



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي



Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique

جامعة الشهيد حمّة لخضر الوادي

Université Echahid Hamma Lakdhar- EL OUED

كلية العلوم الطبيعية والحياة

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

قسم البيولوجيا الخلوية والجزينية

Département de Biologie Cellulaire et Moléculaire

## MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

En vue de l'obtention du diplôme de Master Académique en Sciences biologiques

Spécialité : Biochimie appliquée

### THEME

**Contribution à l'étude de l'effet des extraits de  
*Juniperus communis* sur les bactéries probiotiques  
isolées à partir du lait camelin**

Présenté Par :

M<sup>elle</sup> . AHMIM Karima

M<sup>elle</sup> . BEN HAMDA Saoussane

M<sup>elle</sup> . FRIDJAT Roumaissa

M<sup>elle</sup> . HENKA Ahlame

Mr. LIHIOU Mohammed

Devant le jury composé de :

Président:	RAMDANE Farah	MCA	Université d'El Oued
Examineur :	BOURAS Biya	MCB	Université d'El Oued
Promoteur :	LAICHE Ammar Touhami	MCA	Université d'El Oued
Copromotrice :	LAYADI Ikram	Doctorante	Université d'El Oued

Année universitaire: 2022/2023

أَفَلَا يَنْظُرُونَ إِلَى الْإِبْدِ  
كَيْفَ خُلِقَتْ

سورة الغاشية





## Remerciement

*Avant de commencer, nous remercions avant tout Allah tout puissant, de nous avoir donné le courage, la patience et la chance d'étudier et suivre de chemin de la science.*

*Nos sincères remerciements sont adressés premièrement à notre encadreur **Dr. LAICHE Ammar Touhami**, qui a fait pour nous un travail supplémentaire et nous a guidé lors de l'élaboration de ce travail avec ses encouragements, sa patience et ses conseils judicieux, nous la prions d'accepter nos sincères remerciements, notre profond respect et entiers dévouements.*

*Nos vifs remerciements s'adressent aux **membres de jury** qui ont accepté d'évaluer notre travail, et d'avoir pris de son temps pour examiner ce travail.*

*Nous voulons à remercier spécialement **Mme. L Ikram** pour son aide au cours de la réalisation de ce travail et pour l'intérêt qu'il a porté à nos connaissances.*

*Nos oublions pas d'adresser nos sincères remerciements aux membres de l'équipe du laboratoire Biochimie et Toxicologie, et en particulier la responsable du Laboratoire "10" **Khatrawi, Latifa** pour son bon accueil et traitement, et pour avoir créé un environnement de travail agréable*

*Nous tenons également à remercier tous les enseignants de la faculté des sciences de la nature et de la vie de Université Echahid Hamma Lakhdar -EL OUED, spécialement les enseignants qui ont contribué à notre formation en **BIOCHIMIE.***

## إهداء

الحمد لله خالق الإصباح ومرسل الرياح، الذي أنشأ فأحسن الإنشاء ثم قدم ما شاء،  
أحمده حق حمده سرا وعلنا، وأشكر على إحسانه ولا يزال محسنا، والصلاة والسلام  
على أشرف خلقه سيدنا محمد. صلى الله عليه وسلم. أما بعد:

إلى أعز ما أملك في الوجود .

إلى من رباني على أصول الدين وفتح لي طريق العلم. وكان سببا في وصولي إلى  
هذه المرتبة من الدراسة "والدي العزيز".

إلى التي رأني قلبها قبل عينيها، وكانت رمز العطاء ولحن الوفاء، والتي كانت  
سندي في المحنات "والدتي الحبيبة".

وأشكرهما على ما قدماه لي، ويبقي الشكر قليل من بحر الحب الذي غمراني فيه.  
إلى من تقاسمت معهم حلم الحياة ومرها وكانو نعم السند ونعم المعين إخوتي  
الاعزاء:

مصباح، بشير، مسعود، عبد العزيز، سعيدة، فاطمة زينة، مباركة وأولادها.

إلى زوجات إخوتي: لامعة، بشيرة، يمينة، مريم

إلى اعز الصديقات: أحلام، دادو، عبير

إلى الذين كان لهم أثر جميل على حياتي.

إلى كل هؤلاء أهدي ثمرة جهدي المتواضعة.

سوسن

## إهداء

الحمد لله وكفى والصلاة والسلام على الحبيب المصطفى وأهله ومن وفى، أما بعد:  
الحمد لله الذي وفقني لتتميم هذه الخطوة في مسيرتي الدراسية، أهدي ثمرة الجهد  
والنجاح بفضلته تعالى:

إلى من وهبوني الأمل، ومن علموني أن أرتقي سلم الحياة بحكمة وصبرا، برا  
وإحسانا، ووفاء لهما: والدي العزيز، أُمي العزيزة.

إلى من وهبني الله نعمة وجودهم في حياتي، من كانوا عوناً لي في رحلة بحثي إخواني  
وأخواتي:

علي، عبد الحميد، ساسية، سليمة، مريم، نعيمة وسارة.

إلى زوجات إخواني: عفاف وسعيدة

إلى كتاكيت البيت: غزل، عبد الرحيم، إياد، لين، محمد أمين وغفران.

إلى من كاتفنتي ونحن نشق الطريق معا نحو النجاح، إلى رفيقة دربي: سوسن.

وأخيرا إلى كل من كان لهم أثر على حياتي، إلى كل من أحبهم قلبي ونسيهم قلمي،

سائلة من المولى عز وجل أن يجزي الجميع خير الجزاء في الدنيا والآخرة.

أحلام



## *Dédicace*

Tous les mots et les phrases que j'écris n'exprimeront pas l'amour, le respect et l'appréciation...

Je décide ce travail

À Ma très chère mère

Quoi que je fasse ou je dis, je ne saurai point te remercier comme il se doit ton affection me couvre, ta bienveillance me guide et ta présence à mes cotés a toujours été ma source de force pour affronter les différents obstacles

Mon très cher père

Tu as toujours été à mes cotés pour me soutenir et m'encourager. Que ce travail traduit ma gratitude et mon affection. Merci pour ta patience, pour ton travail acharné tous au long de mes années d'études

Mes très cher frères Azzeddine, Alaeddine, Messaoud, Louai Rachad et Kousai Bilal

Ma belle sœur Nadia

Mon encadreur Dr Laiche Touhami

Mes collègues dans ce travail, mes proches, mes amis et mes collègues

À toute personne qui aime la nature

Mohammed Lhiou



## *Dédicace*

Je dédie ce modeste travail à : Mon Dieu qui ma offert la santé et le courage d'achever ce travail. la lumière de mes yeux, l'ombre de mes pas et le bonheur de ma vie ma mère Rachida dieu repose son âme.

Mon cher père Ahmed celui qui ma accorder tant d'attention, d'amour, d'aide et d'encouragement, tout ce que je peux te dire ne peut jamais te décrire, ni te remercier assez pour tout ce que tu m'apportes en continue. Ma chère tante. Mes très chères frères et sœurs généralement et spécialement Mouhamed et Aya.

Mon très cher mari Abdel Wahid pour ses sacrifices, son soutien moral, matériel et sa gentillesse, Sans lui ce travail n'aurait vu le jour. Ma petite fille Douaa.

Le père et la mère de mon mari. touts qui porte la famille :Ihmem et Meraghni . je dédie très chaleureusement mes amis : Kaothar, Aïcha, Safaa et Soundos . Ma chère sœur Mariam pour m'avoir aidé.

Enfin, je dédie ce travail à tous mes enseignants et la promotion de biochimie biologie moléculaire et cellulaire 2022/2023.

Karima



## *Dédicace*

Je dédie ce travail à Ma famille Fridjat Au plus cher de ce que je possède, à celui qui a souffert pour que je goûte le bonheur, à celui qui s'est fatigué pour moi et a tout fait pour que je réussisse et qui m'a vraiment donnée la meilleure éducation et le soutien ; Papa Naser sois sûr que tu restes mon modèle dans la vie .

Maman Safia, tu es mon confort et mon bonheur, je crois que le bon dieu m'aime lorsqu'il m'a offert une maman comme toi ; J'ai suivi tes conseils et tu as dirigé mon navire vers la réussite ; Crois-moi si je te dis que je n'arriverai jamais sans tes prières, ta fidélité et bien sûr ton amour. Tu as mis dans mon âme l'espoir, dans mon cœur la tranquillité et dans mon esprit la diligence et la persévérance. A mes chères frères Abdelhay .

A ma chère sœur, Ilham, Chourouk, Barra. A mon binôme Saosan, Ahlam, Karima, qui a partagée avec moi les moments difficiles de ce travail .

Je la dédie aussi à celui qui souhaitait mon échec et qui espérait ma défaite ; Grâce à toi je me suis battue et j'ai tracé ma route de réussite.

### Résumé

Cette étude concerne l'effet d'extrait aqueux et hydro-alcoolique de *Juniper communis* sur l'activité des bactéries probiotique, en les caractérisant par une étude phytochimique et l'évaluation d'activité bactérienne des extraits.

Les deux extraits préparés à partir de plante *Juniper communis* donne le rendement suivant : (23.93.% pour l'extrait aqueux, et 19,96% pour l'extrait hydroéthanolique). Les tests phytochimiques réalisés ont mis en évidence différents métabolites secondaires dans le plante comprenant polyphénols, flavonoïdes , saponosides, terpénoïdes, alcaloïdes, quinones libre sucres réducteurs, et glycosides cardiaque.

Les analyses chimiques, spectrophotométries des polyphénols et flavonoïdes condensé du plante ont été déterminées, qui permet de mettre en évidence l'activité dès probiotiques. Les résultats révèlent des quantités très importantes de composés phénoliques dans les extraits de *Juniper communis* (polyphénols : l'extrait aqueux, 103.80 mg EAG/ g E, l'extrait hydroéthanolique, 78.11 mg EAG/ g E ; flavonoïdes : 15.85 mg EQ/ g E, 17.05 mg EQ/ g E respectivement .

Les résultats, relatifs à l'isolement des souches pro biotiques à partir du laits camelin, ont montré que les 5 souches isolées appartiennent aux : *Streptococcus thermophilus*, *lactobacillus acidophilus*, *Lactococcus lactis*. Après une séries des test de sélection, les résultats montré que la souche *Lactococcus lactis* est la meilleure souche probiotique.

L'études de l'effet des extraits végétaux sur les probiotiques a montré une augmentation de croissance bactérienne et la résistance contre les antibiotique. Les extrait aqueux et alcooliques de *Juniperus communis* ont montré un effet positive sur *Lactococcus lactis*.

**Mots clés** : Bactéries lactiques, Probiotique, *Juniper communis*, Composés phénoliques.

### Abstract

This study concerns the effect of aqueous and hydro-alcoholic extracts of *Juniperus communis* on the activity of probiotic bacteria, characterizing them through a phytochemical study and evaluation of bacterial activity of the extracts. The two extracts prepared from the *Juniperus communis* plant yielded the following yields: (23.93% for the aqueous extract and 19.96% for the hydroethanolic extract). The conducted phytochemical tests revealed different secondary metabolites in the plant, including polyphenols, flavonoids, saponins, terpenoids, alkaloids, quinones, free reducing sugars, and cardiac glycosides. Chemical analyses and spectrophotometric measurements of condensed polyphenols and flavonoids in the plant were determined, which helped highlight the probiotic activity. The results revealed significant amounts of phenolic compounds in the *Juniperus communis* extracts (polyphenols: aqueous extract, 103.80 mg GAE/g DW; hydroethanolic extract, 78.11 mg GAE/g DW; flavonoids: 15.85 mg QE/g DW, 17.05 mg QE/g DW, respectively). The results regarding the isolation of probiotic strains from camel milk showed that the 5 isolated strains belong to *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*, and *Lactococcus lactis*. After a series of selection tests, the results showed that the *Lactococcus lactis* strain is the best probiotic strain. The study on the effect of plant extracts on probiotics demonstrated an increase in bacterial growth and resistance against antibiotics. The aqueous and alcoholic extracts of *Juniperus communis* showed a positive effect on *Lactococcus lactis*.

**Keywords:** Lactic bacteria, Probiotic, *Juniperus communis*, Phenolic compounds.

## ملخص

تتعلق دراستنا بتأثير مستخلصات العرعار المائية والكحولية على نشاط بكتيريا الكائنات الحية المجهرية، من خلال توصيفها عن طريق دراسة الفيتوكيمياء وتقييم نشاط البكتيريا للمستخلصات. المستخلصان المحضران من نبات العرعار أعطيا العائد التالي: (23.93%) للمستخلص المائي و(19.96% للمستخلص المائي الاثنولي). أظهرت الاختبارات الفيتوكيميائية المجرة وجود مركبات ثانوية مختلفة في النبات بما في ذلك البوليفينولات والفلافونويدات والسابونينات والتيربينويدات والقلويدات والكينونات والسكريات الحرة المخفضة والجليكوسيدات القلبية.

