



Université Constantine 1 Frères Mentouri  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة قسنطينة 1 الإخوة مtentouri  
كلية علوم الطبيعة والحياة

Département : Microbiologie

قسم : الميكروبولوجيا

**Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master**

**Domaine :** Sciences de la Nature et de la Vie

**Filière :** Sciences Biologiques

**Spécialité :** Microbiologie appliquée

N° d'ordre :

N° de série :

Intitulé :

---

**ISOLEMENT, CARACTÉRISATION ET IDENTIFICATION  
PHENOTYPIQUES DE BACTÉRIES LACTIQUES À PARTIR DE LAIT DE  
CHAMELLE**

---

Présenté par : FALEK Nousseiba Isra

Le :25/06/2025

HIRECHE Khadoudja Chahinaze

Jury d'évaluation :

**Présidente :** Dr. ABDELAZIZ W. (MCA - U Constantine 1 Frères Mentouri).

**Encadrant :** Pr. BOUDEMAGH A. (Professeur - U Constantine 1 Frères Mentouri).

**Examinateuse :** Dr. BOUFERCHA O. (MCB - U Constantine 1 Frères Mentouri).

**Année universitaire  
2024 - 2025**

À ma chère maman, **Bousbiat Sabah**,

Merci pour tout... Pour t'être levée tôt avec moi les matins d'examen, pour m'avoir aidée à tenir même quand je voulais abandonner. Tu as toujours été là, chaque jour, chaque nuit, avec ton amour, ton courage et ta tendresse. Ce travail, c'est aussi le tien. Que Dieu te protège, te donne une longue vie et tout le bonheur que ton cœur mérite.

À mon papa, **Hamza**,

Merci pour ton soutien constant tout au long de mon parcours. Tu as toujours su m'encourager, me motiver, et m'accompagner avec tes mots simples mais pleins de force, comme ton fameux « *Courage Émilie !* ». Ton aide, ta présence et ton amour m'ont donné la force d'avancer. Que Dieu te protège et t'accorde paix, santé et longue vie.

À ma grande sœur, **Aicha**,

Tu as toujours été un exemple pour moi. Depuis toute petite, je te regarde avec admiration. Merci pour ton soutien constant, ta présence rassurante et ton amour silencieux mais profond. Et merci à ton mari, **Mohamed**, pour son aide et sa gentillesse. Que Dieu vous protège et vous comble.

À mes frères, **Baha, Chiheb et Aymen**,

Merci d'avoir toujours été là, chacun à votre manière. Vos petites attentions, votre aide dans les détails, et vos regards discrets mais pleins de fierté m'ont beaucoup touchée. Que Dieu vous bénisse et vous accorde une vie remplie de paix et de réussite.

À mes belles-sœurs, **Imen, Rayene et Majda**,

Merci d'être devenues bien plus que des épouses de mes frères. Vous êtes aujourd'hui de vraies sœurs pour moi. Votre gentillesse, votre patience, et votre soutien m'ont apporté beaucoup de chaleur. Que Dieu vous récompense et vous comble de bonheur.

À **Djawad, Sirine, Taim, Yanis, Amine, Rym, Yasmine et Naïl**,

Les enfants de notre famille, vous êtes les petits soleils de nos vies. Merci pour vos sourires, vos câlins, vos blagues et votre lumière. Votre innocence et votre joie rendent tout plus doux. Que Dieu vous protège et vous fasse grandir dans l'amour, la santé et la paix.

À toutes mes amies et collègues, en particulier **Dalia, Meriem, Chahinaze, Khadoudja, Aya et Ramla**,

Merci pour votre présence, vos encouragements, vos rires et votre bienveillance tout au long de ce parcours. Votre soutien m'a profondément touchée.

**Noussa**

*Je dédie ce modeste travail à :*

*Mes très chers parents Karim et Bestandji Adra pour leur amour inconditionnel, leur patience,  
leurs sacrifices et leur soutien indéfectible tout le long de mon parcours.*

*Ma chère petite sœur Mouni Chahrazed, dont la tendresse et les encouragements m'ont apporté  
tant de réconfort.*

*La mémoire de mon grand-père maternel Bestandji Rachid Eldjoudi, qui demeure à jamais dans  
mon cœur et dont les valeurs continuent de m'inspirer.*

*Tous les membres de ma famille, pour leur présence bienveillante et leur affection précieuse.*

*Mes très chères amies : Amel, Aycha, Chourouk, Haoua, Nousseiba et Sophia, pour leur sincère  
amitié, leur écoute et leur soutien dans les moments de doute comme de joie.*

*Mes chers camarades de la promotion Microbiologie appliquée avec qui j'ai partagé cette belle  
aventure universitaire, les efforts, les rires et tant de souvenirs.*

*A tous ce que je porte dans mon cœur*

**Khadoudja Chahinaze**

Ce travail représente l'aboutissement d'une étape précieuse de notre parcours, tant sur le plan académique que personnel. Il n'aurait pu voir le jour sans l'accompagnement, les conseils, la bienveillance et le soutien de nombreuses personnes à qui nous tenons à exprimer notre plus profonde gratitude.

Nous exprimons tout d'abord nos remerciements les plus sincères à notre honorable encadrant **Pr. Boudemagh Allaoueddine**, pour son encadrement généreux, sa disponibilité, sa rigueur scientifique et ses précieux conseils. Nous avons énormément appris à ses côtés, notamment dans le domaine de la microbiologie alimentaire et des bactéries lactiques. Grâce à lui, nous avons acquis un véritable esprit de recherche, appris à développer nos idées, à questionner nos résultats et à élargir notre regard scientifique. Son accompagnement nous a non seulement guidées, mais aussi inspirées tout au long de notre travail.

Nos sincères remerciements vont également à **Pr. Yacine Benhizia**, pour son accueil dans son laboratoire, son expertise et ses remarques pertinentes qui ont grandement enrichi notre travail.

Nous tenons à remercier chaleureusement **Dr. Boufercha Oumeima**, pour sa bienveillance, son soutien constant, sa grande patience à notre égard ainsi que pour avoir accepté de juger notre travail en tant que membre du jury.

Nous remercions également **Madame Abdelaziz Ouided**, Cheffe du Département de Microbiologie, pour son soutien, son aide et pour avoir accepté de juger notre travail.

Nos remerciements vont aussi à **Madame Benlahrache Nour El Houda**, ingénierie de laboratoire, pour sa précieuse aide et ses remarques pertinentes lors de nos manipulations.

Nous remercions vivement **Pr. Djekoun Abdelhamid**, Directeur du Centre de Recherche en Sciences Pharmaceutiques (CRSP), pour nous avoir accueillies au sein de son centre et pour les moyens mis à notre disposition dans d'excellentes conditions.

Nous exprimons toute notre reconnaissance à **M. Djamel-Eddine Mekhancha**, dont l'attention particulière nous a permis de bénéficier de cette précieuse opportunité de stage.

Nos remerciements vont également à **M. Abdellatif Gueddou**, responsable du laboratoire de biologie moléculaire du CRSP, pour sa précieuse assistance, sa patience et son professionnalisme tout au long de notre stage.

Nous exprimons également notre gratitude à **Mme Betchine Kaouther Rayane**, ingénierie microbiologiste support à la recherche, pour sa gentillesse, son écoute et son aide bienveillante.

Nous adressons nos remerciements les plus sincères à tous les membres du laboratoire de biologie moléculaire pour leur accueil chaleureux, leur assistance et leur esprit collaboratif

: **Mme Mesbah El Kahina Akila, Mme Boutemedjet Imène, Mme Kerrour Nihed, Mme Kourteli Racha, Mme Halimi Imen, M. Kabouche Alaa Eddine, M. Guellout Walid, M. Abdelhafedh Ben Dahmane.**

Nos remerciements s'adressent également à **Pr. Khelifi Douadi**, Directeur de l'École Nationale Supérieure de Biotechnologie, pour nous avoir accueillies au sein de son établissement, ainsi qu'à **Madame Sakhri** pour sa gentillesse et son soutien, et à **M. Antaar**, ingénieur, pour ses conseils éclairés et son amabilité.

Un merci tout particulier à **Sadallah Ramla**, pour sa générosité et son aide précieuse dans l'obtention de l'échantillon de lait de chameau, collecté depuis la wilaya de Oued Souf. Ton geste a marqué le début de cette aventure scientifique

Enfin, nous tenons à exprimer notre gratitude à tous les professeurs ainsi qu'aux personnels administratifs et techniques de l'Université Frère Mentouri Constantine 1.

En particulier, nous remercions **Monsieur Brahim** pour son aide précieuse et constante, ainsi que **Madame Mouna** et **Madame Soumia** pour leur aide et leur gentillesse.

À toutes ces personnes, nous exprimons notre profonde reconnaissance pour avoir contribué, chacune à sa manière, à la réussite de ce travail.

# Table des matières

## Résumé

الملخص

## Abstract

## Liste des abréviations

## Liste des figures

## Liste des tableaux

introduction.....	1
-------------------	---

## Revue bibliographique

<b>1- Les probiotiques .....</b>	<b>3</b>
1.1. Définition et historique.....	3
1.2. Exemples de souches couramment utilisées comme probiotiques .....	4
1.2.1. Les lactobacilles ( <i>Lactobacillus</i> ).....	4
1.2.2. Les Bifidobactéries ( <i>Bifidobacterium</i> ) .....	5
1.3. Critères de sélection des probiotiques .....	6
1.4. Rôle des probiotiques dans l'organisme.....	7
1.4.1. Régulation du microbiote intestinal.....	7
1.4.2. Dysbiose et pathologies gastro-intestinales.....	8
1.4.3. Diarrhées associées aux antibiotiques .....	8
1.4.4. Diarrhées infectieuses.....	9
1.4.5. Syndrome de l'intestin irritable (IBS) .....	9
1.4.6. Maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI) .....	9
1.4.7. Intolérance au lactose .....	9
1.4.8. Autres effets gastro-intestinaux .....	9
1.4.9. Effet sur l'amélioration de la digestion du lactose .....	10
1.4.10. Autres effets directes sur les enzymes.....	11

1.4.11. Raccourcissement et prévention des gastro-entérites .....	11
1.4.12. Effet des infections intestinales spécifiques et celle de la diarrhée du voyageur .....	13
1.4.13. Effets immunomodulateurs et prévention des maladies chroniques .....	15
1.4.14. Liens avec la santé mentale (axe intestin-cerveau) .....	17
<b>2- Les probiotiques du lait de chameau comme nouvelle source.....</b>	<b>18</b>
<b>3- Les Prébiotiques .....</b>	<b>21</b>
3.1. Effets et principaux rôles.....	22
3.2. Exemples des prébiotiques .....	24
3.2.1. L'inuline .....	24
3.2.2. Les fructo oligo saccharides (FOS) .....	24
<b>Matériel et méthodes</b>	
<b>1. Isolement des bactéries lactiques .....</b>	<b>26</b>
1.2. Échantillonnage .....	26
1.3. Isolement de <i>Bacillus subtilis</i> .....	26
1.4. Isolement des souches anaérobies .....	26
1.4.1. Enrichissement du milieu MRS.....	26
1.4.2. Ensemencement et incubation .....	27
1.4.3. Préparation de la jarre d'anaérobiose .....	27
<b>2. Purification.....</b>	<b>27</b>
<b>3. Conservation .....</b>	<b>27</b>
3.1. Conservation de courte durée .....	27
3.2. Conservation de longue durée .....	28
<b>4. Identification des bactéries lactiques .....</b>	<b>28</b>
4.1. Caractérisation morphologique .....	28
4.1.1. Aspect morphologique (caractères culturaux).....	28
4.1.2. Aspect microscopique .....	28

4.2. Caractérisation biochimique .....	28
4.2.1. Test de la catalase .....	28
4.2.2. Test de fermentation du mannitol et de la mobilité .....	29
4.2.3. Hydrolyse de l'amidon .....	29
4.2.4. Hydrolyse de la caséine .....	29
4.2.5. Hydrolyse de la pectine .....	29
4.2.6. Activité estérasique .....	30
4.2.7. Recherche de la lécithinase .....	30
4.2.8. Fermentation du lactose, du glucose, du saccharose, et la production du sulfure d'hydrogène.....	30
4.2.9. Galerie API 20 <sup>E</sup> .....	30
4.3. Caractérisation physiologique .....	31
4.3.1. Tolérance au NaCl.....	31
4.3.2. Détermination du type respiratoire .....	31
4.3.3. Test de l'activité hémolytique .....	31

### **Résultats et discussion**

<b>1. Caractérisation morphologique, biochimique et physiologique des isolats .....</b>	<b>32</b>
1.1. Caractérisation morphologique des isolats .....	32
1.1.1. Observation macroscopique et caractères culturaux .....	32
1.1.2. Observation microscopique .....	33
1.2. Caractérisation biochimique et physiologique des isolats.....	34
<b>Discussion générale.....</b>	<b>37</b>
<b>Conclusion et Perspectives.....</b>	<b>43</b>
<b>References bibliographiques.....</b>	<b>45</b>
<b>Annexes</b>	

## Résumé

Ce mémoire vise à explorer le potentiel probiotique des bactéries lactiques issues du lait de chameau. Cette étude contribue à la valorisation des ressources laitières locales et à la recherche d'alternatives naturelles comme source de souches probiotiques originales. Ce travail porte sur l'isolement et la caractérisation des bactéries lactiques provenant du lait de chameau ainsi que l'évaluation de leurs potentiel probiotique. Le lait de chameau représente une source de souches de bactéries lactiques présentant des caractéristiques probiotiques. Les méthodes suivies sont l'isolement, la purification, la conservation, la caractérisation biochimique, l'évaluation du type respiratoire, et la recherche d'activités enzymatiques. Les résultats ont permis d'identifier cinq isolats aux morphologies variées. Trois isolats notés (FH3), (FH36), et (FHB) sont en forme de cocci, et deux isolats (BS1) et (FH1), sont de forme bacillaire et présentent des spores. Tous les isolats sont positifs à la catalase avec une diversité des types respiratoires et une fermentation différenciée des sucres. Aucune activité pectinolytique ni lécithinasique ni esterasique n'a été démontrée. Un isolat (BS1) a présenté une hémolyse  $\alpha$  tandis que les quatre autres isolats ont présenté une hémolyse  $\gamma$ . Deux isolats (FH1) et (BS1) sont capables de fermenter le mannitol. Tous les isolats sont capables de croître en présence de NaCl à 2% et à 9%, et quatre d'entre eux ont pu croître en présence de NaCl à 15% sauf l'isolat (BS1). Ces résultats mettent en lumière l'importance d'améliorer la valorisation du lait de chameau en Algérie, non seulement pour sa teneur en nutriments, mais aussi en raison de son potentiel en tant que source naturelle de probiotiques. L'exploitation de cette ressource pourrait ouvrir de nouvelles opportunités dans le domaine de la santé humaine et de l'agroalimentaire local.

**Mots clés :** Lait de chameau, probiotique, bactérie lactique, isolement, identification, caractérisation biochimique.

## الملخص

يهدف هذا البحث إلى استكشاف الإمكانيات البروبيوتيكية للبكتيريا اللبنية المستخلصة من حليب الإبل. تساهم هذه الدراسة في تثمين الموارد المحلية من الألبان وفي البحث عن بدائل طبيعية كمصدر لسلالات بروبيوتيك أصلية. يركز هذا العمل على عزل وتصنيف البكتيريا اللبنية المستخرجة من حليب الإبل، وكذلك تقييم إمكانياتها البروبيوتيكية. يُعد حليب الإبل مصدراً لسلالات بكتيرية لبنية تتمتع بخصائص بروبيوتيكية. تشمل المنهجية المتبعة: العزل، والتقطية، والحفظ، والتصنيف البيوكيميائي، وتقييم النمط التتفسي، والبحث عن الأنشطة الإنزيمية. سمحت النتائج بالتعرف على خمسة عزلات ذات مورفولوجيا مختلفة. ثلث عزلات (FH3)، (FH36) لها شكل مكورات، وأثنان (FH1) و(BS1) على شكل عصيات، مع ملاحظة وجود أبواغ لدى العزلتين (BS1) و(FH1). جميع العزلات أظهرت نتيجة إيجابية لاختبار الكاتالاز، مع تنوع في الأنماط التتفسية وتخمر مختلف للسكريات. لم يتم الكشف عن أي نشاط بكتينوليت أو ليسينيلاز أو إستيراز. أظهرت عزلة واحدة (BS1) انحلال دم من النوع ألفا، بينما أظهرت الأربع الأخرى انحلال دم من النوع غاما. اثنان من العزلات (FH1) و(BS1) قادرتان على تخمير المانيتول. جميع العزلات قادرة على النمو في وجود كلوريد الصوديوم بنسبة ٢٪ و٩٪، وأربع منها نمت في تركيز ١٥٪ من كلوريد الصوديوم ما عدا العزلة (BS1). تسلط هذه النتائج الضوء على أهمية تحسين استغلال حليب الإبل في الجزائر، ليس فقط بسبب قيمته الغذائية، ولكن أيضاً نظراً لإمكاناته كمصدر طبيعي للبروبيوتيك. وقد يفتح استغلال هذه الموارد آفاقاً جديدة في مجال الصحة البشرية والصناعات الغذائية المحلية.

**الكلمات المفتاحية:** حليب الإبل، بروبيوتيك، بكتيريا لبنية، العزل، التعرف، التصنيف البيوكيميائي.

## **Abstract**

This thesis aims to explore the probiotic potential of lactic acid bacteria derived from camel milk. This study contributes to the enhancement of local dairy resources and the search for natural alternatives as sources of original probiotic strains. This work focuses on the isolation and characterization of lactic acid bacteria from camel milk, as well as the evaluation of their probiotic potential. Camel milk represents a source of lactic acid bacteria strains with probiotic properties. The methods used include isolation, purification, preservation, biochemical characterization, respiratory type evaluation, and the investigation of enzymatic activities. The results identified five isolates with varied morphologies. Three isolates labeled (FH3), (FH36), and (FHB) are coccoid-shaped, and two isolates (FH1) and (BS1) are bacilli-shaped, with the (FH1) and (BS1) isolates presenting spores. All isolates tested positive for catalase, with diversity in respiratory types and differential sugar fermentation. No pectinolytic, lecithinase, or esterase activity was detected. One isolate (BS1) exhibited  $\alpha$ -hemolysis, while the other four showed  $\gamma$ -hemolysis. Two isolates (FH1) and (BS1) were able to ferment mannitol. All isolates were able to grow in the presence of 2% and 9% NaCl, and four of them could grow in 15% NaCl except for the (BS1) isolate. These results highlight the importance of improving the valorization of camel milk in Algeria, not only for its nutritional content but also for its potential as a natural source of probiotics. The exploitation of this resource could open new opportunities in the fields of human health and local agri-food development.

**Keywords :** Camel milk, probiotic, lactic acid bacteria, isolation, identification, biochemical characterization.

---

---

<b>ADH :</b>	Arginine dihydrolase
<b>AMY :</b>	Amygdaline
<b>ARA :</b>	Arabinose
<b>BAL :</b>	Bactéries à Acide Lactique
<b>CIT :</b>	Citrate
<b>EPS :</b>	Exopolysaccharide
<b>FOS :</b>	Fructooligosaccharides
<b>FOS :</b>	Fructooligosaccharide
<b>GEL :</b>	Gélatinase
<b>Gélose MRS :</b>	Gélose deMan, Rogosa et Sharpe
<b>Gélose MRS-IM :</b>	Gélose deMan, Rogosa, Sharpe, Inuline, Mannitol
<b>GLU :</b>	Glucose
<b>H<sub>2</sub>S :</b>	Sulfure d'hydrogène
<b>IND :</b>	Indole
<b>INO :</b>	Inositol
<b>ISAPP :</b>	International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics
<b>LDC :</b>	Lysine decarboxylase
<b>MAN :</b>	Mannitol
<b>MEL :</b>	Mélibiose
<b>Milieu BS :</b>	Milieu sélectif pour l'isolement de <i>Bacillus subtilis</i>
<b>NaCl :</b>	Chlorure de sodium
<b>ODC :</b>	Ornithine decarboxylase
<b>ONPG :</b>	Ortho-Nitrophényl-β-D-galactopyranoside
<b>RHA :</b>	Rhamnose
<b>SAC :</b>	Saccharose
<b>SOR :</b>	Sorbitol
<b>TDA :</b>	Tryptophane désaminase
<b>TSI :</b>	Triple Sugar Iron
<b>URE :</b>	Uréase
<b>v/v :</b>	Volume par volume
<b>VF :</b>	Gélose Viande-Foie
<b>VP :</b>	Voges-Proskauer

<b>Figure 1 :</b> <i>Lactobacillus bulgaricus</i> au microscope électronique .....	5
<b>Figure 2 :</b> Observation en microscopie électronique de <i>Bifidobacterium</i> sp. ....	5
<b>Figure 3 :</b> Jarre anaérobie préparée pour l'incubation .....	27
<b>Figure 4 :</b> Aspect macroscopique des isolats .....	32
<b>Tableau 1 :</b> Critères pour qualifier un microorganisme de probiotique.....	6
<b>Tableau 2 :</b> Résultats de l'observation macroscopique.....	32
<b>Tableau 3 :</b> Résultats de l'observation microscopique des isolats bactériens.....	33
<b>Tableau 4 :</b> Résultats des tests biochimiques et physiologiques des isolats bactériens. ....	34
<b>Tableau 5 :</b> Profil biochimique des isolats selon la galerie API 20E. ....	36

# **INTRODUCTION**

À l'heure où les probiotiques attirent de plus en plus l'attention dans les secteurs de la santé et de la nutrition, le lait de chamelle est une source encore peu répandue de bactéries lactiques qui pourraient avoir des propriétés bénéfiques.

Le lait de chamelle est un élément essentiel de l'alimentation de base dans de nombreuses régions du monde, en particulier dans les zones arides et semi-arides. Riche en substances bénéfiques pour la santé, telles que les peptides bioactifs, la lactoferrine, le zinc et les acides gras mono et polyinsaturés, ce qui pourraient contribuer au traitement de maladies humaines importantes comme la tuberculose, l'asthme, les maladies gastro-intestinales et la jaunisse. Le lait de chamelle a une composition plus variable que le lait de vache (Swelum *et al.*, 2021). Il est riche en vitamines, notamment B1, B2 et C (Ereifej *et al.*, 2011). La vitamine C est trois à cinq fois plus élevée que celle présente dans le lait de vache, ce qui en fait un nutriment essentiel dans les zones arides où les aliments verts ne sont pas facilement disponibles (Kamal et Karoui, 2017).

Le lait de chamelle est connu pour ses propriétés antioxydantes, antimicrobiennes, son activité contre l'enzyme de conversion de l'angiotensine I (ECA) et son activité antidiabétique et anticholestérol (Swelum *et al.*, 2021).

Les bactéries lactiques (BAL) sont largement répandues dans la nature et se présentent généralement sous forme de microflore indigène dans le lait cru, jouant un rôle crucial dans de nombreuses fermentations alimentaires et animales. Les bactéries lactiques, un groupe de bactéries Gram positif non sporulées, sont responsables de la production d'acide lactique, qui est le principal produit de la fermentation des glucides (Singh *et al.*, 2009). Les souches des genres *Lactobacillus* (Dahroud *et al.*, 2016), *Enterococcus* (Ogier *et al.*, 2008) et *Bifidobacterium* (Yateem *et al.*, 2008) sont les bactéries probiotiques les plus étudiées et les plus utilisées. Les probiotiques sont des micro-organismes vivants qui, lorsqu'ils sont administrés en quantité adéquate, apportent un bénéfice à la santé de l'hôte (Hill *et al.*, 2014).

