

République Algérienne démocratique et populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Dr. Moulay Tahar- Saida

Faculté des sciences

Département de Biologie



Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de master  
Option : Microbiologie appliquée  
Thème

Étude de l'activité antimicrobienne et la mise en évidence de substances inhibitrices chez quelques bactéries lactiques isolées de lait de chamelle

Présenté par :

Gourari Chahinez

Président : Mme DAHANI Moufida .

Examineur : Mme FARES Soria.

Encadeur : Mlle AMARA Sabrina.

*Soutenu le : 27 /06/ 2018*

Année universitaire : 2017/2018

## Remerciement

Avant tout, louange à "Allah", notre créateur et maître de l'univers, de toutes ces bontés, d'avoir envoyé à nous le prophète "Mohamed" (I) qui doit être notre premier éducateur, puis de m'avoir donné tout le courage pour terminer ce travail de recherche.

Un très grand merci à:

- 🌸 Je remercie Mme **AMARA SABRINA**, qui m'a toujours accueilli avec une grande sympathie et bienveillance tout au long de ce travail et qui m'a guidé dans la méthode de recherche.
- 🌸 Je remercie chaleureusement ma famille pour toute l'aide et soutien, moral et financier.
- 🌸 A mon examinatrice Mme **DAHANI** Je suis très honorée que vous ayez accepté d'examiner mon travail. Je saisi cette occasion pour vous exprimer mes sentiments mon profond respect et ma gratitude.
- 🌸 J'adresse mes sincères remerciements à tous les professeurs qui m'ont enseigné au cours des études primaires jusqu'aux années du cursus universitaire pour l'obtention du diplôme de master.
- 🌸 Et bien sûr, merci à tous les travailleurs de L'Université de Saida et à tous mes amis avec qui j'avais gardé des souvenirs très agréables des bons moments vécus ensemble.
- 🌸 Enfin je remercie tous ceux et celles qui ont de près ou de loin contribué à la réalisation de ce travail.
- 🌸 Et pour finir, un dernier remerciement à toute la promotion 2017-2018 de **MICROBIOLOGIE** de l'université **Dr. Moulay Tahar**, en leurs souhaitant un avenir plein de réussite.

# Dédicaces

*J'ai l'honneur de dédier ce modeste travail réalisé grâce à l'aide de dieu tout puissant*

*A mes très chers parents qui m'ont guidé durant les moments les plus pénibles de ce long chemin :*

*Mon père qui a sacrifié toute sa vie afin de me voir devenir ce que je suis, je lui dois le grand amour et le profond respect .*

*A l'être le plus chère à mon cœur, ma mère qui a toujours cru en moi et m'a encouragé.*

*A ma chère sœur, **Wahiba** , qui m'a soutenue durant les moments difficiles et à qui je souhaite beaucoup de réussite et du bonheur dans sa vie.*

*A tous mes oncles et mes tentes, je leur souhaite beaucoup de bonheur et de prospérité .*

*A tous mes amies **Karima, Amel, Zobida** et tous mes autres amis .*

*A mon encadreur qui a collaboré à la réalisation de ce mémoire.*

*Enfin à tous ceux qui me sont très chers.*

## Résumé

Les bactéries lactiques jouent un rôle important dans la fermentation des aliments. Elles peuvent synthétiser des substances antibactériennes.

L'objectif de notre travail est l'étude de l'activité antimicrobienne et la mise en évidence de substances inhibitrices chez quelques bactéries lactiques isolées de lait de chamelle.

Nous avons également au préalable vérifié la pureté de sept souches de lactobacilles étudiés ainsi que leur pouvoir protéolytique.

Différentes méthodes ont été utilisées basées sur l'interaction antagoniste entre les lactobacilles et les souches indicatrices pathogènes parmi eux la méthode de diffusion par les disques et la méthode indirectes des puits, Suivi du test d'antagonisme pour étudier le pouvoir inhibiteur des souches sélectionnées vis-à-vis *Listeria monocytogenese* et *Salmonella thyphimurium* en milieu liquide. Des tests supplémentaires ont été nécessaires pour connaître la nature exacte des agents inhibiteurs tels que la SDS-PAGE.

Leurs interactions a conduit à l'apparition de zones d'inhibition importantes qui varient jusqu'à 29 mm de diamètre par la méthode de disque et et à 23.5 mm par la méthode de puits .

Le profil protéique obtenu par analyse électrophorétique (SDS-PAGE) montre que les souches possèdent un certain panel de protéines mais qui ne sont pas à l'origine des inhibitions obtenues.

**Mots clés :** Bactéries lactiques, substances inhibitrices, activité antimicrobienne, lactobacilles, souches pathogènes.

## ملخص

تلعب بكتيريا حليب دورا هاما في تخمر الغذاء. يمكنهم تركيب المواد المضادة للبكتيريا. الهدف من عملنا هو دراسة النشاط المضاد للميكروبات وتوضيح المواد المثبطة في بعض بكتيريا حليب المعزولة من حليب الإبل. كما قمنا بالتحقق من نقاء سبع سلالات من اللاكتوباسيلوس المدروس بالإضافة إلى قوتها البروتينية. تم استخدام طرق مختلفة على أساس التفاعل العدائي بين العصيات اللبنية والسلالات المسببة للأمراض فيما بينها طريقة نشر القرص وطريقة البئر غير المباشر

متابعة باختبار العداء لدراسة القوة المثبطة للسلالات المختارة فيما يتعلق *Listeria monocytogenese Salmonella thyphimurium* في وسط سائل. هناك حاجة إلى اختبارات إضافية لمعرفة الطبيعة الدقيقة للعوامل المثبطة مثل SDS-PAGE.

وقد أدت تفاعلاتها إلى ظهور مناطق مهمة للتثبيط التي يتراوح قطرها إلى 29 ملم باستخدام طريقة القرص و 23.5 ملم باستخدام طريقة البئر. يظهر بروفيل البروتين الذي تم الحصول عليه عن طريق التحليل الكهربائي (SDS-PAGE) أن السلالات تمتلك لوحة معينة من البروتينات ولكنها ليست في أصل الموانع التي تم الحصول عليها.

**الكلمات المفتاحية:** البكتيريا اللبنية ، المواد المثبطة ، النشاط المضاد للميكروبات ، العصيات اللبنية ، السلالات المسببة للأمراض.

## **Abstract**

Lactic acid bacteria play an important role in the fermentation of food. They can synthesize antibacterial substances

The objective of our work is the study of antimicrobial activity and the demonstration of inhibitory substances in some lactic acid bacteria isolated from camel milk.

We have also previously verified the purity of seven strains of lactobacillus studied as well as their proteolytic power.

Different methods were used based on the antagonistic interaction between lactobacilli and pathogenic indicator strains among them the disk diffusion method and the indirect well method. Follow-up of the antagonism test to study the inhibitory power of the selected strains. to *Listeria monocytogenese* and *Salmonella thyphimurium* in liquid medium. Additional tests were needed to know the exact nature of the inhibitory agents such as SDS-PAGE.

Their interactions led to the appearance of important zones of inhibition that vary up to 29 mm in diameter by the disk method and 23.5 mm by the well method. The protein profile obtained by electrophoretic analysis (SDS-PAGE) shows that the strains possess a certain panel of proteins but which are not at the origin of the inhibitions obtained.

**Key words:** Lactic bacteria, inhibitory substances, antimicrobial activity, lactobacilli, pathogenic strains.

## Table des matières

		<b>Pages</b>
	<b>Remerciement</b>	
	<b>Dédicaces</b>	
	<b>Résumé</b>	
	<b>Liste de tableau</b>	
	<b>Liste de figures</b>	
	<b>Abréviations</b>	
	<b>Introduction</b>	
	<b>Etude bibliographique</b>	
<b>1</b>	Lait de chamelle	<b>1</b>
<b>1.1</b>	Caractéristiques générales du lait de chamelle	<b>1</b>
<b>1.2</b>	Caractères physiques et organoleptiques	<b>1</b>
<b>1.3</b>	Composition chimique	<b>2</b>
<b>1.3.1</b>	La matière grasse	<b>3</b>
<b>1.3.2</b>	Caséines	<b>4</b>
<b>1.3.2.1</b>	Caséines $\alpha$ S1	<b>4</b>
<b>1.3.2.2</b>	Caséines $\alpha$ S2	<b>4</b>
<b>1.3.2.3</b>	Caséines $\beta$	<b>4</b>
<b>1.3.2.4</b>	Caséine $\kappa$	<b>5</b>
<b>2</b>	La microflore du lait	<b>5</b>
<b>2.1</b>	La microflore contaminante	<b>5</b>
<b>2.2</b>	La flore microbienne de lait camelin	<b>6</b>
<b>2.3</b>	La flore mésophile aérobie totale	<b>6</b>
<b>2.4</b>	La flore pathogène	<b>7</b>
<b>2.5</b>	La flore d'altération	<b>7</b>
<b>2.6</b>	La flore lactique	<b>8</b>
<b>3</b>	Propriétés thérapeutiques et médicinales	<b>9</b>
<b>3.1</b>	Utilisation médicinale et thérapeutique du lait de chamelle	<b>9</b>
<b>3.1.1</b>	Propriétés anti-infectieuses	<b>9</b>
<b>3.1.2</b>	Cancer et maladies auto-immunes	<b>9</b>
<b>3.1.3</b>	Diabète	<b>10</b>
<b>3.1.4</b>	Reconstituant	<b>11</b>
<b>4</b>	Composants du lait de chamelle et propriétés médicinales	<b>11</b>

<b>4.1</b>	Les facteurs antimicrobiens	<b>11</b>
<b>4.2</b>	Factreure anti-cancéreux	<b>13</b>
<b>4.3</b>	L'insuline	<b>13</b>
<b>4.4</b>	Les facteurs stimulants (vitamine c)	<b>13</b>
<b>4.5</b>	Les propriétés probiotiques du shubat	<b>14</b>
<b>5</b>	Les bactéries lactiques	<b>15</b>
<b>5.1</b>	Définition	<b>15</b>
<b>5.2</b>	Caractéristiques des bactéries lactiques	<b>15</b>
<b>5.3</b>	Habitat et origine des bactéries lactique	<b>16</b>
<b>5.4</b>	Taxonomie et classificationn des bactéries lactiques	<b>16</b>
<b>6</b>	Propriété probiotique	<b>17</b>
<b>6.1.1</b>	Les bactéries probiotique	<b>17</b>
<b>6.1.2</b>	Role d'un probiotique	<b>18</b>
<b>6.2</b>	Intérêts technologiques des bactéries lactiques	<b>18</b>
<b>6.2.1</b>	Activité acidifiante (production d'acide lactique)	<b>18</b>
<b>6.2.2</b>	Activité protéolytique	<b>18</b>
<b>6.2.3</b>	Pouvoir aromatisant et pouvoire gazeux	<b>19</b>
<b>6.2.4</b>	Activité bactériostatique(production de bactériocines)	<b>19</b>
<b>7</b>	Les substances antimicrobiennes	<b>19</b>
<b>7.1</b>	Acide organique	<b>19</b>
<b>7.1.1</b>	Role d'acide organique	<b>20</b>
<b>7.2</b>	Peroxyde d'hydrogène	<b>20</b>
<b>7.3</b>	Acide gras	<b>20</b>
<b>7.4</b>	Dioxyde de carbone (co2)	<b>20</b>
<b>7.5</b>	Acétaldéhyde	<b>21</b>
<b>7.6</b>	Diacétyle (2.3- butanédione)	<b>21</b>
<b>7.7</b>	Reutrérine	<b>21</b>
<b>7.8</b>	Reutéricycline	<b>21</b>
<b>7.9</b>	Pyrrolidone-5-carboxylic	<b>21</b>
<b>7.10</b>	Les bactériocines	<b>22</b>
<b>8</b>	Différences entre les bactériocines et les antibiotiques	<b>22</b>



<b>Matériel et Méthode</b>		
	Objectifs de la recherche	<b>23</b>
<b>1</b>	Matériel	<b>23</b>
<b>1.1</b>	Milieux de culture	<b>23</b>
<b>1.2</b>	Antibiotiques	<b>23</b>
<b>1.4</b>	Le matériel biologique utilisé	<b>26</b>
<b>2</b>	Vérification de la pureté des bactéries lactiques	<b>27</b>
<b>3</b>	Conservation des souches lactiques	<b>27</b>
<b>4</b>	Conservation des souches pathogènes	<b>27</b>
<b>5</b>	Préparation des pré-culture	<b>27</b>
<b>6</b>	Test d'antibiogramme	<b>27</b>
<b>7</b>	Etude des activités antimicrobiennes des souches	<b>28</b>
<b>8</b>	Recherche des bactériocines	<b>28</b>
<b>9</b>	Teste protéolytique	<b>29</b>
<b>10</b>	Antagonisme en milieu liquide	<b>29</b>
<b>11</b>	Séparation des protéines par SDS-PAGE	<b>29</b>
<b>11.1</b>	Préparation des échantillons	<b>30</b>
<b>11.2</b>	Coloration et décoloration du gel	<b>30</b>
<b>Résultat et Discussion</b>		
<b>1</b>	La purification des bactéries lactiques	<b>32</b>
<b>1.1</b>	Sur milieu solide	<b>32</b>
<b>2</b>	Préparation des pré cultures	<b>32</b>
<b>2.1</b>	Sur milieu MRS liquide	<b>32</b>
<b>2.2</b>	Sur milieu LB liquide	<b>32</b>
<b>3</b>	Teste d'antibiogramme	<b>33</b>
<b>4</b>	Résultats d'étude des activité inhibitrice des souches lactiques	<b>35</b>
<b>5</b>	Résultats du test de recherche des bactériocines (Méthode des puits)	<b>37</b>
<b>6</b>	Résultats d'antagonisme en milieu liquide	<b>39</b>
<b>7</b>	La Protéolyse	<b>40</b>
<b>8</b>	Electrophorèse	<b>41</b>
	<b>Conclusion</b>	

	<b>Références</b>	
	<b>Annexes</b>	

## Liste des tableaux

		<b>Page</b>
<b>Tableau 1</b>	Les concentrations moyennes des minéraux dans le lait de chamelle, de la vache, et de la femme (mg /100g) ( <b>Kenji, 2013 ; Boussouar, 2017</b> ).	<b>2</b>
<b>Tableau 2</b>	Composition approximative du lait de chamelle ( <b>Farah, 1993</b> )	<b>3</b>
<b>Tableau 3</b>	Caséines de lait de chamelle ( <b>Zakaria Farah, 1993</b> )	<b>5</b>
<b>Tableau 4</b>	Différentes études entreprises sur les effets thérapeutiques du lait de chamelle ( <b>Boussouar, 2017</b> ).	<b>10</b>
<b>Tableau 5</b>	les différents genres de bactéries lactiques ( <b>Ghouzzlane, 2012</b> )	<b>17</b>
<b>Tableau 6</b>	Classification des bactériocines de bactéries lactiques ( <b>Bouadjaib Sarah, 2013</b> ).	<b>22</b>
<b>Tableau 7</b>	Antibiotiques utilisés et leur mode d'action	<b>23</b>
<b>Tableau 8</b>	Souches et origines des bactéries lactiques utilisées	<b>26</b>
<b>Tableau 9</b>	Les souches pathogènes et leur origine	<b>26</b>
<b>Tableau 10</b>	Résultat d'antibiogramme .	<b>33</b>
<b>Tableau 11</b>	Mesure des zones d'inhibition en (mm) des souches lactiques vis-à-vis souches pathogènes .	<b>36</b>
<b>Tableau 12</b>	Entagonisme en milieu liquide (NSC5C).	<b>39</b>
<b>Tableau 13</b>	Antagonisme sur milieu liquide (BH14).	<b>39</b>

## Liste des figures

		<b>Page</b>
<b>Figure 1</b>	Etude de l'activité inhibitrice.	<b>28</b>
<b>Figure 2</b>	Représentation du principe de la SDS-PAGE.	<b>31</b>
<b>Figure 3</b>	Aspect macroscopique sur milieu MRS des souches après 24h d'incubation à 30°C.	<b>32</b>
<b>Figure 4</b>	Cultures pures des bactéries lactiques sur milieu MRS liquide après incubation à 37°C pendant 24 h.	<b>32</b>
<b>Figure 5</b>	Pré-culture de 24h des souches pathogènes sur bouillon LB.	<b>33</b>
<b>Figure 6</b>	Résultats du test d'antibiogramme des bactéries lactiques.	<b>35</b>
<b>Figure 7</b>	Résultats d'activité inhibitrice des souches lactiques vis-à-vis des souches indicatrices.	<b>35</b>
<b>Figure 8</b>	Résultats des inhibitions obtenues par les lactobacilles sur <i>Salmonella thyphimurium</i> (sk).	<b>37</b>
<b>Figure 9</b>	Diamètre des zones d'inhibitions (mm) obtenues par la méthode des puits .	<b>38</b>
<b>Figure 10</b>	Résultats d'antagonisme BH14 contre <i>Salmonella thyphimurium</i> .	<b>39</b>
<b>Figure 11</b>	Activité protéolytique des lactobacilles sur gélose au lait (Méthode des puits).	<b>40</b>
<b>Figure 12</b>	Mesure de diamètres en mm teste protéolytique.	<b>41</b>
<b>Figure 13</b>	Bandes électrophorétiques : a gauche dans le surnageant , a droite après lyse cellulaire.	<b>43</b>
<b>Figure 14</b>	Recherche de protéines antimicrobiennes sur gel de polycrylamide	<b>43</b>

## **Abréviations**

°C : Degré Celsius

Cm : Centimètre

h : Heure

l : Litre

LB: Lysogenic broth

Min: Minute

ml : Milliliter

Lb : lactobacillus

MRS : Milieu de Man Rogosa and Shape

N: Nombre

Na cl : Chlorure de sodium

Ph : Potentiel d'hydrogène

R : Résistant

S : Sensible

tr : Tour

µl : Microlitre

BL : Bactérie lactique

T° : Température

ATB :Antibiotique

Mm : Millimètre

Ufc : Unité formant colonie

# **Introduction**

## **Introduction**

Le lait secrété par les différentes espèces de mammifères, présente des caractéristiques communes et les mêmes nutriments : eau, protéines, lactose, matière grasse et matières minérales, cependant les proportions respectives de ces composants varient largement d'une espèce à l'autre (**Fao, 1995**). Le lait de chamelle est l'une des plus précieuses ressources du Sahara. Il représente un aliment complet pour la population nomade, présentant des similitudes avec celui de celui de la vache et il est d'autant plus proche de celui de la femme (**Lasnami, 1986**).

Jusqu'à maintenant nous avons utilisé les antibiotiques pour nous défendre contre les maladies d'origine bactérienne. Cependant une bactérie résistante à un antibiotique d'une famille rend généralement les autres antibiotiques inefficaces (**Vescovo et al., 2006**). Par observation, on a pu constater que les bactéries lactiques quand elles se trouvent face à une autre souche dans un même environnement, elles doivent se battre et résister. Pour cela, elles secrètent différents peptides antimicrobiens (bactériocines) qui sont employés comme bio-conservateurs (**Rodgers, 2001**).

Les bactéries lactiques sont largement impliquées dans la fabrication de produits laitiers fermentés (PLF), elles jouent un rôle majeur dans leur conservation et contribuent à l'inhibition des germes contaminants (**Guessas, 2007**). Cette préservation est conférée par la production de plusieurs métabolites en plus des bactériocines ayant une activité antimicrobienne tels que les acides organiques et le peroxyde d'hydrogène (**Dortu et Thonart, 2009; Moraes et al., 2010**).

