

**REPUBIIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE**

**MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEURE ET DE LA**

**RECHERCHE SCIENTIFIQUE**

**UNIVERSITE ABOU- BEKR- BELKAID TLEMCEN**

**FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE**

**DELA TERRE ET DE L'UNIVERS**

**DEPARTEMENT DE BIOLOGIE**

Laboratoire de microbiologie appliquée a l'agroalimentaire, au biomédicale et a  
l'environnement LAMAABE

**Mémoire de fin d'études**

Présentée par : BOUALI Sarra

ELAISSOUF Douaa

En vue de l'obtention du diplôme de Master académique en Biologie

Domaine : science de la nature et de la vie

Filière : Science biologique - Spécialité : Microbiologie fondamentale

### **Thème**

**Recherche de l'activité antimicrobienne des bactéries lactiques  
isolées à partir du colostrum de vache**

Soutenue publiquement le 25/06/2023

Devant le jury

Examinatrice : Bellifa Samia

MCA Université Abou Beker Belkaid

Encadrant : Kara Terki Ibtissem

MCA Université Abou Beker Belkaid

Président :

MCA Université Abou Beker Belkaid

Année Universitaire : 2022 / 2023

## Dédicaces

Du profond de mon cœur, Je dédie ce travail

*A ma très chère grand-mère Mami et Maman*

Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être.

Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours.

Que ce modeste travail soit l'exaucement de vos vœux tant formulés, le fruit de vos innombrables sacrifices. Puisse Dieu, le Très Haut, vous accorder santé, bonheur et longue vie.

A la mémoire de *mon père* et mon chère frère *Tarik* que dieu garde leurs âmes dans son vaste paradis

A mon très chère frère *Sidi Mohamed* que dieux le bénisse

A mes oncles, a tous les cousins et cousines et aux personnes qui m'ont aidé et encouragé et qui m'ont accompagné durant mon chemin d'étude.

A ma chère amie *Douaa*.

Sarra

*J'ai le grand plaisir de dédier ce modeste travail :*

*A la mémoire de **mon père**. Vous resterez à jamais présent dans mon cœur. Que le paradis soit votre demeure éternelle.*

***Mamère**, qui je dois le grand amour et le profond respect.*

*Ma chère sœur : **wisse***

*Mes chers frères : **Réda et Younes**.*

*A mes chères amies qui m'ont soutenu dans les beaux et le mauvais moment : **Kenza, Nihel, Sarra**.*

*A toutes les personnes qui se sont intervenues dans ma vie de près ou de loin, tout ceux qui par un mot m'ont donné la force de continuer et m'ont permis de réussir mes études, je leur témoigne ici amour sincère et fidélité.*

**Douaa**

## Remerciements

*En premier lieu, nous tenons à remercier notre dieu notre créateur pour nous avoir donné la force pour accomplir ce travail.*

*Nous désirons exprimer notre profonde et vive reconnaissance à notre promotrice Madame **Kara Terki Ibtissem**. Qui a mis toute sa compétence à notre disposition pour directive et conseils judicieux et pour suivi régulier à l'élaboration de ce modeste travail.*

*Merci aux membres de jury Madame **Bellifa Samia** et Madame **Hassaine Hafida** pour leur présence nécessaire et utile d'avoir accepté d'évaluer ce travail.*

*Nous tenons aussi à remercier sincèrement les techniciens de laboratoire de microbiologie merci pour votre service.*

*Nous remercions aussi toutes les personnes qui ont de près ou loin contribué à la réalisation de ce travail.*

*Enfin je désire remercier très sincèrement toute ma famille, mes amis pour leur soutien sans faille, leurs encouragements et leurs compréhensions*

## Résumé

Il est désormais établi que le colostrum bovin est non seulement important pour la croissance du veau nouveau-né mais aussi il peut être utilisé par les êtres humains grâce à ses bienfaits et ses composants qui sont nécessaires pour traiter diverses maladies.

Le colostrum est riche en bactéries lactiques qui ont la propriété de synthétiser de nombreuses substances antimicrobiennes susceptible d'être utilisées dans plusieurs domaines.

Dans cette étude nous avons prélevé du colostrum à partir de vache qui proviennent de la région de Bensakrane-Tlemcen et nous avons étudié l'effet du colostrum et des bactéries lactiques isolées de ce dernier contre plusieurs souches bactériennes par la méthode de diffusion sur milieu gélose.

L'étude des caractéristiques morphologiques physiologiques et biochimiques, on a permis l'identification de la souche *Lactobacillus plantarum*.

Les résultats d'interaction de notre souche avec la méthode des disques et des puits à donner des résultats négatives vis à vis des souches indicatrices par contre l'étude du colostrum a donné un effet inhibiteur contre les souches *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* avec des diamètres de 1.3 mm à 3.3 mm et aucun effet n'a été remarqué contre les souches *Escherichia coli*, *Micrococcus luteus*, *Enterococcus faecalis*. Ces observations nous amènent à élargir notre recherche et isolées d'autres genre de bactéries lactiques du colostrum de vache qui serai susceptible d'avoir un effet antibactérien et de mieux caractérisé le colostrum de vache.

**Mots-clés :** colostrum , les bactéries lactiques, l'activité antimicrobienne, *Lactobacillus plantarum*, méthode des disques, méthode des puits.

## Summary

It is now established that bovine colostrum is not only important for the growth of the newborn calf but also it can be used by human beings thanks to its benefits and its components which are necessary to treat various diseases.

Colostrum is rich in lactic bacteria which have the property of synthesizing many antimicrobial substances that can be used in several areas.

In this study we took colostrum from cows from the Bensakrane- Tlemcen region and we studied the effect of colostrum and lactic acid bacteria isolated from it against several bacterial strains by the diffusion method on agar medium.

The study of the physiological and biochemical morphological characteristics allowed the identification of the strain *Lactobacillus plantarum*.

The result of interaction of our strain with the method of discs and wells to give negative results with respect to the indicator strains on the other hand the study of the colostrum gave an inhibitory effect against the strains *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* with diameters of 1.3 mm to 3.3 mm and no effect was noticed against strains *Escherichia coli*, *Micrococcus luteus*, *Enterococcus faecalis*.

These observation lead us to expand our research and isolate other genera of lactic acid bacteria from cow colostrum which would be likely to have an antibacterial effect and to better characterize cow colostrum.

**Keywords:** colostrum , Lacticacidbacteria, *Lactobacillusplantarum* , inhibitoryeffect.

## التلخيص

لقد ثبت أن اللبن البقري ليس مهما فقط لنمو العجل حديث الولادة ولكن أيضا يمكن استخدامه من قبل البشر بفضل فوائده ومكوناته الضرورية لعلاج الأمراض المختلفة. اللبن غني بالبكتيريا اللبنية التي لها خاصية إنتاج العديد من المواد المضادة للمكروبات التي يمكن استخدامها في عدة مجالات. في هذه الدراسة أخذنا اللبن من أبقار من منطقة بن سكران تلمسان ودرسنا تأثير بكتيريا اللبن وحمض اللاكتيك المعزولين منه ضد العديد من السلالات البكتيرية بطريقة الانتشار على وسط اجار. سمحت دراسة الخصائص المورفولوجية الفيزيولوجية والكيميائية الحيوية بتحديد سلالة *Lactobacillus plantarum*. نتائج تفاعل السلالة مع طريقة الأقراص والآبار لإعطاء نتائج سلبية لسلالات *aureus* , *Pseudomonasaeruginosa* ، *StaphylococcusKlebsiellapneumoniae* المؤشر من ناحية أخرى أعطت دراسة اللبن تأثير مثبط ضد سلالات بأقطار من 1.3 ملم الى 3.3 ملم ولم يلاحظ أي تأثير على سلالات الايشريكية القولونية، الميكروسكوس الأصفر، المكورات المعوية البرازية تقودنا هذه الملاحظات الى توسيع نطاق بحثنا وعزل اجناس أخرى من بكتيريا حمض اللاكتيك من لبأ البقر والتي من المحتمل ان يكون لها تأثير مضاد البكتيريا وتوصيف لبأ البقر بشكل أفضل.

**الكلمات المفتاحية:** بكتيريا حمض اللاكتيك، ، التأثير المثبط، طريقة الأقراص، طريقة الآبار،

*Lactobacillus plantarum*

## TABLE DE MATIERS

---

Introduction	10
Chapitre I : Colostrum de la vache	12
1 1 Définition du colostrum	12
1 2 Principales étapes de synthèse du colostrum	12
1 2 1 La mammogénèse	13
1 2 2 La lactogénèse	13
1 2 3 La galactopoïèse	14
1 2 4 La sécrétion des composants du colostrum	15
1 3 Rôles et applications du colostrum	15
1 4 Les principaux constituants du colostrum	15
1 4 1 Les caractéristiques nutritionnelles du colostrum	17
1 4 2 Les substance antimicrobienne du colostrum	17
1 4 3 Composition microbienne du colostrum	18
Chapitre II : Les bactéries lactiques	20
2 1 Définition et caractère généraux	20
2 2 Taxonomie	21
2 3 Propriétés technologiques des bactéries lactiques	21
2 3 1 Activité acidifiante	22
2 3 2 Activité protéolytique	22
2 3 4 pouvoir aromatisant et gazeux	22
2 3 5 Caractère probiotique et effet sur la santé humaine	23
2 4 Principales substances antimicrobiennes produites par les bactéries lactiques	23
2 4 1 Les acides organiques	23
2 4 2 Le peroxyde d'hydrogène	24
2 4 3 Le dioxyde de carbone	24
2 4 4 Le diacétyle (2, 3 butanedione)	25
2 4 5 La reutérine	25
2 4 6 Les bactériocines	25

Chapitre III : Matériel et méthodes	30
3 1 Lieu d'étude	30
3 2 Prélèvement du colostrum	30
3 3 Isolement et purification de la flore lactique	31
3 4 Conservation des souches	31
3 5 Identification des souches lactiques	32
3 5 1 Caractérisation macroscopique	32
3 5 2 Caractérisation microscopique	32
3 5 3 Identification biochimique et physiologique	33
3 6 Étude de l'activité antimicrobienne	35
3 6 1 Les souches de références utilisées	37
3 6 2 Méthode des puits	37
3 6 3 Méthode des disques	38
Chapitre IV : Résultat et discussion	40
4 1 Résultat du prélèvement	40
4 2 Isolement et purification des bactéries lactiques	40
4 3 Identification des souches lactiques	42
4 3 1 Caractérisation macroscopique	42
4 3 2 Caractérisation microscopique	43
4 4 Caractérisation biochimique et physiologique	44
4 4 1 Test catalase	44
4 4 2 Type fermentaire	46
4 4 3 Croissance a différentes températures	46
4 4 4 Croissance a différents pH	46
4 4 5 Résultat de l'identification primaire	48
4 4 6 Profil fermentaire de la souche lactique sur la galerie API 50 CHL	33 48
4 5 Étude de l'activité antimicrobienne	49
4 5 1 Activité antimicrobienne du colostrum bovin	50
4 5 2 Activité antimicrobienne de la souche lactique isolée	50
<b>Conclusion</b>	52

<b>Référence</b>	54
<b>Annexes</b>	68
<b>Résumé</b>	69

## LISTE DES FIGURES

---

FIGURE 1 : ORGANISATION DU PIS DE VACHE (D'APRES BEAUMONT ET CASSIER).....	10
FIGURE 2 : PLAN PROCESSUS ABOUTISSANT A LA SECRETION DU COLOSTRUM PUIS DU LAIT (NIELSEN <i>ET AL.</i> , 2001 ; DEVILLERS <i>ET AL.</i> , 2006).....	12
FIGURE 3 : STRUCTURE D'UNE CELLULE EPITHELIALE MAMMAIRE ET MECANISME DE SECRETION DES CONSTITUANTS DU COLOSTRUM (DELOUIS <i>ET AL.</i> , 2001) .....	13
FIGURE 4 : ARBRE PHYLOGENETIQUE DES PRINCIPAUX GENRES DE BACTERIES LACTIQUES, INCLUANT QUELQUES GENRES AEROBIES ET ANAEROBIES FACULTATIFS DE FIRMICUTES (LAHTINEM <i>ET AL.</i> , 2012).....	19
FIGURE 5 : SCHEMA MONTRANT LES PRINCIPAUX MECANISMES D'ACTION DES BACTERIOCINES PRODUITES PAR LES BACTERIES LACTIQUES (FERNANDEZ, 2014).....	26
FIGURE 6 : PRELEVEMENT DU COLOSTRUM DE VACHE.....	28
FIGURE 7 : PROTOCOLE D'ISOLEMENT DES SOUCHES LACTIQUES. ....	29
FIGURE 8 : SOUCHES CONSERVEES A COURT TERME.....	30
FIGURE 9 : LA GALERIE API 50 CHL (BIO MERIEUX, FRANCE) .....	33
FIGURE 10 : LA METHODE DES PUIITS.....	34
FIGURE 11 : LA METHODE DES DISQUES .....	35
FIGURE 12 : ASPECT MACROSCOPIQUE DES SOUCHES LACTIQUES ISOLEES SURMILIEUMRS .....	38
FIGURE 13 : OBSERVATION MICROSCOPIQUE DES SOUCHES ISOLEES A PARTIR DU COLOSTRUM.....	38
FIGURE 14 : RESULTATS OBTENUS POUR LA MISE EN EVIDENCE DU TYPE FERMENTAIRE SUR MILIEU MRS CONTENANT LA CLOCHE DE DURHAM.....	39
<b>FIGURE 15</b> : L'ACTIVITE ANTIMICROBIENNE DU COLOSTRUM VIS-A-VIS DE <i>STAPHYLOCOCCUS AUREUS</i> , <i>KLEBSIELLAPNEUMONIAE</i> ET <i>PSEUDOMONAS AERUGINOSA</i> . ....	46
<b>FIGURE 16</b> : L'ABSENCE DE L'ACTIVITE ANTIMICROBIENNE DE LA SOUCHE <i>LACTOBACILLUS</i> ISOLEE CONTRE LES SIX SOUCHES INDICATRICES .....	48

## LISTE DES TABLEAUX

---

TABLEAU 1 : PRINCIPAUX CONSTITUANTS DU COLOSTRUM (FOLEY, 1978 ; SERIEYS, 1993) .....	15
TABLEAU 2 : COMPARAISON ENTRE LA COMPOSITION DU COLOSTRUM ET CELLE DU LAIT (FOLEY, 1978.....	15
TABLEAU 3 : LES DIFFERENTES BACTERIOCINES PRODUITES PAR LES BACTERIES LACTIQUES (MOLLOY <i>ET AL.</i> , 2011). .....	25
TABLEAU 4 : LES SOUCHES DE REFERENCES UTILISEES DANS L'ETUDE. ....	34
TABLEAU 5 : LES CARACTERISTIQUES DU COLOSTRUM BOVIN.....	37
TABLEAU 6 : PRESENTATION DES CARACTERES PHYSIOLOGIQUES DE LA SOUCHE LACTIQUE ISOLEE.....	40
TABLEAU 7 : CRITERES D'IDENTIFICATION DES ISOLATS LACTIQUES DU GENRE <i>LACTOBACILLUS</i> . ....	40
TABLEAU 8 : PROFIL FERMENTAIRE DES SOUCHES ISOLEES PAR LA GALERIE 50 CHL. ....	42
TABLEAU 9 : TABLEAU MONTRE RESULTATS D'INTERACTION ENTRE LE COLOSTRUM ET LES SOUCHES PATHOGENES .....	44
TABLEAU 10 : LES RESULTATS D'INTERACTION ENTRE <i>LACTOBACILLUS PLANTARUM</i> ET LES SOUCHES PATHOGENES DE S1.....	46

## Liste des abréviations

**CS** : Chorionic Somatotropin

**GN** : Gélose Nutritive

**GRAS** : Generally Regraded AS

**IgG** : Immunoglobulines G

**IgM** : Immunoglobulines M

**KDA** : Kilo Dalton

**LF** : Lactoferrine

**MH** :Muller Hinton

**MRS** : Man Rogasa-Sharp

**PL** : Placental Lac -togen

**RAPD** : Randomly Amplified Polymorphic DNA fingerprinting

**SFA** : Petit acide gras

**S1** :Souche 1

**S2** :Souche 2

**UI/L** : Unité par litre

**$\alpha$  La** : Lactalbumine

□ **Lg** : Lactoglobuline

# ***Introduction***

## INTRODUCTION

Le colostrum est le premier lait maternel que tous les mammifères, y compris les humains, reçoivent immédiatement après la naissance. Il est riche en substances vitales et protectrices qui aident les nouveau-nés à développer leur système immunitaire et à renforcer leurs défenses, favorisant ainsi une croissance saine **(Bienert ,)**

Le colostrum de vache a été utilisé par les humains depuis des milliers d'années. Et est considéré comme un remède naturel. La durée pour laquelle la sécrétion mammaire est classée comme colostrum plutôt que lait varie considérablement chez ces dernières selon les rapports, c'est-à-dire immédiatement après la mise bas, 2 jours, 3 à 4 jours ou 5 à 7 jours post-partum **(McGrath et al., 2016).**

Le colostrum de vache contient de nombreux types de constituants bio-fonctionnels, notamment des facteurs de croissance, des composants immunisants, des nutriments tels que la caséine, le lactose, les lipides, les vitamines et les minéraux mais aussi des composés antimicrobiens qui peuvent être synthétisés par des bactéries lactiques.

Les bactéries lactiques sont considérées comme des microorganismes sains, elles forment un groupe bénéfique pour l'homme, elles sont souvent utilisées comme auxiliaires de fermentation et de conservation alimentaire en raison de leur capacité à produire des acides organiques et d'autres métabolites.

