

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



جامعة الإخوة منتوري قسنطينة I
Frères Mentouri Constantine I University
Université Frères Mentouri Constantine I

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Microbiologie

كلية علوم الطبيعة والحياة
قسم الميكروبيولوجيا

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie
Filière : Sciences Biologiques
Spécialité : *Ecologie Microbienne*

N° d'ordre :
N° de série :

Intitulé :

Caractérisation microbiologique du colostrum bovin et évaluation de son activité antibactérienne *in vitro*.

Présenté par : BOULDJEDRI Khaoula
LAKROUM Roumeissa

Le 12/07/2022

Jury d'évaluation :

Encadreur : Mme. LIFA Maroua (MAB - Université Frères Mentouri, Constantine 1).
Examineur 1 : Mme. ABDELAZIZ Ouided (MCA - Université Frères Mentouri, Constantine 1).
Examineur 2 : Mme. GUERGOURI Ibtissem (MAA - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

**Année universitaire
2021 – 2022**

REMERCIEMENTS

Après avoir rendu grâce au Dieu le tout puissant et le miséricordieux qui nous a donné le courage, la volonté et la force d'accomplir ce modeste travail. Merci de nous avoir éclairé le chemin de la réussite.

Tout d'abord, ce travail ne serait pas aussi riche et n'aurait pas pu voir le jour sans l'aide et l'encadrement de madame «**LIFA Maroua** », on la remercie infiniment pour sa grande patience, ses encouragements, son aide et ses conseils judicieux, durant la réalisation du présent travail.

Nous exprimons toute notre gratitude aux membres de jury madame «**ABDELAZIZ Ouided**» et madame «**GUERGOURI Ibtissem** » d'avoir accepté d'évaluer ce travail. Nous remercions tous les enseignants du département de Microbiologie qui nous ont apporté un soutien moral, des suggestions et des conseils précieux dans toutes les années universitaires.

Nous tenons aussi à remercier sincèrement les techniciennes de laboratoire de microbiologie et en particulier madame «**Leila**», merci pour votre service.

Enfin, à tous ceux et celles qui nous ont aidé de près ou de loin, qu'ils trouvent ici toutes notre sympathie et notre profonde gratitude.



Dédicace

Je remercie tout d'abord, *Allah*, le tout puissant et clément de m'avoir aidé à réaliser ce travail.

A ma chère mère,

A mon cher père,

Qui n'ont jamais cessé formuler des prières à mon égard, de me soutenir et de m'épauler pour que je puisse atteindre mes objectifs.

A mes frères, Oussama, Khaled et Ayoub.

Pour leurs indéfectibles soutiens et leurs conseils précieux tout au long de mes études.

A mes belles sœurs,

Pour leur soutien moral.

A mon cher binôme, Roumeissa.

Pour son entente et sa sympathie.

A ma chère cousine Bouchra,

Qui m'a aidé et supporté dans les moments difficiles.

A mes chères amies, Marwa, Noussa, Asma, Serine, kouka, Manel et Asma, Ikram.

Pour leurs aides et supports dans les moments difficiles.

A ma chère grande-mère,

Qui je souhaite une bonne santé.

A tout ma famille.

Khaoula Bouldjedri

Dédicace

Avec l'aide de Dieu, j'ai pu réaliser ce modeste travail que je dédie :

A la plus chère, mon trésor, maman pour ton dévouements, tes sacrifices tes

Encouragements, tes soutiens et tes prières tout au long de mes études.

A mon cher per à ton soutien tout au cours de mon parcours universitaire

À mes chères sœurs et frères : Rayene, Djoumana Doha, Raid et Aymen ont été toujours à mes côtés pour me soutenir et me donner le courage.

A ma plus belle amie Yasmine à ton aide précieux dans les moments difficiles

A mon cher binôme khaoula qui m'a soutenu durant toute la durée de réalisation de ce travail

Toute ma grande famille surtout ma grand-mère

À mes chères amies Chicha, Ines Nadia et Anouar qui n'ont pas cessé de m'encourager.

Enfin, à ceux qui m'ont soutenu et aidé de près ou de loin à réaliser ce travail.



Laktoum Roumeissa

Liste des figures

| N° | Titre | page |
|-----------|---|-----------|
| 01 | Lactobacillus casei. | 17 |
| 02 | <i>Lactococcus lactis</i> . | 18 |
| 03 | <i>Bifidobacterium spp.</i> . | 19 |
| 04 | Échantillon du colostrum bovin J1 | 23 |
| 05 | Échantillon du colostrum bovin J6 | 23 |
| 06 | Observation macroscopique des levures et des moisissures cultivés sur milieu OGA (J1). | 33 |
| 07 | Observation macroscopique des levures et moisissures cultivés sur milieu OGA (j6). | 33 |
| 08 | Observation macroscopique des colonies de bactéries lactiques mésophiles cultivées sur milieu MRS | 35 |
| 09 | Observation macroscopique des colonies de bactéries lactiques thermophiles cultivées sur milieu MRS. | 35 |
| 10 | Étude de l'activité antibactérienne du colostrum bovin vis-à-vis <i>Escherichia coli</i> ATCC 8739. | 38 |
| 11 | Étude de l'activité antibactérienne du colostrum bovin vis-à-vis <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 5538 | 38 |
| 12 | Étude de l'activité antibactérienne du colostrum bovin vis-à-vis <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 43300. | 39 |
| 13 | Activité antimicrobienne des souches lactiques isolées vis-à-vis <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 5538. | 40 |

| | | |
|-----------|--|-----------|
| 14 | Activité antimicrobienne des souches lactiques isolées vis-à-vis <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 43300. | 40 |
| 15 | Activité antimicrobienne des souches lactiques isolées vis-à-vis <i>Escherichia coli</i> ATCC 8739 | 40 |

Liste des tableaux

| N° | Titre | page |
|-----------|---|-------------|
| 01 | comparaison entre le lait et le colostrum bovin | 5 |
| 02 | Caractéristiques organoleptiques du colostrum bovin | 29 |
| 03 | Analyses physicochimiques du colostrum bovin | 30 |
| 04 | Analyse microbiologique du colostrum bovin | 31 |
| 05 | Caractéristiques des différents types des colonies trouvées après la culture | 35 |
| 06 | Caractéristiques des colonies de bactéries lactiques après culture | 36 |
| 07 | Variation de l'activité antibactérienne du colostrum bovin collecté le premier jour de vêlage vis-à-vis les souches d'indicatrice | 37 |

Liste des abréviations

°D : Degrés Dornic.

AFNOR : Association Française de Normalisation.

ATB : Antibiotique.

BL : Bactérie lactique.

CB : colostrum bovin.

ETEC : Infection par *Esherichia coli* interotoxinogène.

FTAM : Flore totale aérobie mésophile.

GIT: Tractus gastro-intestinale.

GRAS: Generally Regarded As Safe.

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène.

IgA : Immunoglobuline A.

IgD : Immunoglobuline D.

IgE : Immunoglobuline E.

IgG : Immunoglobuline G.

IgM : Immunoglobuline M.

Lac: lactose.

LF: Lactoferrine.

LPO: Lactoperoxydase.

MAP : paratuberculose.

MB : Membrane.

Mg : Magnésium.

MG : Matière Grasse.

MICI : Maladie inflammatoire intestinale.

NEC : Entérocolite nécrosante.

Se : Sélénium.

TFPN : Très faible poids de naissance.

UFC : Unité Formant Colonie.

USIN : Unités néonatales de soins intensifs.

Vit : vitamine.

Zn : Zinc.

Table des matières

| | |
|---------------------------|---|
| Liste des abréviations | |
| Liste des figures | |
| Liste des tableaux | |
| Introduction | 1 |

Synthèse bibliographique

Chapitre 1: Colostrum bovin

| | |
|--|----|
| 1. Définition du colostrum..... | 3 |
| 1.1. Définition légale..... | 3 |
| 1.2. Définition biologique | 3 |
| 2. Composition du colostrum bovin..... | 3 |
| 2.1. Les composants bioactifs..... | 3 |
| 2.1.1. Les enzymes..... | 4 |
| 2.1.2. La matière grasse..... | 4 |
| 2.1.3. Les facteurs de croissance | 4 |
| 2.1.4. Les vitamines et les minéraux..... | 4 |
| 2.2. Les facteurs antibactériens du colostrum bovin..... | 5 |
| 2.2.1. Les immunoglobulines | 5 |
| 2.2.2. Lactoferrine..... | 5 |
| 2.2.3. Lactopyroxydase | 5 |
| 2.2.4. Leucocytes | 6 |
| 2.2.5. Cytokines | 6 |
| 2.2.6. Lysozyme..... | 6 |
| 3. Qualité microbiologique du colostrum bovin..... | 6 |
| 3.1. Bactéries probiotiques | 7 |
| 3.2. La flore indigène | 7 |
| 3.3. La flore de contamination..... | 8 |
| 3.3.1. Pathogène bovin..... | 9 |
| 3.3.2. La flore d'altération..... | 11 |

Chapitre 2 : Rôle du colostrum bovin

| | |
|--|----|
| 1. Traitement des infections gastro-intestinales | 12 |
| 2. Nutrition du veau | 12 |
| 3. Activité antibactérienne et antivirale du colostrum | 13 |

| | |
|---|----|
| 4. Les applications cliniques..... | 14 |
| 4.1. L'entérocolite nécrosante | 14 |
| 4.2. La colite ulcéreuse..... | 14 |
| 4.3. La diarrhée du voyageur | 15 |
| Chapitre 3 : Les bactéries lactiques | |
| 1. Définition | 16 |
| 2. Habitat | 16 |
| 3. Les catégories des bactéries lactiques | 17 |
| 3.1. Le genre Lactobacillus | 17 |
| 3.2. Les coques | 18 |
| 3.3. Les bifidobactéries | 19 |
| 4. Intérêt des bactéries lactiques..... | 19 |
| 4.1. Dans l'industrie alimentaire..... | 19 |
| 4.2. Dans le domaine thérapeutique..... | 20 |
| 5. Activités antimicrobiennes des bactéries lactiques | 20 |
| 5.1. La compétition nutritionnelle..... | 20 |
| 5.2. Les substances antibactériennes..... | 20 |
| 5.2.1. Les bactériocines | 20 |
| 5.2.2. Le dioxyde de carbone | 21 |
| 5.2.3. Acides organiques..... | 21 |
| 5.2.4. Le peroxyde d'hydrogène (H ₂ O ₂) | 22 |
| 5.2.5. Le diacétyle (C ₄ H ₆ O ₂) | 22 |
| 5.2.6. La reutéline | 22 |

Matériel et méthodes

| | |
|---|-----|
| 1. Matériel biologique..... | 23 |
| 1.1. Colostrum bovin..... | 23 |
| 1.2. Souches bactériennes indicatrices (pathogènes) | 244 |
| 2. Méthodes analytiques | 24 |
| 2.1. Lieu d'étude | 24 |
| 2.2. Analyses physicochimiques du colostrum bovin..... | 24 |
| 2.2.1. Mesure du pH | 24 |
| 2.2.2. Mesure de l'acidité Dornic | 24 |
| 2.3. Analyse microbiologique du colostrum bovin | 25 |

| | |
|--|-----|
| 2.3.1. Préparation de l'eau physiologique | 25 |
| 2.3.2. Réalisation des dilutions décimales | 25 |
| 2.3.3. Dénombrement de la flore totale aérobie mésophile (FTAM) | 25 |
| 2.3.4. Dénombrement des bactéries halotolérantes | 25 |
| 2.3.5. Dénombrement des coliformes | 25 |
| 2.3.6. Dénombrement des levures et des moisissures | 266 |
| 2.3.7. Dénombrement des bactéries lactiques (BL) | 266 |
| 2.4. Caractérisation macroscopique des colonies | 26 |
| 2.5. Identification des souches de bactéries lactiques isolées | 26 |
| 2.5.1. Examen à l'état frais | 27 |
| 2.5.2. Coloration de GRAM | 27 |
| 2.5.3. Test de la catalase | 27 |
| 2.6. Purification des souches de bactéries lactiques isolées | 27 |
| 2.7. Activité antibactérienne du colostrum et des bactéries lactiques isolés | 28 |

Résultats et discussion

| | |
|---|----|
| 1. Caractéristiques organoleptiques du colostrum bovin | 29 |
| 1.1. La couleur | 29 |
| 1.2. L'odeur | 29 |
| 1.3. La viscosité | 29 |
| 2. Analyses physicochimiques du colostrum | 30 |
| 2.1. Le pH | 30 |
| 2.2. Acidité dornic | 30 |
| 3. Analyse microbiologique du colostrum bovin | 31 |
| 3.1. Dénombrement de la flore totale aérobie mésophile (FTAM) | 32 |
| 3.2. Dénombrement des coliformes | 32 |
| 3.3. Dénombrement des levures et moisissures | 32 |
| 3.4. Dénombrement des bactéries halotolérantes | 33 |
| 3.5. Dénombrement des bactéries lactiques | 34 |
| 4. Aspect macroscopique des colonies | 35 |
| 5. Identification des bactéries lactiques isolées | 35 |
| 5.1. Examen microscopique | 36 |
| 5.2. Test de la catalase | 36 |
| 6. Etude de l'activité antibactérienne du colostrum bovin | 36 |

| | |
|---|-----------|
| 7. Etude de l'activité antibactérienne des bactéries lactiques isolées..... | 39 |
| Conclusion..... | 41 |
| Références bibliographiques | 43 |
| Annexes | |
| Résumé | |
| Abstract | |
| ملخص | |



Introduction

Les mammifères produisent des anticorps, des immunoglobulines et d'autres constituants aux nouveau-nés, pendant ou peu après la naissance. Cette « immunité empruntée » est une forme d'immunité passive qui protège les nourrissons contre les agents pathogènes environnementaux jusqu'à ce qu'ils développent leurs propres systèmes immunitaire. Un adéquat transfert de l'immunité passive réduit le risque de mortalité et de morbidité pendant les premières semaines de vie. Ainsi, chez le veau, le risque de mortalité dans leurs 6 premiers mois de vie diminue significativement avec l'augmentation du taux protéique sérique (35% de risque de mortalité avec 4g/L contre seulement 10% avec 6,5g/L de protéines sériques (Donovan et *al.*, 1998).

Chez les bovins, les ovins, les camelins et d'autres espèces animales, la plupart des immunoglobulines sont obtenues à partir du colostrum, le premier lait après la mise-bas (Struff et *al.*, 2007). Le colostrum constitue une excellente source de facteurs de croissance et de composants immunomodulateurs (des immunoglobulines et d'autres protéines sériques), qui jouent un rôle prépondérant dans la vie des veaux nouveau-nés en inhibant les agents pathogènes viraux et bactériens et en améliorent la santé gastro-intestinale et l'état corporel de l'animal (Rathe et *al.*, 2014 ; Lemaitre, 2021).

Par ailleurs, le colostrum bovin est un bon aliment pour les humains en bonne santé et malades. Il est utilisé pour le traitement des maladies infectieuses et consommé comme un aliment probiotique, vue sa richesse en bactéries lactiques à potentiel probiotique souhaitable (Vitola et *al.*, 2018 ; Naeemi et *al.*, 2019).

La découverte des bactéries lactiques a conduit à une nouvelle façon de voir les bactéries comme potentiellement bénéfiques, plutôt que pathogènes (Tripathi et Giri, 2014). Ces bactéries sont désignées comme agents protecteurs dans les aliments fermentés. Elles sont plutôt utilisés en agroalimentaire pour réduire l'emploi des traitements physiques (pasteurisation, stérilisation et réfrigération,...) en les employant comme un outil de prévention (Ren et *al.*, 2018).

Dans ce contexte, les principaux objectifs de ce travail sont :

- L'analyse physico-chimique et microbiologique du colostrum bovin prélevé le premier et le sixième jour après parturition ;
- L'effet de la conservation du colostrum à températures ambiante sur leurs caractéristiques physicochimiques et sa composante microbienne ;

- L'isolement de bactéries lactiques à partir du colostrum bovin ;
- L'étude de l'activité antibactérienne du colostrum bovin et des souches lactiques isolés vis-à-vis des souches pathogènes.



Synthèse bibliographique

1. Définition du colostrum

Le lait est le produit de sécrétion des glandes mammaires des mammifères comme la vache et la brebis, destiné à l'alimentation de jeune animal naissant (Alais, 1975).

Le lait est une denrée précieuse utilisée depuis la préhistoire par l'homme, secrété des femelles d'une variété de mammifères, provient de la traite complète d'une femelle bien nourrie et non surmontée. Sa composition est une véritable richesse en plusieurs nutriments de base (lipides, glucide, calcium et des vitamines).

1.1. Définition légale

Légalement, le colostrum correspond selon le code civil au produit de la traite des 6 premiers jours après la mise-bas. Ce texte précise en effet que "sera considéré comme lait impropre à la consommation humaine : le lait provenant d'une traite opérée moins de 7 jours après le part et d'une manière générale, le lait contenant du colostrum (Maillard, 2006).

1.2. Définition biologique

Le colostrum bovin (CB) est une source abondante riche en molécule immunologique et notamment biologique, sécrété par les glandes mammaires dans les 24 à 36 premières heures directement après la parturition (colostrum post-partum). En plus de sa richesses en nutriments et en composants bioactifs qui confèrent le système immunitaire des veaux nouveau-nés et protègent leurs vie au cours des premiers mois, il contient une microflore précieuse, y compris des membres des genres *Lactobacillus* et *Bifidobacterium* qui ont été largement utilisés dans les aliments probiotiques (Mehra et *al.*, 2022).

2. Composition du colostrum bovin

2.1. Les composants bioactifs

C'est un groupe de composés alimentaires ayant des activités chimiques fonctionnelles. Ces composants ont des capacités immunitaires efficaces directes et indirectes (Stelwagen et *al.*, 2009). La quantité de composés bioactifs dans le colostrum bovin est beaucoup plus élevée que dans le lait (tableau 1) (McGrath et *al.*, 2016).