De nos jours, il existe un besoin croissant de nouvelles souches de bactéries lactiques à potentiel probiotique et ayant un impact sur le bien-être ainsi que sur la santé humaine et animale.

Il est possible d'obtenir ces bactéries lactiques en explorant différentes niches écologiques naturelles qui sont encore inexploitées (Edalati *et al.*, 2018).

Ce mémoire s'intéresse à l'isolement et à la caractérisation phénotypique des bactéries lactiques présentes dans le lait de chamelle, une source qui est encore peu explorée. Ce lait

connu par sa richesse en nutriments pourrait être une réserve des souches probiotiques aux propriétés originales, bénéfiques pour la santé humaine. Le but est de mettre en valeur cette ressource naturelle et de contribuer à la recherche de nouveaux probiotiques pour des applications en agroalimentaire et en santé.

Dans ce contexte une question cruciale se pose et oriente notre démarche scientifique : Est-ce que le lait de chamelle peut être utilisé comme source de bactéries lactiques qui ont des aptitudes métaboliques et moléculaires compatibles avec un potentiel probiotique ?

Ce mémoire suit une approche scientifique en deux étapes principales : l'isolement de bactéries lactiques à partir du lait de chamelle, suivi de leur caractérisation phénotypique (tests morphologiques et biochimiques) et l'évaluation de leur potentiel probiotique. L'ensemble débute par un cadre théorique et se conclut par une discussion sur les résultats et les perspectives.

**REVUE**

**BIBLIOGRAPHIQUE**

## **1- Les probiotiques**

### **1.1. Définition et historique**

Le mot probiotique est assez nouveau et se traduit littéralement par « pour la vie ». Il est aujourd’hui utilisé pour désigner les microorganismes ayant des effets bénéfiques pour la santé humaine et animale. L’observation initiale du rôle positif de certaines bactéries remonte aux travaux d’Elie Metchnikoff, un chercheur d’origine russe et lauréat du prix Nobel, qui travaillait à l’Institut Pasteur au début du XX<sup>e</sup> siècle. Il a suggéré que "la dépendance des microbes intestinaux à l’alimentation permet d’adopter des mesures pour modifier la flore de notre corps et remplacer les microbes nuisibles par des microbes utiles" (Metchnikoff, 1907).

En même période, le pédiatre français Henry Tissier a remarqué que les enfants atteints de diarrhée avaient une faible présence de bactéries spécifiques à la morphologie en Y. À l’opposé, ces bactéries étaient en grande quantité chez les enfants en bonne santé. Il a donc proposé que leur apport contribuerait à rétablir un équilibre intestinal sain chez les patients souffrant de problèmes digestifs (Tissier, 1906).

Les premières études scientifiques sur les avantages des bactéries ont été réalisées par Metchnikoff et Tissier, bien que le terme probiotique n’ait été introduit qu’en 1965 par Lilly et Stillwell. Initialement, ce terme faisait référence à des substances générées par des microorganismes et qui stimulent la croissance d’autres microorganismes (Lilly et Stillwell, 1965). Pour mettre en évidence la nature microbienne des probiotiques, Fuller (1989) a redéfini le terme en les présentant comme « un complément alimentaire vivant d’origine microbienne qui a un impact positif sur l’hôte en favorisant son équilibre intestinal ». Havenaar et Huis in’t Veld (1992) ont également avancé une définition comparable, considérant les probiotiques comme « une culture bactérienne vivante, qu’elle soit mono ou mixte, qui, administrée à un animal ou à un être humain, a un impact positif en améliorant les caractéristiques de la flore indigène ».

Au cours du temps, la définition des probiotiques a été constamment réexaminée et perfectionnée. Selon Guarner et Schaafsma (1998), les probiotiques sont « des microorganismes vivants qui, lorsqu’ils sont ingérés en quantités appropriées, apportent un avantage à l’hôte », une définition plus succincte. En 2001, l’Organisation des Nations Unies pour l’Alimentation et l’Agriculture (FAO) ainsi que l’Organisation Mondiale de la Santé (OMS) ont adopté et officialisé cette définition. Elles ont spécifié que « les probiotiques sont des bactéries vivantes

qui, lorsqu'elles sont consommées régulièrement et en quantité appropriée, peuvent avoir un impact positif sur la santé ». Cette définition souligne l'importance d'une dose adéquate pour obtenir les effets désirés (FAO et OMS, 2001).

En 2014, l'International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) a modifié cette définition en soulignant la différence entre les microorganismes vivants employés comme aides technologiques ou sources de composants bénéfiques, et ceux dispensés principalement pour leurs effets positifs sur la santé. Selon l'ISAPP, les probiotiques sont « des microorganismes vivants qui, lorsqu'ils sont administrés en quantités appropriées, apportent un avantage pour la santé de l'hôte » (ISAPP, 2014).

Actuellement, on étudie abondamment les probiotiques pour leurs propriétés bénéfiques dans le traitement de diverses maladies comme le diabète, l'obésité, les troubles inflammatoires, les problèmes cardiovasculaires et respiratoires, ainsi que les dysfonctionnements du système nerveux central (CNS) et du système digestif (Bhutada *et al.*, 2025).

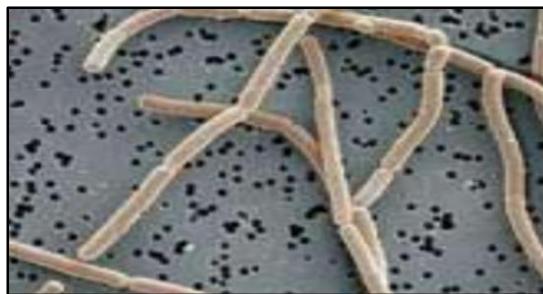
Par ailleurs, l'efficacité de ces derniers peut être améliorée lorsqu'ils sont combinés avec des prébiotiques, qui sont des substrats favorisant la multiplication des bactéries bénéfiques. On appelle cette association symbiotiques, et elle représente une stratégie prometteuse pour optimiser les avantages des probiotiques sur la santé humaine (Bhutada *et al.*, 2025).

## **1.2. Exemples de souches couramment utilisées comme probiotiques**

Les probiotiques sont une collection de microorganismes qui offrent des bienfaits pour la santé des humains et des animaux. Parmi les groupes de microorganismes les plus fréquemment analysés, on retrouve les bactéries lactiques, en particulier les genres *Lactobacillus* et *Bifidobacterium*. De plus, certaines bactéries non lactiques telles que *Bacillus* suscitent un intérêt grandissant dans le secteur de l'alimentation et de la pharmacie.

### **1.2.1. Les lactobacilles (*Lactobacillus*)**

Les lactobacilles se rangent sous le phylum des *Firmicutes*, la classe des *Bacilli*, l'ordre des *Lactobacillales* et la famille des *Lactobacillaceae*. On les définit comme des bactéries lactiques ayant une forme bacillaire (**Figure 1**), comprenant 237 espèces et 29 sous-espèces (Arumugam *et al.*, 2011). Ces bactéries sont largement distribuées dans le tractus gastro-intestinal, le tractus urogénital féminin et la cavité buccale (Wade et Könönen, 2011 ; Rossi *et al.*, 2019). Leur rôle probiotique repose sur leur capacité à produire de l'acide lactique, du peroxyde d'hydrogène et des bactériocines, des composés qui empêchent la prolifération des microorganismes pathogènes. Ainsi, elles sont considérées comme des microorganismes protecteurs (Reid et Burton, 2002).

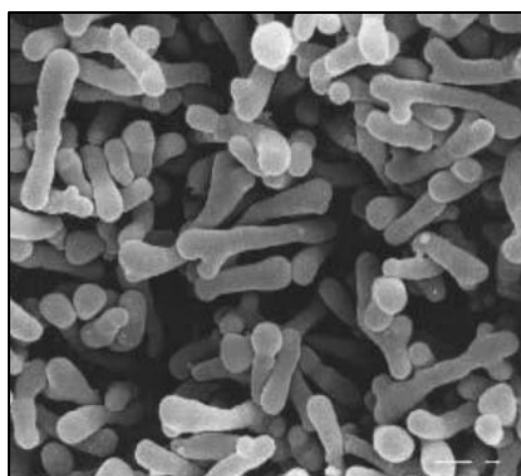


**Figure 1 :** *Lactobacillus bulgaricus* au microscope électronique (Menad, 2018).

Les lactobacilles ont divers impacts positifs sur la santé : Optimisation de la barrière épithéliale de l'intestin, Régulation du microbiote intestinal, Prévention de l'invasion par des microbes pathogènes dans l'intestin et la muqueuse vaginale, Production de composés antimicrobiens, comme les bactériocines, Effets à la fois immunomodulateurs et antiprolifératifs (Alaa *et al.*, 2020).

### 1.2.2. Les Bifidobactéries (*Bifidobacterium*)

Bien que liées aux bactéries lactiques, les bifidobactéries (**Figure 2**) sont classées dans le phylum des *Actinobacteria*. Ces dernières sont hétérofermentaires et transforment les hexoses en générant de l'acide lactique et de l'acide acétique (Pokusaeva *et al.*, 2011). Chez l'homme, leur habitat principal est le gros intestin où elles représentent la majeure partie du microbiote intestinal, avec une densité pouvant monter à  $10^9$  à  $10^{11}$  cellules par gramme de selles chez un adulte en santé (Collado *et al.*, 2006). Toutefois, différents facteurs internes et externes peuvent altérer la composition du microbiote intestinal. Par exemple, un traitement antibiotique ou antinéoplasique peut causer une diminution des bifidobactéries, ce qui facilite la multiplication de bactéries opportunistes telles que les *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* ou certaines levures (Gorbach, 2002 ; Collado *et al.*, 2006).



**Figure 2 :** Observation microscopie électronique de *Bifidobacterium* sp. (Biavati *et al.*, 2000)

Toutefois, différents facteurs internes et externes peuvent altérer la composition du microbiote intestinal. Par exemple, un traitement antibiotique ou antinéoplasique peut causer une diminution des bifidobactéries, ce qui facilite la multiplication de bactéries opportunistes telles que les Enterobacteriaceae, *Pseudomonas* ou certaines levures (Gorbach, 2002 ; Collado *et al.*, 2006). Les bifidobactéries ont un rôle crucial dans la régulation du système immunitaire et la défense contre les infections au niveau de l'appareil gastro-intestinal (Ohland & MacNaughton, 2010 ; Fukuda *et al.*, 2011). Dans le secteur agroalimentaire, elles sont couramment employées comme probiotiques dans des produits laitiers fermentés et des suppléments alimentaires, notamment du fait de leurs impacts positifs sur la digestion et l'équilibre du microbiote intestinal (Ruiz *et al.*, 2016).

Les espèces les plus couramment utilisées en tant que probiotiques incluent *Bifidobacterium adolescentis*, *B. animalis*, *B. bifidum*, *B. breve*, *B. longum* et *B. thermophilus* (Duranti *et al.*, 2019).

### 1.3. Critères de sélection des probiotiques

Pour que des souches microbiennes aient l'appellation probiotique, les critères rassemblés dans le **Tableau 1**, doivent obligatoirement être réunis.

**Tableau 1 :** Critères pour qualifier un microorganisme de probiotique : viabilité, sécurité et efficacité (Parvez *et al.*, 2006 ; Borchers *et al.*, 2009 ; Kral *et al.*, 2012 ; Singh *et al.*, 2011 ; Khan et Naz, 2013 ; Kechagia *et al.*, 2013 ; Fontana *et al.*, 2013 ; Bahri, 2014 ; Maurya *et al.*, 2014 ; Gueimonde et Salminen).

<b>Critères de viabilité</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Tolérance à l'acidité gastrique et aux sels biliaires.</li> <li>- Capacité à survivre et à se multiplier dans l'intestin.</li> <li>- Résistance aux enzymes digestives et aux conditions du tractus gastro-intestinal.</li> <li>- Capacité d'adhésion aux cellules intestinales.</li> </ul>
<b>Critères de sécurité</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Identification taxonomique précise.</li> <li>- Absence de gènes de résistance aux antibiotiques transmissibles.</li> <li>- Non pathogénicité et absence de toxicité.</li> <li>- Souches isolées d'un hôte sain et non modifiées génétiquement.</li> </ul>
<b>Critères d'efficacité</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Production de substances antimicrobiennes contre les pathogènes.</li> <li>- Effet bénéfique démontré sur la santé humaine (études <i>in vitro</i> et <i>in vivo</i>).</li> <li>- Capacité à moduler le microbiote intestinal et à renforcer le système immunitaire.</li> <li>- Capacité à coloniser temporairement l'intestin et à exercer une action bénéfique.</li> </ul>

## **1.4. Rôle des probiotiques dans l'organisme**

Les probiotiques sont fondamentaux pour préserver l'équilibre du microbiote intestinal et ont une influence sur divers éléments de la santé humaine. Ils sont bien connus pour leur rôle dans la restauration de la flore intestinale suite à un traitement antibiotique, et leur efficacité dans la prévention et le soin de problèmes digestifs comme la diarrhée et la constipation est également bien établie (Möller et De Vrese, 2004 ; Leahy *et al.*, 2005). Par ailleurs, des probiotiques spécifiques comme *Bifidobacterium spp.* et *Lactobacillus spp.* sont liés à une baisse de la sensibilité au lactose, une réduction du taux de cholestérol dans le sérum et une meilleure réactivité immunitaire (Varga, 1999 ; Moriya *et al.*, 2006).

### **1.4.1. Régulation du microbiote intestinal**

L'impact des probiotiques sur les maladies intestinales est particulièrement étudié. Une dysbiose, qui est une perturbation de l'équilibre du microbiote intestinal, joue un rôle dans des affections comme la diarrhée liée aux antibiotiques, les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI), ainsi que certains cancers gastro-intestinaux (Saber *et al.*, 2017 ; Su *et al.*, 2021). Selon Shehata *et al.* (2022), l'usage de probiotiques pour rétablir une flore intestinale équilibrée représente une stratégie thérapeutique pleine de promesses. De plus, l'un des avantages des probiotiques est l'amélioration de la perméabilité intestinale et l'augmentation de la production de lactase, qui peuvent contribuer à atténuer les symptômes liés à l'intolérance au lactose (Stratiki *et al.*, 2007 ; Jang *et al.*, 2019).

Au-delà de leur fonction dans le système digestif, les probiotiques ont des effets systémiques. Ils régulent la réaction immunitaire, ce qui peut aider à prévenir les infections microbiennes et à diminuer certaines manifestations allergiques (Seo *et al.*, 2011 ; Sridevi *et al.*, 2015). Par ailleurs, l'effet positif de ces derniers sur la gestion de la tension artérielle et du taux de cholestérol est actuellement étudié, même si les preuves scientifiques demeurent controversées (Pique *et al.*, 2019). Finalement, certaines variétés probiotiques, telles que *Bacillus subtilis* GM1, montrent une promesse notable dans le traitement des infections urogénitales et d'autres maladies systémiques (Daneshazari *et al.*, 2023a).

Toutefois, l'efficacité des probiotiques est influencée par divers éléments, notamment la survie des souches administrées et leur aptitude à parvenir en quantités suffisantes au côlon pour produire leurs effets bénéfiques. Dans ce contexte, les autorités de régulation préconisent une concentration d'au moins  $10^6$  UFC par gramme pour que l'on puisse attribuer un effet bénéfique à un produit (Ashraf et Shah, 2011). L'emploi de probiotiques en tant que méthode

thérapeutique et préventive demeure ainsi un champ d'étude en constante croissance, présentant de multiples opportunités pour la santé humaine.

#### **1.4.2. Dysbiose et pathologies gastro-intestinales**

La dysbiose intestinale fait référence à un déséquilibre du microbiote qui se manifeste par une diminution de la diversité microbienne et une perturbation du rapport entre les bactéries bénéfiques et pathogènes (Ouwehand *et al.*, 2002). Diverses affections digestives, y compris les diarrhées, le syndrome de l'intestin irritable et les MICI, sont liées à ce déséquilibre. L'emploi d'antibiotiques, une nutrition déséquilibrée et certaines maladies sont des éléments reconnus pour provoquer une dysbiose (Brown *et al.*, 2012). Par exemple, une réduction des bactéries commensales telles que *Lactobacillus* et *Bifidobacterium* facilite la colonisation par *Clostridioides difficile*, qui est à l'origine de diarrhées graves (Dethlefsen *et al.*, 2008).

Des recherches ont démontré, chez les individus souffrant du syndrome de l'intestin irritable, une élévation des Proteobacteria et une réduction des Firmicutes, menant à une inflammation persistante et une dégradation de la perméabilité intestinale (Salonen *et al.*, 2010). Dans le contexte des MICI, la dysbiose se traduit par une diminution des bactéries produisant du butyrate, un acide gras crucial pour préserver l'intégrité de la barrière intestinale, et une prolifération des Enterobacteriaceae qui contribue à l'inflammation chronique (Frank *et al.*, 2007). On examine l'effet des probiotiques, en particulier *Lactobacillus* et *Bifidobacterium*, pour leur potentiel à rétablir l'équilibre du microbiote intestinal par la régulation du système immunitaire (Chandrasekaran *et al.*, 2024) et l'augmentation de la production de métabolites bénéfiques comme les acides gras à chaîne courte (Fusco *et al.*, 2023).

#### **1.4.3. Diarrhées associées aux antibiotiques**

Les probiotiques sont largement utilisés afin d'éviter les diarrhées après des antibiothérapies, causées par une altération du microbiote intestinal et la multiplication de germes opportunistes (comme *Clostridioides difficile*, *Klebsiella spp.*) (Vanderhoof et Young, 1998). Selon une méta-analyse, la consommation de probiotiques diminue de manière significative l'apparition de ces diarrhées, avec un risque relatif estimé à 0.53 (D'Souza *et al.*, 2002). Parmi les souches les plus performantes, on compte le *Lactobacillus rhamnosus* GG et le *Saccharomyces boulardii*, qui rétablissent l'équilibre microbien tout en freinant les bactéries pathogènes (McFarland, 2006).

#### **1.4.4. Diarrhées infectieuses**

Les probiotiques ont un effet positif sur les diarrhées infectieuses, en particulier celles induites par le rotavirus chez les enfants. Selon Saavedra *et al.* (1994), l'administration de *Bifidobacterium bifidum* et *Streptococcus thermophilus* diminue considérablement la durée des épisodes de diarrhée aiguë en régulant la réaction immunitaire et en préservant la barrière intestinale.

#### **1.4.5. Syndrome de l'intestin irritable (IBS)**

Le syndrome du côlon irritable (IBS) est une maladie fonctionnelle entraînant des douleurs au niveau de l'abdomen, des flatulences et des perturbations dans le transit intestinal. Selon une recherche, l'administration de *Bifidobacterium longum*, *Lactobacillus acidophilus* et *Streptococcus thermophilus* a considérablement amélioré la qualité de vie des individus souffrant du syndrome de l'intestin irritable (Kim *et al.*, 2003). Une méta-analyse a validé l'impact notable des probiotiques sur l'atténuation des symptômes, bien que leur performance fluctue en fonction des souches et de la durée de la thérapie (Moayyedi *et al.*, 2010).

#### **1.4.6. Maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI)**

Les MICI, qui englobent la maladie de Crohn et la rectocolite hémorragique, se caractérisent par une inflammation chronique de l'intestin. Selon une étude de Kruis *et al.* en 1997, *Escherichia coli* Nissle 1917 a démontré une efficacité semblable à celle de la mésalazine dans la prévention des récidives de colite ulcéreuse. De plus, *Saccharomyces boulardii* ajuste la réaction inflammatoire et atténue les symptômes en diminuant la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires et en fortifiant la barrière intestinale (Kelesidis et Pothoulakis, 2012).

#### **1.4.7. Intolérance au lactose**

Un déficit en lactase est la cause de l'intolérance au lactose. Des probiotiques tels que *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* stimulent l'activité enzymatique intestinale, diminuant de ce fait les symptômes (Martini *et al.*, 1991).

#### **1.4.8. Autres effets gastro-intestinaux**

Les probiotiques sont aussi étudiés pour leur influence sur la constipation, le reflux gastro-œsophagien et l'axe intestin-cerveau, ce qui laisse entrevoir un effet positif potentiel dans la régulation du stress et de l'anxiété (Cryan et Dinan, 2012).

#### **1.4.9. Effet sur l'amélioration de la digestion du lactose**

Le premier effet démontré avec un haut niveau de preuve a été l'amélioration de l'intolérance au lactose et de la malabsorption de ce sucre par des bactéries lactiques et tout particulièrement du yaourt (De Vrese *et al.*, 2001).

Le lactose est un disaccharide formé de glucose et de galactose reliés entre eux par une liaison  $\beta$  ; sa digestion nécessite une lactase qui coupe cette liaison et autorise alors l'absorption des sucres simples libérés. Le lactose est présent exclusivement dans le lait et dans ses dérivés et plusieurs situations peuvent en diminuer la digestibilité. La plus fréquente est le déclin physiologique de l'activité lactasique entérocytaire au-delà de la petite enfance (Vesa *et al.*, 2000).

La deuxième cause de mal digestion du lactose est représentée par des maladies qui diminuent la surface de la digestion-absorption intestinale ou accélèrent le transit jéjunal, car la lactase entérocytaire est l'étape limitante de la digestion-absorption. Ainsi, les résections intestinales, les gastro-entérites, la maladie cœliaque, l'irradiation intestinale, les gastrectomies sont responsables d'une malabsorption dite « secondaire » (Marteau *et al.*, 1999). En cas de malabsorption, le lactose est responsable à des degrés divers (dépendants de la quantité malabsorbée et du sujet) de signes d'intolérance similaires à ceux du syndrome de l'intestin irritable et qui définissent « l'intolérance au lactose ».

Les premiers essais ont montré que les sujets intolérants au lactose toléraient le plus souvent le yaourt qui pourtant contient bien du lactose (De Verse *et al.*, 2001). Des études comparatives ont alors montré que la digestion du lactose du yaourt était meilleure que celle de contrôles et particulièrement du yaourt pasteurisé dont les bactéries et la lactase étaient détruites par chauffage (Marteau *et al.*, 1990). En pratique, le remplacement du lait par du yaourt conduit à une meilleure absorption et une meilleure tolérance chez les sujets présentant une intolérance au lactose. Ceci a été observé en cas d'intolérance primaire au lactose (due au déclin physiologique de la lactase avec l'âge) et en cas d'intolérance secondaire à des entéropathies comme au cours de diarrhées persistantes (Boudraa *et al.*, 1990) ou après résection intestinale étendue (Arrigoni *et al.*, 1994). Trois explications possibles à cet effet clinique ont été recherchées :

- une action de la lactase véhiculée par les probiotiques dans l'intestin ;
- une stimulation de la lactase intestinale humaine résiduelle par les probiotiques en transit ;

- un ralentissement du transit intestinal ou de la vidange gastrique permettant une meilleure digestion du lactose par la lactase humaine résiduelle.

Plusieurs travaux explicatifs ont montré que la lactase de bactéries lactiques participait à la digestion du lactose dans l'intestin (De Verse *et al.*, 2001). Un travail quantitatif a montré des sujets déficients en lactase digéraient (et absorbaient) 90% du lactose contenu dans 400 g de yaourt (Marteau *et al.*, 1990) et qu'environ un cinquième de la quantité de lactase présente dans le yaourt parvenait encore active jusqu'à la toute fin de l'intestin grêle après un repas. L'équipe française de Gérard Corthier a montré par une élégante technique chez la souris que les bactéries du yaourt qui survivaient dans l'intestin gardaient une activité métabolique (Drouault *et al.*, 2002). De plus, et sans que ce mécanisme n'exclue le précédent, les bactéries dont la membrane est facilement lysée par les acides biliaires libèrent leur lactase dans l'intestin ce qui expliquerait son activité accrue (Marteau *et al.*, 1990). Cette dernière caractéristique a donné l'idée d'utiliser des bactéries lactiques sensibles à la bile pour libérer d'autres activités enzymatiques dans l'intestin grêle (Drouault *et al.*, 2002).