De plus, ces bactéries peuvent synthétiser des composés protéiques appelés bactériocines qui sont capables d'inhiber les bactéries pathogènes en raison de leur large spectre d'activité, de leur thermo-stabilité et de leur résistance aux variations de pH, cette activité s'étale jusqu'aux protozoaires, levures, champignons et virus et sont non toxiques pour les cellules eucaryotes **(Galvez et al., 2011).**

Dans ce contexte plus particulièrement le but de notre travail est :

- L'isolement et la purification des bactéries lactiques à partir du colostrum bovin.
- L'étude de l'activité antimicrobienne des bactéries lactiques vis-à-vis des souches indicatrices.
- Etudier l'activité antimicrobienne du colostrum.

# ***Chapitre 1 : Colostrum de vache***

## CHAPITRE I : COLOSTRUM DE LA VACHE

### DEFINITION DU COLOSTRUM:

Le colostrum est le lait précoce secrété par les mammifères au moment de l'accouchement, il est différent du lait normal (Boudry *et al.*, 2009 ; Godhia *et al.*, 2013).

De façon générale, le colostrum est l'ensemble de sécrétions accumulées dans la mamelle pendant les dernières semaines de la gestation (Salmon, 1999). Il est secrété par la glande mammaire, de couleur jaune et rougeâtre due à la présence du caroténoïde à des concentrations élevées (Brain *et al.*, 2015).

Selon Foley *et al.*, 1978 ; Kehoe, 2007 ; Baumrucker *et al.*, 2010, le colostrum est considéré comme un assemblage de sécrétions lactées et des constituants sériques du sérum sanguin durant la période sèche, et qui s'accumule dans la glande mammaire et qui peut être récolté avant ou après la mise en bas.

### PRINCIPALES ETAPES DE SYNTHESE DU COLOSTRUM:

La lactation est une fonction biologique discontinue propre aux femelles des mammifères destinée à alimenter le nouveau-né. La production du colostrum et le lait par les mamelles est un état physiologique qui peut se superposer à une activité ovarienne, à une gestation ou un état post partum des mammifères, et s'installe dans les phases de physiologie mammaire (Lagrand *et al.*, 1993)

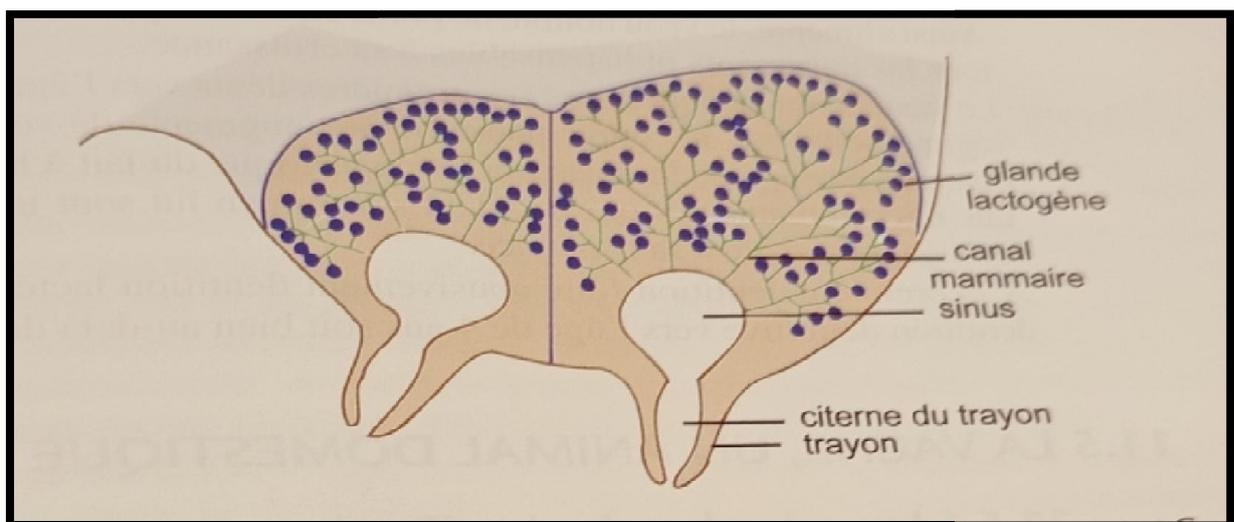


FIGURE 1 : ORGANISATION DU PIS DE VACHE (D'APRES BEAUMONT ET CASSIER)  
La physiologie de développement du colostrum inclut quatre phases importantes :

## LA MAMMOGENESE

Est la plus longue des périodes du développement et de synthèse mammaire, elle est déjà initiée avant la naissance. Elle a lieu au cours de trois périodes essentielles qui sont le développement fœtal, la puberté et la gestation et qui correspondent à la période du développement des tissus sécrétoires, adipeux et conjonctifs (**Massoni, 2013**).

Chez la vache, surtout l'hormone placentaire somatope (chorionic somatotropin ou CS ; appelée aussi placental lac - togen ou PL), possède une action sur la croissance de la glande mammaire (**Zarrouk et al., 2001**). A ces équilibres hormonaux s'ajoutent des hormones du métabolisme général (**Erb, 1997**), ce sont les œstrogènes et progestérones qui déclenchent la croissance des alvéoles (**Weber et al., 1988 ; Holland et Holland, 2005**).

Elles agissent aussi avec différentes hormones tels que la prolactine, l'insuline, et les facteurs de croissance de l'épiderme (EFG) qui ont un rôle dans la sensibilisation de tissu mammaire aux actions des divers agents responsables de la multiplication cellulaire au moment de la mise

en bas, provoquant l'élongation des ligaments pelviens et relâchement du col de l'utérus (**Sherwood, 1994**).

## LA LACTOGENESE

Le colostrum est synthétisé au moment de la colostrogénèse, il apparaît en quantité et composition qui sont susceptibles d'être modifiées. Elle débute avant le vêlage entre 4 et 6 semaines et se traduit par une diminution du rapport progestérone sur œstrogène sérique (**Smith et al., 1971 ; Guy et al., 1994 ; Rodostis et al., 2017**).

Ensuite elle s'arrête de manière brutale avec le vêlage et permet donc le démarrage de la lactation (**Brandon et al., 1971, Barrington et al., 2001, Godden, 2008**) avec une augmentation des concentrations sériques en corticostéroïdes et en prolactine (**Winger et al., 1995 ; Barrington et al., 1999**).

Cette régulation de la production du colostrum est complète au niveau de la glande mammaire par une régulation locale (**Barrington et al., 2001**).

## LA GALACTOPOÏÈSE

Elle correspond à la production du colostrum puis le lait pendant la période d'allaitement. Cette phase est régulée par des interactions neuro-hormonales. Une glande endocrine libère des hormones telle que les prolactines dans la circulation sanguine qui joue un rôle principal dans la stimulation de la production du lait, ensuite ces hormones sont transportées vers la glande mammaire (Delouis *et al.*, 2001).

## LA SECRETION DES COMPOSANTS DU COLOSTRUM

Après, l'accumulation des constituants du colostrum dans la glande mammaire (la colostrogénèse) se fait selon deux voies et de manière progressive :

- D'une part, les composants sériques (principalement les immunoglobulines) sont transférés au travers le même épithélium entre les jonctions cellulaires pour se joindre dans la glande mammaire soit par un passage trans cellulaire ou par un passage paracellulaire.
- D'autre part, une phase sécrétoire de l'épithélium permet l'enlèvement du volume de colostrum produit (Devillers *et al.*, 2006), entraîne la production et la sécrétion des composants du lait comme le lactose et la caséine (Detiffe, 2010).

Les voies de sécrétion sont similaires en phase colostrale et lactée tandis que les voies transcellulaires et paracellulaires sont typiques de la colostrogénèse (Devillers *et al.*, 2006), ces deux phases successives initier à partir de la 3ème semaine avant et après le vêlage, ainsi que l'augmentation du volume entraîne une dilution des constituants du colostrum pour la production du lait vers le 5 -ème et le 6 -ème jours de vêlage (Detiffe, 2010).

La figure 2 et 3 représentent les différentes étapes de synthèse du colostrum :

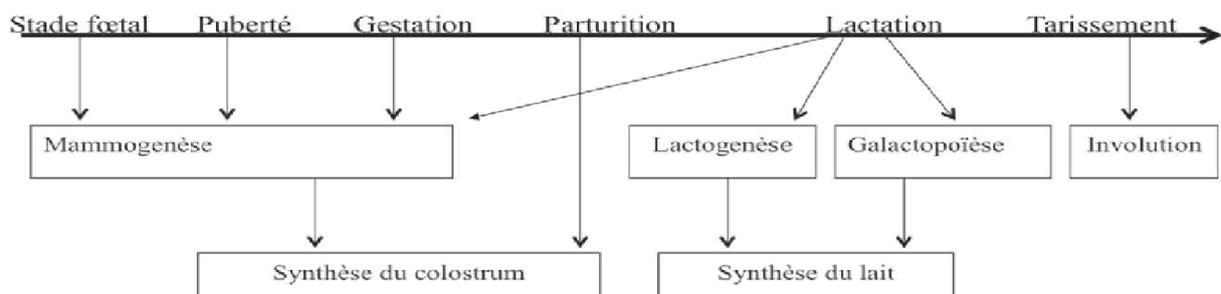


FIGURE 2 : PLAN PROCESSUS ABOUTISSANT A LA SECRETION DU COLOSTRUM PUIS DU LAIT (NIELSEN *ET AL.*, 2001 ; DEVILLERS *ET AL.*, 2006)

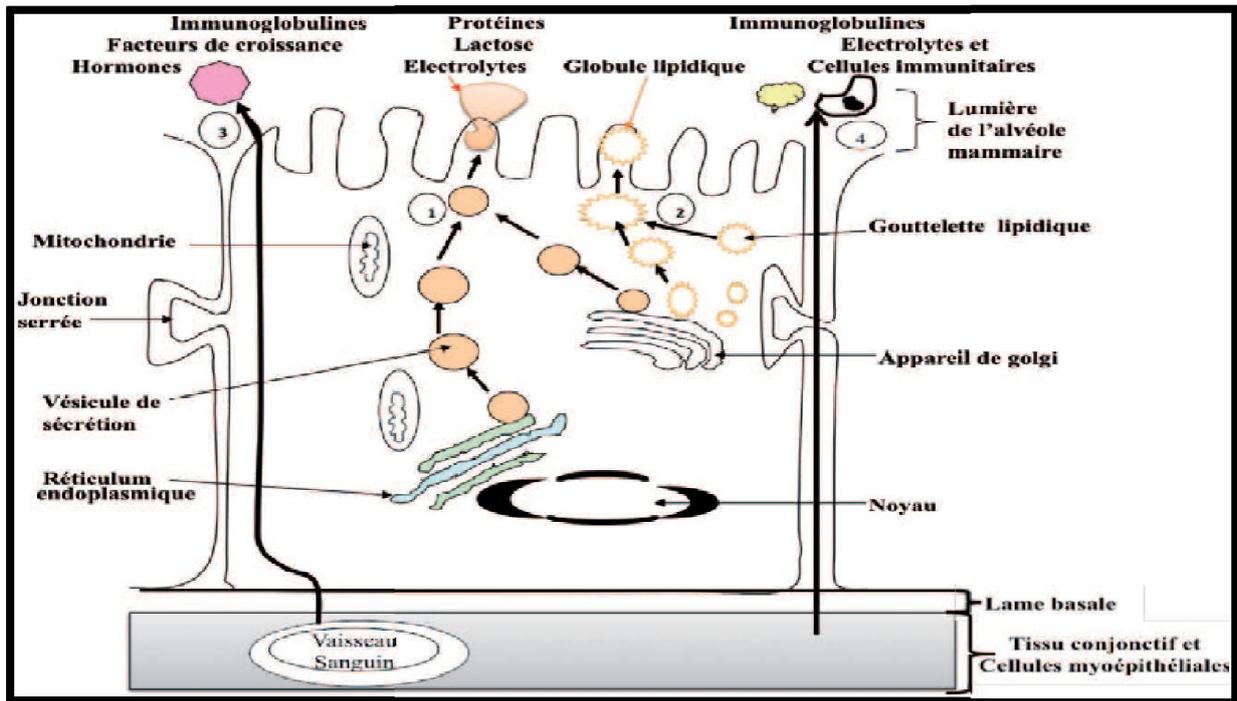


FIGURE 3 : STRUCTURE D'UNE CELLULE EPITHELIALE MAMMAIRE ET MECANISME DE SECRETION DES CONSTITUANTS DU COLOSTRUM (DELOUIS *ET AL.*, 2001)

### ROLES ET APPLICATIONS DU COLOSTRUM

Le colostrum constitue un rôle dans la régulation du métabolisme y compris (le métabolisme lipidique, glucidique, protidique et le métabolisme hormonal) et la nutrition du nouveau-né, ainsi qu' une contribution instantanée d'immunoglobulines fonctionnelles, c'est une source importante pour une bonne croissance du veau nouveau-né et qui est riche en énergie, il possède diverses fonctions principales grâce aux éléments qu'il contient, il apporte des molécules bioactives qui sont nécessaires à la protection du veau contre les infections et les agressions de son environnement (Boudry *et al.*, 2009).

Il prend le nom le lait d'or ou le lait liquide en raison de ses bienfaits, c'est un anti-infectieux puissant qui favorise le transfert d'immunité au veau nouveau-né et la mise en place de son système digestif. Le colostrum peut aussi être ingérer et consommé par les humains sous forme de complément alimentaire ou utilisé comme un ingrédient dans les produits diététiques (aliment pour sportif) dans le but de favoriser l'immunité, pour brûler les graisses, guérir les blessures (Antonio *et al.*, 2001) et pour tuer les champignons et les bactéries pathogènes pour l'homme (Asharf *et al.*, 2001).

Depuis des milliers années, le colostrum était utilisé pour traiter diverses maladies. Au 20 - ème siècle, il était utilisé contre les infections bactériennes (**Godhia et Patel, 2013**).

En effet, plusieurs études ont montré que le colostrum bovin aide à lutter contre des infections des voies respiratoires supérieures (**Brinkworth et al., 2003 ; Shing et al., 2007**) ; son utilisation (sur une durée de 2 mois) va permettre de prévenir la grippe de façon plus efficace que la vaccination (**Cesarone et al., 2007**), et pour traiter aussi les infections du colon et les infections du tractus gastro-intestinal. Récemment des chercheurs ont créé un type de colostrum bovin : colostrum bovin hyperimmune prélevé des vaches laitières vaccinées contre des pathogènes spécifiques à l'espace humain destiné au traitement des troubles gastro-intestinaux (**Bayard et James, 1987**).

### LES PRINCIPAUX CONSTITUANTS DU COLOSTRUM

#### 1.1.1 Les caractéristiques nutritionnelles du colostrum

La composition du colostrum se caractérise par les constituants chimiques qui le diffèrent plus nettement du lait.

- Il se caractérise par un taux très élevé en vitamines notamment la  $\beta$ -carotéine, la vitamine E, la vitamine A, D et B (**Kehoe et al., 2007**). Il contient plus des minéraux tels que le sel, le fer, le magnésium et le sodium, et de matière grasse, moins de glucides sous forme de lactose.
- Il se caractérise aussi par une teneur très élevée en protéines sanguin qui est l'une de ces caractéristiques essentielles et en particulier les protéines solubles, composé en  $\alpha$ -lactalbumine,  $\beta$ -lactoglobuline tels que **IgG1, IgG2, IgM** comme il est indiqué dans le tableau 1 et 2.
- Les protéines solubles représentent environ 16% des protéines totales du colostrum (**Brain et al., 2015**), tels que des peptides (lactoferrine, transferrine), des hormones (l'insuline, la prolactine, les hormones thyroïdiennes et le cortisol) (**Bernabuccie et al., 2013**), il est riche aussi en anticorps (**Godhia et Patel, 2013**).

**TABLEAU 1 : PRINCIPAUX CONSTITUANTS DU COLOSTRUM (FOLEY, 1978 ; SERIEYS, 1993)**

	Immunoglobuline G	Albumine g	Caséine G	Vitamine A (uL/L)	Fer (ug/Kg)	Vitamine D (uL/L)
<b>Colostrum</b>	60	9	48	10000	1000	10

Le colostrum et le lait présentent des compositions très différentes, ce qui explique que le colostrum a des concentrations plus élevées d'éléments nutritionnels, et il est plus épais que le lait mature comme il montre le tableau 2 (Claire Doray, 2017).

Tableau 2 : Comparaison entre la composition du colostrum et celle du lait (Foley, 1978)

	Densité	Matières protéiques (g/Kg)	Matières minérales (g/Kg)	Lactose (g/Kg)	Matières grasses (g/Kg)
<b>Colostrum</b>	1.060	100	12	30	50
<b>Lait</b>	1.032	35	8	49	39

## LES SUBSTANCES ANTIMICROBIENNES DU COLOSTRUM

Les substances antimicrobiennes sont des molécules bioactives élaborées par diverses bactéries, principalement les bactéries lactiques. Ces molécules ont pour fonction de lutter contre les microorganismes (Taale, 2016).

La lactoperoxydase, la lactoferrine et le lysozyme sont les facteurs antimicrobiens les plus fréquemment retrouvés dans le colostrum bovin :

- **La lactoperoxydase** : est une enzyme naturelle qui catalyse l'oxydation des thiocyanates en présence d'hydrogène pour la production des composés actifs à activité antibactérienne (Boudry *et al.*, 2009).
- **La lactoferrine** : c'est un facteur antibactérien le plus fréquent dans le colostrum, possède un effet bactériostatique sur certaines bactéries dont *Escherichia coli* (Ebel, 2004).
- **Le lysozyme** : est une enzyme qui provoque la lyse de la paroi bactérienne (Boudrey *et al.*, 2009).

