



Université Mohamed Khider de Biskra
Faculté des sciences exactes et sciences de la nature et de
la vie
Département des sciences de la nature et de la vie

MÉMOIRE DE MASTER

Domaine : Sciences de la nature et de la vie
Filière : Sciences biologiques
Spécialité : Microbiologie appliquée

Réf. :

Présenté et soutenu par :

ZEHRI Wafa
KHOUBZI Siham

Le :

Thème

Contribution à l'évaluation de quelques caractères probiotiques de *Lactobacillus* isolées de lait de chamelle

Jury :

Mm. Wassila DENDOUGA	MCB	Université de Biskra	Présidente
Mr. Bachir BENKEDOUR	MAA	Université de Biskra	Encadreur
Mr. Abdenacer AGLI	Pr	Université de Biskra	Examineur

Année universitaire : 2019-2020

Remerciement

Avant tout nous remercions "Allah" tout puissant qui nous a donné
Le courage, la volonté et la force pour accomplir ce modeste travail.

Merci de nous

Avoir éclairé le chemin de la réussite.

Nous particulièrement reconnaissante à Mr Benkaddour Bachir
, d'avoir accepté de juger nous travail

Mes très spéciaux remerciements reviennent à nous familles et nous amies pour leurs
Encouragements et leur compréhension.

Mes remerciements vont également à nous enseignants qui nous accompagné pendant notre
cursus universitaire.

Nous remercier aussi l'ensemble du personnel travaillant au laboratoire de microbiologie.

Finalement, nous remercier tous ceux ou celles qui ont contribué de près ou de loin à

L'accomplissement de ce mémoire.

A vous tous, un grand Merci.

Dédicace

Avant tous, Mes profonds remerciements vont à ALLAH

Qui m'a aidé et donné le courage et

La patience pour effectuer ce travail.

Je dédie ce modeste travail à :

Mes très chers parents qui ont été toujours à mes côtés pour leur générosité et
leurs sacrifices

Et me donner le courage pour terminer mes études.

Merci beaucoup et je vous aime beaucoup

A mes frères chamseeddine et Tarek et Bachir et ma très chère petite sœur Rania
et mes sœur wahiba et Hanna et Amel.

A toute la famille « khoubzi » et « kadri »

A tous mes amis(es) sans exception surtout : Wafa,

Djehayna, hanan, roukaia, zaineb, kawthar

Et mes amis de l'hôpital.

A mes cousin : Yasmine, sabrine, Malek, khadidja

A toutes les personnes qui de près ou de loin m'ont apporté leur aide

A tous, du fond de mon cœur je vous dédie ce travail.

A tous mes collègues d'études surtout la promotion de microbiologie.

Table des matières

Sommaire

Remerciement	
Dédicace	
Table des matières	
Introduction générale.....	1
Synthèse Bibliographique	
1.1.Historique	5
1.2.Présentation des Lactobacilles.....	5
1.3.Position taxonomique	5
1.4.Les caractères biochimiques	5
1.5.Caractères morphologiques	6
1.6.Caractères culturels	6
1.7.Habitat	7
1.8.Lait de chamelle	7
1.8.1.Définition.....	7
1.8.2Caractéristiques organoleptiques et physico-chimiques du lait de chamelle.....	7
1.8.2.1.Caractéristiques organoleptiques.....	7
1.8.2.2.Caractéristiques physico-chimiques	8
1.8.3.Composition du lait de chamelle	8
1.8.4.Microbiologie du lait camelin	9
1.8.5.Propriétés thérapeutiques et médicinales.....	9
Chapitre 2 Les probiotique	
2 .1.Historique	11
2.2.Définition.....	11
2.3.Les principales souches microbiennes à potentiel probiotique.....	11
2.4.Les probiotiques et leurs effets bénéfiques sur la santé.....	11
2.5.Critères de sélection des souches à potentiel probiotique	12
2.6.Mécanismes d'action et d'adaptation des probiotiques	13
Chapitre 3 Partie Expérimentale	
3.1.Echantillonnage	17
3.2.Isolement des bactéries lactiques.....	17
3.3.Purification et conservation.....	17

3.4.Évaluation des caractéristiques probiotiques.....	17
3.4.1. Tolérances à l'acidité	17
3.4.2.La tolérance aux sels biliaire	18
3.4.3.Auto-aggrégation.....	18
3.4.4.Hydrophobicité de la surface cellulaire.....	19
3.4.5.Co-agrégation	19
3.4.6.Activité antibactérienne.....	19
3.4.7.Sensibilité aux antibiotiques.....	19
3.4.8.Test d'hémolyse	20
3.4.9.La production des Exopolysaccharrides.....	20
3.4.10.Profil de fermentation.....	20
3.4.10.1.Dénombrement bactérienne et pH.....	21
3.4.10.2.L'activité protéolytique (OPA).....	21
3.4.11.Hydrolyse des sels biliaires(BSH).....	21
3.4.12.Élimination du cholestérol.....	22
3.4.13.La résistance aux lysozymes	23
3.4.14.La résistance à la chaleur.....	23
4. Identification des isolats sélectionnés par séquençage de l'ADNr 16S	23

Chapitre 4 Résultats et Discussion

4.1.Caractérisation générale des isolats.....	25
4.2.Tolérances à l'acidité et aux les sels biliaires	25
4.3.1. L' Autoaggrégation et hydrophobicité	28
4.4.Co-agrégation.....	29
4.5.L'activité antimicrobienne et la résistance aux antibiotiques.....	33
4.6.Hydrolyse des sels biliaires (BSH) et élimination du cholestérol	34
4.7.Tolérances à la chaleur et au lysozyme	36
4.8.Activité hémolytique et production d'Exopolysaccharides (EPS)	37
4.9. Identification des isolats sélectionnés par séquençage de l'ADNr 16S	38
4.10.Profil de fermentation.....	39

Conclusion

Conclusion.....	42
-----------------	----

Bibliographie

Bibliographie.....	44
Annexes	47

Liste des Tableaux

Tableau 1. Les différents habitats des lactobacilles (BELKEZI, 2020).....	7
Tableau 2. Caractéristiques physicochimique de lait camelin (MENAD, 2017)	8
Tableau 3. Composition chimique(%) du lait camelin (selon différents auteurs).....	8
Tableau 4 . Les principaux effets bénéfiques attribuées aux probiotiques.....	12
Tableau 5. La tolérance à l'acidité et à la bile de 23 isolats de lait de chamelle . (Abushelaibi, Al-Mahadin, El-Tarabily, P. Shah, & Ayyash, 2017)	Erreur ! Signet non défini.
Tableau 6. les pourcentage de l'autoagragatio et l'hydrophobicité.....	28
Tableau 7. les pourcentages de co-agrégation des BL en présence de 4 bactéries pathogènes pendant 4 h à deux température d'incubation différents (Abushelaibi, Al-Mahadin, El-Tarabily, P. Shah, & Ayyash, 2017).....	32
Tableau 8. L'activité antagoniste contre 4 bactéries pathogènes et la résistance aux 6 antibiotiques différents . (Abushelaibi, Al-Mahadin, El-Tarabily, P. Shah, & Ayyash, 2017)	34
Tableau 9. l'activité d'hydrolyser les sels biliaries (activité spécifique U/mg) (Abushelaibi, Al-Mahadin, El-Tarabily, P. Shah, & Ayyash, 2017)	35
Tableau 10. La résistance à la chaleur (60°C/ 5min) et au lysozymes (Log ₁₀ UFC/ml). (Abushelaibi, Al-Mahadin, El-Tarabily, P. Shah, & Ayyash, 2017)	36
Tableau 11. L'activité hémolytique et production de EPS (Abushelaibi, Al-Mahadin, El-Tarabily, P. Shah, & Ayyash, 2017).....	38
Tableau 12. Profil de fermentation (nombre des bactéries ,OPA (340 nm),pH) des BL pendant 21 jours à 4°C. (Abushelaibi, Al-Mahadin, El-Tarabily, P. Shah, & Ayyash, 2017)	Erreur ! Signet non défini.

Liste des Figures

Figure 1 . Aspect microscopique d'une souche de lactobacilles observé par microscope électronique à balayage . (BELKEZI, 2020).....	6
Figure 2. Ménismes d 'actiondes probiotiques (AbdelMalek, 2017).....	14
Figure 3. Elimination de cholesterol en % de BL après 24h d 'incubation à 37 °C (Abushelaibi, Al-Mahadin, El-Tarabily, P. Shah, & Ayyash, 2017)	36

Liste des abréviations

% : pour cent

°C : Degrés Celsius

ADN : Acide désoxyribonucléique

ARNr 16S : Acide Ribonucléique 16 Svedberg

BL : Bactéries lactiques

CaCl₂ : Chlorure de Calcium

DO : Densité Optique

E:*Escherichia*

EPS: Exopolysaccharide

FAO : Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture

h : heure

HCl : Chlorure d'hydrogène

iso : isolat

KCl : Chlorure de potassium

L: *Listeria*

Lb: *Lactobacillus*

MRS: Man, Rogosa et Sharpe.

NaCl : Chlorure de sodium

NaHCO₃ : Le bicarbonate de sodium

NaOH : Hydroxyde de sodium

nm: nanomètre

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

p / v : poids/volume

PCR : Polymérase Chain réaction

PH : Potentiel d'Hydrogène

PM : poids moléculaire

qsp : Quantité suffisante pour

spp : Sous- espèce

T : Température

t : temps

TCA : Acide Trichloracétique

tr : Tour

UFC : Unité Formatrice des Colonies

Introduction générale

Le lait de chamelle est un aliment de notre vie quotidienne, ça place est irremplaçable ; grâce à leur richesse en nutriments tel que les glucides, les protéines, les lipides, les minéraux et les vitamines.

Le lait camelin contient aussi des composés anti-infectieux, anticancéreux, et antidiabétiques. Des métabolites antimicrobiens, tels que le peroxyde d'hydrogène, les acides organiques, les bactériocines, élaborés par les bactéries lactiques qui se trouvent en abondance dans les laits fermentés. Ces bactéries sont utilisées depuis longtemps dans l'industrie alimentaire. Qui permettent par leur métabolisme, d'augmenter la qualité nutritionnelle, par organoleptique et la durée de conservation des aliments. (Bouguerra, 2012)

Les bactéries lactiques sont des microorganismes largement répandus dans la nature, sont trouvées dans le sol ,sur les végétaux ,elle constituant une fraction important de notre flore intestinale ,aussi pour la muqueuses buccale ,nasale et vaginale ;elle jouent un rôle primordiale de notre santé car elle contribuant à nous de protégés contre les germes pathogènes . (Bilarbi, 2011)

Les BL est un groupe de bactéries à Gram positif, produisent de l'acide lactique comme résultat de la fermentation des carbohydrates. Elles possèdent en effet un statut GRAS (Generally Recognized As Safe) qui autorise leur usage dans les applications alimentaires de façon officielle. (Kassas, 2017)

Actuellement, les bactéries lactiques présentent une grande importance pour leurs valeurs nutritionnelles et thérapeutiques dans les industries agroalimentaires et pharmaceutiques. La connaissance de ces BL pourrait nous permettre de les utiliser dans la bioconservation, l'amélioration de la valeur nutritive des aliments et les préparations probiotiques. Elles sont considérées comme des microorganismes à propriétés probiotique. Selon la F.A.O./OMS, (2002) ; les probiotiques sont des microorganismes vivants qui, lorsqu'ils sont consommés en quantité suffisante exercent un fait positif sur la santé au-delà des effets nutritionnels. Pour garantir cette propriétés, les BL doivent répondre à un certain nombre de critères tel que la tolérance à l'acidité et aux sels biliaries (Fuller, 1989; Saito, 2004)

Dans notre travail pratique nous avons essayé de étudiées quelques caractères probiotiques des *Lactobacillus* isolé à partir du lait de chamelle collecté de Biskra, cependant, le travail pratique n'était pas possible de l'achevé suite aux circonstances de l'épidémie de COVID-19.

Suite à cette cause nous avons changé notre objectif et une bibliographique sur les lactobacilles et leurs effets probiotiques et une analyse d'article des lactobacilles isolé de lait chamelle.

Synthèse Bibliographique

Chapitre 1

Les lactobacilles

1.1. Historique

Au plan de la morphologie, métabolisme et phylogénie. Les lactobacilles forment un groupe très disparate, malgré cette diversité, l'identification de certaines espèces de lactobacilles par les méthodes classiques reste délicate voire impossible. Dans ces cas, seule approches moléculaires ou une combinaison d'approches moléculaires et phénotypiques permettent une identification précise, cette dernière est importante car elle permet une description juste des espèces présentes dans les niches écologiques et l'étude de leur dynamique, ce genre est l'un des genres les plus importants impliqués dans la microbiologie alimentaire et la nutrition humaine, en raison de leur rôle dans la préservation des aliments, ainsi que leurs propriétés probiotique. Les espèces du genre *Lactobacillus* sont très répandues dans la matière fermentescible. Les lactobacilles contribuent à la saveur des aliments fermentés par la production de diacétyl, le sulfure d'hydrogène et les amines, ils jouent un rôle dans la production aussi bien dans la détérioration des aliments. (Choucroute, ensilage, produits laitiers, produits carnés, produits de la pêche et boissons). (Kassas, 2017)

1.2. Présentation des Lactobacilles

Le genre *Lactobacillus* appartenant de la famille des *Lactobacillaceae*. (HAMDI, 2009). Il contient de nombreuses espèces qui sont des agents de fermentation lactique intervenant dans de nombreuses industries ou qui sont rencontrées comme contaminants, ce genre exige pour leur développement des milieux riches en acides aminés, en vitamines et en acides gras : ils sont acidophiles. Ils sont généralement peu protéolytiques et peu lipolytique.

