



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 :

**Romaissa DJEMAI**

### Thème

**Comparaison entre potentiel probiotique des bactéries lactiques isolées à partir de lait chèvre et lait de chamelle.**

---

#### Jury :

M.	MOUSSI Abdelhamid	MCA	Université de Biskra	Président
M.	BENKADDOUR Bachir	MAA	Université de Biskra	Rapporteur
Mme.	GHITTI Hassina	MCB	Université de Biskra	Examineur

Année universitaire : 2020-2021

## Remerciements

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

*Je tiens à exprimer mes remerciements à:*

***Mr. BENKADDOUR Bachir.** Pour m'avoir encadrée, en me faisant bénéficier de ses connaissances, de son aide et de ses conseils. Je vous remercie très sincèrement pour votre patience.*

*Mes remerciements vont aussi aux membres du jury pour avoir accepté d'évaluer ce travail.*

*Je tiens également à présenter mes plus vifs remerciements à tous les enseignants de biologie d'université de Biskra pour leurs disponibilité et conseils.*

## Dédicaces

*Je dédie ce modeste travail à :*

*Mes très chers parents, pour leur soutien inconditionnel dans tout ce que J'ai pu entreprendre dans ma vie, leurs encouragements, leurs sacrifices.*

*Eux qui m'ont guidé durant toutes mes années d'étude vers chemin de la réussite.*

*A vous tous, famille, amis, collègues, merci de m'avoir encouragé durant toutes ces années.*

# Table des matières

Remerciements	
Dédicaces	
Table des matières	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Liste des abréviations	
Introduction .....	1
Partie 1: Synthèse bibliographique	
Chapitre 1	
1.1. Généralité sur les bactéries lactiques .....	5
1.2. Habitat .....	5
1.3. Classification .....	5
1.4. Caractérisation des genres liée aux produits laitiers.....	7
1.4.1. <i>Lactobacillus</i> .....	7
1.4.2. <i>Lactococcus</i> .....	7
1.4.3. <i>Entérocooccus</i> .....	7
1.5. Production des substances antimicrobiennes.....	7
1.6. Utilisation industrielle des bactéries lactiques.....	8
1.7. Effets des bactéries lactiques sur la sante humaine.....	8
Chapitre 2	
Les probiotiques.....	10
2.1. Définition du probiotique.....	10

2.2.	les microorganismes probiotiques.....	10
2.3.	Criblage des probiotiques par des tests <i>in vitro</i> .....	11
2.4.	Les effets bénéfiques des probiotiques.....	11
 Chapitre 3		
Le lait de chèvre et le lait camelin.....		14
3.1.	Définition du lait de chèvre .....	14
3.1.1	Microbiologie du lait de chèvre.....	14
a.	La flore originale.....	14
b.	La flore de contamination.....	14
3.2.	Définition de lait de chamelle.....	16
3.2.1.	Microbiologie de lait camelin.....	16
 Partie II : la partie expérimentale		
 Chapitre 4		
 Matériels et méthodes		
4.1.	Échantillonnage.....	19
4.2.	Isolement et enrichissement des LAB.....	19
4.3.	Criblage des LAB.....	19
4.4.	Identification génotypique des isolats.....	20
4.5.	Mise en évidence <i>in vitro</i> de quelques propriétés probiotiques.....	20
4.5.1.	Tolérance aux conditions acides de l'estomac.....	21
4.5.2.	La tolérance a la bile.....	21
4.5.3.	Activité d'hydrolase des sels biliaires .....	21
4.5.4.	Test de hydrophobicité.....	21
4.6.	Critères de la sécurité des LAB.....	22

4.6.1.	Sensibilité aux antibiotiques.....	22
4.6.2.	Test d'activité antimicrobienne .....	22
4.6.3.	Test d'activité hémolytique .....	23
4.6.4.	Test d'adhésion cellulaire <i>in vitro</i> .....	23

## Chapitre 5

### Résultats et discussion

5.1.	Isolement.....	25
5.2.	Tolérance aux acides.....	26
5.3.	Tolérances aux sels biliaires.....	27
5.4.	Hydrophobicité de la surface cellulaire.....	28
5.5.	Sensibilité aux antibiotiques .....	30
5.6.	Test d'activité antimicrobienne .....	31
5.7.	Activité des amines hémolytiques.....	32
5.8.	Test d'adhésion <i>in vitro</i> .....	33
	Conclusion.....	37
	Bibliographie.....	39

## Annexes

Annexe 1 les articles inclus dans la partie expérimentale

## Résumé

# Liste des tableaux

<b>Tableau 1 :</b> Principales espèces utilisées comme probiotiques (Robinson,2002).....	10
<b>Tableau 2 :</b> critères de sélections un test utilisés aux laboratoires pour le screening des probiotiques (Boukhalfi.,2020).....	11
<b>Tableau 3 :</b> Effets positifs des probiotiques sur la santé humaine (effets probables ou suspectés) (Bouguerra,2012).....	12
<b>Tableau 4 :</b> Quelques propriétés des micro-organismes de lait cru. (Belabeddou et al.,2016).....	16
<b>Tableau 5 :</b> Activité d'hydrolyse des sels biliaires (Sharma et al,2020).....	28

# Liste des figures

<b>Figure 1 :</b> Dendrogramme consensus reflétant les relations phylogénétiques de l'ordre des « <i>Lactobacillales</i> » au sein de la classe « Bacilli » (Bouguerra,2012).....	06
<b>Figure 2 :</b> Secteurs de répartition des genres des bactéries lactiques (Berradia,2016).....	15
<b>Figure 3 :</b> Tolérance à l'acide de souches sélectionnées à différents pH (Sharma et al, 2020).....	26
<b>Figure 4 :</b> Données de tolérance aux sels biliaries de certaines souches lactiques (Sharma et al,2020).....	27
<b>Figure 5 :</b> Pourcentage d'hydrophobicité de surface (H%) (Sharma et al,2020).....	29
<b>Figure 6 :</b> Évaluation antibiotique des souches potentielles (Sharma et al,2020).....	31
<b>Figure 7 :</b> Score d'adhésion des souches (nombre de cellules bactériennes adhèrent à la lignée cellulaire Caco-2) (Sharma et al,2020).....	34



# Liste des abréviations

ADN : acide désoxyribonucléique

ARNr : Acide ribonucléique ribosomique

ATCC: American Type Culture Collection

B.: Bifidobacterium

BL : Bactéries lactiques

BLAST (Basic Local Alignment Search Tool).

BSH: hydrolase de sel biliaire

CPD : Critical Point Drying

DO : Densité Optique

E. coli : Escherichia coli

FAO : Food and Agriculture Organization.

H% : hydrophobicité

HCl : acide chlorhydrique

MALDI-TOF : Matrix Assisted Laser Desorption Ionisation/Time Of Flight

MEB : microscope électronique à balayage

MEGA 7.0 : Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0

MRS: milieu de Man, Rogosa et Sharpe

NaCl : Chlorure de sodium

NCBI : National Center for Biotechnology Information

NRCC : National Camel Research Center

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

(p <0,05) :

PCR : Polymerase Chain Reaction

pH : potentiel d'hydrogène

p/v: poids/volume

SNF : Solide non gras

UFC : Unité Formant Colonie

UV : Ultra violet

# **Introduction**

Le lait est la seule nourriture consommée par tout jeune mammifère au début de sa vie, il doit contenir tous les éléments nutritifs nécessaires à la croissance. Le lait est en fait un des aliments les plus complets (Chettah, 2019).

La découverte de la relation symbiotique entre l'homme et les bactéries a conduit à une nouvelle façon de voir les bactéries comme potentiellement bénéfiques, plutôt que pathogènes. Littéralement le mot probiotique signifie «pour la vie» (Tripathi & Giri, 2014).

Le lait de chamelle et le lait de chèvre sont particulièrement riche en glucides, en protéines, en lipides, en minéraux et en vitamines (notamment la vit. C). Il possède des propriétés anti-infectieuses, anti-cancéreuses, anti-diabétiques, etc.

Ces allégations santé peuvent être attribuées à certains de ses composants tant sur le plan quantitatif que qualitatif. Parmi ceux, les métabolites antimicrobiens, tels que le peroxyde d'hydrogène, les acides organiques, les bactériocines, etc., synthétisés par les bactéries lactiques qui se trouvent en abondance dans les laits fermentés. Ces bactéries sont employées depuis des millénaires dans la fabrication des aliments.

Elles permettent, de part leur métabolisme, d'augmenter la qualité nutritionnelle, organoleptique et la durée de conservation des denrées alimentaires.(Bouguerra.,2012 ; Belabeddou.,2017).

Les bactéries lactiques sont également retrouvées dans d'autres secteurs d'application. Ainsi, certains membres de ce groupe bactérien (les lactobacilli) notamment sont utilisés comme probiotiques, c'est-à-dire comme une préparation microbienne vivante ayant une action bénéfique sur l'hôte après ingestion.(Bouguerra.,2012).

Dans ce contexte, cette présente étude s'intéresse d'une part au lait de chamelle en tant qu'une source alimentaire, par l'examen de sa composition microbiologique en comparaison à celle du lait chèvre. D'autre part, elle vise à caractériser sa microflore lactique et d'évaluer leur potentialité probiotique.

Donc ce travail est divisé en 4 chapitres :

Le premier chapitre comprend une synthèse bibliographique sur les bactéries lactiques et leurs caractéristiques. y compris aussi une description des *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Enterococcus*.

Le second chapitre contient des généralités sur les probiotiques et ses propriétés et leur effet sur la sante.

Le troisième chapitre était suppose une généralité sur le lait de chèvre et le lait camelin et leurs caractérisations microbiologiques.

Le quatrième chapitre consacré au matériel et méthode présente une analyse d'article de (Sharma *et al.*, 2020).

Le cinquième chapitre regroupe les résultats et leur discussion.

Enfin, le manuscrit s'achève par la présentation de la conclusion et des perspectives et par les références bibliographiques.

**Partie 1:**  
**Partie Bibliographique**

# Chapitre 1

### 1.1. Généralités sur les bactéries lactiques

Les bactéries lactiques (BL) sont un groupe de micro-organismes hétérogènes, caractérisés par la production d'acide lactique comme principal produit final métabolique du glucose et l'abaissement de la valeur du pH. L'acide produit favorise les conditions de croissance d'une variété d'agents pathogènes et de micro-organismes d'altération. Les bactéries lactiques sont plus capables de tolérer un environnement à pH plus faible. Ils sont gram-positifs, non sporulés, catalase-négatifs, tolérants à l'oxygène, tolérants aux acides et rigoureusement fermentés.

Les bactéries lactiques constituent une flore probiotique extrêmement importante et ont été utilisées dans de nombreux produits laitiers probiotiques. (Lourens-Hattingh *et al.*, 2001).

Ce groupe de bactéries est non pathogène, résistant aux acides, résistant à la bile et produit des substances antibactériennes, notamment des acides organiques, du peroxyde d'hydrogène et des bactériocines (protéines bioactives) (kacem *et al.*, 2008).

### 1.2. Habitat

Des bactéries lactiques très communes s'installent dans de nombreux habitats, principalement ceux riches en glucides solubles, acides aminés, vitamines et faible tension en oxygène (bouguerra, 2011).