2.1.1. Les enzymes

Le rôle des enzymes réside dans le système immunitaire de l'organisme, car ils stimulent la décomposition et la désinfection bactérienne, ainsi que les activités antivirales et anti-tumorales (Lie et *al.*, 1986).

2.1.2. La matière grasse

La teneur en matières grasses du colostrum bovin est supérieure à celle du lait (Czerniewicz et *al.*, 2006). Sa composition est également très particulière, l'acide palmitoléique et l'acide myristique sont plus abondants dans le colostrum que dans le lait mature (O'Callaghan et *al.*, 2020). Les preuves suggèrent que ces acides gras agissent comme des molécules de signalisation et aident à réguler la lipogenèse dans le foie (German et *al.*, 2019). De plus, de nombreuses vitamines présentes dans le lait sont liposolubles et l'élimination de ces graisses réduira également la concentration des vitamines dans le colostrum.

2.1.3. Les facteurs de croissance

Le colostrum bovin contient environ 50 peptides comme facteurs de croissance (Bagwe et *al.*, 2015). Ils résistent au traitement thermique (jusqu'à 60°C) et contiennent également des peptides bioactifs codés par des séquences moléculaires d'origine protéiques (Playford et *al.*, 2020). Ces peptides ont des fonctions antihypertenseurs, antioxydantes, anticoagulantes, antibactériennes et immunitaires (Korhonen, 2011).

Plusieurs études ont également montré que les facteurs de croissance augmentent la production de lymphocytes T, accélèrent la guérison, équilibrent la glycémie, réduisent les besoins en insuline, augmentent la masse musculaire ainsi que la croissance et la réparation des os (Rona, 1998).

2.1.4. Les vitamines et les minéraux

Le colostrum contient des niveaux élevés de vitamines hydrosolubles essentielles à la santé humaine. Comparé au lait mature, il a une concentration plus élevée, dont les plus importantes sont les vitamines A, B, C, D et E (Arslan et *al.*, 2021).

Le colostrum et le lait cru sont de bonnes sources de nombreux minéraux. La concentration en minéraux dans le colostrum est beaucoup plus élevée que dans le lait mature (tableau 1) (Haug et *al.*, 2007).

Tableau 1 : comparaison entre le lait et le colostrum bovin (DIDIER, 1999).

| | D % | MG (g/Kg) | Lac (g/Kg) | P T (g/Kg) | Caseine (g/Kg) | Vit A (UI/L) | Vit E (mg/L) | Mg (g/Kg) | Se (mg/Kg) |
|------|-------|--------------|---------------|---------------|-------------------|-----------------|-----------------|--------------|---------------|
| CB | 1.060 | 50 | 30 | 140 | 48 | 10000 | 10 | 0.4 | 0.05 |
| Lait | 1.032 | 39 | 49 | 31 | 25 | 1000 | 1 | 0.12 | 0.02 |

2.2. Les facteurs antibactériens du colostrum bovin

2.2.1. Les immunoglobulines

Les immunoglobulines sont des protéines complexes appelées anticorps qui constituent une part importante des protéines totales du colostrum bovin. Il existe différents types d'immunoglobulines présentes dans le colostrum, appelées isotypes IgG, IgA, IgM (Bagwe et *al.*, 2015).

L'IgG est le facteur immunitaire le plus abondant dans le CB. Les IgG neutralisent les toxines et les microbes dans le système lymphatique et circulatoire. Les IgM détruisent les bactéries, tandis que les IgE et les IgD sont hautement antivirales (Rump et *al.*, 1992).

2.2.2. Lactoferrine

La lactoferine (LF) bovine est une glycoprotéine de 80k Da (Goodman et Svhanbacher, 1991). Sa concentration dans le CB et dans le lait est respectivement d'environ 1,5- 5 g/l et 0,1 g/l (Korhonen, 1977). Elle possède multiples activités antimicrobiennes, antiparasitaires, anti-tumorales et immuno-modulatrices (Buttar et *al.*, 2017). Par ailleurs, elle joue un rôle prépondérant dans l'absorption du fer dans l'intestin et dans l'activation de la réponse immunitaire par les phagocytes (Siqueiros-Cendón et *al.*, 2014).

2.2.3. Lactopyroxydase

La lactopyroxydase est une enzyme produite dans la glande mammaire (Korhonen, 2013). Elle est présente dans le colostrum bovin à de faibles concentrations au départ, mais qui atteint son maximum dans 3 à 5 jours (Farkye et Bansal, 2011). Elle représente l'un des principaux agents antibactériens du colostrum. Elle libère des produits d'oxydation toxiques pour certaines bactéries Gram-positives et Gram-négatives telles que *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella*

typhimurium, *Listeria monocytogenes*, *Streptococcus mutans* et *Staphylococcus aureus* (Wolfson et Sumner, 1993).

2.2.4. Leucocytes

Les leucocytes du colostrum jouent un rôle important dans la stimulation de la production d'interféron qui ralentit la réplication virale en empêchant sa pénétration dans la paroi cellulaire (Rawal et al., 2008).

2.2.5. Cytokines

Ce sont les interleukines. Elles régulent la durée et la force de la réponse immunitaire. Elles stimulent l'activité des lymphocytes T et possèdent une forte activité antivirale et anti-tumorale. L'interleukine 10 a une activité anti-inflammatoire dans l'arthrite et les plaies (Bocci et al., 1991).

2.2.6. Lysozyme

Le lysozyme est une protéase résistante à la chaleur, un agent hydrolysant et un activateur du système immunitaire capable de détruire les bactéries et les virus (Amiot et al., 2002). Il attaque le peptidoglycane ce qui entraîne la dissolution de la paroi et la mort des bactéries (Reitter, 1978). La présence de LF augmentait l'activité antibactérienne du lysozyme, en particulier contre *Escherichia coli* (YAMAUCHI et al., 1993).

3. Qualité microbiologique du colostrum bovin

Les produits laitiers sont considérés comme un environnement de croissance approprié pour une gamme de micro-organismes en raison de leur valeur nutritionnelle, principalement leur teneur élevée en protéines et en matières grasses (Tassew et al., 2010). Les bactéries pathogènes présentes dans le lait et les produits laitiers seraient responsables de 1 à 5 % des épidémies de maladies bactériennes d'origine alimentaire humaines dans les pays industrialisés (Claeys et al., 2013). La charge bactérienne dans le colostrum peut être influencée par la ferme laitière ainsi qu'avant et après le traitement thermique (Stewart et al., 2005).

3.1. Bactéries probiotiques

Les probiotiques sont tous les micro-organismes vivant qui, lorsqu'ils sont administrés en quantité suffisante exercent une action bénéfique sur la sante de l'hôte. Ils sont essentiellement composés de bactérie lactique (BL).

En plus de la composition nutritionnelle et la composition immune, le CB contient des communautés microbiennes précieuses, y compris des membres des genres *Lactobacillus* et *Bifidobacterium*, qui ont été largement utilisés dans les aliments probiotiques (Lindner et al., 2011).

Le genre *Bifidobacterium* a été couramment utilisé comme souche probiotique en raison de ses bienfaits prouvés pour la santé et de son omniprésence dans le système digestif. En particulier, on s'intéresse de plus en plus aux bifidobactéries en tant qu'agent protecteur contre les maladies infectieuses. Il aide à améliorer la réponse immunitaire et à réduire les symptômes du syndrome du côlon irritable, de la colite ulcéreuse, des maladies allergiques et de la dermatite atopique liée aux IgE (Morrin et al., 2019).

Les *Lactobacillus* sont généralement considérées comme des souches de biosécurité (GRAS : Generally Regarded As Safe) qui inhibent les coliformes et les autres pathogènes bactériens (Wittanalai et al., 2019). Elles ont montré leur capacité à inhiber la croissance de plusieurs bactéries pathogènes d'origine alimentaire (*E. coli* O157: H7, *Salmonella enterica*, sérotype Typhimurium, *Staphylococcus aureus*) (Lima et al., 2017). Elles ont également montré des effets anticancéreux (Vivarelli et al., 2019).

3.2. La flore indigène

Les animaux et les humains sont exposés à des maladies et des infections transmissibles par des bactéries d'origine animale. Ces bactéries sont transmises par les aliments et comprennent : *Staphylococcus aureus*, *Salmonella spp.*, *Campylobacter spp.*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* et *Bacillus spp.* (Abebe et al., 2020).

Staphylococcus aureus a été classé comme agent pathogène des humains et de nombreux types d'animaux, y compris le bétail. Elle est considérée comme l'une des causes les plus courantes d'infection du bouclier bactérien et c'est l'un des agents pathogènes des maladies infectieuses très diversifié en raison du risque de développer une résistance aux antibiotiques (Abebe et al., 2020).

La salmonelle est une bactérie d'origine animale responsable des salmonelloses. Son habitat principal est le tractus intestinal des animaux, tels que les animaux de ferme. Elle est le plus souvent transmise à l'homme par le biais de produits alimentaires d'origine animale contaminés tels que le lait, la viande et les œufs (Fasse, Set *al.*, 2021).

Listeria monocytogenes est la bactérie responsable de la listériose, une maladie grave chez l'homme et l'animal. La consommation d'aliments contaminés est la principale cause d'infection. Le lait et les produits laitiers font également partie des stimuli. La contamination peut se produire directement avec le lait en vrac à la suite d'une infection du pis. Comme pour la pollution indirecte provenant de sources environnementales (Hasegawa et *al.*, 2013).

Escherichia coli est également classé comme l'un des agents responsables des maladies intestinales aiguës chez l'homme et l'animal. La mammite à *E. coli* est une maladie majeure chez les vaches causée par la contamination des mamelons à la suite d'une contamination fécale (Kobori, D et *al.*, 2004).

Bacillus spp. est considérée comme un pathogène zoonotique important dans le lait (Jans et *al.*, 2017) et dans le colostrum (Fecteau et *al.*, 2002).

3.3. La flore de contamination

Cette flore est l'ensemble des microorganismes contaminant le lait, de la récolte jusqu'à la consommation. Elle est composée d'une flore d'altération et d'une flore pathogène qui nuise la qualité organoleptique et notamment bactériologique du lait.

Le colostrum bovin se contamine par des apports microbiens d'origines diverses:

- **Fèces et téguments de l'animal** : *Coliformes*, *Entérocoques*, *Clostridium*, éventuellement *Entérobactéries* pathogènes (*Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia*)...etc ;
- **Sol**: *Streptomyces*, *Listeria*, bactéries sporulées, spores fongiques... etc;
- **Air et eau** : flores divers dont *Pseudomonas*, bactéries sporulées...etc ;
- **Litières et aliments** : flore banale variée, en particulier *Lactobacillus* et *Clostridium butyricum* ;
- **Equipement de traite et de stockage du colostrum** : microcoques, levures, flore lactique, lactobacilles et les streptocoques ;

-Manipulateurs : Staphylocoques dans le cas de traite manuelle, mais aussi germes provenant d'expectorations, de contaminations fécales...etc.

3.3.1. Pathogène bovin

La mammite est une inflammation de la glande mammaire causée par une infection par des bactéries qui constituent un large groupe d'organismes, notamment les bactéries Gram-négatives et Gram-positives, les mycoplasmes et les algues (Zadokset al., 2011). Une inflammation de la glande mammaire est considérée comme une maladie contagieuse répandue chez les éleveurs de bovins (Lima et al., 2017). Cette infection réduit la production, modifie la composition du lait et raccourcit la durée de vie productive du lait d'un point de vue économique. C'est un énorme fardeau économique pour l'industrie laitière dans le monde entier (Lima et al., 2017).

Plusieurs espèces du genre *Streptococcus* considérées comme bactéries contagieuses ont été repérées dans le colostrum bovin (Houser et al., 2008). Parmi eux, *Streptococcus uberis* est un agent pathogène animal qui cause la mammite, mais il n'a pas été prouvé qu'il soit nocif pour l'homme (Zadoks et al., 2011). Ils est responsables de 20 à 30% des mammites cliniques (Gyles et al., 2008). *Streptococcus bovis* provoque une bactériémie, une méningite, une périlanite et un cancer du côlon et du rectum (Jans et al., 2017). Quant à *Streptococcus agalactiae*, elle provoque de nombreuses maladies chez l'homme, notamment des infections gastro-intestinales chez le nourrisson, des septicémies, des infections urinaires et la tuberculose chez l'adulte (Zadoks et al., 2011). *Streptococcus dysgalactiae* se retrouve également dans le lait et elle est nocive pour l'homme (Fecteau et al., 2002).

Le *Mycoplasmaspp.* a été détecté dans le colostrum. *M. bovis* est considéré comme un agent pathogène de maladies animales, notamment les maladies respiratoires et l'arthrite chez les bovins (Maunsell et al., 2011).

La présence de *Corynebacterium spp.* dans le colostrum bovin a été prouvée (Fecteau et al., 2002). *C. bovis* est considéré comme l'un des facteurs qui causent des inflammations graves qui provoquent des maladies rares chez l'homme (Bernard et al., 2002).

La présence de *Trueperella pyogenes* dans le CB a également été démontrée (Fecteau et al., 2002). Elle est considéré comme un agent causal de la mammite suppurée aiguë (Zastempowska et Lassa, 2012). Elle provoque également une endocardite chez l'homme (Dong et al., 2020).

La MAP ou *Mycobacterium avium subsp paratuberculosis* est une bactérie pathogène qui a été détectée dans le lait et le colostrum prélevé chez les vaches infectées de façon sub-clinique, suggérant ainsi que le colostrum et les déchets laitiers peuvent appartenir à la première source d'infection des veaux (Strettes et *al.*, 1995). La MAP cause la maladie de John, une infection chez les bovins qui se distingue par une entérite chronique des intestins des ruminants (Claeys et *al.*, 2013). Elle entraîne des symptômes graves pour le veau nouveau-né tels que la diarrhée progressive, la perte de poids et éventuellement la mort. Bien que la source la plus courante de MAP soit considérée comme les fèces de bovins adultes infectés, la plupart des transmissions se font par voie fécale-orale (Sweeney, 1994).

Les Coliformes fécaux sont un sous-groupe de coliformes totaux principalement présent dans les excréments humains et animaux. Ils sont utilisés comme un indicateur de contamination fécale dans les produits laitiers (Gleeson et Gray, 1997) et comme un signe d'une mauvaise manipulation du mamelon ou d'un refroidissement insuffisant. Derakhshani et *al.*, (2018) ont confirmé la présence de bactéries intestinales dans le colostrum comme *Escherichia coli*, qui peuvent être à l'origine de l'infection par la mammite bovine (Nonnecke et Smith, 1984). Certains coliformes spécifiques, comme *Escherichia coli* entéro hémorragique, peuvent être des bactéries pathogènes pour l'homme (Gleeson et Gray, 1997).

Les bactéries du genre *Pseudomonas* sont des bacilles ou des coccobacilles à Gram négatif non fermentaires. Ce sont des agents pathogènes opportunistes qui envahissent souvent le tissu de leurs hôtes et causent une infection et une bactériémie chez les hôtes immunodéprimés. *Pseudomonas aeruginosa* a un large arsenal de facteurs de virulence et provoque une gamme d'infections aiguës des voies respiratoires comme la pneumonie, la méningite et l'entérocolite chez l'homme (Fritsche et *al.*, 2016).

Les membres du genre *Acinetobacter* sont des bactéries Gram-négatif polyvalentes. *Acinetobacter*spp est décrit comme étant présent dans le CB. Lima et *al.* (2017) et Derakhshani et *al.* (2018) ont mis en évidence des résultats positifs pour cette bactérie à l'aide de l'analyse de l'ARNr 16S. Kröger et ces collaborateurs ont également rapporté un projet de séquençage du génome d'*Acinetobacter junii* MHI 21018 isolé du CB, qui était signalé comme un agent provoquant d'une septicémie (Kröger et *al.*, 2019).

3.3.2. La flore d'altération

Les germes d'altération ne sont pas généralement dangereux pour les consommateurs, car leur présence substantielle est visible à travers l'état du produit (changement d'aspect, goût, odeurs désagréables, texture etc.) (Tourette, 2002). Parmi eux :

- **Les Germes *Psychrotrophes*** : la réfrigération ne stoppe pas leur développement comme *Pseudomonas*, *Achromobacter* et *Flavobacterium*.
- **Les Germes thermorésistants** : ils résistent aux effets des chaleurs intenses telles que la pasteurisation et se développent à des températures élevées. Certains genres sont en cause : *Streptococcus*, *Micrococcus* , *Lactobacillus* , *Bacillus* et *Clostridium*.
- **Les moisissures** : *Rhizopus*, *Geotricum*, *Aspergillus* et *Penicillium*.
- **Les levures** : *Candida*, *Rhodotulora* et *Hansenula*, ...
- **Les germes protéolytiques** : ils altèrent la saveur et l'odeur du produit. Certains genres sont : *Bacillus*, *Clostridium*, *Pseudomonas*, *Proteus*.
- **Les germes acidifiants** : *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Lactobacillus*, *Bacillus* , *Clostridium* et *Acetobacter*...

Chapitre 2 : Rôle du colostrum bovin

Grâce aux bienfaits du colostrum bovin et ses multiples applications sur le jeune veau, plusieurs études ont été menées pour tester son pouvoir d'améliorer l'état du patient ou réduire les inflammations causées.

1. Traitement des infections gastro-intestinales

Etablir une alimentation à base de colostrum bovin a pour but d'améliorer le système immunitaire et notamment les symptômes des maladies affectant le tractus gastro-intestinal. Des recherches récentes faites sur les constituants du CB ont montré qu'ils combattent divers troubles gastro-intestinaux en particulier l'inflammation, le traitement des ulcères secondaires et la diarrhée d'origine virale (Buttar et *al.*, 2017).