1.3. Position taxonomique

Depuis le développement des techniques moléculaires, le genre *Lactobacillus* a été revisité une nouvelle fois à travers l'analyse et la comparaison des séquences d'ARN ribosomiaux 16S (ARNr). Cette étude a montré que les lactobacilles ne forment pas un groupe monophylétique. Trois grands groupes ont été constitués sur la base de la comparaison de ces séquences : le groupe *Lactobacillus delbrueckii*, le groupe *Lactobacillus casei*, *Pediococcus* tel que le groupe *Leuconostoc paramesenteroides*.

1.4. Les caractères biochimiques

Les *Lactobacillus* sont catalase, gélatinase et nitrate réductase négative. Ils sont dépourvus de cytochrome, leur type respiratoire est anaérobie ou micro-aérophile (MENAD, 2017).

Les *Lactobacillus* sont subdivisé par leur type fermentaire par Orla-Jensen en trois groupes et cette classification est encore utilisée en milieu industriel (BELHAMRA, 2017)

-Groupe I « Thermobacterium »: comprend les lactobacilles homofermentaires thermophiles qui se développent à 45°C mais pas à 15°C, ce groupe constitué les espèces les plus fréquentes dans l'alimentation (lait, yaourt, fromage) tels que *Lb.helveticus*, *Lb. delbrueckii* et *Lb.acidophilus*.

-Groupe II « Streptobacterium »: regroupe les lactobacilles homofermentaires mésophiles et peuvent être occasionnellement hétérofermentaires en fonction du substrat. Les espèces les plus fréquentes sont *Lb. Casei*, *Lb.curvatus*, *Lb.sake* et *Lb. plantarum*.

-Groupe III « Betabacterium »: ce sont des lactobacilles hétérofermentaires. Il comporte les espèces *Lb.fermentum*, *Lb.brevis* et *Lb.sanfransisco*.

1.5.Caractères morphologiques

Les *Lactobacillus* sont des bacilles à Gram positif (+), ils sont non sporulés et généralement immobiles, ils peuvent se présenter sous forme en bâtonnets longs, fins ou courts, incurvés ou ovoïdes. (BELKEZI, 2020) .La figure 1 montre l'aspect microscopique d'une souche de lactobacilles observée par microscopie électronique .

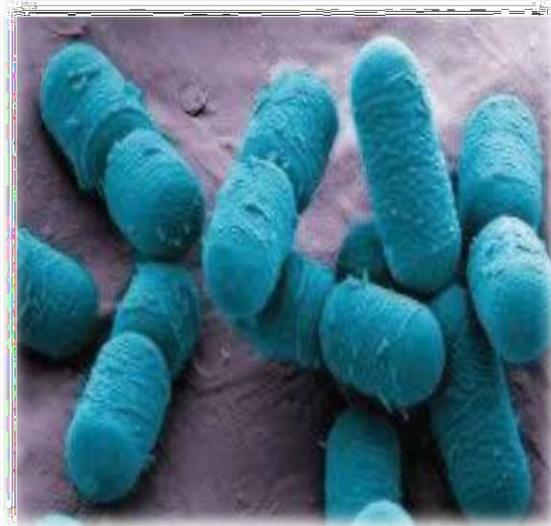


Figure 1 . Aspect microscopique d'une souche de lactobacilles observé par microscope électronique à balayage. (BELKEZI, 2020)

1.6.Caractères cultureux

La plupart des lactobacilles se multiplient dans des températures comprise entre 15°C et 42°C. Certaines espèces de lactobacilles dites « thermophiles » restent viables à 55°C, certaines souches peuvent croître à des températures allant de 2 à 55°C. (MENAD, 2017)

Le milieu le plus adapté à leur culture est celui de MRS (Man Rogosa et Sharpe) et en milieu gélosé, les colonies sont dans la plupart des cas de petites tailles, lisses, brillantes et dans des rares cas, elles sont de couleur jaunâtre ou rougeâtre (BELKEZI, 2020) . Ils se développent dans la condition acide quand le pH allant de 5.4 à 6.4 (quelques espèces peuvent pousser à un pH de 2.8 tel que *Lactobacillus suebicus*). La croissance optimale est obtenue dans des conditions micro-aérophiles bien que la plus part des souches soient anaérobies facultatives.

1.7.Habitat

Les lactobacilles sont présents dans de nombreux biotopes. (tab.1) (BELKEZI, 2020)

Tableau 1. Les différents habitats des lactobacilles . (BELKEZI, 2020)

Habitat	Espèces rencontrées	Activité ou produit
Matériel végétal en Décomposition	<i>Lb. plantarum, Lb. casei Lb. acidophilus</i>	Cornichons, ensilage et Choucroute
Laiterie	<i>Lb. delbrukii , Lb. lactis</i>	Fromage, yoghourts,
Tractus gastro-Intestinal	<i>Lb. Salivarius, Lb. gasseri, Lb. rhamnosus</i>	/
La cavité buccale	<i>Lb. casei, Lb plantarum,</i>	Formation de carie dentaire
Intestin	<i>Lb. gasseri</i>	Flore normale
Vagin	<i>Lb. Vaginalis</i> <i>Lactobacillus spp.</i>	/

1.8.Lait de chamelle

1.8.1.Définition

Le lait est défini en produit de sécrétions des glandes mammaires, des mammifères comme la vache et la brebis, destinés à l'alimentation de jeune animal naissant.

1.8.2Caractéristiques organoleptiques et physico-chimiques du lait de chamelle

1.8.2.1.Caractéristiques organoleptiques

Le lait de chamelle est un liquide d'une couleur blanche mate, en raison de la structure et de la composition de sa matière grasse, pauvre en β -carotène .Il a un goût sucré ou salé, selon le type de fourrage ingéré et la disponibilité en eau, l'ingestion de fourrages comme la

luzerne, lui donne un goût sucré, alors que l'ingestion de certaines plantes halophytes comme *Atriplex*, *Salosa* et *Acacia* rend salé. (Naceur, 2017)

1.8.2.2. Caractéristiques physico-chimiques

Le lait camelin est légèrement plus acide, son pH varie entre 6,2 à 6, 5. (tab.2). (MENAD, 2017).

Tableau 2. Caractéristiques physicochimique de lait camelin (MENAD, 2017)

	pH à 20°C	Acidité (D°C)	Densité
Lait de chamelle	6.51 ± 0,12	18,6 ± 2,93	1,0230 ± 0,004

Les fluctuations qui existent dans les valeurs des constantes physico-chimiques rapportées par différents auteurs sont liées aux teneurs variables des différents composants de ce lait. (MENAD, 2017)

1.8.3. Composition du lait de chamelle

La composition chimique globale du lait de chamelle (tab 3), même si elle fluctue selon les auteurs montre néanmoins des teneurs importantes et équilibrées en nutriments de base (protéines, matière grasse et lactose). Toutefois, elle présente une grande originalité dans la composition fine et qualitative des matières protéiques, des matières grasses et des vitamines. (Bouguerra, 2012).

Tableau 3. Composition chimique (%) du lait camelin (selon différents auteurs)

(Mme HANOUE, Annaba)

Extrait sec (%)	Matières grasses (%)	Protéines (%)	Lactose (%)	Cendres (%)	Références
9,60	1,20	3,07	5,40	0,99	Attia et al., 2001
11,31	2,8	3,56	4,38	0,72	Siboukeur, 2007
12,18	5,74	2,90	-	0,69	Eshraga et al., 2011
10,92	3	3,39	3,52	0,93	Boudjenah, 2012
10,13	4,4	2,8	4,3	0,82	Mortada et al., 2013

1.8.4.Microbiologie du lait camelin

Les microorganismes existant dans notre environnement vont donc trouver dans ce bioproduit un substrat idéal pour leur développement. La présence de nombreux facteurs de croissance permet de satisfaire de nombreuses espèces microbiennes exigeantes et difficiles à cultiver dans un milieu moins complet .Le lait contient peu de microorganismes (3000 germes/ml) lorsqu'il est prélevé dans de bonnes conditions et à partir d'un animal sain. (DRA Ghislaine, 2018).

Le lait peut aussi être contaminé par des germes, issus des fèces et des téguments de l'animal, du sol de la litière et des aliments, de l'air et l'eau, des équipements de traite et de stockage, des manipulateurs et de vecteurs divers. (DRA Ghislaine, 2018).

1.8.5.Propriétés thérapeutiques et médicinales

Le lait de chamelle est apprécié traditionnellement pour sa propriété anti-infectieuse, anti-cancéreuse (La Lactoferrine), antidiabétique (l'insuline) et comme reconstituant chez les malades convalescents, ces propriétés relèvent cependant le plus souvent d'observations empiriques, dont les fondements scientifiques mériteraient d'être précisés, ces observation peuvent être reliées à la composition du lait de chamelle, certains des composants tant sur le plan quantitatif que qualitatif pourraient être associés à ces propriétés.

Particulièrement les facteurs antibactériens, l'insuline et la vitamine C, à cela s'ajoutent les propriétés probiotiques des bactéries lactiques présentes dans les produits fermentés camelins.

Chapitre 2

Les probiotique

2.1.Historique

Le concept des probiotique provient d'un chercheur et Prix Nobel Russe, Elie Metchnikoff (1907) qui avait pour théorie que la longévité des paysans bulgares était directement liée à leur consommation de laits fermentés. (RAHLI, 2015)

Ainsi, Metchnikoff en (1907) avait proposé l'ingestion de bactéries vivantes, particulièrement des bactéries lactiques, pour réduire les désordres intestinaux et améliorer l'hygiène digestive, et donc augmenter l'espérance de vie (RAHLI, 2015). Ce terme a été introduit pour la première fois par Lilly et Stilwell en (1965) pour décrire des substances produites par des microorganismes et qui stimulent la croissance d'autres microorganismes.

Ensuite, Parker (1974) élargit cette définition à des « organismes et substances qui contribuent à l'équilibre de la microflore intestinale». Cette définition englobant les microorganismes et les métabolites microbiens produits (les antibiotiques), a été modifiée par (Fuller, 1989) qui redéfinit les probiotique comme étant: « des préparations microbiennes vivantes utilisées comme additifs alimentaires et qui ont une action bénéfique sur l'animal hôte en améliorant la digestion et l'hygiène intestinale ».

2.2.Définition

Le terme probiotique dérive des deux mots grecs « pros » et « bio »qui signifient littéralement "pour la vie". Il a été introduit pour la première fois par Lilly et Stilwell en 1965. Selon la définition actuellement adoptée par la FAO / OMS (2002) ; « les probiotique sont des microorganismes vivants administrés en quantités adéquates et qui sont bénéfiques pour la santé de l'hôte » (Bouguerra, 2012).

2.3.Les principales souches microbiennes à potentiel probiotique

Les principaux microorganismes probiotiques sont des bactéries (Lactobacilles, Bifidobactéries, Propionibactéries, *Escherichia coli* et Entérocoques) et des levures (*Saccharomyces boulardii*). (Bouguerra, 2012).

2.4.Les probiotiques et leurs effets bénéfiques sur la santé

On a Plusieurs effets bénéfiques des probiotique sur la santé. (tab .03) illustre la diversité de ces effets documentés et rapportés dans la littérature.

Tableau 4 . Les principaux effets bénéfiques attribuées aux probiotiques
(HADEF, 2012)

Effets intestinaux	Effets sur le système	
	immunitaires	Autre
Contrôle des troubles suivants :	-Modulation immunitaire	Réduction du risque de :
-Mauvaise digestion du lactose	-répression des réactions allergiques par réduction de l'inflammation	-Certains cancers (colorectal, vessie, col utérin, sein)
-Diarrhée due aux rota virus et diarrhée associée aux antibiotiques	-réduction des risques d'infection par des agents pathogènes courants (salmonella, shigella)	-Coronaropathie
-Syndrome du côlon irritable		-Maladie des voies urinaires
-Constipation		-Infection des voies respiratoires supérieures et Infections connexes
-Infection par Helicobacter pilori		Réduction du cholestérol sérique et de la pression artérielle
-Prolifération bactérienne dans l'intestin grêle		
-Maladies inflammatoires chroniques de l'intestin		
-Prévention de l'entérocolite nécrosante du nouveau-né		

2.5.Critères de sélection des souches à potentiel probiotique

Le choix des souches probiotique dépend de ses propriétés qui sont variables selon l'espèce ou la souche microbienne.

Un micro-organisme doit être soumis aux étapes de caractérisations suivantes avant d'avoir le statut probiotique:

- Non pathogène.
- Résistance au pH acide de l'estomac et aux concentrations biliaires présentes dans l'intestin grêle.

- Adhérer aux différents tissus épithéliaux du tractus gastro-intestinal.
- Avoir une bonne colonisation du tube digestif.
- Produire des substances antimicrobiennes capables d'inactiver des pathogènes.
- Moduler les réponses immunitaires.