L'objectif de ce travail est de vérifier la pureté des bactéries lactiques de lait de chamelle, et de tester leur activité protéolytique et leur pouvoir antimicrobien dans le but de sélectionner des souches possédant un pouvoir antagoniste contre les germes pathogènes afin de préserver la santé et l'hygiène publique.

Pour la réalisation de ce travail nous avons suivi l'acheminement suivant :

Dans une première partie: l'étude bibliographique est orientée vers la caractérisation générale du lait de chamelle et sa composition chimique, qui consiste à chercher les utilisations médicinales et thérapeutiques du lait de chamelle puis l'étude de quelques bactéries lactiques et voir leurs intérêts technologiques.

La deuxième partie est basée sur l'utilisation de protocoles simples, c'est l'étude des interactions. C'est-à-dire l'étude de l'effet antagoniste des bactéries lactiques du genre *Lactobacillus* vis-à-vis des bactéries pathogènes en utilisant la méthode des puits et des disques et en milieu liquide puis la séparation des protéines totales par SDS-PAGE.

**Etude  
bibliographique**



## **1.Lait de chamelle**

Le lait de chamelle, comme celui des autres mammifères, est un milieu de composition chimique et physique complexe qui permet au jeune chamelon de couvrir ses besoins énergétiques et nutritionnels pendant la première étape de son existence (**Sboui et al., 2009**). Le lait de chamelle frais ou fermenté ont été reconnus depuis longtemps à offrir un traitement potentiel pour une série de maladies telles que l'hydropisie, la jaunisse, la tuberculose, l'asthme et la leishmaniose ou kala-azar (**Abdelgadir et al., 1998; Shalash, 1984**).

### **1.1.Caractéristiques générales du lait de chamelle**

Le lait de chamelle, est généralement blanc opaque. Il a un goût sucré et piquant parfois salé à cause du type des plantes broutées dans le désert par la chamelle, c'est pour ça que les changements de goût du lait sont causés par les types de fourrages et la disponibilité d'eau, il est mousseux lorsqu'il est secoué légèrement. (**Bellil, 2013**), comparé au lait de vache, le lait de chamelle s'acidifie très peu. Il peut être conserve longtemps sans réfrigération (3 jours à 30°C et 2 semaines à 7°C) (**Senoussi, 2011**). La valeur moyenne du pH du lait de chamelle cru analysé, est égale à  $6,37 \pm 0,06$ , et acidité titrable de l'ordre de  $18^{\circ}D \pm 0,79$  (**Chethouna, 2011**) La densité du lait chamelle oscille entre 1.025 à 1.032 avec une moyenne de 1.029. L'écémage du lait augmente sa densité. Celle-ci s'accroît d'autant plus que la quantité de matière grasse est réduite (**Farah et Bachmann, 1987**)

### **1.2.Caractères physiques et organoleptiques**

Le lait de chamelle est de couleur blanche, en raison notamment de la structure et de la composition de sa matière grasse, relativement pauvre en  $\beta$ -carotène (**Sawaya et al., 1984**). Il est légèrement sucré, avec un gout acide, parfois même salé (**Abdel-Rahime, 1987**) et / ou amère (**Ramet, 2003**). Cette variabilité dans le gout est lié au type de fourrage ingéré ainsi qu'à la disponibilité en eau (**Yagile et Etzion, 1980 ; Wangoh et al., 1998**) le pH du lait camelin se situe au tour de 6,6 et l'acidité est de l'ordre de  $15^{\circ}$  Doronic. Sa densité oscille entre 0,99 et 1,034 avec une viscosité moyenne de 2,2 centipoise (**Hassane et al., 1987**) et un point de congélation variant de -0,53 à -0,61°C.

### 1.3.Composition chimique

La composition chimique globale du lait de chamelle, même si elle fluctue selon les auteurs (donc selon les animaux et l'environnement considéré), montre néanmoins des teneurs importante et équilibré en nutriments de base (protéines, matière grasses et lactose) avec des proportions similaires à celles présentes dans le lait de vache. Les teneurs en protéines et en matière grasse carient respectivement de 2,5 à 4% et de 1,1 à 4,6% (avec une fréquence de élevée à des taux supérieurs à 3%), alors que la teneur en lactose fluctue 2,5 et 5,6% . **(Siboukeur, 2009)**. Les concentrations élevées observées pour se dernier nutriment expliqueraient la saveur parfois sucrée du lait de chamelle rapportée par plusieurs auteurs **(Gnan et Shereha, 1986 ; Bayoumi, 1990)**. La teneur en eau du lait camelin, qui varie selon son apport dans l'alimentation, atteint son maximum pendant la période de sécheresse. En effet il a été montré que la restriction en eau alimentaire des chameles se traduit par une dilution du lait: un régime riche en eau donne un lait ayant un taux de 86% alors que dans un régime déficient, celui-ci s'élève à 91% **(Yagil et Etzion, 1980 ; Faye et Mulato, 1991)**. Cette dilution pourrait être l'effet d'un mécanisme d'adaptation naturelle pourvoyant en eau les chameles durant la période de sècheresse.

Les sels minéraux présents dans le lait de chamelle sont aussi diversifiés que se rencontrés dans le lait de vache. On y dénombre en effet des macro et des oligo-éléments qui se trouvent sous forme de sels (phosphates, chlorures et citrates) ou de métaux divers (sodium, potassium, fer, cuivre, zinc...etc.).

**Tableau 01** : Les concentrations moyennes des minéraux dans le lait de chamelle, de la vache, et de la femme (mg /100g) **(Kenji, 2013 ; Boussouar, 2017)**.

Minéraux	Chamelle	Vache	Femme
Mg	11	12	2.7
Na	59	51	12
K	156	137	64
P	55	65	7.8
Zn	0.59	0.4	0.15
Mn	0.005	0.003	0.001
Fe	0.29	0.03	0.047
Ca	114	120	31

Le lait de chamelle se singularise par sa richesse relative en vitamine B3 (niacine) et en vitamine C. même si des variations importantes de 25 à 60 mg/l) de la teneur de cette dernière dans le lait camelin sont rapportés **(Farah, 1993)**, il n'en demeure pas moins que les teneurs

signalées autour de 36 mg/l selon (**Farah et al., 1992**) sont en moyenne 3 fois plus élevées que celles présentes dans le lait bovin, qui ne dépassent pas 22 mg/l selon (**Mathieu, 1998**). Cette caractéristique est particulièrement intéressante, car elle permet au lait de cette espèce, par son apport important en cette vitamine, de répondre aux besoins nutritionnels, aussi bien du jeune chamelon que des populations locales, qui vivent dans un environnement où l'apport en ce type de vitamine est particulièrement limité. (**Farah, 1993**) signale que le lait camelin contient des teneurs plus faibles en vitamines A et E et en certaines vitamines du groupe B (vitamine B2, B5 et B9).

**Tableau 02:**Composition approximative du lait de chamelle (**Farah, 1993**)

Matièresèche	Graisse	Lactose	Protéine	Cendre	Reference
98	32	42	27	6	( <b>Desai et al., 1982</b> )
144	55	34	45	9	( <b>Knoess 1977</b> )
119	36	44	30	8	( <b>Sawaya et al., 1984</b> )
130	33	56	33	8	( <b>Gnan et Sheriha, 1986</b> )
134	32	48	40	7	( <b>Abdel-Rahim, 1987</b> )
113	33	47	27	9	( <b>Abu-Lehia, 1987</b> )
110	35	39	25	8	( <b>Hassan et al., 1987</b> )
142	38	55	40	8	( <b>Abu-Lehia et al., 1989</b> )
122	32	52	31	8	( <b>Farah et Riiegg 1989</b> )
119	32	45	34	8	( <b>Mehaia et Al-Kahnal, 1989</b> )
134	36	55	33	8	( <b>Bayoumi, 1990</b> )

### 1.3.1. La matière grasse

La matière grasse laitière qui représente une source importante d'énergie, est constituée essentiellement de lipides et de substances lipoidiques. Néanmoins des composés protéiques sont présents dans la membrane du globule gras. Elle constitue également, un apport important en acides gras essentiels et en vitamines liposolubles. Les quelques études consacrées à cette matière ont mis en évidence son apport quantitatif et qualitatif (**Glass et al., 1967 ; Hagrass et al., 1987**) . Néanmoins, pour ce dernier volet, la composition et les

propriétés physicochimiques et structurales de cette matièrelipidique n'ont fait l'objet que de quelques investigations limitées.

### **1.3.2. Caséines :**

Les caséines représentent entre 72 et 76% des protéines totales du lait camelin et 80% du lait bovin, ovin, caprin et seulement 40% du lait humain (**Fox, 2001**). Ces caséines, qui précipitent à leur pH isoélectrique (4,6 pour le lait bovin et 4,2 et 4,3 respectivement pour le lait caprin et camelin), (**Thompson et al., 1965**), sont constituées de 4 protéines différentes : ( $\alpha$ 1,  $\alpha$ 2,  $\beta$  et  $\kappa$ ) dont les deux premières sont particulièrement sensibles au calcium (calcium sensitive caseines). Ces caséines ont tendance à s'associer en particules sphériques ou micelles, de taille variable et fortement hydratées et minéralisées. L'assemblage et la cohésion de cette structure micellaire sont assurés par des liens phosphocalciques (**Hambraeus, 1982**).

#### **1.3.2.1. Caséine $\alpha$ S1**

C'est la protéine la plus abondante du lait. Dans le lait de chamelle, elle représente 22 % des caséines totales et contient 215 acides aminés pour une masse moléculaire de 25,773 kDa et un point isoélectrique de 4,4 (**Kappeler et al., 1998**).

#### **1.3.2.2. Caséine $\alpha$ S2**

L' $\alpha$ S2 cameline est composée de 178 acides aminés pour une MM de 21 266 Da. Son point isoélectrique est de 4,58. Cette caséine présente des délétions au niveau de sa structure primaire au niveau d'une région de l'hélice  $\alpha$  entre Glu49 et Asn89. Cette délétion entraîne la perte des sérines phosphorylées successives (Ser56, Ser57, et Ser58) qui sont impliquées dans la structure primaire de la caséine  $\alpha$ 2 bovine. Ce qui n'est pas sans conséquences dans l'assemblage de la micelle, dans sa stabilité et dans ses propriétés nutritionnelles (**Ferranti et al., 1995**).

#### **1.3.2.3. Caséine $\beta$**

La caséine  $\beta$  cameline est composée de 217 acides aminés pour une MM de 24 651 Da. Son pHi se situe à 4,76. Dans cette protéine, les sites de phosphorylation y sont présents en 4 positions (Ser 15, 17, 18, et 19) (**Kappeler et al., 1998**).

### 3.2.4. Caséine $\kappa$

Bien que non majoritaire dans la micelle (3,3 g/l de lait) (Ribadeau-Dumas et Grappin, 1989), elle est une des protéines laitières les plus étudiées, car elle joue un rôle fondamental dans le phénomène de stabilisation/déstabilisation de la micelle, particulièrement en faisant l'objet d'une coupure spécifique par la chymosine, dont le coagulum formé est nécessaire pour la fabrication de fromage à pâte pressée.

**Tableau 3** : Caséines de lait de chamelle (Zakaria Farah, 1993)

Casein	Masse moléculaire	Référence
$\alpha$ S1	35000	(Farah & Farah-Riesen, 1985)
$\alpha$ S1	31000	(Larsson-Raznikiewicz & Mohamed, 1986)
$\alpha$ S2	25000	(Larsson-Raznikiewicz & Mohamed, 1986)
$\beta$	35000	(Farah & Farah-Riesen, 1985)
$\beta$	27000	(Larsson-Raznikiewicz & Mohamed, 1986)

## 2. La Microflore du lait

Les micro-organismes du lait sont répartis en deux grandes classes : • La microflore indigène ou originelle: Le lait contient peu de microorganismes lorsqu'il est prélevé dans des conditions aseptiques, à partir d'un animal sain, il devrait contenir moins de 5000 germes/ml et moins de 1 coliforme/ml. Les genres dominants en sont principalement des microorganismes mésophiles (*Micrococcus sp*, *Lactobacillus*, *Streptococcus* ou *Lactococcus* et les bactéries à Gram négatif) (Lamontagne et al., 2002).

### 2.1. La microflore contaminante

Ensemble des micro-organismes contamine la collecte jusqu'à la consommation, elle peut se composer d'une flore d'altération qui causera des défauts sensoriels ou qui réduira la durée de conservation des produits et d'une flore pathogène, capable de provoquer des maladies chez les personnes qui consomment ces produits laitiers (Lamontagne et al., 2002). Le lait au cours de la traite, du transport et du stockage à la ferme ou à l'usine, est contaminé par une grande variété de microorganismes (Larpent J-P, 1997). Les principales sources de contamination sont les suivantes : • fèces et téguments de l'animal : coliformes, Bacillus, Clostridium, Salmonella ; • sol : *Streptomyces*, bactéries sporulées, spores de champignons ; •

litières et aliments : flore banale, *Lactobacilles*, Clostridiabutyriques (ensilage); • air et eau : flores diverses ; • équipement de traite et de stockage du lait : flore lactique, *microcoques*, *Lactobacilles*, *Chromobacterium*, *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Flavobacterium*, *Acinitobacter*, levures ; • manipulateurs : *staphylocoques* des mains, germes d'expectoration et de contamination fécale ; • vecteurs divers : insectes en particulier. Les principaux micro-organismes d'altération rencontrés ou sont: *Pseudomonas sp.*, *Proteus* sp., coliformes, principalement *E. coli*, *Enterobacter*, les sporulés, tels que *Bacillus sp*, *Clostridium* et certaines levures et moisissures (Mami, 2013). D'autres microorganismes peuvent se trouver dans le lait lorsqu'il est issu d'un animal malade : ils sont généralement pathogènes et dangereux. Il peut s'agir par exemple d'agents de mammites. Les mammites sont dues à des infections par *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Escherichia coli*, *Corynebacterium bovis* ou *Corynebacterium pyogenes*, *Mycoplasma*, *Nocardia asteroides* (Belarbi, 2011).

## 2.2. La flore microbienne de lait camelin

### 2.3. La flore mésophile aérobie totale

Le dénombrement de la flore mésophile aérobie totale dans le lait camelin cru révèle une quantité de  $9,5 \times 10^6$  UFC. Ces résultats indiquent que les échantillons du lait de chamelle analysés sont chargés en micro-organismes que le lait de vache ( $9 \times 10^4$  UFC/ml) au jour du conditionnement et  $3 \times 10^5$  UFC/ml à la date limite de consommation, selon (Joffin, 1992). Selon de nombreux auteurs, comme (Farah, 1986) et (Faye, 1997), le lait de chamelle a des propriétés antibactériennes élevées qui lui assurent une bonne conservation au frais sans fermentation immédiate. Ce constat s'oppose à la charge microbienne anormalement élevée dans les échantillons analysés. Dans ce sens, (Calvo et Olano, 1992) signalent que quand le lait est collecté sous des conditions hygiéniques convenables, sa flore totale ne dépasse pas  $10^3$  à  $10^4$  UFC/ml. Cette charge microbienne élevée dans le lait de chamelle serait due à plusieurs facteurs: les mauvaises conditions d'hygiène lors de la traite ou de la conservation qui entraînent une contamination du lait et les fortes températures dans les zones arides et semi-arides favorables à la croissance des microorganismes. Par contre les échantillons du lait camelin pasteurisé présentent des valeurs acceptables, ce qui montre la nécessité de pasteurisation du lait camelin cru. La pasteurisation à ( $63^\circ\text{C} / 20\text{min}$ ) et à ( $65^\circ\text{C} / 30\text{min}$ ) a toutefois donne des résultats peu intéressants puisque le taux de la FMAT est resté élevé (3,6

$\times 10^5$ ) et ( $9,5 \times 10^4$ ) respectivement. Donc pour assurer une bonne pasteurisation du lait de chamelle, il faut lui appliquer un couple de température/temps plus important que celui-ci.

#### **2.4.Flore pathogène**

La flore pathogène du lait, parmi laquelle, les coliformes, les entérobactéries, les bactéries halotolérantes et les Staphylocoques est complètement détruite, après la pasteurisation quelque soit le barème utilisé. Ces bactéries étant sensibles à la chaleur, constituent un bon témoin de l'efficacité des traitements thermiques et/ou d'une recontamination (**Guiraud, 1998**). Signalons que cette flore pose des problèmes divers sur la santé humaine : -Les entérocoques, tels que (*Salmonella, Escherichia coli, Shigella, Yersinia*) sont responsables de nombreuses toxi-infections et troubles intestinaux, les bactéries halotolérantes sont des micro-organismes qui peuvent se reproduire en absence de sel et tolèrent une concentration jusqu'à 15% tel que (les Staphylocoques halotolérants), elles provoquent par leur production des toxines thermostables, des intoxications de gravité variable, une fermentation lactique suffisamment active, les inhibent. Mais le risque subsiste s'il y a eu accumulation préalable de toxines en quantité suffisante (**Anonyme 2, 1992**). Les coliformes totaux absorbés en quantité massive (1 million à 1 milliard de germes) peuvent déclencher des troubles gastro-intestinaux.

#### **2.5.Flore d'altération**

Cette flore regroupant les bactéries thermorésistantes, les psychrotrophes. La flore thermorésistante est capable de résister aux traitements thermiques usuels comme la pasteurisation (**Anonyme2, 1992**). Dans ce sens (**Mourgues, 1983**) a indiqué que le nombre de thermorésistant du lait cru conditionne, non seulement la teneur en germes du lait pasteurisé mais aussi sa durée de conservation dans le cas où il n'y a pas une recontamination après la pasteurisation. D'ailleurs, La flore thermorésistante est notamment apportée dans le lait par le sol, les ensilages, les fèces et les résidus dus à l'insuffisance de nettoyage et de désinfection du matériel en contact avec le lait (**Anonyme2, 1992**). Leur développement ultérieur peut altérer les produits et, peut parfois, être dangereux pour la santé. Les composantes de cette flore sont: *Micrococcus, Microbacterium et Bacillus* dont l'espèce *cereus* produit une entérotoxine stable après pasteurisation (**Dieng, 2001**). Le taux de réduction de la flore psychrotrophe par la pasteurisation est égale 49,43%, 58,36%, 64,91% et 68,28% pour un couplement température/temps 63°C/20min, 65°C/30min, 72°C/15sec et 85°C/2min respectivement. On peut expliquer la légère résistance de la flore psychrotrophe à la pasteurisation, par la présence de quelque espèce thermorésistante. Parmi les micro-

organismes qui composent ce groupe on peut citer *Micrococcus*, *Serratia*, *Pseudomonas*, *Corynebacterium*, le genre *Pseudomonas* étant prédominante) (**Dingue, 2001**). Ces germes peuvent produire des lipases et des protéases thermorésistantes ayant pour conséquence l'apparition de goûts très désagréables dans les produits laitiers :goût amer, rance, putride, etc.