Le CB peut également être utilisé comme thérapie pour abaisser les effets secondaires causés par les médicaments lorsque le tractus gastro-intestinal souffre de blessures ou lorsqu'il est affaibli par les thérapies pharmacologiques. En outre, il est capable de réduire l'inflammation intestinale causée par les traitements contre le cancer.

2. Nutrition du veau

L'importance de l'alimentation du colostrum pour la santé et le développement des veaux est établie depuis 1937. Lors de la naissance, le veau nouveau-né est dépourvu d'immunité donc il est crucial que la distribution du colostrum doit être précoce pour être efficace.

Le CB est riche en divers nutriments tels que les solides totaux qui représentaient en moyenne 23,9 % en première lactation (Foley et Otterby, 1978). La teneur en matières grasses brutes du colostrum de la première traite était de 6,7 %. L'énergie des graisses et du lactose est essentielle pour la thermogénèse et la régulation de la température corporelle. Certaines vitamines et minéraux, dont le calcium, le magnésium, le zinc, le manganèse, le fer, le cobalt, la vitamine A et E, le carotène, la vitamine B12, l'acide folique et le sélénium, sont également présents à des concentrations élevées dans le CB (Foley et Otterby, 1978).

3. Activité antibactérienne et antivirale du colostrum

Le colostrum contient plusieurs facteurs antibactériens, qui ont des activités bactériostatiques et bactéricides spécifiques et non spécifiques. Ces facteurs sont transférés de la mère au nouveau-né et aident à prévenir les maladies infectieuses. Pour de nombreuses espèces, les systèmes antimicrobiens dérivés du lait sont essentiels à la survie néonatale. L'activité spécifique des différentes immunoglobulines est un facteur majeur de l'immunité au cours des premiers jours du post-partum. Cette spécificité reflète le stress bactérien et viral de l'environnement et protège ainsi le nouveau-né des organismes contaminants (Van Hooijdonk et *al.*, 2000).

Les facteurs antimicrobiens et antiviraux non spécifiques sont également importants pour les systèmes de défense de l'hôte et peuvent agir en synergie avec des anticorps spécifiques. Dans le lait et le CB, la LF et la LPO sont les composants antibactériens non spécifiques les plus importants et les mieux étudiés. De nombreuses expériences *in vitro* ont démontré leur activité contre divers micro-organismes (Van Hooijdonk et *al.*, 2000).

Comme signalé préalablement, les activités biologiques de la LF comprennent des propriétés antioxydants, anti-inflammatoires, anticancéreuses et antimicrobiennes. Le mécanisme par lequel cette glycoprotéine exerce son activité contre les virus et les bactéries *in vivo* est complexe et mal connu. Ses propriétés biochimiques fondamentales contribuent à sa participation à la défense de l'hôte. Les effets antimicrobiens peuvent être directs via une activité bactériostatique et bactéricide ou indirects via l'activation d'une série complexe de réactions conduisant à une réponse immunitaire protectrice après l'infection (Van Hooijdonk, et *al.*, 2000).

La LF est pareillement connue pour jouer un rôle majeur dans la réponse immunitaire dormante de l'organisme tout en augmentant la sensibilité des bactéries à certains antibiotiques tels que la vancomycine, la pénicilline et les céphalosporines (Korhonen, 2011). Elle peut également être utilisée comme agent thérapeutique antitumoral en inhibant l'inflammation dans les cellules pulmonaires (Tung et *al.*, 2013).

La fonction biologique principale de LPO est la protection des glandes mammaires des infections causées par les bactéries pathogènes (*Streptococcus*, *Listeria monocytogenes* ou *Pseudomonas aeruginosa*) (Pakkanen et Aalto, 1997). Toutefois, elle possède également une

activité antivirale (Courtois et *al.*, 1990), une activité tumoricide (Stanislawski et *al.*, 1989) et protège contre le stress oxydatif (Reiter et Perrudin, 1991).

4. Les applications cliniques

En plus de sa fonction bénéfique de soutien de la croissance des nouveau-nés, le colostrum joue un rôle crucial qu'immunothérapie orale dans les premiers jours de la vie des prématurés (Gephart et *al.*, 2014)

Plusieurs études suggèrent des avantages cliniques de la supplémentation en colostrum, en démontrant ces applications ci-dessous :

4.1. L'entérocolite nécrosante

L'entérocolite nécrosante (NEC) survient principalement chez les prématurés et les nourrissons de très faible poids de naissance, avec une incidence allant de 5 à 10 % dans diverses unités néonatales de soins intensifs (USIN) (Thompson et MBizzarro, 2008). Les bactéries appartenant à la famille des *Enterobacteriaceae* sont souvent associées à cette maladie qui joue un rôle crucial dans la pathogénicité (Hoyet *al.*, 2000). La colonisation par des bactéries commensales peu après la naissance est essentielle au développement d'une fonction intestinale ; cependant, ce processus est fréquemment compromis chez les prématurés en USIN, ce qui entraîne une colonisation par des agents pathogènes. Il a été démontré que l'utilisation du lait maternel réduit l'incidence de l'NEC et de la septicémie. Les Ig du lait maternel réduisent la colonisation de ces bactéries (Van de Perre, 2003).

4.2. La colite ulcéreuse

Les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI) sont subdivisées en maladie de Crohn, et colite ulcéreuse. Les MICI se manifestent le plus souvent entre l'âge de 20 et 30 ans (Frei et *al.*, 2011). Les chercheurs ont utilisé des concentrations élevées de peptides antimicrobiens, d'Ig présents dans le colostrum comme traitement de cette maladie (Khan et *al.*, 2002). Dans une étude, huit patients atteints de la colite active légère ont reçu 100 ml de CB deux fois par jour pendant 4 semaines. Sept des huit patients de l'élevage bovin ont montré des améliorations dans les symptômes, tels que le bien-être des patients, les douleurs abdominales, les saignements rectaux, la température, la consistance des selles, la sensibilité abdominale et la présence de manifestations extra-intestinales (khan et *al.*, 2002).

4.3. La diarrhée du voyageur

L'infection aiguë par *Escherichia coli* entérotoxigène (ETEC) est la cause la plus courante de diarrhée associée aux voyages dans les régions tropicales et semi-tropicales du monde entier (De la Cabada Bauche et DuPont, 2011). Étant donné que le CB joue un rôle important dans la protection des veaux nouveau-nés contre les microorganismes pathogènes grâce à l'immunité passive et que l'ETEC est l'un des principaux agents pathogènes de la diarrhée du veau néonatal (Kolenda et *al.*, 2015), les chercheurs se sont intéressés à démontrer l'efficacité de la consommation du colostrum bovin hyperimmune riche en Ig (sous forme de comprimés de 400 mg de protéine CB) contre 14 souches d'ETEC. Les résultats ont montré une amélioration dose-dépendante et une protection significative chez les volontaires contre le développement de la diarrhée. En outre, l'utilisation du CB hyperimmunes avec un tampon bicarbonate ont donné un résultat excellent qui atteint 90,9 % de protection contre les diarrhées causées par ETEC par rapport au placebo. En outre, la consommation de 100 ml du CB hyperimmune pendant 3 jours a donné une réduction significative des diarrhées (Mitra et *al.*, 1995).

Chapitre 3 : Les bactéries lactiques

Avant le vingtième siècle, le terme bactéries lactiques (BL) était utilisé pour désigner les organismes laitiers acidifiés. Notamment, la première culture bactérienne pure était celle de *Bacteriumlactis* (Lister, 1873). Les BL ont été largement étudiées, produisant une grande quantité de données complètes sur leur métabolisme et leur génétique au cours des années.

1. Définition

Les bactéries lactiques sont des cellules procaryotes à Gram positif, en forme de coques ou de bâtonnets, incapables de produire la catalase (certaines souches possèdent une pseudo-catalase), généralement immobiles, asporulées, anaérobies ou microaérophiles (Delaglio et al., 1994). Ce sont des bactéries mésophiles qui se développent entre 10°C et 40°C avec une température optimale entre 25 et 35°C, mais certaines sont capables de se développer à 5°C ou à 45°C et elles tolèrent des températures entre 4-35°C à pH8. Elles ont besoin d'acides aminés, de bases azotées et de vitamines pour leur croissance (Dribineet al., 2018).

Les bactéries lactiques constituent un groupe hétérogène qui regroupe plusieurs genres qui se caractérisent par la capacité de fermenter les glucides pour produire de l'acide lactique (Collad et al., 2005). Il existe d'autres bactéries qui produisent de l'acide lactique mais qui ne sont pas considérées comme faisant partie du groupe des BL. C'est le cas par exemple, de *Bacillus* et de *Sporolactobacillus* qui sont des bactéries Gram (+) sporulées. En effet, la production de l'acide lactique réduit la croissance des autres micro-organismes, ce qui réduit à son tour les dommages que cette prolifération peut causer (Corrieu et al., 2008).

2. Habitat

Les BL sont des microorganismes ubiquitaires susceptibles d'être retrouvés dans tous types d'habitat. Elles existent à l'état libre dans l'environnement ou vivent avec l'hôte tel que l'homme ou l'animal. Certains de ses types sont également présents dans les systèmes respiratoires, intestinaux et génitaux des humains et des animaux. Les BL sont généralement associées à des matières premières végétales et animales et aux produits alimentaires fermentés correspondants, y compris les produits laitiers, les viandes, les légumes et les céréales (Belyagoubi, 2014).

3. Les catégories des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques comprennent plusieurs genres : *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc* et *Pediococcus*. Le pourcentage de bases guanine et cytosine dans leur ADN (%GC) montre l'hétérogénéité des espèces qui composent ces genres. Selon leur morphologie, les BL peuvent être divisées en trois catégories : les lactobacilles, les coques et les bifidobactéries (Corrieu et al., 2008).

3.1. Le genre *Lactobacillus*

Les *lactobacilles* font partie du phylum des *Firmicutes*, de la classe des *Bacilli*, de l'ordre des *Lactobacillales* et de la famille des *Lactobacillaceae*. Ces bactéries ont une forme de bâtonnets qui sont souvent groupés en chaînettes (Leveau et al., 1993).

Le genre *Lactobacillus* comprend actuellement plus de 100 espèces. Du fait de leur diversité, ils existent dans des milieux très différents : laits fermentés comme le kéfir, légumes fermentés, l'ensilage ou le vin, viandes fraîches ou fermentées, appareils digestifs humains et animaux (Galvez et al., 2008).

Elles sont principalement utilisées comme probiotiques, notamment *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*(figure 1)et *Lactobacillus rhamnosus*, car ces trois bactéries ont une bonne résistance à l'acide gastrique et une forte adhésion aux cellules intestinales (Guiraud, 2003).

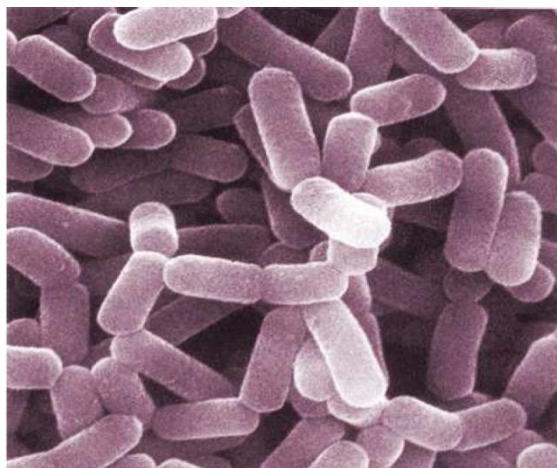


Figure 1 : *Lactobacillus casei* (Corrieu et Luquet, 2008)

3.2. Les coques

Les coques sont des BL sphériques ou ovales, regroupés généralement en paires, en chainettes ou en tétrades. Les genres correspondants sont : *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Lactococcus*, *Pediococcus* et *Leuconostoc*.

Seuls les genres *Streptococcus*, *Enterococcus* et éventuellement *Lactococcus* ont été utilisés comme probiotiques. *Streptococcus* est le genre auquel appartiennent la plupart des streptocoques, comprenant essentiellement des espèces d'origine humaine ou animale. Certains sont pathogènes et ne sont donc pas utilisés comme probiotiques, mais certains sont des bactéries saprophytes présentes dans la cavité orale ou l'intestin humain. *Streptococcus thermophilus* est largement présent dans le lait et les produits laitiers en tant qu'acidulant. La FDA (Food and Drug Administration) a accordé le statut GRAS (Generally Recognized As Safe) à cette souche, ainsi elle a été utilisée dans certains produits probiotiques (Corrieu et Luquet, 2008).

Les espèces du genre *Enterococcus* se caractérisent par leur grande résistance aux facteurs environnementaux. Elles sont surtout présentes dans les intestins des humains et des animaux, les produits végétaux, le sol et les produits laitiers (Corrieu et Luquet, 2008).

Les espèces du genre *Lactococcus* ne présentent aucun caractère pathogène. Elles se trouvent largement dans le lait et les produits laitiers, mais les produits végétaux sont leur principal réservoir. Seule l'espèce *Lactococcus lactis* (figure 2) est utilisée pour ses effets probiotiques (Corrieu et Luquet, 2008).

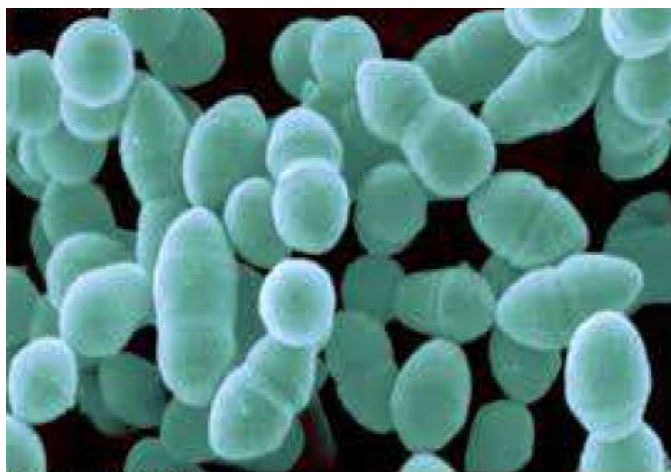


Figure 2 : *Lactococcus lactis* (Corrieu et Luquet, 2008).

3.3. Les bifidobactéries

Les bifidobactéries (figure 3) sont des BL à motifs irréguliers en forme V ou Y. Elles ont généralement un pH optimal pour la croissance autour de 6,5 à 7, sa croissance est inhibée en dessous d'un pH de 4,5 à 5 et au-dessus de 8,0 à 8,5. La température de croissance idéale pour les souches de *Bifidobacterium* d'origine humaine est entre 36-38 °C et entre 41-43°C pour les souches d'origine animale. Ces organismes sont saccharolytiques et toutes les espèces ont la capacité de fermenter le glucose, le galactose et le fructose (Leahy et *al.*, 2005).

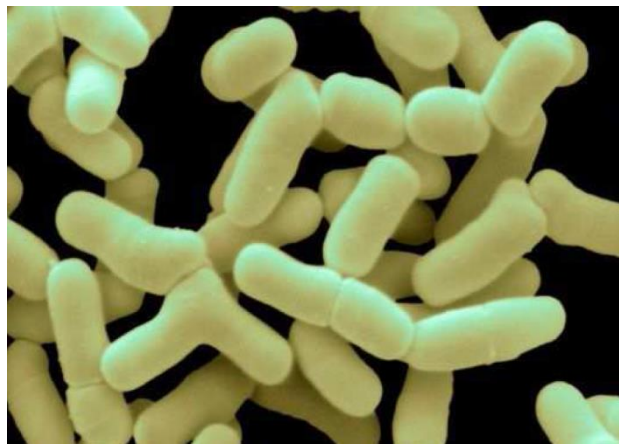


Figure 3 : *Bifidobacterium* spp. (Wallace et *al.*, 2003).

4. Intérêt des bactéries lactiques

4.1. Dans l'industrie alimentaire

Les LB appartiennent à un groupe de bactéries à statut "GRAS", qui autorisent officiellement leur utilisation dans des applications alimentaires telles que la fermentation et la conservation biologique de différents aliments (Yateem et *al.*, 2008). Leur utilisation a pour but d'améliorer les propriétés organoleptiques des produits fermentés et de prolonger leur durée de conservation sans l'utilisation de conservateurs chimiques, grâce aux substances antimicrobiennes qu'ils sécrètent (Dortu et Thonart, 2009).

4.2. Dans le domaine thérapeutique

En tant que probiotiques, les BL apportent des bénéfices à l'hôte en équilibrant la flore intestinale et en jouant un rôle important dans la maturation du système immunitaire (Yateem et *al.*, 2008).

Les BL interviennent dans le contrôle des infections intestinales, comme la prévention des diarrhées en introduisant une nouvelle flore intestinale qui agit sur les entérobactéries responsables de ces maladies intestinales. Ils sont également connus pour produire des antimicrobiens, évitant ainsi l'utilisation d'antibiotiques (Mermouri, 2018).

5. Activités antimicrobiennes des bactéries lactiques

L'un des principales fonctions des bactéries lactiques est de maintenir les qualités nutritionnelles et organoleptiques des aliments et d'en prolonger la durée de conservation (Hugenholtz et Kleerebezem, 1999). En fait, les BL produisent de multiples propriétés antibactériennes, comme les bactériocines, le dioxyde de carbone, les acides organiques, le peroxyde d'hydrogène, le diacétyle et la reutéline (Bouzaid et *al.*, 2016).

5.1. La compétition nutritionnelle

Les BL peuvent inhiber la reproduction de certaines bactéries d'altération et/ou la présence d'agents pathogènes par leur propre présence. En effet, ce phénomène de compétition s'établit lorsque deux individus cherchent à exploiter la même ressource nutritionnelle présente en quantité limitée. Les BL envahissent totalement le milieu en limitant la reproduction des autres colonisateurs (Castellano et *al.*, 2008).