Parmi les matériaux pouvant être l'hôte d'animaux ou de plantes ou pouvant eux-mêmes être dérivés d'animaux ou de plantes, notre organisme est composé d'une variété de microbiote, notamment au niveau de la peau, de la cavité buccale et du vagin, mais le microbiote intestinal est le plus important. d'entre eux De (Boukhalfi, 2020)

### 1.3. Classification

La classification phénotypique des bactéries lactiques est principalement basée sur la morphologie, la méthode de fermentation du glucose, la croissance à différentes températures, la capacité à se développer sous une concentration élevée en sel (6,5%, 18%), la tolérance aux pH acides, alcalins et à l'éthanol, et à l'acide lactique. configuration est l'acide produit par le glucose, l'hydrolyse de l'arginine, la formation d'acétone, etc.



Les marqueurs de classification chimique tels que la composition en acides gras et la composition de la paroi cellulaire peuvent également être utilisés pour la classification (König *et al.*, 2017).

L'identification des espèces LAB peut se faire en analysant leurs courbes de fermentation des glucides à l'aide du système API50CHL.

Douze genres sont considérés comme étant des bactéries lactiques :

*Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Enterococcus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc*, *Streptococcus*, *Aerococcus*, *Carnobacterium*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus*, *Oenococcus* et *Weissella*.

la figure (1) représente les relations phylogénétiques de l'ordre des «*Lactobacillales*» au sein de la classe (Bouguerra,2012) .

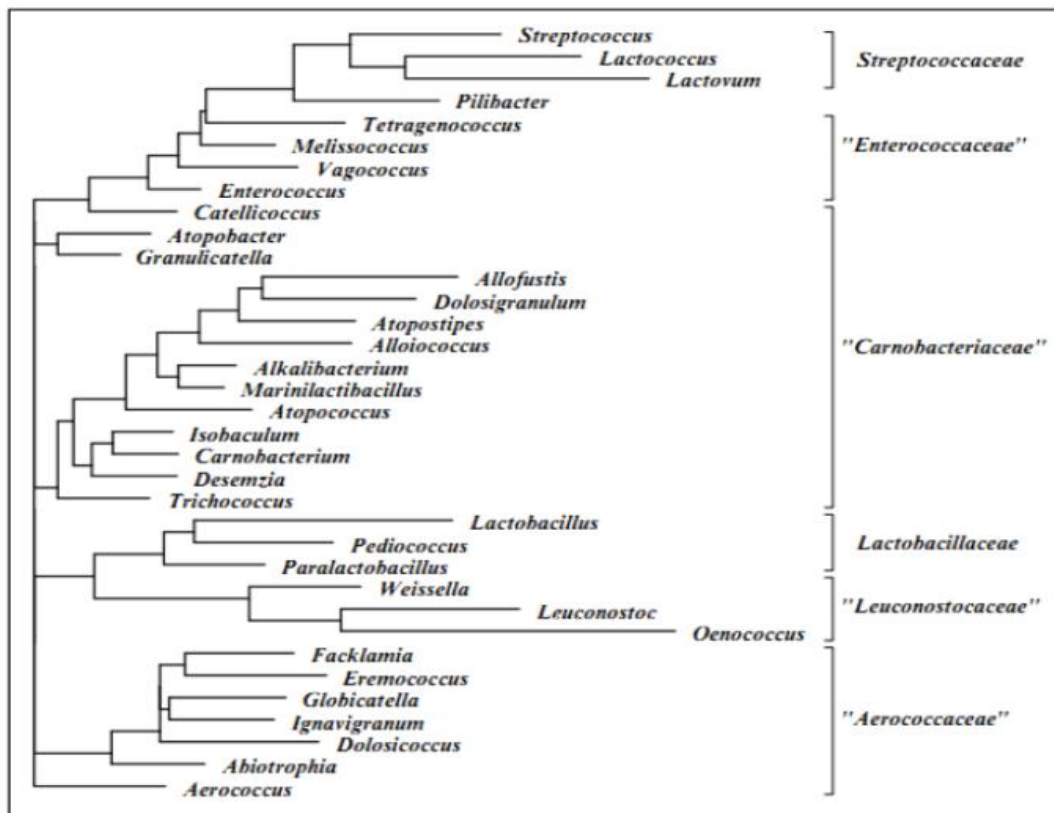


Figure1. Dendrogramme consensus reflétant les relations phylogénétiques de l'ordre des «*Lactobacillales*» au sein de la classe «*Bacilli*» .(Bouguerra,2012)

#### **1.4. Caractéristiques des genres liés aux produits laitiers**

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

##### **1.4.1. *Lactobacillus***

Le genre *Lactobacillus* est la bactérie la plus importante du groupe des bactéries lactiques en nombre ; leur morphologie microscopique varie d'une espèce à l'autre, des coccobactéries aux bacilles allongés. Les lactobacilles sont présents dans la flore intestinale et la flore vaginale.

##### **1.4.2. *Lactococcus***

Ce sont des streptocoques. Ils ont la forme d'une cocci, sont des chaînes isolées de longueur uniforme ou variable et sont des homofermentaire qui ne produisent que de l'acide L-lactique (Berradia, 2016).

##### **1.4.3. *Enterococcus***

Les cellules des enterococci sont a la forme ovoïdes, au reroupement isolées, en paires ou en courtes chaines.

La présence des flagelles a certaines espèces pour la mobilisation.

Leurs colonies sont toujours circulaires, lisses et régulières avec un diamètre à 5 mm. Certaines espèces produisent un pigment caroténoïde jaune sur un milieu solide (Bouguerra,2012).

#### **1.5. Production de substances antimicrobiennes**

Certaines bactéries lactiques ont peuvent de produire des substances antimicrobiennes (le peroxyde d'hydrogène, les bactériocines ou encore les acides organiques).

La production des bactériocines présentent une action antibactérienne avec un large spectre d'action, Ces données dérivent d'études in vitro et mériteraient des confirmations in vivo.

Aussi également la production d'acides organiques tels que le lactate diminue le pH, qui inhiber et défavoriser la croissance des organismes pathogènes (Ghislaine,2018).

Parallèlement à cette diminution de pH, les auteurs ont remarquent une diminution de la population d'*Escherichia coli* dans les contenus intestinaux et les fèces.

### **1.6. Utilisation industrielle des bactéries lactiques**

La fermentation lactique par ces bactéries est connue depuis longtemps et applicable pour la fabrication de différents aliments. Pendant de nombreux siècles, les LAB ont servi à fournir une forme efficace de préservation naturelle. De plus, ils déterminent fortement la texture et la saveur, la valeur nutritionnelle des produits alimentaires et des aliments pour animaux (Guessas *et al*,2004).

L'action de la flore lactique sur la conservation d'un aliment est liée à l'abaissement du pH consécutif à la production d'acide lactique.

Elles ont une action déterminante sur les qualités organoleptiques des produits fermentés (texture et arôme, par exemple).

### **1.7. Effets des bactéries lactiques sur la santé humaine Selon (Ghislain,2018)**

Les effets bénéfiques potentiels cités sont variés :

- traitement de certaines affections intestinales avec diarrhées.
- Immunomodulation ( moduler des fonctions du système immunitaire).
- Diminution du cholestérol sérique et déconjugaison des sels biliaires

( Hypocholestérolémique).

- Inhibition de l'adhésion des pathogènes à l'épithélium intestinal.
- Production de substances antimicrobiennes.
- Activité antihypertensive, Activité antioxydante et antidiabétique.

# **Chapitre2 :**

## **Les probiotiques**

## 2.1. Les probiotiques

Le terme probiotique a vu le jour en 1965 par opposition aux antibiotiques. Il a été défini par Lilly et Stillwell comme des facteurs dérivés des micro-organismes et stimulant la croissance des autres micro-organismes (Dolié, 2018).

Selon la définition actuellement adoptée par la FAO et l'OMS; « les probiotiques sont des microorganismes vivants administrés en quantités adéquates et qui sont bénéfiques pour la santé de l'hôte » .

## 2.2. Les microorganismes probiotiques

Les probiotiques sont définis comme « des micro-organismes vivants qui, lorsqu'ils sont administrés en quantités adéquates, confèrent un avantage pour la santé de l'hôte ».

Certaines souches de bactéries ont été découvertes au fil des années pour avoir des propriétés probiotiques, constituées principalement de bactéries productrices d'acide lactique (*lactobacilles, streptocoques, entérocoques, lactocoques, bifidobactéries*). ( Tze Liong,2008)

Les principales espèces incorporées dans les produits probiotiques sont représentées dans le tableau (1).

**Tableau 1. Principales espèces utilisées comme probiotiques (Robinson, 2002).**

<i>Lactobacilli</i>	<i>Bifidobacteria</i>	<i>Enterococci</i>	Autres
<i>Lb. acidophilus</i>	<i>B. bifidum</i>	<i>E. faecium</i>	<i>Saccharomyces</i>
<i>Lb. Plantarum</i>	<i>B. infantis</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>boulevardii</i>
<i>Lb. casei</i>	<i>B. adolescentis</i>		<i>Lactococcus lactis</i>
<i>Lb. Rhamnosus</i>	<i>B. longum</i>		<i>subsp. cremoris</i>
<i>Lb. delbrueckii</i>	<i>B. breve</i>		<i>Lactococcus lactis</i>
<i>subsp. bulgaricus</i>	<i>B. lactis</i>		<i>subsp. lactis</i>
<i>Lb. fermentum</i>			<i>Leuconostoc</i>
<i>Lb. johnsonii</i>			<i>mesenteroides</i>
<i>Lb. gasseri</i>			<i>Propionibacterium</i>
<i>Lb. Salivarius</i>			<i>freudenreichii</i>
<i>Lb. Reuteri</i>			<i>Pediococcus</i>
			<i>acidilactis</i>

### 2.3. Criblage des probiotiques potentiels par des tests *in vitro*

Les tests *in vitro* sont réalisés pour déterminer les mécanismes exercés par les souches probiotiques et leurs effets bénéfiques, mais il est nécessaire une confirmation *in vivo*.

Les différents critères de sélection sont résumés dans le tableau(2).

**Tableau 2: critères de sélections un test utilisés aux laboratoires pour le screening des probiotiques (Boukhalfi., 2020)**

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

### 2.4. Les effets bénéfiques des probiotiques

Selon Tze Liong,(2008) les probiotiques sont bien connus pour leur rôle dans la modulation d'un intestin plus sain. Désormais, les probiotiques contiennent autres avantages pour la santé qui sont décrits dans le tableau (3).

**Tableau3 : les effets des probiotiques sur la sante humaine(Bouguerra,2012).**

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

**Chapitre 3 :**  
**Le lait de chèvre et le lait**  
**camelin**



### 3.1. Lait de chèvre

Le lait de chèvre a couleur blanc mat due à l'absence de  $\beta$ -carotène, Il a une odeur assez neutre. Parfois en fin de lactation, une odeur caprine. Sa composition chimique varie selon l'espèce, condition d'environnement, et stade de lactation.

La composition chimique important pour l'acidification du lait par les ferments lactiques et notamment l'influence des sels minéraux et les microorganismes (BERRADIA, 2001).

#### 3.1.1. Microbiologie du lait de chèvre

Le lait est un substrat très favorable au développement des microorganismes. On répartit les microorganismes du lait, selon leur importance, en deux types :

La flore originelle et la flore contaminant (la flore d'altération et la flore pathogène).