### COMPOSITION MICROBIENNE DU COLOSTRUM

Plus de 700 espèces de bactéries sont présentes dans le colostrum bovin, parmi les genres bactériens présents dans le colostrum *Weissella*, *Leuconostoc*, *Staphylococcus*, *Streptococcus* et *Lactococcus*, les plus fréquentes dans le colostrum sont les bactéries lactiques qui aident le veau nouveau-né à développer son système immunitaire **(Pauline, 2013)**.

Ces bactéries présentent un effet important dans le colostrum **(Raynaud, 2006)** en raison de leur capacité à sécréter des substances antimicrobiennes et de nombreux métabolites comme les arômes, les exo-polysaccharides **(Savadago et al., 2004 ; Savadago et al., 2006 ; Khay, 2011)**. En plus, certaines souches des bactéries lactiques interviennent dans l'élimination des bactéries pathogènes grâce à la production des bactériocines et des acides organiques **(Taale, 2016)**.

# ***Chapitre II : les bactéries lactiques***

## CHAPITRE II : LES BACTERIES LACTIQUES

### 2.1 DEFINITION ET CARACTERES GENERAUX

Les bactéries lactiques sont des cellules procaryotes, hétérotrophes et chimio-organotrophes (**Hssaine, 2013**) Gram positive, elles sont généralement immobiles, ne forment pas de spores, possèdent une catalase négative mais certaines souches possèdent une pseudo catalase, anaérobies facultatives, micro aérophiles (**Laurent *et al.*, 1998**).

Ces bactéries se présentent sous forme de bâtonnet ou de coque (**Savadago et Traore, 2011**) ; elles exigent la présence d'acides aminés, de vitamines et de minéraux pour leur croissance (**Fessard, 2017**).

Les bactéries lactiques ont un métabolisme fermentaire, qui repose sur l'utilisation des glucides car elles les utilisent dans sa grande partie pour produire soit de l'acide lactique qui est le produit principal, c'est le cas des bactéries homolactiques strictes (**Vandamme *et al.*, 1996**).

Certaines souches bactériennes produisent l'acide lactique ainsi que d'autres composés tels que l'éthanol et l'acétate (**Drouaut et Corthier, 2001**). Dans certaines espèces, ces bactéries peuvent synthétiser l'acide formique ou de l'acide succinique, cela se produit principalement chez les bactéries hétérolactiques strictes (**Dortu et Thonart, 2009**).

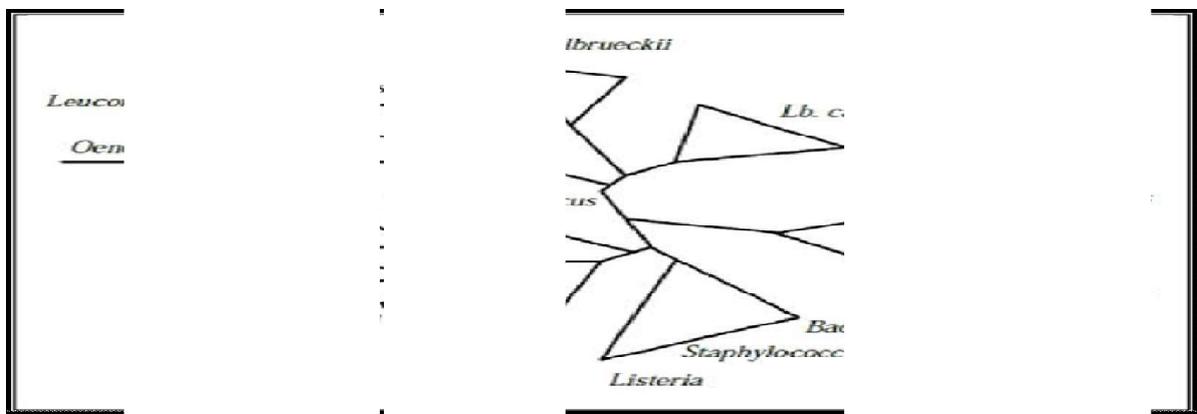
Les bactéries lactiques colonisent de nombreux produits alimentaires le plus souvent les produits laitiers, viande et les céréales. Elles font parties de la flore intestinale, humaine ou animale (**Dortu et Thonart., 2009**). Elles permettent la perfection et l'amélioration des caractères organoleptiques des produits fermentés mais aussi elles contribuent à augmenter la durée de conservation (longue durée), et la sécurité des aliments en raison de leur capacité à produire des substances antimicrobiennes et de nombreux métabolites (**Prasis et Roth., 1990 ; Savadago *et al.*, 2004, Belgacem *et al.*, 2008, Khay, 2011**). Elles agissent sur la texture et les saveurs des aliments (**Taale, 2016**).

Les bactéries lactiques sont généralement considérées comme non pathogène mais il est crucial de prendre des précautions lors de la manipulation et du traitement des cultures bactériennes pour prévenir toute contamination indésirable (**Drouault et Corthier, 2001**).

## 2.2 TAXONOMIE

Les bactéries lactiques font parties du phylum Firmicutes à la classe Bacilli et à l'ordre des Lactobacillales. Elles comportent 6 familles *Aerococcaceae*, *Carnobacteriaceae*, *Enterococcaceae*, *Lactobacillaceae*, *Leuconostocaceae*, *Streptococcaceae* et 40 genres (Kanauchi, 2019). Parmi les genres les plus étudiés *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Enterococcus* et *Pediococcus* (Drouault et Corthier, 2001).

La classification moderne fondée sur les protéines et les acides nucléiques a permis de structurer un arbre phylogénétique des principaux genres des bactéries lactiques comme montre la figure 4 :



**FIGURE 4 : ARBRE PHYLOGENETIQUE DES PRINCIPAUX GENRES DE BACTERIES LACTIQUES, INCLUANT QUELQUES GENRES AEROBIES ET ANAEROBIES FACULTATIFS DE FIRMICUTES (LAHTINEM ET AL., 2012).**

Les bactéries lactiques ont été classées selon leurs propriétés phénotypiques :

- La morphologie
- Les produits issus du métabolisme de fermentation
- La croissance à différentes températures
- L'isomère de l'acide lactique et la fermentation de différents hydrates de carbone (Roissart et Luquet, 1994 ; Holzpfel et al., 2001).
- La capacité de croissance à hautes concentrations du sel et la tolérance au pH, acides alcalins et à l'éthanol (Axelsson, 2004).

L'identification des bactéries lactiques est aussi basée sur les méthodes génotypiques tel que la technique RAPD : Randomly Amplified polymorphic DNA fingerprinting (Walstra et al., 2005).

## 2.3 PROPRIETES TECHNOLOGIQUES DES BACTERIES LACTIQUES

Les caractéristiques technologiques des bactéries lactiques sont souvent situées sur des plasmides, ce qui les rend instables et sujette à la perte de ces derniers. Ces caractéristiques comprennent :

- L'activité acidifiante
- L'activité protéolytique
- Le pouvoir aromatisant et gazeux
- Le caractère probiotique
- Les substances antimicrobiennes (**André et Jean-claude., 1997**).

### 2.3.1 L'ACTIVITE ACIDIFIANTE

Les bactéries lactiques sont déterminées par leur pouvoir acidifiant qui permet la coagulation du lait et l'augmentation de la synthèse du caillé (**Visessangun et al., 2006**), ou la capacité de produire l'acide organique (lactate et l'acétate) suite à une décroissance du pH considéré comme la principale action inhibitrice des bactéries lactiques. Une acidification rapide de la matière première bloque la croissance des microorganismes indésirables et pathogènes (**De vuyst, 2000**).

### 2.3.2 L'ACTIVITE PROTEOLYTIQUE

La croissance des bactéries lactiques nécessite la présence de nombreux acides aminés exogènes et facteurs de croissance dans le milieu, car elles sont incapables de lancer la synthèse à partir d'une seule source d'azote minérale simple donc, elles utilisent un mécanisme appelé l'activité protéolytique. Cette activité est basée sur la dégradation des protéines en peptides courtes qui sont ensuite transportés à l'intérieur de la cellule après elles subiront une hydrolyse par les enzymes protéolytiques jusqu'au stade des acides aminés (**Marya et Birget, 2004**). Les bactéries lactiques sont importantes car elles ont la capacité de synthétiser des exo-polysaccharides dans les produits alimentaires fermentés. L'utilité de ces souches confère à améliorer la texture, la viscosité et l'homogénéité des produits (**Ricciardis et Clement, 2000**).

Elles ont la capacité de produire deux types d'exo-polysaccharides : les homopolysaccharides et les hétéropolysaccharides (**Cerning, 1994**).

### 2.3.3 LE POUVOIR AROMATISANT ET GAZEUX

Des bactéries lactiques telle que *Lactococcus lactos spp*, *Lactis biovar diacelylactis* sont capables de produire des composés d'arômes qui contribuent aux qualités organoleptiques, de fromage tels que l'acétone et diacétyl issus de citrate. Ces composés participent au gout des produits frais et a la production de CO<sub>2</sub> ce qui favorise l'ouverture et le développement des saveurs dans les fromages (François *et al.*, 2010).

### 2.3.4 LE CARACTERE PROBIOTIQUE ET EFFET SUR LA SANTE HUMAINE

Le terme probiotique provient de deux mots grecs « pros » qui est pour et « bios » qui est la vie (Bernier, 2010).

Les probiotiques sont déterminés comme des microorganismes vivants, lorsqu'ils sont consommés en quantité suffisante et peuvent avoir un effet bénéfique sur la santé de l'hôte (Amaraa et Shibl, 2015 ; Bultosa, 2016).

D'après (Patriganani *et al.*, 2007), les bactéries lactiques sont les plus utilisées en alimentation humaine et animale en raison de leurs effets probiotiques, elles exercent un effet positif lorsqu'ils sont ingérés en quantité suffisante comme probiotique modifiés génétiquement, sont utilisés comme alternative pour traiter des maladies inflammatoires gastro-intestinales, par exemple la consommation de yaourt probiotique diminue significativement la glycémie (Ejtihed *et al.*, 2012) ; tandis que les probiotiques aident la limitation de résistance aux antibiotiques (EBuet *et al.*, 2018). D'autres effets bénéfiques peuvent aussi être cités tels que :

- La réduction des infections intestinales
- L'amélioration de la digestion du lactose exemple les bactéries du genre *Bifidobacterium* et le traitement des désordres diarrhéiques, d'autres reste encore controversés tel que la réduction de la formation de tumeurs (Schaafsma, 1996).
- Elles sont aussi employées dans la prévention des maladies inflammatoires chroniques. En plus, elles ont des propriétés antitumorales dans le tractus gastro intestinal par inhibition des composés carcinogènes (Taale, 2016).
- Les bactéries lactiques ont la capacité de bloquer la conversion de l'acétate en cholestérol. De plus, les exo polysaccharides synthétisés par ces bactéries contribuent à la réduction du taux de cholestérol (Savado et Traor., 2011).

### 2.4 PRINCIPALES SUBSTANCES ANTIMICROBIENNES PRODUITES PAR LES BACTERIES LACTIQUES

Les bactéries lactiques produisent de nombreux métabolites à activité antibactérienne tels que le peroxyde d'hydrogène, le dioxyde de carbone, les acides organiques, le diacétyl et les bactériocines (**Drouault et Corthier, 2001**).

#### 2.4.1 LES ACIDES ORGANIQUES

Parmi les produits principaux synthétisés par le métabolisme des bactéries lactiques, les acides organiques qui permettent l'acidification du milieu afin de limiter la croissance de certaines bactéries indésirables, et donc peut entraîner la mort de nombreuses bactéries y compris les ferments lactiques (**Champagne et al., 1999**). Ces acides organiques peuvent être synthétiser soit par la voie hétérofermentaire ou par la voie homofermentaire (**Pellier, 2017**).

Lorsque l'acide lactique est produit, le pH du milieu diminue, ce qui entraîne la non-dissociation des acides organiques notamment les petits acides gras saturés (SFA) qui sont un type d'acides gras présent dans divers aliments d'origine animale et végétale. Ils sont appelés saturés car leur structure chimique ne contient pas de doubles liaisons entre les atomes de carbone, ce qui signifie que chaque atome de carbone est saturé d'hydrogène.

Selon les recherches menées par (**Nes et al., 2011**), les acides gras saturés (SFA) sont largement reconnus comme les principaux composés antimicrobiens produits par les bactéries lactiques.

Ces SFA jouent un rôle important dans la capacité des bactéries lactiques à inhiber la croissance d'autres microorganismes, contribuant ainsi à la préservation et à la sécurité des aliments fermentés.

#### 2.4.2 LE PEROXYDE D'HYDROGENE

La synthèse de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> par ce genre des bactéries peut empêcher la croissance d'agents pathogènes d'origine alimentaire, et il est bénéfique pour la conservation des aliments.

Plusieurs études ont montré que les bactéries lactiques qui synthétisent le peroxyde d'hydrogène peuvent inhibées la croissance des micro-organismes psychrotrophes et

pathogènes aux températures de réfrigération, la plupart des espèces *Lactobacillus* sont capables de produire le peroxyde d'hydrogène par l'oxydation de lactate (**Reis et al., 2012**)

### 2.4.3 LE DIOXYDE DE CARBONE

Le dioxyde de carbone est produit pendant la fermentation hétérolactique et capable de créer un environnement anaérobie pour inhiber les microorganismes aérobies (**Ammor et al., 2006**).

### 2.4.4 LE DIACETYL (2, 3 BUTANEDIONE)

Le diacétyl est un produit issu du métabolisme de citrate, responsable de l'arôme beurre des produits laitiers. Il possède une activité antimicrobienne destinée contre les levures, les bactéries Gram positifs et négatifs non lactiques, ces dernières sont néanmoins moins sensibles (**El Ziney et al., 1998 ; Ouwehand et Vesterlund, 2004**).

### 2.4.5 LA REUTERINE

La reutérine ou (3-hydroxydpropionaldehyde) est une substance à propriétés antimicrobiennes considérée comme un métabolite intermédiaire, produite pendant la fermentation anaérobie du glycérol par certaines espèces de *Lactobacillus* (**Nes et al., 2011**).

### 2.4.6 LES BACTERIOCINES

#### 2.4.6.1 DEFINITION DES BACTERIOCINES

Les bactériocines sont des molécules naturelles d'activité antimicrobienne, sécrétées par les bactéries lactiques. Plusieurs définitions ont été trouvées au cours du temps (**Dortu et Thonart, 2009**), mais la définition la plus utilisée est celle de (**Khaenhammar, 1988**) ; les bactériocines sont comme des protéines ou complexe de protéines d'activité bactéricide dirigé contre des espèces proches de la souche productrice, elles représentent une large classe de substance qui varie en fonction de leur poids moléculaire, leur propriétés biochimiques, spectre d'action et leur mode d'action.

Elles se distinguent des antibiotiques de plusieurs manières : leur synthèse se déroule au niveau ribosomique plutôt qu'en passant par une voie enzymatique, elles manifestent leur activité à faibles concentrations et leur spectre d'action est plus limité par rapport à celui des antibiotiques (**Nes, 2011**).

### 2.4.6.2 CLASSIFICATION DES BACTERIOCINES

Les bactériocines produites par les bactéries lactiques sont classées en 4 classes principales basées sur leur structure primaire et tridimensionnelle ainsi que leur mode d'action (**Taale, 2016**).

- **Bactériocine de classe I**

Rassemble les peptides qui résistent à des températures élevées et provoque des modifications post traductionnelles. Elles se présentent en trois sous classes : les lantibiotiques, les labyrinthopeptins et les sactibiotiques.

Les lantibiotiques : peptides inférieurs a 5 kDa de 19 à 28 acides aminés (**Taal, 2016**).

Selon (**Alexey et al., 2018**), les lantibiotiques sont des petites molécules linéaires, globulaires, chargées positivement, favorisent la formation des pores dans la membrane et ont un spectre d'activité large (**Mc Auliffe et al.,2001**). Par exemple la nisine est secrétée par *Lactococcus lactis sub sp*. Il existe deux formes de nisine à savoir la nisine A et la nisine Z, la différence entre ces deux formes réside dans le résidu situé a la position 27, avec une histidine pour la nisine A et un acide aspartique pour la nisine Z (**Dacosta, 2000 ; Cheigh et Pyun, 2005**).

- **Bactériocine de classe II**

Contrairement aux bactériocines de classe I, possède uniquement des acide aminés standards sans modifications post traductionnelles, sont des peptides a faible poids moléculaire inférieure a 10 kDa et sont thermostables (**Savadago et al., 2016**). Cette classe est divisée en trois sous classes :

- ✓ **La sous classe II - A** : bactériocines de type pédiocine, sont des peptides composés d'un domaine N-terminal hydrophile et cationique, d'une hélice centrale amphiphile  $\alpha$  et d'un domaine C-terminal hydrophobe ou amphiphile et elles sont thermostables (**Alexey et al., 2018**).
- ✓ **La sous classe II - B** : bactériocines à deux composants non-modifiées, sont des peptides ayant entre 30 et 50 acides aminés, sont synthétisés sous la forme d'un précurseur dont le peptide leader sera clivé au moment de l'exportation de la bactériocine. Ils sont cationiques, amphiphiles ou hydrophobes, actifs au niveau des membranes bactériennes (**Taale, 2016**)

- ✓ **sous classe II - C** : bactériocines cycliques (**Kawai et al, 2004**), possède une liaison peptidique intramoléculaire qui circularise le peptide, sont aussi bien produites par des bactéries lactiques que par d'autres types de bactéries (**Fernandez, 2014**).