#### **1.4.10. Autres effets directes sur les enzymes**

Dans le même registre de la digestion aidée par des enzymes véhiculées par des probiotiques, il a été montré que l'ingestion de *Saccharomyces cerevisiae* (0,3 g de lyophilisat) qui est une levure riche en saccharase aidait à la digestion du saccharose et supprimait les manifestations cliniques d'intolérance chez huit enfants déficients en saccharase (situation clinique exceptionnelle) recevant une charge orale de ce sucre (2g/kg de poids) (Harms *et al.*, 1987). Dans un modèle porcin d'insuffisance pancréatique exocrine, un lactocoque génétiquement modifié pour libérer de la lipase améliorait la digestion des lipides (Drouault *et al.*, 2002). Sidhu *et al.* (2001) ont montré que le gavage des rats par *Oxalobacterformigenes* (une bactérie capable de dégrader l'oxalate) diminuait l'excration urinaire d'oxalate. Ces résultats font l'objet de travaux pour la prévention de la lithiasie rénale oxalique chez l'homme.

#### **1.4.11. Raccourcissement et prévention des gastro-entérites**

Les gastro-entérites sont des affections très fréquentes puisque le risque pour un français est d'un épisode par an. Elles guérissent spontanément en quelques jours mais sont source d'arrêt de travail chez l'adulte et de gêne importante aussi bien chez les enfants que chez les adultes. Les formes les plus sévères exposent au risque de la déshydratation et de mort, tout

particulièrement chez les nourrissons et les personnes âgées (risque accru dans les pays les moins développés). Les agents microbiens en cause sont divers : virus (notamment le rotavirus chez le nourrisson) ou bactéries.

#### ○ **Effet curatif**

L'utilisation de probiotiques ou de produits laitiers fermentés au cours des gastroentérites aigues est une pratique répandue. Les preuves scientifiques pour étayer l'efficacité de divers produits n'ont été apportées que récemment et avec certains probiotiques seulement. Dans la gastro-entérite aigue, le yaourt n'a fait l'objet d'aucune étude contrôlée. Des essais randomisés contrôlés double aveugle (niveau de preuve élevé) ont démontré que plusieurs probiotiques raccourcissent significativement la durée de la diarrhée au cours de gastro-entérites (notamment à rotavirus) (Gill, 2003). De nombreux essais ont été effectués avec la souche *Lactobacillus rhamnosus* GG apporte le meilleur niveau de preuve pour démontrer la réalité clinique de cet effet (Van Niel *et al.*, 2002).

#### ○ **Effet préventif**

Des essais randomisés contrôlés plus récents ont aussi montré un effet protecteur préventif de probiotiques sur le risque de diarrhée. Les premiers ont été réalisés chez des nourrissons hospitalisés pour longues périodes. Leur objectif était une prévention du risque de diarrhée nosocomiale, notamment mais non-exclusivement à rotavirus. Dans l'essai de Savedraaet *al.* (1994), une association de *Bifidobacterium dobacterium* sp. et *Streptococcus thermophilus* ajoutées au lait usuel diminuaient de moitié le risque de diarrhée nosocomiale.

Dans l'étude de Szajewska *et al.*, *Lactobacillus rhamnosus* GG avait un effet préventif du même ordre de grandeur (Szajewska *et al.*, 2001). Dans ces deux travaux, une prévention significative du risque de gastro-entérite à rotavirus était observée. Un autre essai réalisé chez 220 nourrissons italiens hospitalisés n'a montré aucun effet préventif du *Lactobacillus rhamnosus* GG alors que l'allaitement maternel en avait un (Mastretta *et al.*, 2002). Ces essais ont été suivis d'essais réalisés chez des nourrissons en crèche, c'est-à-dire en bonne santé avec pour objectif la prévention des gastro-entérites, notamment virales et hivernales. Deux essais cliniques ont été réalisés chez des enfants du Val-de-Marne fréquentant des crèches et qui recevaient pendant six semaines un lait fermenté contenant *Lactobacillus casei* souche DN 114-001. Dans le premier travail qui incluait 287 enfants âgés de 6 à 36 mois, le nombre de gastro-entérites n'était pas modifié mais que leur sévérité était diminuée dans le groupe recevant le probiotique (Pedone *et al.*, 1999). Dans le deuxième travail qui incluait 928 nourrissons âgés de

6 à 24 mois, une diminution significative de la fréquence de la diarrhée a été observée dans le groupe recevant le probiotique par rapport au groupe recevant du yaourt comme contrôle (Pedone *et al.*, 2000).

#### **1.4.12. Effet des infections intestinales spécifiques et celle de la diarrhée du voyageur**

Des effets protecteurs de souches probiotiques contre des infections intestinales qui ont été observés sur des modèles animaux. Les mécanismes potentiellement impliqués ont multiples. Ils incluent la production d'acide lactique, de peroxyde d'hydrogène, de substances antimicrobiennes (parfois des bactériocines), la compétition pour des nutriments ou des récepteurs d'adhésion, des actions antitoxines, et la stimulation du système immunitaire (Gill, 2003). Des essais ouverts réalisés chez l'homme ont suggéré la possibilité pour certaines souches de probiotiques d'éradiquer des germes pathogènes chez des porteurs chroniques de salmonelles, *Campylobacter* ou *Clostridium difficile* (Marteau *et al.*, 1993).

Des essais contrôlés ont été réalisés testant l'efficacité des probiotiques contre deux microorganismes pathogènes : *Clostridium difficile* dans le côlon et *Helicobacter pylori* dans l'estomac.

- ***Clostridium difficile***

*Clostridium difficile* est une bactérie sporulée, anaérobie et à Gram positif, responsable d'infections gastro-intestinales accompagnées de diarrhées et de colites. L'infection à C. difficile (ICD) est particulièrement répandue dans les hôpitaux et les maisons de retraite, où les patients reçoivent fréquemment des antibiotiques. Les probiotiques administrés à dose adéquate, procurent des bienfaits pour la santé de l'hôte. Le scientifique russe et lauréat du prix Nobel Eli Metchnikoff a été le premier à observer le rôle positif de certaines bactéries. Il a suggéré qu'il serait possible de modifier la flore intestinale, de remplacer les microbes nocifs par des microbes utiles et ainsi d'améliorer la santé. Une grande variété de probiotiques ont été testés et utilisés pour prévenir ou traiter l'ICD. (Surawicz *et al.*, 2008) Les agents probiotiques les mieux étudiés dans l'ICD sont *Saccharomyces boulardii*, *Lactobacillus GG* (LGG) et d'autres lactobacilles, ainsi que des mélanges de probiotiques.

Plusieurs mécanismes d'action ont été décrits pour les effets de *S. boulardii* sur l'ICD, notamment la réduction de la perméabilité intestinale, l'augmentation des réponses intestinales aux IgA, la prévention de l'activation du facteur nucléaire kappa B et des voies de signalisation de la protéine kinase activée par les mitogènes, l'inhibition de la production de cytokines pro-

inflammatoires telles que l'interleukine-8, et la réduction des effets de la toxine de *C. difficile* par dégradation de la protéase et par diminution de la liaison aux récepteurs de la toxine (Chen *et al.*, 2006).

○ *Helicobacter pylori*

L'infection chronique par cet organisme pathogène entraîne une inflammation de la muqueuse gastrique et des vaisseaux lymphatiques associés, conduisant à une érosion ou au développement d'un cancer (Chen *et al.*, 2018). Elle est également liée au développement d'un purpura thrombocytopénique idiopathique, d'une carence en vitamine B12 et d'une carence en fer (Goderska *et al.*, 2018). Jusqu'à récemment, un schéma antibiotique triple contenant de l'oméprazole, des macrolides et des antibiotiques de type pénicilline était utilisé comme traitement standard. La résistance de *Helicobacter pylori* à ces antibiotiques par mutations génétiques a été de plus en plus rapportée dans des études récentes. En raison de l'échec fréquent de la prise en charge actuelle, des thérapies alternatives concomitantes ont été envisagées.

Les probiotiques sont capables d'inhiber *H. pylori* de manière compétitive, agissant comme bactériostatiques tout en améliorant le microbiote intestinal. Les lactobacilles et autres probiotiques, dont *Bifidobacterium*, *Bacillus licheniformis* et *Saccharomyces*, sont actuellement utilisés et ont démontré leur efficacité dans la prise en charge des symptômes gastro-intestinaux liés à *H. pylori* (Mestre *et al.*, 2022).

Cliniquement, les bactéries productrices d'acide lactique telles que *Lactobacillus spp*, le genre *Bifidobacterium*, *Bacillus*, *Streptococcus* (Lionetti *et al.*, 2010) et *Escherichia coli* sont utilisées efficacement comme probiotiques. Lorsqu'elles sont introduites dans le corps humain, ces organismes produisent des substances antimicrobiennes telles que l'acide lactique, le peroxyde d'hydrogène et les bactériocines. L'acide lactique peut supprimer l'activité uréase de *H. pylori* (Lesbros-Pantoflickova *et al.*, 2007). De plus, la paroi cellulaire bactérienne et ses membranes sont endommagées par les espèces réactives de l'oxygène produites par les probiotiques.

L'adhésion de *H. pylori* à l'épithélium intestinal est favorisée par plusieurs composants de surface bactériens. Des études ont mentionné que les probiotiques augmentent la production d'IgA, renforçant la barrière muqueuse contre les pathogènes (Goderska *et al.*, 2018). Leur rôle contre la pathogénicité de *H. pylori* comprend une interaction compétitive sur les sites d'adhésion microbienne et une amélioration de la réponse immunitaire (Guruge *et al.*, 1998). La spécificité de liaison des glycolipides avec *H. pylori* et les probiotiques est actuellement

étudiée pour leur future application comme médicaments anti-adhésion dans la prise en charge des ulcères gastriques induits par *H. pylori* (Çekin *et al.*, 2017).

#### **1.4.13. Effets immunomodulateurs et prévention des maladies chroniques**

Les probiotiques sont des micro-organismes qui confèrent des bienfaits pour la santé de l'hôte lorsqu'ils sont administrés en quantités adéquates (Hill *et al.*, 2014). Des souches bactériennes aux propriétés probiotiques reconnues, qui incluent la tolérance aux affections intestinales, la capacité d'adhérence aux cellules épithéliales et l'hydrophobicité de la surface cellulaire (Bao *et al.*, 2010), se sont avérées capables de contrer les infections par la modulation de l'immunité intestinale (Nagpal *et al.*, 2018). Les probiotiques exercent leurs propriétés immunomodulatrices sur l'hôte de plusieurs manières, notamment la colonisation de la barrière muqueuse perturbée, l'exclusion compétitive et l'inhibition des pathogènes envahissants nocifs, la production de composés bioactifs (Soltani *et al.*, 2021), l'amélioration de la production de cytokines anti-inflammatoires (Azad *et al.*, 2018), la détoxicification des substances virulentes (Nagpal *et al.*, 2012) et le recrutement de diverses cellules immunitaires (Chugh *et al.*, 2020).

Les molécules probiotiques bioactives comprennent les acides aminés, les vitamines, les exopolysaccharides, les enzymes, les acides gras à chaîne courte (AGCC) et les bactériocines (Chugh *et al.*, 2020). Les AGCC sont des sous-produits métaboliques de la fermentation des fibres non digestibles (Blacher *et al.*, 2017), tandis que les bactériocines comprennent un groupe hétérogène de peptides ayant une activité antimicrobienne contre les agents pathogènes (Soltani *et al.*, 2021). L'effet profond des AGCC, des produits cataboliques du tryptophane et des acides biliaires secondaires provenant du métabolisme bactérien sur la communication croisée entre le système immunitaire et le microbiote intestinal a récemment été examiné (Zhang *et al.*, 2019). Bien que les études sur les bactériocines se concentrent principalement sur des formes particulières disponibles dans le commerce et leurs effets sur la santé de l'hôte (Shin *et al.*, 2016), leur contribution à la modulation du système immunitaire a également été rapportée (Malaczewska *et al.*, 2021).

Les effets des bactéries probiotiques sur l'immunité s'exercent par la colonisation épithéliale avec induction simultanée de la sécrétion de mucine (Youssef *et al.*, 2021), la production de plusieurs composés bioactifs (Yeşilyurt *et al.*, 2021), l'exclusion compétitive des pathogènes en empêchant leur adhérence à la surface épithéliale intestinale (Yadav *et al.*, 2022), et l'inhibition de la prolifération des pathogènes par la compétition pour les nutriments essentiels (Mazziotta *et al.*, 2023). Les propriétés immunomodulatrices des probiotiques varient selon les individus

et sont principalement attribuées à la libération de cytokines et de chimiokines par les cellules immunitaires (Azad *et al.*, 2018), l'activation des récepteurs Toll-like (TLR) (Mazziotta *et al.*, 2023), ou l'inhibition de la voie du facteur nucléaire-κB (NF-κB) (Aghamohammad *et al.*, 2022). Les probiotiques sont également impliqués dans la régulation des voies de signalisation JAK/STAT et de la protéine kinase activée par les mitogènes (MAPK) via la sécrétion de cytokines et d'AMP, favorisant ainsi la réponse immunitaire muqueuse et systémique (Agha mohammad *et al.*, 2023). Il est bien établi que les fragments cellulaires ou les molécules de surface des probiotiques peuvent déclencher la capacité phagocytaire des macrophages et des DC (Liu *et al.*, 2020) tout en contribuant à l'amélioration des cellules natural killer (NK) (Yousefi *et al.*, 2019) et de l'activité cytotoxique des cellules T CD8+ (Mao *et al.*, 2020). L'importance des probiotiques dans l'induction de la maturation et de la différenciation des cellules immunitaires adaptatives par la modulation des cellules immunitaires innées a été désignée (Javanshir *et al.*, 2021). En adhérant aux cellules épithéliales intestinales (IEC), les probiotiques induisent la sécrétion de cytokines conduisant à l'activation des Tregs, les médiateurs clés du maintien de l'homéostasie intestinale (Mazziotta *et al.*, 2023). La production accrue de la cytokine anti-inflammatoire interleukine (IL)-10 par les Tregs au détriment des cytokines pro-inflammatoires dans la muqueuse colique peut supprimer les réponses inflammatoires (Cristofori *et al.*, 2021) et stimuler la tolérance immunitaire aux microbes commensaux (Mazziotta *et al.*, 2023). Concernant l'équilibre requis des sous-types de lymphocytes T pour le bon fonctionnement de l'immunité intestinale (Wu *et al.*, 2012), les probiotiques favorisent le passage des cellules Th2 aux cellules Th1, afin de limiter les réactions allergiques et de contrôler les maladies auto-immunes (Yadav *et al.*, 2022). De plus, l'association des probiotiques aux IEC déclenche la maturation des cellules dendritiques (DC) et l'induction ultérieure des Tregs, favorisant ainsi le changement de classe d'immunoglobuline par les cellules B matures, dans les plaques de Peyer, vers l'immunoglobuline A (IgA) sécrétoire (Rousseaux *et al.*, 2023). L'IgA sécrétoire joue un rôle important dans la prévention de l'interaction des pathogènes avec les récepteurs épithéliaux, la préservation de l'intégrité de la barrière muqueuse et la neutralisation des toxines bactériennes sur la muqueuse (Pietrzak *et al.*, 2020).

Les probiotiques peuvent jouer un rôle important dans le traitement et la prévention de diverses maladies par plusieurs mécanismes ; par exemple, en stimulant l'immunité respiratoire et en améliorant la résistance aux infections des voies respiratoires, ils peuvent prévenir ou réduire la durée des maladies respiratoires. En améliorant le métabolisme du glucose, en

réduisant l'inflammation et le stress oxydatif dans les cellules pancréatiques et en prévenant la destruction des cellules bêta-pancréatiques, ils peuvent prévenir l'apparition du diabète et la pathogenèse de la rétinopathie diabétique (Farahmandi et Sulaimany, 2023).

#### **1.4.14. Liens avec la santé mentale (axe intestin-cerveau)**

Le terme « psychobiotique » a été introduit pour désigner des bactéries vivantes bénéfiques (probiotiques) ou d'autres composés (prébiotiques, synbiotiques) susceptibles d'influencer les neurotransmetteurs intestinaux (Dinan *et al.*, 2013).

Les psychobiotiques peuvent atténuer les effets du stress, d'après une intervention avec une multivitamine probiotique sur des individus présentant une gamme limite de stress mesurée sur le questionnaire de neurotoxicité du patient. Les participants ont également rempli une liste d'adjectifs tous les deux mois pendant six mois et ont mesuré la gravité des troubles gastro-intestinaux et des infections, qui sont de puissants indicateurs de stress, et les scores ont été classés en fonction des conditions positives et négatives. Les participants prenant une capsule de multivitamine probiotique de souches de *Lactobacillus* et de *Bifidobacterium* pendant six mois ont montré une amélioration de leur état général de 40 %. De plus, les symptômes positifs ont connu une augmentation moyenne de 17,4 % et les conditions négatives une diminution moyenne de 23,3 % (Gruenwald *et al.*, 2002).

Une étude a montré une réduction significative de l'anxiété après consommation de probiotiques chez des patients atteints d'un cancer du larynx, avec des niveaux de facteur de libération de corticotropine et une fréquence cardiaque stables par rapport au groupe placebo (Yang *et al.*, 2016). La relation entre la consommation de probiotiques et l'altération de l'équilibre des cytokines chez les personnes diagnostiquées avec un trouble d'anxiété généralisée a également été rapportée (Hou *et al.*, 2017).

Plusieurs gènes sont associés à l'anxiété (Rossi *et al.*, 2012) notamment le gène de l'interleukine (IL)-1 $\beta$  (Lezheiko *et al.*, 2018). Une étude italienne a rapporté le rôle du gène IL-1 $\beta$  dans le développement de l'anxiété et les effets des psychobiotiques sur la réduction des symptômes d'anxiété, 43,24 % des sujets anxieux étant porteurs de l'allèle A du gène IL-1 $\beta$  et les 11,43 % restants étant des sujets anxieux non porteurs. L'étude a rapporté une diminution des scores d'anxiété dans le groupe psychobiotique par rapport au groupe placebo. De plus, les symptômes d'anxiété peuvent s'améliorer chez les adultes en bonne santé lorsque le gène IL-1 $\beta$  est un facteur de risque (Gualtieri *et al.*, 2020).

En 2004, Logan et Katzman ont été les premiers à proposer les probiotiques comme traitement adjuvant de la dépression (Logan *et al.*, 2005). Les probiotiques diminueraient considérablement les scores de dépression, les taux sériques d'insuline, le stress oxydatif et les concentrations de protéine C-réactive à haute sensibilité, ce qui suggère leurs effets prometteurs dans le traitement des symptômes dépressifs (Akkasheh *et al.*, 2016). En revanche, une étude contrôlée, randomisée et en double aveugle menée par Romijnet *al.a* évalué l'impact des probiotiques sur l'humeur, l'anxiété, les symptômes gastro-intestinaux, le stress, les taux de vitamine D, les taux de facteur neurotrophique dérivé du cerveau (BDNF) et les taux de cytokines pro-inflammatoires. Elle n'a signalé aucune amélioration significative du stress, de l'anxiété ou de l'humeur. L'étude n'a trouvé aucune corrélation positive entre les probiotiques et la mauvaise humeur (Romijn *et al.*, 2017).

## **2- Les probiotiques du lait de chamelle comme nouvelle source**

Le chameau appartient à la famille des camélidés, qui comprend deux genres : *Lama* et *Camelus*. Le genre *Camelus* comprend également les chameaux à une bosse (dromadaires ou *Camelus dromedarius*) et les chameaux à deux bosses (chameaux de Bactriane ou *Camelus bactrianus*) (Patel, 2018). Traditionnellement, le chameau était généralement utilisé comme animal de bât dans l'agriculture et le transport, mais son utilisation à cette fin a considérablement diminué après la mécanisation des transports et des opérations agricoles (Kumar *et al.*, 2016). Aujourd'hui, les chameaux sont devenus importants en raison de leurs propriétés particulières, notamment la présence de composés immunogènes dans leur lait (Burren *et al.*, 2014).

Le lait de chamelle est de plus en plus reconnu comme un superaliment en raison de ses multiples bienfaits nutritionnels et fonctionnels. En effet, sa composition unique en protéines, vitamines et minéraux lui confère un rôle clé dans le renforcement du système immunitaire et la prévention de diverses pathologies (Dongo et DellaPenna, 2021).

Le lait de chamelle se distingue par sa richesse en minéraux rares rares comme le molybdène, ainsi que des niveaux élevés de composés antimicrobiens naturels (Rahmeh *et al.*, 2019).

L'identification et la sélection de nouvelles souches probiotiques reposent sur des critères rigoureux parmi lesquels la tolérance aux environnements difficiles de la lumière gastro-intestinale (acide gastrique, enzymes intestinales et sels biliaires), la tolérance aux conditions

défavorables des aliments fermentés, la lyse des sels biliaires, les propriétés antimicrobiennes, la capacité à réduire le cholestérol et le fait d'être non hémolytique (Cho *et al.*, 2020).

Le lait de chamelle suscite un intérêt croissant en tant que matrice naturelle pour l'isolement de nouvelles souches probiotiques, notamment les bactéries lactiques (LAB) (Sharma *et al.*, 2021).

L'isolement des bactéries probiotiques repose sur l'utilisation de milieux de culture spécifiques permettant leur croissance et leur identification comme le milieu Man Rogosa Sharpe (MRS) est largement reconnu comme la référence pour l'isolement des bactéries lactiques (Shah, 2000).

Pour l'isolement spécifique de certains genres et espèces de probiotiques, on utilise généralement des milieux de culture sélectifs dans lesquels le milieu de culture de base est le même que le MRS, puis environ 1 % de facteurs actifs tels que différents types de glucides (amidon, mannitol, sorbitol, glucose, fructose, maltose, etc.) ou des agents antibiotiques (tels que la vancomycine, etc.) et d'autres facteurs spécifiques pour l'isolement de chaque genre et espèce sont ajoutés au milieu de culture de base (gélose MRS) (Khedid *et al.*, 2009). Par exemple, la gélose MRS-salicine pour le probiotique de *Lactobacillus acidophilus* LA5 (Abdolhosseinzadeh *et al.*, 2018) et gélose MRS-glucose-vancomycine pour *L. rhamnosus* GG (Pourjafar *et al.*, 2020). De plus, plusieurs milieux de culture pour le dénombrement sélectif de *Bifidobacterium spp.* et de *Lactobacillus* ont été précédemment recommandés dans les produits laitiers tels que la gélose MRS-maltose, la gélose MRS-bile, la gélose MRS-glucose-vancomycine, la gélose MRS-sorbitol, la gélose MRS-IM, la gélose M17, la gélose MBG, la gélose RCPB, la gélose TPPY-E, la gélose AMC, la gélose DP, la gélose MRS-LP, la gélose TOS-NNLP, la gélose BIM-25, la gélose BL-OG, et ainsi de suite (Vinderola *et al.*, 2019 ).