## **2.6.Flore lactique**

La flore lactique a une grande importance en laiterie. Sa principale propriété est de produire de l'acide lactique par fermentation du lactose; certaines produisent en outre du gaz carbonique et divers composés, dont certains contribuent à l'arôme des produits laitiers. La flore lactique qui regroupe les bactéries lactiques mésophiles et thermophiles et les lactobacilles représente une sensibilité différente à la pasteurisation selon les espèces .Par exemple, les bactéries lactiques mésophiles tel que le genre *Lactococcus* montré une sensibilité très importante à la pasteurisation avec un taux de réduction de 100% pour tous les barèmes de pasteurisation utilisés au cours de cette étude. Ces bactéries sont utilisées pour la production de lait fermenté présentent des caractéristiques organoleptiques spécifique (**Bourgeois, 1996**). Par contre, les bactéries lactiques thermophiles telles que l'espèce *Streptococcus thermophilus* présente une résistance à la pasteurisation. Avec des taux de réduction est égale 2,54% ; 2,98% ; 3,69% ; 19,24% pour des couple température/temps 63°C/20min, 65°C/30min, 72°C/15sec et min, 85°C/2min respectivement .Ces bactéries sont utilisées pour la fabrication des fromages à pâte pressée cuite (**Bourgeois, 1996**). Par ailleurs, le taux de réduction des lactobacilles est 55,6% ; 63,80 % ; 66, 59%; 69,97%pour un couple température/temps égales 63°C/ 20min, 65°C/30min, 72°C/15sec et85°C/2minrespectivement. Il semble que cette flore représente une certaine résistance à la pasteurisation. On peut expliquer cette constatation par la présence probablement d'espèce thermophile telle que *Lactobacillus delbrueckii subs lactis* bien que (**Karam, 2006**) a indiqué l'absence de cette espèce dans le lait camelin. Enfin, on peut dire que la pasteurisation permet d'amélioré la qualité hygiénique du lait. Cependant, il faut prendre les mesures de prévention contre la présence et le développement des germes pathogènes et/ou d'altération (thermorésistants et psychotropes).

## **3.Propriétés thérapeutiques et médicinales**

Le lait de chamelle est apprécié traditionnellement pour ses propriétés anti-infectieuse, anti-cancéreuse, anti-diabétique et plus généralement comme reconstituant chez les malades convalescents. Ces propriétés relèvent cependant le plus souvent d'observations, bien



qu'empirique, peuvent être reliées à la composition du lait de chamelle .certains des composants tant sur le plan qualitatif pourraient être associés à ces propriétés particulièrement les facteurs antibactériens, l'insuline et la vitamine C.A cela s'ajoutent les propriétés probiotiques des bactéries lactique présentes dans les produits fermentés camelins (**Chethouna, 2011**)

### **3.1.Utilisation médicinale et thérapeutique du lait de chamelle**

Le lait de chamelle est apprécié traditionnellement pour ses propriétés anti-infectieuse, anti-cancéreuse, anti-diabétiques et plus généralement comme reconstituantes chez les malades convalescents.

#### **3.1.1.Proprietes anti-infectieuses**

Les vertus médicinales de ces produits sont couramment mises à profit dans le traitement de quelques maladies infectieuses (**Djangabilov et al., 2000 ; Chuvakova et al., 2000**). En Asie Centrale, l'utilisation du lait de chamelle pour le traitement adjuvant de la tuberculose humaine en sanatorium est ancienne (**Urazakov et Bainazarov, 1974**): les auteurs affirment obtenir une amélioration marquée des malades et un rétablissement significatif des paramètres sanguins avec 2 litres par jour pendant 2 à 4 mois. Ces résultats sont confirmés en Inde sur des patients tuberculeux buvant un litre par jour (**Mal et al., 2000**) et en Libye, avec une cure de 1,5 litres / jour, avec un effet observable dès la première semaine de traitement (**Alwan et Tarhuni, 2000**). Le lait fermenté (appelé shubat au Kazakhstan) est riche en bactéries lactiques qui renforcent les propriétés antimicrobiennes contre des germes pathogènes comme *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Mycobacterium*, *Staphylococcus*, *Salmonella* et *Escherichia* (**Puzyrevskaya et al., 2000**). Le shubat est ainsi fréquemment utilisé dans la prévention et la lutte contre les diarrhées.

#### **3.1.3.Cancer et maladies auto-immunes**

On reconnaît au lait de chamelle des propriétés immunostimulantes ayant un rôle dans le contrôle des processus tumoraux. Au Kazakhstan, il est traditionnellement utilisé comme adjuvant à la chimiothérapie de certains cancers, notamment ceux du tube digestif. Il semble également que des résultats probants soient obtenus dans certaines maladies auto-immunes, telles que lupus, pemphigus, maladie de Crohn et la sclérose en plaques (**Yagil et Van Creveld, 2000**).

### 3.1.3. Diabète

Sur un échantillon aléatoire de 24 diabétiques atteints du diabète de type I (insulinodépendants), par ailleurs sans troubles cliniques associés, (Agrawal et al., 2003) ont "traité", 12 d'entre eux avec du lait de chamelle avec une consommation d'un demi-litre par jour pendant 3 mois. Tous les patients étaient tenus à respecter le même régime et avoir une activité physique comparable entre les deux groupes ainsi qu'un traitement insulinique comparable. S'agissant d'une étude cas-témoin, on a veillé à ce que chaque groupe soit comparable en terme démographique et clinique (même pyramide des âges par exemple). Un certain nombre de contrôles sanguins a été réalisés (glycémie, insulémie, hémoglobine glycosylée, cholestérolémie, triglycéridémie) et un questionnaire sur la qualité de vie a été soumis aux patients à la fin de leur traitement. Après 3 mois de traitement, les patients buvant du lait de chamelle ont vu une amélioration de leur glycémie moyenne à jeun passant de 115 à 100 mg / 100ml alors qu'elle n'a pas bougé dans le groupe non traité. La même évolution est perceptible pour l'hémoglobine glycosylée restée à 9,48 % chez les non traités tout le long de l'étude, alors qu'elle diminuait de 9,54 à 9,08 % chez les traités. Cela s'est traduit par une diminution de la demande en insuline restant à environ 40 UI / j chez les non traités et passant de 42 à 30 UI / j chez les buveurs de lait de chamelle. Les autres paramètres sanguins en revanche n'ont pas été influencés par le traitement. Cependant, l'indice de satisfaction de la qualité de vie a nettement été amélioré et de façon significative chez les buveurs de lait, celui-ci passant de 28 à 22, alors qu'il est resté à 26,5 chez les non traités tout au long de l'expérience.

**Tableau 04 :** Différentes études entreprises sur les effets thérapeutiques du lait de chamelle (Boussouar, 2017).

Aspect étudié	Effet observé et interprétation	Auteurs
Diabète	Hypoglycémie (teneurs élevées d'insuline dans le lait)	(Sboui et al., 2009)
Complications du diabète	Diminution du stress oxydatif et prévention des néphropathologies (teneurs élevées en antioxydants)	(Senoussi, 2011)
Allergies au lait	Effet hypoallergique (absence de la $\beta$ -Lg et présence d'une caséine $\alpha$ S différente de la	(Konuspayeva, 2007)

	caséine bovine)	
Infections	Effet anti-infectieux (activité antibactérienne et antivirale)	<b>(Vignola, 2003)</b>
Tumeurs	Effet anti-tumoral (contrôle des processus tumoraux par stimulation de la défense immunitaire)	<b>(Konuspayeva et al., 2004)</b>
Toxicité aux métaux lourds	Effet protecteur contre la toxicité aux Aluminium et Cadmium	<b>(Senoussi, 2011)</b>

### 3.1.4.Reconstituant

Le lait de chamelle est couramment utilisé comme reconstituant chez les malades convalescents et dans les états de fatigue. Il a la réputation de renforcer les défenses immunitaires et de stimuler l'activité physique des organismes en état de surmenage. Ces allégations s'appuient sur des observations purement empiriques qui semblent relever parfois plus d'auto-persuasion que de réalités biologiques. Cependant, la présence abondante de certaines vitamines dans le lait de chamelle pourrait attester de la pertinence de ces effets.

## 4.Composants du lait de chamelle et propriétés médicinales

Les allégations santé du lait de chamelle peuvent être attribuées à certains des ses composants tant sur le plan quantitatif que qualitatif.

### 4.1.Les facteurs antimicrobiens (Lactoferrine, Lysozyme, Lactoperoxydase, Immunoglobulines)

La lactoferrine (LF) est une glycoprotéine contenant deux sites capables chacun de fixer un ion ferrique (Fe<sup>3+</sup>). Cette capacité à capter le fer explique en partie son rôle dans le contrôle de la croissance de certaines bactéries pathogènes tels que *Staphylococcus aureus* ou d'*Escherichia coli* (**Zagulki et al., 1989 ; Diarra et al., 2002**). Sur le plan des propriétés physiques, la lactoferrine de la chamelle comme beaucoup d'autres protéines laitières camelines serait plus thermorésistante que chez les autres espèces et plus thermorésistante que l'IgG. Par exemple, à 85°C pendant 10 minutes la lactoferrine du lait de chamelle ne représente plus que 37 % de la valeur initiale, contre 1,2 % pour le lait de vache et 0 % pour le

lait de bufflesse dans les mêmes conditions (**Elagamy, 2000**). La LF n'est pas une protéine spécifique du lait. On la trouve dans la plupart des sécrétions (larme, salive, sécrétions utérines, sang, sécrétions nasales, urines, fluide amniotique, plasma séminal) des mammifères, mais c'est dans le lait de chamelle qu'elle est la plus abondante puisqu'on en trouverait de 30 à 100 fois plus que dans le lait de vache.

On reconnaît à la lactoferrine des propriétés également antivirales et anti-fongiques. La LF agit sur des virus comme l'herpès, le virus de l'hépatite C et même sur le VIH (**Jouan, 2002**). Enfin, l'effet inhibiteur de la LF sur la croissance de certains mycètes pathogènes a été démontré in vivo (**Anderson, 2000**) Le lysozyme est une protéine naturellement présente dans les laits de mammifères où il représente un facteur antimicrobien puissant. La quantité de lysozyme dans le lait de chamelle est plus élevée que dans le lait de vache, 15  $\mu\text{g}$  100 mL<sup>-1</sup> vs 7  $\mu\text{g}$  100 mL<sup>-1</sup>. L'activité enzymatique du lysozyme du lait de chamelle est également plus forte que celle de la vache, mais plus faible que celle de l'œuf (**Elagamy et al., 1996**). Tout comme la lactoferrine de cette espèce, le lysozyme du lait de chamelle serait thermorésistant. A 85°C pendant 10 minutes le lysozyme du lait de chamelle ne représente plus que 44 % de la valeur initiale, contre 26 % pour le lait de vache et 18 % pour le lait de bufflesse dans les mêmes conditions (**Elagamy, 2000**). Les peroxydases sont des enzymes qui appartiennent aux systèmes non-immunes normaux de la défense antimicrobienne du lait. Cette enzyme dans le lait de chamelle est considérée comme étant une des plus thermorésistantes par rapport au lait de vache (**Elagamy et al., 1996**). La lactoperoxydase du lait de dromadaire présente une stabilité encore plus forte vis-à-vis des traitements thermiques, la rendant impropre comme témoin de la pasteurisation. Elle est par exemple fortement active dans les échantillons de lait pasteurisé de la laitière de Mauritanie (**Sabumukama, 1997**). Les résultats du test API ZYM lactoperoxydase sur le lait de dromadaire montre encore une activité enzymatique à forte température, quand la lactoperoxydase du lait de vache a perdu toute activité (**Loiseau et al., 2001**). Les immunoglobulines dont le rôle dans les défenses immunitaires est bien connu, sont composées de chaînes lourdes et légères. Ce qui est remarquable c'est que l'organisation des anticorps chaînes lourdes du dromadaire diffère complètement de ce qui est connu chez les autres vertébrés (**Atarhouch et al., 1997**). Le pic d'IgG dans le colostrum est de 0,26 +/- 0,232 mg / ml. Il se situe entre 18 et 30 heures après la naissance (**Hülsebusch, 1999**). Dans le lait, la concentration est plus faible mais la teneur répertoriée dans le lait de chamelle est 4 fois supérieure à celle de la vache à 0°C et 6 fois plus élevé à 65°C. Par ailleurs, l'IgG caméline serait plus thermorésistante : il reste 0,048 mg / ml d'IgG dans le lait de chamelle à 85°C alors qu'elle disparaît dans le lait de vache (**Elagamy, 2000**).

#### **4.2. Les facteurs anti-cancéreux**

La lactoferrine, qui serait présente en grande quantité dans le lait de chamelle, 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, (**Chissov et al., 1995**) ont élaboré une préparation à base de lactoferrine à utiliser dans les zones oropharyngiennes après une chimiothérapie. La LF est capable de participer aux processus de prolifération et de différenciation cellulaires. Elle a également été identifiée en tant que "ColonyInhibitory", agissant au niveau des cellules de la moelle épinière durant la myélopoïèse (**Linden, 1994**). Les cellules traitées à la lactoferrine montrent un arrêt définitif de toutes les fonctions, y inclus l'arrêt de l'activité métabolique des précurseurs de l'ADN et de l'ARN.

#### **4.3. L'insuline**

L'amélioration du statut glycémique chez les diabétiques traités au lait de chamelle serait due à la présence d'insuline en quantité non négligeable (52 UI / l). L'insuline est normalement neutralisée par le caillage du lait dans l'estomac sous l'effet de l'acidité du milieu, mais il semble que le lait de chamelle ne caillant pas comme celui des autres espèces, l'insuline pourrait en grande partie se retrouver intacte dans l'intestin où elle pourrait être absorbée. En tout état de cause, il semble que la consommation régulière de lait de chamelle ait une action hypoglycémisante et régulatrice de la glycémie chez les patients insulinodépendants. (**Agrawal et al., 2003**).

#### **4.4. Les facteurs stimulants (vitamine C)**

La réputation du lait de chamelle est en grande partie due à sa richesse en vitamine C. De tous les laits de mammifère collectés pour les besoins de l'homme, celui de la chamelle est le plus riche en cette vitamine dont le rôle tonique et reconstituant, permettant de lutter contre la fatigue et l'infection, est bien connu. Il y a en moyenne 3 fois plus de vitamine C dans le lait de chamelle comparé au lait de vache. Les facteurs de variation de la teneur en acide ascorbique sont maintenant assez bien connus (**Elkhidir, 2002**). La vitamine C joue un rôle biologique considérable par ses propriétés anti-oxydantes. Récemment, il a été montré qu'elle avait aussi une action positive sur la réponse immunitaire des organismes agressés par diverses maladies. Indépendamment de la saison, les organes les plus riches en vitamine C sont le foie (60 mg / 100g de tissu) et surtout les glandes surrénales (151 mg), le plus pauvre étant le cœur (8 mg seulement). On observe des variations selon les races de dromadaire répertoriées au Soudan, le type Arabi étant plus doté que le type Anafi, lui-même mieux

pourvu que le Bishari. En revanche, on n'observe pas de variations liées au sexe de l'animal. On remarque une évolution parallèle entre les teneurs sanguines et lactées. Les chamelles multipares ont plus de vitamine C dans leur lait que les primipares, et les chamelons nouveaux ont plus de vitamine C dans leur plasma que les mères, puis cela se stabilise après 4 semaines pour atteindre des valeurs similaires à la mère chez qui la tendance est à l'accroissement après la parturition. Le colostrum est d'ailleurs plus riche en vitamine C que le lait, signant ainsi le rôle de transfert actif de la mère vers le jeune. Les maladies parasitaires telles que la gale sarcoptique et la trypanosomose sont associées à une diminution des teneurs dans le plasma et les leucocytes. Chez les animaux cliniquement affectés par la trypanosomose, cette chute est particulièrement marquée : la teneur dans le plasma par exemple passe de 5,8 mg / l en moyenne chez les animaux sains à 1,8 chez les animaux malades. Les maladies infectieuses (brucellose, mammites) présentent le même impact bien que moins marqué. Sans pouvoir préciser si cette chute est une cause ou une conséquence de la maladie, on peut cependant affirmer que la vitamine C joue un rôle essentiel dans la résistance à l'infection. On peut du reste en déduire que les femelles en période de repos sexuel ou en début de lactation sont plus résistantes. Cela dit, l'effet immunostimulant de l'acide ascorbique, notamment dans des situations de stress (travail intense par exemple) mériterait d'être approfondi.

#### **4.5. Les propriétés probiotiques du shubat**

Les produits fermentés issus du lait de chamelle, tel que le shubat ont, en plus de la composition chimique classique, la particularité d'être riches en bactéries lactiques. Ces bactéries sont souvent bénéfiques pour la santé humaine et elles produisent de l'acide lactique comme produit terminal du processus final de fermentation à partir de différents sucres, notamment du lactose. La production de l'acide lactique peut s'accompagner de l'apparition d'autres produits. Dans ce cas les bactéries sont dites hétérofermentaires. Si la fermentation du lactose ou autre sucre donne uniquement de l'acide lactique, les bactéries sont homofermentaires. Les bactéries lactiques peuvent être considérées comme des probiotiques. Les probiotiques doivent répondre à certaines exigences avant d'être à même de produire un effet bénéfique :

- Résistance à l'acidité gastrique, à la bile et aux ferments pancréatiques
  - Capacité de coloniser transitoirement la muqueuse intestinale
  - Absence de pathogénicité
- Les microorganismes probiotiques les plus utilisés jusqu'ici sont les suivants : différentes souches de lactobacilles, les bactéries *bifidus*, le *Streptococcus thermophilus* ainsi qu'une levure, le *Saccharomyces boulardii*. Les probiotiques

ont des effets cliniques et les mécanismes d'action sont bien décrits (**Serikbaeva et al., 2004**). Chez l'homme, les probiotiques ont principalement été utilisés jusqu'ici pour le traitement et la prévention des diarrhées. Au cours des dernières années, on a pu montrer que les probiotiques pouvaient également jouer un rôle dans le traitement des diarrhées chroniques inflammatoires ainsi que dans la prévention des infections respiratoires et des maladies allergiques. Nous ne disposons cependant à ce propos que de peu d'études. Les effets bénéfiques des probiotiques sur le taux de cholestérol (donc sur un des principaux facteurs de risque pour la maladie coronarienne), sur l'absorption du calcium (prophylaxie de l'ostéoporose) ainsi qu'un éventuel effet anti-carcinogène n'ont pas été démontrés jusqu'ici par des travaux cliniques contrôlés; ils demeurent donc jusqu'à nouvel avis dans le domaine de l'hypothétique. Il en est de même de l'effet immunostimulant souvent invoqué, qui reste mal défini et dont on n'a jusqu'ici pas pu démontrer la relevance clinique (**Braegger, 2002**)

## **5. Les bactéries lactiques**

### **5.1. Définition**

Les bactéries lactiques ou bactéries de l'acide lactique (**Djidel, 2007**) sont des cellules procaryotes organotrophes ubiquitaires, formant un groupe hétérogène constitué de Cocci et de Bacilli (**Badis et al., 2005**). Ce sont des bactéries à Gram positif dont la teneur en guanine et cytosine (G+C) est inférieure à 50% (**Ababsa, 2012**). Elles se retrouvent dans différents types d'habitat (**Matamoros, 2008**). Ce dernier est extrêmement varié : lait, végétaux, peaux des animaux, eau de mer, eau douce, poisson, viande excréments et font partie de la flore intestinale et vaginale humaine ou animale (**Hadef, 2012**).

### **5.2. Caractéristiques des bactéries lactiques**

Elles décrites pour la première fois par Orla-Jensen au début du XXe siècle, elles constituent un groupe hétérogène, qui n'est pas clairement défini du point de vue taxonomique (**Fedrigi, 2005**).