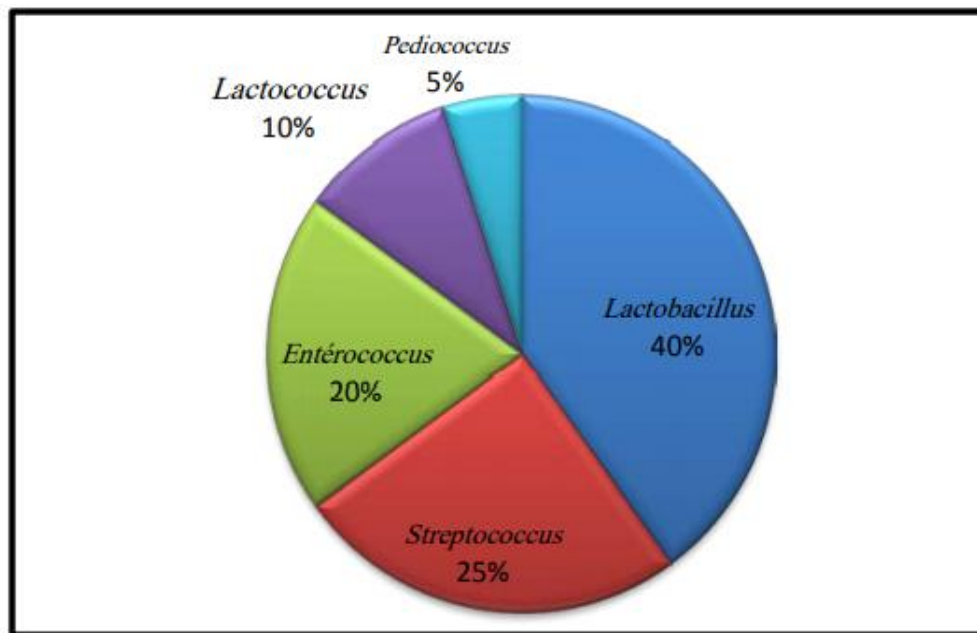
#### 3.1.2. La flore original

Se sont les bactéries lactique qui peuvent se retrouver dans le lait comme *Lactococcus lactis*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Streptococcus thermophilus* (GUESSAS *et al* ;2004).

D'après l'étude d'identification des bactéries lactiques proposée par BERRADIA (2016), la microbiologie de lait de chèvre été composée par *Lactobacillus delbrueckii*, *Lactobacillus fermentum*, *Streptococcus thermophilus*, *Streptococcus mitis*, *Enterococcus durans*, *Lactococcus lactis sub sp*, *Pediococcus faecalis* et se repartir à des pourcentages défferents qui ont schématisé au figure (2).

#### 3.1.3. Flore de contamination

Est l'ensemble des microorganismes contaminant le lait, a partir la récolte jusqu'à la consommation. Elle peut se composer d'une flore d'altération, qui causer des défauts sensoriels ou qui réduira la durée de conservation des produits, et d'une flore pathogène dangereuse du point de vue sanitaire (Vignola, 2002).



**Figure 2. Secteurs de répartition des genres des bactéries lactiques (BERRADIA,2016)**

Le lait se contamine par des microbes d'origines diverses, qui sont résumés au tableau (4).

**Tableau 4. Quelques propriétés des micro-organismes de lait cru. (Belabeddou *et al.*,2016)**

microorganismes contaminant	Origine
<i>Coliformes, Clostridies, et éventuellement des Entéobactéries pathogènes (salmonella).</i>	Fèces et téguments de l'animal
<i>Streptomyces, bactéries sporulées, spores fongiques, listéria.</i>	Sol
flore banale variée, en particuliers, <i>Lactobacilles, Clostridium butyriques</i>	Litière et aliments
flore diverse dont <i>pseudomonas</i> , bactérie sporulées, etc	Air et eau
flore lactique, <i>microcoque, Lactobacilles, Streptocoques, Leuconostoc</i> , levure	Équipements de traite et de stockage du lait

### 3.2. Lait de chamelle

Le lait de chamelle est composé en moyenne de 11,7% de solides totaux, 3,5% de protéines, 4,5% de matières grasses, 0,8% de cendre, 4,4% de lactose, 0,13% d'acidité et a un pH de 6,5 (Kebir, 2018).

D'autre part, il contient une grande concentrations en vitamines et en minéraux qui en font un véritable aliment , mais il présente des teneurs faibles en vitamines A et B2 par rapport le lait normal(Senoussi, 2011).

#### 3.2.1. Microbiologie du lait camelin

Le lait est un substrat contient des bonne concentrations en protéines, en glucides, en lipides, en sels minéraux et en vitamines, pour la croissance cellulaire.

Le lait contient peu de microorganismes (3000 germes/ml) lorsqu'il est prélevé dans de bonnes conditions et à partir d'un animal sain (Guiraud, 1998). Il s'agit essentiellement des bactéries lactiques variées : microcoques, streptocoques lactiques et bacilles et d'autres microorganismes lorsqu'il est issu d'un animal malade, par exemple l'espèce *Staphylococcus aureus* issus d'un animal atteint de mammites.Ou bien, au cours de la traite, du transport et du stockage à la ferme ou à l'usine, le lait peuvent contaminer par une grande variété de microorganismes (Larpen, 1997).

Il en résulte que la nature de la flore microbienne du lait cru est à la fois complexe et variable d'un échantillon à l'autre et suivant l'âge du lait (Larpen, 1997).

# **Partie II :**

## **La partie expérimentale**

# **Chapitre 4 :**

## **Matériels et méthodes**

Les travaux (l'étude) menés par Sharma *et al.*,(2019) ont été prise comme notre partie pratique de mémoire ainsi les résultats obtenues sont comparés avec d'autres travaux en relation avec l'intitulé de manuscrit.

Les articles sont comparés sont cités en annexe pour plus d'information pour le jury.

#### **4.1. Echantillonnage**

Quatre échantillons ont été prélevés (collectés) de Chaque race dans des périodes différentes de lactation (c'est-à-dire 1, 4 et 12 mois). Les échantillons ont été collectés à par le centre National Camel Research Center (NRCC) situé à Bikaner, Rajasthan.

La traite de différents laits a été faite par la méthode traditionnelle et ont été collectés dans les bonnes conditions de conservation dans des contenants stériles.

#### **4.2. Isolement et Enrichissement de BL**

Les échantillons ont été enrichis (1% de volume à 50 ml de bouillon MRS) ; et incubés à 37°C pendant une semaine dans l'agitateur rotatif orbital (Brunswick). Les colonies de morphologie distincte ont été prélevées et purifiées par repiquage successif. Les BL ont été isolées à partir d'un échantillon de lait et étalées sur du milieu MRS solidifié. Les boîtes de pétri ont été incubées à 37 ° C pendant 24 à 48 h.

#### **4.3. Criblage de BL (bactéries lactiques)**

Un screening (criblage) en deux étapes a été effectué pour sélectionner les isolats bactériens ayant une activité probiotique; un screening primaire et secondaire.

Le dépistage primaire impliquait une évaluation morphologique et physiologique (coloration de Gram et test de catalase) suivie d'une exposition à des conditions de stress abiotique (tolérance à la salinité et à la température). La caractérisation morphologique a été réalisée par coloration de Gram à l'aide d'un kit de coloration. Les cellules bactériennes ont été examinées sous microscope optique. La présence de la catalase a été révélée en utilisant le H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> à 3%. Pour étudier la morphologie des souches bactériennes sélectionnées montrant une nature probiotique, Après 24 h les cultures étaient utilisées et observées au microscope électronique (SEM). Afin de préserver la morphologie de la surface, la méthode CPD (Critical Point Drying) a été utilisée (Prasanna and Charalampopolous, 2018).

Les testes biochimiques des souches bactériennes sélectionnés était performée par kit HiBacillus TM et les résultats été interprété selon les instructions données.

#### 4.4. Identification géotypique des isolats

L'identification des à l'échelle de l'espèce a été faite par séquence partiel du gène ADNr 16S. L'ADN génomiques des isolats bactériens a été extrait en utilisant un kit d'extraction en suivant les instructions du fabricant. L'amplification du gène ADN 16 S est effectuée par la technique PCR en utilisant les amorces spécifiques :

27F 5'AGAGTTTGATCMTGGCTCAG-3' et

1492R 5'-TACGGYTACCTTGT TACGACTT-3'.

L'amplification a été faite dans un mélange réactionnel de 25 µl constitué de 0.5µl **forward and reverse primer each (20 pmol ml<sup>-1</sup>)**, 0.5µl d'NTP, 2µl **of template**, 2.5µl 10X tampon, 2.5µl MgCl<sub>2</sub>, 0.2µl Taq polymérase et 16.3µl d'eau de qualité moléculaire. Les produits PCR sont analysés par électrophorèse sur gel d'agarose 1%. L'amplification du gène ADNr 16S a été purifiée en utilisant un kit d'extraction à partir du gel. L'amplification purifiée a été ensuite envoyée à la firme Macrogen (Korea) pour séquençage. Les séquences de l'adnr16s des bactéries sélectionnées obtenues ont été comparées avec les séquences disponibles dans la base de données NCBI à l'aide d'algorithme BLAST. Les séquences étroitement similaires ont été retenues et alignées à l'aide de program Clustal W. un arbre phylogénique est construit à partir de la distance évolutive entre les souches à l'aide du logiciel MEGA 7.0 (Batta *et al.*, 2013).

L'arbre phylogénétique a été construit à partir d'un processus de matrice de distance évolutif à l'aide du logiciel MEGA 7.0.

#### 4.5. Mise en évidence *in vitro* des propriétés probiotiques

Afin d'explorer le potentiel probiotiques des 9 souches sélectionnées (se basant sur le screening primaire); chaque souche a été soumise au second criblage. Seulement, trois espèces de bactéries lactiques ont été utilisées et leur potentiel probiotique est étudiées en détail, à savoir la souche, *Lactobacillus plantarum*, *Lactococcus lactis* et *Enterococcus lactis*. Le criblage inclus la réalisation de divers tests *in vitro* qui sont décrits dans la section ci-dessous.

#### **4.5.1. Tolérance aux conditions acides de l'estomac**

Pour pouvoir exercer un rôle bénéfique sur la santé humaine, les bactéries probiotiques doivent conserver une viabilité lors du passage dans le tractus gastro-intestinal. La tolérance aux acides a été étudiée pour les souches bactériennes sélectionnées. Le MRS bouillon supplémenté avec 3mg/ml de pepsine est utilisé comme milieu d'étude. Le pH du bouillon a été ajusté avec HCl 1,0 N à différentes valeurs de pH (2,0, 3,0 et 4,0) et le MRS pH 7 a été pris comme contrôle. Le bouillon a été inoculé par des cultures d'une nuit avec les souches isolées et incubé à 37 ° C pendant 24 h. Des aliquotes ont été prélevés chaque 6 heures d'intervalle et la densité optique est enregistrée à 620 nm avec et un dénombrement du compte viables des souches.

#### **4.5.2. La tolérance à la bile**

Les souches ont été testées afin d'évaluer leur capacité à croître en présence de différentes concentrations en sels biliaires. Le test a été réalisé en utilisant trois sels, le désoxycholate de sodium, le taurocholate de sodium et l'acide cholique, à différentes concentrations à savoir 0,1%, 0,2% et 0,3% (p / v) respectivement. Les différentes concentrations ont été préparées dans des flacons de 100 ml contenant 20 ml de bouillon MRS stérile. Le contrôle a été maintenu en utilisant du bouillon MRS sans modification. Les flacons ont été inoculés par des cultures de LAB d'une nuit ensuite incubé 37 ° C pendant 15h. Des aliquotes ont été mesurés pour vérifier la viabilité des cellules à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible chaque 6 heures.

#### **4.5.3. Test d'hydrolyse des sels biliaires**

Des cultures bactériennes fraîches ont été déposées sur gélose MRS contenant différents sels biliaires pour tester l'activité BSH puis incubées en anaérobie à 37 °C pendant 72 h. Les souches ayant une activité hydrolase vis-a-vis les sels biliaires démontrent un halo de précipité de sels biliaires déconjugués au tour des colonies.