2.6.Mécanismes d'action et d'adaptation des probiotiques

Les mécanismes d'action des probiotiques sont encore très incomplètement connus et sont présentés au figure 2. Il est par ailleurs vraisemblable qu'ils varient en fonction du probiotique utilisé, et peut être de la dose administrée. Les effets des probiotiques résultent essentiellement de leurs interactions avec le contenu digestif d'une part, à la fois avec les nutriments présents dans la lumière intestinale et avec les composants de la flore endogène, et avec le contenant d'autre part, principalement les cellules épithéliales intestinales et les cellules immunocompétentes. Le processus de résistance des bactéries aux stress rencontrés dans le tractus digestif, l'adaptation de leur métabolisme à l'environnement nutritionnel de l'hôte, que sur les déterminants de leur adhésion à la muqueuse intestinale ; les investigations concernent un des trois mécanismes d'action communément attribués à ces bactéries que sont :

- L'inhibition des pathogènes et la restauration de l'homéostasie microbienne.
- La protection de l'épithélium intestinal.
- La modulation . (AbdelMalek, 2017)

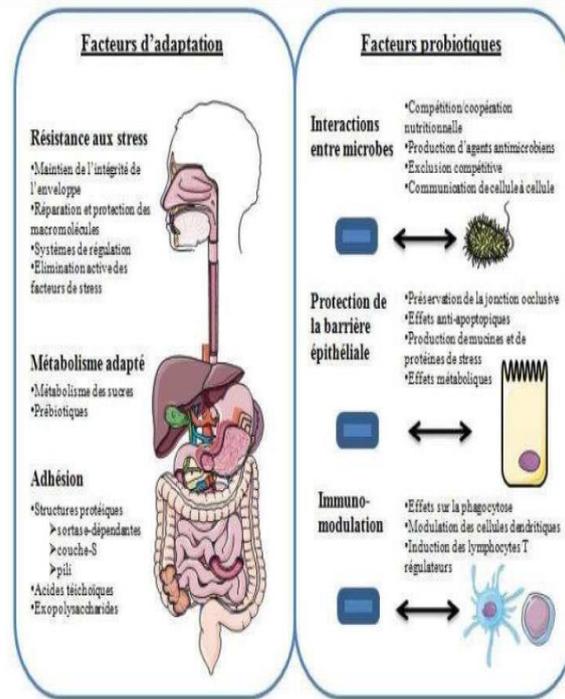


Figure 2. Mécanismes d'action des probiotiques (AbdelMalek, 2017)

Partie Expérimentale

Chapitre 3

Matériels et Méthodes

3.1.Echantillonnage

Les échantillons ont été ramassés de différentes fermes de chameaux à Abu Dhabi, Émirats arabes unis, cinquante échantillons fraîche ont été collectés de lait de chamelle en bonne santé dans des bouteilles stérilisées, puis conservés dans la glace ; et doit transportés au laboratoire de microbiologie alimentaire de l'Université des Émirats arabes unis pour isolement et l'étude de caractérisation.

3.2.Isolement des bactéries lactiques

Les LB ont été isolées en utilisant la méthode de l'étalement sur le milieu de la culture MRS (Mann Rogosa Sharpe), qui est un milieu sélectif pour les lactobacilles. Les boîtes de Pétri ont été incubées à 30 ° C pendant 48 h en anaérobiose. 100 (Cent) colonies ont été prélevés avec différentes morphologie, ensuite une coloration de Gram et un test de catalase ont été réalisés afin de différencier les souches de lactobacilles .Vingt-trois colonies qui étaient Gram positifs et catalase négatifs ont été soumis à d'autres tests.

3.3.Purification et conservation

Pour maintenir la pureté des colonies, des repiquages ont été faites dans du bouillon MRS est stockée dans du glycérol (50%) à - 80 °C.

3.4.Évaluation des caractéristiques probiotiques

3.4.1. Tolérances à l'acidité

Les tolérances à l'acidité et à la bile des isolats purs ont été effectuées selon (Liong & Shah, 2005). La tolérance à l'acidité a été étudiée en incubant les isolats dans un bouillon MRS supplémenté avec 0,30% d'oxgall et ajusté à pH 2, les cultures ont été incubées à 37 ° C pendant 2 h.

Chaque souche a été repiquées 3 fois avant chaque test, suivie d'une centrifugation après le dernier repiquage, ensuite les cellules sont remis en suspension et inoculé (1% v/v) dans le bouillon MRS traité.

Un échantillon de 1 ml a été prélevé chaque 30 minute pendant 2 h et des dilutions décimales sont effectuées dans l'eau en peptone.

Les échantillons ont étéensemencés en surface de boîtes de gélose MRS, et incubées à 37 ° C pendant 24 h en anaérobiose avec un kit de génération de gaz.

la tolérance aux acides a été déterminée en comparant le nombre des colonies après 2 h avec le comptage initial 0 h.

3.4.2. La tolérance aux sels biliaire

Trois types de bile ont été utilisés, à savoir l'oxgall, l'acide cholique et l'acide taurocholique, pour étudier la tolérance à la bile des souches isolées.

Un bouillon MRS contenant 0,30% (poids / vol) d'oxgall, d'acide cholique, ou l'acide taurocholique a été inoculé avec chaque souche, et incubé à 37 ° C. MRS exempt de sels est utilisé comme témoin.

Les valeurs d'absorbance obtenues ont été tracées en fonction du temps d'incubation, et la tolérance à la bile de chaque souche a été basée sur le temps nécessaire pour que la valeur d'absorbance augmente de 0,3 unité.

Pour évaluer la tolérance à la bile de chaque souche. Le pH de la fermentation du bouillon au temps = 0 ont été mesurés, et d'autre mesure après l'augmentation de l'absorbance de 0,3 unité.

Les valeurs de pH de tous les bouillons de fermentation au temps = 0 ont été mesurées, et une autre mesure a été prise après l'augmentation de l'absorbance de 0,3 unité. Toutes les expériences ont été répliquées deux fois.

3.4.3. Auto-aggrégation

L'autoaggrégation est déterminée selon la méthode de (Angmo, Kumari, Savitri, & Bhalla, 2016) , une culture fraîche des cellules bactérienne sont récupérées par centrifugation à 4000 tr/10 min, le culot bactérien obtenu est lavé deux fois avec du tampon PBS et remis en suspension dans la même solution. La densité optique de la suspension est ajustée à (A0h) = $0,5 \pm 0,02$ à 600 nm. (3 ml) de la suspension bactérienne est agitée par vortex pendant 10 s. Après incubation à 37°C pendant 2 h, la densité optique du surnageant est mesurée à 600 nm (A2 h) et le pourcentage d'Auto-aggrégation est exprimé en ; % Auto agrégation = $1 - (A2 h / A0 h) \times 100$, où A2 représente l'absorbance au temps t et A 0 représente l'absorbance à t = 0.

3.4.4. Hydrophobicité de la surface cellulaire

Cette propriété est étudiée par la méthode décrite par (Mishra & Prasad, 2005). Une culture fraîche de 16-18h en MRS bouillon est centrifugée puis culot des cellules est lavées deux fois avec un tampon phosphate urée et sulfate de magnésium, en suite ont été remis en suspension dans le même tampon, et ajustés à une absorbance 0,7-0.9 à 610 nm. (0.3ml) de suspension cellulaires a été mélangée avec 1ml d'hydrocarbure (xylène) et incubée à 37°C pendant 1 h afin que la phase aqueuse se sépare de la phase organique ; la phase aqueuse (1ml) a été ensuite aspirée doucement et l'absorbance a été mesuré à 610 nm. L'hydrophobicité est calculé selon l'équation suivante. Le pourcentage d'hydrophobicité % = $(1-A1/A0) \times 100$.

Où A1 représente l'absorbance au temps t et A0 représente l'absorbance à t = 0.

3.4.5. Co-agrégation

La co-agrégation des isolats contre quatre pathogènes à 20 ° C et 37 ° C pendant 4 heures d' incubation est déterminée selon (Zuo, et al., 2016). Le pourcentage de co-agrégation a été exprimé comme suit : $[(A0-At)/A0] \times 100$

La préparation des suspensions cellulaires était la même que pour l'auto- aggrégation, un volume de 1 ml de suspensions cellulaires de souches isolées et 1 ml la suspension de la souche pathogène *Listeria monocytogenes* ont été mélangées dans un cuvette, et la DO600 a été immédiatement mesurée, après incubation du mélange à 37 ° C pendant 2 h, La DO600 a de nouveau été mesurée.

la Co agrégation a été calculée à l'aide de l'équation suivants : co-agrégation

$$\% = (A0 - At) / A0 \times 100.$$

3.4.6. Activité antibactérienne

Afin d'évaluer l'activité antimicrobienne, MRS gélose solide en boîtes de Pétri est recouvert par 7 ml de gélose nutritive molle inoculée avec 20 µl d'une culture jeune de souches pathogènes. Après solidification, différents puits sont creusés et puis remplis par 50 µl du surnageant obtenu en centrifugeant de cultures bactériennes de 24 heures. Le surnageant neutralisé à pH 6,5 a été également inoculé dans les puits. Le diamètre de la zone d'inhibition entourant les puits a été mesuré et une zone claire de 1 mm ou plus a été considérée comme une inhibition positive.

3.4.7. Sensibilité aux antibiotiques

La résistance des isolats aux antibiotiques a été réalisée selon Das, Khowala, and Biswas (2016). Les antibiotiques utilisés sont comme suit : PEN: penicillin (10 µg); TRI: trimethoprim (25 µg); AMP: ampicillin (10 µg); CLI: clindamycin (2 µg); VAN: vancomycin (30 µg); ERY: erythromycin (15µg).

Les tests ont été réalisés en triple et les diamètres de zone d'inhibition de croissance (mm), s'il y en a, ont été notés.

3.4.8. Test d'hémolyse

Selon (Angmo, Kumari, Savitri, & Bhalla, 2016),

L'activité hémolytique des isolats a été testée selon Angmo et al., (2016). Les isolats ont été ensemencés en milieu Columbia gélose complétée supplémenté par 5% sang de mouton, puis incubées les échantillons à 37 ° C pendant 24 h.

Les résultats de l'hémolyse soit une zone d'hémolyse claire (beta- hémolytique ou hémolytique complète), ou bien ayant un halo verdâtre (alpha -hémolytique ou hémolytique partiel), ou pas d'halo qui signifie l'absence d'hémolyse (gamma- hémolytique).

3.4.9. La production des Exopolysaccharides

Le test de production d'exopolysaccharide pour les souches LB a été réalisé selon la méthode de (Angmo, Kumari, Savitri, & Bhalla, 2016). Qui a été évaluée selon la procédure de (Mora, Fortina, Parini, Ricci, & Gatti, 2002), La production d'exopolysaccharide a été évaluée dans des boîtes de Pétri de lait rouge de ruthénium (RRM) qui contient de 0 à 5% d'extrait de levure, 10% de poudre de lait écrémé, 1% de saccharose, 1 à 5% d'agar et 0 à 0,8 g de rouge de ruthénium par litre. La paroi des cellules bactériennes est colorée par le rouge ruthénium, produisant des colonies rouges pour les souches non- visqueuses et de colonies blanches pour les souches visqueuses.

3.4.10. Profil de fermentation

Les capacités de fermentation des isolats de LB sélectionnés ont été évaluées selon (Angmo, Kumari, Savitri, & Bhalla, 2016), Le lait écrémé bovin reconstitué (5% p / v) a été stérilisé à 105 ° C pendant 5 min puis remettre à 37 ° C et inoculé par 1,5% d'isolats LB activement sélectionnés, suivi d'une incubation à 37 ° C pendant 24 h. Les échantillons de lait fermenté ont été conservés à 4 ° C pendant 21 jours. Des échantillons ont été prélevés chaque

7 jours pendant la période de stockage pour le dénombrement des cellules bactériennes, puis mesurée le pH et l'activité protéolytique à l'aide de l'OPA.

3.4.10.1. Dénombrement bactérienne et pH

Ont été préparées des dilutions en série appropriées dans une solution de peptone et d'eau à 0,1%, et les populations des LB ont été comptées à l'aide de la gélose MRS. Les boîtes de Pétri inoculées en double ont été incubées à 37 ° C pendant 48 h en anaérobie en utilisant des jarres anaérobies, le pH ont été mesurées de chaque échantillon en utilisant un pH-mètre numérique.

3.4.10.2. L'activité protéolytique (OPA)

Les activités protéolytiques d'échantillons fermentés ont été dosées selon. (Elfahri, Vasiljevic, Yeager, & Donkor, 2016) , les résultats de protéolyse sont présentés sous forme d'absorbance à 340 nm ,l'activité protéolytique dans le lait à 0, 4, 8, 12 et 24 h de fermentation a été mesurée et évalué par la libération de groupes amine libres à l'aide de la méthode (OPA) O-Phtal-dialdéhyde . 10 ml de Acide Trichloracétique (TCA) à 1% (p / v) ont été ajoutés à 10 ml de chaque échantillon pour précipiter de grosses protéines. Le mélange a été centrifugé à 4000 tr/ pendant 30 min à 4 ° C et le surnageant a été filtré par filtration de type sous vide en utilisant un filtre de 0,45 µm. 150 µl de La suspension collectée a été mélangée avec 3 ml de réactif OPA et laissée à température ambiante (~ 20 ° C) pendant 2 minutes. L'absorbance de chaque mélange a été mesurée à 340 nm avec un spectrophotomètre, et l'activité protéolytique a été exprimée comme l'absorbance des dérivés OPA à 340 nm. Le degré relatif d'activité protéolytique de tous les échantillons a été comparé à celui du lait témoin au début.

3.4.11. Hydrolyse des sels biliaires(BSH)

Les activités BSH d'isolats purs ont été mesurées en déterminant la quantité d'acides aminés libérés des sels biliaires conjugués par les souches selon Liong et Shah (2005).

Brièvement, les cellules cultivées dans un bouillon MRS pendant 20 h ont été centrifugées à 10 000 g à 4° C pendant 10 min. Le culot cellulaire a été lavé deux fois avant suspension dans 10 ml de tampon phosphate 0,1 M (pH 7,0). La concentration cellulaire a été ajustée à une valeur de DO de 1 unité à 600 nm.

Cinq millilitres de la suspension cellulaire ont été mis en sonification pendant 3 min avec un refroidissement constant dans de la glace, suivi par une centrifugation à 10 000 g à 4° C pendant 10 min. A 0,1 ml de surnageant correctement dilué obtenu, 1,8 ml de tampon

phosphate de sodium 0,1 M (pH 6) et 0,1 ml de sel biliaire conjugué ont été ajoutés. La bile conjuguée utilisée était le glycocholate de sodium 6 mM, le taurocholate de sodium 6 mM ou le mélange de sels biliaires conjugués 6 mM (acide glycocholique, acide glycochénodésoxycholique, acide taurocholique, acide taurochénodésoxycholique, et l'acide taurodésoxycholique).