- Bactéries à Gram positif, immobiles, asporulées, catalase et oxydase négative, nitrate réductase négative, anaérobies ou aérotolescentes (**Laurent et al., 1998**).
- Ils ont une forme de Cocci ou des bâtonnets (**Bourgeois et Larpent, 1996**). Elles sont des besoins complexes en facteurs de croissance : vitamine B, acides aminés, peptides, bases puriques et pyrimidiques.

-Certaines bactéries lactiques ont été isolées à partir de nombreux milieux naturels végétaux et animaux tels que le lait cru, l'environnement, les cavités buccales et vaginales...(Luquet, 1986).

- Elles produisent des quantités abondantes d'acide lactique par fermentation de substances carbonées.

- Elles se caractérisent par un métabolisme exclusivement fermentaire qui les conduit à produire à partir du glucose de quantités importantes d'acide lactique, accompagné dans certains cas d'autres métabolites (éthanol, CO<sub>2</sub> autres acides organiques)

-Elles ont une faible capacité de biosynthèse (Luquet, 1986).

- Elles produisent des quantités abondantes d'acide lactique par fermentation de substance carbonée.

-Elles rassemblent en effet un certain nombre de genres qui se caractérisent par la production, liée à un métabolisme exclusivement fermentaire. (Fedrighi, 2005).

-Du point de vue phylogénétique, les bactéries lactiques appartiennent à la branche clostridiale des bactéries Gram positives. (Federighi, 2005).

### **5.3.Habitat et origine des bactéries lactiques**

Les bactéries lactiques sont très fréquentes dans la nature. Elles se trouvent généralement associées à des aliments riches en sucres simples. Elles peuvent être isolées du lait, du fromage, de la viande, des végétaux. Elles se développent avec la levure dans le vin, la bière et le pain. Quelques espèces colonisent le tube digestif de l'homme et des animaux (Leveau et Bouix, 1993 ; Hassan et Frank, 2001).

### **5.4.Taxonomie et classification des bactéries lactiques**

La classification des bactéries lactiques peut se faire selon des critères phylogénétiques par l'utilisation des méthodes moléculaires. Cependant, la caractérisation phénotypique et biochimique classique demeure efficace dans l'identification préliminaire des microorganismes. Certaines caractéristiques phénotypiques sont utilisées pour identifier les espèces à l'intérieur des genres comme la capacité à : fermenter les hydrates de carbone, tolérer différentes concentrations en bile, produire des polysaccharides extracellulaires, exiger des facteurs de croissance, produire de l'acétoïne et synthétiser certaines enzymes. La composition en G+C de l'ADN, la composition en acides gras, la mobilité électrophorétique de la lactate déshydrogénase sont également d'autres critères qui peuvent être étudiés pour l'identification des espèces lactiques (Vandamme, 1996 ; Stiles et Holzopfel, 1997 ; Ho et al., 2007). Selon la dernière édition de (Bergey's manual of systematic bacteriology, 2009),



les bactéries lactiques sont classées dans le Phylum des Firmicutes, la Classe des Bacilli et L'Ordre des Lactobacillales renfermant trentecinq genres répartis sur six familles. (*Lactobacillaceae*, *Aerococcaceae*, *Carnobacteriaceae*, *Enterococcaceae*, *Leuconostocaceae*, *Streptococcaceae*) (Ludwig et al., 2009).

**Tableau 05 :** les différents genres de bactéries lactiques (Ghouzzlane, 2012)

Genres	Cellules	Cellules	Fermentation	ADN
	Formes	Arrangements		
<i>Streptococcus</i>	Coques	Chaines	Homolactiques	34-46
<i>Leuconostoc</i>	Coques	Chaines	Hétérolactiques	36-43
<i>Pediococcus</i>	Coques	Tétrade	Homolactiques	34-42
<i>Lactobacillus</i>	Bacilles	chaines	Homolactiques et Hétérolactiques	32-53

## 6. Propriété probiotique :

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

### 6.1.1. Les bactéries probiotiques

Plusieurs espèces de bactéries ou levures sont considérées comme étant probiotiques. Malgré cette grande diversité, les bifidobactéries et les lactobacilles sont les deux principales souches de bactéries probiotiques utilisées dans les produits alimentaires (Heyman et al., 2006). Ils font partie du groupe hétérogène des bactéries lactiques dont la production d'acide lactique est le produit final principal de leur métabolisme (Prescott et al., 2003), rarement des non-lactiques comme *Enterococcus faecalis* ou encore certaines levures comme *Saccharomyces boulardii*. Les bactéries probiotiques sont présentes naturellement dans le tube digestif, peuvent interagir avec la flore intestinale, les cellules épithéliales intestinales et dans une moindre mesure les cellules immunitaires (Heyman et al., 2006).

### 6.1.2. Rôle d'un probiotique

Un probiotique, un micro-organisme ne doit présenter ni toxicité ni pathogénie. Les probiotiques doivent être capables de moduler la réponse immunitaire et/ ou produire des substances antimicrobiennes. (Heyman et al., 2006). Les bactéries probiotiques n'ont pas la

capacité de coloniser de façon permanente, le tractus gastro-intestinal. Par contre, la consommation sur une base régulière permet de modifier la microflore intestinale et d'atteindre un équilibre entre les mauvaises bactéries et les microorganismes bénéfiques (Sherman *et al.*, 2009). Ils doivent être aussi capables de survivre et de proliférer dans les milieux naturels occupés par des bactéries pathogènes. Plusieurs études ont attribué de nombreuses propriétés aux probiotiques dans lesquels ils participent à l'activation de l'immunité et à la réduction d'allergies chez les sujets à risque (Gourbeyre *et al.*, 2008). 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 (Grangette *et al.*, 2002). Certaines études ont cependant montré que la consommation de probiotiques non viables peut aussi engendrer des effets bénéfiques sur le système immunitaire (Salminen *et al.*, 1999). 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, première défense contre un agent exogène (Sherman *et al.*, 2009). Ils agissent également sur l'immunité en colonisant le tractus intestinal, réalisant ainsi « un effet barrière ». Les bénéfices potentiels des probiotiques vont de la suppression de l'activité de certains pathogènes à l'amélioration de l'utilisation du lactose (De vrese *et al.*, 2001), de la réduction du cholestérol sanguin et du niveau de substances carcinogènes. et de l'inactivation de composés toxiques à la stimulation du système (Bottazzi, 1994 ; De vrese *et al.*, 2001).

## **6.2. Intérêts technologiques des bactéries lactiques:**

### **6.2.1. Activité acidifiante (production d'acide lactique) :**

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

### **6.2.2. Activité protéolytique :**

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

### **6.2.3.Pouvoir aromatisant et pouvoir gazeux :**

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

### **6.2.4.Activité bactériostatique (production de bactériocines) :**

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

## **7.Les substances antimicrobiennes :**

Les composés antimicrobiens des BL peuvent empêcher la croissance des bactéries pathogènes; contaminants possibles des produits fermentés (**Smith et Palumbo, 1983; Andersson, 1986; Adams et Hall, 1988; Berry et al., 1991; Cintas et al., 1998; Gill et Halley, 2003 ;Guessas et al., 2006**). Les mécanismes antimicrobiens particuliers des bactéries lactiques exploitées dans la bio préservation des aliments (**De vuyst et Vandamme, 1994 ; Stiles, 1996; Jacobsen et al., 2003 ; Vermeiren et al., 2004**).

### **7.1.Acides organiques**

La production d'acides organiques cause une acidification du milieu qui peut limiter la croissance de certaines bactéries indésirable de ce fait une longue expositions dans un milieu acide peuvent entraîner la mort de plusieurs bactéries (**Champagne et al., 1992 ; kostinek et al., 2005**). La forme moléculaire non dissociée des acides est le facteur le plus toxique pour les bactéries (**Hermier et al., 1997**). En abaissant le pH du milieu, l'acide lactique permet aussi d'augmenter l'effet toxique de l'acide acétique (produit par voie hétérofermentaire) envers *L. monocytogenes* (**Holzappel et al., 1995**). L'acide lactique et l'acide acétique pénètrent passivement la membrane cytoplasmique, des fortes concentrations d'acides, le milieu intracellulaire peut s'acidifier et les fonctions cellulaires sont inhibées et le potentiel membranaire est annulé (**Ammor et al., 2007**).

### 7.1.1.Rôle d'acide organique :

En général, c'est la forme moléculaire non dissociée des acides qui est le facteur le plus toxique pour les bactéries, d'où l'acide acétique est plus toxique que l'acide lactique (**Hermier et al., 1997**). Les acides organiques à l'état indissociée, l'acide lactique et l'acide acétique traversent passivement la membrane cytoplasmique et, pour de fortes concentrations d'acides, le milieu intracellulaire peut s'acidifier à un point tel, que les fonctions cellulaires sont inhibées et le potentiel membranaire est annulé (**Ammor et al., 2007 ; Bouadjaib, 2013**)

### 7.2.Peroxyde d'hydrogène

Dans les conditions d'aérobiose, la plupart des bactéries lactiques, les molécules de NAD réagissent avec l'oxygène pour former du peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) (**Desmazeaud, 1996**). Les bactéries lactiques sont capables de convertir l'oxygène moléculaire ( $O_2$ ) en super oxyde excité ( $O_2^-$ ), en peroxyde ( $H_2O_2$ ) ou en eau ( $H_2O$ ). Ces réactions sont catalysées par des enzymes spécifiques en présence d'un substrat à oxyder. Ces enzymes ont été trouvées chez des souches de *Streptococcus Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc* et *Pediococcus* (**Condon, 1987**). Ce composé bloque le fonctionnement de certaines enzymes-clés intervenant dans la glycolyse résultant l'inhibition de la croissance des microorganismes (**Desmazeaud, 1996**) ainsi la peroxydation des lipides de membrane; de ce fait provoque l'accroissement de la perméabilité membranaire (**Kong et Davison, 1980**).

### 7.3.Acides gras

Les acides gras insaturés possèdent une activité contre les bactéries à Gram+, son activité antifongique dépend de la composition, de la concentration, et du pH du milieu (**Gould, 1991**). Quelques *lactobacilles* et *lactocoques* possédant des activités lipolytiques peuvent produire des quantités significatives d'acides gras, dans la fermentation du lait fermenté (**Rao et al., 1984**)

### 7.4.Dioxyde de carbone ( $CO_2$ )

Il Crée un milieu anaérobique, qui empêche les décarboxylations enzymatiques, l'accumulation de  $CO_2$  peut causer un dysfonctionnement de la perméabilité, il est principalement produit par les BL hétéro fermentaires (**Eklund, 1984**).

### 7.5.Acétaldéhyde

L'acétaldéhyde empêche la croissance de *Staphylococcus aureus*, de *Salmonella typhimurium* et d'*E. Coli* à une concentration de 10 à 100 ppm dans les produits laitiers (**Piard et Desmazeaud, 1991**)

La contribution de l'acétaldéhyde à la bio préservation est mineure car le seuil de saveur est beaucoup moindre aux niveaux qui sont nécessaires à l'inhibition des microorganismes (**Kulshrestha et Marth, 1974**).

#### **7.6. Di acétyle (2,3- butanédione)**

Beaucoup de bactéries lactiques comprenant des souches de *Leuconostoc*, de *Lactococcus*, de *Pediococcus* et de *Lactobacillus* peuvent produire le diacétyle (**Cogan, 1996**). En 1927, Lemoigne décrit l'effet antimicrobien de Diacétyle contre les *Bacillus sp.* Son utilisation pratique comme conservateur est limitée.

#### **7.7. Reutéline**

La reutéline possède un large spectre d'activité antimicrobienne contre certaines bactéries à Gram+ et à Gram-. Les microorganismes de détérioration sensibles à la reutéline sont *Salmonella*, *Shigella*, *Clostridium*, *Staphylococcus*, *Listeria*, *Candida*, et *Trypanosoma*, il est produite par *Lactobacillus reuteri* (**Axelsson et al., 1989**)

#### **7.8. Reutéricycline**

Certaines souches de *Lactobacillus reuteri* secrètent d'autres substances antimicrobiennes, reutericycline. On a remarqué que la concentration d'inhibition minimale de cette molécule est de 0.05-1 mg/L pour les bactéries à gram positives. Tandis qu'on n'a pas trouvé aucune sensibilité des bactéries à gram négative et les champignons à la reutéricycline (**Ouwehand et al., 1996**).

#### **7.9. Pyrrolidone-5-carboxylic**

Acide Ou PCA cette molécule est surtout produite par *Lactobacillus casei* sp. *casei*, *L. casei* sp. *Pseudopantarum* et *Streptococcus bovis*. elle est présente aussi dans les fruits, les légumes. Elle inhibe les *Bacillus subtilis*, *Enterobacter cloacae*, *Pseudomonas putida* et *Pseudomonas fluorescens*. Elle est stable à la grande température (121°C/20min) mais elle perd son activité inhibitrice quand le pH est de 2,5. PCA est reconnu comme un fort agent antimicrobien comme l'acide lactique. Et son mécanisme d'action est le même que les acides organiques (**Ouwehand et al., 1996**).

#### **7.10. Les bactériocines**

Les bactériocines représentent une large classe de substances antagonistes qui varient considérablement du point de vue de leur poids moléculaire, de leurs propriétés biochimiques, de leur spectre d'action et de leur mode d'action (**Klaenhammer, 1988**). Toutes les bactériocines produites par des bactéries lactiques décrites jusqu'à présent ont une activité

dirigée contre les bactéries Gram+. Aucune bactériocine produite par des bactéries lactiques avec une activité contre des bactéries Gram- n'a été décrite, la membrane externe des bactéries Gram- ne permettant pas aux bactériocines d'atteindre la membrane interne, siège de leur activité.

**Tableau 06:**Classification des bactériocines de bactéries lactiques (**Bouadjaib Sarah, 2013**).

Classe	Sous-catégorie
Classe I : l'antibiotique	Type A : molécules linéaires Type B : molécules globulaires
Classe II : bactériocines non-modifiées thermostables	Classe : anti-listeria Classe : bactériocines à deux composants Classe : autres bactériocines
Classe III : bactériocines de grande taille, sensibles à la chaleur.	

## 8. Différences entre les bactériocines et les antibiotiques

Contrairement aux antibiotiques, les bactériocines ont un spectre d'activité relativement étroit (**Siboukeur, 2011**). Elles ne sont pas toxiques et sont rapidement digérées par les protéases dans le tractus digestif de l'homme (**Riley et Wertz, 2002 ; Parada et al., 2007**). Elles sont synthétisées ribosomiquement, contrairement aux antibiotiques, qui sont synthétisés par un système enzymatique unique (**Siboukeur, 2011**). Chaque bactériocine possède son propre déterminant immunitaire dont le gène est lié au gène de la bactériocine, alors que les déterminants génétiques de résistance aux antibiotiques ne sont pas liés, et sont exprimés indépendamment des gènes codant pour la synthèse d'antibiotiques (**Nes et al., 2002**). Les bactériocines sont généralement produites au cours de la phase de croissance et cessent de se produire à la fin de la phase exponentielle (**Wardani et al., 2006**). La production est souvent régulée par un système, bi-composant de régulation alors que les antibiotiques sont des métabolites secondaires produits au cours la phase stationnaire (**in Siboukeur, 2011**).

### Objectifs de la recherche :

Notre étude se base sur deux objectifs principaux :

- \* La sélection des bactéries lactiques productrices des substances antimicrobiennes
- \* La recherche de la nature des ces substances inhibitrices.

### 1- Matériel :

Pour la réalisation des différentes parties expérimentales, nous nous sommes servis du matériel suivant :

### 1-1-Milieus de culture :

Les milieux de culture de base ont été utilisés sous différentes formes (bouillon, gélose molle ou gélose solide) en fonction des exigences des tests réalisés:

-MRS ( De Man, Rogosa et Sharpe )

-LB (lysogenic broth )

-Gélose au lait

### 1-2-Antibiotiques :

**Tableau 07** : Antibiotiques utilisés et leur mode d'action

	Famille	Mode d'action
Oxacilline (Ox)	Béta-lactamine	Inhibition des activités de trans-peptidase impliquées dans la synthèse de la paroi bactérienne (Zeba, 2005)
Ticarcilline(TC)		
Amoxicilline(AML)		
Ampicilline ( AMP )		
Céfazoline		
Céfixime		
Céfalexine		
Pénicilline		
Ceftazidime		
Aztréonam		
Gentamicine (CN)		
Amikacin		
Tobramycin		
Céfotaxime	Céphalosporines	Bactéricide : Détruit la paroi bactérienne en inhibant sa synthèse (Zeba, 2005).
Fosfomycine (fos)	Acide phosphonique	Bactéricide : elle inhibe la pyruvyl transférase impliquée dans l'une des premières réactions de la synthèse du peptidoglycane (Choucair J)

Tétracycline (TE)	Tétracycline	Bactériostatique : Bloquent l'élongation de la chain peptidique en se fixant sur la petit Sous-unité ( <b>Flandrois et al., 1997</b> ).
Amoxicilline	Pénicilline inhibiteur de beta lactamase	Interruption du processus de transpeptidation qui lient les peptidoglycanes de la paroi bactéries. la beta lactamines se lient et inactivent des cibles ( <b>Zeba, 2005</b> ).
Nitroxolline (NTX )	Quinoleine	Bactéricide : Détruit la bactérie en inhibant la synthèse du DNA bactérien en détruisant l'activité de la DNAGyrase bactérienne ( <b>chopra, 1998</b> ).
Péfloxacine		
Ciprofloxacine		
Levofloxacine		
Linézolide	Oxazolidinone	→ Bactériostatique : inhibiteur de la synthèse peptidique bactérienne ( <b>J. Pacanowski, 2011</b> )
Erythromycine	Macrolides	Bactériostatique : Arrête la prolifération bactérienne en se liant au ribosome bactérien et en inhibant la synthèse des protéines ( <b>Nilius et Ma, 2002</b> ).
Colistine	Polymyxines	Destruction de la membrane bacterienne action antibactérienne ( <b>Velkov, 2013</b> ).
Réfampicine	Rifamycines	blocage de la production d'ARN messenger des bactéries ( <b>G Acocella, 1983</b> ).
Lincomycine	Lincosamides (Macrolide )	Empêchent la réplication des bactéries en interférant avec la synthèse des protéines( <b>Nilius et Ma, 2002</b> ).
Pristinamycine	synergistines (Macrolide )	Inhibiteurs de la synthèse des



		protéines Cible: sous-unité 50 S du ribosome ( <b>Nilius et Ma, 2002</b> ).
Vancomycine	Glycopeptides (Macrolide)	→ Bactéricide : Détruit la paroi bactérienne en inhibant sa synthèse (surtout) → Inhibe la synthèse de la membrane cytoplasmique bactérienne. → Inhibe la synthèse du RNA bactérien ( <b>Laurent Christin, 2009</b> ).
Céftraxone	Phénicolés	bactéricide de la ceftriaxone résulte de l'inhibition de la synthèse de la paroi cellulaire ( <b>Cadoz, 1982</b> )
Chloramphenicol	Phénicolés	inhibition de la synthèse des protéines bactériennes ( <b>Flandrois et al., 1997</b> ).

### 1-3-Le matériel biologique utilisé :

On a réalisé des interactions entre les souches lactiques isolées de lait de chamelle à partir de six wilayas d'Algérie (Mechria et Naâma) et neuf bactéries pathogènes .