#### **4.5.4. Test de Hydrophobicité**

Le critère fondamental pour le processus d'adhésion est la capacité des organismes à adhérer à l'hydrocarbure.

Les cellules bactériennes d'une culture d'une nuit sont récupérées par centrifugation (6000 g, 10 min), laver deux fois par tampon K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (0,05M) puis suspendu dans le même tampon



pour obtenir une DO d'environ 1,0. Un volume de 3 ml de cette suspension bactérienne est laissé entrer en contact avec 0,6 ml de trois hydrocarbures (hexadécane, toluène et xylène) en mixant par vortex pendant 2 min le mélange. Les phases sont laissé se séparer par décantation à 37 ° C pendant 1 h dans un tube ou flacon propre et après quoi la  $DO_{560\text{ nm}}$  de la phase aqueuse est mesurée.

La diminution de la valeur d'absorbance de la phase aqueuse a été menée en équivalence avec l'hydrophobicité de la surface cellulaire (H%), qui a été calculée avec la formule donnée.

$$H\% = \left[ \frac{A_0 - A}{A_0} \right] \times 100$$

A<sub>0</sub> et A sont les absorbances avant et après l'extraction avec hydrocarbures.

#### **4.6. Critères de la sécurité des LAB**

##### **4.6.1. Sensibilité aux antibiotiques**

La sensibilité aux antibiotiques des LAB a été déterminée par la méthode de diffusion sur disque en milieu gélosé. La sensibilité aux antibiotiques de souches a été déterminé par la méthode de diffusion en milieu gélosé selon Bauer *et al.*, (1966). Les boites sont préparées en mixant 100 µl de cultures fraîches avec 10ml du milieu MRS gélose en surfusion. Les disc d'antibiotiques sont ensuite placés en surface de la gélose solidifié et incubés à ,37 pendant 48h. La Résistance a été testée à l'encontre des antibiotiques suivants : pénicilline G (10 µg), streptomycine (100 µg), lincomycine (15 µg), amikacine (10 µg), tétracycline (30 µg), chloramphenicol (25 µg). La zone d'inhibition a été mesurée en millimètres (mm).

##### **4.6.2. Test d'activité antimicrobienne**

L'Activité antimicrobienne des bactéries est vérifiée selon la technique de diffusion en puits décrite par Balouiri *et al.*,(2016).Les souches ont été examinées pour la production de substances antimicrobienne contre *Staphylocoque aureus* (ATCC-6538), *E. coli* (ATCC-11775), *Bacillus cereus* (ATCCBAA-512) et *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC-19429). Le test a été réalisé sur des plaques de gélose Mueller Hinton etensemencées avec des bactéries indicatrices. Ensuite Préparer et remplir 100mL de culture sur des puits de (5 mm).

Les plaques sont incubées à 37 ° C pendant 24 à 48 heures. Ensuite le diamètre de la zone d'inhibition a été mesuré.

#### 4.6.3. Test d'activité hémolytique

Pour tester l'activité hémolytique, les souches sont cultivées sur une plaque de gélose au sang et incubée à 37 ° C pendant 48h. Les plaques ont été observées pour la formation de tout  $\beta$ -hémolyse (propre) ou  $\alpha$ -hémolyse (verdâtre) et  $\gamma$ -hémolyse (pas de telles zones hémolytiques) autour des colonies.

#### 4.6.4. Test d'adhésion cellulaire *in vitro*

L'adhésion cellulaire est le principal critère pour examiner le potentiel d'un probiotique.

La capacité d'adhésion d'une bactérie à adhérer aux cellules épithéliales du tractus intestinal est une condition préalable à l'établissement de la colonisation. L'adhésion intracellulaire a été déterminée par l'utilisation des cellules de CaCo2 et la jonction d'adhérences où la cellule interagit avec la jonction intracellulaire, l'interaction a été surveillée et le score d'adhésion a été déterminé par la coloration de Giemsa et observé 20 fois par des champs microscopiques différents. Le potentiel d'adhésion bactérienne envers CaCo2 a été examiné pour *L. plantarum* et *E. lactis*. La lignée cellulaire a été maintenue en condition de 37°C et dans une atmosphère humide de 5% CO2 et 95% d'air). L'étude d'adhésion a été exercée au centre national NTC.

# **Chapitre 5**

## **Résultats et discussion**

Dans cette partie du manuscrit les travaux menées par de Sharma *et al.*,(2020) est pris comme notre travail pratique ainsi les résultats obtenus sont comparé avec d'autre travaux en relation avec l'intitule du mémoire.

### 5.1. Isolement et l'identification du BL

L'isolement de bactéries lactiques du lait de chamelle a été réalisé sur gélose MRS. 80 isolats présumés en tant que bactéries lactiques, montrant qu'ils sont gram positif et catalase négative ont été sélectionnés pour une identification approfondie. les 80 isolats de bactéries lactiques ont été caractérisé en étudiant leur caractères morphologique et physiologiques.

Basant sur la température de croissance, la tolérance au NaCl et la tolérance au pH, uniquement 9 isolats de bactéries lactiques ont été sélectionnés pour une caractérisation probiotiques détaillée.

Parmi les 9 isolats, seulement 3 souches de bactéries lactiques à savoir ; cam 12 *L. lactis*, cam 14 *E. lactis* et cam 15 *L. plantarum* ont montré une tolérance envers les sels biliaries.

Ces 3 LAB ont été étudiés d'avantage pour identification et caractérisation biochimique ainsi pour leur potentiel probiotique.

L'observation microscopique révéle des coccus (329,0–787,5 nm), des bâtonnets (584,2–943,1 nm), regroupée en paire ou en chaînette, immobile (absence de flagelle).

Les trois isolats sélectionnés, cam14, cam 12 et cam 15,ont été génétiquement caractérisé par une séquençage partiel de leur ADNr 16S. les souches ont été identifiées comme appartenant à l'espèce *E. lactis* (cam14), *L. lactis* (cam 12) et *L. plantarum* (cam 15) respectivement. Les souches ont été enregistrées sous le numéro d'accession MF143551, MF143552, et MF14.

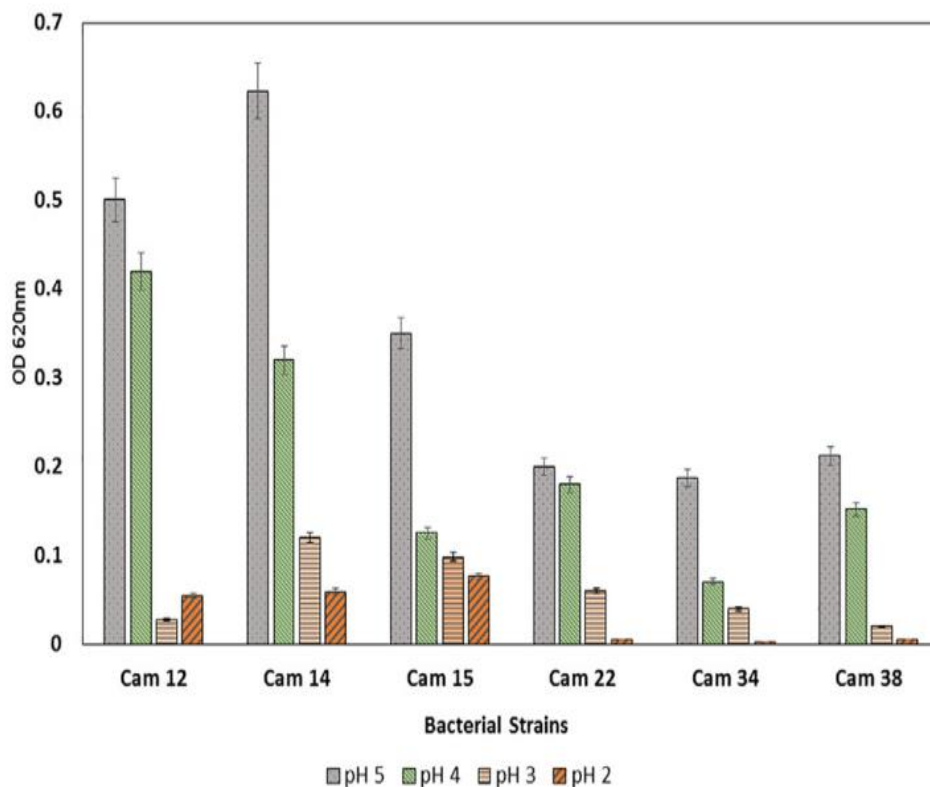
La présence de la souche *L. lactis* et *E. Lactis* dans le lait camelin a été précédemment rapporté également par (Khay *et al.*, 2011; Hamed and Elattar .,2013).

Zamfir *et al*, (2006), en isolant des bactéries lactique à partir de lait de chamelle, ont retrouvé une prédominance des espèces appartenait au genre *enterococcus*, *lactococcus* et *lactobacillus*. Également, badis *et al*, (2004) et Makete *et al* ,(2016) ont déclarée des résultats similaires avec le lait de chèvre. L'identification des isolats de lait de chèvre par la galerie API 50CH indique la présence *L. plantarum* et *L. rhamnosus* et l'étude par MALDI-TOF pour

Les mêmes isolats a été identifiée comme *Pediococcus acidilactici*, *L. plantarum*. Le séquençage par ADNr 16S été base sur ADNr 16S montre que les bactéries dominantes qui se trouve dans le lait de chèvre sont des *lactobacillus*.

## 5.2. Tolérance à l'acidité

Le critère de base pour sélectionner les micro-organismes à potentiel probiotique est leur capacité à atteindre et à survivre dans le tube digestif, en particulier dans les pH acides et les sels biliaries. Les souches de bactéries lactiques à potentiel probiotique ont été examinées pour leur abilité à tolérer aux conditions acides dans le MRS bouillon ajusté à des pH 5,4,3 et 2 en présence de la pepsine. La survie à pH 3 était favorable pour toutes les souches de bactéries lactiques sélectionnées. Toutes les 3 LAB ont démontrées une viabilité à pH 3, toutefois *E. lactis* (cam 14) et *L. plantarum* (cam 15) ont continué leur surcroissance à pH 2 Remarquable dans la figure 3.



**Figure 3 :** Tolérance d'acide de souches sélectionnées à différents pH (Sharma *et al*,2020).

D'après l'étude de Makete *et al* ;(2016) tous les *lactobacillus plantarum* et *pedicoccus acidilactici* isolée à partir le lait de chèvre n'ont montre aucun tolérance et croissance au pH

1 après 1 h d'incubation, mais ils ont remarque une survie au pH 2 durent plusieurs minutes et un pH de 3,0 pendant plusieurs heures.