En fait, la capacité de fermenter certains glucides avec ou sans production de gaz, la capacité de résister à certains antibiotiques, la capacité d'utiliser certains composés protéiques et d'autres éléments similaires sont des caractéristiques uniques de chaque probiotique.

En concevant des milieux de culture spécifiques en fonction des caractéristiques spécifiques de chaque probiotique, dans la phase initiale, différents probiotiques de chaque aliment peuvent être isolés et différenciés dans une large mesure, au moins en termes de genre. Dans les étapes suivantes, l'utilisation de méthodes génétiques avancées et la prise en compte des caractéristiques physiologiques des isolats permettent l'identification exacte des probiotiques. Il existe quelques publications dans la littérature concernant l'isolement et l'identification de

probiotiques à partir du lait de chameau. Dans certaines de ces études, les micro-organismes isolés, en particulier de la famille LAB, manquaient de propriétés probiotiques, et dans certaines études, de nouvelles souches ont été identifiées qui ont des propriétés probiotiques. L'étude réalisée par (Fguiri *et al.*, 2016) ne possède pas de propriétés probiotiques telles que des capacités de tolérance à l'acide et à la bile, un profil hémolytique, une capacité antimicrobienne, une capacité d'élimination du cholestérol et l'utilisation de techniques conventionnelles non basées sur l'ADN pour l'identification des isolats bactériens. De plus, d'autres études, notamment les investigations de (Soleymanzadeh *et al.*, 2016), manquent de plusieurs paramètres probiotiques pour offrir une preuve pertinente que le LAB séparé possède des propriétés probiotiques. En fait, ils ont essayé de reconnaître le LAB isolé sans utiliser de preuves obtenues à partir de l'identification des isolats via une technique basée sur l'ADN.

Les résultats d'études récentes ont montré que diverses bactéries probiotiques possibles peuvent être isolées du lait de chameau et ont examiné les propriétés probiotiques, par exemple, les caractéristiques physiologiques, les caractéristiques d'élimination du cholestérol, les capacités de tolérance à l'acide et à la bile, la dégradation des sels biliaires, les activités antimicrobiennes et hémolytiques, les caractéristiques superficielles des cellules (telles que l'auto-agrégation, l'hydrophobie et la co-agrégation), le potentiel de création d'exopolysaccharides (EPS), la capacité de croissance dans les aliments fermentés, la résistance au lysozyme et aux antibiotiques, et le séquençage de l'ARNr 16S ou le séquençage de l'ADNr 16S pour identifier d'éventuels isolats probiotiques potentiels (Ayyash *et al.*, 2020).

Selon Abushelaibi *et al.* (2017), qui ont étudié les propriétés d'éventuels LAB probiotiques isolés du lait de chameau. Dans leur étude, les caractéristiques physiologiques, les propriétés de la surface cellulaire, le potentiel de tolérance à l'acide et à la bile, l'hydrolyse des sels biliaires, la création d'EPS, l'élimination du cholestérol, les activités antimicrobiennes et hémolytiques, la résistance à six antibiotiques et au lysozyme, et le profil de fermentation ont été étudiés. La méthode de séquençage de l'ARNr 16S a été utilisée pour reconnaître six isolats probables de LAB. Dans l'ensemble, les LAB entièrement identifiés (*L. lactis* KX881782, *L. lactis* KX881768, *L. plantarum* KX881779 et *L. plantarum* KX881772) ont affiché une capacité d'auto-agrégation, une co-agrégation élevée, une capacité élevée d'élimination du cholestérol, une action antimicrobienne robuste et la création d'EPS. De plus, *L. lactis* KX881782, *L. lactis* KX881768, *L. plantarum* KX881779 et *L. plantarum* KX881772 ont montré des capacités significatives d'élimination du cholestérol. De même, *L. lactis* KX881782 et *L. plantarum* KX881779 ont présenté des profils de fermentation prometteurs (Abushelaibi *et al.*, 2017).

Ayyash *et al.*, 2018, ont étudié l'isolement des LAB, à savoir *Enterococcus* et *Streptococcus* du lait de chameau et ont exploré leurs caractéristiques probiotiques. Comme dans l'étude précédente (Abushelaibi *et al.*, 2017), toutes les propriétés probiotiques possibles requises ont été étudiées. Le séquençage de l'ADNr 16S a été utilisé pour reconnaître les isolats et obtenir les numéros d'accès GenBank. Les isolats LAB présentaient des caractéristiques de réduction du cholestérol et de prévention des agents pathogènes. Les conséquences de l'auto-agrégation et de l'hydrophobie ont révélé de solides capacités de fixation des LAB séparés. Les LAB reconnus présentaient un profil de fermentation prometteur. De plus, la résistance des isolats LAB au lysozyme et à 60°C était élevée. Les résultats de cette étude révèlent que les isolats LAB, en particulier *Streptococcus equinus* KX881778 et *Enterococcus faecium* KX881783 peuvent être des souches probiotiques remarquables (Ayyash *et al.*, 2018).

Dans la même veine, (Sharma *et al.*, 2021) ont examiné l'identification et le potentiel probiotique des LAB du lait de chameau. Les LAB choisis ont été reconnus comme *L. lactis*, *L. plantarum* et *Enterococcus lactis*, et leur potentiel a été vérifié via l'activité antimicrobienne, la tolérance et la déconjugaison des sels biliaires, l'hydrophobie superficielle, ainsi que la capacité d'adhésion. Les LAB sélectionnés ont montré des propriétés antimicrobiennes en contradiction avec une grande variété de bactéries pathogènes telles que *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* et *Bacillus cereus*. Les études d'adhérence ont prouvé une capacité d'adhésion robuste avec une hydrophobie élevée (Sharma *et al.*, 2020).

### **3- Les Prébiotiques**

Les prébiotiques sont des substances alimentaires non assimilables qui ont une importance cruciale dans l'ajustement du microbiote intestinal. Ils encouragent spécifiquement le développement et l'activité des bactéries bénéfiques du côlon, ce qui contribue à l'amélioration de la santé de l'hôte (Gibson et Roberfroid, 1995). À l'opposé des probiotiques, qui sont des organismes microscopiques vivants, les prébiotiques constituent des substrats pour les bactéries intestinales bénéfiques et ont un effet positif sur la composition du microbiote (Organisation mondiale de gastroentérologie, 2011). Les fructanes, notamment l'inuline et les fructo-oligosaccharides (FOS), qui sont abondamment présents dans plusieurs aliments et employés comme composants fonctionnels dans le secteur de l'agroalimentaire, constituent certains des prébiotiques les plus largement analysés (Roberfroid, 2005).

### **3.1. Effets et principaux rôles**

L'effet principal des prébiotiques est de stimuler sélectivement la croissance des bifidobactéries et des lactobacilles dans l'intestin, augmentant ainsi la résistance naturelle de l'organisme aux agents pathogènes envahissants. Les glucides prébiotiques pourraient également présenter des avantages supplémentaires, moins spécifiques, car ils sont fermentés dans le côlon. Les glucides prébiotiques actuellement évalués chez l'homme sont principalement constitués de fructanes ou de galactanes. Des études *in vitro* et *in vivo* montrent de manière cohérente que ces derniers ne sont pas digérés par les enzymes humaines normales, mais sont facilement fermentés par les bactéries anaérobies du côlon. Par fermentation dans le côlon, les glucides prébiotiques produisent des acides gras à chaîne courte, stimulent la croissance de nombreuses espèces bactériennes et, outre leurs effets sélectifs sur les lactobacilles et les bifidobactéries, peuvent également produire des gaz. L'effet potentiel le plus important des glucides prébiotiques est de renforcer la résistance de l'organisme aux agents pathogènes invasifs et, ainsi, de prévenir les épisodes de diarrhée. À l'heure actuelle, cet effet n'a pas été démontré de manière convaincante, ni chez l'adulte ni chez l'enfant, bien que des tentatives aient été faites pour soulager la diarrhée associée aux antibiotiques et aux voyages, sans succès. Cependant, les glucides prébiotiques ont clairement des effets physiologiques significatifs et distinctifs sur le gros intestin humain, et il est donc probable qu'ils se révéleront à terme bénéfiques pour la santé. (Cummings et Macfarlane, 2002).

Il a été démontré que l'effet prébiotique est associé à la modulation des biomarqueurs et de l'activité(s) du système immunitaire. Confirmant les études menées chez l'adulte, il a été démontré que, dans la nutrition infantile, l'effet prébiotique entraîne une modification significative de la composition du microbiote intestinal, notamment une augmentation des concentrations fécales de bifidobactéries. Ceci améliore simultanément la qualité des selles (pH, AGCC, fréquence et consistance), réduit le risque de gastro-entérite et d'infections, améliore le bien-être général et diminue l'incidence des symptômes allergiques tels que l'eczéma atopique. Les modifications de la composition du microbiote intestinal sont classiquement considérées comme l'un des nombreux facteurs impliqués dans la pathogenèse des maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI) ou du syndrome du côlon irritable. L'utilisation de produits alimentaires spécifiques à effet prébiotique a ainsi été testée dans le cadre d'essais cliniques visant à améliorer l'activité clinique et le bien-être des patients atteints de ces troubles. Des effets bénéfiques prometteurs ont été démontrés dans certaines études préliminaires, notamment des modifications de la composition du microbiote intestinal

(notamment une augmentation de la concentration en bifidobactéries). Souvent associé à une charge toxique et/ou à divers facteurs de risque, le cancer du côlon est une autre pathologie pour laquelle un rôle possible de la composition du microbiote intestinal a été émis l'hypothèse. De nombreuses études expérimentales ont rapporté une réduction de l'incidence des tumeurs et des cancers après l'ingestion de produits alimentaires spécifiques à effet prébiotique (Roberfroid *et al.*, 2010).

De nombreuses études ont démontré le rôle des prébiotiques sur la flore intestinale et démontré que leur utilisation pouvait améliorer la fonction métabolique de cette flore. Plusieurs études ont montré que les prébiotiques diminuent les cytokines inflammatoires, telles que l'IL-1 $\alpha$ , l'IL-1 $\beta$ , l'IL-6, l'IL-12, le TNF- $\alpha$  et l'IFN- $\gamma$ , et améliorent la barrière intestinale naturelle en augmentant la couche mucineuse et les jonctions transdermiques entre les cellules épithéliales. Leur capacité à réduire la prolifération bactérienne pathologique dans l'intestin et à fournir aux bactéries commensales des substrats métabolisables en substances contribuant à la production et à la sécrétion de cytokines anti-inflammatoires.

D'après les études de Salvin (2013), Il a été suggéré que la consommation de prébiotiques pourrait :

- Réduire la prévalence et la durée des diarrhées infectieuses et associées aux antibiotiques ;
- réduire l'inflammation et les symptômes associés aux maladies inflammatoires de l'intestin ;
- exercer des effets protecteurs pour prévenir le cancer du côlon ;
- améliorer la biodisponibilité et l'absorption des minéraux, notamment le calcium, le magnésium et éventuellement le fer ;
- réduire certains facteurs de risque de maladies cardiovasculaires ;
- favorise la satiété et la perte de poids et prévient l'obésité.

D'autres études, ont montré une amélioration de l'absorption du calcium avec l'apport de prébiotiques, principalement des fructanes. Selon une étude étalée sur 12 mois et portant sur 100 adolescents ingérant 8 g/jour de fructanes d'inuline à chaîne courte et longue a montré une augmentation significative de l'absorption du calcium qui a conduit à une plus grande densité minéral osseuse (Abrams *et al.*, 2005). Cependant, la consommation quotidienne de céréales contenant une combinaison de fructo-oligosaccharides à chaîne courte et longue avec une

concentration de (9 g/jour) dans le cadre d'un régime alimentaire contrôlé n'a pas amélioré l'absorption ou la rétention du calcium chez les adolescentes (Martin *et al.*, 2010).

### **3.2. Exemples des prébiotiques**

#### **3.2.1. L'inuline**

L'inuline est un fructane de type  $\beta$ -(2→1) fructosyl, connu pour ses effets prébiotiques et ses avantages pour la santé. C'est un polysaccharide de réserve hydrosoluble, qu'on retrouve largement dans environ 36 000 espèces végétales, la racine de chicorée étant sa source principale (Shoaib *et al.*, 2016). Parmi les autres sources naturelles, on peut citer le topinambour, les tubercules de dahlia, le yacon, les asperges et les poireaux (Shoaib *et al.*, 2016).

L'inuline est structurée à partir d'unités de  $\beta$ -d-fructofuranosyl (Fn), où n est supérieur à 60, et se termine habituellement par un résidu de glucose en tant que (1+2)  $\alpha$ -d-glucopyranose (GFn). L'oligofructose, sous sa forme hydrolysée, est constituée de chaînes plus courtes ( $2 \leq n \leq 10$ ) (Gupta *et al.*, 2019). Cette configuration spécifique rend impossible sa décomposition par les enzymes du système digestif humain. De ce fait, l'inuline parvient au côlon sans être altérée, où elle est fermentée par la flore intestinale, générant des acides gras à chaîne courte (AGCC) aux nombreux avantages (Cherbut, 2002 ; Apolinario *et al.*, 2014).

Les avantages de l'inuline sont largement attestés et comprennent l'amélioration du transit intestinal, la diminution des taux plasmatiques de triacylglycérols, l'augmentation de l'assimilation du calcium et du magnésium, ainsi qu'un bénéfice positif sur la réaction immunitaire (Letexier *et al.*, 2003 ; Shoaib *et al.*, 2016).

#### **3.2.2. Les fructo oligo saccharides (FOS)**

Les fructo-oligo-saccharides (FOS) sont des oligomères de fructose qui font partie de la famille des fructanes, notamment l'inuline. Ils se caractérisent par une structure chimique où des unités de fructose sont liées au glucose par des liaisons  $\beta$ -2,1. Les trois FOS majeurs sont le 1-kestose (GF2), le nystose (GF3) et le 1- $\beta$ -fructofuranosyl nystose (GF4), qui renferment respectivement deux, trois et quatre unités de fructose (Dominguez *et al.*, 2014).

On trouve ces composés de manière naturelle dans une variété de plantes, dont l'oignon, le blé, le seigle, les échalotes, les tomates et les bananes. On peut aussi les obtenir par transformation enzymatique du saccharose ou de l'inuline en utilisant des enzymes microbiennes comme la  $\beta$ -d-fructofuranosidase ou la fructosyltransférase, dérivées de bactéries et de champignons (Bali *et al.*, 2015).

On étudie largement les FOS pour leurs avantages en matière de santé. Leur consommation est liée à une amélioration du microbiote intestinal, une hausse de l'absorption minérale, ainsi qu'à un impact positif sur le métabolisme des lipides et le système immunitaire (Bornet et Brouns, 2002 ; Wang *et al.*, 2010 ; Costa *et al.*, 2015). Par ailleurs, plusieurs études ont prouvé leur capacité à protéger contre le cancer colorectal, à jouer un rôle dans la lutte contre l'obésité et le diabète, ainsi qu'à contribuer à la diminution des taux de lipides et de cholestérol dans le sang (Costa *et al.*, 2015 ; Ohara et Suzutani, 2018 ; Pengrattanachot *et al.*, 2022).

**MATÉRIEL ET**

**MÉTHODES**

## **1. Isolement des bactéries lactiques**

### **1.2. Échantillonnage**

L'échantillon de lait cru de chamelle utilisé dans cette étude a été aimablement fourni par une collègue, et provient de la wilaya d'El Oued (Oued Souf). Il a été recueilli dans un flacon stérile et conservé à 4 °C jusqu'à son traitement.

### **1.3. Isolement de *Bacillus subtilis***

L'espèce *Bacillus subtilis* est considérée comme une bactérie probiotique à effet très bénéfique pour la santé humaine. Deux méthodes ont été utilisées pour l'isolement sélectif de cette bactérie à partir de lait de chamelle.

-Une série de dilutions décimales de l'échantillon de lait de chamelle a été réalisée, allant de  $10^{-1}$  à  $10^{-6}$ . Pour faciliter la sélection préférentielle de ces bactéries sporulées, l'échantillon a subi un traitement thermique à 80°C pendant une durée de 15 minutes au bain-marie. Par la suite, l'ensemencement a été effectué par étalement en surface sur un milieu gélosé nutritif (GN). Pour chaque dilution, 0,1 ml de l'échantillon a été uniformément dispersé sur la surface du milieu, avec des répétitions de deux boîtes de Pétri par dilution. Les boîtes ont ensuite été incubées à 50°C pendant 72 heures (Daneshazari *et al.*, 2023b).

-La deuxième méthode consiste à effectuer à partir de lait de chamelle fermenté. Un volume de 1 ml a été mélangé avec 5 ml de milieu BS (modifié de Deepak *et al.*, 2008) (**Annexe n° 1**), suivi d'une exposition à un choc thermique à 80 °C pendant 15 minutes puis immédiatement refroidie sur des glaçons. L'ensemencement a ensuite été effectué directement sur gélose BS. Les boîtes sont ensuite incubées à 37°C pendant une durée de 24 à 48 heures (Daneshazari *et al.*, 2023b)

### **1.4. Isolement des souches anaérobies**

#### **1.4.1. Enrichissement du milieu MRS**

Pour favoriser la croissance des bactéries anaérobies, le milieu Man, Rogosa et Sharpe (MRS) a été enrichi par 0,125 g de cystéine dissoute dans 10 ml d'eau distillée suivit d'une agitation magnétique. La solution obtenue a ensuite été filtrée à travers un filtre de 0,22 µm puis incorporée dans 250 ml du milieu MRS en surfusion (Yasmin *et al.*, 2020).

#### 1.4.2. Ensemencement et incubation

Une série de dilutions décimales de l'échantillon a été réalisée, allant de  $10^{-1}$  à  $10^{-6}$ . L'ensemencement en masse a été réalisé en introduisant 1 mL de l'échantillon dans une boîte de Pétri stérile, puis en ajoutant le milieu MRS enrichi en cystéine en surfusion. Un mouvement circulaire de la boîte ensemencée permet une bonne homogénéisation. Les boîtes ont ensuite été incubées à 37°C pendant 72 heures dans des conditions d'anaérobiose (Yasmin *et al.*, 2020).

#### 1.4.3. Préparation de la jarre d'anaérobiose

Une jarre d'anaérobiose (**Figure 3**) a été simulée par un bêcher de 1000 ml de volume. Un support métallique, spécialement conçu pour être fixé au grand couvercle de la jarre, a été installé pour garantir une fermeture hermétique grâce à un mécanisme à vis. Pour créer une atmosphère d'anaérobiose, une bougie a été placée à l'intérieure. Après l'introduction des boîtes de Pétri, le bêcher a été fermé hermétiquement avec le couvercle, puis emballé d'un film plastique pour assurer une étanchéité à l'air optimale (Joffin et Leyral, 2006).



**Figure 3 :** Jarre anaérobiose préparée pour l'incubation

## 2. Purification

Les colonies bactériennes apparues après isolement sont repiquées 4 fois sur milieu GN et MRS jusqu'à obtention des colonies pures (Daneshazari *et al.*, 2023b).

## 3. Conservation

### 3.1. Conservation de courte durée

Les souches bactériennes pures sont conservées sur les milieux GN et MRS en gélose Inclinée. Les cultures sont conservées à 4°C (Myhre *et al.*, 1977).

### **3.2. Conservation de longue durée**

Les souches bactériennes pures sont conservées pour une longue durée dans du bouillon nutritif contenant 50% (v/v) du glycérol et stockés à -20°C (Evans, 2024).

## **4. Identification des bactéries lactiques**

### **4.1. Caractérisation morphologique**

#### **4.1.1. Aspect morphologique (caractères culturaux)**

Les caractères morphologiques sont déterminés après ensemencement des isolats obtenus sur les milieux GN et MRS. La caractérisation macroscopique est basée sur les caractères suivants : la forme, le relief, le contour, la taille, la surface, la couleur, l'opacité et la consistance des colonies (Van Teeseling *et al.*, 2017).

#### **4.1.2. Aspect microscopique**

##### **➤ Coloration de Gram**

La coloration de Gram (**Annexe n° 2**) a été réalisée à l'aide de frottis bactériens pour différencier les souches Gram positives des souches Gram négatives. L'évaluation a été réalisée au microscope optique selon la technique classique de Gram (Delarras, 2007).

##### **➤ Coloration au vert de malachite**

L'application d'une coloration au vert de malachite (**Annexe n° 2**) permet de détecter la présence des endospores bactériennes. Elle a été utilisée selon la méthodologie Shaeffer-Fulton. Après la fixation du frottis, le colorant est appliqué sous conditions thermiques contrôlées, puis accompagné d'une contre-coloration à la safranine. L'examen microscopique facilite la distinction entre les spores (présentant une coloration verte) et les cellules végétatives (avec une coloration rose) (Delarras, 2007).

### **4.2. Caractérisation biochimique**

#### **4.2.1. Test de la catalase**

La catalase est une enzyme qui catalyse la dégradation du peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) selon la réaction suivante :



Ce test consiste à mettre un fragment d'une colonie sur une goutte d'eau oxygénée déposée sur une lame. Les réactions positives se manifestent par une effervescence immédiate (formation de bulles d'oxygène) (Reiner, 2010).

#### **4.2.2. Test de fermentation du mannitol et de la mobilité**

Les souches isolées ont été ensemencées par piqûre centrale sur le milieu Mannitol-Mobilité. Pour la souche anaérobiose, une couche d'huile de vaseline a été ajoutée pour maintenir des conditions d'anaérobiose. Après incubation, la fermentation du mannitol et la mobilité bactérienne ont été évaluées selon la couleur du milieu et la diffusion de la croissance (Joffin et Leyral, 2006).

#### **4.2.3. Hydrolyse de l'amidon**

L'amidon est une longue molécule de glucide composée d'une centaines de molécules de glucose liées entre elles pour former une très longue chaîne.



Ci-dessus, la réaction chimique catalysée par l'enzyme amylase. L'amidon, un long polysaccharide, est hydrolysé par l'enzyme amylase. Les produits sont des molécules de glucose (un monosaccharide) et de maltose (un disaccharide).

La capacité des souches bactériennes à hydrolyser l'amidon est testée sur des boites de Pétri contenant de l'amidon soluble à 1% (**Annexe n° 1**). Après ensemencement et incubation à 37°C pendant 48h, les boites sont inondées avec une solution de Lugol. La présence de zones claires autour des colonies révèle l'hydrolyse de l'amidon (Lal et Cheeptham, 2012).

#### **4.2.4. Hydrolyse de la caséine**

La synthèse de la caséinase est étudiée par la réalisation d'une strie à la surface d'un milieu gélosé enrichi en lait écrémé (**Annexe n° 1**). À la fin d'une période d'incubation de 24 à 48 heures à une température de 37 °C, l'apparition d'une zone transparente entourant la strie sert d'indicateur d'une activité caséinase positive (Delarras, 2007).

#### **4.2.5. Hydrolyse de la pectine**

Le milieu pectine-agar (**Annexe n° 1**) permet de voir si les souches bactériennes sont capables de produire la pectinase. Après 48 heures d'incubation à 37°C, les boîtes sont recouvertes d'une solution d'acétate de cuivre à 10 % (**Annexe n° 1**) pendant 10 minutes à

température ambiante. Un halo clair autour des stries indique un résultat positif, tandis que son absence traduit un résultat négatif (Mosaad Khattab, 2022).

#### **4.2.6. Activité estérasique**

L'étude de l'activité de l'estérase a été réalisée à l'aide d'un milieu gélosé au Tween 80. Une strie est inoculée à la surface du milieu, qui est ensuite incubée à une température de 37°C pendant une durée allant de 24 à 48 heures. L'apparition d'un précipité opaque entourant la strie indique la présence d'une activité estérasique positive (Joffin et Leyral, 2006).