Les microorganismes utilisés dans notre étude sont mentionnés dans le tableau suivant :

**Tableau 08** : Souches et origines des bactéries lactiques utilisées

Code	Souche	Sources d'isolement
NSC5C	<i>Lactobacillus plantarum</i>	Lait de chamele de Naama
Mech 6	<i>Lactobacillus SP</i>	Lait de chamele de Mechria
LBS 2	<i>Lactobacillus SP</i>	Lait de chamelle de Saida
Ghar 2	<i>Lactobacillus SP</i>	Lait de chamele de Ghardaya
NSC10	<i>Lactobacillus plantarum</i>	Lait de chamele de Naama
SAB 3	<i>Lactobacillus SP</i>	Lait de chamele de Sidi Ahmed
BH14	<i>Lactobacillus plantarum</i>	Lait de chamele d'Ilizi

**Tableau 09 :** Les souches pathogènes et leur origine

Souches	Origine
<i>Salmonella thyphimurium</i> (sk)	Laboratoire de biologie des microorganismes et de biotechnologie (Oran, Es-Sénia)
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (KP12)	
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 (LB1)	
<i>Staphylococcus aureus</i> (H2) ATCC 433005	
<i>Enterobacter aerogenes</i> (EL4 et EL6)	Isolées de lait cru de la collection du LBMB Oran, Es-Senia (Amara, 2012)
<i>Klebsiella pneumoniae ssp pneumoniae</i> (ES4)	Isolée des selles de bébés de la collection du LBMB Oran, Es-Senia (Amara, 2012)
<i>Listeria monocytogenese</i> (s1)	
<i>Staphylococcus aureus</i> métilcilline résistante (MRSA)	Laboratoire de biologie des microorganismes et de biotechnologie (Oran, Es-Sénia)
<i>Saccaromyces cerevisiae</i> (Sacc)	Laboratoire de biologie des microorganismes et de biotechnologie (Oran, Es-Sénia)

## 2-Vérification de la pureté des bactéries lactiques :

La purification des bactéries lactiques est réalisée sur le milieu MRS ( de Man, Rogosa, Sharp), le milieu MRS a été ensemencé par les différentes souches lactiques par la méthode des stries d'apuissement, Les cultures sont incubées pendant 24 heures à 30°C dans des boîtes de Pétri afin de s'assurer de la pureté des cultures. Les souches subissent des repiquages

succesifs jusqu'à l'obtention de colonies d'aspect homogène macroscopiquement, et des cellules identiques microscopiquement après la réalisation d'une coloration de Gram (**Heleni et al., 2006**).

### **3-Conservation des souches lactiques :**

La conservation des souches pures a été réalisée sur la gélose MRS inclinée à 4°C, les géloses sont renouvelées par repiquage tous les 15 jours (**Saidi et al., 2002**).

### **4-Conservation des souches pathogènes :**

La conservation des souches pathogènes pures a été réalisée par ensemencement sur la gélose LB inclinée après une incubation de 24h à 37°C les tubes sont maintenues à 4°C.

### **5-Préparation des pré-cultures :**

Avant la réalisation de chaque test nous avons procédé à la préparation de cultures bactériennes jeunes de 18h environ dans du bouillon MRS ou LB (MRS pour les lactobacilles et LB pour les souches pathogènes) afin que l'ensemble des souches soient en phase exponentielle et optimiser au maximum les résultats des tests exécutés (**DeMan et al., 1960**).

### **6-Test d'antibiogramme :**

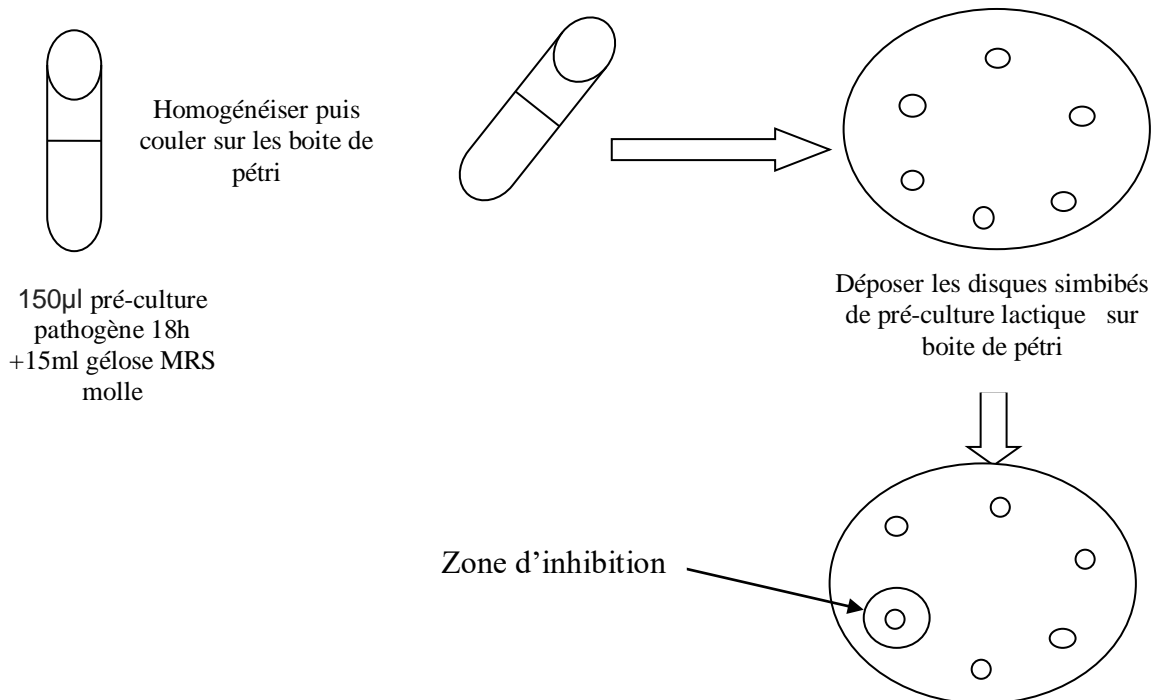
Nous avons étudié la sensibilité des souches lactiques vis-à-vis d'un panel d'antibiotiques. Pour se faire nous avons coulé les boîtes de Pétri avec 15 ml de gélose MRS semi solide inoculés en masse par 150 µl des cultures jeunes de souches lactiques préalablement réalisées, après la solidification de la gélose nous avons disposé sept disques d'antibiotiques différents à la surface de chaque boîte. La lecture des résultats est réalisée après 24h d'incubation à 37°C.

Les souches sont considérées sensibles (S) si le diamètre de la zone d'inhibition obtenu est supérieur à 15mm si on revérifie il est inférieur à ce seuil elle sera considérée comme résistante (R) (**Karam, 1994**).

### **7-Etude des activités antimicrobiennes des souches lactiques :**

Il s'agit de rechercher l'activité antimicrobienne des souches lactiques en utilisant la méthode des disques imprégnés (**Tadesse et al., 2004**). Nous avons coulé des boîtes de Pétri avec 15 ml de gélose molle LB inoculés en masse par la souche pathogène inductrice à une charge d'1%. Des disques de papier Whatman stériles de 06 mm de diamètre sont imbibés de pré-culture de lactobacille puis disposés à la surface de la gélose inoculée. Les boîtes de pétri

sont mises à une température de + 4°C /4h pour permettre une bonne diffusion de la substance antimicrobienne (Tagg et al., 1976). Les boîtes sont ensuite incubées à 37 °C pendant 24 h. Les résultats sont exprimés par la présence de zones d'inhibition formées autour des disques.



**Figure 01:** Etude de l'activité inhibitrice.

## 8-Recherche des bactériocines :

Nous avons sélectionné sept souches ayant donné un effet inhibiteur vis-à-vis des bactéries suivantes : *Listeria monocytogenes*, *MRSA*, *Salmonella thyphimurium*. Cette étude est réalisée par la méthode indirecte des puits (Barefoot et al., 1983). La méthode consiste à mettre le surnageant de la souche lactique en contact avec la souche indicatrice pathogène. On a coulé trois boîtes de Pétri par 20 ml de gélose LB semi-solide inoculés en masse par 200 µl des souches pathogènes (*Listeria monocytogenes*, *MRSA*, *Salmonella thyphimurium*), après solidification du milieu on a creusé stérilement à l'aide de pipette Pasteur stériles sept puits de 5mm de diamètre, les bactéries lactiques sont cultivées dans du milieu MRS liquide et incubées pendant 18h, après incubation nous avons centrifugé 1ml de chaque pré-culture à 4000rpm/30min. Les puits sont remplis par la suite, par 200 µl des différents surnageants de culture, nous avons entreposé les boîtes de Pétri pendant « overnight » à 4 °C pour permettre la diffusion des bactériocines dans la gélose (Doumadji et al., 2010), le lendemain les boîtes sont incubées à 37°C pendant 24h.

## 9-Teste protéolytique :

L'hydrolyse de la caséine est étudiée sur gélose au lait. Sept puits de 5mm de diamètre sont creusés stérilement à l'aide de pipette de Pasteur dans la gélose au lait (*milk agar*), ensuite les puits sont remplis par les surnageants des bactéries lactiques, après diffusion du surnageant à 4°C toute une nuit les boîtes sont incubées à 37 °C pendant 24h. Les diamètres des zones de protéolyse sont mesurés à ce moment là.

### **10-Antagonisme en milieu liquide :**

Pour réaliser le test d'antagonisme, il faut avoir des pré cultures des souches lactiques et la pré culture de la souche indicatrice (pathogène). Nous avons ensemencé chacune des deux souches lactiques isolées (BH14 et NSC5C) dans des tubes à essais contenant 10 ml du milieu LB liquide enrichi d'extrait de levure, les deux autres souches pathogènes (*Listeria monocytogenese*, *Salmonella thyphimurium*) ,sont ensemencées dans des tubes contenant 10ml milieu LB liquide (non enrichi) et incubé à 37°C pendant 18 h. dans des tubes stériles nous avons mis en contact 2 ml de bactéries lactique avec 2 ml de bactérie pathogène en changeant les combinaisons de souches, puis on a effectué une série de dilutions décimales successives allant de  $10^{-1}$  à  $10^{-6}$ . A partir des dernières dilutions préparées ( $10^{-5}$  et  $10^{-6}$ ) nous avons ensemencé 0,1ml de ces dilutions sur chacun des milieux MRS et LB puis (MRS pour le dénombrement des lactobacilles et LB pour le dénombrement des pathogènes). Les colonies sont dénombrées près une incubation à 37°C pendant 24h.

### **11-Séparation des protéines par SDS-PAGE**

Electrophorèse en gel de polyacrylamide contenant du sodium dodécylsulfate est une technique qui consiste à faire migrer des protéines dans le gel de polyacrylamide, sous l'influence d'un champ électrique, permettant ainsi leur séparation, le gel de séparation est préparé en premier puis coulé doucement entre les deux plaques jusqu'à un niveau délimité sur la plaque, une fine couche d'isopropanol à la surface du gel de séparation est versée afin de tasser le gel, une fois que le gel est polymérisé le gel de concentration est coulé, le peigne est posé bien centré entre les plaques et sans faire de bulles d'air. après polymérisation du gel de concentration au bout de 30 min environ. le peigne est retiré soigneusement et la cuve de migration est placée sur support. les cuves sont remplies avec le tampon de migration (Laemmli, 1970 ; Electrophorese, 2012).

#### **11-1--Préparation des échantillons :**

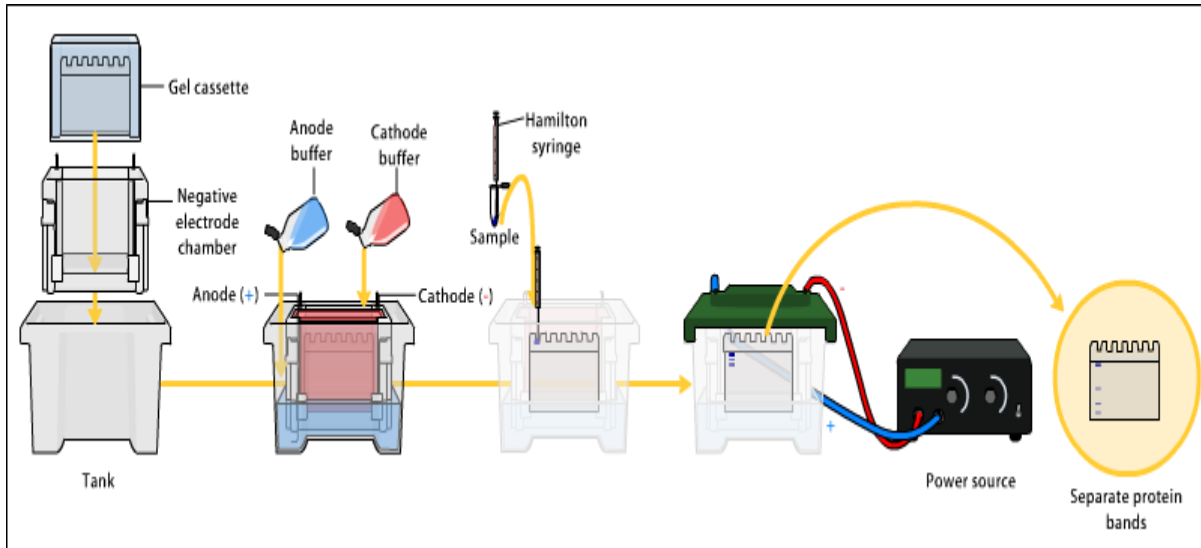
Afin de réaliser la lyse des cellules bactériennes et libérer les protéines intracellulaires, une culture jeune de 18h a été préparée, le culot bactérien a été récupéré par centrifugation à 6000rpm/30min, 200 µl d'eau distillé sont rajoutés au culot le mélange est homogénéisé, avant

de subir 40 cycles de congélation/décongélation (congélation pendant à  $-20/10$  min, décongélation à  $50^{\circ}\text{C}/2$  min),  $75\ \mu\text{l}$  de tampon de charge sont rajoutés à chaque suspension le tout est chauffé à  $95^{\circ}\text{C}$  pendant 10 min afin de favoriser la lyse bactérienne et la dénaturation des protéines. Les échantillons sont centrifugés à vitesse maximale pendant 30 min, ensuite déposés dans les puits à l'aide de seringue Hamilton ou de micropipette. La migration des protéines est réalisée à 90 volt et 40 milliampère jusqu'à ce que le front de migration atteigne la limite des plaques (Laemmli, 1970 ; Electrophorese, 2012).

### 11-2-Coloration et décoloration du gel

Le gel est mis dans une solution de coloration à 0.5% (m/v) de bleu de Coomassie (Voir Annex 3).

Après une heure de coloration sous agitation, la décoloration est réalisée à l'aide de plusieurs bains dans une solution décoloration (Voir Annex 3) (Laemmli, 1970 ; Electrophorese, 2012). (Laemmli, 1970).



**Figure 02** : Représentation du principe de la SDS-PAGE.

## 1- La purification des bactéries lactiques :

### 1-1 Sur milieu solide :

Les colonies obtenus la gélose MRS ont montré un aspect homogène de formes régulières (Ronde, petit ) et de même couleur blanchâtre (**Kihal, 1996 ; Carr et al., 2002**).

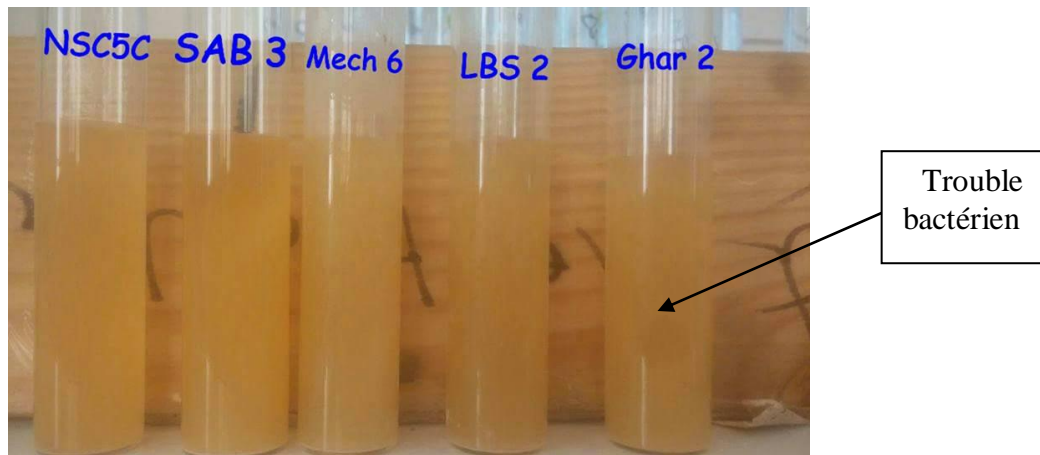


**Figure 03:** Aspect macroscopique sur milieu MRS des souches après 24h d'incubation à 30°C.

## 2-Préparation des pré cultures :

### 2-1-Sur milieu MRS liquide :

La croissance en milieu MRS liquide est caractérisée par l'apparition du trouble au fond du tube. Ce trouble est concentré au fond à la recherche des condition anaérobique.(**kihal, 1996 ;carr et al., 2002**).



**Figure 04:** Cultures pures des bactéries lactiques sur milieu MRS liquide après incubation à 37°C pendant 24 h.

### 2-2-Sur milieu LB liquide :

La croissance des bactéries apparait sous forme d'un trouble homogène.



**Figure 05:** Pré-culture de 24h des souches pathogenes sur bouillon LB.

### 3-Teste d 'antibiogramme :

On observe l'apparition de zones d'inhibition autour du disque d'antibiotique, les diametres obtenus sont variables (voire Annex 2) d'après les résultats mentionnés dans le tableau 10, les souches étudiées présentent une sensibilité importante vis-à-vis des antibiotiques Pristinamycine ,Nitroxoline,Ampicilline, Tticarcilline , Pénicilline, et on note une forte résistance aux différentes ATB testés Céftriaxone, Colistin , Streptomycine, Gentamycine, Fosfomycine, Céfotaxine. Les résultats de cet examen sont regroupés dans le tableau ci-dessous. Le test de sensibilité du *Lactobasillus. SP* au antibiotique révèle que SAB 3



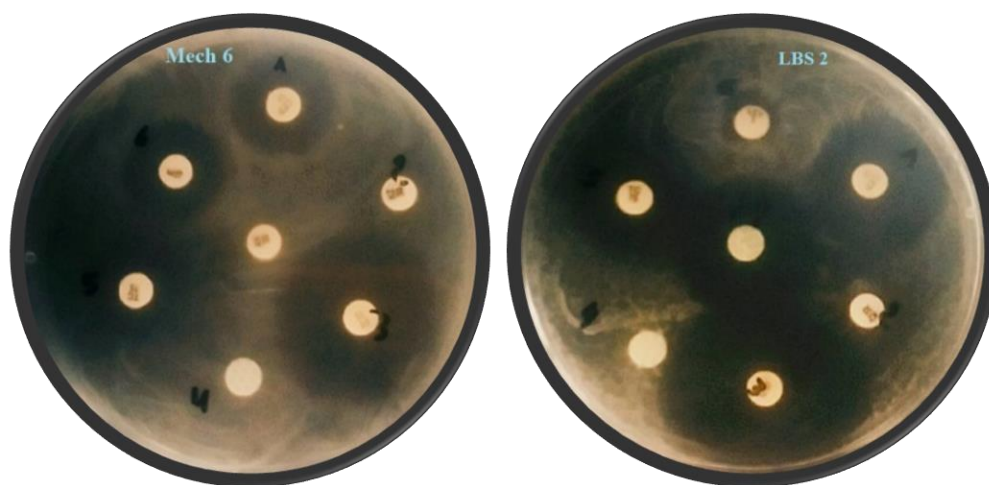
possèdent un sensibilité plus important. Par contre *Lactobacillus.Plantarum* NSC5C present un résistante plus remarquable. (Sifour M et al., 2012 ) montre que les *lactobacillus plantarum* est sensible à erythromycin, Amoxicilie, Pénicilline. Cependant les souche Lb présentent une résistance avec l'oxaciline et streptomycine.