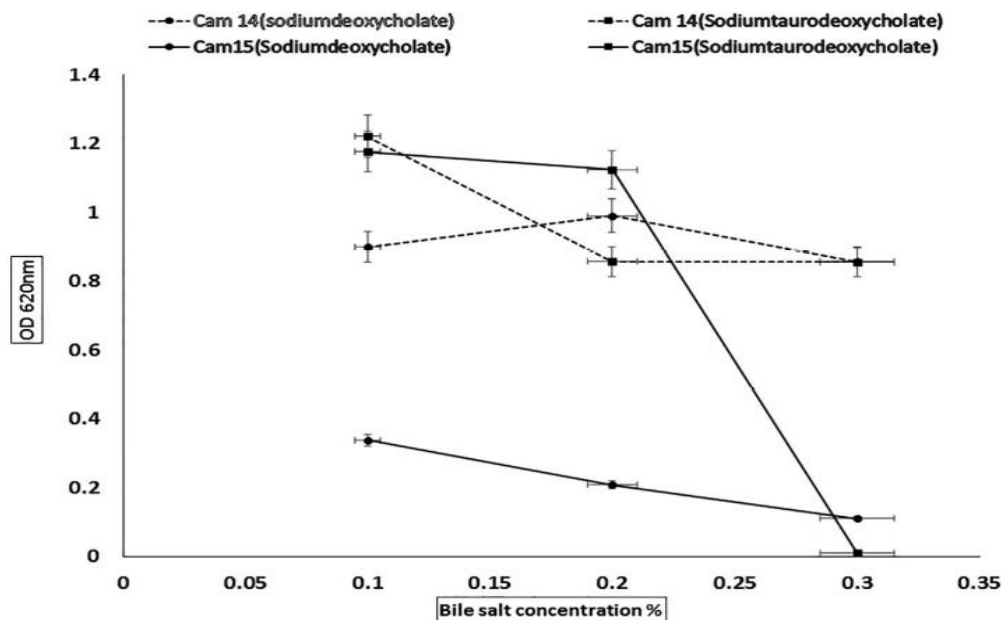
### 5.3. Tolérance aux sels biliaries et hydrolyse des sels biliaries

La bile joue un rôle important dans le mécanisme de défense de l'intestin, et son comportement inhibiteur dépend de la concentration en sels biliaries (Charteris *et al.*, 2000).

Le test de tolérance aux sels biliaries et hydrolyse des sels biliaries été etudie par utilisation de sodium deoxycholate, sodium taurocholate et sodium cholate. *E. lactis* et *L. plantarum* (cam 14 et cam 15) été menée une croissance et survivre contre les sels biliaries suivants : sodium deoxycholate et sodium taurocholate a pourcentage de 0.1, 0.2 et 0.3 % (figure 4). Les LAB isolées a partir le lait de chamelle été remarque aucun tolérance au le sel biliaire sodium cholate. Egalement le mécanisme de résistance des bactéries lactiques au base pH ou concentration biliaire se défère selon les espèces et les souches (Aarti *et al.*, 2017).

Les résultats d'étude suggéré que les souches *L. plantarum* et *E. lactis* ont été capable de survivre au sel biliaire a des pourcentage élevée (0.3%) de concentration biliaire.

Zoumpopoulou *et al.*,(2008) été constate la même résultat de tolérance probiotique des souches de *L. fermentum*, *L. plantarum* et *L. paracasei* envers les sels biliaries .



**Figure 4 :** Données de tolérance aux sels biliaries de certaines souches lactiques (Sharma *et al.*,2020).

Les LAB isolés à partir de lait de chamelle ont été sélectionnés pour leur hydrolyses de sels biliaries et ont été remarqué qu'elles sont capables de décojuguer les sels biliaries.

Une activité potentiel d'hydrolyses a été observé par *Enterococcus lactis* (cam 14) avec le deoxycholate, sodium taurodeoxycholate et le sodium cholate, cependant *Lactobacillus plantarum* (cam 15) a montré une activité d'hydrolyse contre sodium deoxycholate et sodium taurodeoxycholate suivie par *Lactococcus lactis* (cam 12) en montrant une activité d'hydrolyse que contre le sodium taurodeoxycholate (tableau 3).

Les mêmes résultats a été remarqué d'après Makete *et al.*,(2016) pour les bactéries lactiques de lait de chèvre qui sont pu se développé après 4 h au présence de 0.3 et 05 % d'ox-gall. L'étude des bactéries lactiques de lait de chèvre a confirmé que la plupart des souches sont résistantes aux sels biliaries, et la perte du nombre de bactéries viables est négligeable (inférieure à 1 log UFC g-1) (Mahmoudi *et al.*,2019). Les BSH sont généralement des enzymes intracellulaires, insensibles à l'oxygène qui catalysent l'hydrolyse des sels biliaries. Un certain nombre de BSH ont été identifiés et caractérisés chez des bactéries probiotiques, la capacité des souches probiotiques à produire des BSH a été souvent considérée comme critère de sélection des souches probiotiques (Shehata, et al., 2016).

**Tableau 5** : Activité d'hydrolyse des sels biliaries (Sharma *et al.*,2020).

<b>Strains</b>	<b>Sodium deoxycholate (log<sub>10</sub>CFU/ml)</b>	<b>Sodium tauro deoxy cholate (log<sub>10</sub>CFU/ml)</b>	<b>Cholic acid log<sub>10</sub>CFU/ml</b>
<i>Lactococcus lactis</i> (cam 12)	No precipitated colonies were observed	7.0 ± 0.001	No precipitated colonies were observed
<i>Enterococcus lactis</i> (cam 14)	8.25 ± 0.003	7.85 ± 0.002	7.89 ± 0.002
<i>Lactobacillus plantarum</i> (cam 15)	7.21 ± 0.002	7.90 ± 0.001	No precipitated colonies were observed

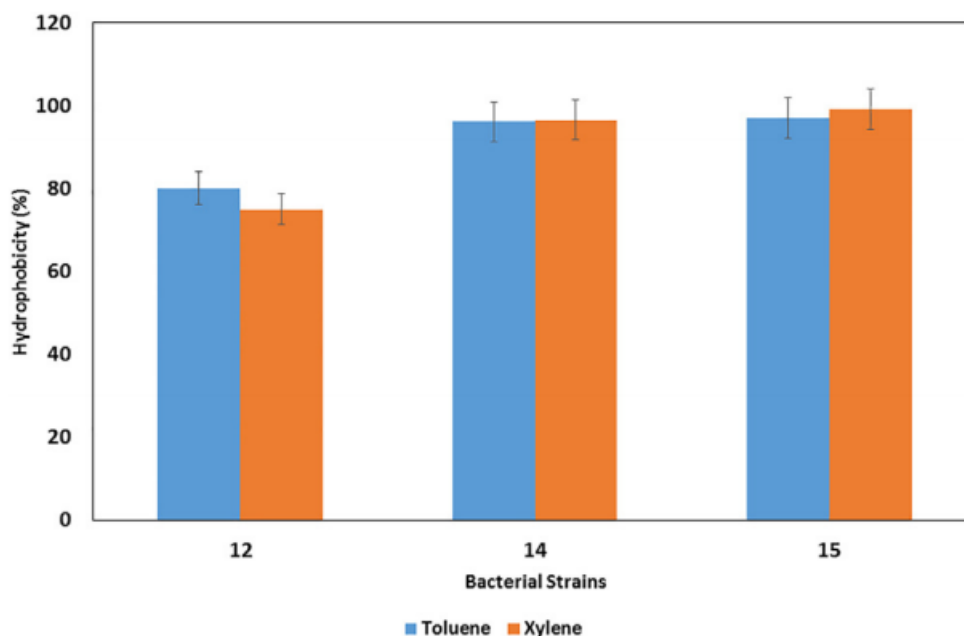
#### 5.4. Hydrophobicité

Le caractère d'hydrophobicité c'est l'attachement électrostatique et / ou hydrogène de différents substrats qui indique la propriété probiotique des bactéries par adhésion à des solvants organiques.

Dans la présente étude, l'hydrophobicité a été étudiée *in vitro* où un maximum pourcentage d'hydrophobicité avec le xylène (99%) a été enregistré par *L. plantarum* (cam 15) suivi par le toluène (97%). Un résultat similaire est montré par *E. lactis* avec une hydrophobicité de avec le toluène et xylène 96% (figure5).

*L. lactis* été montrée la moindre d'hydrophobicité cellulaire avec le xylène et toluène et aucune hydrophobicité n'été remarqué contre n-hexadécane. Les souches bactériennes ont démontrées une variation d'hydrophobicité avec les différents hydrocarbures été liée aux protéines de surface cellulaire qui sont spécifique a la souche.

Ehrmann *et al.*, (2002) ont rapporté une corrélation entre l'hydrophobicité et la capacité d'adhésion cellulaire.



**Figure 5 :** Pourcentage d'hydrophobicité de surface H% (Sharma *et al.*,2020).

En outre, Makete *et al.*,(2016) ont signalé précédemment que la plupart des isolats de lait de chèvre ont adhéré au mucus de l'iléon pendant les premiers 6 h d'incubation.

Les souches bactériennes qui ont présentées une faible capacité d'adhésion dans les premiers heures pourraient être due à la formation des amas et des chaînes bactériennes lors de la croissance qui ralentisse l'adhésion cellulaire. Cependant, Mahmoudi *et al.*, (2019) indique que L'auto-agrégation et l'hydrophobicité des souches probiotiques du lait de chèvre semblaient être nécessaires pour l'adhésion aux cellules épithéliales intestinales.



L'adhésion de bactéries probiotiques sur les cellules épithéliales humaines a été suggérée comme un mécanisme important pour empêcher la colonisation par des entéropathogènes, et constitue une propriété spécifique de la souche (Rodríguez *et al.*, 2012).

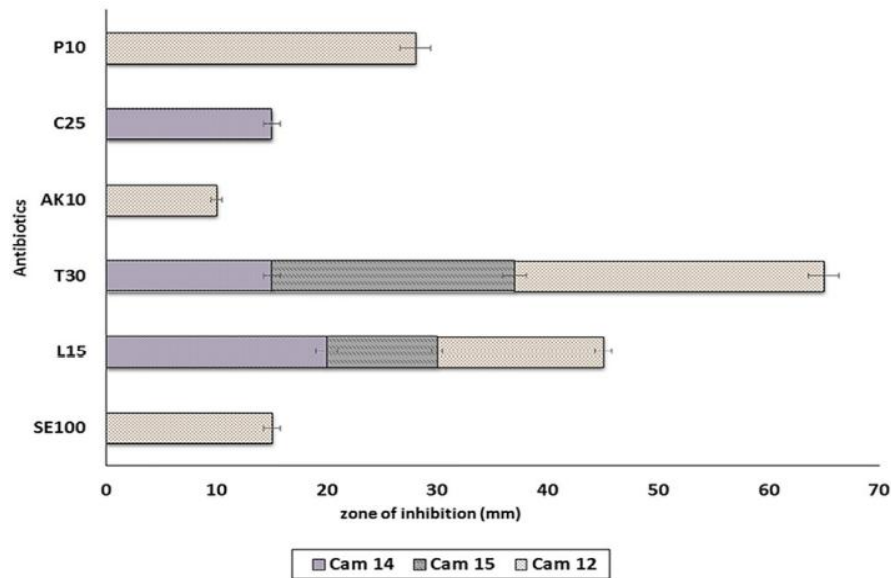
### 5.5. Sensibilité aux antibiotiques

Le genre *Lactobacillus* est le plus grand groupe parmi les bactéries lactiques (LAB) et probablement le plus couramment utilisé comme probiotique dans une variété d'aliments, principalement les produits laitiers fermentés.

Dans la présente étude sur les souches isolées à partir de lait camelin ont été testé pour leurs sensibilité aux antibiotiques (pénicilline, amikacine, lincomycine, streptomycine, tétracycline et chloramphénicol) en utilisant la méthode de diffusion des disques sur MRS gélose en condition aérobie. Les résultats sont mentionnés dans la figure (6).

Parmi les groupes d'agents antimicrobiens qui détruisent la paroi cellulaire et inhibent la synthèse des acides nucléiques, tous les LAB (100%) se sont révélés résistants au chloramphénicol et à la lincomycine. Seulement 30% de LAB intermédiaire à la streptomycine, au chloramphénicol et à l'amikacine. En ce qui concerne les mécanismes génétiques de la sensibilité aux antibiotiques chez *Lactobacillus* est limitée, bien que des gènes antibiotiques codés par des plasmides aient été signalés dans les deux cas *L. reuteri* et *L. plantarum* (Solieri *et al.*, 2014). De même, les lactobacilles sont généralement sensibles aux antibiotiques qui inhibent la synthèse des protéines comme le chloramphénicol, lincomycine et tétracycline.