تم تحديد التحاليل الكيميائية والقياسات الطيفية للبوليفينولات والفلافونويدات المكثفة في النبات، مما سمح بإبراز النشاط المفيد للمستخلصات. كشفت النتائج عن كميات مهمة من المركبات الفينولية في مستخلصات العرعار (البوليفينولات: المستخلص المائي، 103.80 ملغ/EAG غ E؛ المستخلص المائي الاثنولي، 78.11 ملغ/EAG غ E؛ الفلافونويدات: 15.85 ملغ/EQ غ E، 17.05 ملغ/EQ غ E على التوالي).

أظهرت النتائج المتعلقة بفصل سلالات البكتيريا المفيدة من حليب الإبل أن السلالات الخمسة المعزولة تنتمي إلى *Streptococcus thermophilus*، *Lactobacillus acidophilus* و *Lactococcus lactis*. بعد سلسلة من اختبارات الاختيار، ظهرت النتائج أن سلالة *Lactococcus lactis* هي السلالة الأفضل كعامل مفيد.

أظهرت دراسة تأثير مستخلصات النبات على البكتيريا المفيدة زيادة في نمو البكتيريا ومقاومتها

## Liste des Figures

<b>Figure 01.</b> Représentation schématique de la terminologie relative aux probiotiques .....	16
<b>Figure 02.</b> Mécanismes d'action des probiotiques. ....	20
<b>Figure 03.</b> Les principaux bienfaits des probiotiques .....	22
<b>Figure 04.</b> Feuillages de <i>Juniperus communis</i> .....	26
<b>Figure 05.</b> Feuilles et fruits de <i>J. communis</i> .....	27
<b>Figure 06:</b> Répartition du genre <i>Juniperus</i> dans le monde .....	27
<b>Figure 07:</b> Protocole d'isolement des souches lactiques .....	35
<b>Figure 08 :</b> Schéma de la méthode de diffusion disques-gélose.....	39
<b>Figure 09 :</b> Procédé de préparation de concentrés d'extraits aqueux.....	41
<b>Figure 10 :</b> Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux..	45
<b>Figure 11:</b> teneurs en polyphénols totaux dans <i>Juniperus communis</i> .....	45
<b>Figure 12 :</b> Courbe d'étalonnage de la quercetin pour le dosage des flavonoïdes .....	46
<b>Figure 13:</b> teneurs en flavonoïde totaux dans les <i>Juniperus communis</i> . ....	47
<b>Figure 14 :</b> Test de API 10 s.....	49

## Liste des tableaux

<b>Tableau 01</b> : Classification de Dromadaire .....	5
<b>Tableau 02</b> : Classification des grands groupes de bactéries lactiques .....	10
<b>Tableau 03</b> . Micro-organismes probiotiques les plus importants à usage humain.....	18
<b>Tableau 04</b> . Principaux effets bénéfiques attribués aux probiotiques .....	21
<b>Tableau 05</b> : classification scientifique de <i>Juniperus communis</i> .....	25
<b>Tableau 06</b> : Souches cibles utilisées et leur origine.....	31
<b>Tableau 07</b> : Liste des antibiotiques utilisés pour évaluer la sensibilité des souches probiotiques .....	40
<b>Tableau 08</b> : Résultats de test d'antibiotique. (I: intermédiaire, S: sensible, R: résistante) ....	51
<b>Tableau 09</b> : Pouvoir antibactérienne des souches lactique .....	52
<b>Tableau 10</b> : Pouvoir antibactérienne des souches lactique avec extrait.....	54

## Liste des abréviations

**%**: Pourcentage

**BAL, BL** : Bactérie Lactique

**C°**: Degré Celsius

**CO<sub>2</sub>**: Dioxyde de carbone.

**DMSO** : Diméthylsulfoxyde

**DO** : Densité optique.

**EA** : Extrait aqueux

**FAO** : Food and Agriculture Organization

**FOS** : Fructo-oligosaccharides.

**g, mg, µg** : gramme, milligramme, microgramme

**H<sub>2</sub>O** : Peroxyde d'hydrogène.

**HCL** : Chlorure l'hydrogène.

**JC**: juniper communis.

**ml** : millilitre

**mm** : millimetre.

**NaCl**: chlore de sodium.

**PBS** : Le tampon phosphate salin (phosphate-buffered saline)

**pH** : potentiel hydrogène

## Sommaire

Remerciement.....	3
إهداء.....	4
<b>Dédicace</b> .....	6
Dédicace .....	7
Dédicace .....	8
Liste des Figures.....	12
Liste des tableaux .....	13
Liste des abréviations .....	14
Sommaire.....	15
Introduction générale.....	1

### Partie bibliographique

#### Chapitre I: Lait de chamelle et bactéries lactiques

I. Généralité sur le dromadaire .....	5
I.1. Définition .....	5
I.2. Taxonomie.....	5
I.3. Localisation et distribution:.....	5
II. lait de chamelle : .....	6
II.1. Caractéristiques du lait.....	6
II.1.1.Caractéristiques organoleptiques .....	6
II.1.2.Caractéristiques physicochimiques .....	6
II.1.3. Caractéristiques biochimique.....	7
II.2. Microbiote du lait de chamelle .....	7
II.2.1.Microorganismes pathogènes et de détérioration .....	7
II.3.Propriétés bénéfiques du lait de chamelle pour la santé .....	8
III. Bactéries lactiques .....	8
III.1. Définition et caractéristiques .....	8
III.2. Classification .....	9
III.3. Habitat .....	11
III.4. Propriétés métaboliques.....	11
III.5. Intérêt des bactéries lactiques .....	12

#### Chapitre II : Probiotiques

II. Les probiotiques.....	14
II.1. Historique et définition des probiotiques .....	14

II.2. Notion complémentaire.....	15
II.2.1. Notion des prébiotiques .....	15
II.2.2. Notion des symbiotiques.....	15
II.2.3. Notion des postbiotique .....	15
II.2.4. Notion des parabiotiques .....	15
II.3. Principaux microorganismes probiotiques.....	16
II.3.1. Lactobacilles .....	16
II.3.2. Bifidobactéries .....	17
II.3.3. Entérocoques.....	17
II.3.4. Bactéries non lactique .....	18
II.3.5. Levures.....	18
II.4. Mécanismes d'action des probiotiques .....	19
II.4.1. Inhibition de la croissance des microorganismes pathogènes.....	19
II.4.2. Amélioration de la fonction barrière.....	19
II.4.3. Modulation du système immunitaire .....	19
II.5. Effets bénéfiques sur la santé.....	20

### **Chapitre III : Juniperus communis**

III. Généralités sur le Juniperus .....	24
III.1. Définition de <i>Juniperus communis</i> .....	24
III.2. Caractéristiques dendrologiques et botaniques.....	25
III.3. Distribution.....	27
III.4. Utilisation médicinale.....	28

### **Partie expérimentale**

#### **Chapitre I Matériel et méthodes**

I.1 Matériel .....	31
I.1.1 Matériel végétal.....	31
I.1.2. Matériel biologique .....	31
I.1.3. Milieu de culture .....	32
I.1.4 Équipements .....	32
I.2. Méthode : .....	32
I.2.1 Séchage et Broyage .....	32
I.2.2 Extraction .....	32
I.2.3 Rendement d'extraction .....	33
I.2.4 Caractérisation phytochimique.....	33
I.2.5 Isolement et identification des bactéries lactiques .....	35

## Chapitre II : Résultat et discussion

II. Résultat et discussions des extraits .....	44
II.1 Description des extraits bruts.....	44
II.2 Rendement d'extraction.....	44
II.3 Tests phytochimiques .....	44
II.4 Dosage des composés phénoliques .....	45
II.5 Résultat d'isolement et d'identification des souches bactériennes.....	47
II.6 Etude de l'effet des extraits végétaux sur <i>Lactococcus lactis</i> .....	52
II.6.1 Résistance à la bile.....	52
II.6.2 La tolérance au pH.....	53
II.6.3 Test antibiotique .....	53
II.6.4 Pouvoir antimicrobiennes .....	54
Conclusion générale .....	56
Références .....	59
Annexes .....	72

# **Introduction générale**

## Introduction générale

Le corps de l'être humain héberge de nombreux micro-organismes vivants (bactéries, levures, virus) que l'on retrouve au niveau de la peau, de la bouche, du tractus digestif, et de l'appareil uro-génital. L'ensemble des micro-organismes peuplant un lieu donné est qualifié de microbiote. Parmi les microbiotes associés au corps humain, le microbiote intestinal est de loin le plus étudié en raison de son importance reconnue dans la santé (impliqué dans la mise en place du système immunitaire, dans la protection contre les agents pathogènes, et dans diverses fonctions métaboliques).

Anciennement appelé flore intestinale, il constitue un écosystème complexe dont la composition est globalement stable dans le temps pour un même individu. Cependant, certains facteurs peuvent induire des modifications de la flore intestinale entraînant un déséquilibre, que l'on observe dans plusieurs maladies (intestinales, allergiques, neurologiques...). Les probiotiques selon les élaborées par la FAO et l'OMS est caractérisé par : un effet bénéfique, l'absence de pathogénicité et de toxicité, la capacité à survivre dans le tractus gastro-intestinal, résistance à pH bas, sels biliaires et enzymes et la capacité de persister dans l'organisme hôte, l'adhérence à l'épithélium intestinal pour résister au péristaltisme et la capacité d'interagir avec les cellules immunitaires de l'intestin (**Muresan et al., 2017**).

Ces probiotiques ont des effets multiples en présence des substances appelées les prébiotiques (**Haroune et Ouatmani, 2016**). Plusieurs genres et espèces bactériennes sont considérés comme probiotiques, mais les bactéries lactiques comme les *Lactobacillus*, les *Bifidobacterium*, et *Streptococcus* représentent les groupes bactériens les plus associés au terme probiotique (**Bouguerra, 2021**). L'origine de ces bactéries dépend de l'application de probiotiques. La source peut être d'origine humaine comme le gros intestin humain, l'intestin grêle ou le lait maternel, origine animale, source alimentaire comme un lait cru ou un aliment fermenté (**Shewale et al, 2014**). Les probiotiques existent dans des conditions drastiques dans le tractus gastro-intestinal donc ils doivent survivre à ces conditions et inhiber l'action des microorganismes pathogènes (**Boumelta et Benfridja, 2021**).

En générale, les aliments végétaux représentent une source importante doués de multiples vertus thérapeutiques, du fait qu'ils contiennent de nombreuses substances antioxydants qui jouent un rôle majeur dans la prévention des maladies. Néanmoins, l'idée de l'incorporation des probiotiques avec une matrice végétale est considérée comme étant un paramètre clé pour renforcer la fonctionnalité des souches probiotiques et de protéger ces

bactéries de l'effet délétère de l'oxygène et de ces dérivés actifs (**Spacova et al., 2020 ; Güney et al., 2021**).

Différents résultats ont été obtenus concernant les effets des extraits des plantes riches en composés polyphénoliques sur la croissance de bactéries probiotiques et d'autres microorganismes. Il a été prouvé que les extraits de plantes peuvent inhiber la croissance des pathogènes et micro - organismes associés aux aliments responsables de la détérioration des aliments, ainsi que des troubles intestinales microflores pathogène et physiologique. (**Haddadin, 2010**), pour prouver l'efficacité d'une souche ou d'un produit probiotique, des tests doivent être effectués en utilisant des systèmes de plus en plus complexes, des études in vitro partant de ces données.

*Juniperus communis* est considéré comme une plante médicinale importante utilisée en médecine traditionnelle depuis des siècles (**Selaa et al., 2013**), sont notamment les douleurs abdominales, les tumeurs, la bronchite et contre la diarrhée, l'indigestion (**Manssouri et al., 2011**), celle-ci est due à son abondance en composés phénoliques qui sont connus par leur effet bénéfique sur divers systèmes biologiques (**Ait Said et Hameg, 2021**), et qui peuvent moduler le microbiote dans l'intestin en augmentant sélectivement la croissance des bifidobactéries et des lactobacilles et diminuant celle des bactéries nocives telles comme clostridia (**Tuck et Hayball, 2002**).

L'idée originale de notre travail repose sur la réalisation des faces complémentaires suivantes : l'isolement et purification des bactéries lactiques, à partir du lait camelin, ayant des propriétés probiotiques. Outre, on vise à prospecter l'effet stimulant des extraits de *Juniperus communis* sur les propriétés probiotiques de ces souches.

Notre manuscrit est conçu dans la première partie synthèse bibliographique détaillée autour de trois chapitres, le premier présente les généralités sur le dromadaire et le lait de chamelle ( caractéristiques et microbiote ,propriétés bénéfiques) et le bactéries lactique ( la définition, leurs propriétés, classification, Habitat , Propriétés métaboliques métabolisme et Intérêt) et le deuxième comprend l'histoire et le développement et concepts probiotique, et principaux propriétés et critères de sélection , leurs mécanismes d'action, et enfin leurs Effets bénéfiques sur la santé.

La deuxième partie est pratique, en montrant les principaux matériaux et méthodes utilisées et en exprimant not résultats et leurs discussions.