- **Bactériocine de classe III**

Des protéines de haut poids moléculaires plus de 30 kDa, sont sensibles à la chaleur, dépourvues d'acides aminés (**Heng et al., 2007**). Cette classe comporte quatre bactériocines :

- L'helvetiqueur produite par *Lactobacillus helveticus*
- L'enterolysin A produite par *Enterococcus faecium*
- La zoocim A produite par *Streptococcus zooepidemicus*
- La mellirecin B produite par *Streptococcus milleri* (**Nilsen et al., 2003, Nigoutova et al., 2007**).

- **Bactériocine de classe IV**

Bactériocine complexe, thermosensible de haut poids moléculaire (**Carme et Thonart, 2009**), ont une structure cyclique synthétisée par voie ribosomale et provoquent des modifications post traductionnelles. Un autre exemple de bactériocine appartenant à cette classe est l'enterocine AS-48 produite par *Enterococcus faecalis*, ventericine 6 synthétisée par *Lactobacillus reutri* (**Heng et al., 2007**).

Tableau 3 : Les différentes bactériocines produites par les bactéries lactiques (**Molloy et al., 2011**).

Bactériocine	Bactérie productrice	Spectre d'activité	Nombre d'acide aminée
Nisine A et Z	<i>Lactococcus lactis</i>	Large	34
Lactocine S	<i>Lactobacillus sak</i>	Large	37
Lacticine 3147	<i>Lactococcus lactis</i>	Large	29 et 30
Lactococcine A	<i>Lactococcus lactis</i>	Étroit	54
Lactococcine M	<i>Lactococcus lactis</i>	Étroit	48
Mesenterocine 52 B	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	Étroit	32
Curvaticine FS47	<i>Leuconostoc</i>	Moyen	31

	<i>curvatus</i>		
<b>Enterocine 1146A</b>	<i>Enterococcus faecium</i>	Moyen	37

### 2.4.6.3 MECANISME D’ACTION DES BACTERIOCINES

Le mode d’action d’une bactériocine se déroule en trois étapes distinctes :

- ✓ La Fixation de peptide sur la membrane de cellule cible, lorsque ce dernier s’attache sur la membrane il adopte une structure tridimensionnelle pour qu’il puisse exprimer son activité (Pradda *et al.*, 2007 ; Jasniewski, 2008).
- ✓ L’insertion de la bactériocine dans la membrane cytoplasmique, durant cette étape plusieurs peptides sont recrutés ensuite pour former un pore.
- ✓ La formation du pore entraine des effets néfastes pour la cellule cible tels des fuites au niveau des composés intracellulaires, ralentissement au niveau de la croissance ce qui conduit à la mort cellulaire (Smaoui, 2010 ; Siboukeur, 2011 ; Makhloufi, 2012).

Les principales étapes de mécanisme d’action des bactériocines sont illustrées par la figure 5 :

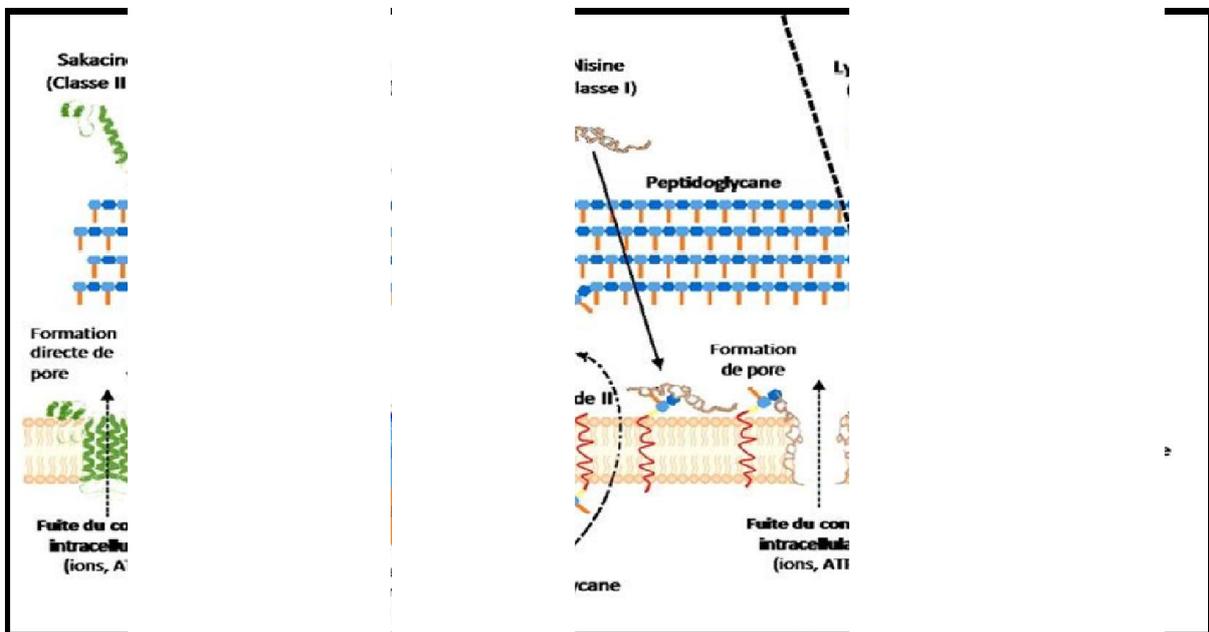


FIGURE 5 : SCHEMA MONTRANT LES PRINCIPAUX MECANISMES D’ACTION DES BACTERIOCINES PRODUITES PAR LES BACTERIES LACTIQUES (FERNANDEZ, 2014).

***Chapitre*** ***III :***  
***MATERIELS*** ***ET***  
***METHODES***

## CHAPITRE III : MATERIELS ET METHODES

### LIEU D'ETUDE

La réalisation de ce travail a été effectuée au niveau du laboratoire de recherche de microbiologie appliquée à l'agroalimentaire, au biomédicale et à l'environnement LAMAABE de l'université Abou Bekr Belkaid Tlemcen durant la période de Mars – Avril 2023.

Pour la réalisation de l'étude expérimentale on s'était intéressé au colostrum bovin.

### PRELEVEMENT DU COLOSTRUM

Les échantillons du colostrum de vache proviennent de la ferme de KAZI TANI région Krazba commune Amieur située à Bensekrane Nord -Tlemcen, ils ont été prélevés après 6 jours de mise en bas de la vache.

Pour réaliser un prélèvement dans des bonnes conditions d'hygiène et éviter toute contamination ultérieure plusieurs étapes doivent être suivies :

- Les mains du manipulateur et les mamelles de la vache sont lavées avec l'eau savonneuse puis rincées avec l'eau de javel (**Martinet *al.*, 2005**).
- Après le séchage des mamelles, elles sont ensuite nettoyées à nouveau avec l'alcool.
- Les premières gouttes sont éliminées pour éviter toute contamination, puis plusieurs échantillons sont prélevés et placés dans des pots stériles.
- L'échantillon de colostrum est recueilli dans une glacière conservée à une température de 4°C et transporté au laboratoire où il est analysé.



FIGURE 6 : PRELEVEMENT DU COLOSTRUM DE VACHE.

### 3.3 ISOLEMENT ET PURIFICATION DE LA FLORE LACTIQUE

L'isolement a été réalisé sur gélose Man Rogosa- Sharp (MRS) préalablement coulée et solidifiée dans des boîtes de Pétri, en portant 0.5 mL des dilutions du Colostrum faite sur bouillon MRS de  $10^{-3}$  et  $10^{-4}$  à la surface du milieu suivi d'un étalement. L'incubation a été faite à  $37^{\circ}\text{C}$  et  $45^{\circ}\text{C}$  pendant 24h à 48h en conditions anaérobiques.

La purification consiste à réaliser des repiquages successifs sur gélose et bouillon MRS, avec une incubation à  $37^{\circ}\text{C}$  et  $45^{\circ}\text{C}$  pendant 24h, jusqu'à l'obtention de colonies de même taille, de même forme et de même couleur renseignant sur la pureté des souches (Lore *et al.*, 2005., Indoui *et al.*, 2009) Comme montre la figure 7 :

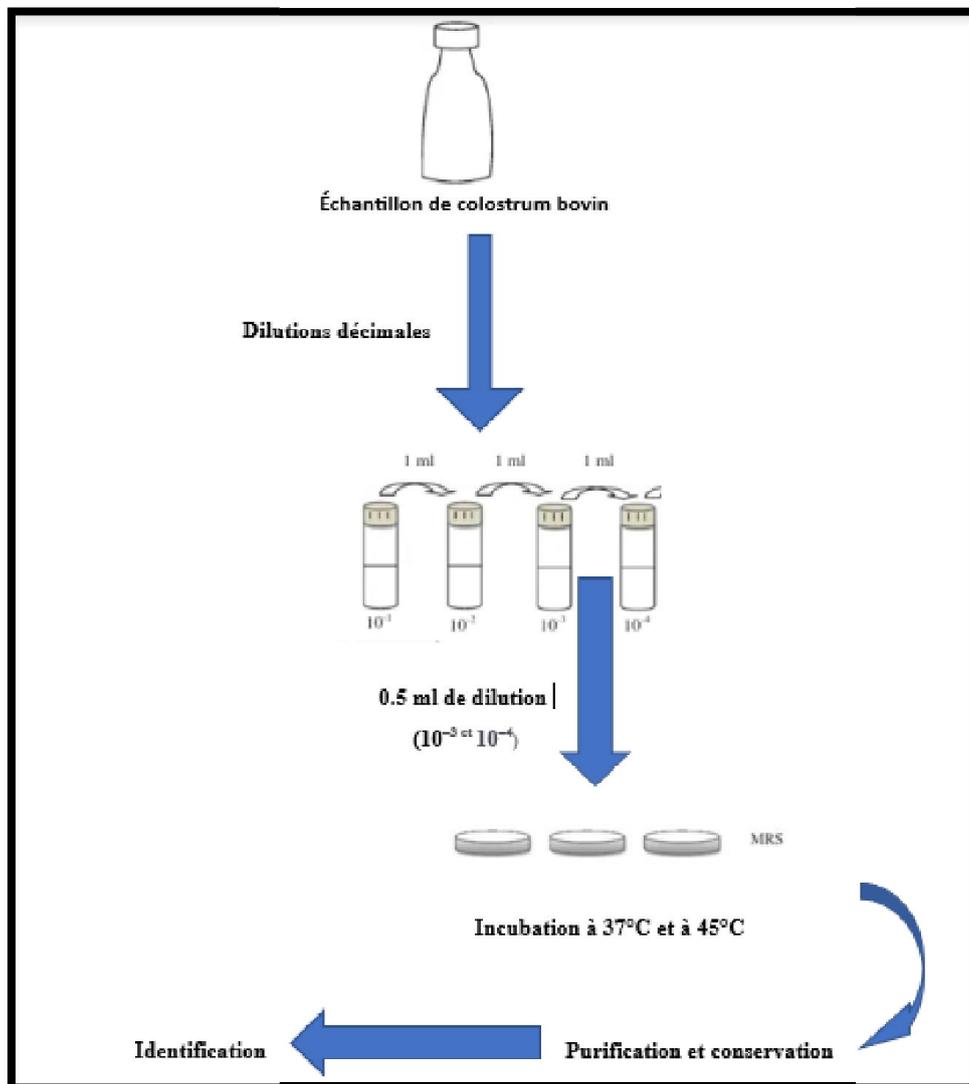


FIGURE 7 : PROTOCOLE D'ISOLEMENT DES SOUCHES LACTIQUES.

### 3.4 Conservation des souches

La conservation des souches bactériennes est réalisée à court terme sur gélose MRS inclinée dans des tubes à 4°C et a long terme dans du glycérol à -20°C.



FIGURE 8 : SOUCHES CONSERVEES A COURT TERME.

### 3.5 Identification des souches lactiques

#### 3.5.1 Caractérisation macroscopique

L'examen macroscopique se concentre sur l'observation à l'œil nu, permettant de décrire l'apparence des colonies à savoir la forme, la taille, la pigmentation, le contour et la viscosité.

#### 3.5.2 Caractérisation microscopique

La coloration de Gram a été utilisée pour distinguer les Gram+ des Gram- et pour apprécier la morphologie et le mode de groupement des bactéries.

#### 3.5.3 Identification biochimique et physiologique

##### 3.5.3.1 Test catalase

Ce test est utilisé pour déterminer la présence de l'enzyme catalase chez les bactéries qui décompose le peroxyde d'hydrogène en oxygène et en H<sub>2</sub>O pour cela une colonie est prélevée sur gélose MRS et elle est dissociée dans une goutte d'eau oxygénée (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) ; un résultat positif ce traduit par l'apparition de bulles révélant le dégagement d'oxygène (**Ahmed et Irene, 2007**)

### 3.5.3.2 Croissance à différentes températures

La croissance à différentes températures permet la différenciation entre les bactéries lactiques thermophiles et les bactéries lactiques mésophiles, pour cela des cultures jeunes sontensemencés dans le bouillon MRS et incubées à des températures de 37°C, et 45°C, après 48h d'incubation la croissance est appréciée par l'apparition de trouble (**Schillinger et Luck., 1987**).

### 3.5.3.3 Croissance à différents pH

Ce test a permis de différencier entre les souches qui croissent dans un milieu acide ou neutre. Un bouillon MRS est préparé avec différent pH : 3, 3.5, 4.5, 5.4 et 6.5 comme témoin. Ensuite, une préculture des souches lactiques isolées est introduite dans les bouillons préparés. L'incubation est faite à 37°C pendant 72 heures (**Carr et al., 2002**).

### 3.5.3.4 La recherche de type fermentaire

Ce test permet de classer les bactéries en homofermentaire et hétérofermentaire. On ensemence abondamment des tubes contenant 10 mL de bouillon MRS et on introduit une cloche de Durham ; Après une incubation à 37°C pendant 24h, le dégagement de CO<sub>2</sub> par les bactéries hétérofermentaires s'accumule dans la cloche ce qui est absent chez les homofermentaires (**Berradia, 2016**)

### 3.5.3.5 Galerie Api 50 CHL

La galerie Api50 CHL (Bio Mérieux, France) permet une identification des bactéries lactiques. Elle est constituée de 50 micro tubes permettent l'étude de la fermentation du substrat appartenant à la famille des hydrates de carbone.

#### Préparation de la galerie

Cette galerie est constituée de 5 bandes comprenant chacune 10 tubes numérotés.

- Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir de l'eau dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide.
- Déposer stérilement les galeries dans la boîte d'incubation.

### **Préparation de l'inoculum**

Faire une suspension bactérienne dans le milieu 50 CHL, d'opacité légère avec une seule colonie prélevée sur un milieu gélosé.

### **Inoculation de la galerie**

- Répartir la suspension bactérienne à l'aide d'une pipette pasteur stérile dans les 50 tubes de la galerie
- Incuber la galerie à 37°C pendant 24h.
- Durant l'incubation, la fermentation des sucres est indiquée par le virage de couleur au jaune due à l'acidification du milieu, les résultats sont lus après 24h.
- L'interprétation des résultats est faite par logiciel Api Web (Bio Mérieux) pour identifier les bactéries lactiques

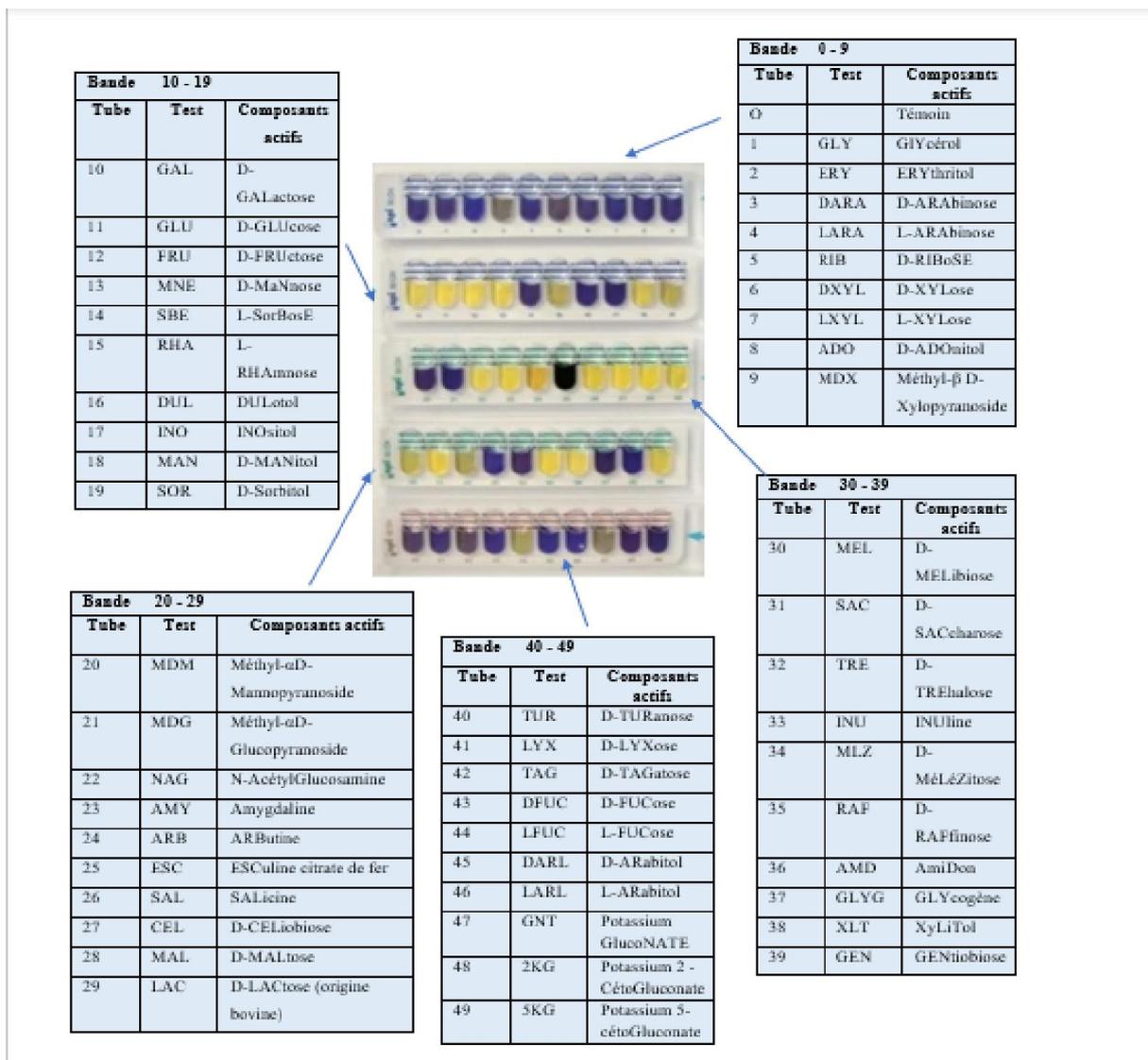


FIGURE 9 : LA GALERIE API 50 CHL (BIO MERIEUX, FRANCE).