Le mélange a été incubé à 37 ° C pendant 30 minutes. La réaction enzymatique a été interrompue en ajoutant 0,5 ml d'acide trichloroacétique (15% poids vol 1) à 0,5 ml d'échantillon. Le mélange a été centrifugé et 0,2 ml de surnageant obtenu a été ajouté à 1 ml d'eau distillée et 1 ml de réactif ninhydrine (0,5 ml de ninhydrine à 1% dans un tampon citrate 0,5 M pH 5,5, 1,2 ml de glycérol à 30%, 0,2 ml de tampon citrate 0,5 M pH 5,5).

La préparation a été vortexée et bouillie pendant 14 min. Après refroidissement ultérieur, l'absorbance à 570 nm a été déterminée en utilisant de la glycine ou de la taurine comme standards. Une unité d'activité BSH a été définie comme la quantité d'enzyme qui a libéré 1 mmol d'acide aminé du substrat par minute.

3.4.12.Élimination du cholestérol

MRS bouillon fraîchement préparé contenant 0,3% d'oxgall a été inoculé avec chaque souche isolée et incubé pendant 24 h à 37 ° C. Les cellules sont récoltées par centrifugation à 4000 x g à 4 ° C pendant 20 min et lavées deux fois avec de l'eau stérile.

Pour préparer les cellules tuées par la chaleur, les culots cellulaires ont été mis en suspension dans 10 ml d'eau et autoclavés à 121 ° C pendant 15 min. Les cellules tuées par la chaleur ont été en outre mises en suspension dans un bouillon MRS supplémenté avec 0,3% (p / v) d'acide oxgall et 100 g / ml de cholestérol soluble dans l'eau et incubées pendant 24 h à 37 ° C. Pour préparer les cellules au repos, les culots cellulaires ont été mis en suspension dans 10 mL de tampon phosphate stérile (0,05 M, pH 6,8) contenant 0,3% (p / v) d'acide oxgall et 100 mg / mL de solution aqueuse de cholestérol et incubés pendant 24 h à 37 ° C.

Après incubation, les mélanges est centrifugés à 4000 xg à 4 ° C pendant 20 min et les concentrations de cholestérol dans les surnageant ont été mesurées en utilisant la méthode spectrophotométrique selon Liong et Shah (2005).

3.4.13. La résistance aux lysozymes

Les cellules cultivées pendant une nuit d'isolats de Lactobacilles ont été centrifugées (7 000 tr / min, 10 min, 4 ° C). Les cellules ont été lavées deux fois avec du PBS et les culots ont été remis en suspension dans une solution de Ringer ,(10 µl) de suspension été inoculée dans une solution d'électrolyte stérile (CaCl₂ 0,22 g / l; NaCl 6,2 g / l; KCl 2,2 g / l; NaHCO₃ 1,2 g / l) avec 100 mg / l de lysozyme, puis incubés à 37 ° C et après 2 h d'incubation, le nombre de cellules viables a été dénombré en utilisant la méthode de comptage sur boîtes .

3.4.14. La résistance à la chaleur

La résistance à la chaleur a été évaluée selon Pa é z et al. (2012), les cultures de nuit ont été récoltées dans du bouillon MRS (5000 g, 15 min, 5 ° C), puis elles lavées deux fois avec (PBS) à pH =7,5 et remises en suspension dans du lait écrémé à 10% (Nestlé, Brésil). Les suspensions cellulaires ont été placées dans un bain-marie à 60 ° C pendant 5 min puis immédiatement refroidies dans un bain de glace. Les cellules viables ont été comptées a dans une gélose MRS pendant 48 h à incubation 37 ° C, immédiatement avant et juste après l'exposition à la chaleur.

4. Identification des isolats sélectionnés par séquençage de l'ADNr 16S

L'ADNr 16S de souches sélectionnées a été ampli fi é par la procédure de PCR décrite dans Angmo et al. (2016).

Les primers 27F (5' - AGAGTTT-GATCCTGGCTCAG-3') et 1492R (5-TACGGYTACCTTGTTACGACTT-3') ont été employé pour l'amplification d'ADN.

Le séquençage a été fait par la firme Macrogen, Korea. Les résultats de la séquence ont été alignés sur la base de données NCBI en utilisant l'algorithme BLAST. Les numéros d'accession ont été reçus pour certains isolats LAB par GenBank. La méthode de voisinage a été appliquée pour déterminer l'espèce bactérienne la plus proche (Saitou et Nei, 1987) à l'aide du logiciel MEGA 7.0.

Chapitre 4

Résultats et Discussion

4.1. Caractérisation générale des isolats

Vingt-trois isolats sur 100 colonies isolées ont représentés une forme bâtonnet, Gram positifs et catalase négatif. Les 23 isolats ont montré de meilleures capacités de croissance à une température d'incubation de 37 ° C par rapport à 30 ° C. Ces 23 souches ont été soumises au test de tolérance à l'acidité et à la bile,

4.2. Tolérances à l'acidité et aux les sels biliaires

Le (tab.5) présente les résultats de la tolérance de 23 isolats à l'acide à pH 2,0 et la tolérance à l'égard de différentes concentrations d'oxgall, l'acide colique et l'acide taurocholique. La croissance des isolats a diminué ($p < 0,05$) pendant les 2 heures d'incubation à 37° C sous les conditions d'acidité à pH 2,0. La réduction de la

croissance a fluctué entre 0,29 et 6,78 log₁₀ ufc/ml. Les isolats ont montré une résistance remarquable à l'acide choliques et à l'acides taurocholiques par rapport à l'Oxgall.

Dans l'ensemble, les isolats 15, 70, 34, 66, 76, 22, 51, 73 et 47 (tableau 5), entre autres, ont exprimé une résistance plus élevée contre les sels biliaires. Sur la base des tolérances à l'acide et à la bile, les isolats 15, 70, 34, 66, 76, 22, 51, 73 et 47 ont été sélectionnés pour une caractérisation ultérieure.

Des résultats similaires ont été obtenus par Mahmoudi et al 2016 où 19 isolats de *Lactobacillus* ont exprimé une résistance supérieure à 90% à pH 2, ce qui est considéré comme une bonne résistance aux acides.

La résistance aux sels biliaires a été étudiée également par (MAHMOUDI, et al., 2016) , où 6 souches de *Lb.plantarum* ont exprimé une viabilité de 92,38% jusqu'au 99.4%.

Des résultats similaires à notre étude ont été rapportés par Angmo et al. (2016) et Das et al. (2016) pour des lactobacillus isolé de boissons du Ladakh et d'échantillons marins.

De la même façon, la résistance aux acides des isolats sélectionnés dans cette étude étaient plus élevées que celles rapportées par Angmo et al. (2016) à pH 2,0.

Les tolérances aux stress acides et biliaires sont des propriétés importantes pour toute bactérie possédant un potentiel probiotique. La capacité du probiotique à survivre, en nombre suffisant, après avoir été soumis à une acidité gastrique (pH bas) et aux conditions de l'intestin (sels biliaires) est important pour être utilisé dans l'industrie alimentaire (Chalas et al., 2016).

La tolérance aux acides et à la bile de tous les isolats est variée considérablement en raison de la spécificité de la souche ou de l'espèce.

Tableau 5. La tolérance à l'acidité et à la bile de 23 isolats de lait de chamelle (Abushelaibi, Al-Mahadin, El-Tarabily, P. Shah, & Ayyash, 2017)

Isolates	Acid tolerance (Log10 CFU)		Bile tolerances (%)									
	pH 2.0		0.3 Oxgall		1.0 Oxgall		0.3 Colic acid		0.3 TA		1.0 TA	
	0 h	2 h	3 h	6 h	3 h	6 h	3 h	6 h	3 h	6 h	3 h	6 h
Iso15	9.9 ± 0.05 ^{cdef}	9.5 ± 0.00 ^a	17.6 ± 0.40 ^{ij}	73.1 ± 1.95 ^{abcd}	1.3 ± 0.05 ^m	68.9 ± 1.80 ^{abcde}	1.7 ± 0.05 ^{cde}	22.0 ± 0.60 ^{bc}	11.8 ± 0.25 ^e	17.3 ± 0.45 ^{bc}	5.9 ± 0.15 ^j	43.5 ± 1.15 ^{bc}
Iso18	9.5 ± 0.10 ^{defgh}	3.7 ± 0.00 ^{efg}	25.2 ± 0.75 ^{gh}	38.4 ± 0.95 ⁱ	48.8 ± 1.45 ^{bc}	58.1 ± 1.40 ^{gh}	60.1 ± 1.75 ^a	75.5 ± 1.85 ^a	14.8 ± 0.45 ^d	5.9 ± 0.15 ^{ij}	24.9 ± 0.70 ^{bc}	12.3 ± 0.30 ^{kl}
Iso21	9.5 ± 0.05 ^{efgh}	3.4 ± 0.00 ^{efg}	35.7 ± 1.05 ^{de}	73.5 ± 1.60 ^{abc}	21.9 ± 0.65 ^{jk}	72.1 ± 1.55 ^{abcd}	0.3 ± 0.00 ^e	21.8 ± 0.45 ^{abcd}	6.4 ± 0.15 ^{ij}	14.9 ± 0.35 ^{cd}	18.0 ± 0.55 ^d	33.3 ± 0.70 ^{def}
Iso22	9.8 ± 0.05 ^{cdefg}	7.1 ± 0.25 ^b	33.9 ± 0.95 ^{def}	77.3 ± 1.70 ^{ab}	24.5 ± 0.70 ^{hi}	73.5 ± 1.65 ^{abcd}	0.3 ± 0.00 ^e	22.2 ± 0.45 ^{bc}	18.7 ± 0.55 ^{bc}	13.7 ± 0.30 ^{de}	29.5 ± 0.85 ^a	34.6 ± 0.75 ^{de}
Iso27	9.2 ± 0.05 ^b	4.4 ± 0.10 ^{def}	33.9 ± 1.00 ^{def}	75.0 ± 1.65 ^{abc}	18.9 ± 0.55 ^{jk}	71.5 ± 1.55 ^{abcd}	0.3 ± 0.00 ^e	20.5 ± 0.45 ^{cde}	12.4 ± 0.35 ^e	12.4 ± 0.25 ^{def}	22.9 ± 0.65 ^c	36.5 ± 0.80 ^d
Iso28	9.5 ± 0.00 ^{defgh}	4.4 ± 0.10 ^{def}	37.8 ± 1.10 ^{cde}	75.2 ± 0.05 ^{abc}	23.3 ± 0.70 ^{hi}	72.6 ± 1.05 ^{abcd}	0.3 ± 0.00 ^e	22.6 ± 0.40 ^{bc}	20.1 ± 0.60 ^b	13.2 ± 2.00 ^{def}	30.4 ± 0.90 ^a	32.2 ± 1.85 ^{def}
Iso33	9.4 ± 0.25 ^{gh}	2.9 ± 0.05 ^f	25.6 ± 0.75 ^{gh}	72.7 ± 1.60 ^{abcd}	10.0 ± 0.25 ^l	69.5 ± 1.55 ^{bcde}	0.4 ± 0.05 ^f	24.4 ± 0.55 ^b	8.6 ± 0.25 ^{gh}	14.1 ± 0.30 ^{de}	15.7 ± 0.45 ^{de}	41.3 ± 0.90 ^c
Iso34	10.8 ± 0.05 ^a	9.1 ± 1.10 ^a	35.8 ± 0.70 ^{de}	77.5 ± 2.40 ^{ab}	23.5 ± 0.70 ^{hi}	74.8 ± 2.35 ^{abc}	1.0 ± 0.05 ^{de}	17.3 ± 0.55 ^{efgh}	12.1 ± 0.35 ^e	14.6 ± 0.45 ^{cde}	25.1 ± 0.75 ^{bc}	29.1 ± 0.90 ^{gh}
Iso39	9.3 ± 0.15 ^{gh}	3.2 ± 0.05 ^{efg}	29.3 ± 0.55 ^{gh}	38.3 ± 1.25 ⁱ	30.6 ± 0.60 ^{kl}	51.4 ± 1.60 ^{kl}	0.1 ± 0.00 ^e	0.2 ± 0.05 ^j	4.3 ± 0.05 ^k	8.2 ± 0.25 ^{hi}	11.2 ± 0.25 ^{gh}	11.2 ± 0.35 ^{lm}
Iso41	9.2 ± 0.10 ^{gh}	3.1 ± 0.05 ^{efg}	36.5 ± 0.70 ^{de}	67.4 ± 2.15 ^{cdef}	30.4 ± 0.60 ^{kl}	67.6 ± 2.15 ^{bcdef}	0.3 ± 0.00 ^e	15.0 ± 0.45 ^{ghi}	5.8 ± 0.15 ^{jk}	12.1 ± 0.40 ^{def}	12.9 ± 0.25 ^{gh}	21.2 ± 0.65 ^{hi}
Iso45	9.2 ± 0.10 ^{gh}	3.1 ± 0.00 ^{efg}	32.5 ± 0.65 ^{ef}	56.5 ± 1.80 ^{gh}	36.3 ± 0.70 ^{ef}	68.6 ± 2.15 ^{bcde}	0.3 ± 0.00 ^e	0.6 ± 0.05 ^j	4.7 ± 0.10 ^{kl}	3.9 ± 0.10 ^{kl}	15.8 ± 0.30 ^{de}	12.0 ± 0.40 ^{kl}
Iso47	9.6 ± 0.05 ^{cdefgh}	5.4 ± 0.05 ^{cd}	34.5 ± 0.65 ^{def}	80.8 ± 2.55 ^a	17.8 ± 0.35 ^k	72.6 ± 2.25 ^{abcd}	3.4 ± 0.10 ^{bc}	23.0 ± 0.75 ^{bc}	17.1 ± 0.35 ^c	17.4 ± 0.55 ^{bc}	25.9 ± 0.50 ^b	46.4 ± 1.45 ^{ab}
Iso49	9.8 ± 0.15 ^{cdefg}	3.2 ± 0.05 ^{efg}	35.8 ± 0.70 ^{de}	54.3 ± 1.70 ^{gh}	44.4 ± 0.85 ^{cd}	75.9 ± 2.40 ^{ab}	2.0 ± 0.05 ^{cde}	0.2 ± 0.00 ^j	5.4 ± 0.10 ^{jk}	8.7 ± 0.25 ^{ghi}	15.1 ± 0.30 ^{ef}	11.2 ± 0.35 ^{lm}
Iso51	9.7 ± 0.05 ^{cdefgh}	6.4 ± 0.05 ^{bc}	38.2 ± 0.75 ^{cd}	73.0 ± 2.30 ^{abcd}	31.1 ± 0.60 ^{kl}	72.2 ± 2.25 ^{abcd}	0.3 ± 0.00 ^e	17.8 ± 0.55 ^{efgh}	10.7 ± 0.20 ^{ef}	11.5 ± 0.35 ^{efg}	18.4 ± 0.35 ^d	31.3 ± 1.00 ^{ef}
Iso57	9.6 ± 0.05 ^{cdefgh}	3.4 ± 0.00 ^{efg}	35.6 ± 1.20 ^{de}	58.2 ± 1.00 ^{gh}	45.0 ± 0.90 ^{cd}	74.0 ± 1.25 ^{abcd}	0.3 ± 0.00 ^e	0.1 ± 0.00 ^j	1.9 ± 0.05 ^l	6.1 ± 0.10 ^{ij}	0.2 ± 0.00 ^j	18.5 ± 0.35 ^{ij}
Iso66	10.9 ± 0.05 ^a	9.1 ± 0.10 ^a	16.3 ± 0.55 ^j	67.6 ± 1.20 ^{cdef}	1.0 ± 0.05 ^m	61.1 ± 1.05 ^{efgh}	1.4 ± 0.05 ^{cde}	13.8 ± 0.25 ⁱ	9.3 ± 0.30 ^{gh}	24.3 ± 0.40 ^a	5.1 ± 0.20 ^f	47.5 ± 0.80 ^{ab}
Iso70	10.6 ± 0.20 ^{ab}	9.6 ± 0.15 ^a	49.5 ± 1.65 ^a	62.5 ± 1.05 ^{efgh}	70.7 ± 2.40 ^a	81.0 ± 1.40 ^a	0.2 ± 0.05 ^f	1.0 ± 0.00 ^j	14.5 ± 0.50 ^d	0.9 ± 0.00 ^k	15.1 ± 0.50 ^{ef}	5.2 ± 0.10 ^h
Iso73	9.7 ± 0.05 ^{cdefgh}	6.2 ± 0.05 ^{bc}	33.3 ± 1.15 ^{def}	62.7 ± 1.05 ^{efgh}	40.5 ± 1.35 ^{de}	74.1 ± 1.25 ^{abcd}	0.6 ± 0.00 ^{de}	3.2 ± 0.05 ^j	1.4 ± 0.00 ^f	2.2 ± 0.05 ^k	1.8 ± 0.10 ^f	6.7 ± 0.10 ^{mn}
Iso76	9.7 ± 0.15 ^{cdefgh}	7.2 ± 0.00 ^b	38.1 ± 1.25 ^{cd}	71.8 ± 1.25 ^{abcde}	28.6 ± 1.00 ^{gh}	65.5 ± 1.10 ^{cdef}	0.9 ± 0.00 ^{de}	16.5 ± 0.30 ^{efghi}	7.0 ± 0.20 ^{hi}	10.5 ± 0.20 ^{efgh}	10.7 ± 0.35 ^{gh}	14.1 ± 0.25 ^{ijkl}
Iso78	9.7 ± 0.10 ^{cdefgh}	4.5 ± 0.05 ^{de}	45.0 ± 1.50 ^{ab}	70.3 ± 1.85 ^{bcde}	36.4 ± 1.25 ^{ef}	67.6 ± 1.85 ^{bcdef}	2.6 ± 0.10 ^{bcd}	14.3 ± 0.40 ^{hi}	8.4 ± 0.25 ^{gh}	6.3 ± 0.15 ^{ij}	9.2 ± 0.30 ^{gh}	16.4 ± 0.40 ^{ijkl}
Iso82	10.1 ± 0.00 ^{bc}	3.3 ± 0.00 ^{efg}	43.2 ± 0.95 ^{bc}	53.7 ± 1.45 ^h	49.5 ± 1.10 ^{bc}	64.5 ± 1.75 ^{def}	1.0 ± 0.00 ^{de}	18.6 ± 0.50 ^{def}	14.7 ± 0.30 ^d	14.1 ± 0.40 ^{de}	23.2 ± 0.50 ^{bc}	24.4 ± 0.70 ^{gh}
Iso84	10.0 ± 0.05 ^{cde}	3.5 ± 0.00 ^{efg}	49.2 ± 1.10 ^a	63.5 ± 1.70 ^{defg}	51.0 ± 1.15 ^b	71.7 ± 1.95 ^{abcd}	0.0 ± 0.00 ^e	16.5 ± 0.40 ^{efghi}	24.3 ± 0.55 ^a	26.9 ± 0.75 ^a	31.1 ± 0.65 ^a	26.0 ± 0.70 ^{gh}
Iso85	10.1 ± 0.05 ^{bcd}	3.5 ± 0.10 ^{efg}	23.0 ± 0.50 ^{hi}	74.6 ± 2.00 ^{abc}	3.4 ± 0.10 ^m	71.8 ± 1.95 ^{abcd}	4.3 ± 0.10 ^b	22.2 ± 0.60 ^{bc}	12.4 ± 0.25 ^e	19.8 ± 0.55 ^b	5.6 ± 0.15 ^j	49.1 ± 1.30 ^a
DSM2648 ²	9.1 ± 0.08	5.9 ± 0.10	32.1 ± 0.90	63.0 ± 1.60	23.9 ± 0.80	67.6 ± 1.70	3.0 ± 0.12	14.9 ± 0.40	8.7 ± 0.31	13.1 ± 0.40	14.2 ± 0.40	23.2 ± 0.70

