance de cette caractéristique est mise en évidence par le fait que beaucoup de probiotique ne colonisent pas l'intestin et ont donc

besoin de se fixer pour avoir leur effet bénéfique. Par exemple, les bactéries du genre *Lactobacillus* sont plus à même d'adhérer aux lignées cellulaires intestinales HT-29 et Caco-2 que les *Bifidobacterium* (Thornton, 1996).

Le tableau 5 rapporte les critères les plus utilisés pour la sélection des probiotiques.

**Tableau 05 :** Critères de sélection des probiotiques (Nousiainen *et al.*, 2004).

Critères	But recherché
Résistance à l'acidité gastrique	Survie pendant le passage par l'estomac et duodénum
Résistance aux sels biliaires	Survie pendant le passage par l'intestin grêle
Production d'acide (à partir de glucose et lactose)	Production (de barrière acide) efficace dans l'intestin
Adhésion au mucus et/ou aux cellules épithéliales humaines	Colonisation efficace, réduction des sites d'adhésion des pathogènes à la surface
Production de substance antimicrobienne	Inhibition du développement des germes pathogènes
Résistance à la chaleur	Survie pendant le processus de transformation
Bonnes propriétés technologiques	Stabilité, croissance sur une large échelle, survie dans le produit, résistance aux bactériophages

### III-3-1-La résistance à l'acidité gastrique

La survie des bactéries dans le suc gastrique dépend de leur capacité à tolérer les bas PH. Le temps de passage peut être d'une heure à quatre heures selon l'individu et son régime.

Par conséquent quelques auteurs proposent que les souches probiotiques doivent résister à un pH de 2,5 dans un milieu de culture pendant quatre heures (Ammor et Mayo, 2007).

### III-3-2-La résistance aux sels biliaires

Dans l'intestin grêle, la tolérance aux sels biliaires est un facteur important qui contribue à la survie des probiotiques. Les bactéries qui survivent aux conditions acides de l'estomac doivent alors faire face à l'action détergente des sels biliaires libérés dans le duodénum après ingestion des repas gras. Les bactéries peuvent réduire l'effet émulsifiant des

sels en les hydrolyses avec des hydrolases, de ce fait diminuant leur solubilité (**Ammor et Mayo, 2007 ; Guet *al.*, 2008**)

### III-3-3-L'adhésion aux cellules épithéliales

La capacité d'adhésion à la couche intestinale est un critère de sélection recommandé pour le choix des probiotiques, parce que c'est une condition pour la colonisation des entailles. L'adhésion constitue le premier mécanisme de défense contre l'invasion des bactéries pathogènes. Elle est basée sur la réalisation d'un ensemble de tests *in vitro* puis *in vivo* en utilisant des cellules d'origine animale et/ou humaine (**Palomares *et al.*, 2007 ; Reyes-Gavilan *et al.*, 2011**).

En plus du pouvoir d'adhésion aux cellules épithéliales de l'intestin, les probiotiques peuvent se fixer au mucus qui recouvre les anthérocytes ou aux divers microorganismes que l'on retrouve dans le tractus gastro-intestinale (**Lamoureux, 2000**).

### III-3-4-La production de substances antimicrobiennes

Les bactéries lactiques synthétisent des molécules à action bactéricide\bactériostatique comme les acides organiques, le peroxyde d'hydrogène, le dioxyde de carbone, le diacétyle et les bactériocines. Ces mécanismes antimicrobiens ont été exploités pour améliorer la préservation des aliments (**Titiek *et al.*, 1996 ; Labioui *et al.*, 2005**).

### III-3-5-Résistance aux antibiotiques

Les bactéries lactiques sont naturellement résistantes à beaucoup d'antibiotiques grâce à leur structure et physiologie. Les travaux de **Temmerman *et al.* (2003)** ont montré que 68,4 des probiotiques isolés ont une résistance à un antibiotique ou plus. Des souches de *Lactobacillus* ont été trouvées résistantes à la Kanamycine 81, à la tétracycline 29,5, à l'érythromycine 12 et au chloramphénicol 8,5.38 des isolats d'*Enterococcus faecium* ont été trouvés résistants à la vancomycine.

Dans la plus part des cas la résistance n'est pas transmissible, cependant, il est possible que le plasmide codant pour la résistance aux antibiotiques soit transféré à d'autre espèces et genre. C'est une raison significative pour choisir des souches manquantes du potentiel de transfert de résistance (**Denohue, 2004**).

### III-4-Les probiotiques et leurs effets bénéfiques sur la santé

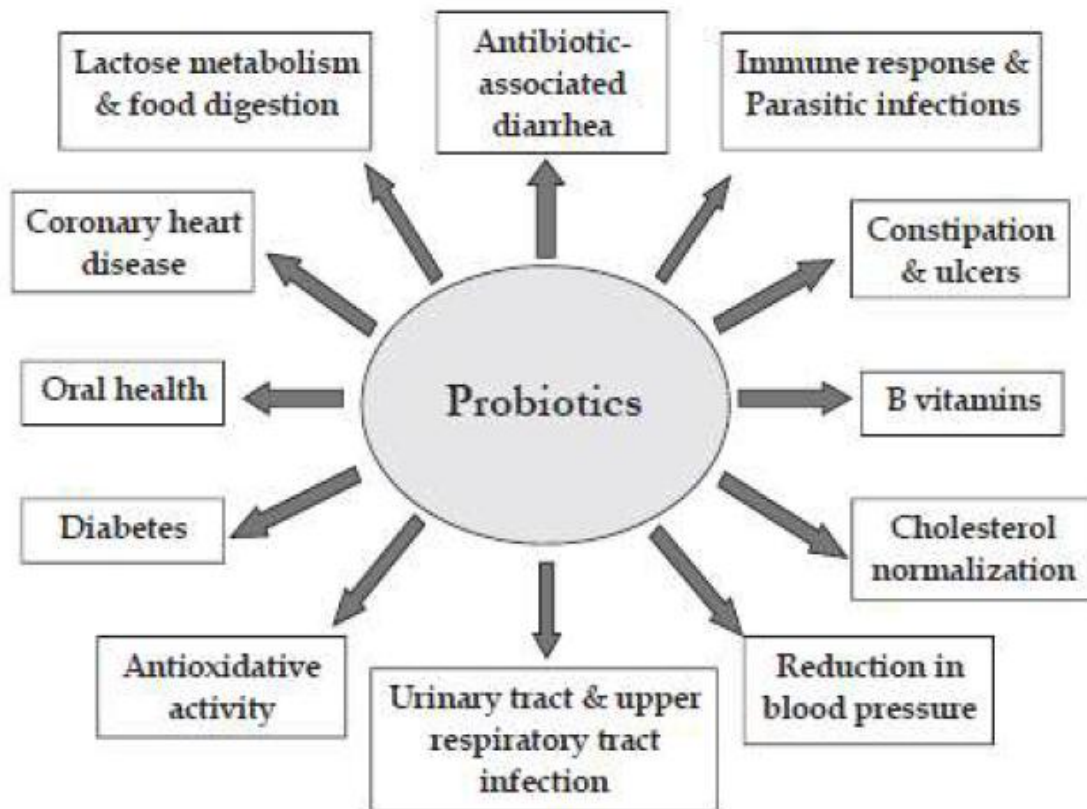
Plusieurs études ont démontré les multiples effets bénéfiques des probiotiques, en effet, les probiotiques interviennent dans la prévention et le traitement de plusieurs diarrhées, notamment la diarrhée du voyageur et la diarrhée associée à la prise d'antibiotiques (Beausoleil *et al.*, 2007; McFarland, 2007). Ils sont aussi impliqués dans la réduction et le traitement de certaines infections gastro-intestinales (Salminen *et al.*, 2005). Ils contribuent également à la modulation du système immunitaire et au renforcement de la muqueuse intestinale (Tableau 06, Figure 03) (Matsuzaki and Chin 2000; Madsen, Cornish *et al.*, 2001).

**Tableau 06** : Les principaux effets bénéfiques attribués aux probiotiques (Salminen *et al.*, 2004 ; Patterson, 2008).

Effets intestinaux	Effets sur le système Immunitaire	Autres effets
<p><b>Contrôle des troubles suivants :</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>-Mauvaise digestion du lactose.</li> <li>-Diarrhée due aux rotavirus et Diarrhée-associée aux antibiotiques.</li> <li>-Syndrome du côlon irritable</li> <li>-Constipation.</li> <li>-Infection par Helicobacter pylore.</li> <li>-Prolifération bactérienne dans l'intestin grêle.</li> <li>-Maladies inflammatoires chroniques de l'intestin</li> <li>Prévention de l'entérocolite Nécrosante du nouveau-né.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Modulation immunitaire</li> <li>-Répression des réactions allergiques par réduction de l'inflammation.</li> <li>-Réduction des risques d'infection par des agents pathogènes courants (<i>Salmonella</i>, <i>Shigella</i>)</li> </ul>	<p><b>-Réduction du risque de :</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>-Certains cancers (colorectal, vessie, col utérin, sein)</li> <li>-Coronaropathie.</li> <li>-Maladie des voies urinaires</li> <li>-Infection des voies respiratoires supérieures et infections connexes</li> <li>Réduction du cholestérol sérique et de la pression artérielle.</li> </ul>

Les probiotiques améliorent aussi la digestion des aliments et jouent un rôle dans la réduction des symptômes de l'intolérance au lactose (Nagpalet *et al.*, 2007). Les probiotiques possèdent aussi une action antimicrobienne grâce à la production des bactériocines (Klaenhammer, 1988). Certains probiotiques ont démontré leur capacité à prévenir certaines

maladies chroniques telles que la maladie de Crohn, l'obésité et le diabète (Schultz *et al.*, 2004; Yadav *et al.*, 2007). D'autres travaux laissent présager qu'ils pourraient également jouer un rôle important dans la prévention du cancer du côlon (Wollowski *et al.*, 2001).



**Figure 3** : Les principaux bienfaits des probiotiques (Nagpal *et al.*, 2012).

### II-5-Rôle des Probiotiques

\*Ils participent à l'activation de l'immunité et à la réduction d'allergies chez les sujets à risque.