### 3.6 Etude de l'activité antimicrobienne

#### 3.6.1 Les souches de références utilisées

L'étude de l'activité antimicrobienne du colostrum et des souches lactiques isolées de ce dernier a été testée contre les souches de références mentionnées dans le tableau 4 par la méthode des puits et la méthode des disques.

Tableau 4 : Les souches de références utilisées dans l'étude.

Les souches bactériennes	ATCC
<i>Staphylococcus aureus</i>	6538 ATCC
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	27853 ATCC
<i>Escherichia coli</i>	25922 ATCC
<i>Micrococcus luteus</i>	15307 ATCC
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	700602 ATCC
<i>Enterococcus faecalis</i>	49452 ATCC

### 3.6.2 Méthode des puits

- Les bactéries lactiques sont cultivées dans le milieu MRS liquide 18h à 30°C, puis centrifugées à 4000 tours /minute pendant 15min.
- Des puits stériles sont créés sur une gélose nutritive avec une pipette pasteur stérile inoculée par la souche indicatrice et remplis avec 100 µL du surnageant de la culture. Les boîtes de Petri sont ensuite placées à une température basse pour favoriser la diffusion des substances antibactériennes (**Doumandji et al., 2010**) ; puis incubées à 37°C.
- Après 24h d'incubation la présence de zones d'inhibition autour des puits est indicatrice de l'activité inhibitrice des bactéries lactiques (**Hwanhlem et al., 2011**).

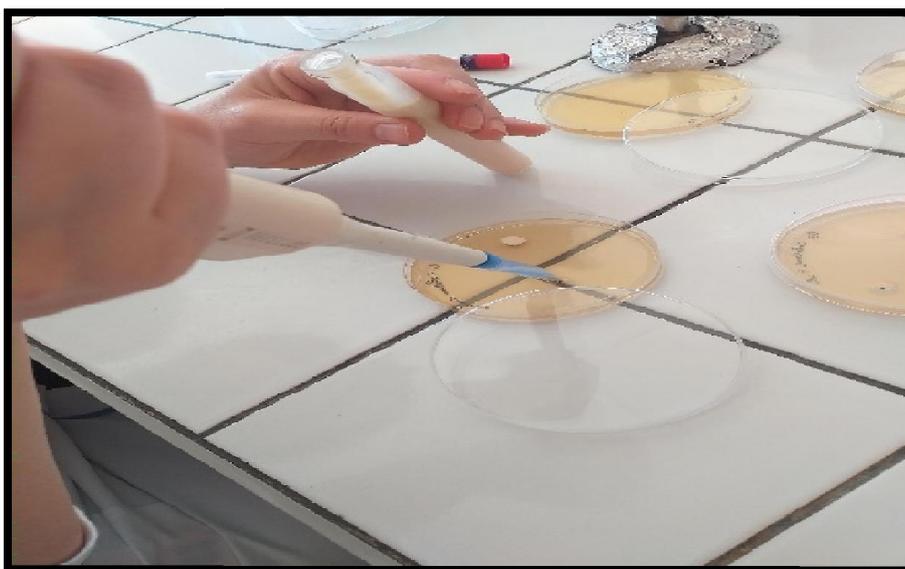


FIGURE 10 : LA METHODE DES PUIITS

### 3.6.3 Méthode des disques

- Les suspensions bactériennes des souches indicatrices ont été préparées 24 h avant, ajusté a  $10^8$  UFC /mL et étalées à la surface de la gélose M.H à l'aide d'un écouvillon.
- Les bactéries lactiques sont cultivées dans le milieu MRS liquide 18h à 30°C, puis centrifugées à 4000 tours /minute pendant 15min
- Des disques sont imprégnés de 100  $\mu$ L du surnagent de la culture et sont déposés délicatement sur la surface de la gélose inoculée à l'aide d'une pince stérile.
- Les boîtes sont incubées à 37°C pendant 24h.
- La lecture des résultats se fait par la mesure de diamètre de zone d'inhibition représentée par une zone claire autour des disques, alors que l'absence de croissance microbienne se traduit par un halo translucide (Tadesse *et al.*, 2004). La méthode est illustrée dans la figure 12 :

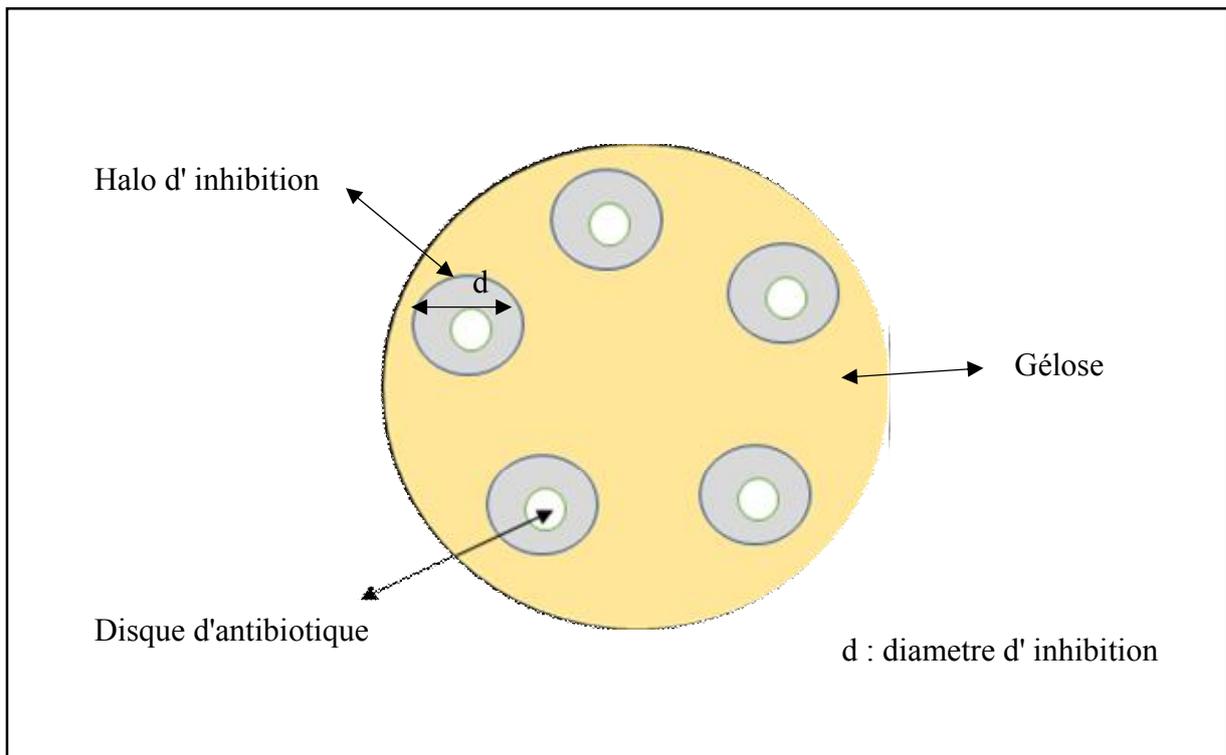


FIGURE 11 : LA METHODE DES DISQUES

***Chapitre*** ***IV :***  
***RESULTATS*** ***ET***  
***DISCUSSION***

## RESULTAT ET DISCUSSION

### 4 RESULTAT DU PRELEVEMENT

Le colostrum bovin, avec sa composition unique comprenant des minéraux, des vitamines, des facteurs immunisants, des facteurs de croissance et des substances antimicrobiennes, et est largement reconnu comme un remède naturel précieux pour les veaux nouveau-nés ainsi que pour les êtres humains. En effet, En tant que complément alimentaire, le colostrum est largement utilisé pour améliorer la santé et le bien être des individus (**Boudry *et al.*, 2009 ; Nakamura *et al.*, 2003 ; McGrath *et al.*, 2016**). Les caractéristiques du colostrum prélevé sont résumées dans le tableau 5.

**Tableau 5** : Les caractéristiques du colostrum bovin

Colostrum	Origine	Temps de prélèvement	Couleur	pH	Viscosité
	Bovine	6 jours après la mise en bas	Jaune rougeâtre	6.3	Très élevée

Dans cette étude nous avons prélevé le colostrum de vache de la région de Bensakrane dans le but de rechercher des bactéries lactiques bénéfiques.

Le colostrum été prélevé après 6 jours de mise en bas de la vache, de couleur jaune rougeâtre due à la présence de caroténoïdes et de cellules sanguines, d'un Ph de 6.3 et d'une viscosité très élevée due à sa forte teneur en protéines et en composants solides ce qui le rend différent du lait mature .

#### 4.2 Isolement et purification des bactéries lactiques

Cette étude a pour but d'isoler des souches à partir du colostrum bovin et de les identifier par les procédures phénotypiques conventionnelles basées sur les tests morphologiques et biochimiques. L'échantillonnage des prélèvements a permis l'isolement de deux souches sur le milieu sélectif pour bactéries lactiques MRS, q ces deux caractères, laissent supposer leur probable appartenance au groupe des bactéries lactiques.

#### 4.3 Identification des souches lactiques

##### 4.3.1 Caractérisation macroscopique

Cette étude consiste à observer à l'œil nu l'aspect des cultures en milieu gélosé (MRS), elle permet aussi de déterminer la forme, la couleur et l'aspect des colonies.

Sur le milieu MRS l'observation macroscopique a montré que les souches ont données des colonies de petites tailles lenticulaires parfois circulaires d'une couleur blanchâtre ou transparente et lisse comme montre la (Figure 13).

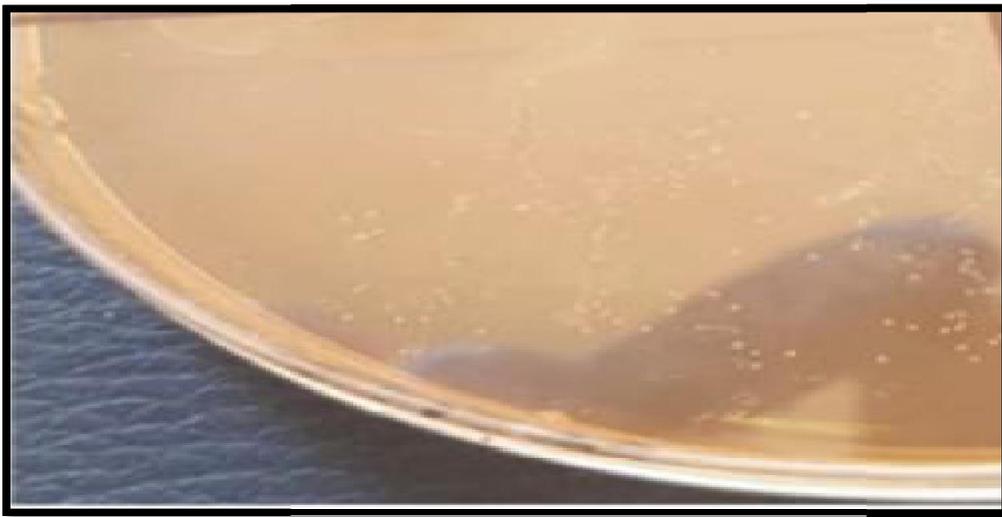


Figure 12 : Aspect macroscopique des souches lactiques isolées sur milieu MRS

#### 4.3.2 Caractérisation microscopique

L'examen microscopique a été réalisé après une coloration de Gram.

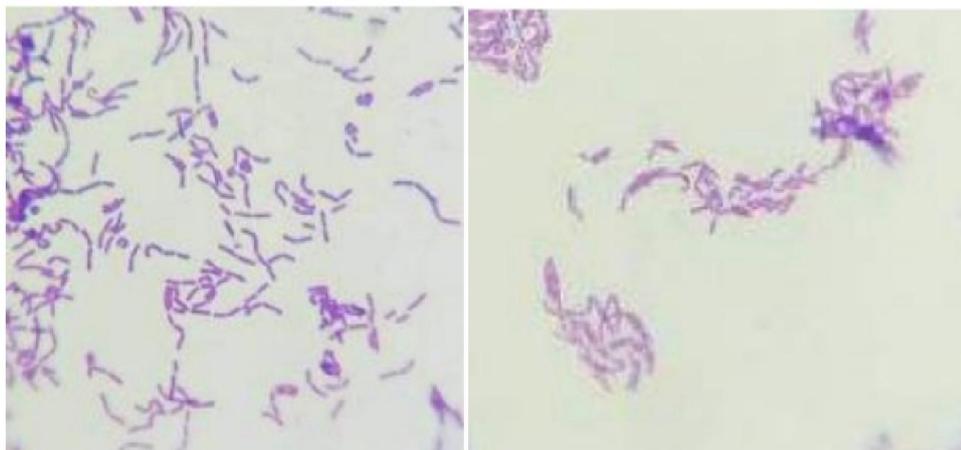


Figure 13 : Observation microscopique des souches isolées à partir du colostrum

Dans notre étude les bactéries isolées sur MRS à partir du Colostrum été des bacilles Gram positif comme le montre la figure 14.

Les bactéries lactiques peuvent se présenter comme des bâtonnets ou coccobacilles (Kandler et Weise, 1986)

### 4.3.3 Caractérisation biochimique et physiologique

#### 4.3.3.1 Test catalase

L'analyse de ces résultats montre que les isolats ne possèdent pas une activité catalytique (absence de dégagement gazeux), et donc elles sont catalase négative ce qui permet de les joindre aux bactéries lactiques qui présentent cette caractéristique selon (Savadago et Traore, 2011).

#### 4.3.3.2 Type fermentaire

La recherche du type fermentaire était réalisée sur un bouillon MRS liquide additionné d'une cloche de Durham.

Les résultats obtenus ont montré l'absence de la production de gaz CO<sub>2</sub> à partir du glucose, donc nos isolats lactiques sont des homofermentaires (Figure 16).

Les bactéries homofermentaires sont connues sous le nom de bactéries homolactiques, spécialisées dans la fermentation du glucose produisant principalement de l'acide lactique sans production de dioxyde de carbone (Vandamme *et al.*, 1996).



Figure 14 : Résultats obtenus pour la mise en évidence du type fermentaire sur milieu MRS contenant la cloche de Durham.

#### 4.3.3.3 Croissance à différentes Températures

Les souches lactiques isolées à partir du colostrum de vache ont été testées pour leurs capacités à croître à des températures de 37°C et 45°C.

Nos résultats indiquent que les souche que nous avons isolées a pu se développer à une température de 37°C, et a montré une croissance favorable à une température élevée de 45°C°

#### 4.3.3.4 Croissance a différents pH

La croissance des souches isolées à partir du colostrum de vache ont été testées sur milieu MRS avec différents pH : 3, 3.5 ,4, 4.5, 5.4,6.5.

Les résultats obtenus sont mentionnés dans le tableau 6.

**Tableau 6 :** Présentation des caractères physiologiques de la souche lactique isolée.

Souches	Ph = 3	Ph = 3.5	Ph = 4	Ph = 4.5	Ph = 5	Ph = 5.4	Ph = 6.5
S1	-	-	-	+	+	+	+
S2	-	-	-	+	+	+	+

Tous les isolats obtenus du colostrum de vache ont pu se développer à un pH de 4.5 et 6.5 et ils font partie des bactéries lactiques acidophiles. Les acidophiles sont des organismes qui s'adaptent à des environnements très acides ou ils prospèrent malgré des conditions corrosives.

Les microorganismes acidophiles sont importants pour la compréhension de la biodiversité, l'exploration de nouveaux habitats, ainsi que pour des applications industrielles spécifiques nécessitant une adaptation aux environnements acides(Lund *et al.*, 2020).

#### 4.3.3.5 Résultats de l'identification primaire

Les résultats des méthodes phénotypiques appliquées pour l'identification des souches lactiques sont regroupés dans le tableau 7.

**Tableau 7 :** Critères d'identification des isolats lactiques du genre *Lactobacillus*.

Code de la souche	Morphologie Sur MRS	Gram Et forme	Catalase	Type fermentaire	T° de Croissance		Ph de Croissance							
					37 °	45°	3	3.5	4	4.5	5	6.5		
S1	Ovoïde	Bacille Gram+	-	Homofermentaire										
S2	Ovoïde	Bacille Gram+	-	Homofermentaire	+	+	-	-	-	+	+	+		

Selon les tests préliminaires réalisés les souches S1 et S2 isolées du colostrum de vache présentes les caractéristiques des bactéries du genre *Lactobacillus* à savoir : des bacilles Gram

positif, catalase négative, homofermentaire qui se développe à une température de 45°C et a des pH de 4.5, 5 et 6.5 comme il est indiqué dans le (Tableau 7).