Les résultats par Almeida *et al.*, (2015) ont rapporté que le profil de sensibilité de bactéries lactiques du lait de chèvre était élevée pour les 6 antibiotiques testés. Quelques isolats étaient résistants à tous les antibiotiques testés avec une sensibilité plus faible a été observée par les isolats avec l'oxacilline, où d'autres isolats étaient présentée une résistance à cette antibiotique. La plupart d'isolats étaient sensibles au chloramphénicol. Selon Klare *et al.*, (2007) les souches des bactéries lactiques sont généralement sensibles à cette antibiotique.



**Figure 6 :** Évaluation antibiotique des souches potentielles (Sharma *et al.*,2020).

Makete *et al.*, (2016) et Sharma *et al.*, (2019) donnent la même avis que les lactobacilles généralement que se soit de lait de chèvre ou bien de lait de chamelle se sont sensibles à la pénicilline . L'étude du profil de résistance des isolats de LAB candidats à l'utilisation de probiotiques est essentielle. Les bactéries peuvent servir d'hôtes de gènes de résistance aux antibiotiques, qui peuvent être transférés à des bactéries pathogènes.

Saarela *et al.*,(2002) ont rapporté que les lactobacilles présentent naturellement un large éventail de résistances aux antibiotiques, mais dans la plupart des cas, cette résistance n'est pas un type transférable et par conséquent, ne crée pas généralement des problèmes de sécurité. Sur la base des données, il est suggéré que la sensibilité aux antibiotiques et la résistance du LAB sont varient selon les espèces.

### 5.6. Test d'activité antimicrobienne

Lors de la sélection des probiotiques, il est très important que les souches doivent inhiber la croissance des bactéries pathogènes dans le tractus gastro-intestinal.

Touts les souches qui ont été utilisée dans cette étude, indiquent un effet inhibitrice significatif sur la croissance des microorganismes pathogènes. Les Souches cam 14 *E. lactis* et came 15 *L. plantarum* ont montrée un effet plus fort sur *S. aureus*, *E. coli*, *B. cereus*, en outre que came 12 *Lactococcus lactis* avait un effet inhibiteur inormal sur *E.coli* seulement.

L'une des caractères significatifs pour le probiotique bactérienne c'est la capacité d'inhiber la croissance d'un pathogène.

Dans notre étude les résultats ont montrée que les souches des bactéries lactiques de lait camelin peuvent produire des substances antimicrobiennes comme l'acides organiques et bactériocines et ils ont le potentiel d'être utilisées comme conservateur alimentaire. Plus tôt également, il a été observé que la source d'isolement du bactéries lactiques jouait un rôle important dans l'inhibition contre un large éventail d'agents pathogènes, ce qui est à l'appui de nos résultats (Annuk *et al.*, 2003).

Almeida *et al.*,(2015) ont rapporté que les isolats de lait de chèvre ont présenté différents niveaux d'action inhibitrice contre les agents pathogènes. Plus grand nombre d'isolats des bactéries lactiques inhibés *L. Monocytogenes*, une activité antibactérienne plus élevée été observée contre *E. coli* et *Klebsiella pneumoniae* avec une zone d'inhibition de 5,5 mm.

De la même façon le même auteur a trouvé qu'une bonne activité inhibitrice des bactéries lactiques de lait de chèvre contre les bactéries pathogènes (*Salmonella Typhi*, *Staphylococcus aureus*, *Shigella flexineri*, *Enterococcus faecalis*, *Bacillus cereus*). L'activité antibactérienne d'un probiotique est primordiale pour la colonisation réussie des muqueuses intestinales. Elle lui assure un effet de barrière et de défense contre les pathogènes (Boukhalfi, 2020).

D'après les travaux de Xu *et al.*, (2009) les lactobacilles probiotiques adhésifs ont présenté des effets bénéfiques sur la santé, en particulier à la fonction inhibitrice d'adhésion des agents pathogènes aux lignées cellulaires intestinales.

### **5.7. Activité des amines hémolytiques et biogéniques**

Dans la présente étude, Toutes les souches n'ont montré aucune hémolyse ( $\gamma$  hémolyse) des cellules sanguines. Des résultats similaires par Oh et Jung., (2015) ont été rapportée où les souches *L.plantarum* et *Pediococcus* n'ont mentionnée qu'aucune activité hémolytique.

Selon les directives FAO /OMS.,(2002) l'absence d'hémolyse prouve la sécurité des probiotiques. Des résultats similaires ont été rapportés où *L. plantarum* et *Pediococcus* n'ont montré aucune activité hémolytique (Oh et Jung, 2015).

Mahmoudi *et al.*, (2019) ont confirmé qu'aucune activité hémolytiques n'a été observée où les souches de lait de chèvre ont cultivée au gélose au sang. Le test hémolytique a été

réalisé par spotting sur des plaques de gélose au sang. L'activité hémolytique peut se retrouver dans l'apparition d'un halo clair autour de la colonie ( $\beta$ -hémolyse), un halo vert ( $\alpha$ -hémolyse) ou il ne peut pas être détecté ( $\gamma$ -hémolyse).

Les amines biogènes sont produites lors de la décarboxylation des acides aminés. La présence de taux élevés d'amines biogènes dans les aliments a un impact grave sur la santé humaine après la consommation (Bover-cid et Holzapfel, 1999; Karovicova et Kohajdov, 2005). Par conséquent, l'absence des amines biogéniques est un critère de sécurité alimentaire.

Dans notre étude, les amines biogènes n'ont pas été produites par cam 15 *L. plantarum*, cam 12 *Lactococcus lactis* et cam 14 *E. lactis*. Puisqu'il n'y a pas de changement de couleur sur le milieu en prouvant qu'aucune amine biogène n'a été produite. Ainsi, cam 15 *L. plantarum*, cam 12 *L. lactis* et cam 14 *E. lactis* sont validées pour être non pathogènes en tant que cultures starter.

### 5.8. Test d'adhésion *in vitro*

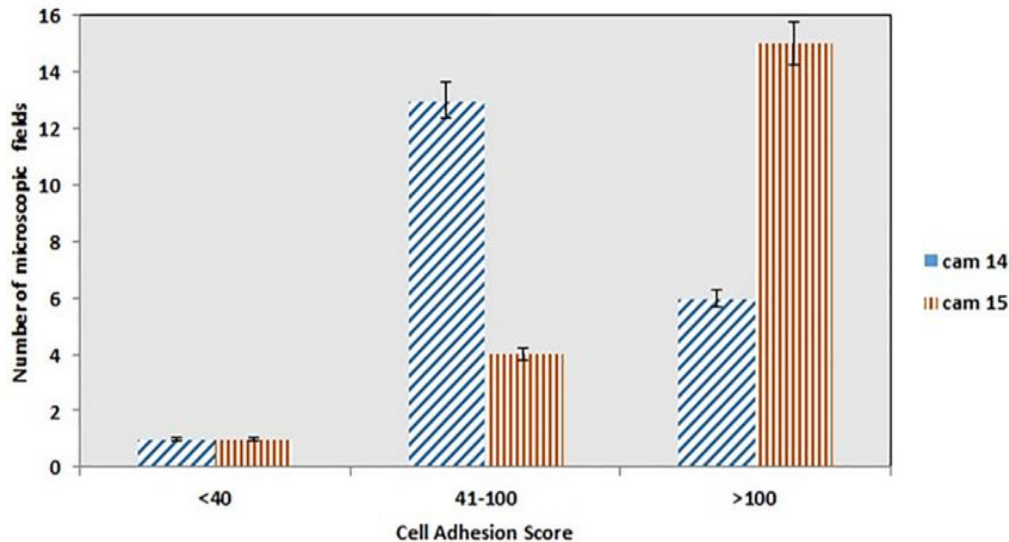
La capacité d'adhésion est considérée comme un critère standard pour sélectionner un probiotique (Duany et al., 2011).

Dans cette étude, les souches *L. plantarum* (cam 15) et *Enterococcus lactis* (cam 14) ont été testés pour leur capacité d'adhésion avec des lignées cellulaires Caco-2.

*Lactobacillus. plantarum* (cam 15) a montré une forte adhésion avec la lignée cellulaire Caco-2 avec le score d'adhésion ( $> 100$  bactéries / 15 champs microscopiques). Tandis que *E. lactis* (cam 14) a également montré un score d'adhésion de 100 bactéries / 6 champs microscopiques. La figure (7) représente les résultats d'adhésion des bactéries lactiques. Sur l'évaluation comparative *Lactobacillus reuteri* a montré un score d'adhésion de 100%. Ces résultats concordent avec des résultats d'une autre étude, qui ont révélés d'une capacité d'auto-agrégation élevée liée à une forte capacité d'adhésion (Wang et al., 2018).

Le mécanisme d'adhésion implique l'interaction entre les lipides, les peptidoglycane et les protéines de surface qu'ont présentes sur la paroi cellulaire bactérienne. Les constituants protéiques de la paroi cellulaire bactérienne facilitent l'adhésion bactérienne aux cellules épithéliales intestinales. Ces composants protéiques ont été présents dans de nombreuses espèces de *Lactobacillus* (Singh et al., 2017). Les résultats de cette étude démontrent que les souches

probiotiques *Lactobacillus plantarum* (cam 15), *Enterococcus lactis* (cam 14) étaient fortement adhésives avec les cellules épithéliales intestinales. Cependant, ces résultats signifient que le mécanisme d'adhésion et la capacité d'adhésion était très spécifique aux souches probiotiques.



**Figure 7 :** Score d'adhésion des souches (nombre de cellules bactériennes adhérent à la lignée cellulaire Caco-2) (Sharma *et al.*,2020).

En outre, Makete *et al.*, (2016) ont été signalé précédemment que les isolats des bactéries lactiques de lait de chèvre sont des candidats peuvent être utilisé pour la lutte contre les agents pathogènes responsables de la mammite et de l'entérite bactérienne chez les chèvres.

Le niveau d'adhésion des bactéries est en corrélation positive avec le nombre de bactéries ajoutées à un certain moment où la saturation des sites de liaison potentiels sur les lignées cellulaires se produit probablement (Duary RK *et al.*,2011). Sur la base du nombre de cellules viables enregistré à la fin de 6 h d'incubation avec l'iléon porcin, tous les isolats adhérent de manière similaire au mucus. Cependant Tuomola et Salminen ont signalé des données rapportées par l'étude sur les bactéries lactiques de lait de chèvre démontrent la capacité des isolats à adhérer au mucus et donc leur potentiel à coloniser avec les cellules intestinales.

D'autre part, Mekete *et al.*, (2016) ont constaté que *Lactobacillus. plantarum* et *Pedicoccus. acidilactici* sont satisfait à la plupart des critères utilisés pour les probiotiques. Ils ont montré leur capacité à tolérer, à survivre aux conditions gastro-intestinales stressantes et à

produire des substances antimicrobiennes contre certains agents pathogènes causant des maladies courantes chez les chèvres et l'être humain.

# **Conclusion**

Le lait camelin indien collecté à partir de différentes races comme a été invstigué pour la présence de bactéries lactiques à potentiel probiotique. Selon les propriétés morphologiques, physiologiques et biochimiques et la confirmation génétiques par séquençage de l'ADNr 16S , les potentiels des bactéries lactiques ont été identifiées comme *L. lactis*, *E. lactis* et *L. plantarum*.