\*La résistance à l'acide gastrique et à la bile, permet aux probiotiques de survivre dans le tube digestif où réside une partie de l'immunité

\*Les probiotiques participent au développement du système immunitaire chez le nourrisson et l'améliorent chez la personne âgée en augmentant le nombre de phagocytes et de lymphocytes Natural killer, premières défense contre un agent exogène.

\*Ils agissent également sur l'immunité en colonisant le tractus intestinal, réalisant ainsi « un effet barrière » empêche d'une part la colonisation de l'épithélium par des pathogènes et

renforce d'autre part l'immunité au niveau des muqueuses intestinales en augmentant la production d'IgA et de mucus, défenses locales au niveau des muqueuses (**Makhloufi, 2012**).

### III-6-Applications des Probiotiques

Les différents produits commercialisés en tant que probiotiques humains ou animaux sont constitués soit d'un seul microorganisme (produits dits mono-souches) ou d'une association de plusieurs espèces (produits dits pluri-souches). De nos jours, les produits probiotiques sont commercialisés sous trois formes (**Patterson, 2008**) :

- Un concentré de culture ajouté à des aliments et boissons à base de produits laitiers, de fruits et de céréales.
- Un ingrédient ajouté à un aliment à base de lait ou de soja et auquel on permet d'atteindre une concentration élevée par fermentation.
- Des cellules séchées, concentrées, en poudre, en capsule ou en comprimés.

Les probiotiques sont généralement associés aux produits laitiers de culture. La gamme de produits probiotiques comprend maintenant des fromages, des crèmes glacées et des yogourts glacés de même que des aliments et boissons non laitiers (**Patterson, 2008**).

### III-7- Mécanismes d'actions des Probiotiques

Les probiotiques font actuellement l'objet d'un certain consensus dans la communauté scientifique grâce à leurs effets bénéfiques sur la santé de l'hôte. Plusieurs mécanismes par lesquels certains probiotiques exercent des effets protecteurs ou thérapeutiques ont été proposés. Toutefois, ces modes d'action ne sont pas encore complètement élucidés. Parmi ces principaux mécanismes d'action, on retrouve le renforcement de la barrière intestinale, l'inhibition de l'adhésion des pathogènes à la muqueuse intestinale, la production de substances antimicrobienne et la modulation du système immunitaire.

#### III-7-1. Inhibition de l'adhésion des pathogènes : phénomène de compétition/exclusion

Les probiotiques exercent une action antimicrobienne directe en s'opposant à l'invasion des microorganismes pathogènes dans le tube digestif tout en empêchant leur adhésion aux parois intestinales (**Vanderpool et al., 2008**). En effet, il existe une compétition directe entre les souches probiotiques et les germes infectieux pour occuper les sites d'adhésion aux parois de l'intestin. Certains probiotiques ont une capacité d'adhérence au tube

digestif et peuvent le coloniser de manière prolongée. Cette propriété pourrait constituer un avantage écologique favorisant leur implantation au niveau des parois intestinales et par conséquent, l'inhibition de la fixation des germes pathogènes. Ainsi, les probiotiques jouent un rôle de barrière physique contre les microorganismes pathogènes. Ce phénomène a été observé chez certains lactobacilles qui adhèrent aux villosités intestinales et inhibent la fixation d'*Escherichia coli* entéro-pathogènes (Roselli, Finamore et al., 2006; Collado, Meriluoto et al., 2007).

### III-7-2-Production de substances antimicrobiennes

Les probiotiques pourraient également limiter la croissance des pathogènes en exercent une action antimicrobienne indirecte. Cette dernière se réalise grâce à la production de différents composés antimicrobiens.

#### III-7-2-1- Les bactériocines

Ce sont des composés protéiques qui ralentissent respectivement les invasions des souches bactériennes (Klaenhammer, 1993). Ces substances nocives produites par les probiotiques sont dirigées contre des bactéries phylogénétiquement proches de la souche productrice. Elles agissent principalement sur la membrane externe des bactéries cibles en formant des pores qui mènent à la libération du contenu intracellulaire et à la mort de la bactérie affectée. Les lactobacilles et les lactocoques, contrairement aux souches de bifidobactéries, sont le plus souvent associés à la production de bactériocines (Fooks and Gibson, 2002). La nisine, qui est produite par la bactérie *Lactococcus lactis*, est la bactériocine la plus documentée.

#### III-7-2-2- Les acides organiques

Les bactéries probiotiques ont la capacité de produire des acides organiques qui contribuent à l'inhibition de la croissance des microorganismes entérovirulants (Servin, 2004). Il s'agit de l'acide lactique et l'acide acétique, qui sont produits respectivement par les lactobacilles et les bifidobactéries via la fermentation des hexoses. Ces acides organiques, produits à partir de glucides ingérés lors de la prise alimentaire, contribuent à faire baisser le pH intestinal. Leur diffusion passive à travers la membrane bactérienne sous leur forme non dissociée permet, après leur dissociation, d'acidifier le cytoplasme et donc d'inhiber la propagation, la croissance et la survie des agents pathogènes acido-sensibles.

### III-7-2-3- Le peroxyde d'hydrogène

Certaines bactéries lactiques produisent, en milieu humide, du peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) qui inhibe de nombreuses souches bactériennes pathogènes (**Ouwehand and Vesterlund, 2004**). La production du peroxyde d'hydrogène accompagnée par celle d'acide lactique permet l'inhibition du développement de certaines espèces pathogènes comme certains virus tel que le virus de la fièvre aphteuse, certains champignons comme *Candida albicans*, ou encore certaines bactéries comme *Escherichia coli*, etc.

### III-7-3-Stimulation de l'activité du système immunitaire intestinale

L'interaction des probiotiques avec le système immunitaire permet d'accroître la réponse immune de l'hôte contre les agents entéropathogènes. En effet, les probiotiques interviennent dans la stimulation de l'immunité adaptative, tel que la production des anticorps de type IgA (**Shu and Gill, 2002**), ainsi que l'immunité innée tel que la production des macrophages, des monocytes, etc. (**Oelschlaeger, 2010**). Par conséquent, les 33 probiotiques agissent comme des adjuvants en modulant une réponse rapide de la muqueuse intestinale et renforçant ainsi le système immunitaire intestinal.

### III-7-4- Allégations santé associées à la consommation des probiotiques

Connus depuis des centaines d'années, notamment à travers les produits laitiers fermentés traditionnels, les probiotiques font l'objet d'un véritable regain d'intérêt de la part des industriels. Ces derniers insistent d'ailleurs sur leur action bénéfique notamment sur le système digestif et l'équilibre de la flore intestinale. En outre, l'intérêt des consommateurs pour ces produits bénéfiques pour la santé est également l'un des moteurs de la croissance du marché des probiotiques. Mais, l'arrivée de nouvelles règles sur les allégations a freiné la croissance des probiotiques. Récemment, Santé Canada a mis au point une nouvelle réglementation concernant les allégations génériques relatives à la consommation des probiotiques (**Santé Canada, 2009**).

## **IV-1-Matériels**

### **IV-1-1 Objectif du travail**

**Le but de notre travail est :**

- ❖ Etude *in vitro* de certaines propriétés probiotique de 8 souches de lactobacilles (résistance au PH acide de l'estomac et la résistance aux sels biliare).

### **IV-1-2 Site d'étude**

Ce travail a été réalisé au laboratoire (LMBAFS) Laboratoire des microorganismes bénéfiques, des aliments fonctionnels et de la santé.

### **IV-1-3 Origine des souches**

Les souches des bactéries lactiques isolées à partir du lait de chamelle et lait chèvre et identifiée génétiquement par Mme Boukezzoula. N.

### **IV-1-4 Milieux de culture :**

- ❖ Le milieu MRS (De Man *et al.*, 1960) : Utilisé pour les *Lactobacillus*.

## **IV-2-Méthodes**

### **IV-2-1 Conservation des souches**

Les souches sont cultivées sur milieu MRS gélosé inclinés à 37 °C pendant 48 h.

Ensuite les tubes sont conservés à 4°C. Les cultures sont repiquées toutes les deux semaines (Scardovi,1986).

### **IV-2-2 Etudes des propriétés probiotiques des souches *Lactobacillus* :**

#### **IV-2-2-1 Mise en évidence *in vitro* des propriétés probiotiques :**

L'objectif de cette partie de l'étude est d'évaluer le comportement des souches de *Lactobacillus* étudiées envers les conditions rencontrées au cours du passage à travers le tractus gastro-intestinal humain.

**IV-2-2-1-1 Résistance aux conditions gastro-intestinales simulées :**

Ce test a été réalisé selon la technique décrite par (Izquierdo, 2009 ; Kanamet *al.*, 2007 ; Mosilhey, 2003) et qui comporte les étapes suivantes :