#### **4.2.7. Recherche de la lécithinase**

La gélose au jaune d'œuf (**Annexe n° 1**) est un milieu enrichi et différentiel utilisé pour isoler et différencier certaines espèces bactériennes en fonction de leur activité lécithinase. La lécithine, naturellement présente dans le jaune d'œuf, peut être dégradée par cette enzyme. Cette réaction produit de la phosphorylcholine et un diglycéride insoluble, provoquant la formation d'un précipité visible dans le milieu. Après ensemencement et incubation à 37°C pendant 24h à 48h, la présence de la lécithinase est détectée par l'apparition d'un halo opaque de couleur blanche qui s'étend dans le milieu entourant les colonies (Aryal, 2022).

#### **4.2.8. Fermentation du lactose, du glucose, du saccharose, et la production du sulfure d'hydrogène**

La gélose TSI (Triple Sugar Iron) permet de révéler certains caractères biochimiques des bactéries, notamment leur capacité à fermenter le glucose, le lactose et le saccharose, ainsi qu'à produire du sulfure d'hydrogène. L'ensemencement est réalisé à partir d'une colonie bactérienne à travers une piqûre dans le culot et des stries serrées au niveau de la surface inclinée. Les tubes sont incubés à 37°C pendant 18h à 24h (Lehman, 2005).

L'utilisation de l'un des sucres présents dans le milieu se traduit par une acidification (le virage de couleur du rouge de phénol au jaune), à l'inverse une alcalinisation se révèle par une coloration rouge foncée. La production de sulfure d'hydrogène à partir du thiosulfate est mise en évidence par la formation d'une coloration noire (Lehman, 2005).

La présence de bulles dans le culot indique une forte concentration de gaz. En présence de grandes quantités de gaz, la gélose peut se briser ou être poussée vers le haut (Lehman, 2005).

#### **4.2.9. Galerie API 20<sup>E</sup>**

La galerie API 20<sup>E</sup> a été utilisée pour évaluer les caractéristiques biochimiques de souches isolées, en se concentrant spécifiquement sur la fermentation des sucres et diverses

activités enzymatiques. Cinq souches distinctes ont été examinées conformément au protocole de la galerie. Pour la souche strictement anaérobie, tous les microtubes ont été remplis d'huile de vaseline puis scellés avec un film plastique avant incubation (Delarras, 2007).

### **4.3. Caractérisation physiologique**

#### **4.3.1. Tolérance au NaCl**

L'évaluation de la tolérance au sel des isolats est réalisée sur un milieu GN supplémenté de NaCl à des concentrations de 2 %, 9 % et 15 %. L'inoculation est réalisée par des stries à la surface du milieu. Après incubation à une température de 37 °C pendant 24 à 48 heures, la présence de colonies en croissance constitue un indicateur de tolérance au NaCl (Hawaz *et al.*, 2016).

#### **4.3.2. Détermination du type respiratoire**

L'étude de la croissance dans un milieu où la pression en oxygène est égale ou inférieure à celle de l'air permet d'apprécier la tolérance des souches à l'oxygène. Le milieu utilisé pour la détermination du type respiratoire est la gélose Viande-Foie placée dans un tube fin et ensemencé à l'aide d'une pipette Pasteur fermée et chargée, en remontant en spirale. Le tube est incubé après solidification à 37°C (Joffin et Leyral, 2006). La lecture des résultats est la suivante :

- Culture en présence d'oxygène seulement : Aérobiose strict.
- Culture en absence d'oxygène seulement : Anaérobiose strict.
- Culture en présence et en absence d'oxygène : Aéro-anaérobiose facultatif.
- Culture dans une zone étroite de la gélose située au-dessous de la zone aérobiose : micro-aérophile.

#### **4.3.3. Test de l'activité hémolytique**

Pour évaluer l'activité hémolytique, une gélose nutritive enrichie a été préparée en ajoutant 8 mL de sang à 180 mL de gélose en surfusion. Une petite quantité de chaque souche a été déposée directement sur la surface du milieu. Les boîtes ont ensuite été incubées à 37°C pendant 24 à 48 heures. L'apparition éventuelle d'un halo clair ou verdâtre autour des points d'inoculation a été observée pour déterminer l'activité hémolytique (Buxton, 2005).

# **RÉSULTATS ET**

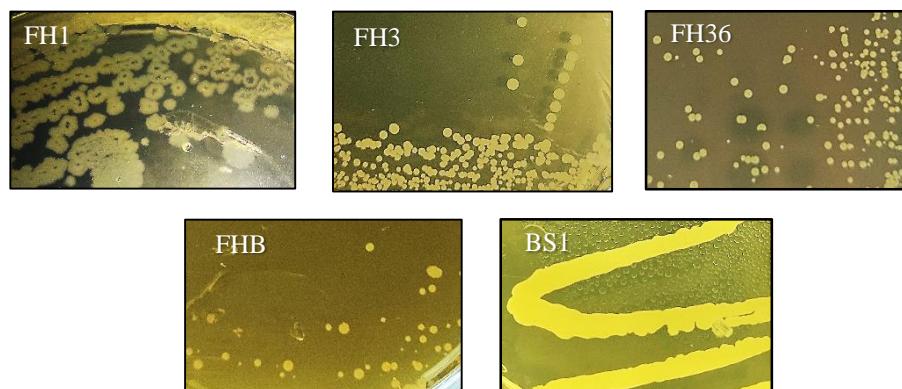
# **DISCUSSION**

## 1. Caractérisation morphologique, biochimique et physiologique des isolats

Cette caractérisation, qui repose sur une approche phénotypique, permet d'établir la diversité taxonomique des isolats. Les caractères morphologiques, culturaux, biochimiques et physiologiques, permet généralement une identification des isolats au niveau du genre.

### 1.1. Caractérisation morphologique des isolats

#### 1.1.1. Observation macroscopique et caractères culturaux



**Figure 4 :** Aspect macroscopique des isolats

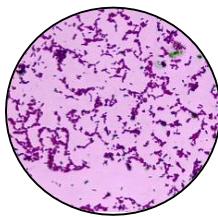
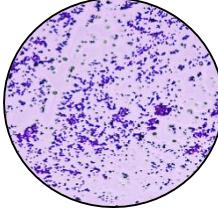
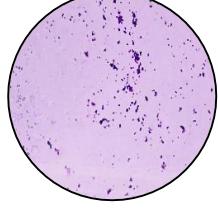
**Tableau 2 :** Résultats de l'observation macroscopique.

	FH1	FH3	FH36	FHB	BS1
<b>Forme</b>	Irrégulière	Circulaire	Circulaire	Circulaire	Circulaire
<b>Relief</b>	Convexe	Convexe	Convexe	Convexe	Convexe
<b>Contour</b>	Ondulé	Régulier	Régulier	Régulier	Ondulé
<b>Taille</b>	Moyenne	Moyenne	Moyenne	Petite	Grande
<b>Surface</b>	Lisse	Lisse	Lisse	Lisse	Lisse
<b>Couleur</b>	Blanchâtre	Blanchâtre	Blanchâtre	Blanchâtre	Blanchâtre
<b>Opacité</b>	Opaque	Opaque	Opaque	Opaque	Translucide
<b>Consistance</b>	Muqueuse	Crémeuse	Crémeuse	Crémeuse	Muqueuse

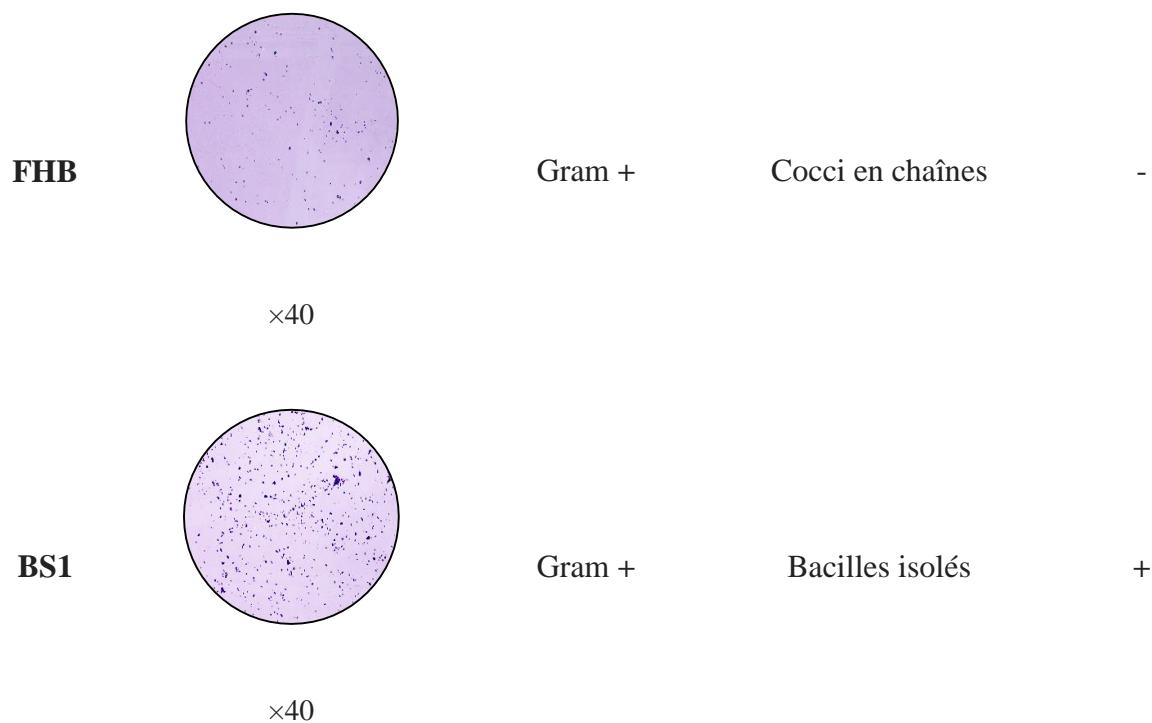
Après incubation sur des milieux GN et MRS, les cinq isolats bactériens (FH1, FH3, FH36, FHB et BS1) ont montré une diversité morphologique (**Figure 4**). Plusieurs critères distinguent les colonies (**Tableau 2**) : leur forme, leur taille, leurs contours, leur surface, leur relief, leur opacité et leur consistance.

### 1.1.2. Observation microscopique

Tableau 3 : Résultats de l'observation microscopique des isolats bactériens.

Photo microscopique	Coloration de gram	Forme	Présence des spores
	Gram +	Bacilles	+
×40			
	Gram +	Cocci en chaînes	-
×40			
	Gram +	Cocci en amas	-
×40			

**Tableau 3 :** Résultats de l'observation microscopique des isolats bactériens (suite)



(-) : Absence de spores visibles

(+) : Présence de spores visibles (colorées en vert par le vert malachite)

L'analyse microscopique (**Tableau 3**) suite à la coloration de Gram a démontré que tous les isolats se sont révélés Gram-positifs. Trois des isolats (FH3, FH36, FHB) ont une forme cocci, alors que les deux autres (FH1 et BS1) prennent la forme de bacilles. On a seulement constaté la présence de spores chez FH1 et BS1, en utilisant la coloration au vert malachite selon la technique de Shaeffer-Fulton.

## 1.2. Caractérisation biochimique et physiologique des isolats

**Tableau 4 :** Résultats des tests biochimiques et physiologiques des isolats bactériens.

	<b>FH1</b>	<b>FH3</b>	<b>FH36</b>	<b>FHB</b>	<b>BS1</b>
<b>Catalase</b>	+	+	+	+	+
<b>Mannitol-mobilité</b>	MAN +	MOB -	MAN -	MOB -	MAN -
<b>TSI</b>	+	+	+	-	+
<b>Hydrolyse de :</b>					
L'amidon	-	-	-	-	+
Pectine	-	-	-	-	-

**Tableau 4 :** Résultats des tests biochimiques et physiologiques des isolats bactériens (suite)

Caséine	+	-	-	+	+
Tween 80	-	-	-	-	-
Lécithine	-	-	-	-	-
<b>Croissance</b>					
à :					
NaCl 2%	+	+	+	+	+
NaCl 9%	+	+	+	+	+
NaCl 15%	+	+	+	+	-
<b>Type respiratoire</b>	Aérobiose strict	Aéro-anaérobiose facultatif	Aérobiose strict	Microaérophile	Aérobiose strict
<b>Activité hémolytique</b>	γ-hémolytique	γ-hémolytique	γ-hémolytique	γ-hémolytique	α-hémolytique

(-) : Absence d'activité ou de croissance

(+) : Présence d'activité ou de croissance

Les résultats rassemblés dans le **Tableau 4**, montrent que l'ensemble des isolats présente une catalase positive. Concernant le test Mannitol-Mobilité, seuls les isolats FH1 et BS1 sont capables de fermenter le mannitol, bien qu'ils soient immobiles. Les autres isolats (FH3, FH36, FHB) sont négatifs à la fois pour la fermentation du mannitol et la mobilité bactérienne. Pour la fermentation du glucose, saccharose et lactose, 80 % des isolats (FH1, FH3, FH36 et BS1) ont exhibé un changement de couleur vers le jaune au niveau du culot uniquement. En revanche, 20 % des isolats (FHB) n'ont montré aucun changement de couleur.

Dans les analyses enzymatiques effectuées (pour détecter la pectinase et la lécithinase), aucune des cinq souches examinées n'a démontré la production de ces enzymes. Lors de l'essai d'activité amylolytique (aptitude à décomposer l'amidon), seulement 20 % des isolats (BS1) ont produit un résultat positif. Par contre, 80 % des isolats (FH1, FH3, FH36 et FHB) n'ont démontré aucune activité amylolytique.

Pour ce qui est de l'hydrolyse de la caséine, l'isolat BS1 a présenté une activité élevée (+++), les isolats FH1 et FHB ont montré une activité modérée (++) , tandis que les isolats FH3 et FH36 n'ont démontré aucune activité. Pour le test de l'activité estérasique sur le milieu Tween 80, aucun des isolats testés n'a révélé la présence d'une activité, tous se sont révélés négatifs.

Quant à la résistance au sel, tous les isolats ont réussi à se développer en présence de NaCl à 2% et 9%, tandis que seul BS1 n'a pas supporté une concentration élevée de 15%. Concernant le type de respiration, 60 % des isolats (FH1, FH36 et BS1) ont montré une

croissance uniquement en présence d'oxygène. 20 % des isolats (FH3) ont montré une croissance similaire, qu'ils soient en présence ou en absence d'oxygène. 20 % des isolats (FHB) ont poussé uniquement dans une région spécifique où la teneur en oxygène est diminuée, mais pas en surface.

Les données relatifs à l'hémolyse indiquent que 80% des isolats (FH1, FH3, FH36, FHB) sont  $\gamma$ -hémolytiques, alors que BS1 a démontré une hémolyse de type  $\alpha$ .

Dans le **Tableau 5**, les isolats ont montré une diversité enzymatique importante, variable selon les isolats. Le test ONPG donne un résultat positif pour les isolats FH1 et FHB, signifiant une activité positive de la  $\beta$ -galactosidase. La dihydrolase de l'arginine (ADH) ne montre une négativité que pour FH3, alors que la lysine décarboxylase (LDC) n'est négative que pour BS1. Tous les isolats montrent une positivité pour l'ornithine décarboxylase (ODC). Seul l'isolat BS1 a montré la capacité d'utiliser le citrate (CIT). Aucun isolat ne génère de sulfure d'hydrogène ( $H_2S$ ). On observe une activité uréasique (URE) chez FH3, FH36 et FHB. Seul l'isolat FHB est négatif au test TDA, tandis que seul cet isolat produit de l'indole (IND). Tous les isolats ont donné un résultat positif au test Voges-Proskauer (VP). On observe l'hydrolyse de la gélatine (GEL) chez FH1 et BS1. Tous les isolats ont montré une fermentation positive pour les sucres testés (glucose, mannitol, inositol, sorbitol, rhamnose, saccharose, mélibiose, amygdaline et arabinose). Tous les isolats ont également montré des résultats positifs lors des tests de détection des nitrates ( $NO_3^-$ ) et des nitrites ( $NO_2^-$ ).

**Tableau 5 :** Profil biochimique des isolats selon la galerie API 20E.

	ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	$H_2S$	URE	TDA	IND	VP	GEL	GLU	-	$NO_2^-$	$NO_3^-$
														ARA	
<b>FH1</b>	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+
<b>FH3</b>	-	-	+	+	-	-	+	+	-	+	-	+	-	+	+
<b>FH36</b>	-	+	+	+	-	-	+	+	-	+	-	+	-	+	+
<b>FHB</b>	+	+	+	+	-	-	+	-	+	+	-	+	-	+	+
<b>BS1</b>	-	+	-	+	+	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+

(-) : Réaction positive

(+) : Réaction négative

## ➤ Discussion générale

L'examen microscopique des isolats a mis en évidence une diversité morphologique cellulaire importante. Les isolats FH1 et BS1 ont été observés comme des bacilles sporulés, alors que FH3, FH36 et FHB se présente sous forme de cocci non sporulés. Les isolats sporulés FH1 et BS1 sont en accord avec les définitions des espèces appartenant au genre *Bacillus* (Whitman *et al.*, 2009). Ces dernières se distinguent par leurs cellules bacillaires dont les extrémités sont arrondies ou carrées, fréquemment disposées en filaments et leur capacité à produire des spores ovales ou ellipsoïdales qui se trouvent généralement positionnées de façon centrale ou subterminale. Des espèces comme *Bacillus cereus*, *B. subtilis* ou *B. megaterium* présentent particulièrement cette morphologie (Whitman *et al.*, 2009). Cependant, les isolats FH3, FH36 et FHB exhibent une morphologie sphérique ou ovale en agrégats ou en filaments, sans production de spores. Cette caractéristique est compatible avec les genres *Streptococcus* ou *Pediococcus*, tous deux caractérisés par des cocci Gram positifs non sporogènes, disposés en paires, en tétraèdres ou en chaînes courtes (Whitman *et al.*, 2009). Ces types se rattachent à la famille des *Streptococcaceae* et sont fréquemment présents dans les aliments laitiers.

Il est inhabituel de trouver une activité catalase positive chez tous les isolats, typiquement pour les bactéries lactiques strictes, bien que cela puisse se produire dans le cas de bactéries lactiques hétérofermentaires (Hamed et Elattar, 2013). L'isolat BS1, qui produit des spores et possède la capacité d'hydrolyser l'amidon, se distingue par une physiologie plus résistante et pourrait être classé dans le genre *Bacillus* malgré sa positivité à la catalase, un caractère atypique pour les bactéries lactiques bactéries lactiques mais observé chez certaines souches environnementales sporulées (Ziane *et al.*, 2016).

Seuls les isolats FH1 et BS1 ont effectué la fermentation du mannitol. Ce constat est en accord avec l'étude de Sharma *et al.*, (2021), qui ont démontré que les variétés cam12 (*Lactococcus lactis*), cam14 (*Enterococcus lactis*) et cam15 (*Lactiplantibacillus plantarum*) avaient la capacité à métaboliser ce sucre. De ce fait, l'aptitude à fermenter le mannitol chez FH1 et BS1 pourrait être utilisée comme un critère technologique de sélection dans les milieux sucrés ou prébiotiques. Tous les isolats se sont révélés immobiles. Comme le soulignent Hawaz *et al.*, (2016), ce profil est typiquement associé aux bactéries lactiques, avec des *Lactobacillus* et *Lactococcus* extraits du lait de chameau qui se caractérisent par une catalase négative et une absence de mobilité. Cette absence de mobilité n'est pas perçue comme un désavantage, étant donné qu'elle constitue une adaptation écologique à des environnements stables tels que le lait

fermenté, sans pour autant nuire à leur potentiel probiotique. Inversement, cela peut témoigner d'une innocuité et d'une stabilité souhaitables dans les cultures de fermentation.

L'isolat BS1 a démontré une activité amylolytique, contrairement aux autres isolats. Les polysaccharides sont constitués de dix unités monosaccharidiques identiques ou différentes, reliées par des liaisons glycosidiques  $\alpha$  ou  $\beta$  (Gerwig, 2019).

Les hydrolases variées sont employées par les bactéries lactiques pour la décomposition des polysaccharides. Les aliments fermentés renferment des polysaccharides capables de fournir de l'énergie aux bactéries lactiques ainsi qu'à différentes substances bénéfiques pour l'homme durant le processus de fermentation. Plusieurs variétés de bactéries lactiques ont la capacité de métaboliser divers polysaccharides, y compris l'amidon, ce qui justifie les multiples applications des souches associées dans le secteur de l'alimentation (Velikova *et al.*, 2016).

L'examen de l'hydrolyse de la caséine a démontré une activité protéolytique qui varie en fonction des isolats. L'isolat BS1 a présenté une hydrolyse forte (+++), contrairement aux isolats FH1 et FHB qui ont présenté une activité modérée (++) , alors que FH3 et FH36 se sont avérés négatifs à ce test. Ces résultats suggèrent que seulement un sous-ensemble des souches montre une activité caséinase notable, susceptible de participer à la décomposition des protéines lactées. L'aptitude enzymatique est un facteur important lors du choix des souches destinées à des applications dans les domaines de la biotechnologie et de la fermentation. Les isolats BS1, FH1 et FHB effectuent l'hydrolyse de la caséine pour démontrer leur capacité à décomposer les protéines, un aspect essentiel pour les probiotiques étant donné que cela facilite la libération de peptides bioactifs (Biscola *et al.*, 2018 ; Kordesedehi *et al.*, 2018 ; Worsztynowicz *et al.*, 2019).

Dans le secteur agroalimentaire, les bactéries lactiques ont la capacité de décomposer les protéines afin d'éliminer les allergènes protéiques contenus dans les denrées alimentaires. Notamment dans le cadre de la fermentation des produits laitiers, les bactéries lactiques sont capables de décomposer la caséine, ce qui réduit leur potentiel allergène selon Iwamoto *et al.*, (2019). Par exemple, certaines variétés d'*Enterococcus faecium* extraites du lait et du fromage fermentés peuvent produire des métalloprotéases ou des protéinases de membrane cellulaire (CEP) (Genay *et al.*, 2009), entre autres, capables de décomposer efficacement la caséine du lait (Biscola *et al.*, 2018 ; Kordesedehi *et al.*, 2018 ; Worsztynowicz *et al.*, 2019). Selon Savijoki *et al.*, (2006), les bactéries lactiques ont la capacité de générer une variété de composés bénéfiques pour l'homme en décomposant les protéines présentes dans leur environnement pour favoriser leur propre développement.

Concernant la tolérance au sel, tous les isolats ont réussi à croître en présence de NaCl à des concentrations allant de 2% et 9%. Ce résultat révèle une tolérance pour la plupart des

souches, à la salinité relativement élevée. Cette caractéristique importante confère à ces bactéries une stabilité dans les milieux alimentaires salés ou dans les matrices fermentées ou transformées. Ces résultats sont différents de ceux obtenus par Khedid *et al.* (2009), où seulement 15 % des souches isolées du lait de chameau ont montré une tolérance à 6.5 % de NaCl.