D'après l'étude de Sharma *et al.*,(2020) les résultats ont été motionnés que *Enterococcus lactis* était très résistante à bas pH et à des taux élevés en sels biliaires, d'autre part *Lactobacillus plantarum* a adhéré fortement à la lignée cellulaire épithéliale humaine Caco2.

Les souches étaient très sensibles au chloramphénicol, à la vancomycine et à la tétracycline. Parmi toutes les bactéries lactiques de lait de chamelle. *L. plantarum*, *L. lactis* et *E. lactis* se sont avérés être un probiotique efficace. Par conséquent, des essais cliniques appropriés seront étudiés pour valider la puissance des probiotiques développés.

Les bactéries lactiques isolées à partir le lait de chèvre ont révélée aussi un potentiel élevé pour application probiotique avec une capacité de produire des EPS, de survivre a bas pH et capable d'inhiber des pathogènes *in vitro* (Almeida *et al.*,2015).

En outre, Makete *et al.*,(2016) ont signalé précédemment après l'identification que *Lactobacillus plantarum* était l'espèce dominante dans le lait de chèvre.

En effet, les souches de lait de chèvre présentent des capacités similaires de survivre aux conditions gastro-intestinales stressantes et de produire des activités antimicrobiennes contre certains agents pathogènes causant des maladies courantes chez les chèvres et l'être humain.

Il est néanmoins important de confirmer la sécurité de toutes les souches probiotiques nouvellement identifiées. À titre d'exigence de sécurité, l'origine des souches, leur non pathogénicité et l'absence de gènes de résistance aux antibiotiques transférables doivent également être évaluées (Awasti, *et al.*, 2016).



# **Bibliographie**

# Bibliographie

Almeida Júnior ,WLG et daSilva, Ft .,2015.Characterization and evaluation of lactic acid bacteria isolated from goat milk . - mexico : Food Control, : Vol. 53.- pp.96–103.

Annuk, H., Shchepetova, J., Kullisaar, T., Songisepp, E., Zilmer, M., Mikelsaar, M., 2003. Characterization of intestinal lactobacilli as putative probiotic candidates. J. Appl. Microbiol. 94, 403–412.

Awasti N, Tomar S.K et Pophaly ,S.D .,2016.Probiotic and functional characterization of bifidobacteria . - India : Journal of Applied Microbiology, : Vol. 120.- pp. 1021--1032.

Badis, A., Guetarni, D., Boudjema, B.M., Henni, D.E., K.I.H.A.L., M., 2004. Identification and technological properties of lactic acid bacteria isolated from raw goat milk of four Algerian races. Food Microbiol. 21, 579 – 588.

Balouiri, M., Sadiki, M., Ibsouda, S.K., 2016. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. J. Pharmaceutical Anal. 6, 71–79.

Bauer, A.W., Kirby, W.M., Sherris, J.C., Turck, M., 1966. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. Am. J. Clin. Pathol. 45, 493–496.

Belabeddou, A et Latroch, M .,2017.Caractéristique Microbiologique et Physico-chimique de Lait de Chèvre colleté de Trois Région d'Ouest Algerien. - MOSTAGANEM : Memoire de master, UNIVERSITÉ ABDELHAMID IBN BADIS.

BERRADIA, A .,2016.Isolement, purification et identification des bactéries lactiques à partir de lait cru de chèvre. - Mostaganem : memoire de master Université Abdelhamid Ibn Badis.

Bover-Cid, S., Holzappel, W.H., 1999. Improved screening procedure for biogenic amine production by lactic acid bacteria. Int. J. Food Microbiol. 53, 33–41.

Bouguerra, A Caractérisation des bactéries lactiques du lait de chamelle . - SETIF : magistere en microbiologie,UNIVERSITE FERHAT Abbas, 2012.

- Boukhalfi, F .,2020.contribution a l'évaluation de quelques caractères probiotiques et technologiques du Bifidobactéries isolées à partir des selles de nourrissons et lait maternel. - biskra : memoire de master,Université Mohamed Khider de Biskra.
- Brown, C .,2019.Comparative genomics of Bifidobacterium species isolated from marmosets and humans . - new york : American Journal of Primatology,. : Vol. 22. p: 1–12 .
- Bulut, Ç .,2003.Isolation and molecular characterization of lactic Acid bacteria from cheese . - Izmir, Turkey : Master of science.
- Charteris, WP .et al., 2000.selective,detection, enumeration and identification of potentially probiotic Lactobacillus and Bifidobacterium species in mixed bacterial populations . - Ireland : Int J Food Microbiol. : Vol. 35(1).pp. 1–27.
- Chettah, f.z .,2019.Evaluation de la qualité mycologique et nutritionnelle du lait cru de chamelle dans la région de Biskra : Memoire de master,Université Mohamed Khider de Biskra.
- Choi, E.A et Chang, H.C., 2015.Cholesterol-lowering effects of a putative probiotic strain L. plantarum isolated from kimchi. - China : Food Sci. Technol., : Vol. 62.pp.210–217 .
- Dolié, E Toulouse .2018. s.n : (UNIVERSITE TOULOUSE III PAUL SABATIER FACULTE DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES).
- Duary, R.K., Rajput, Y.S., Batish, V.K., Grover, S., 2011. Assessing the adhesion of putative indigenous probiotic lactobacilli to human colonic epithelial cells. Indian J. Med. Res. 134, 664–671.
- Ehrmann, M.A., Kurzak, P., Bauer, J., Vogel, R.F., 2002. Characterization of lactobacilli towards their use as probiotic adjuncts in poultry. J. Appl. Microbiol. 92, 966– 975.
- FAO/WHO,. 2002.Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food . - Ontario : London.
- Ghislaine, A.,2018.Caractérisation physicochimique, microbiologique et immunochimique des laits camelin et bovin d'Algérie.Activités antioxydante et antitoxique de la fermentation. - SIDI BEL ABBES : these de doctorat,UNIVERSITE DJILLALI LIABES.

GUESSAS, B et KIHAL, M .,2004.Caractérisation des bactéries lactiques isolées de Lait cru de chèvre de la zone aride algérienne . - oran : Journal Africain de Biotechnologie ., Vol. 3 (6).pp. 339-342 .

Guiraud, J.P .,1998.Microbiologie des principaux produits alimentaires .- Dunod, Paris :Microbiologie Alimentaire, Techniques de Laboratoire.

Hamed, E., Elattar, A., 2013. Identification and some probiotic potential of Lactic Acid Bacteria isolated strains from Egyptian camel's milk. Life Sci. J. 10, 1952– 1957.

Kacem, M et Kaid-Harche, M.,2008. Probiotic characteristics of *Lactobacillus plantarum* strains from traditional butter made from camel milk in arid regions (Sahara) of Algeria . - Oran : Université d'Es-Senia, Vol. 6. pp.218-220 .

Karovicová, J., Kohajdová, Z., 2005. Biogenic amines in foods. Chem. Pap. 59, 70–79.

KEBIR, N-E .,2018.Propriétés du Lait de chamelle cru sur les profils glucidique et lipidique des rats Wistar rendus diabétiques par l'alloxane . - SIDI BEL ABBES : these de doctorat UNIVERSITE DJILLALI LIABES.

Khay, E., Idaomar, M., Castro, L.P., Bernárdez, P.F., Senhaji, N.S., Abrini, J., 2011. Antimicrobial activities of the bacteriocin-like substances produced by lactic acid bacteria isolated strains from Moroccan dromedary milk. Afr. J. Biotechnol. 10, 10447–10455.

König, H et Fröhlich, J Développement de méthodes permettant la détection et la quantification de microorganismes d'altération du vin . - paris : Université de Bourgogne de Microbiologie et Parasitologie, 2017. :Vol. 225,pp.3-41 .

Kusharyati, D et HENDRO, P et TSANI, A Bifidobacterium from infant stool: the diversity and potential screening . - Indonesia : B I O D I V E R S I T A S, 2020. : Vol. 21.pp. 2506-2513.

Lankaputhra, WE et Shah, NP .,1995.Survival of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium* spp. in the presence of acid and bile salts . - Australia : Cult Dairy Prod J, : Vol. 30. pp.2-7.

Lapointe-Vignola, C .,2002.Science et technologie du lait [Section du livre] // transformation du lait. - france : Fondation de technologie laitiere du Qubec,inc, - Vol. 79.

Larpent, J.P., 1997. Les bactéries lactiques en microbiologie alimentaire . - Bourgois, C.M : Tome 2, tech & doc, Lavoisier,.

Lourens-Hattingh, A et Viljoen, B.C., 2001. Yogurt as Probiotic Carrier Food - Paris : International Dairy Journal, Vol. 11, pp.1-17 .

Mahmoudi, I. et al., 2019. Propriétés d'adhérence du probiotique *Lactobacillus* souches isolées de lait de mouton et de chèvre tunisien. Tunis : J. Agr. Sci. Technologie, Vol. 21 (3), pp:587-600 .

Makete, G, Aiyegoro Olayinka, A. et Thantsha, M S. ,2016. Isolation, Identification and Screening of Potential Probiotic Bacteria in Milk from South African Saanen Goats. - New York : Probiotics & Antimicro. Prot., Vol. 11, 9p.

Oh, Y.J., Jung, D.S., 2015. Evaluation of probiotic properties of *Lactobacillus* and *Pediococcus* strains isolated from Omegisool, a traditionally fermented millet alcoholic beverage in Korea. LWT - Food Sci. Technol. 63, 437–444.

Ren, D, Wang, M et Tian, M In vitro evaluation of the probiotic and functional potential of *Lactobacillus* strains isolated from fermented food and human intestine [Revue]. - China : Clinical Microbiology, 2014. p.10 : Vol. 30.

Robinson, R. K ., 2002. The Microbiology of milk and milk products . [Revue]. - New York : John Wiley and Sons, Inc., Vol:(22) pp.225-228 .

Rodriguez, E. et al., 2012. Antimicrobial properties of probiotic strains isolated. JOURNAL OF FUNCTIONAL FOODS, Volume 4, p. 542 –551.

Saarela, M, Mättö, J et Mattila-Sandholm, T ., 2002. Safety aspects of *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* species originating from human gastrointestinal tract or from probiotic products . - India : Microb Ecol Health Dis J., Vol. 14-, pp.233–240 .

Senoussi, C ., 2011. Les protéines sériques du lait camelin collecté dans trois régions du sud algérienne : essais de séparation et caractérisation de la fraction protéose peptone . - Tizi, Ouzou : Université Mouloud Mammeri.

Sharma, A et al., 2020. Identification and probiotic potential of lactic acid bacteria from camel milk. - Saudi : Saudi Journal of Biological Sciences, Vol. 11, pp.2-9.

Shehata, M et al., 2014. Screening of isolated potential probiotic lactic acid bacteria for cholesterol lowering property and bile salt hydrolase activity. - India : *Annals of Agricultural Sciences*, Vol. 9, pp. 225-241 .

Singh R, Sharma, P et Goswami, P ., 2017. Antibiotic resistance among commercially available probiotics. - India : *Food Res Int*, : Vol. 57, pp. 176–195 .

Solieri, L et al., 2014. The Tailoring probiotic potential of non-starter *Lactobacillus* strains from ripened Parmigiano Reggiano cheese by in vitro screening and principal component analysis . - India : *Food Microbiol.*, - : Vol. 38, pp. 240–249

Tripathi, M.K et Giri, S. K ., 2014. Probiotic functional foods: Survival of probiotics during processing and storage . - India : *Journal of functional foods.*, Vol(9) , pp. 225-241 .