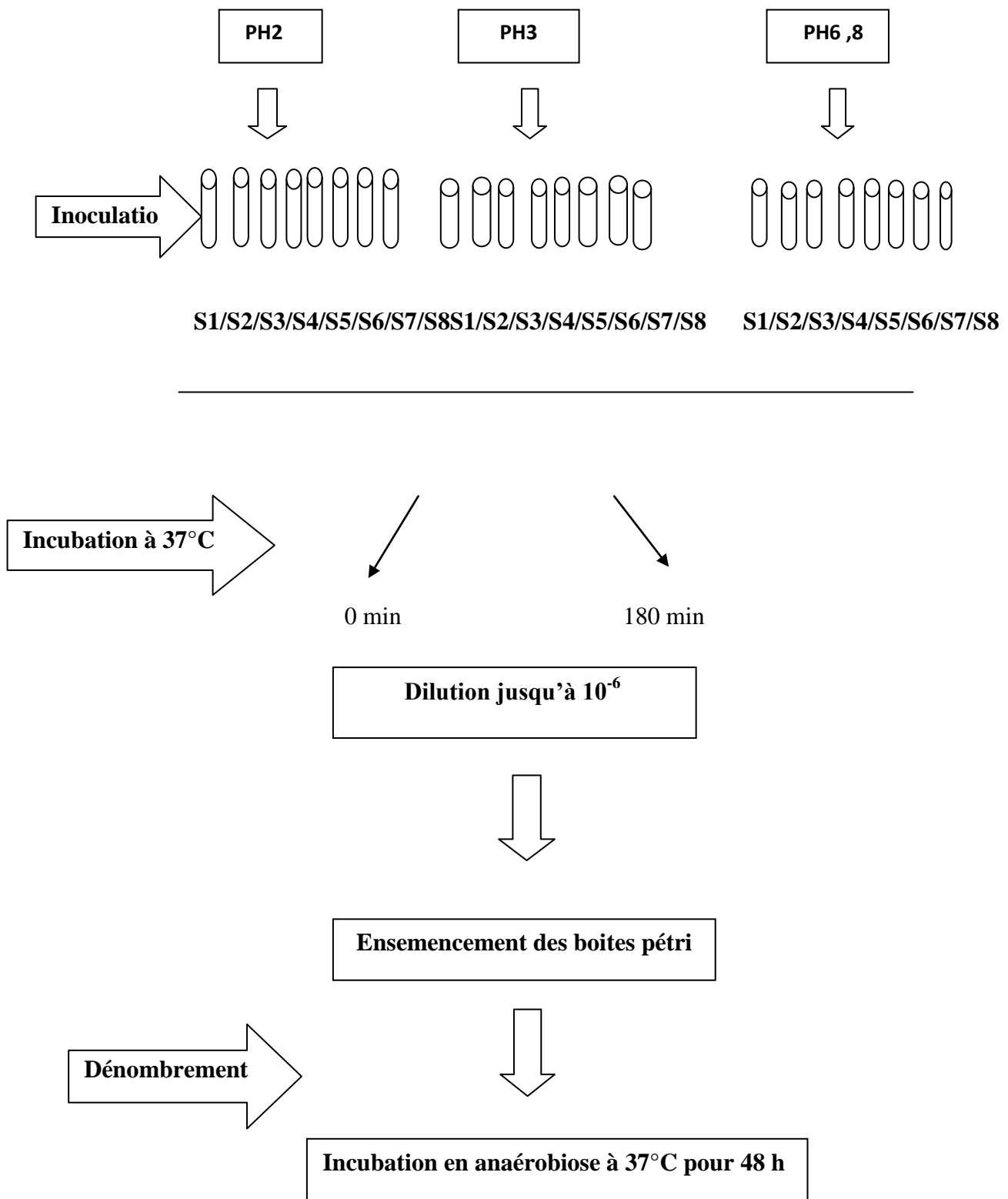
**Préparation des solutions acides simulées au PH de l'estomac humain :**

Des solutions l'eau distillée sont ajustées au PH 2 et 3 avec l'Hcl 1M. L'eau distillée au PH 6,5 est utilisée comme témoin. Les solutions sont préparées dans les tubes de 10ml stérilisées et conservées à température ambiante avant leur utilisation par la suite 0,1ml de chaque culture jeune des souches étudiées est transféré dans les tubes contenant les solutions acides 'incubation est faite à 37°C en anaérobiose pour 180 minutes afin de simuler la survie des espèces dans les conditions acides de humain. Le dénombrement des cellules viables est ensuite effectué.

**Dénombrement des cellules viables dans les solutions de pH gastrique simulé :****Mode opératoire :**

Pour dénombrer les cellules viables dans les solutions acides, nous avons prélevé 0,1 ml (100 µl) de chaque culture après le temps d'incubation et avons réalisé des dilutions en cascade jusqu'à 10<sup>-6</sup> dans une l'eau physiologie. Les derniers dilutions (10<sup>-6</sup>) de chaque tube sontensemencées en surface sur la MRS gélose dans les boites de pétri (**Figure 04**).

Les boites de pétri ainsi préparées sont incubées à 37°C pendant 48 h en anaérobiose.



**Figure 04:** Protocol de dénombrement des cellules viables des 8 souches dans un PH gastrique simulé.

**IV-2-2-1-2- Résistance aux sels biliaires**

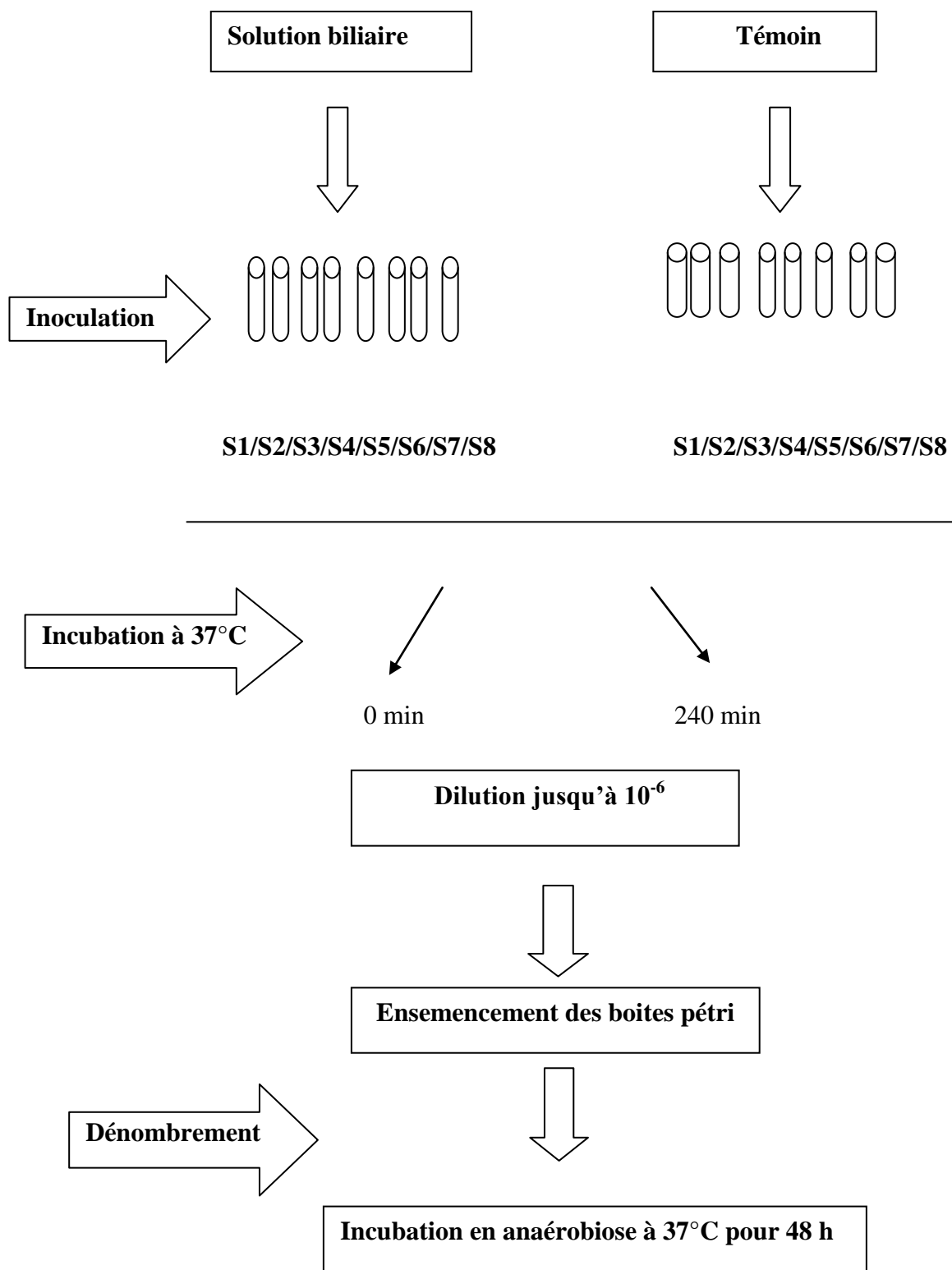
La technique décrite par (Kotikalapudi, 2009 ; Thirabunyanon *et al.*, 2009 ; Vijendra et Prasad, 2005 ; Mosilhey, 2003) a été appliquée :

**Préparation des solutions biliaires****Mode opératoire**

- 0,5 g de sels biliaires est préparée dans 100 ml l'eau distillée.
- L'eau distillée sans sels biliaires est utilisées comme témoin.
- Les solutions sont préparées dans des tubes de 10 ml stérilisées et conservées dans l'autoclavage à 120°C pendant 20 min.
- Par la suite, 0,1 ml de la culture jeune de chaque souche testée est transféré dans les tubes contenant la solution des sels biliaires. Nous avons également préparé des tubes témoin (sans sels biliaires). Les tubes sont incubés à 37°C en anaérobiose pour 240 min, le dénombrement est effectué avant l'incubation ( $t_0$ ) et après 240 min. d'incubation ( $t_{240}$ ).

**Dénombrement des cellules viables dans les solutions de sels biliaires**

- Nous avons prélevé 1 ml de chaque tube et préparé des dilutions en cascade jusqu'à à  $10^{-6}$  dans l'eau physiologie.
- En suite l'incubation des boites de pétri à 37°C en anaérobiose pendant 48 h (**Figure 05**).



**Figure 05:** Protocole de dénombrement des cellules viables des 8 souches dans une solution de sels biliaires simulés aux conditions physiologiques.