5.2. Les substances antibactériennes

5.2.1. Les bactériocines

Les bactériocines sont des protéines, ou complexes protéiques, possédant une activité bactéricide dirigée contre des espèces proches de l'espèce productrice (Dortu et Thonart, 2009). Selon Rea et ses collaborateurs (2011), les bactériocines sont des peptides antimicrobiens, qui ont subi des modifications post-traductionnelles ou non, synthétisés par des bactéries possédant

un système les immunisant contre leur propre production. Cette variété de définitions proposées par plusieurs auteurs montre la complexité du fonctionnement des bactériocines.

Les bactériocines ne sont pas des antibiotiques mais elles ont des propriétés antibactériennes. Elles peuvent être bactéricides causant la mort des bactéries cibles ou bactériostatique inhibant la croissance bactérienne (Taale et *al.*, 2016).

5.2.2. Le dioxyde de carbone

Les BL de fermentation hétérogène synthétisent du CO₂ comme métabolite secondaire. Son accumulation dans le milieu externe produit une réaction anaérobie, qui peut être toxique pour les bactéries aérobies présentes dans les denrées alimentaires. Son accumulation dans les doubles couches lipidiques peut entraîner un dysfonctionnement de la perméabilité membranaire (Ammor et *al.*, 2005).

5.2.3. Acides organiques

Les acides organiques tels que les lactates, les acétates et les propionates sont produits par les BL pendant la fermentation des aliments.

L'acide lactique et l'acide acétique traversent passivement la membrane cytoplasmique à des concentrations élevées en acide, le milieu intracellulaire peut être acidifié à tel point que la fonction cellulaire est inhibée et le potentiel membranaire est aboli (Ammor et *al.*, 2005). Par conséquent, l'accumulation des acides organiques provoque une inhibition directe sur les bactéries dangereuses présentant de faibles seuils de résistance aux changements de pH intracellulaire (Kashket, 1987). Dans les milieux tamponnés, l'acide lactique et l'acide acétique peuvent agir en synergie sur certaines espèces, comme *E.coli*. La sensibilité à ces acides dépend de l'action bactérienne et d'autres facteurs tels que l'activité de l'eau et la température (Hsiao et Siebert, 1999).

5.2.4. Le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂)

En général, les BL ne possèdent pas de catalase. L'accumulation d'H₂O₂ sous l'action de l'oxydase est la raison principale de l'existence d'une activité antibactérienne, en particulier chez

Lactobacillus. L'effet inhibiteur de l' H_2O_2 est principalement dû à son fort effet d'oxydation sur les lipides membranaires et les protéines cellulaires (Caplice et Fitzgerald, 1999).

5.2.5. Le diacétyle ($C_4H_6O_2$)

Le diacétyle est une cétone liquide considérée comme agent aromatisant des produits lactés, où elle est produite par la fermentation réalisée par des bactéries du genre *Lactobacillus*. Le diacétyle a des propriétés antimicrobienne dirigées contre les levures, les bactéries à GRAM négatif et les GRAM positif non lactique, ces derniers y sont néanmoins moins sensible (El-Ziney et al., 1998).

5.2.6. La reutéline

La reutéline (ou 3-hydroxypropionaldéhyde) est un métabolite intermédiaire résultant de la fermentation anaérobique du glycérol par certaines genres comme *Lactobacillus*. La reutéline est également produite par des genres bactériens non lactiques tels que *Klebsiella*, *Bacillus*, *Citrobacter*, *Enterobacter* et *Clostridium* (Vollenweider, 2004).

La reutéline possède un large spectre d'activité et a des applications dans le domaine médical que dans le domaine alimentaire (Vollenweider, 2004).



Matériel et Méthodes

1. Matériel biologique

1.1. Colostrum bovin

Le prélèvement de l'échantillon du colostrum bovin provient d'une ferme située à la wilaya de Mila, commune « Ibn Ziad ». Le colostrum est collecté à partir d'une vache laitière de la race 'Holstein' âgée de 11 ans et qui a reçu un régime alimentaire à base de parcours naturel additionné de foin de vesce-avoine et de son de blé.

Les prélèvements ont été réalisés le premier jour (J1 : figure 4), pendant les dix heures suivant la parturition de la vache, puis après 6 jours (J6 : figure 5). Les prélèvements ont été effectués dans des conditions d'asepsie totale, en utilisant des gants, des torchons, des flacons stériles et après la traite des mamelles par l'eau javellisée, ceux-ci pour minimiser au maximum les risques de contamination par la flore exogène.

Afin de préserver la qualité microbiologique des échantillons, ces derniers ont été placés dans une glacière et transportés immédiatement au laboratoire. Les analyses physico-chimiques et microbiologiques ont été réalisées le même jour du prélèvement.



Figure 4 : Échantillon du colostrum bovin collecté à 10 h post-partum.



Figure 5 : Échantillon du colostrum bovin collecté le sixième jour de la parturition.

1.2. Souches bactériennes indicatrices (pathogènes)

Pour la mise en évidence des activités antimicrobiennes du colostrum bovin et des souches lactiques isolés, trois bactéries indicatrices sont été utilisées :

- *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 ;
- *Staphylococcus aureus* ATCC 5538 ;
- *Escherichia coli* ATCC 8739.

2. Méthodes analytiques

2.1. Lieu d'étude

Toutes les analyses microbiologiques et physicochimiques ont été réalisées au laboratoire pédagogique N° 9 de l'Université des frères Mentouri Constantine 1, Faculté des Science de la Nature et de la Vie. Département de Microbiologie.

2.2. Analyses physicochimiques du colostrum bovin

2.2.1. Mesure du pH

La valeur du pH est lue après immersion de l'électrode du pH mètre dans le colostrum bovin. La valeur est enregistrée directement sur l'écran (Larpent, 1997).

2.2.2. Mesure de l'acidité Dornic

L'acidité est déterminée par le dosage de l'acide lactique à l'aide de l'hydroxyde de sodium 0,11 N. Un échantillon de 10 ml de colostrum est placé dans un bécher de 100 ml en présence de 0,1 ml de phénolphthaléine (à 1% dans l'alcool à 95°). L'échantillon est titré par la soude dornic jusqu'au virage de la couleur au rose pale. La coloration rose doit persister au moins 10 secondes (Larpent, 1997).

L'acidité est exprimée en degrés Dornic (°D) selon la formule suivante :

$$\text{Acidité (°D)} = V_{\text{NaOH}} \cdot 10$$

V_{NaOH} : Volume de la soude Dornic utilisé pour la titration.

2.3. Analyse microbiologique du colostrum bovin

Les flores microbiennes dénombrées sont : la flore totale aérobie mésophile (FTAM), les coliformes totaux, les bactéries halotolérantes, les levures et les moisissures et les bactéries lactiques.

2.3.1. Préparation de l'eau physiologique

L'eau physiologique est une solution saline à 9 g de sel par litre d'eau distillée

2.3.2. Réalisation des dilutions décimales

La réalisation des dilutions consiste à mettre 1 ml de la solution mère dans 9 ml d'eau physiologique stérile, avant de faire transvaser l'inoculum d'un tube à un autre, il faut bien l'homogénéiser (Joffin et Leyral, 2006). Cette opération est répétée par l'ajout successif de 1 ml de la solution précédente à 9 ml d'eau physiologique stérile jusqu'à l'obtention de toute les dilutions (Les dilutions sont faites en double).

2.3.3. Dénombrement de la flore totale aérobie mésophile (FTAM)

Cent microlitres des dilutions 10^{-3} et 10^{-4} ont été étalés à la surface de la gélose PCA (Annexe 1) fondue et refroidie (Guiraud, 1998). L'incubation des boites a été effectuée à 30°C pendant 48 h, avant de procéder au dénombrement.

2.3.4. Dénombrement des bactéries halotolérantes

L'énumération des staphylocoques a été réalisée en ensemençant par étalement 0,1 ml des dilutions 10^{-1} et 10^{-2} sur gélose Chapman (Annexe 1) coulée et solidifiée. L'incubation a été effectuée à 30°C pendant 48 h (Bourgeois et *al.*, 1996).

2.3.5. Dénombrement des coliformes

Les coliformes totaux ont été énumérés sur milieu VRBG (Annexe 01), gélose glucosé bilié au cristal violet et au rouge neutre. La bile et les colorants sont des agents pour la détection des *Enterobacteriaceae*. Ce milieu est défini comme milieu glucosé qui inhibe la croissance des bactéries à Gram positif et la majorité des bactéries à Gram négatif.

Le dénombrement des coliformes a été réalisé par ensemencement en profondeur de 1 ml des dilutions 10^{-3} et 10^{-4} . Les boîtes ont été incubées à 37°C pendant 24 h (Guiraud, 1998).

2.3.6. Dénombrement des levures et des moisissures

Le dénombrement des levures et des moisissures a été réalisés sur le milieu OGA (**Annexe 1**) après ensemencement en surface de 0,1 ml des dilutions 10^{-2} et 10^{-3} . La suspension bactérienne est étalée sur toute la boîte à l'aide d'une pipette pasteur en râteau. Le nombre de colonies est énuméré après incubation à 28°C pendant 3-5 jours (Bourgeois et Larpent, 1996).

2.3.7. Dénombrement des bactéries lactiques (BL)

Les bactéries lactiques se multiplient mal sur la GN, elles nécessitent des milieux appropriés et une culture dans des conditions semi-anaérobie. Le milieu MRS (annexe 1) a été utilisé pour l'isolement sélectif des lactobacilles et le M17 (annexe 1) pour l'isolement des lactocoques.

La technique d'isolement de cette catégorie a été effectuée en double couches. Un millilitre des dilutions 10^{-1} et 10^{-2} ont été versés dans des boîtes de pétrie stériles. La gélose MRS ou M17, maintenu en surfusion à 45°C , est coulée et des rotations en 8 sont effectuées pour assurer une bonne homogénéisation du milieu avec l'inoculum. La gélose est laissée solidifier et une autre couche de gélose est versée (Joffine et Leyra, 2006). Les boîtes ont été incubées à 30°C ou à 45°C pendant 48 à 72 h.

2.4. Caractérisation macroscopique des colonies

Consiste à étudier la forme, l'aspect, le contour, la surface et la couleur des colonies isolées dans tous les milieux de cultures.

2.5. Identification des souches de bactéries lactiques isolées

La pré-identification des isolats de bactéries lactiques a été établie en se basant sur l'étude de certains caractères morphologiques (examen macroscopique et microscopique) et sur la recherche de la catalase.

2.5.1. Examen à l'état frais

Etat frais Ce test permet de déterminer la forme, l'arrangement et la mobilité des bactéries. Il consiste en l'observation d'une goutte de suspension bactérienne, préparée avec de l'eau physiologique et placée entre lame et lamelle. L'observation se fait au microscope photonique (Delarras, 2007) (Annexe 3).

2.5.2. Coloration de GRAM

Après l'examen macroscopique des colonies, et dans le but d'écartier tout ce qui ne peut pas être une bactérie lactique, les isolats ont été soumis à la coloration de Gram, coloration de base en microbiologie. Cette coloration permet de diviser les bactéries, selon les propriétés de la paroi bactérienne, en deux grandes catégories : Gram+ et Gram-. Elle nous renseigne également sur la forme et le mode de regroupement des bactéries (Annexe 4).

2.5.3. Test de la catalase

Pour mettre en évidence cette enzyme, une partie de la colonie suspecte est diluée dans une goutte d'eau oxygénée sur une lame stérile. Le dégagement de bulles de gaz indique la présence de la catalase.

2.6. Purification des souches de bactéries lactiques isolées

Les souches de BL isolées sont purifiées par repiquages successifs sur gélose MRS ou M17 jusqu'à l'obtention de colonies de même taille, de même forme et de même couleur (Idoui *et al.*, 2009).

2.7. Activité antibactérienne du colostrum et des bactéries lactiques isolés

Ce teste consiste à étudier l'activité inhibitrice du colostrum et des bactéries lactiques isolés vis-à-vis des souches indicatrices.

La réalisation de l'antibiogramme est faite selon la méthode décrite par (Tadesse *et al.*, 2004). Les souches indicatrices (DO varie entre 0,08 et 0,1) sont ensemencés par écouvillonnage sur la surface du milieu Mueller-Hinton puis incubé pendant 30 min à 37° C. Des disques stériles (de 5 mm de diamètre) sont déposés à la surface de la gélose. Chaque disque reçoit 10 µl du colostrum bovin (solution mère ou dilution) ou d'une culture lactique jeune. Les

boites sont placées à 4°C pendant 30 min pour assurer une bonne diffusion de l'agent inhibiteur. Enfin, elles sont incubées à 37°C pendant 24h. L'inhibition se traduit par la formation de zones claires autour des disques.



Résultats et discussion

1. Caractéristiques organoleptiques du colostrum bovin

1.1. La couleur

Le colostrum prélevé le premier jour est de couleur jaune foncé, alors que celui collecté après 6 jours est de couleur blanche mat qui ressemble parfaitement à la couleur ordinaire du lait (tableau 2). Selon Allemand (2008), la couleur jaune foncé du colostrum bovin est due principalement à une forte teneur en β -carotène et en matière grasse.

Tableau 2 : caractéristiques organoleptiques du colostrum bovin

| | Couleur | Odeur | viscosité |
|---------------|-------------|-----------------|---------------|
| Jour 1 | Jaune foncé | Caractéristique | Très visqueux |
| Jour 6 | Blanche | Caractéristique | Peu visqueux |

1.2. L'odeur

Les échantillons collectés ont une odeur caractéristique. La vache dans notre étude est alimentée principalement par des fourrages et du parcours naturel. Cette alimentation a donné une odeur animale due à la matière grasse qu'il contient (Lazouni, 2015). Vierling (2003) associe l'odeur caractéristique du lait à l'alimentation (les aliments à base d'ensilage favorisent la flore butyrique, puis le lait dégage une forte odeur), à la conservation (acidification du lait par de l'acide lactique pour lui donner un goût acide) mais aussi à l'environnement de traite.

1.3. La viscosité

Le colostrum J1 est de nature très visqueuse en comparaison au colostrum J6. L'augmentation de la viscosité du colostrum est principalement en fonction de la teneur en matières grasses, de l'état globulaire des macromolécules protéiques et de la concentration des substances en solution. Cela signifie que le colostrum est beaucoup plus visqueux que le lait de vache (Levieux, 1984). La viscosité dépend également de la température (la viscosité diminue avec l'augmentation de la température) et du pH du colostrum (lorsque le pH tombe au-dessus de 6,0 la viscosité augmente) (Mlariglio, 1986).

2. Analyses physicochimiques du colostrum

2.1. Le pH

Les résultats des analyses physicochimiques du CB sont illustrés dans le tableau 3. Ils montrent que le pH s'échelonne entre 4,84 pour CAT (colostrum conservé à température ambiante) à 6,38 pour le colostrum du jour 6.

Les pH enregistrés en J1 et J6 sont légèrement acide en comparaison au pH du colostrum conservé. Le pH du J6 est très proche de celui enregistré par Allemand (2008) pour le colostrum bovin (pH = 6,40) et Nili et *al.*, (2013) pour le colostrum camelin (pH = 6,50). A leur tour, Bensaadi et Chahmi (2019) ont rapporté un pH de l'ordre de 6,14 pour le colostrum des brebis, valeur voisine à la valeur du pH J1 de cette étude.

Le pH du liba a diminué brusquement après sa conservation à température ambiante en allant de 6,18 à 4,84. Un résultat similaire a été enregistré par Guitoun et Kina (2013) au cours de l'entreposage du colostrum camelin du premier au quatorzième jour.

Tous les pH notés dans cette expérience n'appartiennent pas aux valeurs standards du pH du lait $6,6 < \text{pH} < 6,8$ élaborées par le J.O.R.A (2017). D'après McGrath et *al.* (2016), le pH du colostrum bovin est inférieur à celui du lait de lactation normal.

Tableau 3 : analyses physicochimiques du colostrum bovin

| | J1 | CAT | J6 | Normes | Références |
|----------------|-------------|-------------|-------------|-------------------------|------------------------|
| pH | 6.18 | 4.84 | 6.38 | 6,6<pH<6,8 | (J.O.R.A, 2017) |
| Acidité | 27 | 62 | 16 | 15-18°D | (J.O.R.A, 2017) |

J1 : colostrum prélevé le premier jour après vêlage ; CAT : colostrum J1 conservé à température ambiante ; J6 : colostrum prélevé le sixième jour après vêlage

2.2. Acidité dornic

L'acidité dornic est inversement proportionnelle au pH, l'augmentation de l'acidité dans le milieu entraîne une diminution des valeurs du pH. Une acidité de 16°D, 27°D et 62°D a été enregistrée respectivement pour le colostrum J6, J1 et CAT. Seul la teneur en acidité du J6 est incluse dans l'intervalle d'acidité fournie par le J.O.R.A (2017) pour le lait de lactation.

Des valeurs d'acidité titrable diverses ont été notées par d'autres auteurs (Guitoun et Kina, 2013 ; Zeineb et *al.*, 2015). La variation de l'acidité est généralement due à la variation de l'alimentation et aux conditions environnementales (Abu-Taraboush et *al.*, 1998).

D'après le tableau 3, on constate que le liba devient de plus en plus acide pendant le stockage, résultat similaire à celui rapporté par Guitoun et Kina (2013). Ce résultat est dû à une augmentation de la concentration de l'acide lactique dans le colostrum, produit par la flore originale à partir du lactose.

3. Analyse microbiologique du colostrum bovin

Le tableau 4 récapitule les résultats du dénombrement de la microflore recherchée dans le colostrum.