4.3.1. L' Autoagrégation et hydrophobicité

Les pourcentages d'auto-agrégation pendant 24h d'incubation à 37° C et l'hydrophobicité contre trois hydrocarbures, à savoir l'hexadécane, le xylène et l'octane, sont présentés dans (tab.6).

Les neuf isolats (15, 70, 34, 66, 76, 22, 51, 73 et 47 ont présentés un bon pourcentage d'autoagrégation allant de 0,1 - 10% et de 0,6 - 38% pendant 3 h et 24 h d'incubation . L'étude statique utilisant ANOVA a montré que l'autoagrégation augmentait ($p < 0,05$) pendant la période d'incubation.

Après 24 h, les isolats 51, 70, 22, 47 et 66 présentaient une autoagrégation la plus élevée que les autres isolats. Les résultats du tableau 6 ont révélé que les propriétés hydrophobes des 9 isolats vis-à-vis du xylène et de l'octane étaient plus élevées ($p < 0,05$) que celles de l'hexadécane.

Les pourcentages d'hydrophobicité a varié de 0,6 à 16,2%, de 1,6 à 57,9% et de 2,7 à 67,0% à l'égard de l'hexadécane, le xylène et l'octane, respectivement (tableau 6).

En général, les isolats 51, 76, 47, 22 et 66 ont montré une hydrophobicité plus élevée que les autres isolats étudiés.

Les propriétés de surface cellulaire testées par hydrophobicité et autoagrégation sont des paramètres indicatifs de l'adhésion des cellules probiotiques aux cellules épithéliales dans l'intestin humain.

Plusieurs chercheurs ont rapporté que les tests d'agrégation et d'hydrophobicité possèdent une corrélation avec les propriétés d'adhésion des bactéries probiotiques (Botes et al, (2008) et Duary et al, (2011).

Dans la présente étude, les isolats LAB ont montré des pourcentages remarquables d'autoagrégation et d'hydrophobicité vis-à-vis des hydrocarbures. Cependant, des différences significatives existaient entre les souches étudiées, qui peuvent être attribuées à la variation des extensions hydrophiles / hydrophobes dans la paroi cellulaire des isolats de bactéries lactiques.

Angmo et coll. (2016) ont rapporté une hydrophobicité contre l'hexadécane et les résultats ont variés de <5% à 47% pour les souches LAB. L'inconvénient de l'étude précédente (Angmo et al., 2016) était que l'hydrophobicité du LAB était testée contre un seul hydrocarbure (hexadécane).

Dans notre étude, les isolats ont montré une hydrophobicité comparativement plus élevée par rapport à l'étude précédente, en particulier contre le xylène et l'octane. Das et al, (2016) ont également signalé une hydrophobicité et autoagrégation de 3 isolats de bactéries lactiques provenant de sources différentes de la mer indienne.

Ces auteurs ont rapporté la fourche d'hydrophobicité de 22,2% à 25,0%, ce qui est inférieur par rapport à nos résultats, alors que les pourcentages d'auto-agrégation sont conformes à nos résultats.

Tareb et al, (2013) ont étudié les pourcentages d'autoagrégation de souches de *Bifidobacterium*. Ces auteurs ont rapporté des résultats d'auto-agrégation similaires à notre étude.

Tableau 6. les pourcentage de l'autoagrégation et l'hydrophobicité
(Abushelaibi, Al-Mahadin, El-Tarabily, P. Shah, & Ayyash, 2017).

Bacteria	Auto-aggregation (%)		Hydrophobicity (%)		
	3 h	24 h	Hexadecane	Xylene	Octane
Iso15	1.6 ± 0.05 ^c	2.7 ± 0.40 ^e	0.7 ± 0.10 ^d	23.2 ± 0.60 ^{cd}	3.2 ± 0.45 ^f
Iso22	9.9 ± 0.55 ^a	26.9 ± 0.00 ^b	11.8 ± 0.45 ^b	18.1 ± 0.95 ^d	28.0 ± 0.40 ^c
Iso34	2.4 ± 1.80 ^{bc}	2.4 ± 1.80 ^e	0.7 ± 0.00 ^d	2.2 ± 0.60 ^e	15.6 ± 0.50 ^{de}
Iso47	8.4 ± 0.05 ^a	25.7 ± 0.55 ^b	15.3 ± 0.90 ^a	27.3 ± 1.15 ^c	46.8 ± 0.10 ^b
Iso51	10.2 ± 0.25 ^a	38.8 ± 0.05 ^a	15.1 ± 1.00 ^a	46.6 ± 1.05 ^b	66.7 ± 0.35 ^a
Iso66	8.2 ± 1.05 ^a	16.8 ± 1.30 ^c	1.5 ± 0.90 ^d	22.8 ± 3.25 ^{cd}	19.7 ± 2.45 ^d
Iso70	5.6 ± 0.50 ^{abc}	29.7 ± 0.10 ^b	1.4 ± 0.10 ^d	3.1 ± 0.20 ^e	13.1 ± 2.20 ^e
Iso73	6.8 ± 0.65 ^{ab}	8.6 ± 0.05 ^d	3.0 ± 0.20 ^{cd}	3.9 ± 0.15 ^e	15.7 ± 0.15 ^{de}
Iso76	1.5 ± 1.50 ^c	9.0 ± 1.45 ^d	5.9 ± 0.15 ^c	57.8 ± 0.15 ^a	45.4 ± 0.01 ^b
DSM2648 ²	4.0 ± 0.71	14.8 ± 0.60	5.8 ± 0.40	23.0 ± 0.91	25.0 ± 0.69

4.4.Co-agrégation

Les résultats de la coagrégation de 9 isolats de LAB en présence de *E. coli O157:H7*, *S.typhimurium*, *L. monocytogenes* et *S. aureus* à 2 h et 4 h d'incubation à 20° C et 37° C sont indiqués dans le tableau 7. L'étude statistique par ANOVA a révélé que la co-agrégation a augmenté ($p < 0,05$) avec l'incubation à chaque température d'incubation. D'une façon générale, les pourcentages de la co-agrégation des souches isolées avec tous les

pathogènes à la température d'incubation 37° C ont été les plus élevés ($P > 0,05$) par rapport à 20 C, en particulier en présence de *L. monocytogenes* et *S. aureus*.

Dans l'ensemble, les isolats 34 et 70 ont démontré une capacité de co-agrégation la plus élevée que les autres isolats étudiés.

le tableau 7 montre que les souches isolées ont présentées une co-aggrégation plus élevée ($p > 0,05$) envers les pathogènes Gram-négatifs (*E. coli* O157: H7 et *S. typhimurium*) au cours des 2 premières heures par rapport aux Gram-positifs (*L. monocytogenes*, et *S. aureus*).

Cette tendance a changé lorsque le temps d'incubation s'est prolongé à 4 h. Dans l'ensemble, les souches 22, 47, 34 et 70 ont démontré une capacité de co-aggrégation élevée que les autres isolats étudiés.

Plusieurs chercheurs ont signalé que la capacité de co-aggrégation du BL en présence d'agents pathogènes intestinaux augmentera les propriétés probiotiques du BL.

Plusieurs auteurs ont révélé que l'aggrégation cellulaire est positive pour favoriser la colonisation cellulaire des bactéries probiotiques.

Les résultats de la coaggrégation de notre étude concordent avec ceux rapportés par d'autres (Angmo et al., 2016; Ben Taheur et al., 2016; Collado et al., 2008).

La capacité des BL isolés à coaggréger avec les agents pathogènes peut être attribuée aux composants de la surface cellulaire, mais les mécanismes doivent encore être étudiés.

Des interactions entre les glucides-lectine et les composants protéiniques présents à la surface cellulaire peuvent être impliquées (Tareb et al., 2013). Néanmoins, les pourcentages de coaggrégation dépendent de la souche (probiotique et pathogène) et du temps d'incubation (Collado et al., 2008).

La pouvoir de BL à coaggréger en présence de bactéries pathogènes va former une barrière défensive qui ne permettra pas aux agents pathogènes de coloniser dans l'intestin humain (Vidhyasagar et Jeevaratnam, 2013).