**Partie  
bibliographique**

# **Chapitre I: Lait de chamelle et bactéries**

## I. Généralité sur le dromadaire

### I.1. Définition

Le nom dromadaire dérive du terme grec « dromeus » qui veut dire « coureur ». Il est associé aux chameaux ayant une seule bosse (*Camelus dromedarius*) (Park et Haenlein, 2006). Il y a aussi le chameau de bactriane ou "chameau à deux bosses" (*Camelus bactrianus*) (Ould Ahmed, 2009).

### I.2. Taxonomie

La taxonomie du dromadaire selon Wilson (1984) est la suivante :

**Tableau 01** : Classification de Dromadaire

<b>Dromadaire (<i>Camelus dromedarius</i>)</b>	
<b>Classification</b>	
Règne	<i>Animalia</i>
Embranchement	<i>Chordata</i>
Sous-embr.	<i>Vertebrata</i>
Classe	<i>Mammalia</i>
Sous-classe	<i>Theria</i>
Infra-classe	<i>Eutheria</i>
Ordre	<i>Cetartiodactyla</i> selon NCBI <i>Artiodactyla</i> selon ITIS & MSW
Sous-ordre	<i>Tylopoda</i> selon NCBI
Famille	<i>Camelidae</i>
Genre	<i>Camelus</i>
<b>Nom binominal</b>	
<b><i>Camelus dromedarius</i> (Linnaeus, 1758)</b>	

### I.3. Localisation et distribution:

Le dromadaire se rencontre dans les régions chaudes en Afrique, en Asie et en Moyen – Orient. Tandis que le chameau de bactriane est adapté au froid et vit dans les régions arides comme le désert froid de Mongolie, la Chine et les pays de la Communauté des Etats Indépendants (Park et Haenlein, 2006)

La grande majorité de cette population (84%) sont des dromadaires (*Camelus dromedarius*) qui vivent dans les régions arides du nord et du nord-est de l'Afrique. Le reste (6%) sont des « bactriens » (*Camelus bactrianus*) qui sont des chameaux à deux bosses peuplant les régions froides de l'Asie (Siboukeur, 2007).

Le dromadaire en Algérie n'est pas seulement un animal d'élevage destiné pour la production de viande, lait et autres produits, mais de surcroît au transport du bois de l'Erg vers les villes et son rôle culturel et sportif (Ouled belkhir, 2018). Les camelins sont réparties sur 17 wilayas dont 9 sahariennes et 8 Steppiques (Ben hamadouche et Nesnas, 2019).

## II. lait de chamelle :

Le lait de chamelle a une couleur blanc-mat, conséquence de sa composition pauvre en matière grasse et en caroténoïde (Mal et Pathak, 2010). Ces aspects dépendent souvent de physiologie des pâturages et de la disponibilité de l'eau (El Imam Abdalla, 2012).

En milieu désertique, il est difficile, voire impossible de recueillir des données chiffrées fiables sur la production du lait camelin. Autres facteurs, y compris la race, la durée de lactation, l'alimentation et les conditions de gestion des cheptels jouent un rôle important dans l'inconsistance des données (Cardellino *et al.*, 2004).

### II.1. Caractéristiques du lait

#### II.1.1. Caractéristiques organoleptiques

Le lait camelin a une couleur blanche mate, cette couleur est notamment due à la structure et la composition de sa matière grasse, relativement pauvre en  $\beta$ -carotène. Il est légèrement sucré, avec un goût acide, parfois un peu salé et/ou amer. Le lait camelin a un aspect plus visqueux que le lait de vache. Ces caractéristiques et surtout le goût sont liés au type de fourrage ingéré ainsi qu'à la disponibilité en eau (Sboui *et al.*, 2009).

#### II.1.2. Caractéristiques physicochimiques

Le lait camelin cru, présente une acidité titrable de l'ordre de  $18^{\circ}\text{D} \pm 0,79$ , est plus bas que celui du lait de vache (Chethouna, 2011). L'acidité naturelle du lait est due d'une part à ses constituants tels que la caséine, l'albumine, les citrates, les phosphates et le dioxyde de carbone. Et d'autre part, est due à la formation d'acide lactique à partir du lactose par l'activité microbienne (Bhavbhuti *et al.*, 2014). Ce lait est caractérisé par une densité de 1,028 à 1033. Elle est moins dense que celle du lait de vache (Boubezari, 2010). Outre, le lait de chamelle est doté d'une teneur en matière sèche totale égale à 130 g/l (Kamoun, 1995), et un pH égal à  $6,37 \pm 0,06$ . Elle est plus bas que celui du lait de vache (6,8)

(Chethouna, 2011).

### II.1.3. Caractéristiques biochimique

Le taux de lactose contenu dans le lait de chamelle est de 35 g/l (Abdoun *et al.*, 2007). Sa teneur maximale est de 54 g/l, varie selon le stade de lactation, le changement de concentration du lactose explique la variation de la saveur du lait de chamelle (Attia *et al.*, 2003). Le lait de la chamelle de Bactriane est plus riche en matières grasses que le lait de dromadaire (Faye, 1997). Le lait de chamelle est plus pauvre en acides gras saturés de courte chaîne (les plus défavorables à la santé) et beaucoup plus riche en acides gras à longue chaîne, notamment les mono-insaturés (acide stéarique, acide oléique notamment) (Siboukeur, 2007). La teneur en matière grasse du lait camelin varie de 1,1 à 4,6% (Konuspayeva *et al.*, 2004).

Les sels minéraux présents dans le lait de chamelle sont aussi diversifiés que ceux rencontrés dans le lait de vache (Siboukeur, 2007). Le lait de chamelle est une riche source en chlorure en raison des fourrages broutés par le dromadaire, tels qu'Atriplex et Acacia qui contiennent habituellement une forte teneur en sel (Al haj *et al kanhal*, 2010). La teneur en minéraux du lait de chamelle exprimée les cendres vont entre 6,7g/l (Abdoun *et al.*, 2007) et 10,5g/l (El-Hatmi *et al.*, 2006).

La teneur moyenne en vitamine C est égale trois fois plus élevées que celles présentes dans le lait bovin, qui ne dépassent pas 22 mg/l (Mathieu, 1998). Lait camelin contient des teneurs plus faibles en vitamines A et E et en certaines vitamines du groupe B (vitamine B2, B5 et B9) par rapport au lait bovin (Farah, 1993).

Les protéines sont des éléments essentiels du lait et des produits laitiers (Jean Amiot *et al.*, 2002). Elles se répartissent, en deux fractions : les caséines et les protéines du lactosérum (Wangoh *et al.*, 1998).

## II.2. Microbiote du lait de chamelle

Le lait contient de l'eau en abondance, des nutriments et un pH presque neutre, ce qui favorise la croissance de nombreux microorganismes. La nature et l'abondance de la charge microbienne sont fortement influencées par de nombreux paramètres, tels que le milieu environnant et l'état de santé des chameaux (Ledenbach *et Marshall*, 2009 ; Rahmeh *et al.*, 2019). Ces microorganismes peuvent être regroupés en 2 catégories principales :

### II.2.1. Microorganismes pathogènes et de détérioration

La première contamination du lait peut avoir lieu au moment de la traite, lors du passage dans le canal du trayon, par le matériel ou le personnel de traite. Une contamination ultérieure est possible pendant le transport et le stockage du lait (**Eberlein, 2007**).

L'altération du lait est causée par les microorganismes saprophytes qui peuvent avoir un impact négatif sur sa qualité et sur sa durée de conservation. Les agents pathogènes responsables des mammites, principalement *Staphylococcus aureus* et *Streptococcus agalactiae*, sont préoccupants pour la santé publique, car certains d'entre eux peuvent produire des toxines ou provoquer des infections graves chez l'homme (**Younan, 2004 ; Eberlein, 2007**).

### **II.2.2. Microorganismes probiotiques et/ou d'intérêt technologique**

Il est bien connu que la microflore lactique spécifique du lait a un impact direct sur le développement de la texture et la saveur du produit laitier fini. Elle participe aussi à leurs propriétés antimicrobiennes grâce à la production de plusieurs composés tels que les bactériocines et les acides organiques (**Rahmeh et al., 2019**).

En général, la microflore du lait de chamelle cru et leurs produits fermentés est constituée d'un mélange de différentes espèces de LAB, telles que: *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus casei*, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Enterococcus faecium* et *Streptococcus thermophilus* (**Jans et al., 2012**).

### **II.3. Propriétés bénéfiques du lait de chamelle pour la santé**

Actuellement, la valeur du lait de chamelle a augmenté dans le monde entier en raison de sa grande valeur thérapeutique pour la santé humaine:

- ❖ Activités antibactérienne, antivirale, antifongique, antiparasitaire, antivirale et anticancéreuse (**Korashy et al, 2012**);
- ❖ Amélioration de la digestion du lactose (**Kaskous, 2016**);
- ❖ Effet hypoglycémiant (**Abrehaley et Leta, 2018**) ;

## **III. Bactéries lactiques**

### **III.1. Définition et caractéristiques**

Les bactéries lactiques sont un groupe hétérogène de microorganismes produisant de l'acide lactique comme produit principal du métabolisme. Elles sont fréquemment isolées d'environnements riches en matières organiques telles que les végétaux en décomposition mais on retrouve également des représentantes de ce groupe dans les tractus gastro-intestinaux et urogénitaux des mammifères (**BECHACHHA et al., 2020**). Le groupe des

bactéries lactiques, été défini pour la 1<sup>ère</sup> fois par Orla –Jensen en 1919, réunit plusieurs genres de différentes morphologies (**BOUMEDIENE, 2013**).

Comme toutes les bactéries, les bactéries lactiques sont des micro-organismes vivants et unicellulaires (procaryotes) très répandus dans la nature car se reproduisant rapidement (**BENGHANEM et al., 2011**). Ce sont des bactéries à Gram positives dont la teneur en guanine et cytosine (G+C) est inférieure à 50%, organotrophes (**ABABSA, 2012**). Ce sont généralement catalase négative, oxydase négative, généralement nitrate réductase négative (**ADOUR & DABOUZ, 2016**)

Elles sont immobiles, asporulées, anaérobies mais aérotoles. Leur forme peut être coccoïde, coccobacillaire ou bacillaire, elles sont généralement mésophiles avec une température optimum de croissance entre 20°C et 30°C ou thermophiles entre 30°C et 45°. La majorité des souches se développent à pH 4.0-4.5, certaines sont en activité à pH 9.6 et d'autres à pH 3.2 (**BAHRI, 2016**). Elles ont des exigences nutritionnelles complexes pour les acides aminés, les peptides, les vitamines, les sels, les acides gras et les glucides fermentescibles (**HOGG, 2005**)

### **III.2. Classification**

La première classification des bactéries lactiques a été établie en 1919 par Orla-Jensen sur divers critères morphologiques et physiologiques (activités catalase et nitrite réductase, type de fermentation) (Stiles et Holzapfel, 1997). Les méthodes phénotypiques permettant la classification des bactéries se sont ensuite étendues à la composition de la paroi, le type d'acides gras cellulaires, le type de quinones (accepteur d'électrons). Cependant ces méthodes phénotypiques ne rendent pas compte des relations phylogénétiques entre les groupes. En 1977, Woese et Fox introduisent la phylogénie moléculaire basée sur la séquence des ARN ribosomiques. Cette méthode va révolutionner la taxonomie des bactéries, et la classification des BL va être profondément modifiée. D'autres méthodes génotypiques (basées sur les acides nucléiques) sont aussi utilisées en classification, comme le pourcentage en GC ou l'hybridation ADN/ADN (Penaud, 2006).

L'approche consistant à prendre en compte les méthodes phénotypiques et génotypiques s'appelle la taxonomie polyphasique (Vandamme et al., 1996). La technique de MLST (pour Multi Locus Sequence Typing), basée sur la divergence nucléique de gènes de ménage, est utilisée pour la classification des BL pathogènes notamment les streptocoques. Cependant cette technique n'a pas été utilisée pour d'autres BL.

Les bactéries lactiques sont un groupe de bactéries unies par une constellation de caractéristiques, métaboliques, et physiologiques. Elles appartiennent à la lignée des Firmicutes, à la classe des Bacilli, et à l'ordre des Lactobacillales (Garrity et Holt, 2001). Phylogénétiquement, elles appartiennent au phylum des Clostridium des bactéries Gram-positif (G+C < 50 mol%). En outre, bien qu'il y ait des applications de certaines souches du genre *Sporolactobacillus*, en l'occurrence *S. cellulosolvens* ou *S. inulinus*, dans la fermentation conduisant à la production d'acide lactique (Kanwar et al., 1995 ; Abelyan, 1997), les *sporolactobacilles* ne sont pas des bactéries lactiques.

La classification la plus récente des bactéries lactiques suggère la subdivision de groupe lactique en plusieurs genres : *Enterococcus*, *Lactococcus*, *Vagococcus*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc*, *Aerococcus*, *Lactobacillus* et *Carnobacterium* (Axelsson, 1998; Leisner et al., 2000). La différenciation entre ces genres est basée sur des critères physiologiques, biochimiques et morphologiques regroupés dans le tableau 01.