**Tableau 10** : Résultat d'antibiogramme .

ATB	NSC5C	SAB 3	Ghar 2	NSC10	LBS 2	Bh14	Mech 6
Oxacilline	R	R	R	R	R	R	R
Ticarcilline	S	S	S	R	S	S	S
Amoxiline	R	S	S	R	R	S	R
Ampicilline	R	S	S	R	S	R	S
Céphazoline	R	R	R	R	S	R	R
Céfixime	R	R	R	R	S	R	S
Céphalexine	R	S	R	S	R	R	R
Pénicilline	R	S	S	R	S	R	S
Céfazoline	R	R	R	R	R	R	R
Aztréonam	R	R	R	R	S	R	R
Gentamicine	R	R	R	R	R	R	R
Amikacin	R	R	R	R	R	R	R
Tobramycin	R	R	R	S	R	R	R
Céfotaxine	R	R	R	R	R	R	R
Fosfomycine	R	R	R	R	R	S	R
Tétracycline	R	S	R	R	R	S	R
Amoxicilline	R	S	S	R	R	S	R
Nitroxolline	S	R	R	S	S	R	S
Péfloxacine	R	R	R	R	R	R	R

Ciprofloxacine	R	R	R	S	R	R	R
Levofloxacine	R	R	R	S	R	R	R
Linézolide	R	S	S	R	R	R	S
Erythromycine	R	S	R	S	R	R	S
Colistine	R	R	R	R	R	R	R
Réfampicine	R	R	R	S	R	S	R
Lincomycine	R	R	R	S	R	R	R
Pristinamycine	S	S	S	S	S	S	S
Vancomycine	R	R	R	R	R	R	R
Céftraxone	R	R	R	R	R	R	R
Chloramphenicol	R	S	S	R	R	R	S

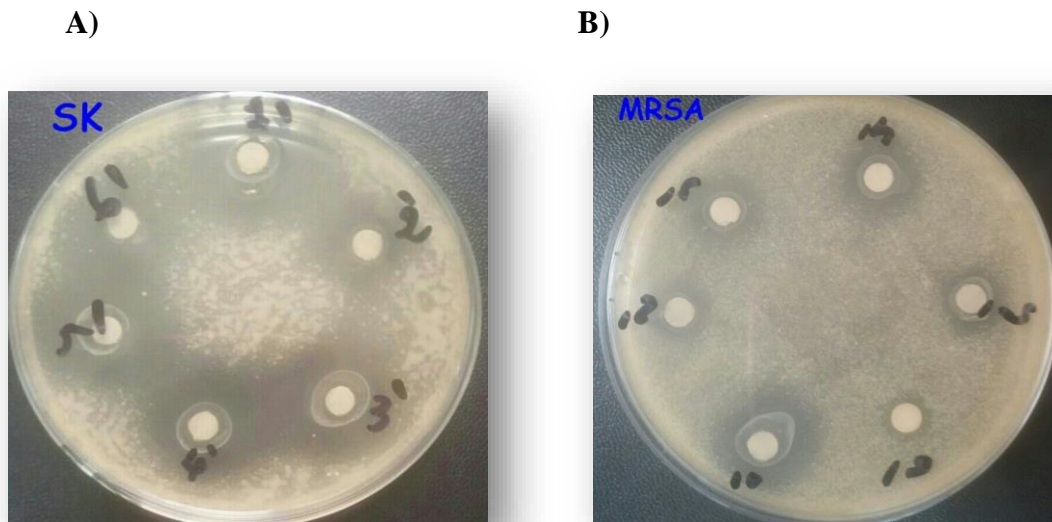
**R** : résistance ; **S** : sensible .



**Figure 06:** Résultats du test d'antibiogramme des bactéries lactiques.

#### **4-Résultats d'étude des activité inhibitrice des souches lactiques :**

Ce test consiste à étudier l'activité inhibitrice des lactobacilles contre les souche pathogene par la méthode des disques imprégnés. Les résultats de ce test sont illustrés dans le **Tableau 11** .



**Figure 07:** Résultats d'activité inhibitrice des souches lactiques vis-à-vis des souches indicatrices.

**A)** Les souches : 1' NSC5C ,2' Mech 6 ,3' LBS 2 ,4' Ghar 2 ,5' NSC10 ,6' SAB 3 contre *Salmonella typhimurium* (SK)

**B)** Les souches : 1' NSC5C ,2' Mech 6 ,3' LBS 2 ,4' Ghar 2 ,5' NSC10 ,6' SAB 3 contre *Staphylococcus aureus méticilline résistante* (MRSA)

**Tableau 11:** Mesure des zones d'inhibition en (mm) des souches lactiques vis-à-vis souches pathogènes .

Souches pathogènes \ Souches lactiques	Sacc	ES4	SK	SAV2	EL6	MRSA	KP12	LB1	S1
<b>NSC5C</b>	19	16	29	11	10	20	11	12	12.5
<b>Mech 6</b>	15	13	20	12	12	11	12	-	13
<b>LBS 2</b>	12	15	26	18	13	15	11	10	11
<b>Ghar 2</b>	13	11	25	16	17	17	10	-	-
<b>NSC10</b>	16	13	27	14	12	14	-	11	14
<b>SAB 3</b>	16	-	22.5	12	13	11	-	-	-

Les différentes souches étudiées NSC5C, Mech 6 , LBS 2, Ghar 2, NSC10 , SAB 3 et BH14 présentent un large spectre d'activité cette activité indique l'inhibition de la croissance des souches indicatrices qui a été traduit par l'apparition des zones d'inhibition de diamètre variant de 10 mm à 30 mm.

Les résultats montrent que les bactéries lactiques produisent des substances inhibitrices empêchant la croissance des souches indicatrices pathogènes.

**Onda et al. (2003)** suggèrent que les bactéries Gram positif sont généralement plus sensibles à l'effet bactéricide des bactéries lactiques.

*Salmonella thyphimurium*(sk) et *MRSA* révèlent des diamètres d'inhibition importantes vis-à-vis des souches lactiques NSC5C, NSC10, SAB 3 (29mm, 27mm, respectivement) ce qui nous a permis de dire que ces deux souches pathogènes sont les plus sensibles.

Par contre *Escherichia coli* (LB 1) est la plus résistante à l'effet inhibiteur des bactéries lactiques. 12mm, 0mm, 10mm, 0mm, 11mm, 0mm vis-à-vis des souches lactiques NSC5C, Mech 6, LBS 2, Ghar 2, NSC10, SAB 3.

Par ailleurs, les bactéries lactiques sont connues par la production d'une multitude de composés antimicrobiens : les acides organiques, les bactériocines, le diacétyle et le peroxyde d'hydrogène (**Titiek et al., 1996 ; Aslam et Qazi, 2010**).

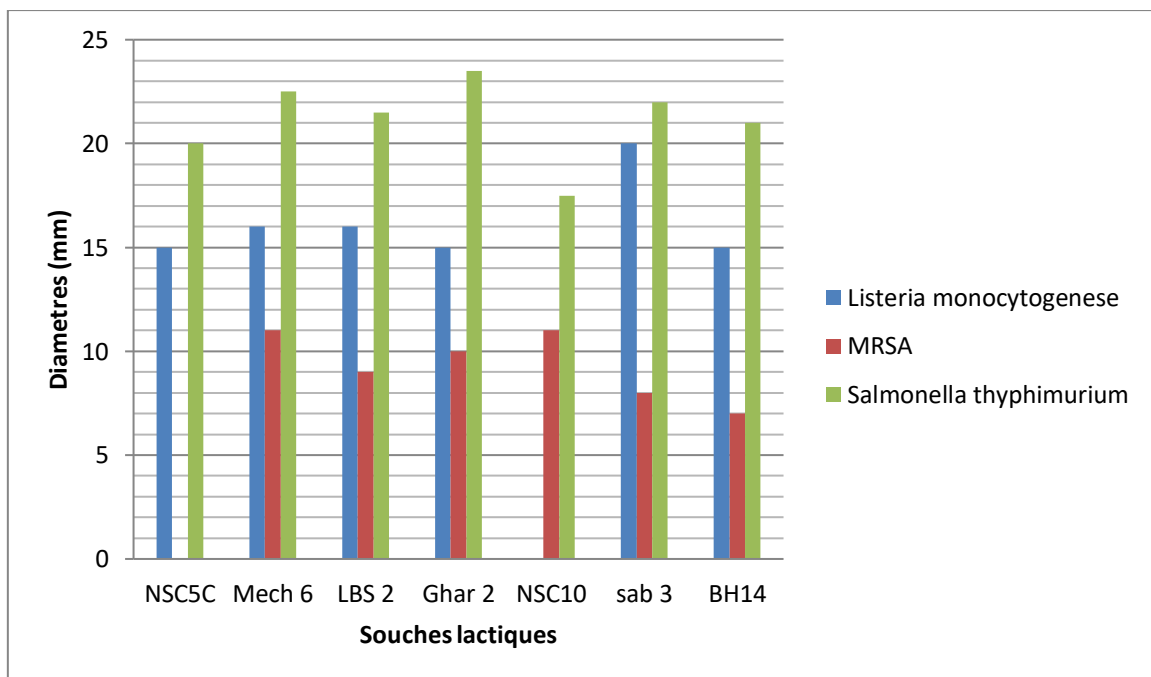
### **5-Résultats du test de recherche des bactériocines (Méthode des puits) :**

Cette méthode permet de mettre en contact le surnagent des souches lactiques productrices de substances antimicrobiennes avec la souche indicatrice (**Tagg et Mcgiven, 1971**).

Cette méthode nous renseigne si l'inhibition est due au contact des lactobacilles avec les pathogènes ou bien si cela est dû à une substance inhibitrice libérée dans le surnagenat telles que les bactériocines, Les sept souches lactiques étudiées ont été testées pour leur capacité à inhiber les bactéries pathogènes qui ont montré la plus grande sensibilité lors du test des disques imprégnés (*Listeria monocytogenese, MRSA et Salmonella thyphimurium*).



**Figure 8:** Résultats des inhibitions obtenues par les lactobacilles sur *Salmonella thyphimurium* (sk).



**Figure 9:** Diamètre des zones d'inhibitions (mm) obtenues par la méthode des puits .

Après 24h on a remarqué que l'activité inhibitrice des souches est due à une ou des substance(s) libérées dans leur surnagent. L'histogramme révèle que la *MRSA* est la plus résistante vis-à-vis des lactobacilles testés, les diamètres d'inhibition obtenus sont les plus faibles en comparaison avec les autres souches indicatrices variant entre 7 et 11 mm sauf pour la souche NSC5C qui n'a pas dutout d'effet sur la souche *MRSA*, contrairement à la souche *Salmonella thyphimurium* qui a été efficacement inhibée par l'ensemble des lactobacilles avec des halos d'inhibition atteignant 17 à 23 mm.

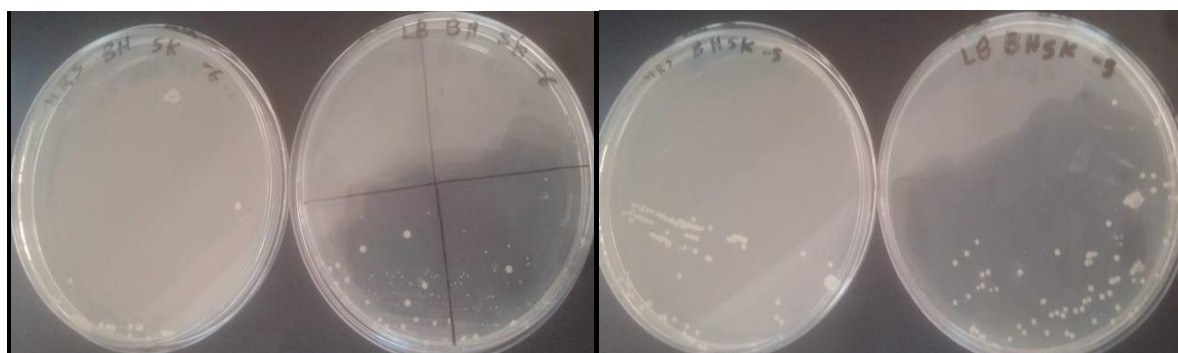
*Listeria monocytogenese* a été fortement inhibée par la majorité des lactobacilles testés sauf *Lactobacillus plantarum* NSC10. Les diamètres d'inhibition obtenus varient entre 15 et 20mm (voire Annex 2).

Les souches étudiées sont dotées d'une activité antibactérienne vis-à-vis les souches pathogènes, l'agent inhibiteur devient détectable par la méthode de diffusion seulement après 4h d'incubation à 4°C (Doumadji et al., 2010) cette activité antibactérienne peut souvent être due à la production de bactériocines, des acide organiques ou à la production des peroxydes d'hydrogène.

Sherwitz et al. (1986) ont montré qu'on peut s'assurer qu'il s'agit bien d'une bactériocine si on observe la disparition des zones d'inhibition après action d'une enzyme protéolytique, donc elles devraient être sensibles à l'action de ces enzymes (Upreti et Hinsdill, 1973 ; Tagg et Wannamaker, 1978 ; Barefoot et klaenhmmmer, 1983 ; Mehta et al., 1984 ).

#### 6-Résultats d'antagonisme en milieu liquide :

Les deux souches lactique sélectionnés (BH14, NSC5C), présentent des activités antagonistes très importantes contre *Listeria monocytogenese* et *Salmonella thyphimurium*.



**Figure 10:** Résultats d'antagonisme BH14 contre *Salmonella thyphimurium* .

Le dénombrement à été réalisé sur gélose MRS et LB par ensemencement à la surface des dilutions décimales de  $10^{-5}$  et  $10^{-6}$  en comptant uniquement des boites contenant entre 30 et 300 colonies, on calcule le nombre de microorganismes par ml à l'aide de la formule suivante :

$$N \text{ (Unité formant colonie/ml de solution mère) } = n * d^*$$

n :nombre de colonie

d :facteur de dilution

v :volume inoculum

**Tableau 12 :** Entagonisme en milieu liquide (NSC5C).

Combinaison	<i>Lactobacillus plantarum</i> NSC5C contre <i>Listeria monocytogenese</i>		<i>Lactobacillus plantarum</i> NSC5C contre <i>Salmonella thyphimurium</i>	
Souches	<i>L. monocytogenese</i>	NSC5C	<i>S. thyphimurium</i>	NSC5C
UFC	3*10 <sup>6</sup>	26*10 <sup>7</sup>	43*10 <sup>6</sup>	29*10 <sup>6</sup>

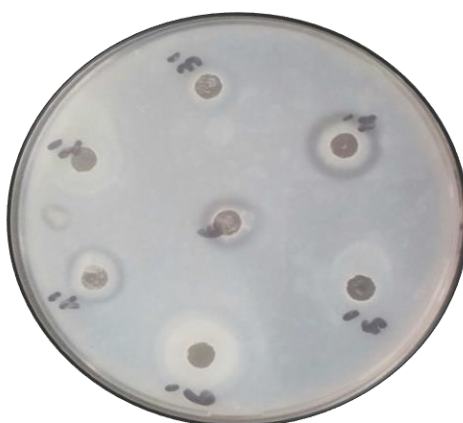
**Tableau 13 :** Antagonisme sur milieu liquide (BH14).

Combinaison	<i>Lactobacillus plantarum</i> (BH14) contre <i>Listeria monocytogenese</i> (s1)		<i>Lactobacillus plantarum</i> (BH14) contre <i>Salmonella thyphimurium</i> (sk)	
Souches	<i>L. monocytogenese</i>	BH14	<i>S. thyphimurium</i>	BH14
Ufc	0	262*10 <sup>7</sup>	105*10 <sup>6</sup>	70*10 <sup>7</sup>

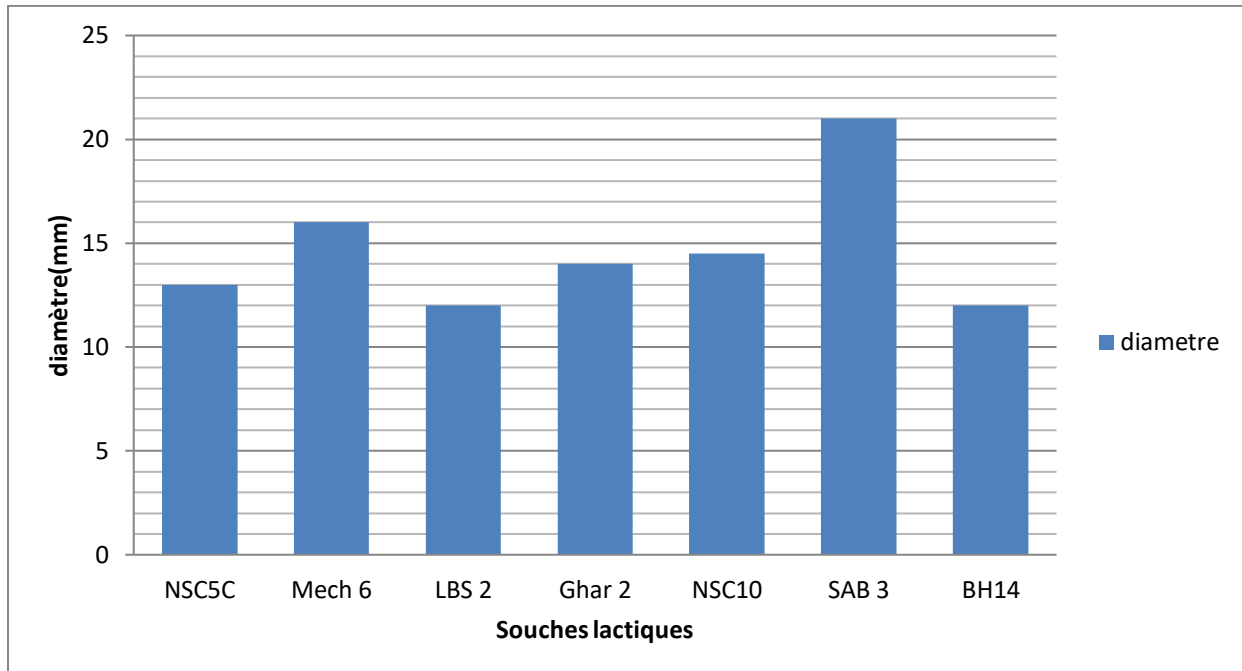
Après 30min de contact entre les souches lactiques et pathogènes, la meilleure inhibition a été observée sur la souche *L.monocytogenese* par *lactobacillus plantarum* BH14 avec une élimination totale de la souche pathogène en un temps réduit. Pour les autres combinaisons de souches l'activité antagoniste a été moins remarquable, si la période d'incubation entre les souches lactiques et pathogènes avait été prolongée le temps de contact des cellules ainsi qu'avec le surnageant aurait été suffisante pour permettre aux lactobacilles de synthétiser d'avantages de composés antimicrobiens pouvant éliminer totalement les pathogènes.