Tableau 4 : analyse microbiologique du colostrum bovin

| Les flores dénombrées | La charge microbienne (UFC/ml) | | | Les normes |
|---|--------------------------------|----------------------|---------------------|--------------------------------------|
| | J1 | CAT | J6 | |
| FTAM | NS | 4,5.10 ³ | 1,2.10 ⁵ | 3.10 ⁵ |
| Halotolérant | Abs | Abs | Abs | 10 ² |
| Les coliformes totaux | Abs | Abs | Abs | Thermotolérants 5.10 ² |
| Les levures et les moisissures | NS | 1,9.10 ⁴ | 2,2.10 ³ | / |
| Les bactéries lactiques mésophiles | 1,6.10 ² | 2,52.10 ⁶ | 4,5.10 ² | / |
| Les bactéries lactiques thermophiles | NS | 1,2.10 ² | NS | / |

NS : non significatif ; FTAM : flore totale aérobie mésophile ; Abs : absence

3.1. Dénombrement de la flore totale aérobie mésophile (FTAM)

La FTAM nous renseigne sur la qualité hygiénique du produit analysé. C'est la flore, la plus recherchée dans les analyses microbiologiques des aliments. L'énumération de cette flore a montré une charge microbienne assez différente entre les échantillons collectés. La culture montre pour le J1 un nombre non significatif des germes quoique pour le CAT et le J6 elle représente une charge bactérienne de $4,5 \cdot 10^3$ et $1,2 \cdot 10^5$, respectivement.

Nous constatons que le nombre de la FTAM dans le CB est beaucoup plus inférieur à la valeur normale et limite du lait frais, qui est de $3 \cdot 10^5$ UFC/ml (J.O.R.A, 2017). À titre comparatif, la FTAM est indénombrable dans l'analyse du liba effectuée par Bedoud et *al.* (2019).

Le résultat du dénombrement de la FTAM dans le colostrum collecté revient au respect des conditions d'hygiène lors de la collecte et la manipulation du colostrum, particulièrement le liba prélevé au premier jour de vêlage.

3.2. Dénombrement des coliformes

La présence des coliformes est un témoignage d'une contamination fécale. Une absence totale des coliformes a été notée pour les échantillons du CB analysés dans cette étude. Ce qui est conforme à la réglementation algérienne J.O.R.A (2017) et qui affirme une autre fois les bonnes conditions hygiéniques durant la traite. Selon Meyer (1999), le pH et l'acidité des échantillons inhibe fortement le développement des coliformes.

3.3. Dénombrement des levures et moisissures

L'énumération de la flore fongique, montrent la présence des levures et des moisissures à des valeurs différentes dans chaque échantillon. Un nombre non significatif est énuméré dans le liba du J1 (figure 6). En revanche, un nombre relativement élevé est noté avec le colostrum J6 ($2,2 \cdot 10^3$ UFC/ml) (figure 7).

Une charge fongique plus importante est enregistrée après 7 jours de conservation à température ambiante ($1,9 \cdot 10^4$ UFC/ml). Un nombre beaucoup plus élevée a été apporté par Guitoun et Kina (2013) lors de l'entreposage du liba camelin durant 7 et 14 jours. Les levures sont des microorganismes unicellulaires acidophiles et mésophiles, qui se multiplie à des pH compris entre 3 et 7,5 (Guiraud et Rosec, 2004). Ce constat justifie l'augmentation de leur taux durant l'entreposage.



Figure 6 : Observation macroscopique des levures et moisissures cultivés sur milieu OGA (J1).

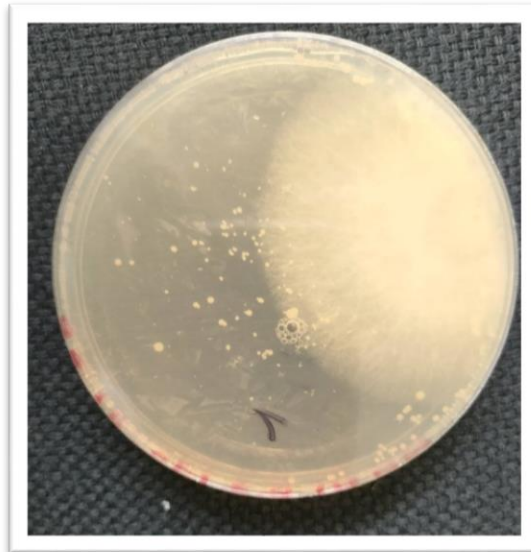


Figure 7 : Observation macroscopique des levures et moisissures cultivés sur milieu OGA (J6).

Selon Zeineb et *al.* (2015), le colostrum renferme une teneur en levures plus élevée que le lait, en raison de la capacité des levures à se développer dans des substrats à forte concentration en sel et à faible pH. Généralement, les levures étaient considérées comme faisant partie de la flore normale du lait mais leur présence en grand nombre est une conséquence de leur capacité à fermenter et/ou assimiler le lactose et à utiliser les acides lactiques, citriques et succiniques (Corbaci et *al.*, 2012).

3.4. Dénombrement des bactéries halotolérantes

Le dénombrement des staphylocoques permet de prévoir si l'aliment présente un risque pour le consommateur, car ils peuvent produire une entérotoxine causant des intoxications alimentaires. Par ailleurs, le staphylocoque est considéré comme une bactérie pathogène majeure causant des infections mammaires Dodd et Booth (2000).

Une absence totale des staphylocoques est notée dans tous les échantillons analysés. Cela nous permet de conclure que nos échantillons présentent une bonne qualité. Selon Klaenhammer et *al.*, (1994), les staphylocoques sont des bactéries qui se développent mieux à des pH neutre. Ainsi l'acidité du colostrum, causé par la libération du lactose par les bactéries lactiques, peut inhiber leur croissance.

3.5. Dénombrement des bactéries lactiques

Le colostrum est constitué majoritairement de bactéries lactiques qui sont dénombrées sur gélose MRS et M17.

L'énumération de la flore lactique à 30 °C montre que le CB J1 ($1,6 \cdot 10^2$ UFC/ml) et J6 ($4,5 \cdot 10^2$ UFC/ml) renferment une charge bactérienne largement inférieure que celle du liba conservé ($2,52 \cdot 10^6$) UFC/ml. Un résultat similaire est noté pour les bactéries lactiques thermophiles (recherchées à 45°C). Selon Guiraud (1998), le lait contient peu de microorganismes lorsqu'il est prélevé dans de bonnes conditions à partir d'un animal sain (moins de 10^3 germes/ml). Il s'agit de germes essentiellement saprophytes du pis et des canaux galactophores : microcoques mais aussi streptocoques lactiques (*Lactococcus*) et lactobacilles.

Le colostrum du J1 et J6 ont un nombre très réduit (nombre non significatif) alors que le CAT à une charge de $1,2 \cdot 10^2$ UFC/ml. Ce résultat est justifié par la diminution du pH dans l'échantillon (pH passant de 6,18 à 4,84). Les bactéries lactiques se développent à bas pH. Leur développement est optimal à pH 5,5 et s'arrête à pH 3,5 (DAVIS, 1973).

Le nombre des bactéries lactiques noté dans cette étude est comparable à celui enregistré par Bedoud et *al.* (2019) pour le colostrum bovin, mais inférieur à celui du lait cru de vache obtenus par Medjahdi et *al.*, (2013), qui notaient une charge de $1,04 \cdot 10^7$ à $1,68 \cdot 10^8$ UFC/ml.



Figure 8 : Observation macroscopique des colonies de bactéries lactiques mésophiles cultivées sur milieu MRS.



Figure 9 : Observation macroscopique des colonies de bactéries lactiques thermophiles cultivées sur milieu MRS.

4 . Aspect macroscopique des colonies

Les cultures obtenues sur les boites de Petrie sont observées à l'œil nu pour caractériser la forme, la taille, l'aspect ainsi que la couleur des colonies.

La description macroscopique des colonies dénombrées sur les différents milieux de cultures est mentionnée dans le tableau 5.

Tableau 5 : caractéristiques macroscopiques des colonies obtenues après la culture

| Milieux de culture | Bactéries | Caractéristiques macroscopiques |
|--------------------|-------------------|---|
| | | Aspect des colonies |
| PCA | FTAM | Colonies blanches, lisses avec un diamètre de 1 à 3 mm, d'une forme ronde |
| Chapman | Halotolérant | - |
| VRBG | Les coliformes | - |
| OGA | Les levures | Colonies blanches, plates, lisses, arrondies avec un diamètre de 2-3 mm. |
| | Les moisissures | Grandes colonies, de couleurs blanchâtres ou crémeuses et poilus. |
| MRS | Les lactobacilles | Colonies crémeuses, arrondies ou ovalaires plates d'un diamètre de 1 mm |
| M17 | Les lactocoques | Colonies blanchâtres et jaunâtres bombées arrondies avec une taille de 2 à 3 mm |

5. Identification des bactéries lactiques isolées

La purification des bactéries lactiques cultivés sur gélose MRS et M17 a permis l'isolement de 8 souches purs.

5.1. Examen microscopique

La coloration de Gram a révélé que les souches isolées sont des Gram-positifs sous formes de coques ou de coccobacilles (tableau 6). Leur arrangement cellulaire est variable : isolé, en chaînettes ou par fois en grappe de raisin.

Tableau 6 : Caractéristiques des colonies de bactéries lactiques après culture

| Milieux de culture | Bactéries | Caractéristiques microscopiques | | | |
|--------------------|-------------------|---------------------------------|-----------|------|-----------------------------------|
| | | Aspect des colonies | Mobilité | Gram | Mode de groupement |
| MRS | Les lactobacilles | Cocci | Immobilés | + | Isolées et en chaînettes |
| M17 | Les lactocoques | Cocci | Immobilés | + | Grappe de raisin et en chaînettes |

5.2. Test de la catalase

La catalase est un enzyme qui dégrade l'eau oxygénée libérant lors de la dégradation des glucides. Les bactéries lactiques sont catalase négatif. Toutefois certaines souches de lactobacilles possèdent une pseudo-catalase.

Parmi les 8 isolats purifiés seulement quatre ont une catalase négatif. Ces souches ont été conservées pour tester leur activité antibactérienne.

6. Etude de l'activité antibactérienne du colostrum bovin

L'activité antibactérienne du CB vis-à-vis les souches indicatrices est illustrée dans le tableau 7. Les isolats testés présentent des diamètres de zones d'inhibitions qui varient entre 6 - 10 mm (Figure 10, 11,12). Ces résultats indiquent la sensibilité des trois souches indicatrices au colostrum. Cette sensibilité démontre la richesse du colostrum en facteurs antimicrobiens (Lactoferrine, lactoperoxydase, lysozyme et immunoglobulines...etc).

Tableau 7 : variation de l'activité antibactérienne du colostrum bovin collecté le premier jour de vêlage vis-à-vis les souches indicatrices.

| souche | SM (mm) | 10 ⁻¹ (mm) | 10 ⁻² (mm) | 10 ⁻³ (mm) | 10 ⁻⁴ (mm) | 10 ⁻⁵ (mm) |
|--|------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| <i>Escherichia coli</i> ATCC 8739 | 10 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 5538 | 8 | 6 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| <i>Staphylococcus</i> ATCC 43300 | 6 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

Il est à noter que le CB prélevé le 6^{ème} jour après le vêlage n'a montré aucune activité antibactérienne vis-à-vis les trois souches pathogènes étudiés (figure 10, 11,12).

L'activité antimicrobienne du colostrum dépend de sa concentration, pour cela nous avons réalisé plusieurs dilutions de colostrum pour préciser la dose minimale inhibitrice. Le colostrum dilué montre une bonne activité antibactérienne contre le *Staphylococcus aureus* ATCC 5538, avec laquelle la dose minimale inhibitrice est obtenue à la dilution 10⁻¹. Aucune activité antibactérienne n'est enregistrée avec les autres dilutions et contre les deux autres souches. OMANE et ZROUG (2016) ont enregistré une zone d'inhibition contre *E. coli* très proche de celle notée dans cette étude, en utilisant le colostrum camelin. Le colostrum bovin a présenté une très faible activité contre la même souche bactérienne (OMANE et ZROUG, 2016).

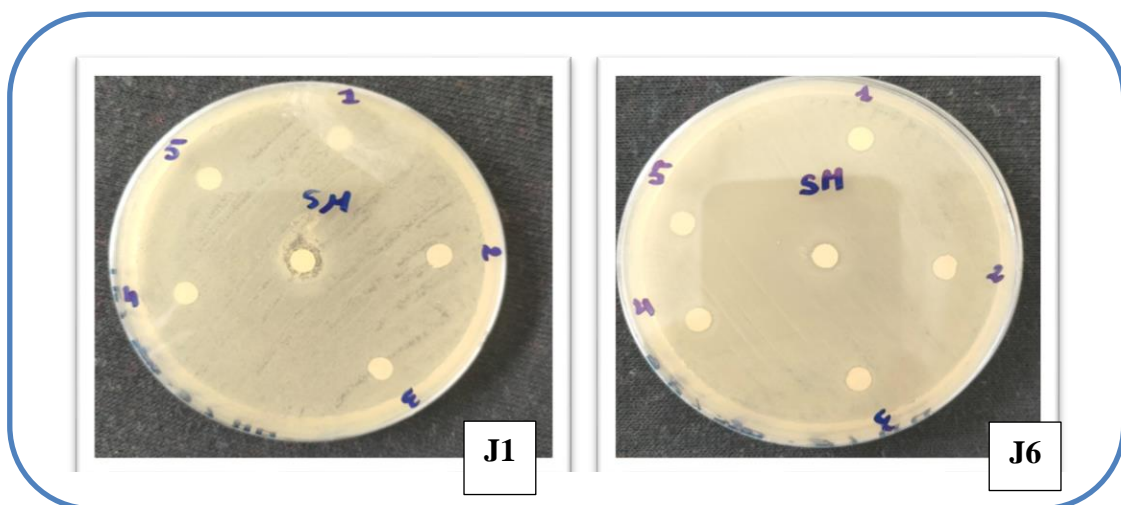


Figure 10 : activité antibactérienne du colostrum bovin vis-à-vis *Escherichia coli* ATCC 8739

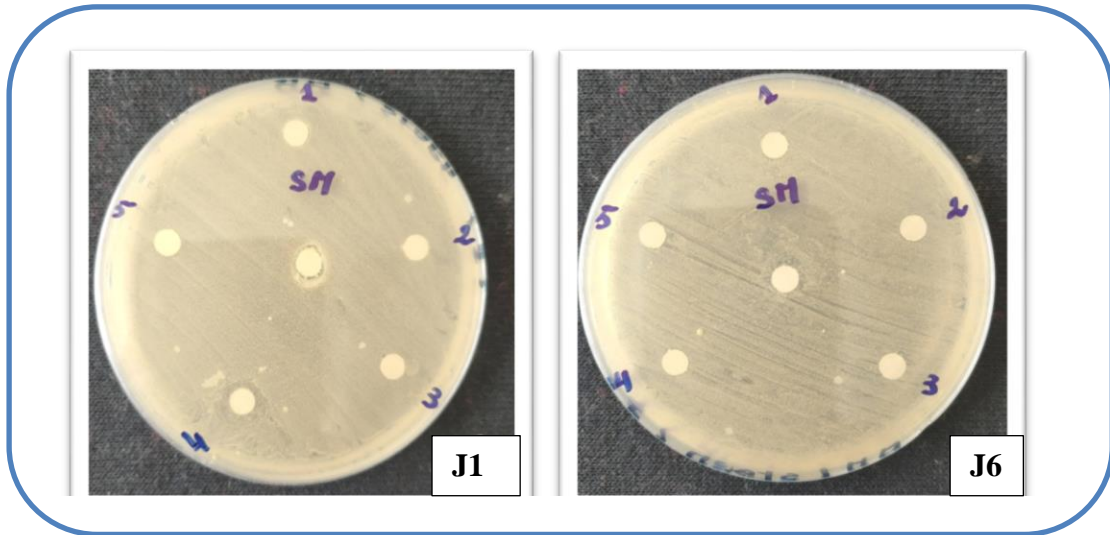


Figure 11 : activité antibactérienne du colostrum bovin vis-à-vis *Staphylococcus aureus* ATCC 5538

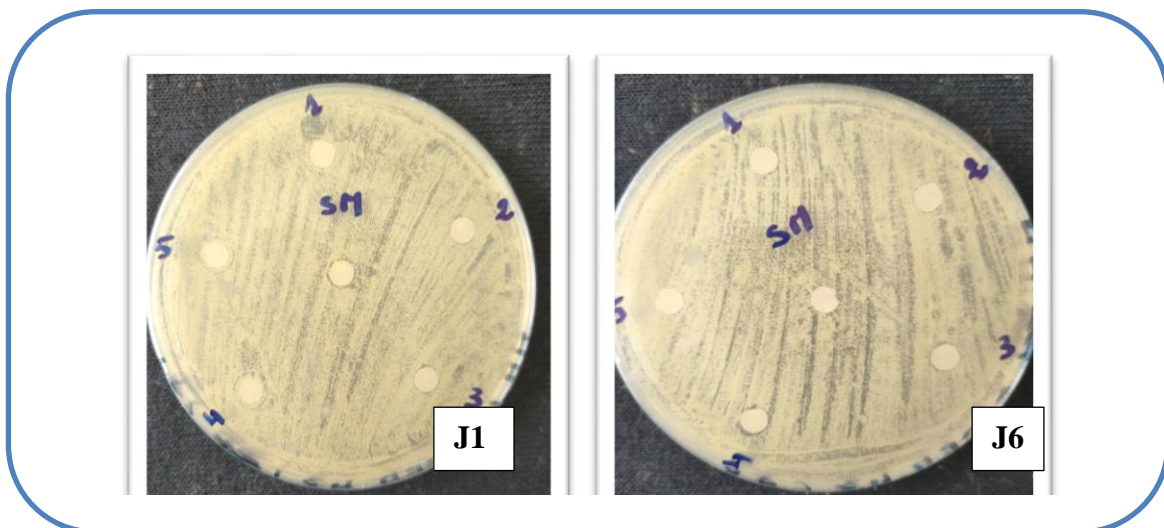


Figure 12 : activité antibactérienne du colostrum bovin vis-à-vis *Staphylococcus aureus* ATCC 43300

7. Etude de l'activité antibactérienne des bactéries lactiques isolées

Après purification sur les milieux MRS et M17 à 30°C et 45°C, les isolats ont été examinés au microscope puis testés pour leurs activités catalase. Les bactéries lactiques retenues pour ce test sont Gram+ et catalase-.