**Tableau 02:** Classification des grands groupes de bactéries lactiques (Stiles et Holzapfel, 1997).

Famille	Formes	Catalase	Nitrate réductase	Fermentation	Genres bactériens
<b>Beta bacterium</b>	bacille	-	-	Hétérofermentaire	Lactobacillus Weissella
<b>Thermobacterium</b>	bacille	-	-	Homofermentaire	Lactobacillus
<b>Streptobacterium</b>	bacille	-	-	Homofermentaire	Lactobacillus Carnobacterium
<b>Streptococcus</b>	Coque	-	-	Homofermentaire	Streptococcus Enterococcus Lactococcus Vagococcus
<b>Betacoccus</b>	Coque	-	-	Hétérofermentaire	Leuconostoc Oenococcus Weissella
<b>Tetracoccus</b>	Coque	+	+	Homofermentaire	Pediococcus Tetragenococcus
<b>Bifidobacteria</b>	Polymorph	-	-	Homofermentaire	Bifidobacterium

### III.3. Habitat

Très ubiquistes, les bactéries lactiques colonisent de nombreux habitats, essentiellement ceux riches en carbohydrates solubles, acides aminés, vitamines et sous de faibles tensions d'oxygène. Elles peuvent vivre dans les plantes et les fruits intacts ou en décomposition, le lait et les produits laitiers, les viandes et les poissons fermentés, l'eau et les eaux usées, les jus, l'ensilage et les cavités (buccale, génitale, intestinale et respiratoire) de l'homme et des animaux (**König et Fröhlich, 2009**).

### III.4. Propriétés métaboliques

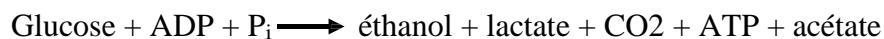
- **Le métabolisme des sucres**

Les bactéries lactiques homofermentaires transforment tout le glucose en excès en acide lactique. Le transport du glucose ou du lactose vers les cellules diffère selon les espèces. Elles utilisent la voie EMP dans la dernière étape de la glycolyse, convertissent le pyruvate en lactate et régénèrent ainsi du NAD<sup>+</sup> à partir du NADH formé auparavant. Dans cette dernière étape les bactéries font intervenir une lactate-déhydrogénase.



Les bactéries lactiques hétérofermentaires utilisent les voies du tagatose-6-phosphate, de la glycolyse et des pentoses phosphates. Le résultat de la fermentation lactique aboutit à la formation de quantité équimolaire de lactate, d'éthanol et de gaz carbonique. Une production de formate et d'acétate peut avoir lieu, notamment en aérobiose (**Desmazeaud, 1996**).

Le bilan de la réaction est le suivant (**Amandine, 2017**) :



- **Le métabolisme du citrate**

L'acide citrique est utilisé par de nombreuses espèces des genres *Streptococcus* (*Streptococcus thermophilus*), *Lactococcus* (*Lc. Lactis subsp. lactis biovar diacetylactis*), *Enterococcus* (*Ec. faecium*), *Pediococcus*, *Leuconostoc* (*Ln. lactis*, *Ln. cremoris*) et *Lactobacillus* (*Lb. plantarum*, *Lb. casei*). Cependant il ne peut être dégradé qu'en présence d'un substrat fermentescible et d'une source d'azote (**Leveau et Bouix, 1993**). Le citrate est transporté à l'intérieur des cellules par une citrate-perméase, où il est scindé en acétate (en

majeure partie excrétés) et en oxaloacétate par le complexe enzymatique citrate-lyase. L'oxaloacétate est ensuite converti en pyruvate et en CO<sub>2</sub> par une oxaloacétate décarboxylase. Des transformations successives du pyruvate aboutissent à la formation de composés aromatisants et le produit fini est le 2,3-butylen-glycol (2,3-butanediol) (**Cogan, 1981 et 1982**).

### III.5. Intérêt des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques jouent un rôle important que ce soit dans l'industrie alimentaire ou dans le domaine thérapeutique.

- **Dans l'industrie alimentaire :**

Les bactéries lactiques sont impliquées dans la fermentation et la bioconservation de différents aliments. Ainsi, les souches de *Lactobacillus bulgaricus*, *Sterptococcus thermophilus* sont utilisées pour la production du yaourt, des fromages et des laits fermentés (**Yateem et al., 2008**). Le vin, les poissons, les viandes, les charcuteries, le pain au levain entre autres sont aussi des produits de fermentation par des bactéries lactiques (Badis et al., 2005). L'utilisation de ces dernières a pour but l'amélioration des caractéristiques organoleptiques des produits fermentés et l'augmentation de leur durée de conservation sans l'utilisation de conservateurs chimiques, et ce grâce aux substances antimicrobiennes qu'elles secrètent (**Dortu et Thonart, 2009**).

Les souches utilisées en industrie alimentaire doivent répondre à certains critères : absence de pathogénicité ou activité toxique, capacité d'améliorer les caractéristiques organoleptiques, capacité de dominance, facilité de culture, de conservation, et maintenance des propriétés désirables durant le stockage (**Marth et Steele, 2001**).

- **Dans le domaine thérapeutique :**

Etant des probiotiques, les bactéries lactiques apportent des bénéfices à l'hôte en conférant une balance de la microflore intestinale, en jouant également un rôle important dans la maturation du système immunitaire (**Yateem et al., 2018**). Différentes études ont démontré le rôle préventif aussi bien que curatif de ces bactéries sur plusieurs types de diarrhées (**Mkrtchyan et al., 2010**). D'autres ont cité leur capacité de diminuer les allergies liées aux aliments grâce à leur activité protéolytique (**El-Ghaish et al., 2011**).

**Uehara et al., (2006)** ont démontré la capacité des souches de *Lactobacillus crispatus*, utilisées sous forme de suppositoires pour empêcher la colonisation du vagin par les bactéries pathogènes et de prévenir ainsi les rechutes chez les femmes qui souffrent d'inflammations fréquentes et répétées de la vessie.

## **Chapitre II: Probiotiques**

## II. Les probiotiques

### II.1. Historique et définition des probiotiques

Il y a un siècle, Elie Metchnikoff (microbiologiste russe, élève de Louis Pasteur et lauréat du prix Nobel) émit l'hypothèse que la bonne santé et la longévité de certaines populations de l'Europe de l'est seraient due à leur consommation quotidienne de laits fermentés (**Sanders, 2000**). Il suggéra que "l'auto-intoxication intestinale" et que le vieillissement en résultant pouvait être supprimé en modifiant la flore microbienne de l'intestin et en remplaçant des microbes protéolytiques qui produisent des substances toxiques comme les phénols, les indoles et l'ammonium à partir des protéines de la digestion par des microbes utiles. Il développa un régime alimentaire avec du lait fermenté par une bactérie appelée 'Bacille bulgare' (**WGO, 2008**).

Entretemps, plusieurs travaux se sont développés selon le concept que l'ingestion de microorganismes peut améliorer la santé de l'hôte. Ce fut Parker qui proposa pour la première fois en 1974 le terme « probiotique » qui signifie pour la vie afin de désigner les microorganismes et substances qui contribuent au maintien de l'équilibre de la microflore intestinale (**Vasiljevic et Shah, 2008**). Plus tard, Fuller (1991) a redéfini les probiotiques de la façon suivante : « préparations microbiennes vivantes, utilisées comme additif alimentaire, ayant une action bénéfique sur l'animal hôte en améliorant la digestion et l'hygiène intestinale ». Depuis, plusieurs définitions des probiotiques ont succédé sur la base des nouvelles connaissances de leurs modes d'actions et de leurs effets bénéfiques sur la santé de l'hôte.

Actuellement, la définition la plus utilisée est celle proposée par **Salminen et al., 1998**. Elle a été validée par le groupe de travail conjoint mandaté par l'Organisation des Nations Unies pour l'Agriculture et l'Alimentation (FAO) et par l'Organisation Mondiale pour la Santé (OMS). Ce groupe d'experts internationaux définit les probiotiques comme étant « des microorganismes vivants qui, administrés en quantités adéquates, sont bénéfiques pour la santé de l'hôte » (**FAO/OMS, 2001**). Les principaux microorganismes probiotiques connus à ce jour sont des bactéries (lactobacilles, bifidobactéries, propionibactéries, *Escherichia coli* et enterocoques) et des levures (*Saccharomyces boulardii*) (**Ouwehand et al., 2002**).

## **II.2. Notion complémentaire**

### **II.2.1. Notion des prébiotiques**

Les prébiotiques doivent avant tout bien être différenciés des probiotiques. En effet, ils ne sont pas considérés comme des micro-organismes. Ce sont en réalité de simples molécules non digestibles issues des aliments capables d'attiser la croissance et l'activité de certaines souches bactériennes intestinales, Ils représentent donc une source d'énergie non négligeable pour les micro-organismes constitutifs de la flore intestinale et pour les probiotiques. Ils sont généralement retrouvés en très grand nombre dans l'alimentation (blé, seigle, poireau, oignon, artichaut, banane...) (**Raphaëlle, 2015**).

### **II.2.2. Notion des symbiotiques**

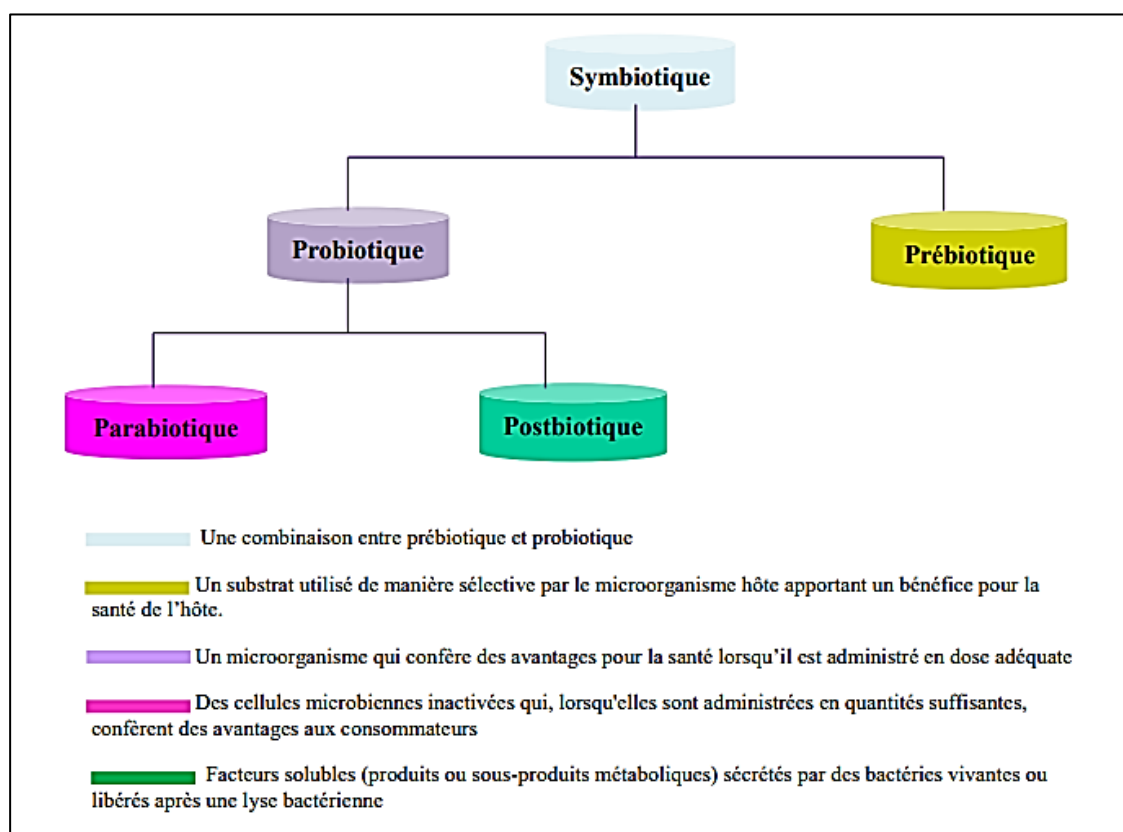
Dans certains cas, un probiotique peut être associé simultanément à son substrat de type prébiotique spécifique : le mélange ainsi constitué est appelé symbiotique. Exemple : une suspension constituée de fructo-oligosaccharides et de Bifidobacterium. Le but de cette préparation est d'avant tout assurer la survie et la persistance du probiotique dans l'environnement digestif grâce à l'utilisation du prébiotique mis à disposition (**Raphaëlle, 2015**).

### **II.2.3. Notion des postbiotique**

Il est utilisé pour désigner des produits bactériens non viables ou les sous-produits métaboliques élaborés par des microorganismes probiotiques ayant une activité biologique chez l'hôte. En général, les postbiotiques comprennent les métabolites bactériens, les sous-produits, tels que les bactériocines, les acides organiques, l'éthanol, le diacétyle, l'acétaldéhyde et le peroxyde d'hydrogène (**Zielińska et Kolozyn-Krajewska, 2018**).