La pectine se trouve principalement dans les parois des cellules végétales en tant que polysaccharide complexe. Les enzymes pectinases, à l'instar des polygalacturonases et des pectolyses, sont peu fréquemment sécrétées par les bactéries lactiques dans le processus de pectinolise (Gänzle, 2015). Les bactéries lactiques conçues pour des milieux riches en lactose, protéines et sucres simples (tels que le lait ou le tube digestif) ne possèdent généralement pas l'appareil enzymatique nécessaire à la dégradation de la pectine (Bonomo, 2003). Selon Soraes *et al.* (2001), les pectinases sont surtout produites par des microorganismes phytopathogènes ou des bactéries participant à la dégradation des végétaux (tels que *Bacillus*, *Erwinia* ou *Pseudomonas*). En revanche, les bactéries lactiques ne disposent pas de ces propriétés enzymatiques du fait de leur niche écologique spécifique. Dong *et al.* (2024) notent que les essais de criblage de bactéries lactiques concernant l'activité pectinolytique sur un milieu à pectine sont majoritairement négatifs, à l'exception de quelques souches atypiques extraites de milieux très nutritifs pour les plantes. Le fait que les isolats examinés ne présentent aucune activité pectinolytique concorde avec leur provenance laitière (lait de chameau), un environnement dépourvu de pectine, ce qui restreint la sélection pour cette enzyme spécifique (Soraes *et al.*, 2001). Selon Kandler et Weiss (1986), la majorité des espèces de *Lactobacillus* et *Pediococcus* sont anaérobies et tolèrent l'aérobiose. Il est possible que certaines souches de *Lactococcus* et d'*Enterococcus* se développent dans des conditions microaérophiles ou même aérobies. Par ailleurs, Hammes et Hertel (2009) soutiennent que certaines souches de bactéries lactiques, en particulier celles issues d'environnements spécifiques comme le lait cru ou fermenté, peuvent développer une activité respiratoire lorsqu'elles sont exposées à l'oxygène. L'isolat microaéophile est une espèce qui nécessite des concentrations d'oxygène faibles, ce qui est aussi vrai pour certaines variétés de *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus* (Glušac *et al.*, 2015).

L'examen de l'activité estérasique de nos isolats de bactéries lactiques sur gélose au Tween 80 n'a révélé aucune zone d'opacité, signalant une absence d'activité estérasique mesurable dans les conditions expérimentales. Néanmoins, certaines bactéries lactiques ont la capacité de générer des estérases, notamment lors de la fermentation de substrats à forte teneur lipidique tels que les produits laitiers. Cependant, cette activité enzymatique est influencée par

plusieurs paramètres, notamment les conditions de culture, le genre de souche, et la présence et l'expression de gènes spécifiques (Oliszewski *et al.*, 2007 ; Bhardwaj *et al.*, 2020 ; Landete *et al.*, 2021). Il est donc envisageable que nos souches contiennent des estérasées intracellulaires ou non exprimées dans les conditions de l'essai. En résumé, l'absence d'activité estérasique constatée pourrait être due soit à une expression génique faible, soit à des conditions de culture qui ne sont pas optimales. On pourrait envisager d'utiliser des techniques plus sensibles telles que des dosages enzymatiques spécifiques pour valider ces résultats.

D'après Bottone (2010), les bactéries lactiques, y compris celles utilisées comme probiotiques, manquent généralement d'activité lécithinase, ce qui renforce leur considération comme étant sans danger. Toutefois, une activité de lécithinasique pourrait signaler la présence de pathogénicité chez certaines entérobactéries et bacilles sporulés. D'après les directives de la FAO/OMS (2002), l'absence d'activité lécithinase constitue un critère de sûreté lors du choix des souches probiotiques.

Les résultats obtenus sur le milieu TSI (Triple Sugar Iron), ont démontré une fermentation positive du glucose, saccharose et lactose avec production d'acide uniquement au niveau du précipité pour les isolats FH1, FH3, FH36 et BS1. Ce changement est mis en évidence par la coloration jaune observée dans la partie inférieure du tube (culot), indiquant une acidification du milieu suite à la fermentation des sucres en conditions anaérobies. L'absence de fermentation des sucres testés est démontrée par le fait que l'isolat FHB n'a présenté aucun changement de couleur. Chez les bactéries anaérobies lactiques, le glucose est le substrat de choix pour la fermentation glycolytique (voie Embden-Meyerhof), générant principalement de l'acide lactique. La fermentation de disaccharides comme le saccharose ou le lactose dépend de la présence d'enzymes spécifiques telles que la bêta-galactosidase et la sucrase. Selon Axelsson (2004), bien que la majorité des bactéries lactiques fermentent le glucose, leur aptitude à consommer d'autres types de sucres comme le lactose ou le saccharose diffère selon l'espèce et la souche, notamment en fonction de son environnement écologique. Selon Carr *et al.*, (2002), certaines variétés d'*Enterococcus faecalis* et de *Lactobacillus fermentum* pourraient présenter un métabolisme très limité en fonction des conditions de culture et du milieu d'isolement.

Parmi les cinq isolats analysés, seul BS1 a montré une hémolyse de type  $\alpha$ , tandis que les isolats FH1, FH3, FH36 et FHB se sont avérés être  $\gamma$ -hémolytiques, c'est-à-dire sans hémolyse. Ce constat est en accord avec les observations documentées par Daneshazari *et al.*, (2023a), où l'isolat *Bacillus subtilis* GM1, dérivé du lait de chèvre, a démontré une activité  $\alpha$ -hémolytique. Par ailleurs, dans une autre recherche concernant des souches de *B. subtilis* issues du lait de chamelle, les deux variétés choisies ont aussi montré une hémolyse  $\alpha$  (Daneshazari *et*

*al.*, 2023b). D'un autre côté, une recherche réalisée par Khalifa *et al.*, (2023) sur des isolats de lait de chameau a démontré qu'aucune activité hémolytique n'était présente chez plusieurs souches identifiées, y compris *B. subtilis* PM5, ce qui renforce l'idée que l'hémolyse n'est pas systématique chez cette espèce. L'isolat BS1 se caractérise par son profil  $\alpha$ -hémolytique, ce qui nécessite une analyse supplémentaire en termes de sécurité probiotique. En effet, même si certains *B. subtilis* montrent une hémolyse légère ( $\alpha$ ), une hémolyse  $\beta$  exclurait leur utilisation probiotique. Simultanément, la plupart des isolats non hémolytiques (FH1, FH3, FH36 et FHB) renforcent leur caractère inoffensif, un critère primordial dans le choix de souches probiotiques selon les standards de sécurité préconisés.

Une diversité métabolique marquée a été remarquée pour la plus part des isolats obtenus. En ce qui concerne les voies de dégradation des acides aminés, tous les isolats ont montré une activité positive de l'ornithine décarboxylase (ODC). En revanche, la lysine décarboxylase (LDC) était négative uniquement pour BS1 et l'arginine dihydrolase (ADH) a été absente chez l'isolat FH3. Hawaz *et al.* (2016) ont également noté la capacité à hydrolyser l'arginine, en particulier chez *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* HUM1, *Pediococcus pentosaceus* HUM5, *Pediococcus acidilactici* HUM4 et *Lactococcus garviae* HUM6, attestant que cette fonction est courante mais varie selon l'espèce. Cependant, les résultats concernant l'ODC et le LDC ne concordent pas avec celles de Mete *et al.* (2016), qui ont observé qu'aucun des isolats de *Lactobacillus* et *Lactococcus* provenant du shalgam n'a décarboxylé l'ornithine ou la lysine. Cette différence pourrait être due à la variété écologique des niches d'isolement.

L'isolat BS1 est le seul à avoir la capacité d'utiliser le citrate comme unique source de carbone, ce qui pourrait indiquer qu'il appartient à une espèce du genre *Bacillus*. Selon les recherches de Khedid *et al.* (2009), l'usage du citrate a été mentionné comme un facteur distinctif.

Tous les isolats ont donné un résultat positif au test Voges-Proskauer (VP), qui montre la production d'acétoïne à partir du glucose. Ce constat est en accord avec les recherches de Sharma *et al.* (2020), qui ont relevé que la souche cam14 (*Enterococcus lactis*) manifestait cette activité, employée comme précurseur dans la production du 2,3-butane-diol.

Le test d'hydrolyse de la gélatine a mis en évidence une activité positive seulement chez les isolats FH1 et BS1, ce qui indique qu'ils produisent des gélatinases capables de décomposer les protéines structurelles telles que la gélatine. Cette caractéristique n'est pas présente de manière universelle chez les bactéries lactiques. Daliri *et al.* (2022) ont signalé que les souches de LAB extraites du soja fermenté coréen ne manifestaient aucune activité gélatinase, ce qui a été considéré comme un indicateur positif pour leur caractère probiotique. Par conséquent,

l'existence de cette activité chez FH1 et BS1 pourrait indiquer une compétence technologique accrue, mais exigerait une évaluation supplémentaire concernant sa sûreté en fonction de l'utilisation prévue.

Sur le plan saccharolytique, tous les isolats ont montré une fermentation positive pour l'ensemble des sucres examinés, comme le glucose, le mannitol, l'inositol, le sorbitol, le rhamnose, le saccharose, la mélibiose, l'amygdaline et l'arabinose. Cette vaste diversité de fermentation est en accord avec les travaux de Sharma *et al.*, (2020), où les souches cam12 (*Lactococcus lactis*), cam14 (*Enterococcus lactis*) et cam15 (*Lactiplantibacillus plantarum*) ont montré une polyvalence dans l'utilisation des substrats glucidiques.

Finalement, la réduction des nitrates et des nitrites a été positive pour tous les isolats, ce qui suggère une activité de la nitrate réductase. Cela fait référence aux résultats de Sharma *et al.*, (2020), qui ont observé une réduction des nitrates avec la souche cam12 (*Lactococcus lactis*), démontrant ainsi sa capacité à survivre dans des conditions anaérobies ou stressantes.

# **CONCLUSION ET**

# **PERSPECTIVES**

## ➤ Conclusion et Perspectives

L'augmentation de l'intérêt pour les probiotiques, tant en santé qu'en nutrition, a conduit à l'examen de nouvelles matrices présentant un potentiel biologique significatif. Ce travail a démontré que le lait cru de chameau, bien qu'encore sous-exploré malgré sa valeur nutritionnelle, pourrait être une source prometteuse de souches bactériennes avec des propriétés probiotiques potentielles. Grâce à une démarche systématique d'isolement et de caractérisation phénotypique, nous avons réussi à repérer divers isolats dotés de caractéristiques notables, y compris une bonne tolérance au sel, une activité enzymatique diverse et l'absence d'hémolyse pour la plupart d'entre eux.

Ces résultats valident l'idée d'utiliser des sources alternatives pour découvrir de nouveaux probiotiques et participent à l'élargissement des connaissances sur la diversité microbienne liée aux laits non conventionnels. L'analyse souligne également l'importance de valoriser les ressources locales, notamment celles provenant de systèmes agro-pastoraux traditionnels, généralement sous-estimés mais possédant un grand potentiel en biotechnologie.

Toutefois, il faut admettre certaines limites. La méthode utilisée se base essentiellement sur des données phénotypiques, qui bien qu'elles soient informatives, ne suffisent pas pour réaliser une identification taxonomique exhaustive. De plus, l'expression *in vitro* des caractéristiques probiotiques ne suffit pas à elle seule à prévoir l'efficacité réelle des souches. Il est donc essentiel de compléter ces observations par des tests fonctionnels détaillés, en particulier en examinant leur résistance aux conditions gastro-intestinales, leur pouvoir d'adhérence aux cellules épithéliales et leur influence sur le microbiote.

En poursuivant ce travail, une perspective à la fois réaliste et novatrice consisterait à incorporer ces souches dans des matrices alimentaires fonctionnelles. Grâce à ses propriétés organoleptiques et à sa capacité à préserver les bactéries viables, le chocolat constitue une option particulièrement attrayante pour l'élaboration de nouveaux produits qui allient plaisir gustatif et bienfaits pour la santé. D'autre part, l'utilisation de méthodes d'encapsulation pourrait optimiser la viabilité des souches pendant les phases de transformation et leur traversée du système digestif. Finalement, une analyse de leurs impacts physiologiques, via des tests sur animaux ou des recherches cliniques, contribuerait à confirmer leur utilisation comme probiotiques sûrs et performants.

Ce travail constitue un premier pas vers la valorisation de microorganismes indigènes provenant d'une ressource locale précieuse. Cela s'inscrit dans un mouvement plus vaste

combinant innovation, bien-être et autonomie alimentaire, et pave la route pour des applications futures tant en agroalimentaire qu'en biotechnologie.

## **REFERENCES**

## **BIBLIOGRAPHIQUE**

## A

- Abdolhosseinzadeh E., Dehnad A. R., Pourjafar H., Homayouni A., and Ansari F. (2018). The production of probiotic scallion yogurt : Viability of *Lactobacillus acidoplilus* freely and microencapsulated in the product. *Carpathian Journal of Food Science and Technology*
- Abrams S. A., Griffin I. J., Hawthorne K. M., Liang L., Gunn S. K., Darlington G., and Ellis K. J. (2005). A combination of prebiotic short- and long-chain inulin-type fructans enhances calcium absorption and bone mineralization in young adolescents. *The American Journal of Clinical Nutrition*
- Abushelaibi A., Al-Mahadin S., El-Tarably K., Shah N. P., and Ayyash M. (2017). Characterization of potential probiotic lactic acid bacteria isolated from camel milk. *LWT- Food Science and Technology*
- Aghamohammad S., Sepehr A., Miri S.T., Najafi S., Rohani M., and Pourshafiea M.R. (2022). The effects of the probiotic cocktail on modulation of the NF-kB and JAK/STAT signaling pathways involved in the inflammatory response in bowel disease model. *BMC Immunology* 23 (8)
- Akkasheh G., Kashani-Poor Z., Tajabadi-Ebrahimi M., Jafari P., Akbari H., Taghizadeh M., Memarzadeh M.R., Asemi Z., and Esmaillzadeh A. (2016). Clinical and metabolic response to probiotic administration in patients with major depressive disorder : A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Nutrition* 32 (3)
- Alaa A., Solhan M., Lalan R., Hiwa L., Mhamad N., Niga K.H., Awat J., Salar A., Brwa H., Daryan K., and Taib A. (2020). The antibiotic resistance pattern and molecular characterization of blaCTX and blaTEM genes of *E. coli* isolated from different hosts based on the rate of antibiotic consumption in Sulaymaniyah/Iraq. *Applied Ecology and Environmental Research*, 18(5), p. 6025–6040.
- Apolinário A.C., de Lima Damasceno B.P., de Macêdo Beltrão N.E., Pessoa A., Converti A., and da Silva J.A. (2014). Inulin-type fructans: a review on different aspects of biochemical and pharmaceutical technology. *Carbohydrate Polymers*, 101, p. 368–378.
- Arrigoni E., Marteau P., Briet F., Pochart P., Ramboud J. C., and Messing B. (1994). Tolerance and absorption of lactose from milk and yogurt during short-bowel syndrome in humans. *The American Journal of Clinical Nutrition* 60 (6)

- Arumugam M., Raes J., Pelletier E., Le Paslier D., Yamada T., Mende D., Fernandes G., Tap J., Bruls T., and Batto J. (2011). Enterotypes of the human gut microbiome. *Nature*, 473(7346), p. 174–180.
- Aryal S. (2022). Lecithinase Test – Principle, procedure, uses and interpretation. Microbiology Info.com
- Ashraf R., Shah N.P. (2011). Selective and differential enumeration of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei* and *Bifidobacterium* spp. in yoghurt – A review. *International Journal of Food Microbiology*, 149, p. 194–208.
- Axelsson, L. (2004). Lactic acid bacteria : classification and physiology. In Lactic Acid Bacteria. Microbiological and Functional Aspects, 3rd ed., CRC Press.
- Ayyash M., Abu-Jdayil B., Itsaranuwat P., Galiwango E., Tamiello-Rosa C., Abdullah H., and Hamed F. (2020). Characterization, bioactivities, and rheological properties of exopolysaccharide produced by novel probiotic *Lactobacillus plantarum* C70 isolated from camel milk. *International Journal of Biological Macromolecules*. Volume 144
- Ayyash M., Abushelaibi A., Al-Mahadin S., Enan M., El-Tarabily K., and Shah N. (2018). *In vitro* investigation into probiotic characterisation of *Streptococcus* and *Enterococcus* isolated from camel milk. *LWT*
- Azad M. A. K., Sarker M., and Wan D. (2018). Immunomodulatory Effects of Probiotics on Cytokine Profiles. *BioMed Research International*

## B

- Bahri F. (2014). Isolment et caractérisation des souches de lactobacilles à caractères probiotiques à partir de selles d'enfants. Thèse de doctorat : Microbiologie. Université Constantine 1, 24 p.
- Bali V., Panesar P.S., Bera M.B., and Panesar R. (2015). Fructo-oligosaccharides: Production, purification and potential applications. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 55(11), p. 1475–1490.
- Bao Y., Zhang Y., Zhang Y., Liu Y., Wang S., Dong X., Wang Y., and Zhang H. (2010). Screening of potential probiotic properties of *Lactobacillus fermentum* isolated from traditional dairy products. *Food Control*.
- Bhardwaj K.K., Mehta A., Thakur L., Gupta R. (2020). Influence of culture conditions on the production of extracellular esterase from *Bacillus licheniformis* and its characterization. *Journal of Oleo Science*, 69(5), p. 467–477.

- Bhutada S., Dahikar S., Hassan M.Z., and Kovaleva E.G. (2025). A comprehensive review of probiotics and human health: current prospective and applications. *Frontiers in Microbiology*, 15, p. 4-6.
- Biscola V., Choiset Y., Rabesona H., Chobert JM., Haertlé T., and Franco BDGM. (2018). Brazilian artisanal ripened cheeses as sources of proteolytic lactic acid bacteria capable of reducing cow milk allergy. *Journal of Applied Microbiology* 125 (2)
- Blacher E., Levy M., Tatirovsky E., and Elinav E. (2017). Microbiome-Modulated Metabolites at the Interface of Host Immunity. *The Journal of Immunology*
- Borchers A.T., Selmi C., Meyers F.J., Keen C.L., and Gershwin M.E. (2009). Probiotics and immunity. *Journal of Gastroenterology*, 44, p. 26–46.
- Bornet F.R., Brouns F. (2002). Immune-stimulating and gut health-promoting properties of short-chain fructo-oligosaccharides. *Nutrition Reviews*, 60(10), p. 326–334.
- Bottone E. J., (2010). *Bacillus cereus*, a volatile human pathogen. *Clinical Microbiology Reviews*, 23(2). P :382–398.
- Boudraa G., Touhami M., Pochart P., Soltana R., Mary J. Y., and Desjeux J. F. (1990). Effect of feeding yogurt versus milk in children with persistent diarrhea. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* 11 (4)
- Brown K., DeCoffe D., Molcan E., Gibson D.L. (2012). Diet-induced dysbiosis of the intestinal microbiota and the effects on immunity and disease. *Nutrients*, 4(8), p. 1095–1119.
- Burren A., Signer-Hasler H., Neuditschko M., Tetens J., Kijas J., Drögemüller C., and Flury C. (2014). Fine-scale population structure analysis of seven local Swiss sheep breeds using genome-wide SNP data. *Animal Genetic Resources* 55, 67–76.

## C

- Carr, F. J., Chill, D., & Maida, N. (2002). The lactic acid bacteria : A literature survey. *Critical Reviews in Microbiology*, 28(4). P : 281–370.
- Çekin A. H., Şahintürk Y., Akbay Harmandar F., Uyar S., Yolcular B. O., and Çekin Y. (2017). Use of probiotics as an adjuvant to sequential H. pylori eradication therapy : impact on eradication rates, treatment resistance, treatment-related side effects, and patient compliance. *Turk J Gastroenterol*
- Chandrasekaran P., Weiskirchen S., and Weiskirchen R. (2024). Effects of probiotics on gut microbiota: an overview. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(11), p. 6022.
- Chen L., Xu W., Lee A., He J., Huang B., Zheng W., Su T., Lai S., Long Y., Chu H., Chen Y., Wang L., Wang K., Si J., and Chen S. (2018). The impact of *Helicobacter pylori*

- infection, eradication therapy and probiotic supplementation on gut microenvironment homeostasis : An open-label, randomized clinical trial. *EBioMedicine*
- Chen X., Kelly C. P. (2006). *Saccharomyces* species. In : Versalovic J., Wilson M. Therapeutic Microbiology : Probiotics and Other Strategies. Washington DC : *American Society of Microbiology*. P : 51–60.
- Cherbut C. (2002). Inulin and oligofructose in the dietary fibre concept. *British Journal of Nutrition*, 87(Suppl. 2), p. S159–S162.
- Cho E. S., Chun J., Park J., Kim M., Hwang C. Y., Yoon D. J., Sisiya I. N., Seo D. H., and Seo M. J. (2020). *In vitro* assessment of probiotic properties for lactic acid bacteria isolated from Korean traditional fermented food, kimchi. Current Topics in Lactic Acid Bacteria and Probiotics 6 (1)
- Chugh B. et Kamal-Eldin A. (2020). Bioactive compounds produced by probiotics in food products. *Current Opinion in Food Science*
- Collado M., Gueimonde M., and Sanz Y. (2006). Adhesion properties and competitive pathogen exclusion ability of bifidobacteria with acquired acid resistance. *Journal of Food Protection*, 69, p. 1675–1679.
- Costa G.T., Abreu G.C., Guimarães A.B., Vasconcelos P.R., and Guimarães S.B. (2015). Fructo-oligosaccharide effects on serum cholesterol levels: an overview. *Acta Cirúrgica Brasileira*, 30(5), p. 366–370.
- Cristofori F., Dargenio V. N., Dargenio C., Miniello V. L., Barone M., and Francavilla R. (2021) Anti-Inflammatory and Immunomodulatory Effects of Probiotics in Gut Inflammation : A Door to the Body. *Front. Immunol*
- Cryan J.F., Dinan T.G. (2012). Mind-altering microorganisms: the impact of the gut microbiota on brain and behaviour. *Nature Reviews Neuroscience*, 13(10), p. 701–712.
- Cummings J. H., et Macfarlane G.T. (2002) Gastrointestinal effects of prebiotics. The British *Journal for Nutrition*

## D

- D’Souza A.L., Rajkumar C., Cooke J., and Bulpitt C.J. (2002). Probiotics in prevention of antibiotic associated diarrhoea: meta-analysis. *BMJ*, 324(7350), p. 1361.
- Dahroud B. D., Mokarram R. R., Khiabani M. S., Hamishehkar H., Bialvaei A. Z., and Yousefi M. (2016). Low intensity ultrasound increases the fermentation efficiency of *Lactobacillus casei* subsp. *casei* ATTC 39392. *International Journal of Biological Macromolecules*

- Daliri E.B., Kim Y., Do Y., Chelliah R., and Oh D.H. (2022). *In vitro* and *in vivo* cholesterol reducing ability and safety of probiotic candidates isolated from Korean fermented soya beans. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 14(1), p. 87–98.
- Daneshazari R., Rabbani Khorasgani M., and Hosseini-Abari A. (2023). Preliminary *in vitro* assessment of probiotic properties of *Bacillus subtilis* GM1, a spore forming bacteria isolated from goat milk. *Iranian Journal of Veterinary Research*, 24(1), p. 65–73.
- Daneshazari R., Rabbani Khorasgani M., Hosseini-Abari A., and Kim J.H. (2023). *Bacillus subtilis* isolates from camel milk as probiotic candidates. *Scientific Reports*, 13(1), p. 3387.
- De Vrese M., Stegelmann A., Richter B., Fenselau S., laue C., and Sehrezenmeir J. (2001). Probiotics compensation for lactase insuffisency. *American Journal of Clinical Nutrition* 73 (2)
- Deepak V., Kalishwaralal K., Ramkumar Pandian S., Babu S.V., Senthilkumar S.R., and Sangiliyandi G. (2008). Optimization of media composition for Nattokinase production by *Bacillus subtilis* using response surface methodology. *Bioresource Technology*, 99(17), p. 8170–8174.
- Delarras C. (2007). Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire. Paris : Éditions Tec & Doc – Éditions Médicales Internationales, p. 157–205
- Dethlefsen L., Huse S., Sogin M.L., and Relman D.A. (2008). The pervasive effects of an antibiotic on the human gut microbiota, as revealed by deep 16S rRNA sequencing. *PLoS Biology*, 6(11), p. e280.
- Dinan T. G., Stanton C., and Cryan J. F. (2013). Psychobiotics : a novel class of psychotropic. *Biological Psychiatry* 74 (10)
- Dominguez A.L., Rodrigues L.R., and Lima N.M. (2014). An overview of the recent developments on fructooligosaccharide production and applications. *Food and Bioprocess Technology*, 7, p. 324–337.
- Dong Y., Ronholm J., Fliss I., and Karboune S. (2024). Screening of Lactic Acid Bacteria Strains for Potential Sourdough and Bread Applications : Enzyme Expression and Exopolysaccharide Production. *Probiotics and antimicrobial Proteins*
- Dongo D. D. et Della Penna A. A. (2021). Le lait de chameau, un apport de probiotiques alliés santé. *Great Italian Food Trade*
- Draoult S., Anba J., and Corthier G. (2002). *Streptococcus thermophilus* is able to produce a beta-galactosidase active during its transit in the digestive tract of germ-free mice. *Applied Environmental Microbiology* 68 (2)

- Duranti S., Lugli G.A., Napoli S., Anzalone R., Milani C., Mancabelli L., Alessandri G., Turroni F., Ossiprandi M.C., van Sinderen D., and Ventura M. (2019). Characterization of the phylogenetic diversity of five novel species belonging to the genus *Bifidobacterium*: *Bifidobacterium castoris* sp. nov., *Bifidobacterium callimiconis* sp. nov., *Bifidobacterium goeldii* sp. nov., *Bifidobacterium samirii* sp. nov. and *Bifidobacterium bertae* sp. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 69(5), p. 1288–1298.
- Edalati E., Saneei B., Alizadeh M., Hosseini S. S., Zahedi Bialvaei A., and Taheri K. (2018). Isolation of probiotic bacteria from raw camel's milk and their antagonistic effects on two bacteria causing food poisoning. *New Microbes New Infect*
- Ereifej K. I., Alu'datt M. H., Alkhaldy H. A., Alli I., and Rababah T. (2011). Comparaison and characterisation of fat and protein composition for camel milk from eight Jordanian locations. *Food Chemistry* 127 (1)
- Evans B. (2024). Creating Bacterial Glycerol Stocks for Long-term Storage. protocols.io
- FAO/WHO. (2002). Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food. [https://isappscience.org/wp-content/uploads/2019/04/probiotic\\_guidelines.pdf](https://isappscience.org/wp-content/uploads/2019/04/probiotic_guidelines.pdf)

## F

- FAO, OMS. (2001). Évaluation des propriétés sanitaires et nutritionnelles des probiotiques dans les aliments, y compris le lait en poudre contenant des bactéries lactiques vivantes. Rapport d'une consultation conjointe d'experts FAO/OMS, Córdoba (Argentine), 1–4 octobre 2001. [En ligne] Disponible sur : <https://www.iqb.es/digestivo/pdfs/probioticos.pdf> (consulté le 9 décembre 2024).