### 7-La Protéolyse :

La protéolyse se traduit par l'apparition d'un halo clair autour des puits, Les résultats obtenus sont regroupés sur les figures ci-dessous.



**Figur 11:** Activité protéolytique des lactobacilles sur gélose au lait (Méthode des puits).



**Figure 12:** Mesure de diamètres en mm teste protéolytique.

D'après l'histogramme de la figure 9, les diamètres de la plupart des souches de bactéries lactiques varient entre 12 et 21 mm (voire Annex 2).

Selon (**Maghnia, 2011**) l'activité protéolytique traduite par la présence d'un halo claire d'hydrolyse de la protéine du lait sur boîte de MRS additionnée de lait écrémé à des concentrations de 1%, 2% et 4%. Ces derniers sont en relation directe avec le diamètre des zones de la protéolyse. Plus la concentration en lait augmente plus la zone de protéolyse est importante.

## **8- Electrophorèse :**

L'électrophorèse était réalisée dans un gel de polyacrylamide SDS. Les protéines étaient révélées par coloration au Bleu de Coomassie. Les protéines sont séparées en fonction de leurs poids moléculaires.

Les tubes eppendorfs sont mis sur une plaque chauffante pendant 5mn sous 95°C pour assurer la dénaturation des protéines (**Lachance, 2000**).



L'électrophorèse est réalisée à la fois pour les protéines présentes dans le surnageant, représentant la fraction extracellulaire, et pour les protéines intracellulaires présentes dans la suspension de lyse cellulaire.

La plupart des bactériocines ont pour cible la membrane cytoplasmique des bactéries à Gram positif dans laquelle elles induisent la formation de pores aboutissant à la fuite de molécules intracellulaires, nous avons réalisé cette électrophorèse afin de cibler si l'agent inhibiteur est protéique et dans ce cas si la protéine ou le peptide est intra ou extra cellulaire.

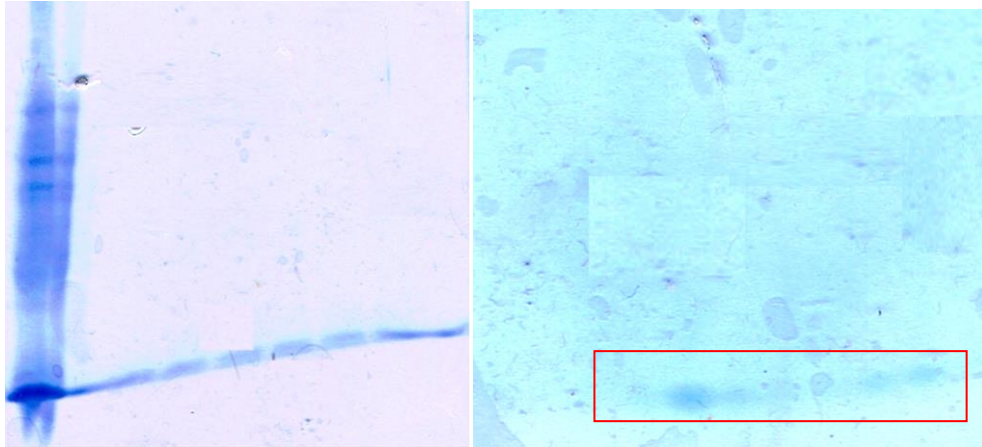
Nous étions supposé trouvé une trainée de bandes protéiques lors de l'électrophorèse des protéines totales, comme le montre le témoin sur la **figure 13** à gauche, leur absence témoigne d'une mauvaise lyse cellulaire obtenue par la technique de congélation /décongélation, la faible concentration des protéines après lyse n'a pas permis leur révélation par la SDS-PAGE.

La lyse est partielle car la technique congélation/décongélation n'est pas efficace pour les lactobacilles qui sont résistants grâce à leur paroi Gram+. Seules les protéines majeures dans la cellule sont visibles.

Selon la méthode de (**Makhlouf, 2012**) qui a détecté l'activité antibactérienne des protéines sur gel. Nous avons recouvert le gel avec de la gélose molle MRSensemencée à 1% avec la souche *L. monocytogenes*. La position de la bactériocine active est visualisée par une zone d'inhibition, comme décrit par (**Van Reenen et al., 1998**)

Par la même méthode (**Phuong et al., 2009**) n'ont observé aucune activité dans une solution de lyse bactérienne.

D'après les résultats obtenus par l'électrophorèse, aucune activité inhibitrice n'a été exprimée à l'égard de la souche cible, ce qui traduit que l'inhibition observée n'est pas due à la production de bactériocines cette inhibition peut avoir plusieurs origines parmi lesquelles, nous pouvons mentionner la production des acides organiques ou le peroxyde d'hydrogène .



**Figure 13:** Bandes électrophorétiques : a gauche dans le surnageant , a droite après lyse cellulaire.



**Figure 14:** Recherche de proteines antimicrobiennes sur gel de polycrylamide.

## **Conclusion**

## Conclusion

Le lait de chamelle est connu pour ses propriétés médicinales il est largement exploité pour améliorer la santé humaine, il est une activité anticancéreuse, et hypocholestérolémiante et à une propriété antidiabétique dues à sa composition ainsi qu'à la flore qui le colonisent.

Les bactéries lactiques constituent un groupe hétérogène qui rassemble à des bactéries capable de produire de l'acide lactique par un métabolisme fermentaire.

Les sept souches lactiques étudiées appartiennent au genre *Lactobacillus* sont isolées du lait de chamelle.

La majorité des lactobacilles ont une résistance aux ATB, Céftazoline, Gentamycine, Vancomycine, Amikacine, Péfloxacine, Colistine, Céfotaxine, cette résistance peut-être intrinsèque comme elle peut-être transmissible parmi eux *Lactobacillus Plaltarum* (NSC5C) et (BH14).

Par contre les souches montrent des sensibilités aux ATB Ticarcilline, Pristinamycine, Pénicilline, Ampicilline telles que *Lactobacillus SP* (SAB 3) et *Lactobacillus plantarum* (NSC10).

L'étude de l'activité protéolytique montre que l'ensemble de ces bactéries hydrolysent la caséine du lait grâce par la présence de halos de tailles variables autour des puits.

Les tests de l'activité inhibitrice ont révélé des zones d'inhibition formés par nos souches à l'égard des bactéries pathogènes qui ne présentent pas le même spectre d'activité vis-à-vis des bactéries pathogènes les résultats révèlent que les lactobacilles produisent une large gamme de composés inhibiteurs (acide organique, peroxyde d'hydrogène, diacétyle, bactériocines ou réuterines)

Le test de recherche de bactériocine selon la méthode des puits nous a permis de mettre en évidence le pouvoir inhibiteur des sept isolats contre les trois souches indicatrices pathogènes (*Listeria monocytogenese*, *MRSA*, *Salmonella thyphimurium*), cette activité est présente dans leur surnageant de culture, la mesure des diamètres d'inhibition a révélé des diamètres qui varient de 7 à 23.5mm.

Nous soupçonnons que l'acide lactique est la source de ces antagonismes mais nous n'avons pas été dans la capacité d'affirmer avec certitude le facteur principal à l'origine de ces inhibitions.

Ces observations ouvrent des perspectives futures telles que:

- L'étude de leurs spectre d'inhibition sur une plus large gamme de souches pathogènes.
- Leur utilisation dans le domaine médical et biotechnologique.

- L'effet des enzymes protéolytiques pouvant confirmer que la nature de cette substance pourrait être une bactériocine afin de l'intégrer dans le domaine pharmaceutique ou agroalimentaire.
- L'utilisation d'inoculum bactérien producteur de bactériocines au cours du processus de fabrication et en tant que conservateur naturel pour inhiber la croissance des microorganismes indésirables dans les aliments.

# Référence

- Ababsa A. 2012.** Recherche de bactériocines produites par les bactéries lactiques du lait. Mémoire de magister en Génie microbiologie. Université Ferhat Abbas Setif.
- Abdelgadir ,W. S., Ahmed, T. K. et Dirar, H. A., 1998.** The traditional fermented milk products of the Sudan. *International Journal of Food Microbiology*, 44: 1-13.
- Abdel-Rahim A.G., 1987 .**The chemical composition and nutritional value of camel (camelus dromedaries) and goat (capra hircus) milk .word *Rev .Anim.Prod .*,23,9-11
- Adams ,M.R., Hall, C.J. 1988.** Growth inhibition of food-borne pathogens by lactic and acetic acids and their mixtures. *Int. J. Food Sci. Tech.* P.23, 287-292.
- Andersson, R. 1986.** Inhibition of staphylococcus aureus and spheroplasts of Gramnegative bacteria by an antagonistic compound produced by a strain of *Lactobacillus plantarum*. *Int. J. Food Microbiol.*,
- Ammor, M.S., Mayo, B. 2007.** Selection criteria for lactic acid bacteria to be used as functional starter cultures in dry sausage production, an update. *Meat science*,76 : 138-146.
- Axelsson, L. 1998.** Lactic acid bacteria: Classification and physiology. In: *Lactic acid bacteria*. Ed. S. Salminen and A. von Wright. Marcel Deccer. p. 1-72.
- Agrawal R.P., Swami S.C., Beniwal R., Kochar D.K., Sahani M.S., Tuteja F.C., Ghouri S.K., 2003.** *J. Camel Res. Pract.*, 10, 45-50
- Alwan A.A., Tarhuni A.H., 2000.** *Proc. Int. Camelid Conf.*, Almaty, Kazakhstan, p.100
- Anderson Y., Lindquist S., Largerqvist C., Hernell O., 2000.** *Early Hum Dev.* 59: 95-105
- Atarhouch T., Bendahman N., Hamers-Casterman C., Hamers R., Muyldermans S., 1997.** *J Camel Pract. Res.*, 4, 177-182
- Braegger C., 2002.** Die deutsche Fassung dieses Artikels ist in der *Paediatrica* erschienen.. 13, S. 29–33.
- Barefoot S.F., Klaenhammer T.R., 1983.** Detection and activity of lactacin B, a89 bacteriocin produced by *Lactobacillus acidophilus*. *Appl Environ Microbiol*, 45(6) :1808-1815
- Bellil y, 2013** Evaluation de l'effet des substances antimicrobiennes produites par *Leuconostocmesenteroides* du lait cru de chamelle sur *Listeria spp.* Mémoire de Magistère, Université d'ORAN Es Senia (2013),45,52,78.
- Belarbi F, 2011** : Isolement et sélection des souches de bactéries lactiques productrices des métabolites antibactériennes, Mémoire de Magistère, Université d'ORAN Es Senia (2011)-69,84,97.
- Badis A., Laouabdia-Sellami N., Guetarni D., Kihal M., Ouzrout R. 2005.** Caractérisation phénotypique des bactéries lactiques isolées à partir de lait cru de chèvre de deux populations caprines locales «Arabia et Kabyle». *Sci. Technol.* Vol 23: 30-37.

**Braegger C., 2002.** Die deutsche Fassung dieses Artikels ist in der Paediatrica erschienen..  
13, S. 29–33

**Biswas (S.R.), Ray (P.), Johnson (M.C.), Ray (B.) 1991.** Influence of growth conditions on the production of a bacteriocin, pediocin AcH, by *Pediococcus acidilactici* H. - Appl. Environ. Microbiol., 57(4), 1265-1267.

**Chissov V.I., Yakubovskaya R.I., 1995.** Brevet° RU 2088238.

**Cogan, T. M. (1996).** History and taxonomy of starter cultures. In T. M. Cogan and J.- P. Accolas (ed.), Dairy starter cultures. VCH Publishers, Inc., New York, N.Y.

**Chethouna F. 2011 :** Etude des caractéristiques physico-chimiques, biochimiques et la qualité microbiologique du lait camelin pasteurisé, en comparaison avec le lait camelin cru. Thèse de Magister en Sciences Biologiques Université Kasdi Merbah Ouargla.

**Choucair J.** Les alternatives thérapeutiques aux carbapénèmes dans les infections urinaires dues aux bactéries productrices de BLSE. Disponible sur : [www.hdf.usj.edu.lb/ppt/10/5.pdf](http://www.hdf.usj.edu.lb/ppt/10/5.pdf)

**Chuvakova Z.K., Beisembayeva R.U., Puzyrevskaya O.M., Saubenova M.G., Shamenova M.G., Glebova T.I., Popova E.I., Baizhomartova M.M., Baimenov E.K., 2000.** Proc. Int. Camelid Conf., Almaty, Kazakhstan, p.97

**Champagne 1992. In Boudjani, W., 2009.** Action de la flore lactique sur les bactéries contamination. Mémoire d'ingénieur, Institut de biologie, Université de Tlemcen. p 73

**Chopra,I.,1998.** Research and developementof antibacterial agents. Current opinion in Microbiology,1,495-501.

**Condon,S., 1987.** Responses of lactic acid bacteria to oxygen. FEMS Microbiology Letters 46: 269-280.

**Cintas, L.M., Casaus, P., Havarstein, L.S., Hernandez , P.E. et Nes, I.F. 1997.** Biochmical and genetic characterization of enterocin P, a novel sec-dependent bacteriocin from *Enterococcus faecium* P13 with a broad antimicrobial spectrum. App Environ Microbiol, 63: 4321-4330.

**Cadoz M, Denis F, Guerma T, 1982 .**Comparaison bactériologique, pharmacologique et clinique de l'amoxicilline et du ceftriaxone dans 300 méningites purulentes. Pathol Biol; 30:522-5.

**De Vuyst, L et Vandamme. J. 1994.** Nisin, a lantibiotic produced by *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*: properties, biosynthesis, fermentation and application. 151-221 In L. De Vuyst and E. J. Vandamme (eds.), Bacteriocins of Lactic Acid Bacteria: Microbiology, Genetics and applications. Blackie Académie and Professional. London, UK.



**DeMan, J.C., Rogosa, M. and Sharpe, M.E.. 1960.** A medium for the cultivation of Lactobacilli. *Journal of Applied Bacteriology*. 23:130-135.

**Desmazeaud, M. (1996).** L'état des connaissances en matériel de nutrition de bactéries lactiques. *le lait*, 63 : 267-16.

**Dortu Carine, Thonart Philippe, 2009.** Les bactériocines des bactéries lactiques : caractéristiques et intérêts pour la bioconservation des produits alimentaires. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.*, 13(1): 143-154

**Diarra M.S., P etitclerc D., Lacasse P., 2002.** *J. of Dairy Sci.* 85,1141-1149

**Djangabilov A.K., Bekishev A.C., Mamirova T.N., 2000.** *Proc. Int. Camelid Conf., Almaty, Kazakhstan*, p.100

**Djidel A. 2007.** Production d'acide lactique par *Lactococcus casei subsprhamnosus* sur jus de datte: cinétique discontinues semi-continues et continues. Thèse de doctorat. Institut National Polytechnologique de Lorraine. France.

**Doumandji A., Hellal A., Saidi N., 2010.** Purification de la bactériocine a partir de *Lactobacillus acidophiles* 11, *Rev. Microbiol. Ind. San et Environn.*, 4: 25-47

**Eklund T., 1984.** The effect of carbon dioxide on bacterial growth and on uptake

**Elkhidir H. H., 2002.** Vitamin C status in Sudanese camels. PhD thesis. Utrecht Univ., 98 p.

**Elagamy E.I., Ruppanner R., Ismail A., Champagne C.P., Assaf R., 1996.** *Int Dairy J.*, 6, 129-145.

**Elagamy E.I., Ruppanner R., Ismail A., Champagne C.P., Assaf R., 1996.** *Int Dairy J.*, 6, 129-145.

**Électrophorèse SDS-PAGE 2012.** Principe et exemple d'zpplication en STL. *Biotechnologies et Biologies et Physiologie humaine.* Académie de Rouen  
Site web consulté:[htt://biochimej.univ-angres.fr](http://biochimej.univ-angres.fr)

**Fao (1995) :** Le lait et produits laitiers dans la nutrition humaine. Organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture, Rome.

**Fao/Who. 2002.** Report of a joint FAO/WHO working group on drafting guidelines for the evaluation of probiotics in food. In *Guidelines for the evaluation of probiotics in food.* London, Ontario, Canada, pp.1-11.

**Farah Z. et Bachman M.R. 1987:** Rennet coagulation properties of camel milk. *Milchwissenschaft*, 42, 689-692

**Farah Z. 1993:** Composition and Characteristics of Camel Milk; review. *J. DairyRes.*, 60,603-626.

**Fedrighi M. 2005.** Bactériologie alimentaire compendium d'hygiène des aliments. 2 èmeEd, *Economica.*, paris. P 220-224.

**Flandrois, J.C., Courco, L., Lemeland, J.F., Ramuc, M., Sirot, J. et Souny, C.J. 1997.** Bacteriologie médicale. Presses Universitaire de Lyon. ISBN 2729705678.

**Jouan P., 2002.** Lactoprotéines et lactopeptides. Propriétés biologiques. INRA publ., Versailles, 127 p.

**Jacobsen, T., Budde, B.B., Hornbaek, T., Barkholt, V. and Koch, A.G. 2003.** *Leuconostoc carnosum* 4010 has the potential for use as a protective culture for vacuum-packed meats: culture isolation, bacteriocin identification, and meat application experiments. *International Journal of Food Microbiology* p 83, 171–184.

**Jorger MC, Klaenhammer TR 1986** Characterization and purification of helveticin J and evidence for a chromosomally determined bacteriocin produced by *Lactobacillus helveticus* 481. *J Bacterio*/167, 439-446

**J. Pacanowski, 2011.** Linézolide: mécanisme d'action, propriétés et indications thérapeutiques 1. Dossier Thématique "Les nouveaux antibiotiques". *La Lettre du Pharmacologue* • Vol. 25 - n° 1 - janvier-février-mars 20

**Hassan A.A., Hagrass A.E., Soryal K.A. et EL-Shabrawy S.A. 1987,** cite par **Siboukeur. 2007.**

**Hassan A.N. et Frank J.F. 2001.** Starter Cultures and their use. In: *Applied Dairy Microbiology* (Marth E.H. et Steele J.L.) 2e Ed., Marcel Dekker, Inc. New York : 151-205p.

**Hayes. M., Ross. R. P., Fitzgerald. G. F., Hill. C., Stanton. C. 2006.** Casein-derived antimicrobial peptides generated by *Lactobacillus acidophilus* DPC6026, *Applied and Environmental Microbiology*. 72:2260-2264.

**Ho T.N.T., N. Tuan N., Deschamps A. et Caubet R., 2007.** Isolation and identification of lactic acid bacteria (LAB) of the Nem Chua fermented meat product of Vietnam. p.134-142.

**Hadef S. 2012.** Evaluation des aptitudes technologiques et probiotiques des bactéries lactiques. Mémoire de magister: p7-8. Université Kasdi Merbah .Ouargla.

**Herman, T. 2005.** Drugs targeting the ribosome. *Corrent opinion in Microbiology* .15,355-366.

**Heleni S., Iefki P., Nokolos T. et Evathia L.T. 2006.** Population, types and biochemical activity of mesentericin Y105, an anti-*Listeria* bacterial bacteriocin from the air of cheese factories *Int. J. Dairy Technol.*, 59 :200-208

**Hermier, J., Lenoir, J., Weber, F. 1997.** Rôle des bactéries lactiques dans la production des facteurs antimicrobiens, les groupes microbiens d'intérêt laitier. Ed. Cepil. Paris, p 9-60.