### **II.2.4. Notion des parabiotiques**

Parabiotique Les « paraprotobiotiques » ou probiotiques inactivés, désignent les microorganismes non viables qui, lorsqu'ils sont administrés en quantités suffisantes, confèrent des avantages aux consommateurs. Les paraprotobiotiques conservent leur activité immun-modulatrice au-delà de leur viabilité cellulaire qui semble être associés aux composants de la structure des cellules mortes, principalement les constituants de la paroi cellulaire (**BOUGUERRA, 2020**).



**Figure 01. Représentation schématisée de la terminologie relative aux probiotiques (Rossoni et al., 2020)**

### II.3. Principaux microorganismes probiotiques

Les microorganismes probiotiques sont en majorité des bactéries lactiques (Azizi et Bouchicha, 2019). Les probiotiques peuvent être classés en cinq catégories (Naïmi, 2014)

#### II.3.1. Lactobacilles

Les bactéries du genre *Lactobacillus* comptent aujourd'hui plus de 150 espèces réparties dans le monde animal, végétal et humain et appartiennent à la famille des lactobacillaceae

Ces bactéries présentent une morphologie en bâtonnet (bacille), une température de croissance comprise entre 2 et 53 ° C (température optimale : 30 à 40 ° C) et sont capables de se développer dans un milieu allant de pH 3 à 8 (pH optimum : 5,5 à 6,2) (Mattarelli et al., 2014).

Chez l'homme, les lactobacilles sont retrouvés au niveau des muqueuses orale, gastrointestinale et vaginale et sont les premières bactéries à coloniser l'intestin du nourrisson après un accouchement par voie basse. Certains lactobacilles sont utilisés pour la production de yogourts, fromages, choucroutes, cornichons, pains au levain, vins et autres

produits fermentés. Ces micro-organismes sont couramment choisis comme probiotiques car ils expriment de nombreuses propriétés cruciales telles qu'une haute tolérance à l'acidité des sucs gastriques et à la bile, une forte capacité à adhérer aux cellules intestinales et une activité antimicrobienne (Fijan, 2014).

### II.3.2. Bifidobactéries

La découverte des Bifidobactéries a été attribuée à Henri Tissier qui isola en 1899 à partir des matières fécales de nourrissons allaités, la première bactérie appartenant aujourd'hui au genre *Bifidobacterium* nommé *Bacillus bifidus*. En effet, en raison de leurs caractéristiques morphologiques et physiologiques similaires à ceux des lactobacilles, ils ont été classés pendant la majeure partie du 20<sup>ème</sup> siècle dans le genre *Lactobacillus*, et c'est seulement à partir de 1974, que ces bactéries ont été reconnues comme un genre distinct (Turroni et al., 2014).

Les bactéries du genre *Bifidobacterium* comptent aujourd'hui 48 espèces issues du monde humain et animal, et appartenant à la famille des *Bifidobacteriaceae* (Turroni et al., 2014). Elles peuvent être isolées de diverses parties du corps humain telles que le tractus gastro-intestinal (bouche, bronches et intestin), le vagin, mais aussi de son environnement tel que les eaux usées.

Ces bactéries présentent une morphologie variable, une température optimale de croissance comprise entre 30-42 ° C et sont capables de se développer dans un milieu allant de pH 5 à 8 (pH optimum : 6 à 7) (Mattarelli et al., 2014). Elles sont caractérisées par la présence d'une enzyme clé, essentielle à la fermentation des glucides : la fructose-6-phosphate phosphocétolase.

### II.3.3. Entérocoques

Les micro-organismes du genre *Enterococcus* appartiennent à la famille des *Streptococcaceae*. Ces bactéries présentent une morphologie en coque disposée en chaînettes de longueur variable, une température de croissance allant de 5 à 65 ° C et sont capables de se développer dans un milieu allant de pH 4.5 à pH 10. Ces bactéries sont caractérisées par leur importante tolérance aux facteurs environnementaux (Mattarelli et al., 2014). Bien que minoritaires, les *Enterococcus* font partie de la flore commensale de l'homme et se retrouvent dans l'intestin et le tractus génito-urinaire. D'après la littérature, deux espèces appartenant au genre *Enterococcus* sont utilisées en tant que probiotique.

Les entérocoques sont utilisés comme des compléments alimentaires sous forme de préparations pharmaceutiques. Elles sont utilisées pour le traitement des diarrhées aiguës, les

diarrhées associées à l'antibiothérapie, traitement du côlon irritable et pour réduire le taux du cholestérol sérique (Belhamra,2017).

### II.3.4. Bactéries non lactique

Le quatrième groupe sont les autres bactéries non lactique, dont le métabolisme est différent des précédentes, font également preuve d'intérêt en tant que probiotiques. Il s'agit notamment de la souche *Escherichia coli* et de bactéries sporulées dont *Bacillus subtilis* et *B. cereus* (Piquepaille, 2013).

### II.3.5. Levures

Elles sont utilisés dans l'industrie alimentaire pour la production de boissons alcoolisées (fermentation alcoolique), telles que la bière, le vin, l'alcool industriel et le saké mais également dans la fabrication du pain (panification) (Steensels et al., 2014). En plus d'être importantes dans ces domaines, les levures sont actuellement employées comme outil de biotechnologie pour la production de l'insuline humaine, de vaccins (hépatite B et papillomavirus) ainsi que pour leurs bienfaits sur la santé. Il s'agit notamment souche *Saccharomyces cerevisiae* mais plus particulièrement *Saccharomyces cerevisiae* variété *bouardii* (Moslehi-Jenabian et al., 2010).

**Tableau 03. Micro-organismes probiotiques les plus importants à usage humain (Huys et al., 2013)**

Groupe	Bactéries lactiques			Bactéries non lactiques	Levures
Genre	Lactobacillus	Bifidobacterium	Autre		Saccharomyces
Espèces	<i>L. acidophilus</i> <i>L. brevis</i> <i>L. casei</i> <i>L. crispus</i> <i>L. delbrueckii</i> <i>susbsp.</i> <i>Bulgaria</i> <i>L. femntum</i> <i>L. gasseri</i> <i>L. helveticus</i> <i>L. johnsoni</i>	<i>B. adolescentis</i> <i>B. animalis</i> <i>B. bifidum</i> <i>B. breve</i> <i>B. infantis</i> <i>B. lactis</i> <i>B. longum</i>	<i>Enterococcus faecium</i> <i>E. faecalis</i> <i>Streptococcus lactis</i> <i>S. thermophilus</i> <i>Lactococcus lactis</i>	<i>Bacillus cereus</i> <i>B. subtilis</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Nissel 1917</i> <i>Pr. acidopropionici</i>	<i>S. bouardii</i> <i>S. cerevisiae</i>

	<i>L. lactis</i>				
	<i>L. paracasei</i>				
	<i>L. plantarum</i>				
	<i>L. reuteri</i>				
	<i>L. rhamnosus</i>				
	<i>L. salivarius</i>				

#### II.4. Mécanismes d'action des probiotiques

Il existe différents mécanismes d'action par lesquels les probiotiques exercent un antagonisme vis-à-vis plusieurs microorganismes (**Yan et Polk, 2009**).

##### II.4.1. Inhibition de la croissance des microorganismes pathogènes

Les probiotiques exercent des effets antagonistes directs par la production de substances antimicrobiennes, notamment les bactériocines, l'acide, le peroxyde d'hydrogène, et les défensines (**Yan et Polk, 2009**), ou des effets indirects, par la création d'un environnement défavorable à l'implantation et à la prolifération des bactéries pathogènes spécifiques par modification du pH intestinal. Les probiotiques conduisent à la formation d'acide gras à chaînes courtes, les acides organiques (acide lactique, acétique, propionique, acide succinique, etc.), qui acidifient le milieu intestinal empêchant ainsi la croissance des microorganismes acido-sensibles (**Faure et al., 2013**). L'inhibition de la croissance des pathogènes peut également s'effectuer par un processus de restriction des nutriments. Les probiotiques entrent en compétition avec les pathogènes vis-à-vis des nutriments disponibles dans le milieu (**Coudeyras et Forestier, 2010**).

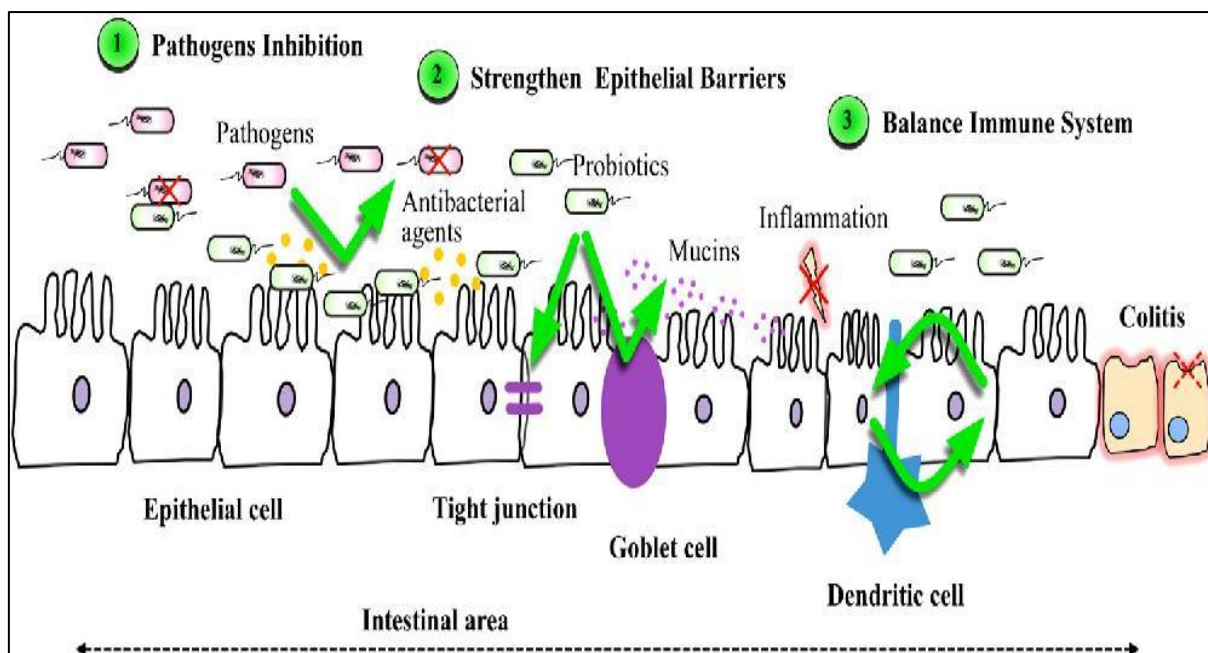
##### II.4.2. Amélioration de la fonction barrière

Les probiotiques renforcent l'effet barrière anti pathogènes, ils s'opposent à l'implantation des micro-organismes pathogènes dans le tube digestif par compétition sur les sites d'adhésion grâce à leur potentiel d'adhésion à la muqueuse intestinale (**Faure et al., 2013**). Certains probiotiques participent à l'effet barrière des muqueuses et l'exclusion des agents pathogènes en stimulant la production des mucines et des peptides antimicrobiens mais aussi en améliorant l'intégrité de l'épithélium, notamment la formation des jonctions serrées (**Coudeyras et Forestier, 2010**).

##### II.4.3. Modulation du système immunitaire

Les bactéries probiotiques peuvent exercer un effet immunomodulateur. Il a été découvert que ces bactéries contribuent à l'homéostasie intestinale par une interaction avec le

système immunitaire inné ou adaptatif (**Kim *et al.*, 2016**). Ils ont la capacité d'interagir avec les cellules épithéliales et dendritiques, monocytes, macrophages et lymphocytes. La réponse immunitaire adaptative dépend des lymphocytes B et T, qui sont spécifiques d'antigènes particuliers. En revanche, le système immunitaire inné répond à des structures communes appelées motifs moléculaires associés aux pathogènes (PAMP) partagés par la grande majorité des agents pathogènes. La réponse principale aux agents pathogènes est déclenchée par les récepteurs de reconnaissance de motifs les (PPR), qui se lient aux PAMP. Les PPR les mieux étudiés sont des récepteurs de type péage (TLR). En outre, les récepteurs de lectine extracellulaires de type C (CLR) et les récepteurs de type protéine (NOD) de type domaine d'oligomérisation de liaison nucléotidique intracellulaire (NLR) sont connus pour transmettre des signaux lors de l'interaction avec des bactéries (**Bermudez-Brito *et al.*, 2012**).



**Figure 02. Mécanismes d'action des probiotiques (Kim *et al.*, 2016).**

- (1) Les probiotiques inhibent les pathogènes en se faisant concurrence pour la nutrition et le site de liaison, ou en sécrètent des agents antibactériens. (2) Les probiotiques améliorent la jonction serrée et favorisent la sécrétion de mucines. (3) Les probiotiques contribuent à l'homéostasie intestinale par un effet d'immunomodulation.