Les souches de bactéries lactiques isolées du colostrum bovin ont formé des zones d'inhibition claires mais avec des diamètres relativement faibles contre *Staphylococcus* ATCC

43300 (5 à 6 mm) (figure14). Des zones d'inhibition plus ou moins importantes sont enregistrés vis-à-vis *Staphylococcus aureus* ATCC 5538 (6 à 12 mm), notamment avec les souches B2 (12 mm) et B3 (9 mm) (figure13). En revanche, aucune activité antibactérienne n'est mise en évidence envers la souche *Escherichia coli* ATCC 8739 (figure 15).

Selon Bekhouche et Boulahrouf (2005), les bactéries lactiques assurent non seulement des caractéristiques particulières d'arômes et de texture mais aussi une bonne sécurité alimentaire. Cette sécurité est favorisée grâce à la production des acides organiques (acides lactiques et acétiques) qui font baisser le pH dans le milieu et par la synthèse de bactériocines qui renforce cette conservation.



Figure 13 : activité antimicrobienne des souches lactiques isolées vis-à-vis *Staphylococcus aureus* ATCC 5538..

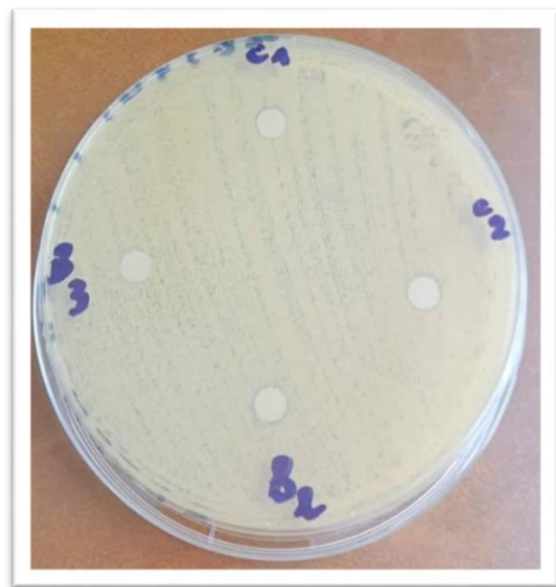
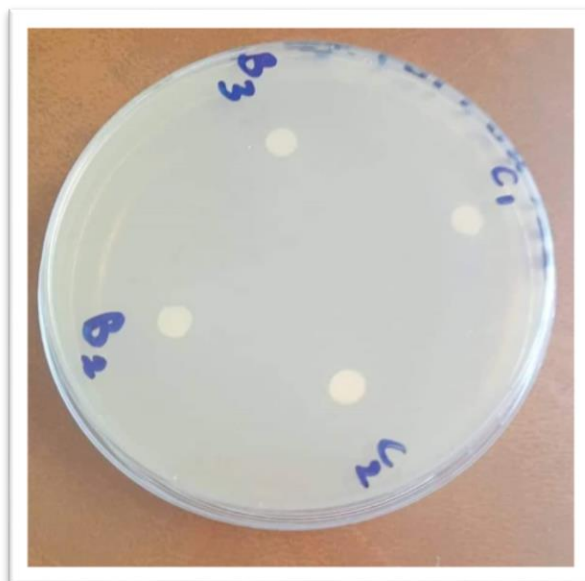


Figure 14 : activité antimicrobienne des souches lactiques isolées vis-à-vis *Staphylococcus aureus* ATCC 43300.



**Figure 15 : activité antimicrobienne des
souches lactiques isolées vis-à-vis
Escherichia coli ATCC 8739**



CONCLUSION

Le colostrum naturel, véritable produit de transition entre la vie fœtale et la vie post-natale. En plus de leur teneur élevée en éléments nutritionnels essentiels (protéines, vitamines et graisses), il permet au nouveau-né d'acquérir une résistance contre les infections néonatales. Ce système de protection naturel puissant a fait l'objet d'une grande attention de la part de l'homme car il est en adéquation avec ses exigences.

Le travail entrepris avait comme objectif d'étudier les caractéristiques physicochimiques et microbiologiques du colostrum bovin ainsi que de mettre en évidence sa capacité à produire des substances inhibitrices de bactéries pathogènes.

L'analyse physicochimique du colostrum bovin a révélé qu'il est légèrement acide (pH : 6,18-6,34 et acidité : 16- 27 D°). Le stockage du liba à température ambiante a entraîné une diminution du pH et une augmentation de l'acidité (pH = 4,84 ; acidité Dornic = 62 D°), ce qui est probablement associé à une forte fermentation lactique. Ce résultat a influencé les résultats du dénombrement microbien.

L'analyse microbiologique a montré une diversité microbienne entre le colostrum collecté au premier et au sixième jour. La charge bactérienne en FTAM était beaucoup plus élevée dans l'échantillon J6 par rapport à J1 mais qui reste dans les limites rapporté par le J.O.R.A (2017). La flore secondaire présentée par les levures et les moisissures a montré la même tendance. Les risques dus à une contamination fécale sont nuls, notés par l'absence des coliformes. L'absence de la flore pathogène a été confirmée par la recherche des *Staphylococcus*. Ces résultats sont liés au bon état sanitaire des vaches laitières (sans mammite) et aux précautions prises lors de la collecte des échantillons du CB, mais aussi à la présence de substances inhibitrices (bactériocines, immunoglobulines...) du développement microbien dans le colostrum frais.

La charge des bactéries lactiques était de $1,6.10^2$ UFC/ml, un taux relativement faible en comparaison au taux des bactéries lactiques présentent dans le lait cru.

Le nombre de la flore exogène ainsi que celui des bactéries lactique a augmenté après une période d'entreposage de 7 jours à température ambiante. Comme noté précédemment ce nombre a été influencé par les variations du pH et de l'acidité dornic. Un milieu plus acide favorise la croissance des levures et des bactéries lactiques.

Nous avons également étudié l'activité antibactérienne du colostrum et des bactéries lactiques isolées. Les résultats de cette expérience ont révélé que l'activité du liba contre les trois bactéries indicatrices testées diffère d'une souche à l'autre. Une activité antibactérienne

plus intense est notée avec le colostrum J1 frais collecté le premier jour de vêlage et contre la souche *Escherichia coli* ATCC 8739. Cette sensibilité vis-à-vis le colostrum J1 est associée à sa richesse en composants immunes. L'étude a également montré une activité inhibitrice des bactéries lactiques isolées contre le développement des *Staphylococcus aureus*. Toutefois, une activité nulle est enregistrée contre l'espèce pathogène *Escherichia coli*.

Certainement ce travail de recherche n'est pas complet et qui nécessite d'être approfondi par :

Etude comparable de l'activité antimicrobienne de colostrums bovins, caprins, et camélins.

Etude des aptitudes technologiques et du potentiel probiotique des bactéries lactiques isolées.

Recherche de la nature des substances inhibitrices élaborées.

- Abebe, E., Gugsu, G., & Ahmed, M. (2020). Review on major food-borne zoonotic bacterial pathogens. *Journal of tropical medicine*, 2020.
- Abu-Taraboush, HM, Al-Dagal, MM et Al-Royli, MA (1998). Croissance, viabilité et activité protéolytique des bifidobactéries dans le lait de chamelle entier. *Journal of DairyScience* , 81 (2), 354-361.
- AFNOR, E. (1986). Méthodes d'essai. Recueil des normes françaises, 64, 65. Alais. C 1975. Science du lait principal des techniques laitières, 3^{ème} édition, Paris maison rustique.
- Allemand, H. (2008). Évaluation par la technique d'immunodiffusion radiale de la qualité du colostrum et du transfert colostral chez les bovins (Doctoral dissertation).
- Amiot, J., Fournier, S., Lebeuf, Y., Paquin, P., & Simpson, R. (2002). Composition, propriétés physicochimiques, valeur nutritive, qualité technologique et techniques d'analyse du lait. *Science et technologie du lait*, 1-74.
- Ammor, S., Rachman, C., Chaillou, S., Prévost, H., Dousset, X., Zagorec, M., ... & Chevallier, I. (2005). Identification phénotypique et génotypique de bactéries lactiques isolées d'une petite structure de production de saucissons secs traditionnels. *Microbiologie alimentaire*, 22 (5), 373-382.
- Arslan, A., Kaplan, M., Duman, H., Bayraktar, A., Ertürk, M., Henrick, B. M., ...&Karav, S. (2021). Bovine colostrum and Its potential for human health and nutrition. *Frontiers in Nutrition*, 350.
- Bagwe, S., Tharappel, L. J., Kaur, G., &Buttar, H. S. (2015). Bovine colostrum: an emerging nutraceutical. *Journal of Complementary and Integrative Medicine*, 12(3), 175-185.
- Bedoud, H., Boufeninza, L., Bouziane, S., &Bouchebra, A. E. (2019). *Isolement de bactéries lactiques du «liba» et étude de leurs propriétés technologiques et antimicrobiennes* (Doctoral dissertation, Université de Jijel).
- Bekhouche, F., & Boulahrouf, A. (2005). ETUDES QUANTITATIVE ET QUALITATIVE DES BACTERIES LACTIQUES DE LAIT CRU PRODUITS PAR DES VACHES LOCALES APPARTENANT A SIX STATIONS D'ELEVAGE DE CONSTANTINE. *Sciences & Technologie. C, Biotechnologies*, 38-45.
- Belyagoubi, L. (2014). Antibiotiques produits par des bactéries (actinomycètes et bactéries lactiques) issus de différents écosystèmes naturels Algériens (Doctoral dissertation, thèse de doctorat. Université AboubakrBelkaïd-Tlemcen, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, des Sciences de la Terre et de l'Univers, 209p.
- BENSAADI, Z., & CHAHMI, F. (2019). *Qualité du colostrum de la brebis OuledDjellal et son effet sur les paramètres de croissance* (Doctoral dissertation, Université Mohamed BOUDIAF de M'Sila).

- Bernard, K. A., Munro, C., Wiebe, D., & Ongsansoy, E. (2002). Characteristics of rare or recently described Corynebacterium species recovered from human clinical material in Canada. *Journal of Clinical Microbiology*, 40(11), 4375-4381.
- Bocci, V., Von Bremen, K., Corradeschi, F., Luzzi, E., & Paulesu, L. (1991). What is the role of cytokines in human colostrum?. *Journal of biological regulators and homeostatic agents*, 5(4), 121-124.
- Bourgeois, C. M., & Leveau, J. Y. (Eds.). (1980). *Techniques d'analyse et de contrôle dans les industries agro-alimentaires*. Technique & documentation.
- Bourgeois, C. M., Larpent, J. P., & Accolas, J. (1996). *Microbiologie alimentaire: Tome 2, Aliments fermentés et fermentations alimentaires*. Collection Sciences et techniques agroalimentaires, Edition Lavoisier, Technique et Documentation, France.
- Bouzaid, M., Chatoui, R., Latrache, H., & Hasib, A. (2016). Activité antimicrobienne des souches de bactéries lactiques isolées de viande hachée de dromadaire et du lait cru de vache (Maroc). *Revue de Microbiologie industriel, sanitaire et environnemental*, 10(1), 1-12.
- BRAHIMI, S. (2015). *Isolement et Caractérisation Biotechnologiques des Bactéries Lactiques Isolées à Partir des Margines d'Olives «AMOREDJ» Fermentés*. Mémoire de Magister, Spécialité: Biodiversité des microorganismes, Université D'Oran, 1, 3-4.
- Buttar, H. S., Bagwe, S. M., Bhullar, S. K., & Kaur, G. (2017). Health benefits of bovine colostrum in children and adults. In *Dairy in human health and disease across the lifespan* (pp. 3-20). Academic Press.
- Caplice, E., & Fitzgerald, GF (1999). Fermentations alimentaires : rôle des micro-organismes dans la production et la conservation des aliments. *Journal international de microbiologie alimentaire*, 50 (1-2), 131-149.
- Castellano, P., Belfiore, C., Fadda, S., & Vignolo, G. (2008). A review of bacteriocinogenic lactic acid bacteria used as bioprotective cultures in fresh meat produced in Argentina. *Meat Science*, 79(3), 483-499.
- Claeys, WL, Cardoen, S., Daube, G., De Block, J., Dewettinck, K., Dierick, K., ...& Herman, L. (2013). Consommation de lait de vache cru ou chauffé : Bilan des risques et bénéfiques. *Contrôle alimentaire*, 31 (1), 251-262.
- Claeys, WL, Cardoen, S., Daube, G., De Block, J., Dewettinck, K., Dierick, K., ...& Herman, L. (2013). Consommation de lait de vache cru ou chauffé : Bilan des risques et bénéfiques. *Contrôle alimentaire*, 31 (1), 251-262.
- Collado, M. C., Hernandez, M., & Sanz, Y. (2005). Production of bacteriocin-like inhibitory compounds by human fecal Bifidobacterium strains. *Journal of food protection*, 68(5), 1034-1040.
- Corbaci C. F., B. Ucar and H. T. Yalcin. 2012. Isolation and characterization of yeasts associated with Turkish-style homemade dairy products and their potential as starter cultures. *Afr. J. Microbiol. Res.* 6: 534-542.

Corrieu, G., & Luquet, F. M. (2008). Bactéries lactiques. Tec et doc.

Courtois, P., Van Beers, D., De Foor, M., Mandelbaum, I. M., & Pourtois, M. (1990). Abolition of herpes simplex cytopathic effect after treatment with peroxidase generated hypothiocyanite. *Journal de biologie buccale*, 18(2), 71-74.

Czerniewicz, M., Kielczewska, K., & Kruk, A. (2006). Comparison of some physicochemical properties of milk from Holstein-Friesian and Jersey cows. *Polish journal of food and nutrition sciences*, 15(1), 61.

De la Cabada Bauche, J., & DuPont, HL (2011). Nouveaux développements dans la diarrhée du voyageur. *Gastro-entérologie et hépatologie*, 7 (2), 88.

Delarras, C. (2007). Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire.

Dellaglio, F., De Roissart, H., Torriani, S., Curk, M. C., & Janssens, D. (1994). Caractéristiques générales des bactéries lactiques. *Bactéries lactiques*, 1, 25-116.

Derakhshani, H., Plaizier, JC, De Buck, J., Barkema, HW et Khafipour, E. (2018). Composition du canal du trayon et du microbiote intramammaire des vaches laitières soumises à une thérapie antimicrobienne de vache tarie et à un scellement interne des trayons. *Journal des sciences laitières*, 101 (11), 10191-10205.

Dieng, M. O. H. A. M. A. D. O. U. (2001). Contribution à l'étude de la qualité microbiologique des laits caillés industriels commercialisés sur le marché dakarais. *Méd. Vét., Dakar*, (10), 91.

Dodd, F. H., & Booth, J. M. (2000). Mastitis and milk production. *The health of dairy cattle.*, 213-255.

Dong, W. L., Odah, K. A., Liu, L., Xu, Q. J., Gao, Y. H., Kong, L. C., & Ma, H. X. (2020). Multidrug resistance genes are associated with a 42-kb island TGI1 carrying a complex class 1 integron in *Trueperella pyogenes*. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 22, 1-4.

DONOVAN A, DOHOO I, MONTGOMERY DM, BENNETT FL (1998). Associations between passive immunity and morbidity and mortality in dairy heifers in Florida, USA. *Preventive Veterinary Medicine*, 34, 31-46.

Dortu, C., & Thonart, P. (2009). Les bactériocines des bactéries lactiques : caractéristiques et intérêts pour la bioconservation des produits alimentaires. *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*, 13 (1), 143-154.

Dribine, A., & Khellal, Y. (2018). Evaluation de l'activité antibactérienne de quelques souches de bactéries lactiques (Doctoral dissertation, Thèse de doctorat. Université de Bouira, 75p.

El-Ziney, M. G., Arneborg, N., Uyttendaele, M., Debevere, J., & Jakobsen, M. (1998). Characterization of growth and metabolite production of *Lactobacillus reuteri* during glucose/glycerol cofermentation in batch and continuous cultures. *Biotechnology Letters*, 20(10), 913-916.

- Farkye, N. Y., & Bansal, N. (2011). Enzymes indigenous to milk | other enzymes.
- Fasse, S., Alarinta, J., Frahm, B., & Wirtanen, G. (2021). Bovine Colostrum for Human Consumption—Improving Microbial Quality and Maintaining Bioactive Characteristics through Processing. *Dairy*, 2(4), 556-575.
- Fecteau, G., Baillargeon, P., Higgins, R., Paré, J., & Fortin, M. (2002). Bacterial contamination of colostrum fed to newborn calves in Québec dairy herds. *The Canadian Veterinary Journal*, 43(7), 523.
- Foley, JA, & Otterby, DE (1978). Disponibilité, stockage, traitement, composition et FREDOT E. 2005. Connaissance des aliments, bases alimentaires et nutritionnelles de la diététique. Paris: TEC & DOC, Lavoisier, p. 295-304. Centre de recherche et de développement sur les aliments, Saint-Hyacinthe.
- Frei, P., Biedermann, L., & Rogler, G. (2011, October). Maladie de Crohn et colite ulcéreuse—l'essentiel pour les non-gastro-entérologues. In *Forum Médical Suisse* (Vol. 11, No. 41, pp. 718-726). EMH Media.
- Fritsche, O. Mikrobiologie; Springer Spektrum: Wiesbaden, Germany, 2016.
- Galvez, A., Lopez, R. L., Abriouel, H., Valdivia, E., & Omar, N. B. (2008). Application of bacteriocins in the control of foodborne pathogenic and spoilage bacteria. *Critical reviews in biotechnology*, 28(2), 125-152.
- Gephart, S. M., Weller, M., & Gephart, S. (2014). Colostrum as oral immune therapy to promote neonatal health. *Advances in Neonatal Care*, 14(1), 44-51.
- German, J. B., Argov-Argaman, N., & Boyd, B. J. (2019). Milk lipids: A complex nutrient delivery system. In *Human Milk: Composition, Clinical Benefits and Future Opportunities* (Vol. 90, pp. 217-225). Karger Publishers.
- Gleeson, C., & Gray, N. (1997). L'indice de coliformes et les maladies d'origine hydrique. Problèmes d'évaluation microbienne de l'eau potable. *Contrôle européen de la pollution des eaux*, 2 (7), 92-93.
- Goodman, R. E., & Schanbacher, F. L. (1991). Bovine lactoferrin mRNA: sequence, analysis, and expression in the mammary gland. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 180(1), 75-84.
- GUIRAUD, J. (2003). Méthode d'analyse en microbiologie alimentaire. *Microbiologie alimentaire*. Edition: Dunod, Paris. 651p
- Guiraud, J. P. (1998). *Microbiologie Alimentaire. Technique et Ingénierie, Série Agro-alimentaire*. Eds. Dunod Paris, 652
- Guiraud, J. P., & Rosec, J. P. (2004). *Pratique des normes en microbiologie alimentaire*. Afnor.
- Guitoun, A., & Kina, K. (2013). Étude de la qualité microbiologique du colostrum camelin. *Mémoire de master académique en sciences biologiques non publié, Université KasdiMerbah, Ouargla*, 86p.