## V- Résultats et discussion

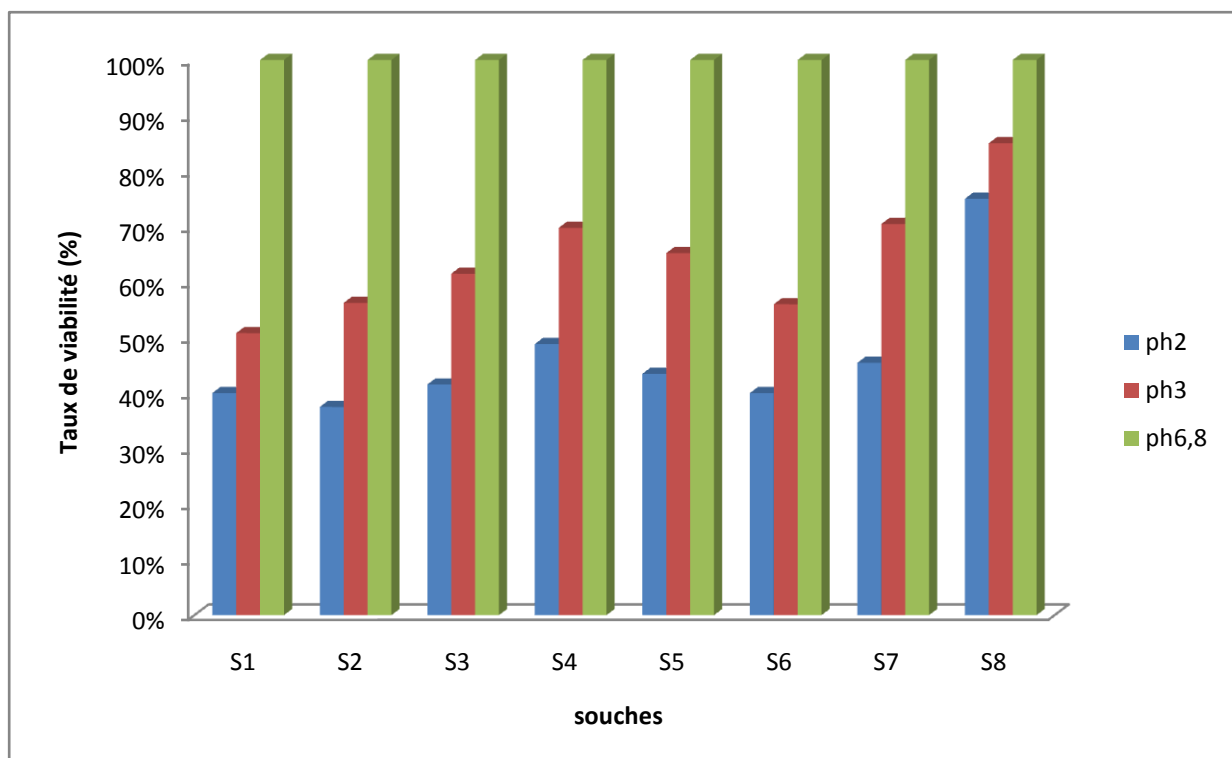
### V-1-Résistance aux conditions gastro-intestinales simulées

#### V-1-1-Tolérance aux pH acide de l'estomac

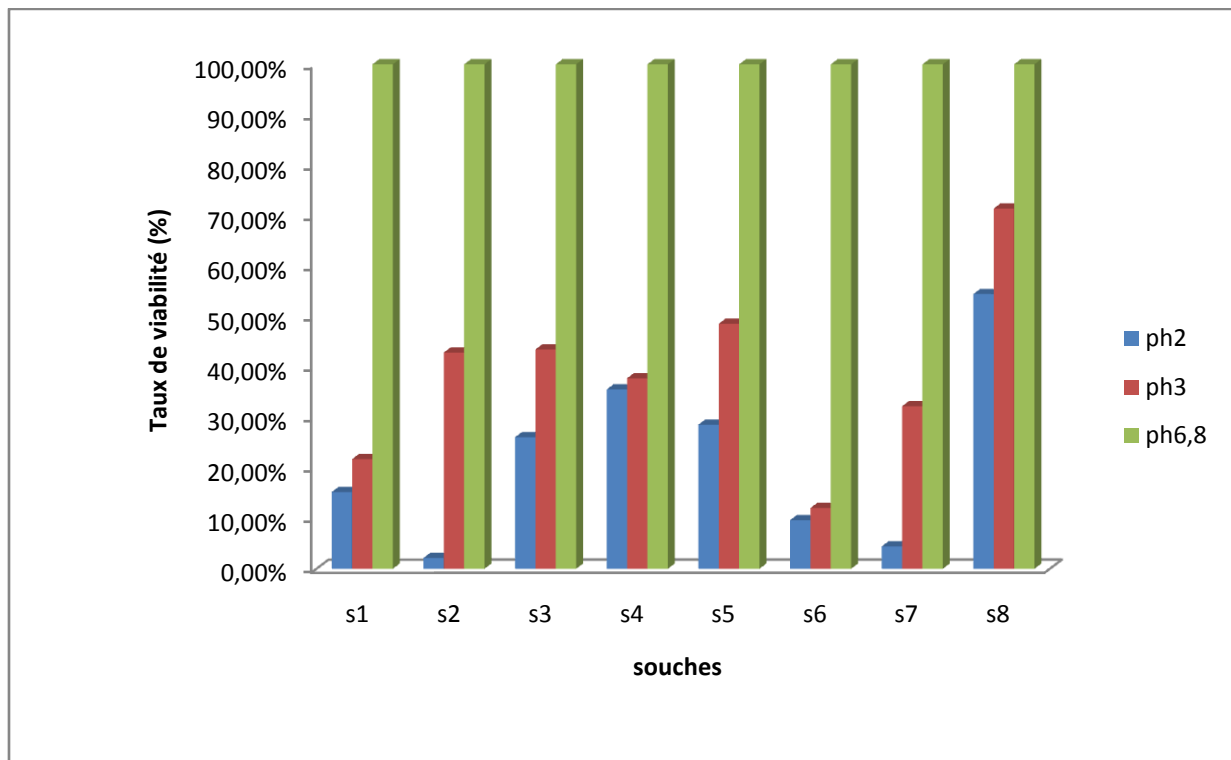
L'une des conditions principales pour qu'une souche puisse répondre à la définition des Probiotiques est qu'elle doit être viable pendant le transit gastro intestinal avant de pouvoir s'adhérer et s'installer au niveau de l'intestin afin de déterminer la capacité de survivre chez les souches isolées : S1, S2, S3, S4, S5, S6, S7 et S8. L'effet de l'exposition à un milieu acide simulant l'acidité gastrique a été examinée sur ces bactéries.

Ces dernières ont été exposées à des PH acide de 2,3 et 6.8 pendant 180 mn, ensuite la proportion des cellules viable a été évaluée.

D'après les résultats obtenus, la concentration des cellules viables a diminué pour les deux PH acides 2et 3 avec la progression du temps de contact avec les PH acide par rapport au PH 6,8 (témoin) dont la perte de viabilité été négligeable (**Figure06, 07 et 08**).



**Figure 06** : Résistance des souches S1, S2, S3 S4 S5 S6 S7 et S8 aux différents PH acides à 0 minutes de contact.

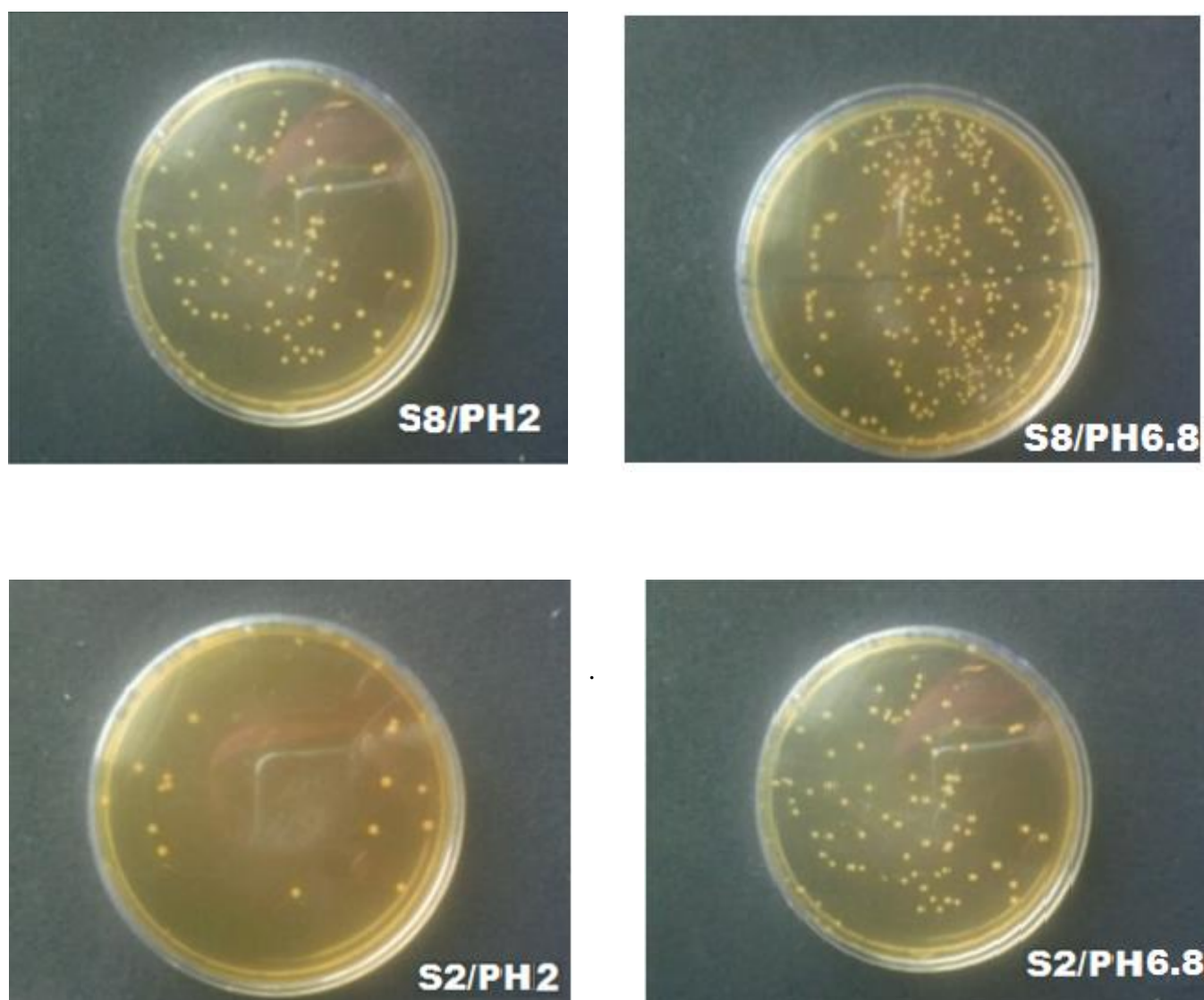


**Figure 07** : Résistance des souches S1, S2, S3 S4 S5 S6 S7 et S8 aux différents PH acides à 180 minutes de contact.

Lors de l'exposition à PH3 on constate que la souche S8 a enregistré la plus grande portion de cellule viable après 180 min d'exposition avec un taux de viabilité de 75 %. Suivi par ordre décroissant par les souches S5, S3, S2, S4, S7 et S1 avec des taux de viabilité de 50, 43, 42, 38, 37 et 22% respectivement.

Le plus faible taux de viabilité est enregistré avec la souche S6 avec un taux de viabilité de 10%.