- Farhamandi K. and Sulaimany S. (2021). Twenty years review of probiotic meta-analyses articles : Effects on disease prevention and treatment. *Scientific Reports* 14 (1)

- Fguiiri I., Ziadi M., Atigui M., Ayeb N., Arroum S., Assadi M., and Khorchani T. (2016). Isolation and characterisation of lactic acid bacteria strains from raw camel milk for potential use in the production of fermented Tunisian dairy products. *International Journal of Dairy Technology*

- Fontana L., Bermudez-Brito M., Plaza-Diaz J., Munoz-Quezada S., and Gil A. (2013). Sources, isolation, characterization and evaluation of probiotics. *British Journal of Nutrition*, 109, p. S35–S50.

- Frank D.N., St Amand A.L., Feldman R.A., Boedeker E.C., Harpaz N., and Pace N.R. (2007). Molecular-phylogenetic characterization of microbial community imbalances in human

- inflammatory bowel diseases. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 104(34), p. 13780–13785.
- Fukuda S., Toh H., Hase K., Oshima K., Nakanishi Y., Yoshimura K., Tobe T., Clarke J.M., Topping D.L., Suzuki T., Taylor T.D., Itoh K., Kikuchi J., Morita H., Hattori M., and Ohno H. (2011). Bifidobacteria can protect from enteropathogenic infection through production of acetate. *Nature*, 469(7331), p. 543–549.
- Fuller R. (1989). Probiotics in man and animals. *Journal of Applied Bacteriology*, 66, p. 365–378.
- Fusco W., Lorenzo M.B., Cintoni M., Porcari S., Rinninella E., Kaitsas F., Lener E., Mele M.C., Gasbarrini A., Collado M.C., Cammarota G., and Ianiro G. (2023). Short-chain fatty-acid-producing bacteria: key components of the human gut microbiota. *Nutrients*, 15(9), p. 2211.
- G**
- Gänzle M. G. (2015). Lactic metabolism revisited : metabolism of lactic acid bacteria in food fermentations and food spoilage. *Current Opinion in Food Science*. Volume 2
- Genay M., Sadat L., Gagnaire V., and Lortal S. (2009). prtH2, not prtH, is the ubiquitous cell wall proteinase gene in *Lactobacillus helveticus*. *Applied and Environmental Microbiology* 75 (10)
- George F., Daniel C., Thomas M., Singer E., Guilbaud A., Tessier F., Revol-Junelles AM., Borges F., and Foligné B. (2018). Occurrence and dynamism of lactic acid bacteria in distinct ecological niches : a multifaceted functional health perspective. *Frontiers in Microbiology* 27 (9)
- Gerwig G. J. (2019). Structural Analysis of Exopolysaccharides from Lactic Acid Bacteria. *Methods in Molecular Biology*. 1887 : 67-84.
- Gibson G.R., Roberfroid M.B. (1995). Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *Journal of Nutrition*, 125(6), p. 1401–1412.
- Gill H. S. (2003). Probiotics to enhance anti-infective defences in the gastro-intestinal tract. *Best Practices & Research Clinical Gastroenterology* 17 (5)
- Glušac J., Stijepić M., Đurđević-Milošević D., Milanović S., Kanurić K., and Vukić V. (2015). Growth and viability of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* in traditional yoghurt enriched by honey and whey protein concentrate. *Iranian Journal of Veterinary Research* 16(3)

- Goderska K., Agudo Pena S., and Alarcon T. (2018). *Helicobacter pylori* treatment : antibiotics or probiotics. *Applied Microbiology and Biotechnology* 102 (1)
- Gorbach S. (2002). Probiotics in the third millenium. *Digestive and Liver Disease*, 34(S2), p. 2–7.
- Gruenwald J., Graubaum H. J. and Harde A. (2002). Effect of a probiotic multivitamin compound on stress and exhaustion. *Advances in Therapy*
- Gualtieri P., Marchetti M., Cioccoloni G., De Lorenzo A., Romano L., Cammarano A., Colica C., Condò R., and Di Renzo L. (2020). Psychobiotics Regulate the Anxiety Symptoms in Carriers of Allele A of IL-1 $\beta$  Gene : A Randomized, Placebo-Controlled Clinical Trial. *Wiley*
- Guarner F., Schaafsma G.J. (1998). Probiotics. *International Journal of Food Microbiology*, 39, p. 237–238.
- Gueimonde M., Salminen S. (2006). New methods for selecting and evaluating probiotics. *Digestive and Liver Disease*, 38, Suppl. 2, p. S242–S247.
- Gupta N., Jangid A.K., Pooja D., and Kulhari H. (2019). Inulin: a novel and stretchy polysaccharide tool for biomedical and nutritional applications. *International Journal of Biological Macromolecules*, 132, p. 852–863.
- Guruge J. L., Falk P. G., Lorenz R. G., Dans M., Hans-Peter W., Martin J., Douglas E., and Jeffrey I. (1998). Epithelial attachment alters the outcome of *Helicobacter pylori* infection. *PNAS* 95 (7)

## H

- Hamed E. and Elattar A. (2013). Identification and some probiotic potential of lactic acid bacteria isolated from Egyptian camels milk. *Life Science Journal* 10 (1)
- Hammes W. P. and Hertel C (2006). “The Genera *Lactobacillus* and *Carnobacterium*”. In : Dworkin M., Falkow S., Rosenberg E., Schleifer K. H. and Stackebrandt E., Eds., *The Prokaryotes*, Vol. 4, 3rd Edition, *Springer*, New York. P : 320-403.
- Harms H. K., Bertele-Harms R. M., Bruer-Kleis D. (1987). Enzyme substitution therapy with the yeast *Saccharomyces cerevisiae* in congenital sucrase-isomaltase deficiency. *The New England Journal of Medicine* 16 (21)
- Havenga R., Huis in't Veld J.H.J. (1992). Probiotics: A general view. dans : Wood B.J.B. The Lactic Acid Bacteria, Vol. 1: The Lactic Acid Bacteria in Health and Disease. Londres : *Elsevier applied Science*, p. 151-170.

- Hawaz E., Guesh T., Kebede A., and Menkir S. (2016). Characterization of Lactic Acid Bacteria from Camel Milk and their Technological Properties to Use as a Starter Culture. *East African Journal of Sciences*, 10(1), p. 49–60.
- Hill C., Guarner F., Reid G., Gibson G. R., Merenstein D. J., Pot B., and Sanders M. E. (2014). Expert consensus document : The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nature reviews Gastroenterology & hepatology*.
- Hou R., Garner M., Holmes C., Osmond C., Teeling J., Lau L., and Baldwin D. S. (2017). Peripheral inflammatory cytokines and immune balance in generalised anxiety disorder : case-controlled study. *Brain, Behavior, and Immunity*

<https://www.intechopen.com/chapters/78764>

- Iwamoto H., Matsubara T., Okamoto T., Matsumoto T., Yoshikawa M., and Takeda Y. (2019) Ingestion of Casein Hydrolysate Induces Oral Tolerance and Suppresses Subsequent Epicutaneous Sensitization and Development of Anaphylaxis Reaction to Casein in Mice. *International Archives of Allergy and Immunology* 179 (3)

## J

- Jang W.J., Lee J.M., Hasan M.T., Lee B.J., Lim S.G., and Kong I.S. (2019). Effects of probiotic supplementation of a plant-based protein diet on intestinal microbial diversity, digestive enzyme activity, intestinal structure, and immunity in olive flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Fish and Shellfish Immunology*, 92, p. 719–727.

- Javanshir N., Hosseini G. N. G., Sadeghi M., Esmaeili R., Satarikia F., Ahmadian G., and Allahyari N. (2021). Evaluation of the Function of Probiotics, Emphasizing the Role of their Binding to the Intestinal Epithelium in the Stability and their Effects on the Immune System. *Biological Procedures Online* 23 (23)

- Joffin J.-N., Leyral G. (2006). Microbiologie technique : dictionnaire des techniques. 4<sup>e</sup> éd., tome 1. Bordeaux : CRDPA

## K

- Kamal M., Karoui R. (2017). Monitoring of mild heat treatment of camel milk by front-face fluorescence spectroscopy. *LWT - Food Science and Technology*

- Kandler O. and Weiss N. (1986). Regular, Non-Sporing Gram-Positive Rods. In : Sneath H.A., Mair N.S., Sharpe M.E. and Holt J.G., Eds., *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Williams and Wilkins, Baltimore. P : 1208-1234.

- Kechagia M., Basoulis D., Konstantopoulou S., Dimitriadi D., Gyftopoulou K., Skarmoutsou N., and Fakiri E.M. (2013). Health benefits of probiotics: a review. *ISRN Nutrition*.
- Kelesidis T., Pothoulakis C. (2012). Efficacy and safety of the probiotic *Saccharomyces boulardii* for the prevention and therapy of gastrointestinal disorders. *Therapeutic Advances in Gastroenterology*, 5(2), p. 111–125.
- Khalifa A., Ibrahim H.M., and Sheikh A. (2023). *Bacillus subtilis* PM5 from camel milk boosts chicken immunity and abrogates *Salmonella enteritidis* infections. *Microorganisms*, 11(7), p. 1719.
- Khan R.U., Naz S. (2013). The applications of probiotics in poultry production. *World's Poultry Science Journal*, 69, p. 621–632.
- Khay E. O., El Harsal A., Ouhsassi M., Idaomar M and Abrini J. (2013). Optimization of bacteriocin-like production by Enterococcus durans E204 isolated from camel milk of Morocco. *Aizeon publishers Current Research in Microbiology and Biotechnology* 1 (4).
- Khedid K., Faid M., Mokhtari A., Soulaymani A., and Zinedine A. (2009). Characterization of lactic acid bacteria isolated from the one humped camel milk produced in Morocco. *Microbiological Research* [en ligne], volume n°164
- Kim H.J., Camilleri M., McKinzie S., Lempke M.B., Burton D.D., Thomforde G.M., and Zinsmeister A.R. (2003). A randomized controlled trial of a probiotic, VSL#3, on gut transit and symptoms in diarrhoea-predominant irritable bowel syndrome. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*, 17(7), p. 895–904.
- Kordesedehi R., Taheri-Kafrani A., Rabbani-Khorasgani M., Kazemi R., Mutangadura D., and Haertle T. (2018). Modification of IgE binding to  $\alpha$ S1-casein by proteolytic activity of *Enterococcus faecium* isolated from Iranian camel milk samples. *Journal of Biotechnology*
- Kral M., Angelovicova M., Mrazova L. (2012). Application of probiotics in poultry production. *Animal Science and Biotechnologies*, 45(1), p. 55–57.
- Kruis W., Schütz E., Fric P., Fixa B., Judmaier G., and Stolte M. (1997). Double-blind comparison of an oral *Escherichia coli* preparation and mesalazine in maintaining remission of ulcerative colitis. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*, 11(5), p. 853–858.
- Kumar D., Verma A. K., Chatli M. K., Singh R., Kumar P., Mehta N., and Malav O. P. (2016). Camel milk : Alternative milk for human consumption and its health benefits. *Nutrition & Food Science*

L

- Lal A. et Cheeptham (2012). Starch Agar Protocol. American Society For Microbiology
- Landete J.M., Plaza-Vinuesa L., Montenegro C., Santamaría L., Reverón I., de Las Rivas B., and Muñoz R. (2021). The use of *Lactobacillus plantarum* esterase genes: a biotechnological strategy to increase the bioavailability of dietary phenolic compounds in lactic acid bacteria. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 72(8), p. 1035–1045.
- Leahy S.C., Higgins D.G., Fitzgerald G.F., and Van Sinderen D. (2005). Getting better with bifidobacteria. *Journal of Applied Microbiology*, 98, p. 1303–1315.
- Lehman D. (2005). Triple Sugar Iron Protocol. American Society For Microbiology
- Lesbros-Pantoflickova D., Corthésy-Theulaz I., and Blum A. L. (2007). *Helicobacter pylori* and Probiotics. *The Journal of Nutrition* 137 (3)
- Letexier D., Diraison F., and Beylot M. (2003). Addition of inulin to a moderately high-carbohydrate diet reduces hepatic lipogenesis and plasma triacylglycerol concentrations in humans. *American Journal of Clinical Nutrition*, 77(3), p. 559–564.
- Lezheiko T. V., Andryushchenko A.V., Korovaitseva G. I., Kondratiev N. V., Gabaeva M. V., Krikova E. V., and Golimbet V. E. (2018). A study on the association of genes for pro-inflammatory cytokines and depression. Zh Nevrol Psichiatr Im S S Korsakova
- Lilly D.M., Stillwell R.H. (1965). Probiotics: Growth promoting factors produced by microorganisms. *Science*, 147, p. 747–748.
- Lionetti E., Indrio F., Pavone L., Borrelli G., Cavallo L., and Francavilla R. (2010). Role of probiotics in pediatric patients with *Helicobacter pylori* infection : a comprehensive review of the literature. *Helicobacter* 15 (2)
- Liu Q., Yu Z., Tian F., Zhao J., Zhang H., Zhai Q., and Chen W. (2020). Surface components and metabolites of probiotics for regulation of intestinal epithelial barrier. *Microbial Cell Factories* 19 (23)
- Logan A. C., Katzman M. (2005). Major depressive disorder : probiotics may be an adjuvant therapy. *Medical Hypotheses* 64 (3)
- Luo X., Li M., Zhang H., Yan D., Ji S., Wu R., and Chen Y. (2021). Comparative proteomic analysis of three *Lactobacillus plantarum* strains under salt stress by iTRAQ. *Journal of the Science Food and Agriculture* 101(8)

## M

- Małaczewska J., Kaczorek-Łukowska E. (2021). Nisin-A lantibiotic with immunomodulatory properties : A review. *Peptides*
- Mao J., Zhang S. Z., Du P., Cheng Z. B., Hu H., and Wang S. Y. (2020). Probiotics Can Boost the Antitumor Immunity of CD8+T Cells in BALB/c Mice and Patients with Colorectal Carcinoma. *Journal of Immunology Ressources*
- Marteau P., Flourié B., and Pochart P. (1990). Effect of the microbial lactase activity in yogurt on the intestinal absorption of lactose : an in vivo study in lactase-deficient humans. *The british Journal of Nutrition* 64 (1)
- Marteau P., Pochart P., Bouhnik Y., and Ramboud J. C. (1993). Fate and effects of some transiting, nonpathogenic microorganisms in the human gastro-intestinal tract. *World Review of Nutrition and dietetics* 74 (1)
- Marteau P., Rault D., and Gehin R. (1999). Lactose in diets used for digestive disorders. *Clinical and Biological Gastroenterology*
- Martin B. R., Braun M. M., Wigertz K., Bryant R., Zhao Y., Lee W., Kempa-Steczko A., and Weaver C. M. (2010). Fructo-oligosaccharides and calcium absorption and retention in adolescent girls. *The Journal of the American College of Nutrition* 29 (4)
- Martini M.C., Lerebours E.C., Lin W.J., Harlander S.K., Berrada N.M., Antoine J.M., and Savaiano D.A. (1991). Strains and species of lactic acid bacteria in fermented milks (yogurts): effect on in vivo lactose digestion. *American Journal of Clinical Nutrition*, 54(6), p. 1041–1046.
- Mastretta E., Longo P., Laccisaglia A., Balbo L., Russo R., Mazzaccara A., and Gianino P. (2002). Effect of *Lactobacillus GG* and breast-feeding in the prevention of ratavirus nosocomial infection. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* 35 (4)
- Maurya P., Mogra R., and Bajpai P. (2014). Probiotics: an approach towards health and disease. *Trends in Biosciences*, 7(20), p. 3107–3113.
- Mazziotta C., Tognon M., Martini F., Torreggiani E., and Rotondo J.C. (2023). Probiotics Mechanism of Action on Immune Cells and Beneficial Effects on Human Health. *Cells* 12 (1)
- McFarland L.V. (2006). Meta-analysis of probiotics for the prevention of antibiotic associated diarrhea and the treatment of *Clostridium difficile* disease. *American Journal of Gastroenterology*, 101(4), p. 812–822.

- Menad N. (2018). Effet antagoniste des bactéries lactiques isolées à partir du lait de vache vis-à-vis de *Salmonella* sp. Thèse de doctorat. Université Abdelhamid Ibn Badis – Mostaganem, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, 196 p.
- Mestre A., Sathiya Narayanan R., Rivas D., John J., Abdulkader M. A., Khanna T., Chakinala R. C., and Gupta S. (2022). Role of Probiotics in the Management of *Helicobacter pylori*. *Cureus* 14 (6)
- Metchnikoff E. (1907). Lactic acid as inhibiting intestinal putrefaction. dans : The Prolongation of Life: Optimistic Studies. Londres : G.P. Putnam Sons, p. 161–183.
- Mete A., Coşansu S., Demirkol O., and Ayhan K. (2016). Amino acid decarboxylase activities and biogenic amine formation abilities of lactic acid bacteria isolated from shalgam. *International Journal of Food Properties*, 20(1), p. 171–178.
- Moayyedi P., Ford A.C., Talley N.J., Cremonini F., Foxx-Orenstein A.E., Brandt L.J., and Quigley E.M.M. (2010). The efficacy of probiotics in the treatment of irritable bowel syndrome: a systematic review. *Gut*, 59(3), p. 325–332.
- Mokoena M. (2017). Lactic Acid Bacteria and Their Bacteriocins : Classification, Biosynthesis and Applications against Uropathogens : A Mini-Review. *Molecules*, 22(8)
- Möller C., De Vrese M. (2004). Review: probiotic effects of selected acid bacteria. *Milchwissenschaft*, 59, p. 597–601.
- Moraes P. M., Perin L. M., Ortolani M. B. T., Yamazi A. K., Viçoza G. N., and Nero L. A. (2010). Protocols for the isolation and detection of lactic acid bacteria with bacteriocinogenic potential. *LWT - Food Science and Technology*. Volume 43
- Moriya J., Fachin L., Gândara A.L.N., and Viotto W.H. (2006). Evaluation of culture media for counts of *Bifidobacterium animalis* in the presence of yoghurt bacteria. *Brazilian Journal of Microbiology*, 37, p. 516–520.
- Mosaad Khattab A. (2021). The Microbial Degradation for Pectin In : Masuelli M. A. Pectins - The New-Old Polysaccharides.
- Myhre B. A., Nakasako Y. Y., and Schott R. (1977). Studies on 4 °C stored frozen-reconstituted red blood cells. I. Bacterial growth. *Transfusion* 17 (5)
- Nagpal R., Kumar A., Kumar M., Behare P.V., Jain S., and Yadav H. (2012). Probiotics, their health benefits and applications for developing healthier foods : A review. *FEMS Microbiology Letters* 334 (1)
- Nagpal R., Wang S., Ahmadi S., Hayes J., Gagliano J., Subashchandrabose S., Kitzman D.W., Becton T., Read, R., and Yadav H. (2018). Human-origin probiotic cocktail increases

short-chain fatty acid production via modulation of mice and human gut microbiome. *Scientific Reports*

**O**

Ohara T., Suzutani T. (2018). Intake of *Bifidobacterium longum* and fructo-oligosaccharides prevents colorectal carcinogenesis. *Euroasian Journal of Hepato-Gastroenterology*, 8(1), p. 11–17.

Ohland C.L., MacNaughton W.K. (2010). Probiotic bacteria and intestinal epithelial barrier function. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 298(6), p. 807–819.

Oliszewski R., Medina R.B., Gonzalez S.N., and Perez Chaia A.B. (2007). Esterase activities of indigenous lactic acid bacteria from Argentinean goats' milk and cheeses. *Food Chemistry*, 101(4), p. 1446–1450.

Ouwehand A.C., Salminen S., and Isolauri E. (2002). Probiotics: an overview of beneficial effects. *Antonie van Leeuwenhoek*, 82(1–4), p. 279–289.

**P**

Parvez S., Malik K.A., Ah Kang S., and Kim H.Y. (2006). Probiotics and their fermented food products are beneficial for health. *Journal of Applied Microbiology*, 100, p. 1171–1185.

Patel R. (2018). Camel milk—a boon for human health. *Journal of Trend in Scientific and Development*. P : 2543 – 2546.