Notre étude a montré que la température d'incubation n'influçait pas de manière significative la co-aggrégation. Notre résultat contredit celui de Collado et al. (2008) qui ont rapporté que la température d'incubation affecte la coaggrégation des probiotiques étudiés, mais les données n'ont pas été présentées. Par conséquent, ces auteurs ont choisi la température de 20° c pour effectuer le test de co-aggregation (Collado et al., 2008).

Nous pensons que la co-aggrégation influencée par les conditions environnementales à besoin doit être étudiée davantage afin de standardiser le test de coagrégation. La tendance imprévue de la coagrégation des isolats de LAB dans cette étude envers les pathogènes Gram-positifs pendant les 2 premières heures d'incubation nécessite des études supplémentaires .

Tableau 7. les pourcentages de co-agrégation des BL avec 4 bactéries pathogènes pendant 2 heure et 4 heures à deux température d incubation différents (Abushelaibi, Al-Mahadin, El-Tarabily, P. Shah, & Ayyash, 2017)

Incubation time	Bacteria	Incubation at 20 °C				Incubation 37 °C			
		<i>E. coli</i> O157:H7	<i>S. typhimurium</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i> O157:H7	<i>S. typhimurium</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>S. aureus</i>
2 h	Iso15	5.1 ± 0.67 ^{ab}	4.0 ± 0.67 ^{bc}	2.1 ± 0.69 ^a	1.3 ± 0.69 ^{bc}	3.0 ± 1.92 ^{cd}	2.9 ± 0.76 ^{bc}	3.0 ± 2.01 ^{bcd}	2.4 ± 0.11 ^{bc}
	Iso22	7.3 ± 0.43 ^a	7.4 ± 0.43 ^{ab}	3.3 ± 0.45 ^a	5.8 ± 0.44 ^{ab}	1.6 ± 1.38 ^d	6.1 ± 1.31 ^{abc}	3.3 ± 1.35 ^{bcd}	7.2 ± 1.29 ^{ab}
	Iso34	1.0 ± 0.92 ^b	3.4 ± 0.90 ^{bc}	1.8 ± 0.91 ^a	1.6 ± 0.91 ^{bc}	10.0 ± 1.26 ^{ab}	7.9 ± 1.28 ^{ab}	10.4 ± 1.25 ^a	9.7 ± 1.26 ^a
	Iso47	2.9 ± 0.91 ^{ab}	2.1 ± 0.92 ^c	1.3 ± 0.92 ^a	7.5 ± 0.87 ^a	4.3 ± 1.34 ^{bcd}	2.3 ± 1.36 ^c	1.8 ± 1.37 ^d	5.0 ± 1.33 ^{abc}
	Iso51	1.9 ± 0.91 ^b	10.7 ± 0.83 ^a	3.5 ± 0.90 ^a	1.1 ± 0.92 ^c	9.0 ± 1.27 ^{abc}	5.7 ± 1.32 ^{ac}	10.7 ± 1.24 ^a	6.4 ± 1.30 ^{abc}
	Iso66	2.9 ± 0.90 ^{ab}	4.4 ± 0.89 ^{bc}	1.2 ± 0.91 ^a	3.5 ± 0.90 ^{abc}	4.2 ± 0.45 ^{bcd}	6.0 ± 0.44 ^{abc}	3.0 ± 0.45 ^{bcd}	6.2 ± 0.44 ^{abc}
	Iso70	1.0 ± 0.46 ^b	1.1 ± 0.46 ^c	0.7 ± 0.47 ^a	1.6 ± 0.46 ^{bc}	11.2 ± 0.42 ^a	5.9 ± 0.44 ^{abc}	8.4 ± 0.43 ^{abc}	7.6 ± 0.43 ^a
	Iso73	1.9 ± 1.37 ^b	4.2 ± 1.34 ^{bc}	2.7 ± 1.36 ^a	2.0 ± 1.37 ^{bc}	14.8 ± 0.40 ^a	10.2 ± 0.42 ^a	8.6 ± 0.43 ^{ab}	9.3 ± 0.42 ^a
	Iso76	2.4 ± 0.46 ^b	9.2 ± 0.42 ^a	1.8 ± 0.46 ^a	1.5 ± 0.46 ^{bc}	3.1 ± 0.45 ^{cd}	2.2 ± 0.46 ^c	2.0 ± 0.46 ^{cd}	1.7 ± 0.46 ^c
	DSM2648 ²	2.3 ± 0.80	5.0 ± 0.67	1.67 ± 0.76	2.6 ± 0.56	6.5 ± 0.98	5.1 ± 0.87	5.2 ± 0.45	6.0 ± 0.70
4 h	Iso15	8.6 ± 1.51 ^a	7.2 ± 1.53 ^b	4.3 ± 1.58 ^b	4.0 ± 1.58 ^a	3.4 ± 1.80 ^{cd}	5.0 ± 1.78 ^c	3.4 ± 1.80 ^b	4.1 ± 1.79 ^c
	Iso22	8.3 ± 1.29 ^a	13.0 ± 1.23 ^{ab}	20.9 ± 1.11 ^a	10.7 ± 1.26 ^a	11.9 ± 1.64 ^{abc}	12.6 ± 1.63 ^{abc}	12.1 ± 1.65 ^{ab}	10.2 ± 1.68 ^{abc}
	Iso34	4.1 ± 1.79 ^a	8.5 ± 1.71 ^b	10.8 ± 1.66 ^b	5.7 ± 1.76 ^a	12.7 ± 1.63 ^{abc}	17.2 ± 1.54 ^{ab}	17.7 ± 1.54 ^a	14.6 ± 1.60 ^{ab}
	Iso47	9.1 ± 1.71 ^a	5.5 ± 1.78 ^b	7.4 ± 1.75 ^b	10.4 ± 1.69 ^a	3.0 ± 1.81 ^d	5.2 ± 1.77 ^c	9.4 ± 1.69 ^{ab}	7.9 ± 1.72 ^{abc}
	Iso51	5.5 ± 1.77 ^a	12.2 ± 1.64 ^{ab}	6.2 ± 1.75 ^b	8.3 ± 1.71 ^a	14.1 ± 1.61 ^{ab}	9.5 ± 1.69 ^{bc}	17.0 ± 1.55 ^a	9.3 ± 1.70 ^{abc}
	Iso66	4.3 ± 1.79 ^a	5.7 ± 1.76 ^b	6.2 ± 1.75 ^b	4.7 ± 1.78 ^a	5.5 ± 1.78 ^{bcd}	8.6 ± 1.72 ^{bc}	9.0 ± 1.71 ^{ab}	7.1 ± 1.76 ^{bc}
	Iso70	7.2 ± 1.75 ^a	4.1 ± 1.81 ^b	6.8 ± 1.76 ^b	8.0 ± 1.74 ^a	11.5 ± 1.67 ^{abc}	13.7 ± 1.63 ^{abc}	16.2 ± 1.58 ^a	15.3 ± 1.60 ^{ab}
	Iso73	4.0 ± 2.25 ^a	6.5 ± 2.19 ^b	8.6 ± 2.14 ^b	5.5 ± 2.21 ^a	16.2 ± 1.58 ^a	19.0 ± 1.53 ^a	17.3 ± 1.56 ^a	16.9 ± 1.57 ^a
	Iso76	8.8 ± 1.28 ^a	21.0 ± 1.11 ^a	8.3 ± 1.29 ^b	4.2 ± 1.35 ^a	5.9 ± 1.78 ^{bcd}	5.9 ± 1.78 ^c	5.3 ± 1.78 ^b	4.0 ± 1.81 ^c
	DSM2648	6.1 ± 1.55	9.1 ± 1.34	8.0 ± 1.44	6.1 ± 1.90	8.4 ± 1.55	9.5 ± 1.01	10.5 ± 1.22	8.6 ± 1.71

4.5.L'activité antimicrobienne et la résistance aux antibiotiques

Le tableau 8 présente les activités antimicrobiennes de 9 isolats de BL contre 4 pathogènes causant des intoxications alimentaires et l'antibiogramme contre 6 antibiotiques.

Les activités antimicrobiennes des isolats de BL ont fluctuées entre la petite activité (zone de 0,1 mm) à la plus élevée (zone de > 2,0 mm).

Les isolats 15, 34, 47, 66, 70 et 76 ont présenté de fortes activités antimicrobiennes contre les 4 agents pathogènes et particulièrement un effet très important contre *S. aureus* par rapport à d'autres agents pathogènes (tableau 8). les deux isolats 34 et 70 ont parmi ces souches à forte activité antimicrobienne ,on cite que l'isolat 34 à un faible effet sur *E. coli O157 : H7* et *S. typhimurium* avec une zones d'inhibition de 0,1 à 1,0 mm , et un effet modéré sur *L.monocytogenes* et *S. aureus* avec une diamètre d'inhibition de 1,1 à 2,0 mm .

les résultats de cette étude sont en accord avec ceux trouvés Mahmoudi et al., (201) en étudiant l'activité antibactérien de 16 isolat de *Lb.plantrum* contre les souches pathogenes précédentes. De même, Hamed et Elattar,2013 ont rapporté des résultats similaires où la seul *Lb.plantarum* isolées a eu une activité maximale contre *E. coli O157 : H7*, et une action modérée contre *S. typhimurium*.

En général, toutes les souches BL ont pu résister à l'impact des antibiotiques. Cependant, les isolats 22, 51 et 73 étaient sensibles aux antibiotiques.

L'activité antimicrobienne des souches de BL peut être attribuée à certains composés produits pendant la croissance des BL, notamment les métabolites, les acides organiques et les bactériocines (Zuo et al., 2016).

Les activités antimicrobiennes de la présente étude sont en accord avec les résultats rapportés par d'autres auteurs (Angmo et al., 2016; Das et al., 2016; Zuo et al., 2016). Ces études ont également révélé que l'activité antimicrobienne dépendait de l'espèce et de la souche.

En général, tous les isolats étaient modérément sensibles et sensibles à la pénicilline, à l'ampicilline, à la clindamycine et à l'érythromycine.

Cependant, les isolats étaient résistants au triméthoprim et à la vancomycine. La résistance à

un antibiotique particulier peut être due à l'absence de site cible de cet antibiotique particulier dans la cellule BL (DeLisle et Perl, 2003).

Ces résultats sont presque en accord avec ceux d'Angmo et al. (2016) et Teles Santos et al. (2016) qui ont isolé des BL à partir des produits fermentés indiens et du cacao fermenté, respectivement.

Cependant, des différences mineures par rapport à notre étude peuvent être attribuées à des différences entre les souches et les espèces.

Tableau 8. L'activité antagoniste contre 4 bactéries pathogènes et la résistance aux 6 antibiotiques différents. (Abushelaibi, Al-Mahadin, El-Tarabily, P. Shah, & Ayyash,

Bacteria	Antimicrobial activity ^a				Antibiotics resistant ^b					
	<i>E. coli</i> O157:H7	<i>S. typhimurium</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>S. aureus</i>	PEN	TRI	AMP	CLI	VAN	ERY
Iso15	+	+	+	++	R	MS	R	R	R	MS
Iso22	+	-	-	-	S	R	S	S	MS	MS
Iso34	+	+	++	++	MS	R	MS	R	R	MS
Iso47	+	+	+	+++	R	R	S	MS	MS	S
Iso51	+	-	-	+	S	S	MS	S	S	MS
Iso66	++	+	+	++	MS	R	S	MS	R	MS
Iso70	++	++	+++	+++	MS	R	MS	MS	R	MS
Iso73	+	-	-	-	S	MS	S	S	S	S
Iso76	++	+	+	+++	S	R	MS	S	R	MS
DSM2648 ^c	+	++	++	+	S	R	S	S	R	MS

2017)

(-) aucun inhibition ,(+) zone d' inhibition de 0,1et 1,0 mm ;(++) zone d' inhibition de 1,1et 2,0 mm ; (+++) zone d' inhibition de > 2,1mm .PEN: pénicilline (10 mg); TRI: triméthoprime (25 mg); AMP: ampicilline (10 mg); CLI: clindamycine (2 mg); VAN: vancomycine (30 mg); ERY: érythromycine (15 mg), R: résistante, MS: moyennement sensible , S: sensitive

4.6.Hydrolyse des sels biliaries (BSH) et élimination du cholestérol

Les activités BSH et l'élimination du cholestérol de 9 isolats de BL sont présentées dans le tableau 5 et la figure 1, respectivement.

Toutes les souches de BL ont montré la capacité d'hydrolyser les trois sels biliaries étudiés en produisant de l'acide cholique.

Les isolats 70, 22, 34, 76 et 15 présentaient des activités BSH élevées par rapport aux autres isolats (tableau 9).

En général, les différences de BSH entre 3 sels biliaires à chaque isolat étaient non significatives ($p < 0,05$). Comme le montre la figure 1, les isolats BL étaient capables d'éliminer le cholestérol du milieu MRS. Les isolats 15, 34, 76 et 70 ont démontré une capacité d'élimination du cholestérol plus élevée ($p < 0,05$) que les autres BL.

L'élimination du cholestérol est l'une des caractéristiques souhaitables des probiotiques. Plusieurs mécanismes sont proposés pour l'élimination du cholestérol, notamment: l'incorporation du cholestérol dans la paroi cellulaire, adhésion à la paroi cellulaire et réduction enzymatique via la cholestérol réductase (Ishimwe, Daliri, Lee, Fang, & Du, 2015).

De plus, la capacité du LAB à hydrolyser les sels biliaires dans l'intestin humain réduirait l'absorption du cholestérol dans l'intestin (Jones, Tomaro- Duchesneau, Martoni et Prakash, 2013).

Dans notre étude, les isolats étudiés présentaient une baisse du cholestérol et des activités BSH. Les résultats de notre étude sur la capacité d'abaissement du cholestérol sont en accord avec les résultats rapportés par Das et al. (2016), alors que les activités de BSH sont conformes à celles rapportées par Miremedi et al. (2014).