- Gyles, C. L., Prescott, J. F., Songer, J. G., & Thoen, C. O. (Eds.). (2008). Pathogenesis of bacterial infections in animals. John Wiley & Sons.
- Hasegawa, M., Iwabuchi, E., Yamamoto, S., Esaki, H., Kobayashi, K., Ito, M., & Hirai, K. (2013). Prevalence and characteristics of *Listeria monocytogenes* in bovine colostrum in Japan. *Journal of food protection*, 76(2), 248-255.
- Haug, A., Høstmark, A. T., & Harstad, O. M. (2007). Bovine milk in human nutrition—a review. *Lipids in health and disease*, 6(1), 1-16.
- Houser, B. A., Donaldson, S. C., Kehoe, S. I., Heinrichs, A. J., & Jayarao, B. M. (2008). A survey of bacteriological quality and the occurrence of *Salmonella* in raw bovine colostrum. *Foodborne pathogens and disease*, 5(6), 853-858.
- Hoy, CM, Wood, CM, Hawkey, PM et Puntis, JW (2000). Microflore duodénale chez les nouveau-nés de très faible poids de naissance et relation avec l'entérococolite nécrosante. *Tourillon de microbiologie clinique*, 38 (12), 4539-4547.
- Hsiao, CP et Siebert, KJ (1999). Modélisation des effets inhibiteurs des acides organiques sur les bactéries. *Journal international de microbiologie alimentaire*, 47 (3), 189-201.
- Hugenholz, J., & Kleerebezem, M. (1999). Ingénierie métabolique des bactéries lactiques : aperçu des approches et des résultats du reroutage des voies impliquées dans les fermentations alimentaires. *Opinion actuelle en biotechnologie*, 10 (5), 492-497.
- Idoui, T., Boudjerda, J., Leghouchi, E., & Karam, N. E. (2009). Lactic acid bacteria from "Sheep's Dhan", a traditional butter: Isolation, identification and major technological traits. *Grasas y aceites*, 60(2), 177-183.
- Jans, C., Meile, L., Kaindi, D. W. M., Kogi-Makau, W., Lamuka, P., Renault, P., ... & Bonfoh, B. (2017). African fermented dairy products—overview of predominant technologically important microorganisms focusing on African *Streptococcus infantarius* variants and potential future applications for enhanced food safety and security. *International Journal of Food Microbiology*, 250, 27-36.
- Joffin, J. N., & Leyral, G. (2006). Microbiologie Technique Tome 1” Dictionnaire des techniques”. *Bordeaux, France, centre régional de documentation d'Aquitaine*, 967-971.
- Kashket, ER (1987). Bioénergétique des bactéries lactiques : pH cytoplasmique et osmotolérance. *Revue de microbiologie FEMS*, 3 (3), 233-244.
- Khan, Z., Macdonald, C., Wicks, AC, Holt, MP, Floyd, D., Ghosh, S., ... & Playford, RJ (2002). Utilisation du "nutriceutique", colostrum bovin, pour le traitement de la colite distale : résultats d'une première étude. *Pharmacologie alimentaire & thérapeutique*, 16 (11), 1917-1922.
- Klaenhammer, T. R., Fremaux, C., & Hechard, Y. (1994). Activités antimicrobiennes des bactéries lactiques; in “Bactéries Lactiques I”, de Roissard et Luquet. Tech. Doc., Lavoisier, Paris.

Kobori, D., Rigobelo, E. C., Macedo, C., Marin, J. M., & Avila, F. A. (2004). Virulence properties of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolated from cases of bovine Mastitis in Brazil= Propiedades de virulencia de la *Escherichia coli* productora de toxina Shiga aislada de vacas de leche con mastitis en Brasil= Caractéristiques de la virulence d'*Escherichia coli*, productrice de la toxine type Shiga, isolée à partir de cas de mammite bovine au Brésil. *Revue d'Elevage et de Médecine Vétérinaire des pays Tropicaux*, 57(1-2).

Kolenda, R., Burdukiewicz, M., & Schierack, P. (2015). Une revue systématique et une méta-analyse de l'épidémiologie des *Escherichia coli* pathogènes des veaux et du rôle des veaux en tant que réservoirs d'*E. coli* pathogènes pour l'homme. *Frontières en microbiologie cellulaire et infectieuse*, 5, 23.),

Korhonen, H. (1977). Antimicrobial factors in bovine colostrum. *Agricultural and Food Science*, 49(5), 434-447.

Korhonen, H. J. (2011). Bioactive milk proteins, peptides and lipids and other functional components derived from milk and bovine colostrum. In *Functional foods* (pp. 471-511). Woodhead Publishing.

Korhonen, H. J. (2013). Production and properties of health-promoting proteins and peptides from bovine colostrum and milk. *Cellular and Molecular Biology*, 59(1), 12-24.

Kröger, C., Schauer, K., Clerkin, SR, Märklbauer, E. et Fleming, AB (2019). Projet de séquence du génome et d'annotation d'*Acinetobacter junii* MHI21018, isolé du colostrum bovin. *Annales de microbiologie*, 8 (10), e01700-18. *laitières*, 61 (8), 1033-1060.

Larpent, J. P. (1997). *Microbiologie alimentaire*.

Lazouni, I. (2015). Extraction et identification des AGE du lait. Mémoire Master en Chimie Bio-Organique & Thérapeutique non publié, Université Abou Bekr Belkaid – Tlemcen. 82p

Leahy, S. C., Higgins, D. G., Fitzgerald, G. F., & Van Sinderen, D. (2005). Getting better with bifidobacteria. *Journal of applied microbiology*, 98(6), 1303-1315.

Levieux, D. (1999). Le colostrum, un lait particulièrement riche en de nombreux composants: peut-on en déceler la présence dans les livraisons de lait de vache?. *Le lait*, 79(5), 465-488.

Lie, Ø., Solbu, H., & Syed, M. (1986). A genetic association between bovine serum and colostrum lysozyme levels. *Animal Genetics*, 17(1), 39-45.

Lima, SF, Teixeira, AG, Lima, FS, Ganda, EK, Higgins, CH, Oikonomou, G., & Bicalho, RC (2017). Le microbiome du colostrum bovin et son association avec la mammite clinique. *Journal des sciences laitières*, 100 (4), 3031-3042.

Leveau, J. Y., & Bouix, M. (1993). *Microbiologie industrielle: les micro-organismes d'intérêt industriel*.

- Lindner, J. D. D., Santarelli, M., Yamaguishi, C. T., Soccol, C. R., & Neviani, E. (2011). Recovery and identification of bovine colostrum microflora using traditional and molecular approaches. *Food Technology and Biotechnology*, 49(3), 364.
- Lister, J. (1873). Mémoires : une contribution supplémentaire à l'histoire naturelle des bactéries et à la théorie des germes des changements fermentatifs. *Journal of Cell Science*, 2 (52), 380-408.
- Maillard, R. (2006). Le transfert de l'immunité colostrale chez le veau. *Point Vét.*, 37, 110-114.
- Maunsell, F. P., Woolums, A. R., Francoz, D., Rosenbusch, R. F., Step, D. L., Wilson, D. J., & Janzen, E. D. (2011). *Mycoplasma bovis* infections in cattle. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 25(4), 772-783.
- McGrath, B. A., Fox, P. F., McSweeney, P. L., & Kelly, A. L. (2016). Composition and properties of bovine colostrum: a review. *Dairy Science & Technology*, 96(2), 133-158.
- Medjahdi, B., Ltreuch-Belarouci, A., & Prelli, R. (2013). Actualisation du catalogue des pteridophytes du Nord Ouest Algerien (region de Tlemcen). An update of the checklist of pteridophytes from Northwest Algeria (Tlemcen region). *Acta Botanica Malacitana*, 38, 33-39.
- Mehra, R., Garhwal, R., Sangwan, K., Guiné, R. P., Lemos, E. T., Buttar, H. S., ...& Kumar, H. (2022). Insights into the Research Trends on Bovine Colostrum: Beneficial Health Perspectives with Special Reference to Manufacturing of Functional Foods and Feed Supplements. *Nutrients*, 14(3), 659.
- MERMOURI, L. (2018). Étude de l'effet de souches probiotiques de bactéries Lactiques (*Lactobacillus* spp.), isolées de produits fermentés, sur la valeur nutritive de fourrages conservés par ensilage (Doctoral dissertation, Université Mohamed Boudiaf des Sciences et de la Technologie-Mohamed Boudiaf d'Oran).
- Meyer, C., & Denis, J. P. (1999). *Elevage de la vache laitière en zone tropicale*. Editions Quae.
- Mitra, AK, Mahalanabis, D., Ashraf, H., Unicomb, L., Eeckels, R., & Tzipori, S. (1995). Le colostrum de vache hyperimmun réduit la diarrhée due au rotavirus : un essai clinique contrôlé en double aveugle. *Acta pédiatrica*, 84 (9), 996-1001.
- Mlariglio, (1986). *Contrôle de la qualité des produits laitiers : analyses physiques et chimiques AFNOR, ITSV, 3ème éd, 1030 p.*
- Morrin, S. T., Lane, J. A., Marotta, M., Bode, L., Carrington, S. D., Irwin, J. A., & Hickey, R. M. (2019). Bovine colostrum-driven modulation of intestinal epithelial cells for increased commensal colonisation. *Applied microbiology and biotechnology*, 103(6), 2745-2758.
- Naeemi, Z., Koohsari, H., & Pordeli, H. (2019). Isolation of lactic acid bacteria with probiotic potential from bovine colostrum in livestock farms of Ramian Township in located in the north of Iran. *International Journal of Molecular and Clinical Microbiology*, 9(1), 1097-1107.

Nilim1., ben mohamed c1 et bouameur n1. (2013). PHYSICAL AND CHEMICAL CHARACTERIZATION OF CAMEL COLOSTRUM (*Camelus dromedarius*).Revue des bio ressources, 3(2), 7-7.

Nonnecke, BJ et Smith, KL (1984). Propriétés biochimiques et antibactériennes de la sécrétion mammaire bovine au cours de l'involution mammaire et à la parturition. *Journal of Dairy Science* , 67 (12), 2863-2872.

O'Callaghan, T. F., O'Donovan, M., Murphy, J. P., Sugrue, K., Mannion, D., McCarthy, W. P., ...& Tobin, J. T. (2020). Evolution of the bovine milk fatty acid profile–From colostrum to milk five days post parturition. *International Dairy Journal*, 104, 104655.

OMANE, K., & ZROUG, H. (2016). Etude comparative de l'activité antibacterienne du lait et du colostrum humains, camélins, bovins, ovins et caprins dans la wilaya d'El-oued.

Pakkanen, R., & Aalto, J. (1997).Growth factors and antimicrobial factors of bovine colostrum. *International Dairy Journal*, 7(5), 285-297.

Playford, R. J., Cattell, M., &Marchbank, T. (2020).Marked variability in bioactivity between commercially available bovine colostrum for human use; implications for clinical trials.*PLoS One*, 15(6), e0234719.

Rawal, P., Gupta, V., &Thapa, B. R. (2008).Role of colostrum in gastrointestinal infections. *The Indian Journal of Pediatrics*, 75(9), 917-921.

Rea, M. C., Ross, R. P., Cotter, P. D., & Hill, C. (2011). Classification of bacteriocins from Gram-positive bacteria. In *Prokaryotic antimicrobial peptides* (pp. 29-53).Springer, New York, NY.

Reiter &Perraudin, 1991).Reiter, B., &Perraudin, J. P. (1991).Lactoperoxidase: biological functions. *Peroxidases in chemistry and biology*, 1, 143-180.

REITER., 1978) Reiter, B. (1978). Antimicrobial systems in milk. *Journal of Dairy Research*, 45(1), 131-147.

Rona, Z. (1998). *The American Journal Of Natural Medicine*. *The American Journal Of Natural Medicine*, 5(2), 19-23.

Rump, J. A., Arndt, R., Arnold, A., Bendick, C., Dichtelmüller, H., Franke, M., ...& Stephan, W. (1992). Treatment of diarrhoea in human immunodeficiency virus-infected patients with immunoglobulins from bovine colostrum.*The clinicalinvestigator*, 70(7), 588-594.

Sename, O., Gaspar, P. et Bokor, J. (Eds.). (2013). *Approches de commande robuste et de variation de paramètres linéaires : application à la dynamique des véhicules* (Vol. 437). Springer.

Siqueiros-Cendón, T., Arévalo-Gallegos, S., Iglesias-Figueroa, B. F., García-Montoya, I. A., Salazar-Martínez, J., &Rascón-Cruz, Q. (2014). Immunomodulatory effects of lactoferrin. *ActaPharmacologicaSinica*, 35(5), 557-566.

- Stanislawski et al. 1989) Stanislawski, M., Rousseau, V., Goavec, M., & Ito, H. O. (1989). Immunotoxins containing glucose oxidase and lactoperoxidase with tumoricidal properties: in vitro killing effectiveness in a mouse plasmacytoma cell model. *Cancer research*, 49(20), 5497-5504.
- Stelwagen, K., Carpenter, E., Haigh, B., Hodgkinson, A., & Wheeler, T. T. (2009). Immune components of bovine colostrum and milk. *Journal of animal science*, 87(suppl_13), 3-9.
- Stewart, S., Godden, S., Bey, R., Rapnicki, P., Fetrow, J., Farnsworth, R., ...& Ferrouillet, C. (2005). Preventing bacterial contamination and proliferation during the harvest, storage, and feeding of fresh bovine colostrum. *Journal of Dairy Science*, 88(7), 2571-2578.
- Streeter, RN, Hoffsis, GF, Bech-Nielsen, S., Shulaw, WP et Rings, DM (1995). Isolement de *Mycobacterium paratuberculosis* du colostrum et du lait de vaches infectées de manière subclinique. *Journal américain de recherche vétérinaire*, 56 (10), 1322-1324.
- Sweeney, RW (1994, septembre). Transmission de la paratuberculose. Dans *American Association of Bovine Practitioners Actes de la conférence annuelle* (pp. 72-74).
- Taale, E., Savadogo, A., Zongo, C., Tapsoba, F., Karou, S. D., & Traore, A. S. (2016). Les peptides antimicrobiens d'origine microbienne: cas des bactériocines. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 10(1), 384-399.
- Tadesse, G., Ephraim E. et Ashenafi M. (2004). Assessment of the antimicrobial activity of Lactic acid bacteria isolated from Borde and Shamita, traditional Ethiopian fermented beverages, on some food borne pathogens and effect of growth medium on the inhibitory activity. *Int. J. Food Safety*, 5, 13-20.
- Tassew, H., Abdissa, A., Beyene, G., & Gebre-Selassie, S. (2010). Microbial flora and food borne pathogens on minced meat and their susceptibility to antimicrobial agents. *Ethiopian journal of health sciences*, 20(3). techniques". Bordeaux, France, centre régional de documentation d'Aquitaine, 967- 971
- Thompson, AM et Bizzarro, MJ (2008). Entérocolite nécrosante du nouveau-né. *Drogues*, 68 (9), 1227-1238.
- Tourette, I. (2002). Filières laitières en Afrique et points critiques pour la maîtrise des dangers sanitaires des laits et produits laitiers (Doctoral dissertation, UM2).
- Tung, Y. T., Chen, H. L., Yen, C. C., Lee, P. Y., Tsai, H. C., Lin, M. F., & Chen, C. M. (2013). Bovine lactoferrin inhibits lung cancer growth through suppression of both inflammation and expression of vascular endothelial growth factor. *Journal of dairy science*, 96(4), 2095-2106.
- Van de Perre, P. (2003). Transfert d'anticorps via le lait maternel. *Vaccine*, 21 (24), 3374-3376.
- Van Hooijdonk, AC, Kussendrager, KD et Steijns, JM (2000). Activité antimicrobienne et antivirale in vivo des composants du lait et du colostrum bovin impliqués dans la défense non spécifique. *Journal britannique de nutrition*, 84 (S1), 127-134.

VIERLING E. 2003. Chapitre X les corps gras. Dans: Aliments et boissons : Filières et produits, 3ème édition : Doin, p.191, 192

Vitola, H. R. S., da Silva Dannenberg, G., de Lima Marques, J., Lopes, G. V., da Silva, W. P., & Fiorentini, Â. M. (2018). Probiotic potential of *Lactobacillus casei* CSL3 isolated from bovine colostrum silage and its viability capacity immobilized in soybean. *Process Biochemistry*, 75, 22-30.