Tze Liong Min., 2008. Roles of Probiotics and Prebiotics in Colon Cancer Prevention : Postulated Mechanisms and In-vivo Evidence . - Malaysia : Food Technology Division, School of Industrial Technology, Universiti Sains Malaysia., - pp. 855-857. : Vol. 7.

Wang, G., Zhang, M., Zhao, J., Xia, Y., Phoeny, F.H., Ai, L., 2018. A surface protein from *Lactobacillus plantarum* increases the adhesion of *Lactobacillus* Strains to human epithelial cells. *Front. Microbiol.* 9, 2858.

Xue, C et Zhang, H et Luo, X ., 2009. Technological characterization of lactic acid bacteria protease isolated from traditional Chinese fermented milk. - China : *Journal of Food Quality*, Vol. 37, pp. 395-402 .

Zamfir, M., Vancanneyt, M., Makras, L., Vaningelgem, F., Lefebvre, K., Pot, B., Swings, J., De Vuyst, L., 2006. Biodiversity of lactic acid bacteria in Romanian dairy products. *Sys. Appl. Microbiol.* 29, 487–495.

Zoumpopoulou, G., Foligne, B., Christodoulou, K., Granette, C., Pot, B., Tsakalidou, E., 2008. *Lactobacillus fermentum* ACA-DC 179 displays probiotic potential in vitro and protects against trinitrobenzene sulfonic acid (TNBS)-induced colitis and *Salmonella* infection in murine models. *Int. J. Food Microbiol.* 121, 18–26.

# **Annexes**

## Annexes

### Annexes 1 les articles inclus dans la partie expérimentale

Sharma, A et al., 2020. Identification and probiotic potential of lactic acid bacteria from camel milk. - Saudi : Saudi Journal of Biological Sciences, Vol. 11, pp.2-9.

Makete, G, Aiyegoro Olayinka, A. et Thantsha, M S. ,2016. Isolation, Identification and Screening of Potential Probiotic Bacteria in Milk from South African Saanen Goats - New York : Probiotics & Antimicro. Prot., Vol. 11, 9p.

Batta, N., Subudhi, S., Lal, B., Devi, A., 2013. Isolation of a lead tolerant novel bacteria species, *Achromobacter* sp. TL-3: Assessment of bioflocculant activity. Indian J. Exp. Biol. 51, 1004–1011.

Charteris, WP .et al., 2000. selective, detection, enumeration and identification of potentially probiotic *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* species in mixed bacterial populations . - Ireland : Int J Food Microbiol. : Vol. 35(1).pp. 1–27.

Mahmoudi, I. et al., 2019. Propriétés d'adhérence du probiotique *Lactobacillus* Souches isolées de lait de mouton et de chèvre tunisien. Tunis : J. Agr. Sci. Technologie, Vol.21 (3),pp:587-600 .

Shehata, M et al., 2014. Screening of isolated potential probiotic lactic acid bacteria for cholesterol lowering property and bile salt hydrolase activity. - India : Annals of Agricultural Sciences, Vol. 9,pp. 225-241 .

Rodriguez, E. et al., 2012. Antimicrobial properties of probiotic strains isolated. J O U R N A L O F F U N C T I O N A L F O O D S, Volume 4, p. 542 –551.

Solieri, L et al., 2014. the Tailoring probiotic potential of non-starter *Lactobacillus* strains from ripened Parmigiano Reggiano cheese by in vitro screening and principal component analysis . - India : food microbial, . - : Vol. 38.p.240–249

Almeida Júnior ,WLG et daSilva, Ft ,2015. Characterization and evaluation of lactic acid bacteria isolated from goat milk . - Mexico : Food Control, : Vol. 53.- pp.96–103.



Boukhalfi, F., 2020. Contribution à l'évaluation de quelques caractères probiotiques et technologiques des Bifidobactéries isolées à partir des selles de nourrissons et lait maternel. - Biskra : mémoire de master, Université Mohamed Khider de Biskra.

Xue, C et Zhang, H et Luo, X., 2009. Technological characterization of lactic acid bacteria protease isolated from traditional Chinese fermented milk. - China : Journal of Food Quality, Vol. 37, pp. 395-402.

Singh R, Sharma, P et Goswami, P., 2017. Antibiotic resistance among commercially available probiotics. - India : Food Res Int. : Vol. 57, pp. 176–195.

Hamed, E., Elattar, A., 2013. Identification and some probiotic potential of Lactic Acid Bacteria isolated strains from Egyptian camel's milk. Life Sci. J. 10, 1952–1957.

Khay, E., Idaomar, M., Castro, L.P., Bernárdez, P.F., Senhaji, N.S., Abrini, J., 2011. Antimicrobial activities of the bacteriocin-like substances produced by lactic acid bacteria isolated strains from Moroccan dromedary milk. Afr. J. Biotechnol. 10, 10447–10455.

Zamfir, M., Vancanneyt, M., Makras, L., Vaningelgem, F., Lefebvre, K., Pot, B., Swings, J., De Vuyst, L., 2006. Biodiversity of lactic acid bacteria in Romanian dairy products. Sys. Appl. Microbiol. 29, 487–495.

Badis, A., Guetarni, D., Boudjema, B.M., Henni, D.E., K.I.H.A.L., M., 2004. Identification and technological properties of lactic acid bacteria isolated from raw goat milk of four Algerian races. Food Microbiol. 21, 579 – 588.

Zoumpopoulou, G., Foligne, B., Christodoulou, K., Grangette, C., Pot, B., Tsakalidou, E., 2008. *Lactobacillus fermentum* ACA-DC 179 displays probiotic potential in vitro and protects against trinitrobenzene sulfonic acid (TNBS)-induced colitis and *Salmonella* infection in murine models. Int. J. Food Microbiol. 121, 18–26.

Ehrmann, M.A., Kurzak, P., Bauer, J., Vogel, R.F., 2002. Characterization of lactobacilli towards their use as probiotic adjuncts in poultry. J. Appl. Microbiol. 92, 966–975.

Annik, H., Shchepetova, J., Kullisaar, T., Songisepp, E., Zilmer, M., Mikelsaar, M., 2003. Characterization of intestinal lactobacilli as putative probiotic candidates. J. Appl. Microbiol. 94, 403–412.

Oh, Y.J., Jung, D.S., 2015. Evaluation of probiotic properties of *Lactobacillus* and *Pediococcus* strains isolated from Omegisool, a traditionally fermented millet alcoholic beverage in Korea. *LWT - Food Sci. Technol.* 63, 437–444.

Bauer, A.W., Kirby, W.M., Sherris, J.C., Turck, M., 1966. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am. J. Clin. Pathol.* 45, 493–496.

Bover-Cid, S., Holzapfel, W.H., 1999. Improved screening procedure for biogenic amine production by lactic acid bacteria. *Int. J. Food Microbiol.* 53, 33–41.

Karovicová, J., Kohajdová, Z., 2005. Biogenic amines in foods. *Chem. Pap.* 59, 70–79.

Duary, R.K., Rajput, Y.S., Batish, V.K., Grover, S., 2011. Assessing the adhesion of putative indigenous probiotic lactobacilli to human colonic epithelial cells. *Indian J. Med. Res.* 134, 664–671.

Balouiri, M., Sadiki, M., Ibsouda, S.K., 2016. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *J. Pharmaceutical Anal.* 6, 71–79.

Wang, G., Zhang, M., Zhao, J., Xia, Y., Phoency, F.H., Ai, L., 2018. A surface protein from *Lactobacillus plantarum* increases the adhesion of *Lactobacillus* Strains to human epithelial cells. *Front. Microbiol.* 9, 2858.

## الملخص

وفقاً لدراسة أجراها (Sharma et al (2020)، تم عزل 80 نوعاً من بكتيريا حمض اللاكتيك المفترضة من حليب الإبل. تم التعرف على بكتيريا حمض اللاكتيك المختارة على أنها *Lactococcus lactis* (cam 12) و *Lactococcus lactis* (cam 14) و *Lactobacillus plantarum* (cam 15) وتم تقييم إمكانات البروبيوتيك الخاصة بهم من خلال تحمل الملح الصفراوي وفك اقترانه ، والنشاط المضاد للميكروبات ، والكراهية للماء. إمكانية العضوية. أظهرت بعض LABs نشاطاً مضاداً للميكروبات ضد مجموعة واسعة من البكتيريا المسببة للأمراض ( *Staphylococcus aureus* و *Pseudomonas aeruginosa* و *Bacillus cereus* و *Escherchiaia coli* ) كانت (cam 12) LABs و (cam 14) و (cam 15) شديدة الحساسية للكلورامفينيكول والفانكوميسين والنتراسيكلين. أظهرت دراسات الالتصاق في المختبر مع خلايا Caco-2 نشاط التصاق قوي مع كره للماء (99%). لقد ثبت أن *E. lactis* و *L. plantarum* غير سامين وغير خبيثين وآمنين للاستخدام الصناعي.

أظهرت بكتيريا حمض اللاكتيك المعزولة من حليب الماعز خصائص واعدة مماثلة لصفات البروبيوتيك في LAB الإبل والتي يمكن اختيارها كعوامل حيوية مرشحة.

**الكلمات المفتاحية:** بكتيريا حمض اللاكتيك ، بروبيوتيك ، حليب الماعز ، حليب الإبل.

## Résume

D'après l'étude de Sharma *et al*, (2020), 80 bactéries lactiques présumées ont été isolées à partir de lait de chèvre. Les bactéries lactiques sélectionnées ont été identifiées comme *Lactococcus lactis* (cam 12), *Enterococcus lactis* (cam 14) et *Lactobacillus plantarum* (cam 15) et leur potentiel probiotique a été évalué par tolérance et de-conjugation de sel biliaires, activité antimicrobienne, hydrophobicité et le potentiel d'adhésion. Certains LAB ont montré une activité antimicrobienne contre un large éventail de bactéries pathogènes (*Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus cereus* et *Escherchiaia coli*). Les LAB (cam 12, cam 14 et cam 15) étaient hautement sensibles au chloramphénicol, à la vancomycine et à la tétracycline. Des études d'adhérence *in vitro* avec des cellules Caco-2 ont démontré une forte activité d'adhésion avec une hydrophobicité (99%). *E. lactis* et *L. plantarum* s'est avéré non toxique, non virulent et sans danger pour une application industrielle.

Les bactéries lactiques isolées à partir du lait de chèvre ont montré des caractéristiques prometteuses similaires aux caractéristiques probiotiques du LAB de chèvre qui peut être sélectionné en tant que candidats probiotiques.

**Mots clé :** les bactéries lactiques, potentiel probiotique, lait de chèvre, lait de chamelle.

## Abstract

The study by Sharma *et al*, (2020), 80 of presumed lactic acid bacteria (LAB) were isolated from camel milk. Selected LAB were identified as *Lactococcus lactis* (cam 12), *Enterococcus lactis* (cam 14) and *Lactobacillus plantarum* (cam 15) and their potential were tested by tolerance and de-conjugation of bile salts, antimicrobial activity, surface hydrophobicity and adhesion potential. Selected LABs showed antimicrobial activity against wide range of pathogenic bacteria (*Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus cereus* and *Escherchiaia coli*). LAB (cam 12, cam 14 and cam 15) were highly susceptible to chloramphenicol, vancomycin, and tetracycline. *In vitro* adhesion studies with Caco-2 cells demonstrated strong adhesion activity with hydrophobicity (99%) was observed. *E. lactis* and *L. plantarum* showed non-toxic, non-virulent and safe for industrial application.

The lactic acid bacteria were isolated from goat's milk showed promising similar characteristics to the probiotic characteristics of LAB of chèvre which can be selected as probiotic candidates.

**Key words :** lactic bacteria, Probiotic potential, goat's milk, camel's milk.