Les résultats obtenus sont comparables a ceux de **(Ameur et al., 2021)** le colostrum bovin ou il a démontré que les *Lactobacillus* étaient très abondants dans le colostrum par rapport a d'autres genres de bactéries. Aussi l'étude de **(Boutamdjet et Benmahmoud, 2013)** qui confirment l'abondance des *Lactobacillus* dans le lait cru de vache.

**(Bellal, 2018)** dans son étude sur le lait de chamellea identifié le genre *Lactobacillus* comme des homofermentaire, qui se développent à un pH de 4.5 et 6.5 et qui résistent à des températures de 63.5 et 55°C pendant 30 min.

**(Hssaine, 2013)** a trouver aussi que les *Lactobacillus* poussent à des températures de 15°C, alors que **(Bougarra, 2012)** a isolé des Bâtonnets homofermentaires qui peuvent se développer à 10°C et seulement certains nombres de *Lactobacillus* à 45°C. Les résultats de ces deux études indiquent que les *Lactobacillus* peuvent se développer à différentes températures, avec des capacités variables en fonction des souches. Certains *Lactobacillus* peuvent prospérer a des températures aussi basses que 10°C tandis que d'autres peuvent tolérer des températures plus élevées jusqu' a 45°C. Ces adaptations de températures sont importantes pour la survie et la croissance des *Lactobacillus* dans différents environnements **(Bougarra, 2012)**.

Les *Lactobacillus* sont des bactéries lactiques essentielles, car la plupart d'entre elles produisent de l'acide lactique, créant ainsi un environnement acide qui inhibe la croissance des bactéries pathogènes. Ils jouent un rôle important dans l'industrie alimentaire notamment dans la production de fromage, d'aliments fermentés et d'aliments pour animaux.

En outre, certaines *Lactobacillus* peuvent avoir des propriétés thérapeutiques potentielles telles que des effets anti-inflammatoires et anti- cancéreux. Certaines *Lactobacillus*, comme *Lactobacillus plantarum* peuvent également être utilisés comme probiotiques **(Schleifer et Stackebrand, 1983 ; Pilet et al., 2005)**.

**4.3.3.6 Profil fermentaire de la souche lactique sur la galerie Api 50CHL**

Le système API 50 CHL a été utilisé pour déterminer la production d'acide à partir des hydrates de carbones.

L'identification est faite par la galerie API 50 CHL en s'appuyant sur les profils obtenus et en comparant avec les données de la littérature

**Tableau 8** : Profil fermentaire des souches isolées par la galerie 50 CHL.

	Test/Isolats	S1	S2
0	Témoin	-	-
1	Glycérol	-	-
2	Erythritol	-	-
3	D- Arabinose	+	+
4	L -Arabinose	+	+
5	D-Ribose	-	-
6	D-Xylose	-	-
7	L-Xylose	-	-
8	D-Adonitol	-	-
9	Méthyl-βD-Xylopyranoside	-	-
10	D-Galactose	+	+
11	D-Glucose	+	+
12	D-Fructose	+	+
13	D-Mannose	+	+
14	L-Sorbose	-	-
15	L-Rhamnose	L*	L*
16	Dulcitol	-	-
17	Inositol	-	-
18	D-Mannitol	+	+
19	D-Sorbitol	-	-
20	Méthyl-αD-Mannopyranoside	-	-
21	Méthyl-αD-Glucopyranoside	+	+
22	N-Acétylglucosamine	+	+
23	Amygdaline	-	-
24	Arbutine	+	+
25	Esculine citrate de fer	+	+
26	Salicine	+	+
27	D-Cellulose	+	+
28	D-Maltose	+	+
29	D-lactose	L*	L*
30	D-Melibiose	+	+
31	D-Saccharose	+	+
32	D-Tréhalose	L*	L*
33	Inuline	L*	L*
34	D-Mélézitose	-	-
35	D-Raffinose	+	+
36	Amidon	+	+
37	Glycogène	-	-
38	Xylitol	-	-
39	Gentiobiose	-	-
40	D-Turanose	+	+
41	D-Lyxose	-	-
42	D-Tagatose	-	-
43	D-Fucose	-	-

## CHAPITRE IV : RESULTAT ET DISCUSSION

44	L-Fucose	-	-
45	D-Arabitol	-	-
46	L-Arabitol	-	-
47	Potassium Gluconate	+	+
48	Potassium 2-Cétogluconate	-	-
49	Potassium 5-Cétogluconate	-	-
<i>Lactobacillus plantarum</i>			

Les souches S1 et S2 isolées du colostrum de vache et identifiées par galeries 50 CHL fermente la majorité des sucres, elle ne fermente pas le xylose, l'inositol et dégrade légèrement le rhamnose. Selon les résultats obtenus à partir de l'identification par la galerie API 50 CHL, la souche a été identifiée comme étant *Lactobacillus plantarum*.

*Lb. Plantarum*, comme l'indiquent leur profil fermente l'arabinose, cellobiose, lactose, maltose, melibiose, raffinose, ribose, saccharose et tréhalose (Sharp 1979 ; Balowss *et al*, 1991). Cette souche est incapable d'utiliser le rhamnose, tandis que l'utilisation du sorbitol et xylose est variable et semble être dépendent des souches.

(Mami *et al.*, 2010) ont réussi à isoler avec succès *Lactobacillus plantarum* à partir du lait cru de vache démontrant ainsi la présence de cette souche bactérienne spécifique dans ce type de sources laitières.

Une autre recherche réalisée par (Belarbi, 2010) a permis de mettre en évidence la présence de cette souche spécifique des bactéries lactiques dans le lait provenant de vache.

L'espèce *Lactobacillus plantarum* se présente sous forme de bâtonnets ou de chaînes courtes (Bougois et Larpent, 1996). On la retrouve dans divers produits tels que les produits laitiers, les olives, le levain de panification, certains fromages et poissons (Desmazaud, 1996).

*Lactobacillus plantarum* a la capacité de synthétiser l'enzyme pyruvate oxydase qui entraîne la libération de peroxyde d'hydrogène à partir du glucose. De plus, lorsque le glucose est épuisé, cette espèce peut également libérer du peroxyde d'hydrogène à partir du lactate (Dacosta, 2000).

Sur le plan sérologique, *Lactobacillus plantarum* fait partie du groupe D, elle est capable de fermenter le lactose le saccharose, le mélibiose, l'arabinose ainsi que la xylose, mais elle ne fermente pas le rhamnose (Pulmmer *et al.*, 2004).

Elle fait partie des probiotiques reconnus par l'autorité européenne de sécurité des aliments du fait de son utilisation et inoffensive pour la santé.

(Albenzio *et al.*, 2001 et Amarita *et al.*, 2001), il a démontré que *Lactobacillus plantarum* joue un rôle significatif dans le développement de l'arôme du fromage. Des recherches menées par ( Yiu. S.H, 1985 ;Somers *et al.* ,2001) ont révélé que cette espèce contribue à la production d'un agent antimicrobien protecteur dans le fromage.

#### 4.4 Etude de l'activité antimicrobienne

##### 4.4.1 Activité antimicrobienne du colostrum bovin

Dans un premier temps nous avons testé l'effet antimicrobien du colostrum isolé de vache de la région de Tlemcen, vis-à-vis des souches de références : *Staphylococcus aureus* 6538, *Pseudomonas aeruginosa* 27853, *Escherichia coli* 25922, *Micrococcus luteus* 15307, *Enterococcus faecalis* 49452 et *Klebsiella pneumoniae* 700602.

L'activité antimicrobienne a été déterminée par deux techniques : la technique des puits et la technique des disques, les deux techniques sont des méthodes de diffusion sur milieu gélosé (Sacchetti *et al.*, 2005 ; Celiktas *et al.*, 2007). Les résultats obtenus sont représentés dans le tableau 9 et la figure 17.

**Tableau 9** : Tableau montre résultats d'interaction entre le colostrum et les souches pathogènes

Les souches indicatrices	Diamètre de zone d'inhibition
	Méthode des puits
<i>Staphylococcus aureus</i> 6538	1.3 mm
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 27853	3.3 mm
<i>Escherichia coli</i> 25922	-
<i>Micrococcus luteus</i> 15307	-
<i>Enterococcus faecalis</i> 49452	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i> 700602	1.3 mm

(-) : absence d'inhibition (pas d'interaction). Les résultats montrent que le colostrum bovin a un effet inhibiteur contre les souches *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Klebsiella pneumoniae* avec des diamètres respectivement de 1.3 mm et 3.3 mm. Les résultats obtenus dans cette étude sont similaires à ceux rapportés par (Jard *et al.*, 2015). Ils indiquent

que la lactoferrine présente dans le colostrum de différentes espèces animales, y compris le colostrum bovin possède des propriétés bactéricides et bactériostatiques.

L'étude de (**Jard *et al.*, 2014**) a montré que le colostrum camelin a une activité antibactérienne élevée contre *E. coli*. (**EL-Agamy *et al.*, 1992 ; Benkkerroum *et al.*, 2004**), ont ainsi noté que les protéines du colostrum bovin possèdent une activité nulle contre les bactéries Gram positives et les bactéries Gram négatives par contre les protéines du colostrum camelin possède une activité antimicrobienne très élevée contre ces bactéries. En effet, un grand nombre d'études démontrent que le colostrum possède un effet bactéricide et bactériostatique, très important et il contient plusieurs molécules biologiquement actives (**Pakkanen *et al.*, 1997**).

Le colostrum est un excellent antibactérien car il contient des anticorps, des facteurs antimicrobiens comme la lactoferrine, le lysozyme, des hormones et les facteurs de croissance. Tous ces éléments garantissent une protection générale et locale contre les bactéries, les virus ou les parasites (**Piot *et al.*, 2004**). Par contre dans notre étude le colostrum n'a pas d'effet sur les souches *E. coli* 25922, *Micrococcus luteus* 15307 et *Enterococcus faecalis* 49452 avec des diamètres inférieurs à 1 mm. Ceci est le cas de (**Abdel Gawad *et al.*, 1996 ; Kappeler *et al.*, 2004**), ou ils n'ont pas trouvé d'effet inhibiteur contre ces mêmes souches. Cette absence d'effet inhibiteur peut être expliquée par le fait que le colostrum est déficient en quelques protéines de reconnaissance du peptidoglycane (PPGGP) ou peut être due à un faible taux de lactoferrine qui est un facteur antibactérien fréquent et puissant présent dans le colostrum, exprimé à 0.50 g/L au deuxième jour après la mise en bas.

Cependant, malgré le rôle antimicrobien et nutritionnel important du colostrum sont utilisation doit être contrôlé puisqu'il peut être également une source de transmission d'agents pathogènes dangereux tels que les agents de la tuberculose, les mycoplasmes et autres bactéries.



**Figure 15 :** L'activité antimicrobienne du colostrum vis-à-vis de *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* et *Pseudomonas aeruginosa*.

#### 4.4.2 Activité antimicrobienne de la souche lactique isolée

Afin d'évaluer l'effet antimicrobien de la souche lactique *Lactobacillus plantarum* isolée du colostrum, notre choix s'est donc porté sur deux méthodes largement utilisées : la méthode des disques et la méthode des puits (Tadesse et al., 2004 ; Barefoot et Klaenhammer, 1983).

**Tableau 10 :** Les résultats d'interaction entre *Lactobacillus plantarum* et les souches pathogènes de S1

Les souches indicatrices	Diamètre de zone d'inhibition	
	Méthode des puits	Méthode des disques
<i>Staphylococcus aureus</i> 6538	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 27853	-	-
<i>Escherichia coli</i> 25922	-	-
<i>Micrococcus luteus</i> 15307	-	-
<i>Enterococcus faecalis</i> 49452	-	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i> 700602	-	-

Selon le tableau 10 dans ce test, aucune zone d'inhibition n'a été observée autour des disques et des puits ceci malgré de nombreuses répétitions.

Les résultats des interactions ont montré que notre souche isolée du colostrum *Lactobacillus plantarum* n'a pas formé des zones d'inhibition, cela indique qu'elle ne possède aucune activité antibactérienne contre les souches *Staphylococcus aureus* 6538, *Pseudomonas*

*aeruginosa* 27853, *Escherichia coli* 25922, *Micrococcus luteus* 15307, *Enterococcus faecalis* 49452 et *Klebsiella pneumonia* 700602.

Les résultats de **(Belarbi , 2011)** concordent avec ceux obtenus, ils indiquent qu'il y'a pas formation de zones d'inhibition autour des puits lors de l'utilisation de souches lactiques du genres *Lactobacillus plantarum* isolée du lait de vache et de chevre que ce soit avec cultures de bactéries ou des filtrats de culture bactériennes.

**(Allouche et al., 2010)** ont constaté que les lactobacilles ont une activité antimicrobienne contre les souches Gram positives notamment *S. aureus* avec une zone de 12 mm et une activité nulle contre les souches Gram négative représentée par *E. coli*. Alors que **(Mameche, 2008)** a montré que les lactobacilles ont une activité inhibitrice sur les bactéries à Gram négatif supérieure à celle observé contre les souches pathogènes à Gram positif.

Les résultats de **(Rahli , 2015)** indiquent que les bactéries lactiques sont capables de produire des substances inhibitrices ayant une activité antimicrobienne mais elles ne présentent pas le même spectre d'action vis-à-vis des espèces pathogènes. La plupart des bactéries lactiques sont actives sur les bactéries Gram positif mais pas tous sur les bactéries à Gram négatif.

**(Onda et al., 2003)** suggèrent que les bactéries Gram positif sont plus sensibles à l'effet bactéricide des bactéries lactiques. Cette activité antimicrobienne des souches lactiques est due à la synthèse de nombreux agents antimicrobiens comme l'acide lactique qui inhibe plusieurs genres de bactéries grâce à son pouvoir acidifiant du milieu, à cela s'ajoute aussi l'effet du H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> libéré par ces souches et qui inhibe les bactéries qui ne possèdent pas de défenses contre le stress oxydatif.



**Figure 16 :** L'absence de l'activité antimicrobienne de la souche *Lactobacillus* isolée contre les six souches indicatrices

***CONCLUSION***  
***PERSPECTIVE***

***ET***

### CONCLUSION ET PERSPECTIVE

Les bactéries lactiques jouent un rôle essentiel dans la bioconversion des aliments et dans la biothérapie grâce à leur capacité d'inhiber des bactéries pathogènes par la synthèse de plusieurs métabolites ayant des propriétés antimicrobiennes telles que les bactériocines.

Le but de ce travail de mémoire est d'isoler des bactéries lactiques du colostrum de vache provenant de la région de Bensakrane-Tlemcen- et d'étudier ces propriétés antimicrobiennes.

Parmi les genres des bactéries lactiques, on a pu isoler une souche de *Lactobacillus plantarum*. (Cette souche est connue par son utilisation dans les fermentations industrielles et le traitement des aliments crus grâce à leur effet probiotique et bénéfique pour la santé. Elle est réputée aussi pour ses propriétés probiotiques, ce qui signifie qu'elle peut contribuer au maintien de l'équilibre de la flore intestinale et favoriser une bonne santé digestive. Son utilisation dans l'industrie alimentaire est courante en raison de ses capacités de fermentation, sa capacité a amélioré la conservation et la qualité des aliments.

Le colostrum et la souche isolée ont été testés pour déterminer leur activité antimicrobienne vis-à-vis de souches de référence du genre : (*Staphylococcus aureus*, *Micrococcus*, *Enterococcus faecalis*) (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella*) par des méthodes de diffusion sur gélose.

Les résultats d'inhibition montrent que le colostrum bovin présente une activité antibactérienne contre *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Klebsiella pneumoniae* et ne présente aucune activité antimicrobienne contre *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis* et *Micrococcus*. Par contre la souche *Lactobacillus plantarum* isolée du colostrum de vache ne présente aucun effet contre ces mêmes bactéries. Ces observations nous amènent dans un premier temps à élargir notre recherche et isolées d'autres genres de bactéries lactiques du colostrum qui seraient susceptibles d'avoir un effet antibactérien.

- Application de génie génétique pour l'identification des souches isolées.

## CONCLUSION ET PERSPECTIVE

- Il serait aussi intéressant de faire une caractérisation plus profonde et une purification des substances inhibitrices produite par le colostrum bovin pour les utiliser plus tard dans le traitement de diverses infections d'origine bactériennes

**Les références bibliographiques**

1. **Abdou, H., Marichatou, H., Beckers, J. F., Dufrasne, I. et Hornick, J. L. (2012).** Physiologie de la production et composition chimique du colostrum des grands mammifères domestiques : généralités. In *Annales de Médecine Vétérinaire*, 156, 87-98. Université de Liège.
2. **Axelsson, L. (2004).** *Lactic Acid Bacteria: Classification and Physiology. Lactic Acid Bacteria Microbiological and Functional Aspects. Third Edition, Revised and Expanded.*
3. **Ammor, S., Tauveron G., Dufour E., Chevallier I. (2006).** Antibacterial activity of lactic acid bacteria against spoilage and pathogen bacteria isolated from the same meat small-scale facility. *Food Control*, 17, 454-468.
4. **Ahmad Faris Mahd Adnan, Irene K.P. Tan, 2007.** Isolation of lactic acid bacteria from Malaysian foods and assessment of the isolates for industrial potential. *Bioresource Technology*, 98 : 1380-1385. in mémoire magistère (Belarbi Fatima 2010-2011).
5. **Allemand H. (2008).** Évaluation par la technique d'immunodiffusion radiale de la qualité du colostrum et du transfert colostré chez les bovins. (Thèse pour l'obtention du grade de (Docteur vétérinaire). Ecole nationale vétérinaire de Lyon : Lyon, 150p.
6. **Allouche F. N. Hellal A. Larbaa. (2010) :** Etude de l'activité antimicrobienne des souches de lactobacilles thermophiles utilisées dans l'industrie laitière. *Nature et Techno.*
7. **Abd EL-Gawad, EL-Sayed EM, Mahfouz MB, ABD EL-Salam AM., (1996)** Changes of lactoferrin concentration in colostrum and milk from different species. *Egypt. J. Dairy Sci*, 24, 297-308.
8. **Antonio J, Sanders MS, Van Gammeren D.** The effects of bovine colostrum supplementation on body composition and exercise performance in active men and women. *Nutrition*. 2001 Mar ; 17(3) : 243-7. 18.