## II.5. Effets bénéfiques sur la santé

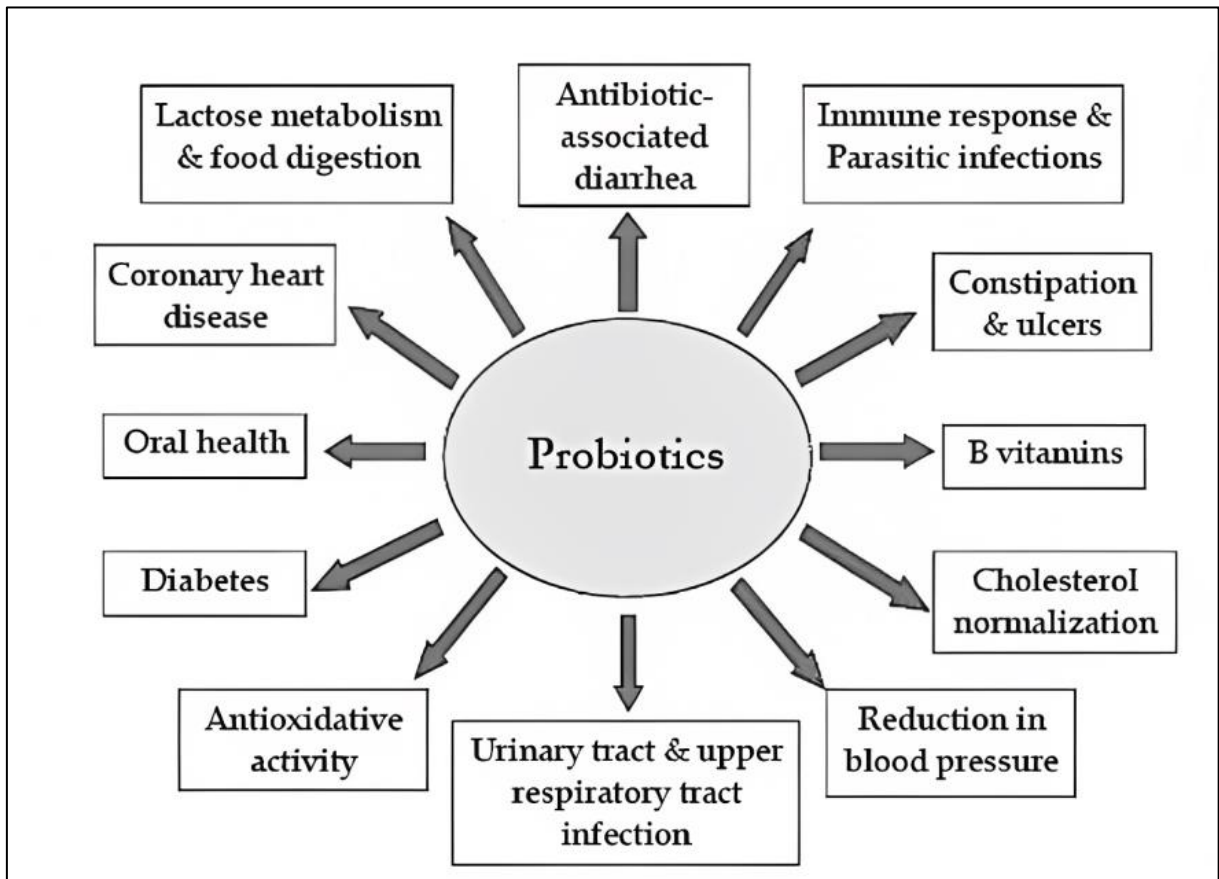
Plusieurs études ont démontré les multiples effets bénéfiques des probiotiques, en effet, les probiotiques interviennent dans la prévention et le traitement de plusieurs diarrhées, notamment la diarrhée du voyageur et la diarrhée associée à la prise d'antibiotiques

(Beausoleil *et al.*, 2007; McFarland, 2007). Ils sont aussi impliqués dans la réduction et le traitement de certaines infections gastro-intestinales (Salminen *et al.*, 2005). Ils contribuent également à la modulation du système immunitaire et au renforcement de la muqueuse intestinale (Matsuzaki et Chin, 2000; Madsen, Cornish *et al.*, 2001).

Les probiotiques améliorent aussi la digestion des aliments et jouent un rôle dans la réduction des symptômes de l'intolérance au lactose (Nagpal *et al.*, 2007). Les probiotiques possèdent aussi une action antimicrobienne grâce à la production des bactériocines (Klaenhammer, 1988). Certains probiotiques ont démontré leur capacité à prévenir certaines maladies chroniques telles que la maladie de Crohn, l'obésité et le diabète (Schultz *et al.*, 2004; Yadav *et al.*, 2007). D'autres travaux laissent présager qu'ils pourraient également jouer un rôle important dans la prévention du cancer du côlon (Wollowski *et al.*, 2001).

**Tableau 04. Principaux effets bénéfiques attribués aux probiotiques (Salminen *et al.*, 2004 ; Patterson, 2008)**

Effets intestinaux	Effets sur le système Immunitaire	Autres effets
Contrôle des troubles suivants : - Mauvaise digestion du lactose. - Diarrhée due aux rotavirus et Diarrhée-associée aux antibiotiques. - Syndrome du côlon irritable - Constipation. - Infection par <i>Helicobacter pylori</i> . Prolifération bactérienne dans l'intestin grêle. - Maladies inflammatoires chroniques de l'intestin	- Modulation immunitaire Répression des réactions allergiques par réduction de l'inflammation. Réduction des risques d'infection par des agents pathogènes courants ( <i>Salmonella, Shigella</i> )	Réduction du risque de : - Certains cancers (colorectal, vessie, col utérin, sein) - Coronaropathie. - Maladie des voies urinaires Infection des voies respiratoires supérieures et infections connexes Réduction du cholestérol sérique et de la pression artérielle.



**Figure 03.** Les principaux bienfaits des probiotiques (Nagpal *et al.*, 2012)

**Chapitre III : Juniperus  
communis**

### III. Généralités sur le Juniperus

Le genre juniperus est parmi les conifères, qui fait partie de la famille des cupressacées, ne comprend qu'un seul genre Juniperus (STASSI *et al.*, 1996). Le genre juniperus est le plus riche en espèces parmi les conifères, il comprend soixante espèces dans le monde, huit en méditerranée, et cinq en Algérie, il comprend des espèces rigides aux aiguilles piquantes et des espèces souples aux feuillages en écailles (Adams, 2004).

#### III.1. Définition de *Juniperus communis*

Le genévrier appartient à la famille des Cupressacées, qui comprend plusieurs espèces, parmi lesquelles le Juniperus commun (*Juniperus communis*) est l'un des plus nobles représentants de ce genre, et est connu comme le seul pin commun de l'Ancien et du Nouveau Monde (Seigue, 1985).

Selon Debazac (1991), les genévriers sont généralement associés aux végétaux des milieux dégradés ou altérés (friches, marais ou prairies herbeuses) et sont très résistants au gibier (Riou-Nivert, 2001). Cette espèce est dioïque, les inflorescences mâles et femelles apparaissant en fils séparés. Cette espèce se développe aux basses altitudes dans des terres de pâturages, des champs abandonnés, mais aussi dans les hautes altitudes, dans les zones subalpines en montagnes et dans les terres sèches en montagnes circum-méditerranéennes (Garcia *et al.*, 2000).

*Nomenclature de plante* : *Juniperus communis*, est la seule espèce de Juniperus présente dans les deux hémisphères (Adams, 1998); et qui porte plusieurs noms :

- En français : appelé genévrier commun, rouge, Peteron ou Petrot, common juniper
- En Anglais: common juniper
- En Algérie: il est différemment nommé selon les régions ; Taka en kabyle, Zimba en chawi, et ara'ar en Arabe (Trabut, 1935).

Selon **Debazac (1991)**, les genévriers appartiennent à la systématique suivante :

**Tableau 05: classification scientifique de *Juniperus communis***

Règne	Plantae
Sous Règne	Tracheobionta
Division	Coniferopsides
Embranchement	Spermaphytes
Sous-embranchement	Gymnospermes
Classe	Coniferopsides
Tribu	Juniperées
Ordre	Pinales
Famille	Cupressacées
Genre	<i>Juniperus</i>
Espèce	<i>Juniperus communis</i>

### III.2. Caractéristiques dendrologiques et botaniques

#### ❖ Feuillages

Les feuilles de *J. communis* sont totalement aciculaire, verticillées par trois autour du rameau de 5 à 15 mm de longueur et 1,5 à 2 mm de largeur. Elles sont très larges à la base, puis se rétrécissent progressivement vers la pointe qui devient aigue, rigide, très piquante. Sur sa face supérieure, nous observons deux bandelettes blanchâtres de stomates très rapprochées et ne paraissent former qu'une seule bandelette médiane. La face inférieure est par contre de couleur verte et de forme carénée (**Debazac, 1991**).

Le genévrier commun se distingue du genévrier cade (*Juniperus oxycedrus*) par ses aiguilles n'ayant qu'une seule large bande blanche (alors que les aiguilles du cade ont deux bandes parallèles plus étroites), et par des fruits plus petits et plus sombres.



Figure 04. Feuillages de *Juniperus communis* (Enescu *et al.*, 2016)

#### ❖ Bourgeons

Les bourgeons sont très petits et de couleur verte, souvent cachés par la touffe d'aiguilles (Riou-Nivert, 2001).

#### ❖ Floraison

La floraison est très discrète (d'avril au mois de mai). La pollinisation est anémophile, les graines sont dispersées par oiseaux (Rameau *et al.*, 2008). *J. communis* est une espèce dioïque :

- les fleurs mâles sont solitaires, ovoïdes et sont entourées de bractées courtes (Maire, 1952) ;
- les fleurs femelles sont constituées de 03 feuilles ovulifères (Rameau *et al.*, 2008).

#### ❖ Fruit

Le fruit de *J. communis* est sous forme d'une pseudo-baie ou galbule à écailles charnues, de forme sphérique ou ovoïde, de 5 à 6 mm de diamètre (Callen, 1976). Il est d'une couleur glauque la première année puis vire vers le noir bleuâtre à maturité. Il est longuement dépassé par les feuilles contenant généralement trois graines qui sont dispersées par les oiseaux (Rameau *et al.*, 2008).



Figure 05. Feuilles et fruits de *J. communis* (Enescu *et al.*, 2016).

#### ❖ Appareil reproducteur

Cette espèce produit des cônes mâles très petits et des cônes femelles constitués d'écaillés charnues qui se soudent au cours de leur développement (concréscence). Le cône femelle, une fois fécondé et développé, a l'apparence d'une baie. D'abord vert, il devient sombre et bleuâtre en murissant. Il est indifféremment appelé « genièvre », « baie de genièvre » ou « baie de genévrier ».

### III.3. Distribution

Au niveau mondial, Il se trouve au niveau de l'Europe, en Asie occidentale jusqu'à l'Himalaya et en Amérique septentrionale. En ce qui concerne la sous espèce *hemisphaerica*, on la trouve en Italie et en Grèce (Maire, 1952). En Algérie, il est abondant sur les crêtes du Djurdjura (Quezel et Gast, 2011), dans un bioclimat humide froid à perhumide froid (Yahi, 2007 ; Meddour, 2012) et plus rare dans les Aurès et les Babors, où il se situe dans l'étage de la cédraie (Quezel et Gast, 2011).

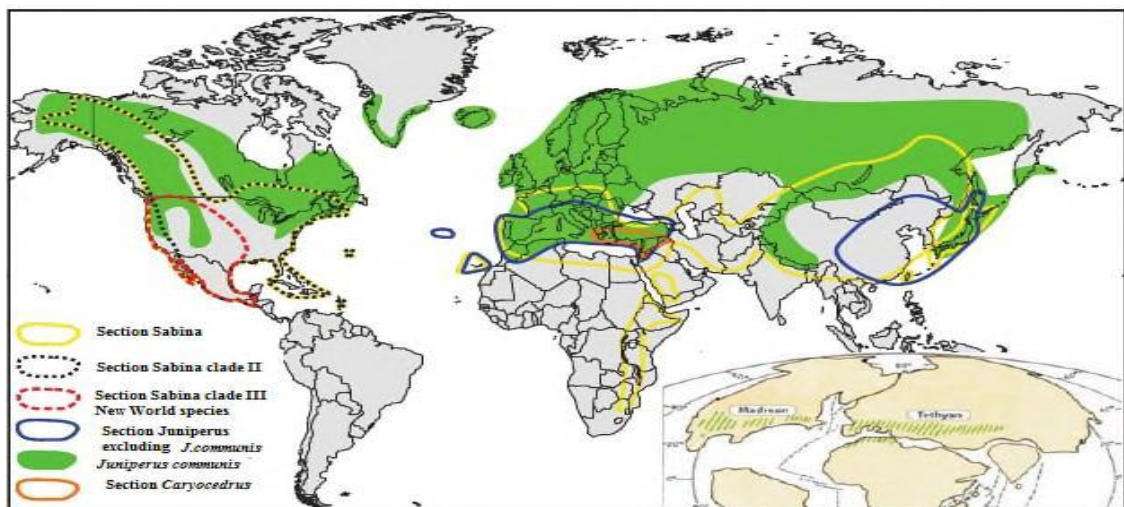


Figure 06: Répartition du genre *Juniperus* dans le monde (Mao *et al.*, 2010) in (Bouadamfarhi, 2013).