Lors de l'exposition au PH2, c'est la souche S8 qui a révélé un maximum taux de viabilité qui est de l'ordre de 57 % par rapport aux autres souches, suivie par les souches S5, S4, S3, S1, S6 et S7 avec des taux de viabilité de l'ordre de 38, 30, 29, 15,9 et 4% respectivement. Le plus faible taux de viabilité est obtenu avec la souche S2 qui est de l'ordre de 2%.



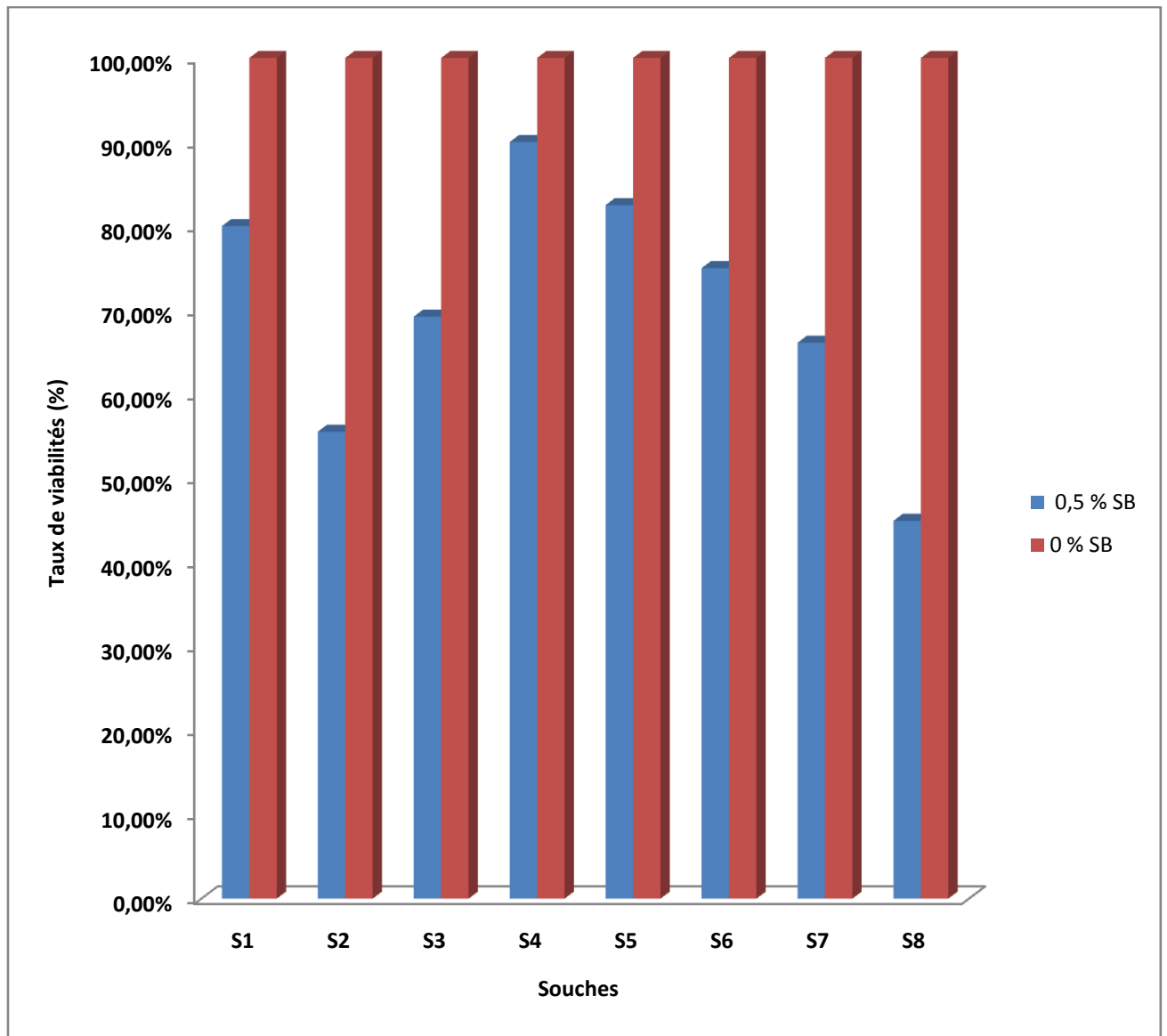
**Figure 08:** Résultats de dénombrement de quelques souches testées après exposition à des PH acides (Originale, 2016).

**V-1-4-1-Résistance aux sels biliaires**

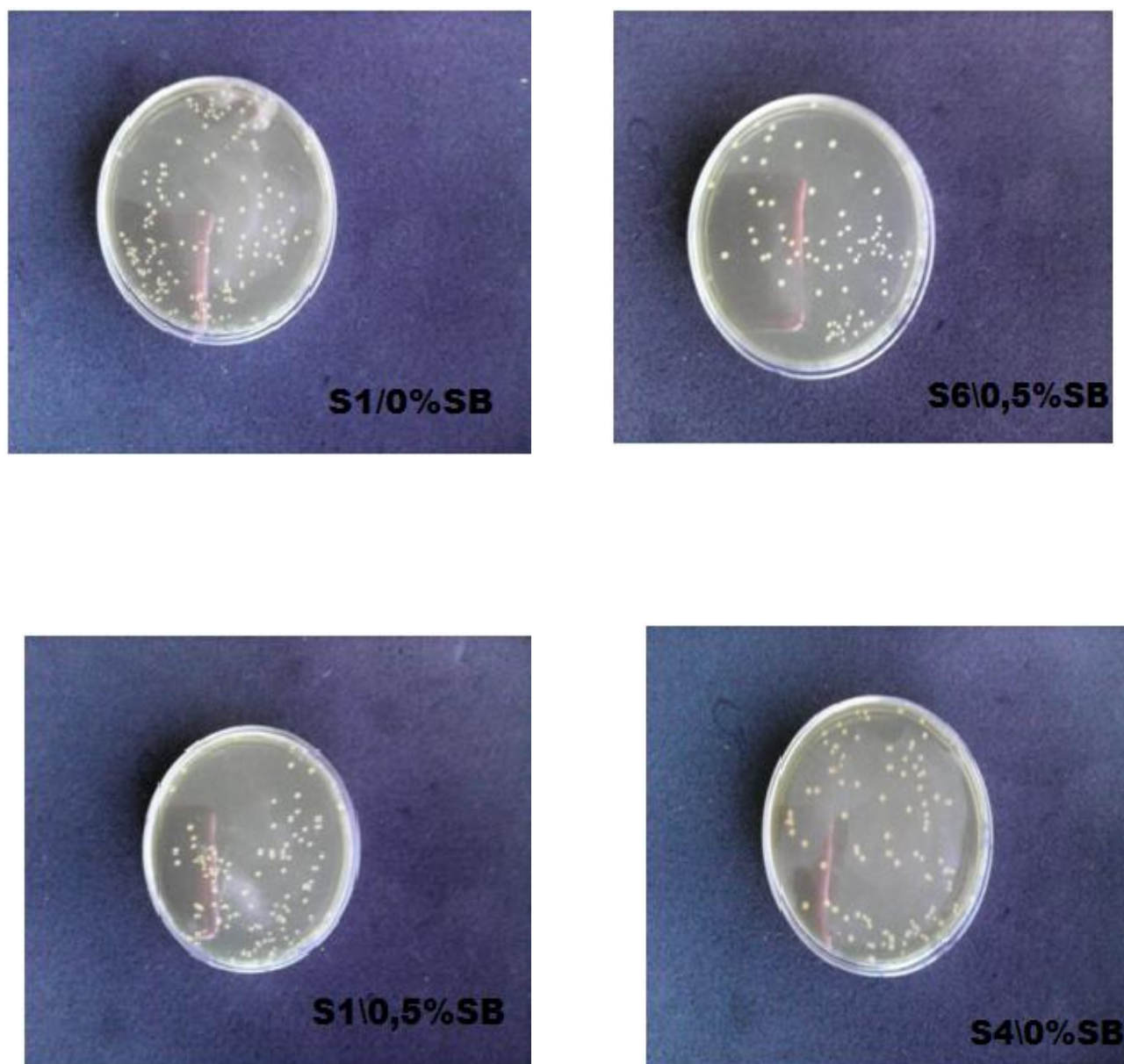
Les sels biliaires sont l'une des barrières à franchir par les bactéries probiotiques pour gagner leur site d'action, de ce fait la résistance des souches S1,S2, S3, S4, S5, S6,S7 et S8 en présence de bile a été testé. Ces souches ont été exposées à 0.5 g/l de bile pendant 240 mn et ensuite la proportion des cellules viable a été évaluée.

D'après les résultats présentés dans la figure 09, après 240 minutes d'incubation dans une solution contenant 0.5g/l de sels biliaire, il apparait que les souches S4, S5, S1, S6, S3 et S7 ont montré une excellente résistance aux sels biliaires avec des taux de viabilités respectives de 90,82.5,80,75,69.23 et 66.12%, par contre les souches S2 et S8 ont faiblement résisté à ces conditions avec des taux de viabilité enregistré de l'ordre de 55.55 et 44.94% respectivement.

En l'absence de sels biliaire on n'a enregistré aucun changement dans le taux de viabilité de toutes les souches et qui est compris entre 95% et 98% (**Figure 09 et10**).



**Figure 09** : Résistance des souches testées à 0.5 g/l de sels biliaries.



**Figure 10:** Résultats de dénombrement de quelques souches testées après contact avec les sels biliaires à 0.5 g/l (Originale, 2016).

Il est admis que pour que la majorité des probiotiques puissent avoir des rôles bénéfiques sur la santé humaine, il faut qu'ils gardent une certaine viabilité lors de la transition intestinale. De ce fait, les probiotiques doivent pouvoir passer sans dommage irréversibles la barrière acide de l'estomac, puis, l'effet inhibiteur éventuel des sels biliaires. Ainsi, la capacité de survie des probiotiques dans l'hôte après leur ingestion, dépend de leur résistance intrinsèque, des facteurs de l'hôte et du véhicule par lequel ils ont été ingérés (**Marteau et Shamahon, 2003**).