Vivarelli et al. [Vivarelli, S., Salemi, R., Candido, S., Falzone, L., Santagati, M., Stefani, S., ... & Libra, M. (2019). Gut microbiota and cancer: from pathogenesis to therapy. *Cancers*, 11(1), 38.

Vollenweider, S. (2004). 3-hydroxypropionaldehyde: applications and perspectives of biotechnological production. *Appl. Microbiol. Biotech.* 64, 16-27.

Wallace, T. D., Bradley, S., Buckley, N. D., & Green-Johnson, J. M. (2003). Interactions of lactic acid bacteria with human intestinal epithelial cells: effects on cytokine production. *Journal of Food Protection*, 66(3), 466-472.

Wittanalai, S., Tanruean, K., & Mapoong, P. (2019). Inhibition of coliform bacteria by lactic acid bacteria isolated from nhamhed (fermented mushroom). In *Applied Mechanics and Materials* (Vol. 886, pp. 56-60). Trans Tech Publications Ltd.

Wolfson, L. M., & Sumner, S. S. (1993). Antibacterial activity of the lactoperoxidase system: a review. *Journal of Food Protection*, 56(10), 887-892.

Yamauchi, K. J. I. I., Tomita, M., Giehl, T. J., & Ellison 3rd, R. T. (1993). Antibacterial activity of lactoferrin and a pepsin-derived lactoferrin peptide fragment. *Infection and immunity*, 61(2), 719-728.

Yateem, A. (2008). Isolation of lactic acid bacteria with probiotic potential from camel milk. Zadoks, R. N., Middleton, J. R., McDougall, S., Katholm, J., & Schukken, Y. H. (2011). Molecular epidemiology of mastitis pathogens of dairy cattle and comparative relevance to humans. *Journal of mammary gland biology and neoplasia*, 16(4), 357-372.

Zastempowska, E., & Lassa, H. (2012). Genotypic characterization and evaluation of an antibiotic resistance of *Trueperella pyogenes* (*Arcanobacterium pyogenes*) isolated from milk of dairy cows with clinical mastitis. *Veterinary Microbiology*, 161(1-2), 153-158.

Zeineb, J., Nadia, O., Isabelle, A., Touhami, K., Pascal, D., & Halima, E. H. (2015). Camel colostrum: Nutritional composition and improvement of the antimicrobial activity after enzymatic hydrolysis. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 384-389



Annexes

Annexes 1 : Composition des milieux de culture

Milieu Plate Count Agar (PCA) (JOFFIN et LEYRAL, 2006)

| | |
|-------------------------|---------|
| Tryptone | 5.0g |
| Extrait de levure | 2.5g |
| Glucose | 1.0g |
| Agar | 15.0g |
| Eau distillée | 1000 ml |

Milieu Man, Rogosa, Sharpe (MRS) (BOURGEOISE et LEVEAU, 1980)

| | |
|---|---------|
| Peptone | 10g |
| Extrait de viande | 8g |
| Extrait de levure | 4g |
| Acétate de sodium | 5g |
| Phosphate bi potassique | 2g |
| Citrate d'ammonium | 2g |
| Sulfate de magnésium, 7H ₂ O | 0.2g |
| Sulfate de manganèse, 4H ₂ O | 0.05g |
| Glucose | 20g |
| Tween 80 | 1ml |
| Agar | 10g |
| Eau distillée | 1000 ml |

pH=6.2

Stérilisation 15 minutes à 120° C

Milieu VRBG (gélose au cristal violet rouge neutre et à la bile et au glucose) selon (DIENG, 2001)

| | |
|--------------------------|---------|
| Peptone | 7g |
| Extrait de levure | 5g |
| Sels biliaires..... | 1,5g |
| Glucose | 10g |
| Chlorure de sodium | 5g |
| Agar | 11g |
| Rouge neutre | 0,03g |
| Cristal violet | 0,002g |
| Eau distillé | 1000 ml |

pH = 7.4

Milieu de Chapman (JOFFIN et LEYRAL, 2006)

| | |
|---------------------------------|---------|
| Peptone | 10.0g |
| Extrait de viande de bœuf | 1.0g |
| Chlorure de sodium | 75.0g |
| Mannitol | 10.0g |
| Rouge de phénol | 0.025g |
| Agar | 15g |
| Eau distillé | 1000 ml |

pH =7.4

GELOSE O.G.A. (Oxytetracycline-Glucose-Yeast Extract Agar)

Composition par litre

| | |
|-------------------------|-------|
| Extrait de levure | 5.0g |
| Glucose..... | 1.5g |
| Chlorure de sodium..... | 5g |
| Agar | 15.0g |

pH =7.0

stérilisation à 115C° pendant 1 minutes

La gélose M17

| | |
|---------------------------------|---------|
| Extrait de levure | 2.5g |
| Extrait de viande | 5g |
| Peptone de caséine..... | 10g |
| Peptone pepsique de viande..... | 2.5g |
| Peptone paraine de soja..... | 5g |
| Acide ascorbique | 0.5g |
| B-glycérophosphate | 19g |
| Lactose..... | 5g |
| Agar | 20g |
| Sulfate de magnésium | 0.25g |
| Eau distillée | 1000 ml |

pH =7.2

Autoclavage : 120 C° pendant 20 min

Gélose Mueller Hinton

Composition par litre

| | |
|-----------------------------------|-------|
| Extrait de viande..... | 3g |
| Hydrolysate acide de caséine..... | 17,5g |
| Amidon..... | 1,5g |
| Agar | 16g |

pH=7

Stérilisation à 121°C °C pendant 15 minutes

Annexe 2 : Mesure du pH (AFNOR, 1986)

1. Réactifs

Solution tampons d'étalonnage de pH-mètre.

2. Appareillage

PH-mètre

Bécher

3. Mode opératoire

Dans un bécher de 50 ml, on étalonne l'appareil avec la solution tampon d'étalonnage. Après standardisation du pH-mètre, on introduit l'échantillon à analyser dans un bécher de 50 mL bien lavée à l'eau distillée, aussi que l'électrode. Le résultat est donné après l'introduction l'électrode dans l'échantillon.

Annexe 3 : La préparation de l'état frais (JOFFIN et LEYRAL, 2006).

Déposer une goutte d'eau stérile sur la lame. Prenez une petite colonie sur la gélose, de préférence autour de son bord. Une suspension homogène s'est formée dans les gouttelettes d'eau en ajoutant progressivement l'inoculum. Vous pouvez également ajouter une petite goutte de milieu liquide et incuber jusqu'à 18 heures.

Couvrir avec une lamelle pour éviter de piéger les bulles d'air. Le liquide ne doit pas se renverser (sinon mettre la lame dans le désinfectant et recommencer).

Annexe 4 : Coloration de GRAM

Technique :

Recouvrir le frottis de violet cristal et laisser agir 1 minute ;

Verser du lugol et le laisser agir pendant 1 minute ;

Décolorer à l'alcool à 95°, entre 15 et 20 secondes, puis rincer à l'eau distillée.

Recolorer avec de la safranine pendant 20 à 30 secondes ; rincer à l'eau distillée ;

Sécher au-dessus de la flamme d'un bec Bunsen ;

Observer à l'objectif à immersion (Gx100)

Avec cette double coloration, les bactéries «GRAM positif» apparaissent en violet foncé tandis que les bactéries «GRAM négatif» sont colorées en rose.

Résumé

Cette étude a été menée pour évaluer la qualité physico-chimique et microbiologique ainsi qu'étudier l'activité antimicrobienne du colostrum bovin prélevé à différents temps après parturition (1^{er} jour, 6^{ème} jour).

Les analyses physicochimiques ont porté sur la mesure du pH et de l'acidité dornic. La qualité microbiologique a été évaluée en dénombrant la FTAM, les staphylocoques, les coliformes totaux, les levures et les moisissures. Les bactéries lactiques ont également été dénombrées et isolées. La capacité du colostrum bovin à inhiber la croissance bactérienne a été testée contre plusieurs espèces pathogènes : *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*.

Les résultats montrent que le colostrum bovin collecté au premier jour a un pH plus bas (6,18 contre 6,38) et une acidité dornic plus élevée (27°D contre 16°D) en comparaison avec le liba du jour 6.

L'évaluation de la flore aérobie mésophile et la flore fongique a pour but de suivre la qualité hygiénique du produit analysé. En effet, l'étude montre que le colostrum J1 est moins riche en flore indigène et contaminante que celui du J6. Une absence totale des coliformes totaux et des staphylocoques est notée pour tous les échantillons analysés, ce qui indique la bonne qualité microbiologique de ce produit. La conservation du colostrum à température ambiante augmente le taux de la flore fongique et la FTAM et enrichie fortement le liba en bactéries lactiques. Cela est dû à la diminution du pH et à l'augmentation de l'acidité titrable au cours de la conservation.

Le colostrum bovin J1 provoque une inhibition importante de la croissance des trois souches indicatrices testées. La dose minimale inhibitrice est obtenue avec la dilution 10^{-1} . En revanche, une activité antibactérienne négative est enregistrée avec le colostrum J6.

Huit souches pures de bactéries lactiques ont été isolés sur milieu MRS et M17. Parmi eux, quatre ont présentait les caractéristiques communes des bactéries lactiques et ont été testées pour leur activité antimicrobienne. Une activité antibactérienne estimée positive est satisfaisante contre les deux souches tests de *Staphylococcus aureus*. Toutefois, une activité négative est notée contre *E. coli*.

En conclusion, les résultats obtenus démontrent la bonne qualité hygiénique du colostrum bovin et affirme sa capacité à inhiber la flore pathogène. Le colostrum bovin constitue également une source prometteuse de bactéries lactiques qui peuvent avoir un potentiel probiotique non négligeable.

Mots clés : colostrum bovin, analyses physicochimiques et microbiologiques, activité antibactérienne, bactéries lactiques.

Abstract

This study was conducted to assess the physicochemical and microbiological quality as well as to study the antimicrobial activity of bovine colostrum collected at different times after parturition (1st day, 6th day).

The physicochemical analyzes focused on the measurement of pH and dornic acidity. Microbiological quality was assessed by counting FTAM, staphylococci, total coliforms, yeasts and molds. Lactic acid bacteria were also counted and isolated. The ability of bovine colostrum to inhibit bacterial growth has been tested against several pathogenic species: *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*.

The results show that bovine colostrum collected on day 1 has a lower pH (6.18 versus 6.38) and higher dornic acidity (27°D versus 16°D) compared to liba from day 6.

The evaluation of mesophilic aerobic flora and fungal flora aims to monitor the hygienic quality of the analyzed product. Indeed, the study shows that D1 colostrum is less rich in native and contaminating flora than that of D6. A total absence of total coliforms and staphylococci is noted for all analyzed samples, which indicates the good microbiological quality of this product. Storing colostrum at room temperature increases the rate of fungal flora and FTAM and greatly enriches the liba in lactic acid bacteria. This is due to the decrease in pH and the increase in titratable acidity during storage.

J1 bovine colostrum causes a significant inhibition of the growth of the three indicator strains tested. The minimum inhibitory dose is obtained with the 10⁻¹ dilution. On the other hand, a negative antibacterial activity is recorded with D6 colostrum.

Eight pure strains of lactic acid bacteria were isolated on MRS and M17 medium. Among them, four showed the common characteristics of lactic acid bacteria and were tested for their antimicrobial activity. An estimated positive antibacterial activity is satisfactory against the two strains of *Staphylococcus* used. However, a negative activity is noted against the *E. coli*.

In conclusion, the results obtained demonstrate the good hygienic quality of bovine colostrum and confirm its ability to inhibit pathogenic flora. Bovine colostrum is also a promising source of lactic acid bacteria which may have significant probiotic potential.

Keywords: bovine colostrum, physicochemical and microbiological analyses, antibacterial activity, lactic acid bacteria.

ملخص

أجريت هذه الدراسة لتقييم الجودة الفيزيوكيميائية والميكروبيولوجية وكذلك لدراسة النشاط المضاد للميكروبات لللبأ البقري الذي تم جمعه في أوقات مختلفة بعد الولادة (اليوم الأول ، اليوم السادس).

ركزت التحليلات الفيزيائية والكيميائية على قياس الأس الهيدروجيني والحموضة. تم تقييم الجودة الميكروبيولوجية من خلال عد FTAM ، المكورات العنقودية ، القولونيات الكلية ، الخمائر والفطريات. كما تم عد وعزل بكتيريا حمض اللبنيك. تم اختبار قدرة اللبأ البقري على تثبيط نمو البكتيريا ضد العديد من أنواع البكتيريا المسببة للأمراض *Staphylococcus aureus* و *Escherichia coli*.

أظهرت النتائج أن اللبأ البقري الذي تم جمعه في اليوم الأول يحتوي على درجة حموضة أقل (6.18 مقابل 6.38) وحموضة أعلى ($D^{\circ} 27$ مقابل $D^{\circ} 16$) مقارنة بلبأ اليوم 6.

يهدف تقييم البكتيريا الهوائية والفطريات إلى مراقبة الجودة الصحية للمنتج الذي تم تحليله. في الواقع، تُظهر الدراسة أن لبأ اليوم 1 أقل ثراءً بالبكتيريا الأصلية والملوثة من لبأ اليوم 6. لوحظ الغياب التام للبكتيريا القولونية والمكورات العنقودية في جميع العينات التي تم تحليلها ، مما يشير إلى الجودة الميكروبيولوجية الجيدة لهذا المنتج. أدى تخزين اللبأ في درجة حرارة الغرفة إلى زيادة معدل الفطريات و FTAM وأثري بشكل كبير بكتيريا حمض اللبنيك. ويرجع ذلك إلى انخفاض الرقم الهيدروجيني وزيادة الحموضة أثناء التخزين.

تسبب اللبأ البقري لليوم 1 في تثبيط كبير لنمو السلالات الثلاثة التي تم اختبارها. تم الحصول على الحد الأدنى من الجرعة المثبطة بالتخفيف 10^{-1} . من ناحية أخرى، تم تسجيل نشاط مضاد للجراثيم سلبي مع لبأ اليوم 6.

تم عزل ثمانية سلالات نقية من بكتيريا حمض اللبنيك، أربعة من بينها أظهرت الخصائص المشتركة لبكتيريا حمض اللبنيك وتم اختبار نشاطهم المضاد للميكروبات. تم تسجيل نشاط مضاد للبكتيريا إيجابي مرضٍ ضد سلالاتي *Staphylococcus aureus* المستخدمة. ومع ذلك، لوحظ وجود نشاط سلبي ضد سلالة *E. coli*.

في الختام، أظهرت النتائج المحصلة الجودة الصحية الجيدة لللبأ البقري وأكدت قدرته على تثبيط البكتيريا المسببة للأمراض. يعتبر اللبأ البقري أيضًا مصدرًا واعدًا لبكتيريا حمض اللبنيك التي قد يكون لها إمكانات بروبيوتيك كبيرة.

الكلمات المفتاحية: اللبأ البقري، التحاليل الفيزيوكيميائية والميكروبيولوجية ، النشاط المضاد للبكتيريا ، بكتيريا حمض اللبنيك.

Année universitaire : 2021-2022

Présenté par : BOULDJEDRI Khaoula
LAKROUM Roumeissa

Caractérisation microbiologique du colostrum bovin et évaluation de son activité antibactérienne *in vitro*.

Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Ecologie Microbienne

Résumé

Cette étude a été menée pour évaluer la qualité physico-chimique et microbiologique ainsi qu'étudier l'activité antimicrobienne du colostrum bovin prélevé à différents temps après parturition (1^{er} jour, 6^{ème} jour).

Les analyses physicochimiques ont porté sur la mesure du pH et de l'acidité dornic. La qualité microbiologique a été évaluée en dénombrant la FTAM, les staphylocoques, les coliformes totaux, les levures et les moisissures. Les bactéries lactiques ont également été dénombrées et isolées. La capacité du colostrum bovin à inhiber la croissance bactérienne a été testée contre plusieurs espèces pathogènes : *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*.

Les résultats montrent que le colostrum bovin collecté au premier jour a un pH plus bas (6,18 contre 6,38) et une acidité dornic plus élevée (27°D contre 16°D) en comparaison avec le liba du jour 6.

L'évaluation de la flore aérobie mésophile et la flore fongique a pour but de suivre la qualité hygiénique du produit analysé. En effet, l'étude montre que le colostrum J1 est moins riche en flore indigène et contaminante que celui du J6. Une absence totale des coliformes totaux et des staphylocoques est notée pour tous les échantillons analysés, ce qui indique la bonne qualité microbiologique de ce produit. La conservation du colostrum à température ambiante augmente le taux de la flore fongique et la FTAM et enrichie fortement le liba en bactéries lactiques. Cela est dû à la diminution du pH et à l'augmentation de l'acidité titrable au cours de la conservation.

Le colostrum bovin J1 provoque une inhibition importante de la croissance des trois souches indicatrices testées. La dose minimale inhibitrice est obtenue avec la dilution 10⁻¹. En revanche, une activité antibactérienne négative est enregistrée avec le colostrum J6.

Huit souches pures de bactéries lactiques ont été isolés sur milieu MRS et M17. Parmi eux, quatre ont présentait les caractéristiques communes des bactéries lactiques et ont été testées pour leur activité antimicrobienne. Une activité antibactérienne estimée positive est satisfaisante contre les deux souches tests de *Staphylococcus aureus*. Toutefois, une activité négative est notée contre *E. coli*.

En conclusion, les résultats obtenus démontrent la bonne qualité hygiénique du colostrum bovin et affirme sa capacité à inhiber la flore pathogène. Le colostrum bovin constitue également une source prometteuse de bactéries lactiques qui peuvent avoir un potentiel probiotique non négligeable.

Mots clés : colostrum bovin, analyses physicochimiques et microbiologiques, activité antibactérienne, bactéries lactiques.

Laboratoires de recherche : Laboratoire de Mycologie, de Biotechnologie et de l'Activité Microbienne (Université Frères Mentouri, Constantine 1).