**9. Alexandery, Prosekov O., Babich S., Milenteva I. (2017) :**Development of recombinant peptide technology with antimicrobial properties of abroad action spectrum. Science Evolution, 2(2), 15.

**10. Amandine, Fessard.** Recherche de bactéries lactiques autochtones capables de mener la fermentation de fruits tropicaux avec une augmentation de l'activité antioxydante. Sciences agricoles. Université de la Réunion, 2017. France.

**11. Albenzio, M., Corbo, M.R., Rehman, S.U., Fox, P.F., DeAngelis, M., Corsetti, A., Sevi, A. and Gobetti, M. (2001).** Microbiological and biochemical characteristics of Canestrato Pugliese cheese made from raw milk, pasteurized milk or by heating the curd in hot whey. Int. J. Food Microbiol. 67 : 35–48.

**12. Amarita, F., Requena, T., Taborda, G., Amigo, L. and Pelaez, C. (2001).** Lactobacillus casei and Lactobacillus plantarum initiate catabolism of methionine transamination. J. Appl. Microbiol. 90 : 971–978.

**13. Ameer, M., Deua, R., Djelil, H. (2020).** Screening des bactéries lactique productrices des bactériocines isolées à partir du colostrum et caractérisation de leur activité antimicrobienne vis à vis des souches chimiques. Memoire de master en microbiologie appliquée. Université Ibn Khaldoune -Tiaret.

**14. Boutamdjet, F., Benmahoud, A. (2013).** Caractérisation physico-chimique et microbiologique des laits crus de trois espèces laitières, caprine, bovine et ovine, sélection des souches lactiques thermopiles, ayant un profil probiotique et technologique. Memoire de master en microbiologie appliquée. Université Mohamed El Bachir El-Ibrahimi – Bordj Bou Arridj.

**15. Boudry, C., Dehoux, J. P., Wavreille, J., Collard, A., Portetelle, D. et Thewis, A. (2009).** Effets biologiques et immunitaires du colostrum bovin sur le porcelet au sevrage. 9<sup>ème</sup> Journée des Productions porcines et avicoles " Impact de l'alimentation sur la santé animale : nouveaux développements", 15-22.

**16. Belarbi F. (2011).** Isolement et sélection des souches de bactéries lactiques productrices des métabolites antibactériennes, Magistère : Microbiologie alimentaire et industrielle, facultés des sciences Université d'Oran.

## REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUES

- 17. Bellal I. (2018).** L'activité antimicrobienne des bactéries lactiques isolées à partir du lait de chamelle vis-à-vis les souches pathogènes. Mémoire de master en microbiologie appliquée. Université Abdel Hamid Ibn Badis-Mostaganem.
- 18. Berradia A. (2016).** Isolement, purification et identification des bactéries lactiques à partir de lait cru de chèvre. Mémoire de master en microbiologie fondamentale et appliquée. Université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem.
- 19. Bouguerra A. (2012).** Caractérisation des bactéries lactiques du lait de chamelle, MAGISTER En Microbiologie, UNIVERSITE de SETIF.
- 20. Belgacem, Z.B., Abriouel, H., Omar, N. B., Lucas, R., Martínez-Canamero, M., Gálvez, A., & Manai, M. (2008).** Antimicrobial activity, safety aspects, and some technological properties of bacteriocinogenic *Enterococcus faecium* from artisanal Tunisian fermented meat. *Food Control*, 21(4), 464-470.
- 21. Barrington GM., McFadden T B., Huyeler M T., Besser T E. (2001).** Régulation of colostrumogenesis in cattle. *Livest. Prod. Sci.*, 70, 95-104
- 22. Baumrucker CR., Burkett AM., Magliaro-Macrina A L and Dechow CD (2010).** Colostrumogenesis : mass transfer of IgG1 into colostrum, *J. Dairy Sci.* 93 (7) : 3031-3038
- 23. Brandon MR., Watson DL., Lascelles A K. (1971).** The mechanism of transfer of Immunoglobulin into mammary secretion of cows. *Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci.* 49, 613-623.
- 24. Bernabucci, U., Basiricò, L. et Morera, P. (2013).** Impact of hot environment on colostrum and milk composition. *Cellular and molecular biology*, 59(1), 67-83.
- 25. Brain, A., Mc Grath., Patrick, F., Fox., Paul, L., Mc Sweeney., Alan, L., Kelly.** Composition and properties of bovine colostrum (2015). University college cork. Ireland.
- 26. Benkerroum, N., et A. Y Tamime.** « Technology transfer of some Moroccan : a review. » *Food Microbiol* 21 (2004) : 399-413.
- 27. Bernier, L.** Les probiotiques 2010 : une revue de littérature. 2010. These Pharm. : université d'Angers, 166.
- 28. Bourgois C.M et Larpent J.P., 1996.** Microbiologie alimentaire. Aliments fermentés et fermentations alimentaires. Tome II, 2<sup>ème</sup> édition. Tee et Doc, Lavoisier, 437-447.

- 29. Barefoot et Klaenhammer T.R. (1983) :** Detection and activity of lactacin B, a bacteriocin produced by lactobacillus acidophilus. App. Env. Microbiol.
- 30. Beaumont A., Cassier., Truchot J-P., Dauca M.** 2 éd. Dunod , Paris ., 2004
- 31. CARRF. J. CHILLD. MAIDAN. (2002) :** The Lactic Acid Bacteria : A Liter Survey. Crit Rev in Microb. 28(4) :281-370. in mmoire **Khodja Badra** 2017-2018.
- 32. Champagne., 1992.** Action de la flore lactique sur les bactéries contamination. Mémoire d'ingénieur, Institut de biologie, Université de Tlemcen. 73 pages.
- 33. Cesarone MR, Belcaro G, Di Renzo A, et al., (2007).** Prevention of influenza episodes with colostrum compared with vaccination in healthy and high-risk cardiovascular subjects : the epidemiologic study in San Valentino.
- 34. Celiktas, O.Y., Kocabas, E.E.H., Bedir, E., Sukan, F.V., Ozek, T. and Baser, K.H.C. (2007)** Antimicrobial Activities of Methanol Extracts and Essential Oils of Rosmarinus officinalis, Depending on Location and Seasonal Variations. Food Chemistry, 100, 553-559. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.10.011>.
- 35. DETIFFE J., (2010).** Colostrum et transfert d'immunité. Sponsorisé par le Fonds de Santé bovin Programme GPS .4
- 36. Dortu, C. et Thonart, P. (2009).** Les bactériocines des bactéries lactiques : caractéristiques et intérêts pour la bioconservation des produits alimentaires. Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement, 13(1), 143-154.
- 37. Drouault, S. et Corthier, G. (2001).** Effets des bactéries lactiques ingérées avec des laits fermentés sur la santé. Veterinary Research, 32(2), 101-117.
- 38. DE Vuyst L. Leroy F. (2007) :** Bacteriocins from Lactic Acid Bacteria : Production, Purification, and Food Applications. Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology.
- 39. Doumandji, A., Bousbia, N., Hellal, A. (2010).** Effet anti-Listeria de Bifidobacterium infantis isolé à partir de selles de nourrisson allaité au sein. Sciences et Technologies, 31 : 14-21.
- 40. Devillers N., Le Dividich J., Prunier A.** Physiologie de la production de colostrum chez la truie. INRA Prod. Anim., 2006, 19, 29-38.
- 41. Delouis CDijane NE J., Houdebine L.M., Terqui M.** Relation between hormones and mammary gland function. J. Dairy Sci., 1980, 63, 492-513.

## REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUES

- 42.Dacosta Yves ,2000.** La bio-protection des aliments. L'antagonisme microbien au service de la sécurité et de la qualité microbiologiques. Editions yves dacosta. Paris ,5-13-18.
- 43.DesmazaudM,1996.** Alimentation et santé. Les bactéries lactiques dans l'alimentation humaine. Unité de recherches laitières 78352, Paris, 338-340.
- 44.EL-agamy E. (2006) :** Camel milk. In: Park YW et Haenlein GF (Eds), Handbook of milk of non-bovine mammals. pp 297-344. Blackwell Publishing, Iowa, USA.
- 45.El-Ziney M.G., Uyttendaele M., Devere J. et Jakobsen M. 1998.** Characterization of growth and metabolite production of *Lb. reuteri* during glucose/glycerol co-fermentation in batch and continuous cultures. Biotechnol. Lett. 20 (10) :913-916. In memento **Khodja Badra 2017 -2018.**
- 46.Eble J.,** le colostrum. Vétérinaire au GDS.63. p2
- 47.Erb R.E.** Hormonal control of mammaryogenesis and onset of lactation in cows. J. Dairy Sci., 1977, 60, 155-169.
- 48.Foley J.A and D.E Otterby (1978).** Availability, storage, treatment, composition, and feeding value of surplus colostrum : A Review, J. Dairy Sci., 61(8) :1033-1060.
- 49.Fernandez B (2014).** Activité biologique et impact sur le microbiote intestinal des bactéries lactiques bactériocinogènes. PhD thesis, Université Laval, Québec, 143p.
- 50.François, J., Chomar, M., Weber, M., Gerard, A., 2003.** De l'antibiogramme à la prescription. Biomerieux, 2<sup>ème</sup> édition, p8-p22.
- 51.Gartioux J.P (2003).** La transmission de l'immunité colostrale. Etude au sein d'une ferme expérimentale de Saône et Loire (Thèse pour l'obtention du grade de Docteur (vétérinaire). Ecole Nationale vétérinaire de Lyon : Lyon, 146 p.
- 52.Godden S. (2008).** Colostrum management for dairy calves, Vet Clin Food Anim, 24 :1939.
- 53.Godhia, M.L. et Patel, N. (2013).** Colostrum—its Composition, Benefits as a Nutraceutical—A Review. Current Research in Nutrition and Food Science Journal, 1(1), 37-47.
- 54.Guy M.A., McFadden T.B., Cockrell D.C., Besser T.E. (1994).** Regulation of colostrum formation in beef and dairy cows. J. Dairy Sci. 77, 3002-3007.

- 55. Gálvez A, Abriouel H, Omar NB et Lucas R (2011).** Food applications and regulation. In Drider D et Rebuffat S (Ed.), Prokaryotic Antimicrobial Peptides : From genes to applications. New York : Springer, p353-390. doi : <http://dx.doi.org/10.1007/978-1-4419-7692-5-18>
- 56. Holzapfel W.H, Haberer P, Geisen R, Bjorkroth J, Schillinger U (2001) :** Taxonomy and important feature of probiotic microorganisms in food and nutrition. Am J Clin Nutri. 73 : 3655-3735.
- 57. Hammes W.P., Hertel C, 2006** the genera lactobacillus and carnobacterium., prokaryotes., 4 : 320-403. in memoire magistère (Belarbi Fatima 2010-2011).
- 58. Hassaine O (2013).** Caractéristiques d'intérêt technologiques des souches de bactéries lactiques isolées du lait camélier du Sud Algérien. PhD thesis, Université d'Oran Es-sénia, Oran, 180p.
- 59. Holland M.S.M. Holland R.E.** The Cellular Perspective on Mammary Gland Development : Stem/Progenitor Cells and Beyond. J. Dairy Sci., 2005, 88, E1-E8.
- 60. Heng NC, Wescombe PA, Burton JP, Jack RW et Tagg JR (2007).** The diversity of bacteriocins in Gram-positive bacteria. In Riley MA et Chavan MA (Ed.), Bacteriocins : Ecology and Evolution. Berlin : Springer, p45-92. doi : [http://dx.doi.org/10.1007/978-3-540-36604-1\\_4](http://dx.doi.org/10.1007/978-3-540-36604-1_4).
- 61. Hwanhlem N., Buradaleng S., Wattanachant S., Benjakul S., Tani A., Maneerat S., 2011.** Isolation and screening of lactic acid bacteria from Thai traditional fermented fish (Plasom) and production of Plasom from selected strains. Food Control., 22 : 401-407.
- 62. Idoui, T., Boudjerda, J., Leghouchi, E. et Karam, N. E. (2009).** Lactic acid bacteria from "Sheep's Dhan", a traditional butter : Isolation, identification and major technological traits. Grasas y aceites, 60(2), 177-183.
- 63. Jiang J, Shi B, Zhu D, Cai Q, Chen Y, Li J, Qi K et Zhang M (2012).** Characterization of novel bacteriocin produced by Lactobacillus sakei LSJ618 isolated from traditional Chinese fermented radish. Food Control, 23(2) : 338-344.
- 64. Jrad Zarroums I, Adt I, Fguiri I, Jrad, Korchoni T, Degraeve P, EL Hansen Z., Johnsen E. B., (2006).** Characterization of recombinant camel chymosin reveals superior properties for the coagulation of bovine and camel milk. Biochemical and Biophysical Research Communication, 342, 647-654.

## REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUES

- 65. Jasniewski J. (2008) :** Etude des mécanismes d'action de bactériocines de la sous-classe IIa. Thèse de Doctorat. Laboratoire de Science et Génie Alimentaires. Nancy, 9-55.
- 66. Klaenhammer TR (1988).** Bacteriocins of lactic acid bacteria. *Biochimie*, 70(3) : 337-349.  
Doi : [http://dx.doi.org/10.1016/0300-9084\(88\)90206-4](http://dx.doi.org/10.1016/0300-9084(88)90206-4).
- 67. Khay EO, Idaomar M, Castro L, Bernárdez P, Senhaji Net Abrini J (2011).** Antimicrobial activities of the bacteriocin-like substances produced by lactic acid bacteria isolated from Moroccan dromedary milk. *African Journal of Biotechnology*, 10(51) : 104
- 68. Kanauchi, M. (Ed.). (2019).** *Lactic Acid Bacteria : Methods and Protocols*. Humana Press. 471- 455.
- 69. Kehoe S.I, A.J. Heinrichs, M.L. Moody, C.M. Jones and M.R. Long. (2011).** Comparison of immunoglobulin G concentrations in primiparous and multiparous bovine colostrum, *The Professional Animal Scientist*, 27 : 176–180.
- 70. Kappeler S.R., Brink H.J.M. Van Den, Rahbek-Nielsen H., Farah Z., Puhankanuspayeva G., (2007) :** Variabilité physico-chimique et biochimique du lait des grands camélidés (*Camelus bactrianus*, *Camelus dromedarius* et hybrides) au Kazakhstan. Thèse de doctorat en science des aliments. Université de Montpellier II, France.
- 71. Kihal M. Prevost H. Lhotte M.E. Huang D.Q. Dives C. (1996) :** Instability of Plasmid-encoded citrate permease in *Leuconostoc*. *J. Appl. Microbiol.*
- 72. Klein G, Pack A, Bonaparte C et Reuter G (1998).** Taxonomy and physiology of probiotic lactic acid bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, 41(2) : 103-125.
- 73. Kandler O et Weiss N. 1986.** Genus *Lactobacillus* In : *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, vol 2, 9<sup>ième</sup> ed. Ed. Sneath P.H.A, Mair N.S., Sharpe M.E, Holt J.G. Williams and Wilkins, Baltimore USA.
- 74. Larpent, J.P. (1997).** *Microbiologie alimentaire*. Tec & doc, Lavoisier. Paris, 10-72.
- 75. Lore T.T.A. bugua S.K. Wangoh J. (2005) :** Enumeration and identification of microflora in suusac, a Kenyan traditional fermented camel milk product. *Lebensm. -Wissenschaft und Technology*.
- 76. Labioui, H., Elmoualdi, L., El Yachioui, M. et Ouhsine, M. (2005).** Sélection de souches de bactéries lactiques antibactériennes. *Bulletin-société de pharmacie de bordeaux*, 144(3/4), 237.

- 77.Lairini, S.,Beqqali, N., Bouslamti, R., Belkhou, R et Zerrouq,F.(2014).** Isolementdes bactéries lactiques à partir des produits laitiers traditionnels Marocains et formulation d'un lait fermentés proche du Kéfir. *Afrique Science : Revue Internationale des Sciences et Technologie*, 10(4), 267-277.
- 78.Lagrande C., MaltierJ.P., MagreS.** Hormones et reproduction. In : DuPouy J.P. (Ed),Hormones et grandes fonctions. Ellipses : Paris, 1993, 390 --492.
- 79.Larpen-GourgaudMonique,Michauxodile, Lrpent J.P,DesmauresNathalie,DesmazeaudMichel, ManginIrène,MassonFlorence,MontelM.C.etTailliezPatrick., (1997).** Les ferments lactiques et bactéries apparentées In *Microbiologie alimentaire Techniques de laboratoire.* Larpen J-P. Tec & Doc, Lavoisier, pp: 199-255.
- 80.LahtinenS.,OuwehandA.C.,SalminenS. andWrightA.V. (2012).** Lactic AcidBacteriaMicrobiological and functional aspects Fourth edition Taylor & Francis Group. BocaRaton London New York
- 81.Lund, P.A.,De-Biase, D.,Liran, O., Scheler, O., Mira, N. P., Cetecioglu, Z., andO'Byrne,C.(2020).** Understanding How Microorganisms Respond to Acid pH Is Central toTheir Control and Successful Exploitation. *Frontiers in Microbiology*, 11, 2233.
- 82.Mayra-Makinen,A. etBigret, M. A.R.C. (2004).** Industrial use and productionoflacticacidbacteria. *FOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY-NEW YORK-MARCEL DEKKER-*,139, 175-198.
- 83.Mameche -Doumandji A.(2008) :** Purification et caractérisation de bactériocine produite par des bactéries lactiques autochtones isolées, thèse : sciences alimentaires, institut national agronomique, Algérie.
- 84.MamiA, Hamedi Amine R,HenniJ.E,KerfoufAetKihalM, (2010) :** Activité AntiBactérienne de *Lactobacillus plantarum* isolée du lait cru de chèvre d'Algérie vis à vis de*Staphylococcus aureus*. *LES TECHNOLOGIES DE LABORATOIRE-* 2010, Volume,5 N°21.
- 85.MolloyEM, HillC, CotterPDetRossRP (2011).** Bacteriocins. In Fuquay JW (Ed.),*Encyclopedia of Dairy Sciences (Second ed.)*. San Diego : Academic Press, p420-429. doi :<http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-374407-4.00049-2>.

## REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUES

- 86.Merzouk Y., (2015).** Optimisation des conditions de fermentation et de préservation du lait cru de chamelle par les bactéries lactiques adaptées aux conditions de stress. 25p.
- 87.McAuliffe O., Hill C., Ross R.P., 2000.** Each peptide of the two component lantibiotic claccin 3147 requires a separate modification enzyme for activity. *Microbiology.*, 164 : 2147- 2145.
- 88.Makhiloufi K.M. (2012) :** Caractérisation d'une bactériocine produite par une bactérie lactique *Leuconostoc pseudomonas enteroides* isolée du boza. Thèse de Doctorat en Microbiologie et Biochimie. France, 33.
- 89.Martin S., Roe D., Faulon J.L. (2005).** Predicting protein-protein interactions using signature products. *Bioinformatics.* 21(2) :218-26.
- 90.Nakamura, T., Kawase, H., Kimura, K., Watanabe, Y., Ohtani, M., Arai, I. et Urashima, T. (2003).** Concentrations of sialyloligosaccharides in bovine colostrum and milk during the prepartum and early lactation. *Journal of dairy science*, 86(4), 1315-1320
- 91.Nes, I. F., Kjos, M. et Diep, D.B. (2011).** Antimicrobial components of lactic acid bacteria. *Lactic acid bacteria—microbiological and functional aspects.* fourth edition.
- 92.Nilsen T., Nes I.F., Holo H., 2003.** Enterolysin A, a cell wall-degrading bacteriocin from *Enterococcus faecalis* LMG2333. *Appl. Environ. Microbiol.*, 69(5) : 2975-298.
- 93.Nigutova K., Morovsky M., Pristas P., Teather R.M., Holo H., Javorsky P., 2007.** Production of enterolysin A by rumen *Enterococcus faecalis* strain and occurrence of enterolysin A homologues among ruminal Gram positive cocci. *J. Appl. Microbiol* 102(2) :563-569
- 94.Ouwehand, A. C., Vesterlund, S. (2004).** Antimicrobial Components from Lactic Acid Bacteria. *Lactic Acid Bacteria Microbiological and Functional Aspects.* Third Edition, Revised and Expanded.
- 95.Onda T., Yanagida A.F., Tsuji M., Shinohara T., Yokotsuka K. (2003) :** Production and purification of a bacteriocin peptide produced by *Lactococcus* sp. strain GM005, isolated from Miso-paste. *Int. J. Food Microbiol.*
- 96.Polak-Berbecka M., Wasko A., Koston D. (2009) :** Comparison of different methods for detection of antimicrobial activity of probiotic strains of *Lactobacillus rhamnosus* against some food spoilage microorganisms. *Annales Universitatis Mariae Curie – Skłodowska Lublin–Polonia.*
- 97.Pakkanen R. & Aalto J. (1997).** Growth factors and antimicrobial factors of bovine colostrum. *International Dairy Journal*, 7 :285-297.

## REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUES

- 98. Pelletier, J. F., Faurie, J.M., François, A. et Teissier, P. (2007).** Lait fermenté : la technologie au service du goût. Cahiers de Nutrition et de Dietetique, 42, 15-20.
- 99. Pauline Gravel (2013)** Lait maternel: une flore bactérienne plus riche qu'on le croyait.
- 100. Pilet M-F., Magras Catherine et Michel Federighi, (2005).** Bactéries lactiques in bactériologie alimentaire “compendium d’hygiène des aliments”. Federighi M. Economica, pp: 219-24.
- 101. Patrignani, F., Iucci, L., Lanciotti, R., Vallicelli, M., Maina Mathara, J., Holzappel, W.H., Guerzoni, M.E., (2007).** Effect of high pressure homogenization, nonfat milk solids, and milk fat on the technological performance of a functional strain for the production of probiotic fermented milks. Journal of Dairy Science 90, 4513–4523.
- 102. Parada J.L. Caron C.R. Bianchi P.A. Ricardo Soccol M. et Riccardo Soccol C. (2007) :** Bacteriocins from Lactic Acid Bacteria : Purification and use as Biopreservatives. Braz. Arch. Biol. Technol, 50(3) : 521-542.
- 103. Plummer S., Wever M.A., Dee P et Hunter J, 2004.** Clostridium difficile pilot study. Effects of probiotic supplementation on the incidence of C. difficile. diarrhea. Int. microbial, 7, 59-62.
- 104. Piot M., Fauquant J., Madec M.N. & Maubois J.L. (2004).** Preparation of sérocolostrum by membrane microfiltration. Lait, 84 : 333-341.
- 105. Pilet MF., Magras Catherine et Michel Federighi, (2005).** Bactéries lactiques In Bactériologie alimentaire “compendium d’hygiène des aliments”. Federighi M. Economica, pp: 219-42.
- 106. Rahli F. (2015) :** Valorisation du lait de chamelle par exploitation des potentialités technologies des bactéries lactiques isolées localement. Thèse doctorat contrôle microbiologique non publiée, Université d'Oran, Oran.
- 107. Raymond KN, Dertz EA et Kim SS (2003).** Enterobactin : an archetype for microbial iron transport. Proceedings of the National Academy of Sciences, 100(7) : 3584-3588.
- 108. Roissart H et Luquet FM (1994).** Bactéries Lactiques : Aspects fondamentaux et technologiques (Vol. 2). Loriga, Grenoble, France, 1 : 605.

## REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUES

- 109. Ricciardi, A., and F. Clement.** "Exopolysaccharides from lactic acid bacteria : Structure, production and technological applications." *ITAL J FOOD SCI* 12 (2000): 23-45. in mémoire **Hammi Ikram 16 septembre 2016.**
- 110. Radostits O M., Gay C., Hinchcliee K W., Constable P D. (2017).** *Veterinary Medicine : A text book of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats (11th Edition).* **Saunders Ltd. : USA, 2278 p.**
- 111. Reis, J. A., Paula, A. T., Casarotti, S. N. et Penna, A.L.B (2012)** Lactic acid bacteria antimicrobial compounds : characteristics and applications. *Food Engineering Reviews*, 4(2), 124-140.
- 112. Sherwood O.D.** Relaxin's physiological roles and other diverse actions. *Endocr. Rev.*, 2004, 25, 205-234.
- 113. Savadogo A, Ouattara CA, Bassole IH et Traore AS (2004a).** Antimicrobial activities of lactic acid bacteria strains isolated from Burkina Faso fermented milk. *Pakistan Journal of Nutrition*, 3(3) : 174-179.
- 114. Savadogo A, Ouattara CA, Bassole H N I et Traore AS (2006).** Bacteriocins and lactic acid bacteria - a minireview. *African Journal of Biotechnology*, 5(9) : 678-683.
- 115. Savadogo A, Tapi A, Chollet M, Wathelet B, Traoré A et Jacques P (2011).** Identification of surfactin producing strains in Soumbala and Bikalga fermented condiments using polymerase chain reaction and matrix assisted laser desorption/ionization-mass spectrometry methods. *International Journal of Food Microbiology*, 151(3) : 299-306.
- 116. Salmon H. (1999).** Colostrum et immunité passive du jeune ruminant. Ed. Navetat H. Société Française de Buiatrie : 202-210.
- 117. Serieys F. (1993)** Le colostrum de vache. Bien le connaître pour mieux l'utiliser. Ed. Smithkline Beecham, Ploufragan, 88p.
- 118. Smaoui S. (2010):** Purification et caractérisation de biomolécules à partir de micro-organismes nouvellement isolés et identifiés. Thèse de Doctorat. Génie de procédés et environnement. Toulouse, 47
- 119. Siboukeur O.K. (2007) :** Etude du lait camelin collecté localement : caractéristiques physico-chimiques aptitudes à la coagulation. Thèse de doctorat en Sciences Agronomiques université INA EL Harrach-Alger.

- 120. Somers, E.B., Johnson, M.E. and Wong, A.C. (2001)** Biofilm formation and contamination of cheese by nonstarter lactic acid bacteria in dairy environment. *J. Dairy Sci.* 84, 1926–1936.
- 121 . Taale, E., Savadogo, A., Zongo, C., Tapsoba, F., Karou, S.D. et Traore, A.S. (2016).** Les peptides antimicrobiens d'origine microbienne : cas des bactériocines. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 10(1), 384-399.
- 122. Tabasco R., Rarup T., Janerc., Pelae3c., Requena T., 2007** selective enumeration and identification of mixed cultures of streptococcus thermophilus, lactobacillus delbrueckii subsp bulgaricus, Lacidophilus, L. poracasci Subsp and Bifid bacterium lactis in fermented milk. *Dairy Jonrrnal*, 23 :250-255. in memoire magistère (**Belarbi Fatima 2010-2011**).
- 123. Tabk S. Bensoltane A. (2012)** : L'activité antagoniste des bactéries lactiques (*Streptococcus thermophilus*, *Bifidobacterium bifidum* et *Lactobacillus bulgaricus*) vis-à-vis de la souche *Helicobacter pylori* responsable des maladies gastroduodénales. Laboratoire de microbiologie alimentaire et industrielle, Département de Biologie, Faculté des Sciences, Université d'Oran 31100. Algérie.
- 124. Vandamme P, De Bruyne K et Pot B (2014).** Phylogenetics and systematics. In Holzappel WH et Wood BJB (Ed.), *Lactic Acid Bacteria : Biodiversity and Taxonomy*. New York : John Wiley & Sons, Ltd., p31-44.
- 125. Verma AK, Banerjee R, Dwivedi HP et Juneja VK (2014).** Bacteriocins : Potential in Food Preservation. In Batt CA et Tortorello ML (Ed.), *Encyclopedia of Food Microbiology* (Second Edition) (Vol. 1) : Elsevier, p180-186. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-384730-0.00029->
- 126. Walstra P., Wouters J T M., Geurts T J. (2006).** *Dairy science and technology*. Taylor and Francis Group, Boca Raton, FLW.
- 127. Weber M.S., Purup S., Vestergaard M., Akers R.M., Sejrsen K.** Regulation of local synthesis of insulin-like growth factor-I and binding proteins in mammary tissue. *J. Dairy Sci.*, 2000 8330-37.
- 128. Winger K., Gay C.C., Besser T.E. (1995).** Immunoglobulin G1 transfer into induced mammary secretions : the effect of dexamethasone. *J. Dairy Sci.*, 78, 1306-1309.
- 129. Yiu, S.H. (1985)** A fluorescence microscopic study of cheese. *Food Microstruct.* 4, 99106.

**130. Zarouk K. Benmechernene Z. Hadadji M. Moussa -Boudjemaa B. Henni D J. KihalM. (2012) :**

Bioprospecting of *Leuconostoc mesenteroides* strains isolated from Algerian raw camel and goat milk for technological properties useful as adjunct starters.

*African Journal of Microbiology Research* Vol. 6(13), pp. 3192-3201, 9.

<https://www.swissbiocolostrum.com/fr/a-propos-du-colostrum/quest-ce-que-cest-le-colostrum>.

# ***ANNEXE***

**Annex I:** Milieux de cultures

Milieux de cultures	Composition par Litre
<b>BHIB</b>	1 L d'eau distillé 500 g BHIB en poudre
<b>GéloseMuellerHinton</b>	1 L d'eau distillé 17 g poudre Agar -Agar 21 g Hinton liquide
<b>GéloseMRS</b>	1 L d'eau distillé 67.3 g Agar MRS
<b>Gélose nutritive</b>	1 L d'eau distillé 28 g Nutriant agar

**Annex II :**Coloration de Gram

La coloration de Gram a été effectuée selon le protocole suivant :

- Réaliser un frottis bactérien et le fixer.
- Colorer en violet de gentiane phénol environ 1 min
- Laver à l'eau distillé(ou l'eau de robinet)
- Faire agir la solution de Lugol durant environ 30 secondes
- Laver à l'eau distillé(ou l'eau de robinet)
- Faire agir alcool durant 10 secondes
- Laver à l'eau distillé
- Colorer à la fuschine phénol en quelques secondes
- Laver à l'eau distillé

Observer après séchage à l'immersion (objectif ×100) et à plein lumière.

## **Résumé**

Il est désormais établi que le colostrum bovin est non seulement important pour la croissance du veau nouveau-né mais aussi il peut être utilisé par les êtres humains grâce à ses bienfaits et ses composants qui sont nécessaires pour traiter diverses maladies.

Le colostrum est riche en bactéries lactiques qui ont la propriété de synthétiser de nombreuses substances antimicrobiennes susceptible d'être utilisées dans plusieurs domaines.

---

Dans cette étude nous avons prélevé du colostrum à partir de vache qui proviennent de la région de Bensakrane-Tlemcen et nous avons étudié l'effet du colostrum et des bactéries lactiques isolées de ce dernier contre plusieurs souches bactériennes par la méthode de diffusion sur milieu gélose.

L'étude des caractéristiques morphologiques physiologiques et biochimiques, on a permis l'identification de la souche *Lactobacillus plantarum*.

Les résultats d'interaction de notre souche avec la méthode des disques et des puits à donner des résultats négatives vis à vis des souches indicatrices par contre l'étude du colostrum a donné un effet inhibiteur contre les souches *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* avec des diamètres de 1.3 mm à 3.3 mm et aucun effet n'a été remarqué contre les souches *Escherichia coli*, *Micrococcus luteus*, *Enterococcus faecalis*. Ces observations nous amènent à élargir notre recherche et isolées d'autres genre de bactéries lactiques du colostrum de vache qui serai susceptible d'avoir un effet antibactérien et de mieux caractérisé le colostrum de vache.

**Mots-clés : colostrum, les bactéries lactiques, l'activité antimicrobienne, *Lactobacillus plantarum*, méthode des disques, méthode des puits.**

## **Summary**

---

It is now established that bovine colostrum is not only important for the growth of the newborn calf but also it can be used by human beings thanks to its benefits and its components which are necessary to treat various diseases.

Colostrum is rich in lactic bacteria which have the property of synthesizing many antimicrobial substances that can be used in several areas.

In this study we took colostrum from cows from the Bensakrane- Tlemcen region and we studied the effect of colostrum and lactic acid bacteria isolated from it against several bacterial strains by the diffusion method on agar medium.

The study of the physiological and biochemical morphological characteristics allowed the identification of the strain *Lactobacillus plantarum*.

The result of interaction of our strain with the method of discs and wells to give negative results with respect to the indicator strains on the other hand the study of the colostrum gave an inhibitory effect against the strains *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* with diameters of 1.3 mm to 3.3 mm and no effect was noticed against strains *Escherichia coli*, *Micrococcus luteus*, *Enterococcus faecalis*.

These observation lead us to expand our research and isolate other genera of lactic acid bacteria from cow colostrum which would be likely to have an antibacterial effect and to better characterize cow colostrum.

**Keywords:** colostrum ,lacticacidbacteria, *Lactobacillusplantarum*, inhibitoryeffect.

#### التلخيص

لقد ثبت الآن ان اللبأ البقري ليس مهما فقط لنمو العجل حديث الولادة ولكن أيضا يمكن استخدامه من قبل البشر بفضل فوائده ومكوناته الضرورية لعلاج الامراض المختلفة. اللبأ غني بالبكتيريا اللبنية التي لها خاصية انتاج العديد من المواد المضادة للمكروبات التي يمكن استخدامها في عدة مجالات. في هذه الدراسة اخدنا اللبأ من ابقار من منطقة بن سكران تلمسان ودرسنا تأثير بكتيريا اللبأ وحمض اللاكتيك المعزولين منه ضد العديد من السلالات البكتيرية بطريقة الانتشار على وسط اجار. سمحت دراسة الخصائص المورفولوجية الفيزيولوجية والكيميائية الحيوية بتحديد سلالة *Lactbacillusplantarum*. نتائج تفاعل السلالة مع طريقة الأقراص والابار لإعطاء نتائج سلبية لسلالات *aureus* , *Pseudomonasaeruginosa* ، *StaphylococcusKlebsiellapneumoniae* المؤشر من ناحية أخرى أعطت دراسة اللبأ تأثير مثبت ضد سلالات بأقطار من 1.3 ملم الى 3.3 ملم ولم يلاحظ أي تأثير على سلالات الايشريكية القولونية، الميكروسكوس الأصفر، المكورات المعوية البرازية تقودنا هذه الملاحظات الى توسيع نطاق بحثنا وعزل اجناس أخرى من بكتيريا حمض اللاكتيك من لبأ البقر والتي من المحتمل ان يكون لها تأثير مضاد البكتيريا وتوصيف لبأ البقر بشكل أفضل.

**الكلمات المفتاحية:** اللبأ، بكتيريا حمض اللاكتيك، التأثير المثبط، طريقة الأقراص،

طريقة الابار، *Lactobacillusplantarum*