Le flux biliaire assure un rôle physiologique très important puisque facilitant la digestion des composés lipophiles provenant de l'alimentation. C'est également un agent antimicrobien influençant l'établissement du microbiote intestinal. La tolérance à la bile est un critère déterminant de sélection des bactéries probiotique, permettant ainsi la survie pendant le passage à travers le tractus gastro-intestinal et la colonisation de l'environnement intestinale.

D'après les résultats inscrits, il apparaît clairement que les souches de bactéries lactique (*Lactobacillus*) mise en contact avec une solution des sels biliaire à 0.5% pendant 240 minutes ont maintenu une remarquable fraction de cellules allant jusqu'à 90 % enregistré par la souche S4, à l'exception une souche S8 où le taux de viabilité n'a pas dépassé 50% du nombre initiale des cellules (**Bruno, 2012**) a affirmé que la résistance à la bile est une caractéristique souche dépendante et extrêmement variable au sein des espèces et des genres. D'après l'étude de (**Noriega et al., 2004**). Plusieurs souches de bactéries lactiques ont été adaptées de façon stable aux sels biliaires, à travers une adaptation progressive après une croissance dans des extraits de sels biliaires en concentration croissante.

## Conclusion

---

### Conclusion

L'utilisation des bactéries lactiques en industrie laitière a connu une énorme évaluation dans les pays technologiquement avancés, l'exploitation de ce genre est par contre très limitée dans certains autres pays comme d'Algérie, cette limitation concerne la diversité des produits présents sur la marché mais également le nombre des souches introduites dans les produits laitiers, cela est liée aux contraintes posées par les bactéries lactiques entre autre le genre *Lactobacillus*.

L'investigation de la résistance de huit souches indigènes isolées à partir de lait de chamelle et de chèvre vis-à-vis de l'acidité gastrique simulée et aux sels biliaries a été conduite.

Les résultats obtenus par cette étude in vitro ont montré une résistance remarquable vis-à-vis les conditions acides où elles ont préservé un taux de viabilité proche de 60 % et 50 % après exposition aux PH 3 et PH 2 respectivement. En plus une excellente viabilité des souches testées au voisinage de 80 % notamment par la souche S4, S5, S1et S6a été notée après 240 minutes de contact avec 0.5% des sels biliaries.

Les résultats obtenus montrent que ces souches peuvent présenter de bon candidats pour les utiliser autant que Probiotiques et ceci après avoir testés le reste des critères dont les Probiotiques sont caractérisés.

### **Références bibliographiques:**

- Al hajO.A., AlKanhah H.A(2010).**Compositional, technological and nutritional aspects of dromedary camel milk.*International Dairy Journal*,20: 811-821.
- Ammor M., Mayo B. (2007).**Selection criteria for lactic acid bacteria to be used as functional starter cultures in dry sausage production.*Meat Science*.76:138-146.
- Anonyme 2001:Centre de recherche STELA, Université Laval Qubec CANADA.**
- Avallone S.,Brillouet J.M., Guyot B., Olguin E and Guiraud J.P.(2002).** Involvement of pectolytic micro-organisms in coffee fermentation.*InternationalJournal of Food Science and Technology*, **37**: 191-198.
- Bacus, J. N and Brown, W.L(1985).**The pediococci: meat products. In: BacterialStarter Cultures for foods. Gilliland S. E., **7**, pp: 86-96. CRC Press Inc. Boca Baton.Florida.
- Beausoleil, M., N. Fortier, et al. (2007).** "Effect of a fermented milk combining *Lactobacillus acidophilus* Cl1285 and *Lactobacillus casei* in the prevention of antibiotic-associated diarrhea: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial." *Canadian Journal*
- Bongaerts G.P.A and Severijnen R.S.V.M(2001).**The beneficial, antimicrobial effect of probiotics.*Med Hypotheses*.**56**, 174–177.
- Brendehang J and Abrahamsen R.K (1986):** Chemical composition of milk from. Herd of Norwegian goats. *J.Dairy.Res*.**53**: 211-221.
- Chapman H.R and Sharpe M.E. (1981).**Microbiology of cheese. In: *DairyMicrobiology*, Robinson R.K., Eds., Vol. 2, The microbiology of milk products, *AppliedSciences Publishers LTD*, London, pp: 157-243.
- Chethouna F (2011).** Etude des caractéristiques physico-chimiques, biochimiques et la qualité microbiologique du lait camelin pasteurisé, en composition avec le lait camelin cru. Thèse de Magister en *Sciences Biologiques Université KasdiMerbah Ouargla*.

## Références bibliographiques

---

- Claesson M.J., van Sinderen D and O'Toole P.W (2007).**The genus *Lactobacillus* genomic basis for understanding its diversity.*FEMS Microbiol Lett.***269**: 22–28.
- Dal Bello F., Walter J., Hammes W. P and Hertel C(2003).** Increased complexity of the species composition of lactic acid bacteria in human feces revealed by alternative incubation condition. *Microb. Ecol.* **45**: 455–463.
- Dellaglio F., Sarra, P. G and Vescovo M. (1981).**DNA-DNA homology of *Pediococcus* strains isolated from some Italian cheeses. *Zentralbl.Bakteriol.Mikrobiol.Hyg.*, pp: 278-281.
- Denohue(2004).**Safety of novel probiotic bacteria. In :Lactic acid bacteria :microbiological and functional aspects (Salminen S., Wright A.V. et Ouweland A.) 3<sup>e</sup>Ed.,Marcel Dekker, In *New York*. 531-546.
- DE Roissart H (1986).**In laits et produits laitiers .Ed. F. Luquet ;*Lavoisier Tec et Doc*, p.343.
- Desmazeaud M (1996).** Les bactéries lactiques dans : L'alimentation humaine :utilisation et innocuité. *Cahiers Agricultures*, **5**, pp: 331-343.
- Devoyod, J.J. et Poullain F (1988).** Les *Leuconostoc* propriétés : leur rôle en technologie laitière. *Revue Le lait*, **68** (3), pp: 249-280.
- Diarra M.S.,Petitclerc D et Lacasse P (2002).**Effect of lactoferrin in combination with Penicillin on the Morphology and the physiology of *Staphylococcus aureus* Isolated from Bovine Mastitis.*J.of Dairy Sci.* **85**,1141-114.
- Dortu C and Thonart P(2009).**Les bactériocines des bactéries lactiques caractérisation et intérêts pour la bioconversion des produits alimentaires. *Biotechnol. Agron .soc Environ*,**13(1)**:143-154.
- Doyel TC., Hansen JE and Reisler E (2001).**Tryptophan fluorescence of yeast action resolved via conserved mutations. *Biophys J.***80(1)**: 427-34.
- Dunne C., O'Mahony L., Murphy L., Thornton G., Morrissey D., O'Halloran S., Feeney M., Flynn S., Fitzgerald G., Daly C., Kiely B., O'Sullivan G.C., Shanahan F and Collins J.K(2001).***In vitro* selection criteria for probiotic bacteria of human origin: correlation with in vivo findings *Am.J.Clin.Nutr.*,**73**: 386-392.
- Duwat P., Ehrlich S., Dand Gruss A (1995).** The rec A gene of *Lactococcus lactics*. Characterisation and involvement in oxidative and thermal stress. *Mol. Microbiol* 17 p.: 1121-1133.

## Références bibliographiques

---

- El-Agamy EI (2006).** Camel milk. In: Handbook of milk of non-bovine mammals. Park YW, Haenlein GF (Eds), *Blackwell Publishing*, Iowa, USA, p.297-344.
- Farah Z., Streiff Tand Bachman M.R (1989).** Manufacture and characterization of camel milk butter. *Milchwissenschaft*, **44**:412-416.
- Farah Z (1992).** Composition and characteristics of Camel Milk; review. *J. Dairy Res.*, **60**:603-626.
- Farah Z (1996).** Camel Milk Properties and products. Swiss Centre for Development Cooperation in Technology and Management, SKAT, Switzerland.
- Farah Z (2011).** Camel milk. *Encyclopedia of Dairy Sciences*, Second Edition, **3**:512-517.
- Farrow J.A.E., Facklam R.C and Collins M.D (1989).** Nucleic acid homologies of some vancomycin-resistant *Leuconostoc* and description of *Leuconostoc citreum* sp. Nov. and *Leuconostoc pseudomesenteroides* sp. Nov. *International Journal of Systematic Bacteriology*, **39**: 279-283.
- Faye B et Mulato O.C (1991).** Facteurs de variation des paramètres protéoénergétiques, enzymatiques et minérales chez le dromadaire de Djibouti. *Rev. Méd. Vét. Des pays Trop.*, **44**:325-334.
- Fenton M.P(1987).** An investigation into the source of lactic acid bacteria in grass silage. *J. Appl. Microbiol.* **62** p: 181-188.
- Fuller R(1989).** Probiotics in man and animals. *J Appl Bacteriol.* **66**: 365–378.
- Frak AMK, Kegma F and Weekamp H A (1993).** Growth and survival of bifidobacteria in milk. *Neth Milk Dairy J.* **47**: 151-164.
- Franz C.M.A.P., Schllinger U and Hlzaapfel W.H (1996).** Production and characterisation of enterocin 900, a bacteriocin produced by *Enterococcus faecium* BFE900 from black olives. *Int. J. Food microbial.* **29** :255-270.
- Garvie E.L(1984).** Taxonomy and identification of bacteria important in cheese and fermented dairy products. In. Advances in the microbiology and biochemistry of cheese and fermented milk. Elsevier *Applied science publ*; London. p.35-60.