#### III.4. Utilisation médicinale

Les utilisations médicinales de cette espèce sont innombrables notamment les douleurs abdominales, les tumeurs, la bronchite et contre la diarrhée, l'indigestion (**Manssouri *et al.*, 2011**)

Les baies et les jeunes pousses, préparées en infusion, ont des effets diurétiques, stomachiques et digestifs. Ils auraient été utilisés contre l'asthme. Plus qu'un traitement des digestions difficiles et des gaz intestinaux, les baies de genièvres sont ajoutées préventivement lors de la préparation de plats un peu lourds afin de faciliter leur digestion. Un usage abusif du genévrier peut provoquer des troubles rénaux ; de ce fait, il ne doit pas être utilisé durant les grossesses. Des empoisonnements de chèvres dus à une consommation trop importante de rameaux de ce genévrier ont été rapportés (**Auger *et al.*, 1982**). Quant aux jeunes pousses de feuilles, elles sont utilisées en gemmothérapie.

# **Partie expérimentale**

# **Chapitre I: Matériel et Méthodes**

Ce travail a été effectué au laboratoire de Biochimie, Faculté de sciences de la nature et de la vie, Université El- chahide Hamma Lakhdar El oued, Algérie. L'objectif de cette étude est de déterminer l'effet d'un extrait végétal sur l'activité des bactéries probiotiques déjà isolées à partir du lait camelin.

## I.1 Matériel

### I.1.1 Matériel végétal

A travers ce travail, L'espèce choisie est une plante médicinale utilisée traditionnellement contre les troubles intestinale à savoir, *Juniperus communis*. Il a été récolté au mois de Novembre 2022, la région de Wanza (Tebessa, Algérie).

### I.1.2. Matériel biologique

#### I.1.2.1. Lait de chamelle

L'échantillon de lait a été aseptiquement prélevé à partir de chamelle (*Camelus dromedarius*) de région **NAKHLA (ELOUED)** au cours du mois de Janvier 2023, qui a 11 ans et elle se nourrit de Son (Bran), Grignons d'olive (fétoura). Les mamelles sont lavées avec l'eau savonneuse puis rinçage à l'eau javellisée. La traite est réalisée après lavage soigné des mains et aseptisation. Le lait (150 ml) a été recueilli dans un flacon en verre de 250 ml stérile contenant le lait placés dans une glacière avec des outres réfrigérées. Afin d'assurer une température de 4°C au cours du transport jusqu'au laboratoire où il est analysé.

#### I.1.2.2. Les bactéries pathogènes

Pour la mise en évidence des activités antimicrobiennes des souches lactiques, Sept (07) bactéries pathogènes ont été utilisées.

**Tableau 06: Souches cibles utilisées et leur origine.**

Souche	Gram	Origine
<i>Enterococcus faecalis</i>	+	Laboratoire El majid
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	+	
<i>Candida albicans</i>	+	
<i>K;kleb: klebsella sp</i>	-	
<i>salmonella sp</i>	-	
<i>staphylococcus aureus</i>	+	
<i>E1;E2: Escherichia coli</i>	-	

### I.1.3. Milieu de culture

- ❖ **Gélose M17 (liquide et solide)** : utilisée pour le dénombrement des lactocoques (particulièrement *Lactococcus lactis*) et de *Lactococcus lactis* dans les produits laitiers (TERZAGHI & SANDINE, 1975)
- ❖ **Milieu Mueller-Hinton** : Détection de la sensibilité aux antibiotiques et aux souches pathogènes.

### I.1.4 Équipements

Autoclave, Four pasteur, Étuve, Frigidaire, Verreries, Bec Benzène, Flacons, Boîtes de Pétri, Écouvillons, Centrifugeuse.

## I.2. Méthode :

### I.2.1 Séchage et Broyage

Les parties aériennes sont immédiatement rincées à l'eau pour éliminer la poussière et les impuretés. Ensuite, elles sont séchées à l'air libre à l'abri de la lumière pour réduire l'humidité. Elles séchées sont initialement pilonnées, puis finement broyées dans un broyeur électrique. Ce broyage permet d'obtenir une poudre fine et homogène, et le broyat obtenu est stocké à température ambiante dans une boîte en verre, dans un endroit sec et à l'abri de l'humidité et de la lumière jusqu'à son utilisation.

### I.2.2 Extraction

L'extraction est effectuée selon les méthodes **Diouf et al., (2009); Tuhin et al., (2016)**, avec quelques modifications . 10 g de l'échantillon ont été mis en contact avec 200 ml d'eau distillée dans un erlenmeyer en verre à température ambiante pendant 24h. et aussi pour l'extrait hydroéthanolique : 10 g des matériels végétaux ont été extrait avec 200 ml 80% (éthanol : eau =80:20) dans un erlenmeyer en verre à température ambiante température pendant 24h .La fiole Erlenmeyer était entièrement recouverte d'une feuille d'aluminium pour prévenir la dégradation des molécules photosensibles. Cette macération est répétée 3 fois avec renouvellement du solvant. L'extrait aqueux est récupéré après filtration à l'aide d'un filtre N°01 papier, l'eau distillée est éliminé du filtrat par évaporation sous pression réduite dans un rota-vapeur puis étuve pendant au moins 48 heures à température ne dépassant pas 40°C, et conservé jusqu'à utilisation.

### I.2.3 Rendement d'extraction

Le pourcentage de rendement a été calculé par la formule suivante (**Muniyandi et al., 2019**).

$$\text{Rendement (\%)} = (M1 / M0) \times 100$$

M1 : Masse en gramme de l'extrait sec résultant

M0 : Masse en gramme du matériel végétal à traiter

### I.2.4 Caractérisation phytochimique

#### I.2.4.1 Tests phytochimiques

##### a. Polyphénol

Leur détection consiste à introduire 2ml de chaque extrait dans un tube à essai, puis 02 goutte de FeCl<sub>3</sub> à 2%. L'apparition de coloration bleu-noirâtre ou vert ou noir foncée fut le signe de la présence de polyphénol (**Yap et al., 2009**).

##### b. Tanins

La réaction avec le trichlorure de fer (FeCl<sub>3</sub>) a permis de caractériser les tanins. Un volume de 5 ml d'extrait a analysé 1 ml d'une solution de FeCl<sub>3</sub> à 1%. L'apparition d'une couleur bleu-noirâtre qui révèle l'existence des tanins gallique, ou verte plus ou moins foncée qui indique la présence des tanins catéchiques (**Hadouchi et al., 2016**).

##### c. Alcaloïdes

Dans un tube à essai, introduire 1ml de l'extrait à analyser. Acidifier le milieu par quelques gouttes de réactif de Dragendorff et ajouter 2 ml eau distillées. L'apparition la couleur orange, révèle la présence des alcaloïdes (**Zerrouak et Hadji., 2019**).

##### d. Saponines

Dans un tube à essai, introduire 2 ml de l'extrait à analyser, ajouter 2 ml d'eau distillée chaude, agiter pendant 15 secondes et laisser le mélange au repos pendant 15min. Une hauteur supérieure à 1 cm de mousse indique la présence de saponines (**Harborne., 1998**).

##### e. Flavonoïdes

Dans un tube à essai, on ajoute à 5 ml d'extrait a analysé 5mld'ammoniac dilué et 1ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. L'apparition d'une coloration jaune prouve la présence des flavonoïdes (**Karumi et al., 2004**).

#### f. Terpénoïdes

À 5 ml de chaque extrait, on ajoute 2 ml de chloroforme et 3 ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrée. La présence des terpénoïdes est révélée par l'apparition de deux phases et une couleur marron en interphase (**Kablan et al., 2008**).

#### j. Quinones libres

Quelques gouttes d'hydroxyde de sodium (1% NaOH) sont ajoutées à 5 ml d'extrait. L'apparition d'une couleur jaune, rouge ou violette indique la présence de quinones libres (**Oloyede, 2005**).

#### h. Sucres réducteurs

1 ml de liqueur de Fehling est ajouté à 5 ml de chaque extrait et les tubes contenant les mélanges sont chauffés au bain-marie à 40°C. Un test positif est indiqué par l'apparition d'une couleur rouge brique (**Traese et Evans, 1987**).

### I.2.4.2 Dosage des composés phénoliques

#### a. Polyphénols totaux

La teneur en phénols totaux des extraits a été déterminée spectrophotométriquement par la méthode de Folin-Ciocalteu. Ce dosage est fondé sur la quantification de la concentration totale de groupements hydroxyles présents dans l'extrait. Le réactif de Folin-Ciocalteu consiste en une solution jaune acide contenant un complexe polymérique d'ions (hétéropolyacides). En milieu alcalin, le réactif de Folin-Ciocalteu oxyde les phénols en ions phénolates et réduit partiellement ses hétéropolyacides d'où la formation d'un complexe bleu (**Yakhlaf et al., 2011**).

Selon le protocole décrit par **Bougandoura et al., (2013)**. Une quantité de 200µl de l'extrait est mélangée avec 1ml du réactif de Folin-Ciocalteu fraîchement préparé (10 fois dilué) et 0.8ml de carbonate de sodium à 7.5% (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>). L'ensemble est incubé à température ambiante pendant 30 minutes et la lecture est effectuée contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre à 765nm. Les concentrations des polyphénols ont été déduites à partir de la gamme de la courbe d'étalonnage linéaire établie avec l'acide gallique. Les résultats sont exprimés en milligrammes équivalent d'acide gallique par g d'extrait sec (mg EAG/g ES).

#### b. Flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes dans les extraits est basé sur la formation d'un complexe entre Al<sup>3+</sup> et les flavonoïdes. La méthode de **Boudjouref et al., (2018)** est basée sur l'oxydation des flavonoïdes le réactif trichlorure d'aluminium, entraînant la formation du flavonoïde-stable complexe d'aluminium de couleur jaunâtre, détectable dans le visible à 430 nm.

Une prise de 1 ml de chaque échantillon (préparé dans le méthanol ou dans l'eau distillée) a été ajoutée à 1 ml de la solution d' $\text{AlCl}_3$  (2 % dans le méthanol). Après 10 minutes d'incubation, l'absorbance a été lue au spectrophotomètre à 430 nm. Les résultats sont exprimés en mg équivalent quercétine / g de matière végétale sèche en référence à la courbe d'étalonnage de la quercétine.

## I.2.5 Isolement et identification des bactéries lactiques

### I.2.5.1. Isolement de la flore lactique

Les échantillons des laits sont répartis en tube stériles à raison de 10 ml par tube. Des dilutions décimales ( $10^{-1}$  et  $10^{-2}$  et  $10^{-3}$ ) du lait sont réalisées dans l'eau physiologique à partir de 1 ml de la suspension mère. 1 ml de chaque dilution est ensemencé dans la masse de la gélose M17 puis les boîtes sont incubées à 37 °C et 45°C dans l'étuve (**Guedda et Benkhelifa, 2017**)

Après isolement des colonies d'aspects morphologiques différents (taille, couleur, surface, profondeur...) sont repiquées sur milieu M17, incubées à 30 ou 45°C afin de s'assurer de la pureté des cultures. La purification des souches sur milieu gélosé se fait par la méthode de stries suivi d'une observation microscopique (**Lairini et al., 2011**).

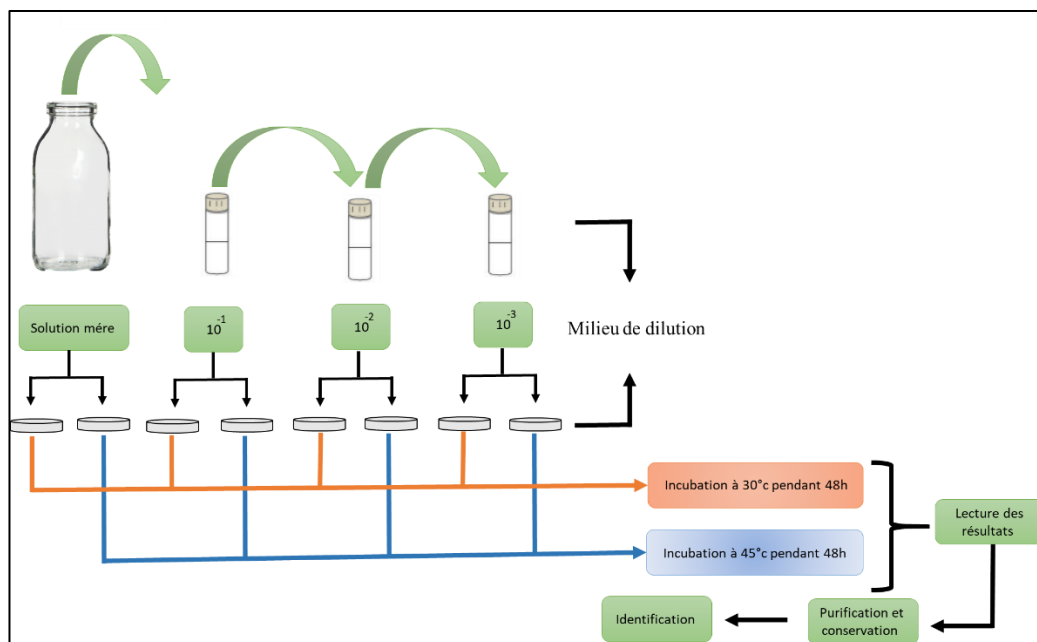


Figure 07: Protocole d'isolement des souches lactiques

### I.2.5.2 Conservation des souches

La conservation colonies isolées, purifiés est réalisée par ensemencement sur la surface milieu de culture M17, incubé à une température 30°C pendant 18 heures, les tubes sont

conservés à une température de 4°C, Des repiquages successifs sont réalisés toutes les trois semaines (Daouadji et Djelloul, 2021).