Tableau 9. L'activité d'hydrolyser les sels biliaires (activité spécifique U/mg) (Abushelaibi, Al-Mahadin, El-Tarabily, P. Shah, & Ayyash, 2017)

Bacteria	Sodium glycocholate	Sodium taurocholate	Bile salts mixture
Iso15	0.79 ± 0.20 ^{bc}	0.84 ± 0.05 ^{bc}	0.79 ± 0.20 ^b
Iso22	1.29 ± 0.32 ^{bc}	1.26 ± 0.05 ^{abc}	1.25 ± 0.06 ^b
Iso34	3.06 ± 0.52 ^a	2.89 ± 0.21 ^a	2.82 ± 0.27 ^a
Iso47	0.61 ± 0.10 ^{bc}	0.56 ± 0.11 ^c	0.92 ± 0.33 ^b
Iso51	0.45 ± 0.08 ^c	0.33 ± 0.02 ^c	0.45 ± 0.08 ^b
Iso66	0.65 ± 0.22 ^{bc}	0.48 ± 0.09 ^c	0.38 ± 0.05 ^b
Iso70	2.26 ± 0.26 ^{ab}	2.35 ± 0.70 ^{ab}	3.58 ± 0.15 ^a
Iso73	0.59 ± 0.10 ^{bc}	0.77 ± 0.43 ^{bc}	0.37 ± 0.05 ^b
Iso76	1.42 ± 0.51 ^{abc}	1.46 ± 0.32 ^{abc}	1.18 ± 0.42 ^b
DSM2648 ²	0.90 ± 0.22	1.00 ± 0.18	1.20 ± 0.22

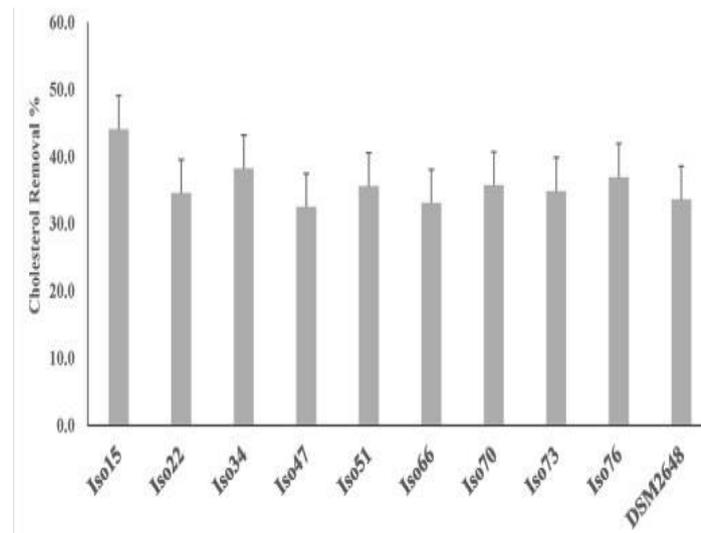


Figure 3. Elimination de cholesterol en % de BL après 24h d 'incubation à 37 °C (Abushelaibi, Al-Mahadin, El-Tarabily, P. Shah, & Ayyash, 2017)

4.7. Tolérances à la chaleur et au lysozyme

La résistance à la chaleur et à l'impact du lysozyme de 9 isolats LAB est présentée dans le tableau 10. La croissance de tous les isolats a diminué ($p < 0,05$) après avoir été soumis à un traitement thermique à 60 C pendant 5 min. La réduction des croissances de BL variait de 0,9 à 2,5 \log_{10} CFU mL⁻¹. Les isolats 34, 76, 51, 66 et 73 présentaient une résistance à la chaleur plus élevée que les autres souches.

Par contre, la réduction de la croissance du LAB survenue pendant une incubation de 90 min en présence de 100 mg de lysozyme L 1 était insignifiante (tableau 6). Les réductions des croissances étaient $< 1,0 \log_{10}$ CFU mL⁻¹.

Les isolats LAB ont montré une bonne résistance à la chaleur, ce qui serait une propriété positive pour que ces probiotiques soient appliqués dans les aliments pour l'industrie alimentaire.

La plage de réduction des croissances de BL due au traitement thermique dans notre étude était inférieure à la plage de réduction rapportée par Teles Santos et al. (2016) qui ont isolé des BL de la fermentation du cacao.

Cela suggère que les BL isolées du lait de chamelle étaient plus résistantes que ceux isolés de la fermentation du cacao.

Turchi et al. (2013) ont rapporté que les taux de survie de 37 souches de BL étudiées provenant de produits alimentaires italiens étaient > 80%. Ces résultats sont en accord avec nos résultats (tableau). Les résultats de la résistance au lysozyme dans notre étude sont également conformes aux résultats rapportés par Angmo et al. (2016).

Tableau 10. La résistance à la chaleur (60°C/ 5min) et au lysozyme (Log₁₀ UFC/ml). (Abushelaibi, Al-Mahadin, El-Tarabily, P. Shah, & Ayyash, 2017)

Bacteria	Heat resistant (Log ₁₀ CFU/mL)		Lysozyme resistant (Log ₁₀ CFU/mL)		
	0 min	5 min	0 min	30 min	90 min
Iso15	9.4 ± 0.04 ^{ab}	8.3 ± 0.11 ^{ab}	9.3 ± 0.05 ^a	9.4 ± 0.05 ^a	9.1 ± 0.15 ^a
Iso22	9.8 ± 0.12 ^{ab}	7.2 ± 0.08 ^{ca}	9.4 ± 0.15 ^{ab}	9.1 ± 0.45 ^{ab}	9.4 ± 0.05 ^{ab}
Iso34	9.8 ± 0.01 ^{ab}	8.8 ± 0.16 ^{ab}	9.4 ± 0.00 ^a	9.8 ± 0.45 ^a	9.2 ± 0.10 ^a
Iso47	9.7 ± 0.03 ^{ab}	8.6 ± 0.12 ^{ab}	9.4 ± 0.20 ^a	9.2 ± 0.40 ^a	9.3 ± 0.05 ^a
Iso51	9.8 ± 0.01 ^{ab}	8.7 ± 0.03 ^{ab}	9.3 ± 0.20 ^a	9.3 ± 0.35 ^a	9.3 ± 0.10 ^a
Iso66	9.8 ± 0.01 ^{ab}	8.6 ± 0.01 ^{ab}	9.6 ± 0.15 ^a	9.3 ± 0.20 ^a	9.3 ± 0.00 ^a
Iso70	9.7 ± 0.01 ^{ab}	8.7 ± 0.13 ^{ab}	9.4 ± 0.10 ^a	9.3 ± 0.05 ^a	9.1 ± 0.10 ^a
Iso73	9.6 ± 0.01 ^{ab}	8.0 ± 0.05 ^{ba}	8.7 ± 0.20 ^a	8.8 ± 0.20 ^a	8.7 ± 0.50 ^a
Iso76	9.7 ± 0.01 ^{ab}	8.6 ± 0.03 ^{ab}	9.6 ± 0.25 ^a	9.4 ± 0.30 ^a	9.2 ± 0.20 ^a
DSM2648 ²	9.5 ± 0.02	8.2 ± 0.10	9.2 ± 0.37	9.1 ± 0.29	9.0 ± 0.10

4.8. Activité hémolytique et production d'Exopolysaccharides (EPS)

Le tableau 11 présente l'activité hémolytique et la capacité à produire des EPS de 9 isolats LAB. Sur la base du test EPS, tous les isolats LAB ont montré la capacité de produire des EPS, à l'exception des isolats 51 et 73.

En ce qui concerne l'activité hémolytique, les isolats ne présentaient aucune activité hémolytique, à l'exception des isolats 22, 51 et 73. Les isolats 22 et 51 présentaient une β-hémolyse, tandis que l'isolat 73 présentait une α-hémolyse.

des résultats identique par (Amara, Zadi-Karam, & Karam, 2019) et (MAHMOUDI, et al., 2016), pour toutes les souches de *Lactobacillus plantarum* isolées .

La présence de mucus de couleur blanc filé sur des plaques de lait écrémé rouge ruthénium produisant des lactobacilles sont les producteurs d'EPS. Plusieurs travailleurs ont rapporté des résultats EPS similaires en utilisant les mêmes tests de cette étude (Angmo et al., 2016; Kumari, Angmo, Monika et Bhalla, 2016).

Les 3 isolats qui ont démontré des activités hémolytiques de type α ou β l'hémolyse n'ont pas été prises en compte pour l'identification.

Tableau 11. L'activité hémolytique et production de EPS (Abushelaibi, Al-Mahadin, El- Tarabily, P. Shah, & Ayyash, 2017)

Bacteria	Haemolysis ^a	Exopolysaccharides ^b
Iso15	—	+
Iso22	β	+
Iso34	—	+
Iso47	—	+
Iso51	β	—
Iso66	—	+
Iso70	—	+
Iso73	α	—
Iso76	—	+
DSM2648 ^c	—	+

(-) aucun hémolyse ; (A) hémolyse alfa ; (β) hémolyse beta ; (-) EPS négative ; (+) EPS positive.

4.9. Identification des isolats sélectionnés par séquençage de l'ADNr 16S

les Six probiotiques potentiels ont été identifiés par la séquence du gène de l'ARNr 16S.

Les amplicons PCR étaient compris entre 1 200 et 1 400 pb. Les alignements ont été effectués à l'aide de BLAST. Les isolats identifiés ont été désignés sous le nom de bactéries lactiques probiotiques.

L'analyse de la phylogénie moléculaire et l'arbre phylogénique ont été effectués pour identifier les BI au niveau de l'espèce sur la base des séquences d'ADNr 16S à partir de distances évolutives par la méthode de neighbor-joining. L'arbre phylogénique des 6 isolats sont montré sur la figure . L'analyse de séquence a montré que 50% de l'ADNr 16S étaient regroupés avec la séquence de lactobacilles et les 50% restants regroupés avec la séquence de lactocoques. Les numéros d'accession de Ge

Tableau 11. Isolats LAB identifiés par séquençage du gène de l'ADNr 16S et leurs numéros d'accès Genbank

Isolate	Species	NCBI accession No.
Iso15	<i>Lactococcus lactis</i>	KX881768
Iso34	<i>Lactobacillus plantarum</i>	KX881772
Iso47	<i>Lactococcus garvieae</i>	KX881774
Iso66	<i>Lactobacillus reuter</i>	KX881777
Iso70	<i>Lactobacillus plantarum</i>	KX881779
Iso76	<i>Lactococcus lactis</i>	KX881782

4.10. Profil de fermentation

Le dénombrement bactérien, évaluation de la protéolyse et valeurs du pH du lait fermenté pendant 21 jours de stockage sont mentionnés dans (tab.12). Les 6 isolats ont conservé un nombre élevé de bactéries pendant 21 jours de stockage à 4 °C avec un abaissement léger des numérations bactériennes, sauf *L. lactis* KX881782 qui a chuté de manière significative. En revanche, les deux souches de *Lb. plantarum* ont augmenté pendant le stockage.

L'indice de protéolyse (OPA) a augmenté pendant 21 jours de stockage, pour *L. plantarum* (iso 70) a présenté la protéolyse la plus élevée par rapport aux autres isolats étudiés, et que l'iso 34 présente un léger abaissement de la protéolyse.

Le pH du lait fermenté a été abaissé après 24 h de fermentation. En général, les valeurs de pH du lait fermenté avec tous les isolats restent stables pendant le stockage, sauf le lait fermenté par les deux souches de *Lb. plantarum* qui est augmenté de l'ordre de 0,1 et 0,6 pour la valeur pH.

Tableau 12. Profil de fermentation (nombre des bactéries, OPA (340 nm), pH) des BL pendant ours à 4°C. (Abushelaibi, Al-Mahadin, El-Tarabily, P. Shah, & Ayyash, 2017)