## Références bibliographiques

---

- Gaggia F., Mattarelli P and Biavati B (2010)**, probiotics and prebiotics in animal feeding for safe food production. *International Journal of Food Microbiology*, 141 Suppl 1 : 15-28.
- Gill S.R., Pop M., Deboy R.T., Eckburg P.B., Turnbaugh P.J., Samuel B.S., Gordon J.I., Relman D.A., Fraser-Liggett C.M and Nelson K.E (2006)**. Metagenomic analysis of the human distal gut microbiome. *Science*, **312**, 1355–1359.
- Guiraud, J.P (1998)**. Microbiologie alimentaire. Technique et Ingénierie. Série Agroalimentaire, Eds. Dunod Paris, 652 p.
- Gu R X., Yang Z.Q., Li Z.H., Chen S.L and Luo Z. L (2008)**. Periodic properties of lactic acid bacteria isolated from stool samples of longevous people in regions of mutant ; Xirijiang and Bama ; Guangxi ; *Anaerobe* . 14: 313-317.
- Guiraud, J.P (1998)**. Microbiologie alimentaire. Technique et Ingénierie. Série Agroalimentaire, Eds. Dunod Paris, 652 p.
- Gorbach S.L (1967)**. Population control in the small bowel. *Gut*. **8**: 530-532.
- Hachelaf W., Boukhrelda M., Bendoua Abdellah M coquina P., Desjeux J. F., Boudraa G and Touhami M (1993)**. Destabilité des graisses du lait de chèvre chez des enfants présentant une malnutrition d'origine digestive, composition avec le lait du vache. *Le lait*. **73** : 593-599.
- Haddadin M.S.Y., Gammoh S.I. et Robinson R.K (2008)**. Seasonal variations in the chemical composition of camel milk in Jordan. *Journal of Dairy Research*. **75(1)**:8-12.
- Hammes, W. P. and R. F. Vogel (1995)**. The genus *Lactobacillus*. The genera of lactic acid bacteria, *Springer*: 19-54.
- Hassen A.N. ET Frouk J.F. (2001)** : Starter cultures and their use .In : *Applied Dairy Microbiology* (Math E.H. et Steele J.L.) 2<sup>e</sup> Ed, *Marcel Dekker, Inc. Newyork*: 151 -205.
- Hooper L.V., and Gordon J.I. (2001)**. Commensal host–bacterial relationships in the gut. *Science*, **292**, 1115–1118.
- Holzappel, W. H. and U. Schillinger (2002)**. "Introduction to pre-and probiotics." *Food Research International*. **35(2)**: 109-116.

## Références bibliographiques

---

- Holzappel, W. H., P. Haberer, et al. (2001).** "Taxonomy and important features of probiotic microorganisms in food and nutrition." *The American journal of clinical nutrition*. **73**(2): 365s-373s.
- Holzappel W.H., Haberer P., Snel J., Schillinger UandHuisIn'tVeld J.H(1998).** Overview of gut flora and probiotics. *Int J Food Microbiol*. **41**, 85-101.
- Ho T.N.T.N., Tuan N., Deschamps A et Coubet R(2007).** Isolation and identification of lactic acid bacteria (LAB) of the NemChua fermented meat product of Vietnam. *Int. workshop on food Safety and processing Technology*. 134-142.
- Isolauri E., Salminen S and Ouwehand A.C(2004).** Microbial-gut interactions in health and disease. Probiotics. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. **18**(2), 299-313.
- JONES D (1978).** Composition and differentiation of genus *Streptococcus*. In: *Streptococci*. Skinner, F. A., Quesnel, L. B., Eds. Academic Press, London, pp: 1-49.
- Kabeerdoss J., R. S. Devi et al. (2011).** "Effect of yoghurt containing *Bifidobacterium lactis* Bb12® on faecal excretion of secretory immunoglobulin A and human beta-defensin 2 in healthy adult volunteers." *Nutr J* **10**: 138.
- Kalantzopoulos G (1996).** Etat de la recherche sur le lait de chèvre en Grèce. *Le lait* .**15**: 416-423.1
- Kamoun M (1995).** Le lait de dromadaire : production, aspects qualitatifs et aptitude à la transformation. *Options méditerranéennes*, **13**, 81-103.
- Kamoun M (1990).** La production de fromage à partir du lait de dromadaire. *Option médit.*, **12**, 119-124.
- Kamoun M et Ramet J.P(1989).** Composition et transformation du lait de dromadaire. *Options Méditerranéennes- Série Séminaires –n° :6*, 229-231.
- Kandler, O and Weiss, N. (1986b).** Genus *Lactobacillus* Beijerinck 1901, 212AL. In: *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Williams, Wilkins, Baltimore, **2**: 1209-1234.
- Kandler O., and Weiss N. (1986).** Regular non sporing Gram positive rods. Genus *Lactobacillus*. *Bergey's Manual of Systemic Bacteriology*. Vol. 2 Sneath

## Références bibliographiques

---

- P.H.A., Mair N.S., Sharpe M.E. and Holt J.G. Ed. *Williams and Wilkins, Baltimore*.1209-1234.
- Kanuspayeva G., Faye B et Serikbaeva A (2003).** Les produits laitiers traditionnels à base de lait de chamelle en Asie centrale. Actes de l'Atelier International sur : «Lait de chamelle pour l'Afrique », 5-8 novembre, Niamey, Niger **57**, 11-21.
- Kappeler S., Farah Z and Puhani Z. (1998).** Sequence Analysis of *Camelus* dromedaries milk caseins. *Journal of Dairy Research*, **65**, 206-222.
- Klaenhammer T. R (1998).** "Functional activities of *Lactobacillus* probiotics: genetic mandate." *International Dairy Journal*.**8**(5-6): 497-505.
- Klaenhammer T. R (1988).** "Bacteriocins of lactic acid bacteria." *Biochimie***70**(3): 337-349.
- Khaskheli M., Arian M. A., Chaudhry S., Soomro A. Hand Qureshi T.A (2005).** Physico-Chemical Quality of Camical Quality of Camel Milk. *Journal of Agriculture et Social Science*. Vol. 1.
- Konuspayeva G., Faye Bet Loiseau G (2011).** Variability of vitamin C content in camel milk from Kazakhstan. *Journal of Camelid Science*.**4**:63-69.
- Kotikalapudi B L (2009).** Caractérisation and encapsulation of probiotic bacteria using a peaprotion alginate matrix. Thèse de Doctorat, University of Saskatchewan: 2-91.
- Labioui H., Elmoualdi L., Elyachioui M et Ouhssine M (2005).** Sélection de souches de bactéries lactiques antibactériennes. *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*.**144** :237-250.
- Lamoureux L (2000).** Exploitation de l'activité  $\beta$ -galactosidase de culture de bifidobactéries en vue d'enrichir des produits laitiers en galacto-oligosaccharides. *National Library canada*.23-47.
- Land, M. H., K. Rouster-Stevens, et al. (2005).** "*Lactobacillus* sepsis associated with probiotic therapy." *Pediatrics*.**115**(1): 178-181.
- Larpent J.P et Bourgeois C.M (1996).** Microbiologie alimentaire tome 2. Aliments Fermentés et fermentations alimentaires. *Technique et documentation Lavoisier*.
- Leveau J.Y. et Bouix M (1993).** Les levures. Dans : Microbiologie industrielle, les micro-organismes d'intérêt industriel. *Eds. Tech. et Doc. Lavoisier*. Paris, pp : 2-39.

## Références bibliographiques

---

- Madsen, K., A. Cornish, et al. (2001).** "Probiotic bacteria enhance murine and human intestinal epithelial barrier function." *Gastroenterology*.**121**(3): 580-591.
- Maragkoudakis, P. A., G. Zoumpopoulou, et al. (2006).** "Probiotic potential of *Lactobacillus* strains isolated from dairy products." *International Dairy Journal* .**16**(3): 189-199.
- Marteau P et Ramb J.C (1998).**Probiotique en gastroentérologie, base rationnel,effetsdémontrés et perspectives.*Hepato-Gastro* N°4 ;Vol 5 .
- Matsuzaki T. and Chin J(2000).** "Modulating immune responses with probiotic bacteria." *Immunology and cell biology*.**78**(1): 67-73.
- McFarland, L. V. (2007).**"Meta-analysis of probiotics for the prevention of traveler's diarrhea." *Travel Médecine and Infections Disease*.**5**(2): 97-105.
- Mikelsaar M., Türi M., Lencner H., Kolts K., Kirch R., and Lencner A. (1987).**Interrelations between mucosal and luminal microflora of gastrointestine.*Nahrung*.**31**,449-56, 637-8.
- Mitsuoka T. (1992).**Intestinal flora and aging.*Nutr Rev.* **50**(12), 438-46.
- Mitsuoka, T. (1990).**"Bifidobacteria and their role in human health." *Journal of IndustrialMicrobiology*.**6**(4): 263-267.
- MoumeneB andBendahmane M (2002).** Etude des interactions négatives de bactéries lactiques contres des souches pathogènes et mutagenèse chez deux bactéries lactiques. *Génie biologique* p. :01-02-03.
- Morishita T., Deguchi Y., Yajima M., Sakurai Tand Yura T(1981).**MultipleNutritional Requirements of Lactobacilli: Genetic Lesions Affecting Amino AcidBiosynthetic Pathways. *J. Bacteriol.* 148, 64-71.
- Mosilhey S H (2003).** Influence of different capsule Materials on the physiological properties of microencapsulated *Lactobacillus acidophilus*. *Doktor-Ingenieur, Institut fur Lebensmittel Technologie*: 3-113.
- Nagpal R., A. Kumar et al. (2012).** "Probiotics, their health benefits and applications for developing healthier foods: a review." *FEMS microbiology letters*.**334**(1): 1-15.

## Références bibliographiques

---

- Nagpal R., H. Yadav et al. (2007).** "Potential of probiotics and prebiotics for symbiotic functional dairy foods: an overview." *International Journal of Probiotics and Prebiotics*. **2**(2/3): 75.
- Novel G. (1993).** Les bactéries lactiques. In Microbiologie industrielle, les microorganismes d'intérêt industriel, eds. *J Y. Leveau et M. Bouix*. Tec ET Doc. Lavoisier, Paris.; 1-11.
- Palomares I. C., Prérez-Morales R et Acedo-félisc E (2007).** Evaluation of probiotic properties in *Lactobacillus isolated froms mall intestine of piglets* .*Rev. Latinoan. Microbiol.*49 (3-4):46-54.
- Patterson (2008).** Probiotiques : bien faits au- delà des fonctions nutritionnelles de base .*AAFC*.1-4.
- Pilet M.F., Magras C and Federigh M (2005).**Bactéries lactiques. In: bactériologie alimentaire (Federighi M). 2e Ed., *Economica.Paris*. 209-240.
- Ramet J.p(2003).**Aptitude à la conservation et à la transformationfromage du lait de chamelle. Actes de l'Atelier International sur : "lait de chamelle pour l'Afrique" ,5-8 novembre,Niamey, Niger.
- Ramet J.P(1993).**La technologie des fromages au lait de dromadaire (*Camelusdromedarius*). Etude F.A.O. production et santé animales ,113.
- Ramet J.P(1994).**Les aspects Scientifiques et technologique particuliers de la fabrication de fromage au lait de dromadaire .Actes du Colloque : "Dromadaires et chameaux animaux laitier"24-26.
- Reyes-Gavilan C.G.,Suarez A.,Femandez –Garcia M.,Margolles A., Gueimonde Met Ruas-Madiedo P (2011).**Adhésion of bile –adapted *Bifidobactérium strains* to the HT296MTX cell line is modifiedaftersequential gastro-intestinal challenge simulated in vitro usinghumangastricandduodenaljuices. *Res. Microbiol.***162**: 514-519.
- Ruegg M.Wand Farah Z (1991).**Melting Curves of camel milk fat. *Milchwissenschaft*, 46, 361-362.
- Rosetti G andCongiu S (1955).**Zootechnical and veterinary investigation on the domestic animals of Somalia.Mogadishu: IspettoratoVeterinario.