**Holzappel, W.H., Haberer, P., Geisen, R., Björkroth, J. and Schillinger, U. 2001.** Taxonomy and important features of probiotic microorganisms in food and nutrition. *Am. J. Clin. Nutr.*, 73(suppl): p 365S–73S.

**Hülsebusch C., 1999.** Immunoglobulin G status of camels during 6 months post-partum. Hohenheim Tropical Agriculture Series Ed., Verlag publ., Weikersheim (Allemagne), 147 p

**Guiraud J.P. 1998 :** Microbiologie des principaux produits alimentaires ; in : «Microbiologie Alimentaire, Techniques de Laboratoire » Dunod, Paris.

**Guessas B., Ghazi F. Z., Aggad H., Henni D. et Kihal M., 2006.** Phenotypic identification and whole cell protein analysis by SDS-Page for dominants lactic acid bacteria isolated from Algerian raw milk. Journal Algérien des zones arides, 5: 25-35.

**Guessas, B., 2007.** Les particularités métaboliques des bactéries lactiques isolées du lait cru de chèvre dans le biocontrôle de *Staphylococcus aureus*. Thèse de doctorat. Université d'Oran Es-senia.

**G Acocella, 1983.** Pharmacokinetics and metabolism of rifampin in human. Rev Infect Dis 1983 (5)

**Kahina Maya Makhloufi. 2012.** Caractérisation d'une bactériocine produite par une bactérie lactique *Leuconostoc pseudomesenteroides* isolée du boza. Bactériologie. Université Pierre et Marie Curie - Paris VI, 2011. Français. 11 Mar 2012

**Kihal M,Prevost H.,Lhotte M.E.,Huang D.Q.;Diviés C.1996.** Instability of plasmid-encoded citrate permease in *Leuconostoc*.J.Appel.Microbiol.,22,219-223

**Klaenhammer T.R., 1988.** Bacteriocins of lactic acid bacteria. Biochimie, 70, 337-349.

**Kulshrestha, D. C.et Marth ,E. H. 1974.** Some volatile and non -volatile compounds associated with milk and their effects on certain bacteria. A review. J. Milk Food Technol., 38, 604-620.

**Karam,N-E et Karam,H. 1994.** Isolement et caractérisation de bactéries lactiques de laits crus d'Algerie.in alimentation, genetique et santé de l'enfant .pp,257-264.Ed.Des jeux J.f. et Touhami

**Lamontagne Michel Claud P., Champagne J., Reitz A., Sylvain M., NancyG., Maryse L.,** *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*and application to control *Listeria monocytogenes*in Moroccan Jben. J. Appl. Microbiol. ,89: 960-968.

**Larpen-Gourgaud Monique, Michaux Odile, Lrpent J.P, Desmasures Nathalie, Desmazeaud Michel, Mangin Irene, Masson Florence, Montel M.C. et Tailliez Patrick., 1997.** Les ferments lactiques et bactéries apparentées In Microbiologie alimentaire Techniques de laboratoire. Larpen J-P. Tec & Doc, Lavoisier, pp: 199-255

**Laemmli,U.K.1970.**Cleavag of structural protéins during the assembly of the head of bacteriophage T4.Nature. 227,680-685

**Lachance 2000.** Purification et caractérisation d'une bactériocine produite par *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* mjc15, thèse Doctorat, faculté des sciences de l'agriculture et de l'alimentation, université Laval. Canada.

- Lasnamik., (1986):** Le dromadaire en Algérie. Perspective de développement. Thèse. Magis. Agro. I.N.A. El Harrach. Algérie. 185P.
- Laurent S., Fedrighi M., Jouve J. L. 1998.** Manuel de bacteriologies alimentaire. Ed, polytechnica., Paris. P308.
- Laurent Christin, 2009.** La vancomycine.Extrait de la liste des médicaments de la PIC .Copyright .Pharmacie Interhospitalière de la Côte, Édition juin 2015.
- Luquet F.M. 1986.** Lait et produits laitiers (vache, brebis, chèvre), T3; qualité, énergie et tables de composition. Ed Technique et Documentation., Paris.442p.
- Leveau J.Y. et Bouix M., 1993.** Microbiologie industrielle : les microorganismes d'intérêt industriel. Technologie & Documentation , Lavoisier. Paris : 85-87p.
- Ludwig W. Schleifer K- H. Whiman W B. 2009.** Order: Lactobacilles. Bergey's manual of systematic Bacteriology Second Edition volume Three : Firmicutes. Springer Dordrecht Heidelberg London New
- Linden G. 1994.** In Biochimie agro-industrielle. Valorisation alimentaire de la production agricole., D. Lorient. MASSON Paris Milan Barcelone, p.114-116.
- Loiseau G., Faye B., Serikbaeva A., Montet D., 2001.** Int. Conf. On new horizons in biotechnology, 18-21 avril 2001, Trivandrum, Inde
- Maghania Djamila.,2011.** Etude de potentiel technologique des bactéries lactiques isolées des aliment fermentés traditionnels Algériens. Thèse de magister en Microbiologie Alimentaire .Univetsité d'Oran.
- Matamoros S. 2008.** Caractérisation des bactéries lactiques psychrotrophes en vue de leur utilisation dans la biopréservation des aliments. Étude physiologique et moléculaire des mécanismes d'adaptation au. Thèse de Doctorat. Université de Nantes: P17. Fance.
- Mal G., Suchitra Sena D., Jain V.K., Singhvi N.M., Sahani M.S., 2000.** Proc. Int. Camelid Conf., Almaty, Kazakhstan, p.99
- Mami, A., Henni, J. E. et Kihal, M. 2008:** Antimicrobial activity of Lactobacillus species 119. isolated from Algerian raw goat's milk against Staphylococcus aureus. W. J. Dairy. Food. Sci. 1-11. York : 464p.
- Mehta,A.M.,Patel,K.A.and Dave,P.J.,1984.**Purification and some properties of an inhibitory protien isolated from Lactobacillus acidophilus AR1.Milchwissenschaft 39:86-89.
- Moraes, M. P., Perin, L. M., Ortolani, M. B. T., Yamazi, A. K., Viçosa, G. N., Nero, L. A. (2010).** Protocols for the isolation and detection of lactic acid bacteria with bacteriocinogenic potential.Food Sci.Technol.,43: 1320-1324.
- Nilius, A.M.,Et Ma, Z.,2002.** Ketolides: the eture of microlides? Current opinion in pharmacology. 2,1-8.

**Onda T., Yanagida F., TSUJI M., Shinohara T. et Yokotsuka K. ;2003.** Production and purification of a bacteriocin peptide produced by *Lactococcus* sp. Strain GM005, isolated from Miso-paste. *Int.J.Food Microbiol.*87(1-2):153-159.

**Ouwehand, A. C., Kirjavainen, P. V., Gronlund, M. M., Isolauri, S. J et Salminen, S. (1999).** Adhesion of probiotic microorganisms to intestinal mucus. *International Dairy Journal*, 9:623-630.

**Piard J.C., Desmazeaud M. 1991.** Inhibitions' factors produced by lactic acid bacteria: Bacteriocins and other antibacterial substances. *Le lait*, 72, 113-142.

**Phuong. N., May-Farah. M., Isabelle. A., Zolalaina. R., Degraeve. P., Coralie. D., Lignitto. L., Novelli. E, Segato. S., Dong. P. ET Oulahal. N. 2009.** Présence de composés inhibant la croissance de *Listeria innocua* dans un fromage italien, l'Asiago d'allevio. Bio-ingénierie et dynamique microbienne aux interfaces alimentaires. Université de Lyon. rue Henri de Boissieu, 01000 Bourg en Bresse. Lyon. France.

**Puzyrevskaya O.M., Saubenova M.G., Baizhomartova M.G., Baimenov E.K., 2000.** Proc. Int. Camelid Conf., Almaty, Kazakhstan, p.98

**Rao L.K., Anand, S.K., Srinivasan R.A. 1985.** Antimicrobial activity associated with *Bifidobacterium bifidum*-I. *Cult. Dairy Prod. J.*, 11: 6-7.

**Sabumukama C., 1997.** Recherche d'enzymes adaptées pour la vérification de la pasteurisation du lait de dromadaire et mise au point d'un test simple de contrôle. Mémoire mastère ENSIA, Montpellier. 45 p.

**Saidi N., Guessas B., Bensalah F., Badis A., Hadadji M., Henni D.E, Prevost H. et Kihal M., 2002.** Caractérisation des Bactéries Lactiques Isolées du Lait Cru de Chèvre des Régions Arides d'Algérie. *Journal Algérien des Régions Arides.*, 01: 01-14

**Stiles, M.E. 1996.** Biopreservation by lactic acid bacteria. *Antonie van Leeuw.* 70: 331-340.

**Senoussi C. (2011).** Les protéines sériques du lait camelin collecté dans trois régions du sud algérien : essais de séparation et caractérisation de la fraction protéose peptone. Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou, 4, 7, 8, 17-19.

**Sboui A., Khorchani T., Djegham M. et Belhadj O. 2009.** Comparaison de la composition physicochimique du lait camelin et bovin du Sud tunisien; variation du pH et de l'acidité à différentes températures ; *Afrique SCIENCE* 05(2), 293 – 304.

**Sawaya W.N., Kalil J.K., AL-Shalhat A et AL-Mohamed H., 1984.** chemical composition and nutritional quality of camel milk. *J.Food Sci.*,49,744-747

**Sherwitz, M.E., Feher, A.V. and Cintas, L.M., 1986.** Thuricin: the bacteriocin produced by *Bacillus thuringiensis*. *J.Invert.Pathol.*,53:206-216

- Schillinger U. et Luckek. 1989.** Antimicrobial activity of *Lactobacillus sake* isolated from meat. *Appl. Environ. Microbiol.* 55: 1901-1906.
- Song (H.J.), Richard (J.) 1997.** Antilisterial activity of three bacteriocins used at sub minimal inhibitory concentrations and cross-resistance of the survivors. - *Int. J. Food Microbiol.*, 36(2), 155-161.
- Tadesse, G. Ephraim, E. and Ashenafi, M.** Assessment of the antimicrobial activity of lactic acid bacteria isolated from Borde and Shamita, traditional Ethiopian fermented beverages, on some food borne pathogens and effect of growth medium on the inhibitory activity. *Internet Journal of Food Safety V (5)* .13-20.
- Tagg J.R., Mcgiven A.R.,1971.** Assay System for bacteriocins. *Appl. Environ. Microbiol.*21:943
- Tagg J. R., Dajani A. S., Wannamaker L. W., 1976.** Bacteriocins of Grampositive bacteria. *Microbiol Rev.*, 40: 722-756.
- Titiek F.D., Endang S.R., Djoko w.,et Slamrt s.,1996.** Antimicrobial substance produced by *Lactobacillus sp* .TGR-2 isoleted from Gro wol. Indonesian.Food Nutr. Prog.3(2):29-34
- Upreti,G.C.and Hinsdill.,1973.** Production and mode of action of lactocin 27 :bacteriocin from a homofermentative *Lactobacillus*.*Antimicrob.Agents chemother.*7:145-149.
- Urazakov N.U., Bainazarov S.H., 1974.** Problemy Tuberkuleza, 2, 89-90
- Vngoh J., Farah Z .and Puhan Z., 1998.**Composition of milk form 3 camels (*Camelus dromedaries*) Breeds in Kenya during Lactation .*Milchowissenschaft*,53,136-139
- Van Reenen,C.A,Dicks, L.M.T et Chikindas,M.L. 1998.** Isolation, purification and partial characterization of plantaricin 423, a bacteriocin produced by *Lactobacillus plantarum*. The Society for Applied Microbiology .*Journal of Aplied Microbiology*.84:1131-1137
- Vandamme P. Pot B. Gillis M. DeVos P. Keresters K. et Swwings Ja. 1996.** Polyphasic taxonomy, a consensus approach to bacterial systematic. vol. 60, p. 407. 3:149-160.
- Vermeiren L., Devlieghere F. & Debevere J., 2004.** Evaluation of meat born lactic acid bacteria as protective cultures for the biopreservation of cooked meat products. *Int. J. Food Microbiol.*, 96(2), 149-164.
- Velkov T., Robrts K.D., Nation R.L., Thompson P.E., LI J. (2013).** Pharmacology of polymyxins: new insights into an ‘old’ class of antibiotics. *Future microbiology*, Vol. 8 (6), pp. 1-20.
- Yagil R et Etzion Z., 1980a** . Effect of drought condition on the quality of camel milk . *J.Dairy.Res.*,47,159-166

**Yagil R et Etzion Z., 1980b.** Milk yields of camel (*Camelus dromedarius*).  
*Comp.Biochem.Physiol.*,67,207-209

**Yagil R., Van Creveld C., 2000.** Proc. Int. Camelid Conf., Almaty, Kazakhstan, p.100

**Zagulki T., Lipinski P., Zagulska A., Broniek S., Jarzabek Z., 1989.** *Br.J.Exp.Pathol.*  
70:697-704  
*Br. J. Exp. Pathol.*, 70, 697-704

**Zeba, B.,2005.** Overview of B-lactamase incidence on bacterial drug resistance. *African journal of biotechnology*, 4(13), 1559-1562.

**Annexe 1 :**  
culture et solutions

**Annexes**

Milieux de

**Milieu MRS** (De man Rogossa et sharp )

lactiques .

Suspendre 67.3 g

Eau distillée 1000 ml

Tween 80 1 ml

Autoclavage 120°C pendant 25 min

Tween 80 1 ml

Eau distillée 1000 ml

Agar agar ( la quantité rajoutée varie en fonction des besoins, 0g/l pour le bouillon, 8g/l pour la gélose molle et 16g/l pour la gélose solide)

Autoclavage 120°C pendant 25 min

**Milieu LB (lysogeny broth)**

Extrait de levure 5 g

Nacl 10 g

Peptone 10 g

Agar agar ( la quantité rajoutée varie en fonction des besoins, 0g/l pour le bouillon, 8g/l pour la gélose molle et 16g/l pour la gélose solide)

Eau distillée 1 L



Autoclavage 120°C pendant 25 min

**LB liquide enrichi :**

Extrait de levure	2.5 g
Nacl	5 g
Peptone	5 g
Eau distillée	500 ml
Extrait de levure	5 g

**lait écrémé**

10 g lait poudre + 100 ml eau distillé Autoclavage 120°C pendant 10 min Seringue stérile prélevé 20 ml	Agar 3.4 g + 200 ml eau distillé Autoclavage 120°C pendant 20 min Par Seringue stérile – 20 ml jouté et ajouté le 20 ml de lait écrémé
--	---

**Eau physiologie**

Ingrédients	Piods g/ml
Nacl	9 g
Eau distillé	1000 ml

## Annexe 2 : Résultats brutes

**Tableau 15:** Mesure des diamètres des zones d'inhibition .

ATB	<i>Lactobacillus plantarum</i> (NSC5C)	<i>Lactobacillus SP</i> (SAB 3 )	<i>Lactobacillus SP</i> (Ghar 2)	<i>Lactobacillus plantarum</i> ( Nsc10)	<i>Lactobacillus SP</i> (LBS 2 )	<i>Lactobacillus plantarum</i> (BH14)	<i>Lactobacillus SP</i> (Mech 6 )
Oxacilline	-	-	7	-	-	-	-
Ticarcilline	15	27	27	-	20	25	18
Amoxiline	-	21	20	-	-	15	-
Ampicilline	-	18	15	-	16	-	26
Céphazoline	-	-	12	-	16	-	11
Céfixime	-	-	-	-	27	-	20
Céphalexine	-	15	-	37	-	13	11
Pénicilline	-	17	15	-	25	-	16
Céfazoline	-	14	-	-	-	-	-
Aztréonam	-	-	12	-	16	-	11
Gentamicine	-	-	-	-	-	-	-
Amikacin	-	13	-	-	25	-	-
Tobramycin	-	-	10	20	-	5	-
Céfotaxine	-	-	-	-	-	-	-
Fosfomycine (fos)	-	-	-	-	-	20	-
Tétracycline	14	17	-	-	-	22.5	-
Amoxicilline	-	20	20	-	-	15	-
Nitroxolline	16	13	12	15	15	10	21
Péfloxacine	-	-	-	-	-	-	-
Ciprofloxacine	-	10	-	25	8	13	-
Levofloxacine	-	8	10	20	11	12	10

Linézolide	-	20	25	-	-	-	22.5
Erythromycine	-	18	-	18	-	9	19.5
Colistine	-	-	-	-	-	-	-
Réfampicine	-	-	-	37	-	30	--
Lincomycine	-	-	10	20	-	5	-
Pristinamycine	24	20	27	32	35	25	30
Vancomycine	-	-	-	-	-	-	-
Céftraxone	-	-	-	-	-	-	-
Chloramphenicol	-	22	25	-	-	-	32

**Tableau 16:** Mesure le diamètre de zone de protéolyse (mm) test protéolytique.

	<i>Lactobacillus plantarum</i> (NSC5C)	<i>Lactobacillus SP</i> (Mech 6 )	<i>Lactobacillus SP</i> (LBS 2 )	<i>Lactobacillus SP</i> (Ghar 2)	<i>Lactobacillus plantarum</i> ( Nsc10)	<i>Lactobacillus SP</i> (SAB 3 )	<i>Lactobacillus plantarum</i> (BH14)
<b>Gélose au lait</b>	13	16	12	14	14.5	21	12

**Tableau 17:** Mesure du diamètre des zones inhibition (mm) obtenue par méthode des puits .

	<i>Lactobacillus plantarum</i> (NSC5C)	<i>Lactobacillus SP</i> (Mech 6 )	<i>Lactobacillus SP</i> (LBS 2 )	<i>Lactobacillus SP</i> (SAB 3 )	<i>Lactobacillus plantarum</i> ( Nsc10)	<i>Lactobacillus SP</i> (Ghar 2)	<i>Lactobacillus plantarum</i> (BH14)
<i>Listeria monocytogenes</i> (s1)	15	16	16	15	-	20	15
<i>Staphylococcus aureus</i> résistant à la méticilline (MRSA)	-	11	9	10	11	8	7
<i>Salmonella thyphimurium</i>	20	22.5	21.5	23.5	17.5	-	21

## Annexe 3 : Tampons d'électrophorèse.

### Composition des solutions de coloration et de décoloration :

	Solution de coloration	Solution de décoloration
Bleu de coomassie r250	0.5g	/
Méthanol/eau distillée	90ml	900ml
Acide acétique	10ml	100

### Composition des gels de séparation et de concentration :

Produit	Gel de séparation				Gel de concentration
	8%	10%	12%	15%	5%
H <sub>2</sub> O (ml)	2.3	1.9	1.6	1.1	1.4
Tris 1-5M (ph8.8)(ml)	1.3	1.3	1.3	1.3	/
Tris 1M(ph6.8)(ml)	/	/	/	/	0.25
30% Acrylamide :bisacrylamide (29 :1= 30g )	1.3	1.7	2	2.5	0.33
SDS 10%(µl)	50	50	50	50	20
Persulfate d'ammonium *10%(µL)	50	50	50	50	20
Temed (µl)	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0
Gamme de séparation en kDa	40/400	20/300	10/200	3/100	/

### Composition du tampon de charge :

Produits	Composants
Tris Ph=6.8	1.5 ml
Bleu de Bromophénol	0.03 g
Glycérol	3 ml
B -Mercaptoéthanol	0.35 ml
SDS	0.6 g
Qsp eau distillée	7.5 ml

### Composition de tampon de migration :

Produits	Composants
Tris	3 g
SDS	1 g
Glycine	18.7 g