Pedone C. A., Arnaud C. C., Postaire E. R., Bouley C. F., and Reinert P. (2000). Multicentric study of the effect of milk fermented by *Lactobacillus casei* on the incidence of diarrhoea. *International Journal of Clinical Practices*. 54 (9)

Pedone C., Bernabeau A., Postaire E., Bouley A., and Reinert P. (1999). The effect of supplementation with milk fermented by *Lactobacillus casei* (strain DN-114 001) on acute diarrhoea in children attending day care centres. *International Journal of Clinical Practices* 53 (3)

Pengrattanachot N., Thongnak L., and Lungkaphin A. (2022). The impact of prebiotic fructooligosaccharides on gut dysbiosis and inflammation in obesity and diabetes related kidney disease. *Food & Function*, 13(11), p. 5925–5945.

Pfeiler E. A. et Klaenhammer T. R. (2007). The genomics of lactic acid bacteria. *Trends in Microbiology*.15 (12)

- Pietrzak B., Tomela K., Olejnik-Schmidt A., Mackiewicz A., and Schmidt M. (2020). Secretory IgA in Intestinal Mucosal Secretions as an Adaptive Barrier against Microbial Cells. *International Journal of Molecular Sciences*. 21 (23)
- Pique N., Berlanga M., and Minana-Galbis D. (2019). Health benefits of heat-killed (Tyndallized) probiotics: an overview. *International Journal of Molecular Sciences*, 20, p. 2534.
- Pokusaeva K., Fitzgerald G., and van Sinderen D. (2011). Carbohydrate metabolism in Bifidobacteria. *Genes & Nutrition*, 6, p. 285–306.
- Pourjafar H., Noori N., Gandomi H., Basti A. A., and Ansari F. (2020). Viability of microencapsulated and non-microencapsulated Lactobacilli in a commercial beverage. *Biotechnology Reports*. Volume n° 25

## R

- Rahmeh R., Akbar A., Kishk M., Al-Onaizi T., Al-Azmi A., Al-Shatti A., Shajan A., Al Mutairi S., and Akbar B. (2019). Distribution and antimicrobial activity of lactic acid bacteria from raw camel milk. *New Microbes and New Infections*. Volume n°30
- Reid G., Burton J. (2002). Use of *Lactobacillus* to prevent infection by pathogenic bacteria. *Microbes and Infection*, 4(3), p. 319–324.
- Reiner K. (2010). Catalase Test protocol. *American Society For Microbiology*
- Roberfroid M., Gibson G. R., Hoyles L., McCartney A. L., Rastall R., Rowland I., Wolvers D., Watzl B., Szajewska H., Stahl B., Guarner F., Respondek F., Whelan K., Coxam V., Davicco M. J., Léotoing L., Wittrant Y., Delzenne N. M., Cani P.D., Neyrinck A.M., and Meheust A. Prebiotic effects : metabolic and health benefits. *The British Journam for Nutrition*
- Roberfroid M.B. (2005). Inulin : a fructan dans : Roberfroid M. (éd.), Inulin-Type Fructans : Functional Food Ingredients. Boca Raton : CRC Press, chap. 3.
- Romijn A. R., Rucklidge J. J., and Frampton C. (2017). A double-blind, randomized, placebo-controlled trial of *Lactobacillus helveticus* and *Bifidobacterium longum* for the symptoms of depression. *Australian and New Zealand Journal of Psychiatry*
- Rossi F., Amadoro C., and Colavita G. (2019). Members of the *Lactobacillus* genus complex (LGC) as opportunistic pathogens: A review. *Microorganisms*, 7(5), p. 1–15.
- Rossi S., Sacchetti L., Napolitano F., De Chiara V., Motta C., Studer V., Musella A., Barbieri F., Bari M., Bernardi G., Maccarrone M., Usiello A. and Centonze D. (2012).

- Interleukin-1 $\beta$  Causes Anxiety by Interacting with the Endocannabinoid System. *Journal of Neuroscience* 32 (40)
- Rousseaux A., Brosseau C., and Bodinier M. (2023). Immunomodulation of B Lymphocytes by Prebiotics, Probiotics and Synbiotics : Application in Pathologies. *Nutrients* 15 (2)
- Ruiz L., Delgado S., Ruas-Madiedo P., Margolles A., and Sánchez B. (2016). Proteinaceous molecules mediating *Bifidobacterium*-host interactions. *Frontiers in Microbiology*, 7(AUG), p. 1193.
- S**
- Saavedra J.M., Bauman N.A., Oung I., Perman J.A., Yolken R.H. (1994). Feeding of *Bifidobacterium bifidum* and *Streptococcus thermophilus* to infants in hospital for prevention of diarrhoea and shedding of rotavirus. *Lancet*, 344(8929), p. 1046–1049.
- Saber A., Alipour B., Faghfoori Z., and Yari Khosroushahi A. (2017). Cellular and molecular effects of yeast probiotics on cancer. *Critical Reviews in Microbiology*, 43, p. 96–115.
- Salonen A., de Vos W.M., and Palva A. (2010). Gastrointestinal microbiota in irritable bowel syndrome: present state and perspectives. *Microbiology (Reading)*, 156(11), p. 3205–3215.
- Savijoki K., Ingmer H., and Varmanen P. (2006). Proteolytic systems of lactic acid bacteria. *Applied Microbiology and Biotechnology* 71(4)
- Seo W.T., Nam S.H., Lee Ch.K., and Cho K.M. (2011). Identification of potential *Bacillus subtilis* probiotics from Korean soybean paste and their antimicrobial and immune activities. *Journal of Food Science and Nutrition*, 16, p. 37–44.
- Shah N. (2000). Prospabiotic bacteria : Selective enumeration and survival in dairy foods. *Journal of Dairy Science*
- Sharma A., Lavania M., Singh R., and Lal B. (2021). Identification and probiotic potential of lactic acid bacteria from camel milk. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 28(3), p. 1622–1632.
- Sharma A., Lavania M., Singh R., and Lal B. (2021). Identification and probiotic potential of lactic acid bacteria from camel milk. *Saudi Journal of Biological Sciences*
- Shehata A.A., Yalçın S., Latorre J.D., Basiouni S., Attia Y.A., Abd el-Wahab A., et al. (2022). Probiotics, prebiotics, and phytogenic substances for optimizing gut health in poultry. *Microorganisms*, 10, p. 395.
- Shin J. M., Gwak J. W., Kamarajan P., Fenno J. C., Rickard A. H., and Kapila Y. L. (2016). Biomedical applications of nisin. *Journal of Applied Microbiology* 120 (6)

- Shoaib M., Shehzad A., Omar M., Rakha A., Raza H., Sharif H.R., Shakeel A., Ansari A., and Niazi S. (2016). Inulin: Properties, health benefits and food applications. *Carbohydrate Polymers*, 147, p. 444–454.
- Sidhu H., Allison M. J., Chow J. M., Clark A., and Peck A. B. (2001). Rapid reversal of hyperoxaluria in rat model after probiotic administration of *Oxalobacter formigenes*. *The Journal of Urology* 166 (4)
- Singh G., Sharma R. R. (2009). Dominating species of lactobacilli and leuconostocs present among the lactic acid bacteria of milk of different cattles. *Asian Journal of Experimental Sciences* 23 (1)
- Singh K., Kallali B., Kumar A., and Thaker V. (2011). Probiotics: a review. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, p. S287–S290.
- Slavin J. (2013). Fiber and prebiotics : mechanisms and health benefits. *Nutrients*. 5 (4)
- Soares M. M. C. N., Da Silva R., Cano Carmona E., and Gomes E. (2001). Pectinolytic enzyme production by *Bacillus* species and their potential application on juice extraction. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 17(1)
- Soleymanzadeh N., Mirdamadi S., and Kianirad M. (2016). Antioxidant activity of camel and bovine milk fermented by lactic acid bacteria isolated from traditional fermented camel milk (Chal). *Dairy Science & Technology*
- Soltani S., Hammami R., Cotter P. D., Rebuffat S., Ben Said L., Gaudreau H., Bédard F., Biron E., Drider D., and Fliss I. (2021). Bacteriocins as a new generation of antimicrobials : toxicity aspects and regulations. *FEMS Microbiology Reviews* 45 (1)
- Sridevi V., Sirisha R., and Swapna S.N. (2015). Screening of probiotic goat milk and cow milk isolates for acid resistance, antagonistic activity, and tolerance to antimicrobial activity of spices: molecular identification of potential probiotic goat milk isolate G8. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 4, p. 406–421.
- Stratiki Z., Costalos C., Sevastiadou S., Kastanidou O., Skourliakou M., Giakoumatou A., et al. (2007). The effect of a bifidobacter supplemented bovine milk on intestinal permeability of preterm infants. *Early Human Development*, 83, p. 575–579.
- Su S.-C., Chang L.C., Huang H.D., Peng C.Y., Chuang C.Y., Chen Y.T., et al. (2021). Oral microbial dysbiosis and its performance in predicting oral cancer. *Carcinogenesis*, 42, p. 127–135.
- Surawicz C. M. (2008). Role of probiotics in antibiotic-associated diarrhea, Clostridium difficile-associated diarrhea, and recurrent Clostridium difficile-associated diarrhea. *Journal of Clinical Gastroenterology*

Swelum A. A., El-Saadony M. T., Abdo M., Ombarak R. A., Hussein E. O. S., Suliman G., Alhimaidi A. R., Ammari A. A., Ba-Awadh H., Taha A. E., El-Tarabily K. A., and Abd El-Hack M. E. (2021). Nutritional, antimicrobial and medicinal properties of Camel's milk : A review. *Saudi Journal of Biological Sciences.* 28 (5)

Szajewska H., Kotowska M., and Mrukowicz J. Z. (2001). Efficacy of Lactobacillus GG in prevention of nosocomial diarrhoea in infants. *Journal of Pediatrics.* 138 (3)

## T

Tissier H. (1906). Traitement des infections intestinales par la méthode de la flore bactérienne de l'intestin. *Comptes Rendus de la Société de Biologie,* 60, p. 359–361.

## V

Van Niel C. W., Feudtner C., Garrison M. N., and Christakis D.A. (2002). *Lactobacillus* therapy for acute infections diarrhoea in children : a meta analysis. *Pediatrics.* 109 (4)

Van Teeseling M. C. F., De Pedro M. A., and Cava F. (2017). Determinants of Bacterial Morphology : From Fundamentals to Possibilities for Antimicrobial Targeting. *Frontiers in Microbiology.* Volume n°8

Vanderhoof J.A., Young R.J. (1998). Use of probiotics in childhood gastrointestinal disorders. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition,* 27(3), p. 323–332.

Varga L. (1999). Effect of a cyanobacterial biomass enriched with trace elements on thermophilic dairy starter cultures. PhD Dissertation : Sciences Alimentaires. Pannon Agricultural University, Mosonmagyaróvár, Hungary, 148 p.

Velikova P., Stoyanov A., Blagojeva G., Popova L., Petrov K., and Gotcheva V. (2016). New findings from institute of microbiology update understanding of lactates (Starch utilization routes in lactic acid bacteria : new insight by gene expression assay). *Environ Conserv*

Vesa T. H., Marteau P., and Korpeila R. (2000). Lactose intolerance. *Journal of American College and Nutrition.* 19 (2)

Vinderola G., Reinheimer J., & Salminen S. (2019). The enumeration of probiotic issues : From unavailable standardised culture media to a recommended procedure. *International Dairy Journal*

## W

Wade W.G., Könönen E. (2011). *Propionibacterium, Lactobacillus, Actinomyces*, and other non-spore-forming anaerobic Gram-positive rods. Dans : Versalovic J. (éd.), Manual of Clinical Microbiology, 10<sup>e</sup> éd. Washington D.C. : ASM Press, p. 817–833.

- Wang Y., Wu J., Lv M., Shao Z., Hungwe M., Wang J., Bai X., Xie J., Wang Y., and Geng W. (2021). Metabolism Characteristics of Lactic Acid Bacteria and the Expanding Applications in Food Industry. *Frontiers in Bio-ingéniering and Biotechnology*. Volume 9
- Wang Y., Zeng T., Wang S.E., Wang W., Wang Q., and Yu H.X. (2010). Fructooligosaccharides enhance the mineral absorption and counteract the adverse effects of phytic acid in mice. *Nutrition*, 26(3), p. 305–311.
- World Gastroenterology Organisation (WGO). (2011). Lignes directrices mondiales de la WGO : Probiotiques et Prébiotiques. Munich : WGO, 32 p. [En ligne] Disponible sur : <https://www.worldgastroenterology.org/UserFiles/file/guidelines/probiotics-french-2011.pdf> (consulté le 9 décembre 2024).
- Worsztynowicz P., Schmidt AO., Białas W., and Grajek W. (2019). Identification and partial characterization of proteolytic activity of *Enterococcus faecalis* relevant to their application in dairy industry. *Acta Biochimica Polonica*. 66 (1)
- Wu H. J., and Wu E. (2012). The role of gut microbiota in immune homeostasis and autoimmunity. *Gut Microbes*. 3 (1)

## Y

- Yadav M. K., Kumari I., Singh B., Sharma K. K., and Tiwari S.K. (2022). Probiotics, prebiotics and synbiotics : Safe options for next-generation therapeutics. *Applied Microbiology and Biotechnology*.
- Yang H., Zhao X., Tang S., Huang H., Zhao X., Ning Z., Fu X., and Zhang C. (2016). Probiotics reduce psychological stress in patients before laryngeal cancer surgery. *Asia-Pacific Journal of Clinical Oncology*. 12 (1)
- Yateem A., Balba M., Al-Surayai T., Al-Mutairi B., and Al-Daher R. (2008). Isolation of lactic acid bacteria with probiotic potential from camel milk. *International Journal of Dairy Sciences*. 3 (4)
- Yeşilyurt N., Yılmaz B., Ağagündüz D., and Capasso R. (2021). Involvement of Probiotics and Postbiotics in the Immune System Modulation. *Biologics*. 1 (2)
- Yousefi B., Eslami M., Ghasemian A., Kokhaei P., Salek Farrokhi A., and Darabi N. (2019) Probiotics importance and their immunomodulatory properties. *Journal of Cell Physiology*
- Youssef M., Ahmed H.Y., Zongo A., Korin A., Zhan F., Hady E., Umair M., Shahid Riaz Rajoka M., Xiong Y., and Li B. (2021). Probiotic Supplements : Their Strategies in the

Therapeutic and Prophylactic of Human Life-Threatening Diseases. *International of Molecular Sciences.* 22 (20)

**Z**

Zhang Z., Tang H., Chen P., Xie H. and Tao Y. (2019). Demystifying the manipulation of host immunity, metabolism, and extraintestinal tumors by the gut microbiome. *Signal Transduction and Targeted Therapy.* 4 (41)

Zheng J., Wittouck S., Salvetti E., Franz C., Harris H., Mattarelli P., et al. (2020). A taxonomic note on the genus *Lactobacillus* : description of 23 novel genera, emended description of the genus *Lactobacillus* beijerinck 1901, and union of *Lactobacillaceae* and *Leuconostocaceae*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiol.* 70 (4).

Ziane M., Couvert O., Le Chevalier P., Moussa-Boudjemaa, and Leguerinel I. (2016). Identification and characterization of aerobic spore forming bacteria isolated from commercial camel's milk in south of Algeria. *Small Ruminant Research.* Volume 137

# **ANNEXES**

## Annexe n° 1 : milieux de culture et solutions

### Milieux pour l'isolement

#### Milieu BS (liquide)

Glucose	0.8 g
Peptone	0.2 g
Extrait de viande	0.2 g

### Milieux pour les tests enzymatiques

#### Gélose au jaune d'œuf (à 10%)

Peptone	10 g
Extrait de levure	5 g
NaCl	10 g
Jaune d'œuf	100 ml
Agar	20 g
Eau distillée	1000 ml

pH = 7.00

#### Milieu Pectine-agar

Pectine	5 g
Extrait de levure	5 g
Agar	20 g
Eau distillée	1000 ml

pH = 7.00

#### Gélose amidon-agar

Peptone	10 g
Extrait de viande	5 g
Sodium chlorure	5 g
Amidon de riz	10 g
Agar	15 g
Eau distillée	1000 ml

#### Milieu gélosé au lait écrémé

##### Solution A :

Poudre de lait écrémé	10 g
Eau distillée	90 ml

**Solution B :**

Agar	3 g
Eau distillée	97 ml
pH = 6,5-7,2	

**Solutions****Solution de violet de Gentiane**

Violet de Gentiane	1 g
Ethanol	10 ml
Phénol	2 g
Eau distillée	100 ml

**Solution de lugol**

Iodure de potassium	2 g
Iode métalloïde	1 g
Eau distillée	300 ml

**Solution de fuchsine**

Fuchsine basique	10 g
Phénol	50 g
Ethanol	100 ml
Eau distillé	1000 ml

**Solution d'acétate de cuivre**

Acétate de cuivre	10 g
Iode métalloïde	100 ml
Eau distillée	300 ml

## **Annexe n° 2 : Protocoles expérimentaux**

### **Coloration des spores bactériennes – Méthode de Schaeffer-Fulton**

#### **1. Principe**

Certaines espèces bactériennes produisent des spores en réponse à des conditions environnementales défavorables. Ces spores présentent une résistance accrue aux agents physico-chimiques, notamment la chaleur, par rapport aux cellules végétatives.

La méthode de Schaeffer-Fulton repose sur l'utilisation du vert de malachite comme colorant primaire, chauffé pour permettre sa pénétration dans la spore. Ce colorant, peu affine au matériel cellulaire, est facilement éliminé des cellules végétatives lors du rinçage. La fuchsine basique est ensuite utilisée comme contre-colorant, permettant de différencier les spores (vertes) des cellules végétatives (roses).

#### **2. Matériel et réactifs**

- Bec Bunsen
- Anse de platine
- Pipette Pasteur
- Lames et pince
- Papier buvard
- Microscope optique (objectif à immersion ×100)
- Cristallisoir contenant un désinfectant
- Eau physiologique stérile
- Eau distillée
- Vert de malachite
- Éthanol à 96 %
- Fuchsine basique (0,85 %)
- Huile à immersion

#### **3. Procédure**

1. Préparer un frottis bactérien sur une lame propre.
2. Recouvrir entièrement le frottis avec du vert de malachite.
3. Chauffer doucement au-dessus de la flamme du bec Bunsen jusqu'à l'apparition de vapeurs blanches (3 à 5 minutes), en veillant à ne pas dessécher le frottis.
4. Laisser refroidir, puis rincer doucement à l'eau.
5. Recouvrir le frottis avec de la fuchsine basique (0,85 %) pendant 1 minute.
6. Rincer à l'eau distillée, sécher entre deux feuilles de papier buvard.
7. Observer au microscope optique avec l'objectif ×100 à immersion.

## Coloration de Gram avec fixation au méthanol

### 1. Principe

La coloration de Gram est une méthode différentielle permettant de classer les bactéries en deux groupes : Gram-positives et Gram-négatives, en fonction de la composition de leur paroi cellulaire. Cette technique repose sur la capacité du complexe crystal violet–Lugol à être retenu (ou non) par les bactéries après décoloration à l'éthanol/acétone.

### 2. Matériel et réactifs

- Lame propre
- Eau distillée
- Méthanol
- Crystal violet
- Lugol (iodine)
- Éthanol/acétone
- Safranine
- Anse de platine
- Papier absorbant
- Huile à immersion
- Microscope optique (objectif  $\times 100$ )

### 3. Procédure

- **Préparation du frottis :**
  - *Culture solide* : déposer une goutte d'eau distillée sur une lame, prélever une petite quantité de culture avec une anse stérile, mélanger et étaler en fine couche.
  - *Culture liquide* : déposer 1 à 2 anses de bouillon directement sur la lame.
- **Fixation :**
  - Verser quelques gouttes de méthanol sur le frottis.
  - Laisser sécher à l'air libre (ne pas chauffer).
- **Coloration primaire :**
  - Recouvrir le frottis avec du crystal violet.
  - Laisser agir pendant 1 minute, puis rincer à l'eau distillée.
- **Mordancage :**
  - Appliquer le Lugol pendant 1 minute.
  - Rincer à l'eau distillée.
- **Décoloration :**
  - Verser de l'éthanol/acétone pendant environ 15 secondes, jusqu'à ce que le liquide devienne clair.
  - Rincer immédiatement à l'eau distillée.

➤ **Contre-coloration :**

- Appliquer la safranine pendant 30 secondes à 1 minute.
- Rincer à l'eau distillée.

➤ **Observation :**

- Sécher la lame avec du papier absorbant.
- Observer au microscope avec l'objectif  $\times 100$  à immersion d'huile.

#### **4. Résultats attendus**

- **Bactéries Gram-positives** : coloration violet/pourpre.
- **Bactéries Gram-négatives** : coloration rose/rouge.

<b>Année universitaire : 2024-2025</b>	<b>Présenté par : FALEK Nousseiba Isra HIRECHE Khadoudja Chahinaze</b>
<b>ISOLEMENT, CARACTÉRISATION ET IDENTIFICATION PHENOTYPIQUES DE BACTÉRIES LACTIQUES À PARTIR DE LAIT DE CHAMELLE</b>	
<b>Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Microbiologie Appliquée</b>	
<b>Résumé</b>	
<p>Ce mémoire vise à explorer le potentiel probiotique des bactéries lactiques issues du lait de chamele. Cette étude contribue à la valorisation des ressources laitières locales et à la recherche d'alternatives naturelles comme source de souches probiotiques originales. Ce travail porte sur l'isolement et la caractérisation des bactéries lactiques provenant du lait de chamele ainsi que l'évaluation de leurs potentiel probiotique. Le lait de chamele représente une source de souches des bactéries lactiques présentant des caractéristiques probiotiques. Les méthodes suivies sont l'isolement, la purification, la conservation, la caractérisation biochimique, l'évaluation du type respiratoire, et la recherche d'activités enzymatiques. Les résultats ont permis d'identifier cinq isolats aux morphologies variées. Trois isolats notés (FH3), (FH36), et (FHB) sont en forme de cocci, et deux isolats (BS1) et (FH1), sont de forme bacillaire et présentent des spores. Tous les isolats sont positifs à la catalase avec une diversité des types respiratoires et une fermentation différenciée des sucres. Aucune activité pectinolytique ni lécithinasique ni esterasique n'a été démontrée. Un isolat (BS1) a présenté une hémolyse <math>\alpha</math> tandis que les quatre autres isolats ont présenté une hémolyse <math>\gamma</math>. Deux isolats (FH1) et (BS1) sont capables de fermenter le mannitol. Tous les isolats sont capables de croître en présence de NaCl à 2% et à 9%, et quatre d'entre eux ont pu croître en présence de NaCl à 15% sauf l'isolat (BS1). Ces résultats mettent en lumière l'importance d'améliorer la valorisation du lait de chamele en Algérie, non seulement pour sa teneur en nutriments, mais aussi en raison de son potentiel en tant que source naturelle de probiotiques. L'exploitation de cette ressource pourrait ouvrir de nouvelles opportunités dans le domaine de la santé humaine et de l'agroalimentaire local.</p>	
<b>Mots-clés :</b> Lait de chamele, probiotique, bactérie lactique, isolement, identification, caractérisation biochimique.	
<b>Laboratoires de recherche :</b> laboratoire de Biologie moléculaire et cellulaire (U Constantine 1 Frères Mentouri).	
<b>Présidente du jury :</b> Dr. ABDELAZIZ W. (MCA - U Constantine 1 Frères Mentouri).	
<b>Encadrant :</b> Pr. BOUDEMAGH A. (Professeur - U Constantine 1 Frères Mentouri).	
<b>Examinateuse :</b> Dr. BOUFERCHA O. (MCB - U Constantine 1 Frères Mentouri).	