## Références bibliographiques

---

- Salmen S.H., Abu-Tarboush H.M., Al-Saleh A.A and Metwallia.A (2012).** Amino acids content and electrophoretic profile of camel milk casein from different camel breeds in Saudi Journal of Biological Science 19, p .177-183.
- Salminen, S. J., M. Gueimonde, et al. (2005).** "Probiotics that modify disease risk." *The Journal of nutrition*. **135**(5): 1294-1298.
- Salminen S., Gorbach S., Lee Y.K. et Benno Y (2004).** Human studies on probiotic : Wheat is scientifically proven today .In: Lactic acid bacteria : microbiological and functional aspects (Salminen S., Wrightt.A.V. et Ouhanch A.). 3<sup>e</sup> Ed., *Marcel Dekker, Inc, New York*. 515-530.
- SANDINE W.E (1988).** New nomenclature of the non-rod-shaped lactic acid bacteria. *Biochimie*, **70**, pp: 519-522.
- Savage D.C.** 1977. Microbial ecology of the gastrointestinal tract. *Annu Rev Microbiol.* **31**:107- 33.
- Sawaya W. N., Khalil J. K., Al-Shalhat A and Al-Mohammad H (1984).** Chemical composition and nutritional quality of camel milk .*Journal of Food Science* ,49,747.
- Scardovi V (1986).** Genus *Bifidobacterium* Orla Jensen, 1924, 472. In :Bergey 'S Manual of systematic Bacteriology , *Ixe Edition. Williams and Wilkins. Baltimore.*
- Schell M A., Karmirantzou M., Snel B., Vilanova D., Berger B., Pessi G., Zwahlen MC., Desiere F., Bork P., Delley M., Pridmore R D and Arigoni F (2002).** The genome sequence of *Bifidobacterium longum* reflects its adaptation to the human gastrointestinal tract. *Proc Natl Acadsci USA* . **99**(22): 22-144.
- Schultz M., A. Timmer et al. (2004).** "Lactobacillus GG in inducing and maintaining remission of Crohn's disease." *BMC gastroenterology*. **4** (1): 5.
- Schleifer K.H. J., Kraus. C., Dvorak R and Kilpper-Bälz M.D (1985).** Collins and W. Fischer. Transfer of *Streptococcus lactis* and related streptococci to the genus *Lactococcus. nov* .*Syst Appl .Microbiol.* **6**:183-195.
- SCHLEIFER K.H (1986).** Gram-positive cocci. Dans: bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Williams et Wilkins, Baltimore, **2**: 999-1002.

## Références bibliographiques

---

- Siboukeur A (2011).** Etude de l'activité antibactérienne des bactériocines (type nicine) produites par *Lactococcus lactis* subsplactis, isolé à partir du lait camelin. ; mémoire de magister en vue de l'obtention du diplôme de magister en biologie option : microbiologie appliquées ,université de Ouargla.p2,9,10.
- Siboukeur O (2007).** Etude du lait camelin collecté localement : caractéristique physico chimique et microbiologique ; aptitudes à la coagulation .Mémoire de Doctorat de l'institut national agronomique El-Harrach-Alger.Algérie.
- Stiles M.E et Holzapfal W.H(1997).** Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy.*Int.J.Food Microbiol.***36**:1-29.
- Suhigara, T.F (1985).**The Lactobacilli and Streptococci: bakery products. In:Bacterial Starter Cultures for Foods. Gilliland S.E. Eds. CRC Press Boca Raton. Florida, **9**,pp: 120-125.
- Tamime A.Y(2002).** Microbiology of starter cultures.In: Dairy microbiology handbook (Robinson R.K.).3e Ed., John Wiley and Sons,Inc.,NewYork. 261-366.
- Tannock G.W. (1999).** Analysis of the intestinal microflora: a renaissance. *Antonie VanLeeuwenhoek.*76:265-78.
- Tannock G.W(2005).** Probiotics and Prebiotics: Scientific Aspects. Caister Academic Press, Wymondham.
- Temmerman R.,Pot B.,Huys G and Swings J (2003).**Identification and antibiotic susceptibility of bacterial isolates from probiotic products.*Int.J.Food Microbiol.***81** :1-10.
- Thirabunyanon M., Boonprasom P And Niamsup P(2009).** Probiotic of lactic acid bacteria isolated from fermented dairy milks on antiproliferation of colon cancer-cells *Biotechnol. Lett,* **31**: 571-576.
- Titiek F.D.,Endang S.R., Djokowet Slamet S (1996).**Antimicrobial Substance Produced by *Lactobacillus* sp.TGR-2 isolated from Growol. *Indonesian.Food Nutr.Prog* .**3(2)**:29-34.
- Uchida K (1982).** Multiplicity in soy pediococci carbohydrate fermentation and its application for analysis of their flora.*Journal of General and Applied Microbiology,* **28**:215-223.

## Références bibliographiques

---

- Vijendra M and Prasad D N (2005).**Application of in vitro methods for selection of *Lactobacillus casei* strains as potential probiotic. *International Journal of Food Microbiology*, 103 pp: 109-115.
- Villar, M., De RuizHolgado, A., Sanchez, J.J., Trucco, R.E and Oliver, G (1985).**Isolation and characterization of *Pediococcus halophilus* from salted Anchovies (*Engraulis anchoita*). *Applied and Environmental Microbiology*, **49**, pp: 664-666.
- Wangoh J(1997).** Chemical and Technological properties of Camel (*camelus dromedarius*) Milk .Diss.ETHNr .12295, Swiss Federal Institute of Technology, Zurich, Switzerland.
- Wangoh J., Farah Z .and Puhan Z (1998).** Composition of Milk from 3 Camels (*Camelus dromedarius* ) Breeds in Kenya during lactation .*Milchwissenschaft*,53,136-139.
- Wollowski, I., G. Rechkemmer, et al. (2001).**"Protective role of probiotics and prebiotics in colon cancer."*The American journal of clinical nutrition*.**73(2)**: 451s-455s.
- Yadav H., S. Jain et al. (2007).**"Antidiabetic effect of probiotic dahi containing *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus casei* in high fructose fed rats." *Nutrition*.**23(1)**: 62-68.
- Yagil R and Etzion Z (1980).**Milk Yields of Camel (*Camelus dromedarius*).*Comp.Biochem. Physiol.*, **67**: 207,-209.
- YANG D and WOESE C. R (1989).**Phylogenetic structure of the *Leuconostocs*: an interesting case of rapidly evolving organism. *Systematic and Applied Microbiology*, **12**: 45-149.

**Milieu MRS (de Man Rogosa et Sharpe) (De Man et al, 1960) :**

Glucose.....	20g.
Peptone.....	10g.
Extraits de viande de bœuf .....	8g.
Acétate de sodium, 3H <sub>2</sub> O.....	5g.
Extraits de levure.....	4g.
K <sub>2</sub> H PO <sub>4</sub> .....	2g.
Citrate d'ammonium.....	2g.
Mg SO <sub>4</sub> , 7H <sub>2</sub> O.....	0,2g.
Mn SO <sub>4</sub> ,4H <sub>2</sub> O.....	0,05g.
H <sub>2</sub> O.....	1000ml.
Tween 80.....	1,0ml.
PH.....	6,5±0,2.

Stérilisation par autoclavage à 120 C° Pendant 20min.

**Milieu MRS Solide:**

MRS Liquide.....	1000 ml.
Agar-agar.....	18g.

Stérilisation par autoclavage à 120 C° pendant 20 min.

**L'eau physiologique:**

L'eau distille.....	1000 ml.
Na Cl.....	9g.
pH.....	7.

Stérilisation par autoclavage à 120C° pendant 20 min.

**Solution PH :**

L'eau distillée.

H Cl.

NaOH.

pH.....2et 3 et 6,8.

Stérilisation par autoclavage à 120C° pendant 20 min.

**Solution biliaire :**

Sels biliaire .....0, 5 g

L'eau distillée.....100 ml

Stérilisation par autoclavage à 120C° pendant 20 min

**Figure :** Résistance des souches S1-S8 aux pH acide (2 et 3) pour 0 min.

temps	0min	0min	0min
souche	pH2	pH3	pH6,8
S1	40%	50,80%	100%
S2	37,50%	56,25%	100%
S3	41,54%	61,50%	100%
S4	48,83%	69,76%	100%
S5	43,47%	65,21%	100%
S6	40%	56%	100%
S7	45,45%	70,45%	100%
S8	75%	85%	100%

**Figure :** Résistance des souches S1-S8 aux pH acide (2 et 3) pour 180min.

temps	180min	180min	180min
souche	pH2	pH3	pH6,8
s1	15,22%	21,74%	100%
s2	2,14%	42,86%	100%
s3	26,08%	43,47%	100%
s4	35,55%	37,77%	100%
s5	28,57%	48,57%	100%
s6	9,63%	12,05%	100%
s7	4,44%	32,22%	100%
s8	54,46%	71,42%	100%

**Figure :** Résistance des souches S1-S8 à 0.5% de sels biliaire pour 240.

+

souches	0.5% SB	0%SB
S1	80%	100%
S2	55.55%	100%
S3	69.23%	100%
S4	90%	100%
S5	82.50%	100%
S6	75%	100%
S7	66.12%	100%
S8	45%	100%