Bacteria	Storage at 4 °C (days)			
	0	7	14	21
	Log ₁₀ CFU/mL			
<i>Lactococcus lactis</i> KX881768	9.4 ± 0.02 ^a	9.2 ± 0.08 ^{ab}	8.5 ± 0.12 ^b	9.0 ± 0.06 ^{bc}
<i>Lactobacillus plantarum</i> KX881772	9.0 ± 0.11 ^{bcd}	9.4 ± 0.02 ^a	9.1 ± 0.04 ^a	9.3 ± 0.03 ^a
<i>Lactococcus garvieae</i> KX881774	8.9 ± 0.07 ^{bc}	9.0 ± 0.07 ^{ab}	8.8 ± 0.04 ^{ab}	8.9 ± 0.01 ^c
<i>Lactobacillus reuteri</i> KX881777	8.8 ± 0.05 ^{bc}	9.1 ± 0.05 ^{ab}	9.0 ± 0.06 ^a	9.0 ± 0.02 ^{bc}
<i>Lactobacillus plantarum</i> KX881779	8.8 ± 0.05 ^c	9.3 ± 0.04 ^{ab}	8.9 ± 0.06 ^{ab}	9.1 ± 0.03 ^{ab}
<i>Lactococcus lactis</i> KX881782	9.1 ± 0.07 ^b	8.3 ± 0.14 ^c	7.3 ± 0.17 ^c	7.4 ± 0.06 ^d
DSM2648 ²	9.2 ± 0.07	8.7 ± 0.23	8.6 ± 0.03	8.0 ± 0.11
	OPA at 340 nm			
<i>Lactococcus lactis</i> KX881768	0.08 ± 0.003 ^e	0.12 ± 0.004 ^b	0.11 ± 0.004 ^d	0.10 ± 0.002 ^d
<i>Lactobacillus plantarum</i> KX881772	0.15 ± 0.007 ^c	0.17 ± 0.005 ^b	0.14 ± 0.016 ^{cd}	0.15 ± 0.005 ^c
<i>Lactococcus garvieae</i> KX881774	0.15 ± 0.003 ^c	0.17 ± 0.009 ^b	0.20 ± 0.003 ^{bc}	0.17 ± 0.005 ^c
<i>Lactobacillus reuteri</i> KX881777	0.13 ± 0.004 ^d	0.16 ± 0.018 ^b	0.15 ± 0.026 ^{cd}	0.16 ± 0.005 ^c
<i>Lactobacillus plantarum</i> KX881779	0.45 ± 0.003 ^a	0.40 ± 0.078 ^a	0.56 ± 0.010 ^a	0.51 ± 0.013 ^a
<i>Lactococcus lactis</i> KX881782	0.20 ± 0.004 ^b	0.25 ± 0.006 ^b	0.25 ± 0.007 ^b	0.23 ± 0.004 ^b
DSM2648	0.16 ± 0.001	0.19 ± 0.009	0.20 ± 0.005	0.18 ± 0.011
	pH values			
<i>Lactococcus lactis</i> KX881768	4.2 ± 0.00 ^c	4.3 ± 0.01 ^d	4.3 ± 0.01 ^e	4.3 ± 0.01 ^e
<i>Lactobacillus plantarum</i> KX881772	4.6 ± 0.05 ^b	4.7 ± 0.05 ^c	4.9 ± 0.01 ^c	5.0 ± 0.01 ^c
<i>Lactococcus garvieae</i> KX881774	4.4 ± 0.03 ^{bc}	4.6 ± 0.02 ^c	4.6 ± 0.01 ^d	4.6 ± 0.01 ^d
<i>Lactobacillus reuteri</i> KX881777	5.1 ± 0.01 ^a	5.1 ± 0.02 ^b	5.1 ± 0.01 ^b	5.1 ± 0.00 ^b
<i>Lactobacillus plantarum</i> KX881779	4.9 ± 0.08 ^a	5.5 ± 0.09 ^a	5.8 ± 0.01 ^a	5.9 ± 0.03 ^a
<i>Lactococcus lactis</i> KX881782	4.4 ± 0.08 ^{bc}	4.2 ± 0.04 ^d	4.0 ± 0.00 ^f	4.1 ± 0.00 ^f
DSM2648	4.5 ± 0.03	4.5 ± 0.02	4.4 ± 0.29	4.2 ± 0.05

Conclusion

Conclusion

Les bactéries lactiques présentant un grand intérêt dans le domaine nutritionnelle et pharmaceutique, pour cela, plusieurs travaux et recherches sont faisant jusqu'au maintenant afin d'isoler des nouvelles souches avec plus des propriétés probiotiques et physiologiques.

Ce travail présent quelques caractéristiques probiotiques pour certaines souches des bactéries lactiques isolée de lait de chamelle, notamment l'espèce *Lb. plantarum*, qui avaient un important potentiel probiotique que les autres isolats, afin d'être utilisé dans les produits alimentaire et thérapeutique .

Bibliographie

Bibliographie

AbdelMalek, A. (2017). *Caractérisation phénotypiques et génotypiques de Bifidobacterium et lactobacillus isolée en Algérie .Etude biotechnologiques et leur potentiel .Thèse de doctorat probiotiques*. Oran: Faculté des sciences de la vie et la nature.

Abushelaibi, A., Al-Mahadin, S., El-Tarabily, K., P. Shah, N., & Ayyash, M. (2017). Characterization of potential probiotic lactic acid bacteria isolated from camel milk. *LWT - Food Science and Technology* , 79:316-325.

Amara, S., Zadi-Karam, H., & Karam, N.-E. (2019). Selection of Lactobacillus strains newly isolated from Algerian camel and mare fermented milk for their in vitro probiotic and lipolytic potentials. *African Journal of Biotechnology* , 13:882 -894.

Angmo, K., Kumari, A., Savitri, & Bhalla, T. C. (2016). Probiotic characterization of lactic acid bacteria isolated from fermented foods and beverage of Ladakh. *LW. Food Science and Technology* , 66: 428-435.

BELHAMRA, Z. (2017). *Croissance et survie des probiotiques en présence des édulcorants et des additifs alimentaires .Thèse de doctorat*. Setif: Faculte des sciences de la nature et la vie.

BELKEZI, L. (2020). *Les lactobacilles :role physiologique et intaret en santé humain.Thèse de doctorat* . Maroc: Université mohammed Khamess.

Bilarbi, F. (2011). *Isolement et sélection des souches bactéries lactiques productrices des métabolites antimicrobiennes,thèse de magistère*. Oran, département des biologie: Facultes des sciences ,.

Bouguerra, a. (2012). *Caractérisation des bactéries lactiques de lait de chamelle .Thèse de magistère*. SETIF: UNIVERSITE FERHAT Abbas -SETIFFaculté des sciences de la nature et de la vie.

DRA Ghislaine, A. é. (2018). *Caractérisation physicochimique , microbiologique et immunologiques des laits camelin et bovin d'Algérie .Activités antioxydante et antitoxique de la fermentation.Thèse de doctorat*. Sdi BelAbbes: Faculte des sciences de la nature et la vie.

Elfahri, K. R., Vasiljevic, T., Yeager, T., & Donkor, O. N. (2016). Anti-colon cancer and antioxidant activities of bovine skim milk fermented by selected Lactobacillus helveticus strains. , *Journal of Dairy Science* , 99(1): 31-40.

FGUIRI, I., ZIADI, M., ATIGUI, M., AYEB, N., ARROUM, S., ASSADI, M., et al. (2016). Isolation and characterisation of lactic acid bacteria strains from raw camel milk for potential use in the production of fermented Tunisian dairy products. *International Journal of Dairy Technology* , 11:103-113.

- Fuller, R. (1989). Probiotics in man and animals. *J.Appl.Bacteriol.* , 66, 365-378.
- Gilliland, S. E., & Walker, D. K. (1990). Factors to consider when selecting a culture of *L. acidophilus* as a dietary adjunct to produce a hypercholesterolemic effect in humans. *J. Dairy Sci.* , 73:905–909.
- HADEF, S. (2012). *Evaluation des aptitudes technologiques et probiotiques des bactéries lactiques locales* .Thèse de magistère. Ouargla: Faculté des sciences de la vie et la nature.
- HAMDI, A. R. (2009). *Etude de potentiel probiotique et technologique des lactobacilles de lait cru de chamelle* .Thèse de magistère. Oran: faculté des sciences.
- Hamed, E., & Elattar, A. (2013). Identification and Some Probiotic Potential of Lactic Acid Bacteria Isolated From Egyptian Camels Milk. *Life Science Journal* , 10:1952-1961.
- Kassas, Z. (2017). *Croissance de souches de bactéries lactiques d'intérêts technologiques et/ou probiotiques sur MRS végétal modifié*. Thèse de doctorat. Annaba: faculte des sciences departement de biochimie.
- Liong, M. T., & Shah, N. P. (2005). Acid and bile tolerance and cholesterol removal ability of lactobacilli strains. *Journal of Dairy Science* , 88(1), 55e66.
- lionge, & shah. (2005). Bile salt deconjugation ability, bile salt hydrolase activity.
- MAHMOUDI, I., BEN MOUSSA, O., KHALDI, T. E., KEBOUCHI, M., SOLIGOT-HOGNON, C., LEROUX, Y., et al. (2016). Functional in vitro screening of *Lactobacillus* strains isolated from Tunisian camel raw milk toward their selection as probioti. *Small Ruminant Research* .
- MENAD, N. (2017). *Effet antlagoniste des bactéries lactiques isolées à partir du lait de vache -à-vis de Salmonella sp*.Thèse de doctorat . Mostaganem: Facuté des sciences de la nature et la vie .
- Mishra, V., & Prasad, D. N. (2005). Application of in vitro methods for selection of *Lactobacillus casei* strains as potential probiotics. *International Journal of Food Microbiology* , 103(1): 109-115.
- Mme HANOU, S. (Annaba). *Aptitude du lait de chamelle au developpement des bactéries lactiques et mise au pont de lait fermenté* .Thèse de doctorat. 2018: Faculté des sciences.
- Mora, D., Fortina, M., Parini, C., Ricci, & Gatti, M. .. (2002). Genetic diversity and technological properties of *Streptococcus thermophilus* strains isolated from dairy products. *Journal of Applied Microbiology* , 93: 278-87.
- Naceur, B. (2017). *caracterisation technologique et sanitaire des enterocoques isoles a partir de lait de chamelle du algerien* . these de doctorat . telemcen: laboratoire de Microbiologie Appliquée à l'Agroalimentaire, au Biomédical et à l'Environnement.

RAHLI, F. (2015). *Valorisation du lait de chamelle par l'exploitation des potentialités technologiques des bactéries lactiques isolées localement* .Thèse de doctorat. Oran: faculté des sciences de la Nature et de la Vie .

Saito, T. (2004). Selection of the useful probiotic lactic acid bacteria from the Lactobacillus acidophilus group and their application to functional foods. *Anim.Sci.J* , 75: 1-13.

Zuo, F., Yu, R., Feng, X., Chen, L., Zeng, Z., Khaskheli, G. B., et al. (2016). Characterization and in vitro properties of potential probiotic Bifidobacterium strains isolated from breast-fed infant feces. . *Annals of Microbiology* . , 66(3) :1027-1037.

Annexes

Composition des milieux de culture d'isolement Gélose MRS (Bouguerra, 2012)

(Quantité en g)

Peptone	10
Extrait de viande	8.0
Extrait de levure	4.0
D(+)-Glucose	20
Di potassium hydrogène phosphate	2.0
Acétate de sodium tri hydrate	5.0
Citrate triammonique	2.0
Sulfate de magnésium heptahydraté	0.2
Sulfate de manganèse tetrahydraté	0.05
Agar	15
Tween 80	1 ml
Eau distillée qsp	1L
pH 6.5 +/- 0.2 à 37°C. Autoclavage à 121°C pendant 15min	/

-Abushelaibi, Aisha, Suheir Al-Mahadin, Khaled El-Tarabily, Nagendra P. Shah, et Mutamed Ayyash. «Characterization of potential probiotic lactic acid bacteria isolated from camel milk.» *LWT - Food Science and Technology*, 2017: 79:316-325.

-Amara, Sabrina, Halima Zadi-Karam, et Nour-Eddine Karam. «Selection of Lactobacillus strains newly isolated from Algerian camel and mare fermented milk for their in vitro probiotic and lipolytic potentials.» *African Journal of Biotechnology*, 2019: 13:882 - 894.

-Fguiiri, Imen, et al. «Isolation and characterisation of lactic acid bacteria strains from raw camel milk for potential use in the production of fermented Tunisian dairy products.» *International Journal of Dairy Technology*, 2016: 11:103-113.

-Hamed, Eman, et Aisha Elattar. «Identification and Some Probiotic Potential of Lactic

Acid Bacteria Isolated From Egyptian Camels Milk.» Life Science Journal, 2013: 10:1952-1961.

-MAHMOUDI, Imen, et al. «Functional in vitro screening of Lactobacillus strains isolated from Tunisian camel raw milk toward their selection as probioti.» Small Ruminant Research, 2016.

المخلص

أدت هذه الدراسة إلى عزل وتعريف ثلاثة وعشرين (23) سلالة من بكتيريا حمض اللاكتيك من لبن الإبل. كانت العزلات على شكل عصوي، وتحديدًا يتعلق بالجنس: لاكتوباسيلوس ، ونحن نركز على أنواع لاكتوباسيلوس بلاتينيوم . الهدف من هذه الدراسة هو تقييم بعض صفات البروبيوتيك والخصائص الفسيولوجية. اتضح أن العزلات تظهر فعالية جيدة على التحلل البروتيني والدهون ، وتحمل الحموضة والصفراء ، والقدرة على تحليل ملح الصفراء ، والتخلص من الكوليسترول ، وإنتاج السكريات الخارجية (EPS) ، و غلب النشاط الانحلالي و الأنشطة القوية المضادة للميكروبات ، ومقاومة الليزوزيم وستة مضادات حيوية ، وبعض خصائص سطح الخلية (كره الماء ، والتجمع الذاتي ، والتجمع المشترك).

الكلمات المفتاحية : البكتيريا حمض لاكتيك ، حليب الإبل ، اللاكتوباسيلوس ، البروبيوتيك ، المقاومة.

Résumé

Cette étude a conduit à l'isolement et l'identification de vingt-huit (23) souches de bactéries lactiques à partir du lait de chamelle. Les isolats étaient de forme bâtonnets, leur identification est aboutie qui sont à le genres: *Lactobacillus*, on concentre sur l'espèce de *Lb. plantarum*. Le but de cette étude est l'évaluation de quelques caractères probiotiques et propriétés physiologiques ; indiquent que les isolats présentent un bon pouvoir protéolytique, et lipolytique, tolérance aux l'acidité et à la bile, capacité de hydrolyser les sel biliaire, élimination du cholestérol, production d'exopolysaccharides (EPS), absence d'activité hémolytique et une fortes activités antimicrobien , résistance au lysozyme et six antibiotiques, et quelques propriétés de surface cellulaire (hydrophobicité, autoagrégation, co-agrégation).

Mots clés : bactéries lactiques, lait de chamelle, *Lactobacillus*, probiotiques, résistance.

Abstract

This study led to the isolation and identification of twenty-eight (23) strains of lactic acid bacteria from camel milk. The isolates were rod shaped, their identification is about the genera: *Lactobacillus*, we focus on the species of *Lb. plantarum*. The aim of this study is the evaluation of some probiotics characters and physiological properties; that the indicating solates exhibit good proteolysis' and lipolytic power, tolerance to acidity and bile, ability to hydrolyze bile salt, elimination of cholesterol, production of exopolysaccharides (EPS), absence of hemolytic activity and strong antimicrobial activities, resistance to lysozyme and six antibiotics, and some cell surface properties (hydrophobicity, auto-aggregation, co-aggregation).

Key words: lactic acid bacteria, camel milk, *Lactobacillus*, probiotics, resistance.