### I.2.5.3 Pré-Identification des souches bactériennes

#### a. Examen macroscopique

L'examen macroscopique est porté sur l'observation macroscopique qui permet de décrire l'aspect des colonies (la forme, la taille, pigmentation, contour et la viscosité)

(Cherrad et Tazegouaret, 2020).

#### b. Examen microscopique

L'observation microscopique au grossissement (Gx100) a permis de classer les bactéries selon la coloration de Gram, leur morphologie cellulaire, leur mode d'association (Joffin et Leyral, 1996).

#### Technique

❖ La première étape de la coloration consiste à réaliser une suspension en eau physiologique à partir d'une culture jeune (sur un milieu solide) et prélever un aliquote de suspension à l'anse de platine ou à la pipette stérile puis on étale sur 1 à 2cm par un mouvement circulaire en partant du centre de la lame.

❖ La seconde étape nécessite le séchage et la fixation par la chaleur (pour tuer les bactéries, fixer leur structure cytotologique et les faire adhérer à la lame).

❖ La troisième étape nécessite quelques gouttes de violet de gentiane sur un frotti fixé pendant 1 min, après rinçage on ajoute de Lugol (solution aqueuse d'iode et d'iodure de potassium) pendant 30 secondes.

❖ La quatrième étape à savoir le bain d'alcool 90° (ne va traverser que la paroi de certaines bactéries « les Gram négatives » et décolorer leur cytoplasme), puis on rince avec de l'eau distillé

❖ Enfin quelques gouttes de Fuchsine sont versées sur la lame qu'on laisse agir 1 min, la lame est lavée à l'eau physiologique, après séchage on passe à l'observation microscopique

❖ Observez avec une goutte d'huile à immersion objectif 100 (grossissement ×100). (Gasmî et Khadri, 2020).

#### c. Tests physiologiques et biochimiques

##### ➤ Test de catalase

La catalase est une enzyme catalysant la décomposition de peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène selon la réaction suivante :



Cette enzyme est produite par plusieurs microorganismes et utilisée pour l'identification des bactéries. Une colonie isolée est prélevée de la gélose et déposée dans une goutte d'eau oxygénée sur une lame de verre propre. L'apparition de bulles d'air indique une réponse positive. Les bactéries retenues sont celles dépourvues de catalase (**Bouguerra, 2012**).

➤ **Croissance en présence de différentes concentrations de NaCl**

La croissance en présence de différentes concentrations de chlorure de sodium (NaCl) fournit des informations précieuses pour l'identification. Les cultures à tester ont été inoculées sur des bouillons nutritifs à 2%, 4% et 6.5% de NaCl pour SM 45C°, 10<sup>-1</sup> 45C° et 2%, 4% et 6.5% de NaCl pour 10<sup>-1</sup> 30C°, 10<sup>-2</sup> 30C° et 10<sup>-3</sup> 30C°. Après incubation à 30°C pendant 24 à 72 heures, la croissance de ces bactéries se manifeste par une nébulosité du milieu (**Salhi et Souaker, 2020**)

- **Test des températures**

Il est effectué par ensemencement d'une culture pure et jeune (18 heures) de deux séries de bouillon M17. La première série est incubée à 10°C pendant 7 jours et la seconde à 45°C pendant 24 à 48 heures. Ensuite nous calculons les colonies existant (**Latreche, 2016**)

- **Galerie API 10S**

Pour quelques tests biochimiques en utilise la galerie API 10S, La galerie API 10 S comporte 10 microtubes contenant des substrats déshydratés. Les microtubes sont inoculés avec une suspension bactérienne qui reconstitue les tests. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs. La lecture de ces réactions se fait à l'aide du Tableau de Lecture et l'identification est obtenue en consultant la liste des profils de la notice ou à l'aide d'un logiciel d'identification (**Biomerieux, 2006**).

#### **I.2.5.4 Sélection des souches probiotiques**

##### **a. Tolérance à l'acidité**

La résistance des bactéries aux pH acides a été déterminée selon la méthode décrite par **Bakari et al., (2011)** avec quelques modifications. Elle consiste à:

- Réactiver les souches bactériennes sur un volume de 4ml de bouillon nutritive stérile à 37°C pendant (16 à 18h).
- centrifuger les cultures bactériennes à une vitesse de 2500 pendant 10min puis laver par le tampon PBS
- Recycler la centrifugation de culot à une vitesse de 1000 pendant 5min avec le lavage par le tampon PBS.
- Diviser la quantité de culot en 2 tubes contenant 4ml de bouillon nutritive, ajuster le pH de chaque tube à pH=2, pH=3 par HCL et NaOH.
- Après exposition à pH acide à t=0 et t=3h, des dilutions en cascades jusqu'à 10<sup>-2</sup> ont été réalisées. Ces dilutions sont ensuiteensemencées en masse sur la gélose nutritive et incubées à 37° C pendant 24 à 48 h. Le compte viable a été déterminé à t=0h et après t=3.
- Ensuite, nous comptons le nombre de cellules vivantes (**Boukhalfi, 2020**)

### **Tolérance à la bile**

La capacité des souches à survivre dans des conditions similaires du l'intestin grêle de l'homme (stress intestinal simulé) est l'un des caractères important de sélection des probiotiques (**Ren et al., 2014**)

- Réactiver les souches bactériennes sur un volume de 4ml de bouillon nutritive stérile à 37°C pendant (16 à 18h).
- centrifuger les cultures bactériennes à une vitesse de 2500 pendant 10min puis laver par le tampon PBS
- Recycler la centrifugation de culot à une vitesse de 1000 pendant 5min avec le lavage par le tampon PBS.
- Diviser la quantité de culot en 3 tubes contenant 3ml de bouillon nutritive et différente concentration de la bile (1%, 3%,5%).
- ensuiteensemencées en masse sur la gélose nutritive et incubées à 37° C pendant 24 à 48 h. Le compte viable a été déterminé à t=0h et après t=3h.

### **c. Pouvoir antimicrobien**

Dans cette partie on réalise des interactions entre les souches isolées de lait et sept bactéries pathogènes de références. Les microorganismes utilisés dans notre étude sont mentionnés dans le tableau 05.

Pour réaliser le test d'antagonisme, il faut avoir des pré-cultures des souches lactiques et la pré-culture de la souche indicatrice (pathogène). Á partir des tubes inclinés de gélose M17, nous avonsensemencé chacune des souches lactiques isolées dans un tube à essais contenant 3 ml du bouillon nutritifs. Le tube est incubé à 30 et 45°C pendant 18 heures en anaérobiose.

Alors que la souche indicatrice a été ensemencées dans un tube de cœur serval et incubée à 37°C pendant 18 heures (Daoudi et Khelef, 2018)

Selon la méthode de diffusion en puits de Barefoot et Kaenhammer, 1983, un volume du milieu Mueller-Hinton agar est coulé dans des boîtes de Pétri stériles. Après solidification du milieu, puis des puits de 6 mm de diamètre sont creusés stérilement à l'aide d'un emporte-pièce sur la gélose, les boîtes sont ensemencées en surface par la suspension de la souche pathogène et seront remplis par 60 à 80µl de surnageant filtré et neutralisé, obtenu après centrifugation à 4000 tours / min pendant 15 min d'une culture de la souche lactique (dans le bouillon nutritif).

Les boîtes de Pétri sont mises à une température de +4°C/2h pour permettre la bonne diffusion de la substance antibactérienne. Les boîtes sont incubées à 37°C pendant 24 heures et l'activité antimicrobienne se révèle par l'apparition de zones d'inhibition autour des puits. La suivante illustre les étapes de ce protocole (Daoudi & Khelef, 2018).

Les diamètres des zones d'inhibition apparaissant autour des puits seront mesurés, le résultat est positif si le diamètre de la zone d'inhibition est supérieur de 2mm. La mesure du diamètre d'inhibition  $Z_i$  est effectuée selon la formule suivante :

$$Z_i \text{ en (mm)} = \text{diamètre de la zone d'inhibition obtenue (mm)} - \text{diamètre de puits (6 mm)}$$

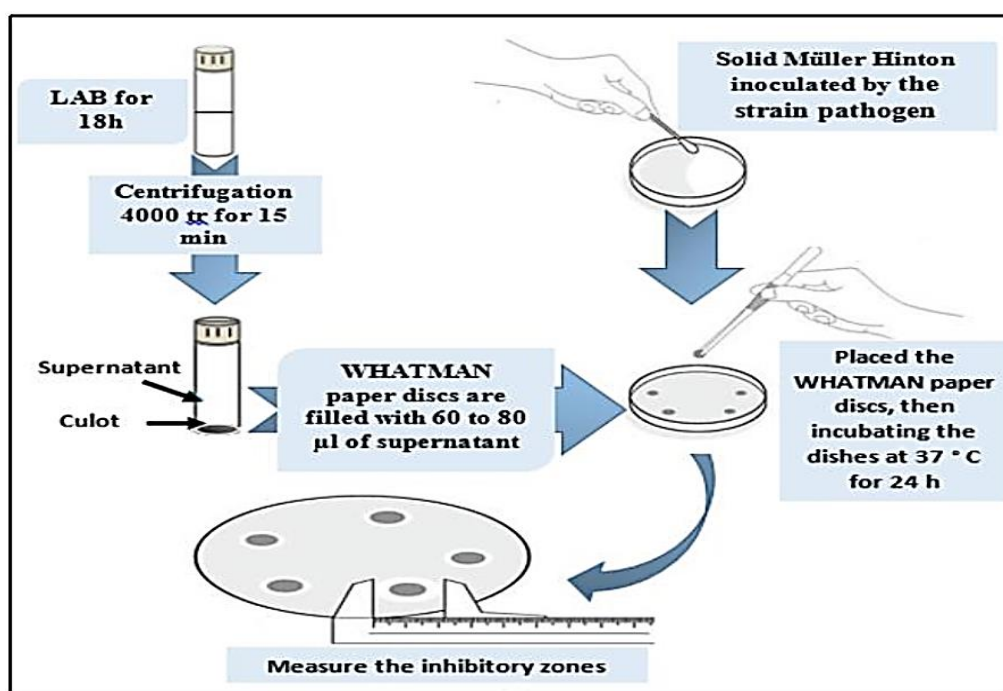


Figure 08 : Schéma de la méthode de diffusion disques-gélose (Salhi et Souaker, 2020)

#### d. Sensibilité aux antibiotiques

La sensibilité ou la résistance des souches présumées probiotiques aux antibiotiques ont été évaluées selon la méthode décrite par **Dealmeida *et al.*, (2015)**. On utilise 08 disques d'antibiotiques.

**Tableau 07: Liste des antibiotiques utilisés pour évaluer la sensibilité des souches probiotiques**

Antibiotiques	Symbole	Charge du disque
Pénicilline G	P	10 IU
Oxacilline	OXA	5 µg
Amoxicilline	AMX	25 µg
Gentamicine	HLG 120	120 µg
Ciproflaxacine	CIP	5 µg

Tout d'abord, les souches lactiques sont cultivées sur le milieu gélose M17 et incubées à 30 °C pendant 24 h. Ensuite, des colonies bactériennes de chaque souche sont transférées dans l'eau physiologique et leur DO sont ajustées à 0,5 Mc Farland. Ces suspensions bactériennes sont inoculées après dans des boîtes contenant la gélose M17 par écouvillonnage, puis les disques d'antibiotiques ont été déposés à la surface (à raison de 4 par boîtes). Après incubation des boîtes à 30 °C pendant 48 h, les zones d'inhibition ont été mesurées en incluant le diamètre du disque d'antibiotique (6 mm) dans la largeur de la zone. (**Bouguerra, 2020**)

#### I.2.5.5 Etude de l'effet de l'extrait sur les probiotique

Nous avons utilisé deux extraits; extrait aqueux et alcoolique de même plante de *Juniper communis* de concentration 2.5 mg/ml, 5 mg/ml et 10 mg/ml pour étude leur effet sur l'activité probiotique de *Lactococcus lactis*.

##### I.2.5.5.1 Pré-culture

On mélange 25 ml de bouillon nutritif avec 1ml de chaque extrait 2.5 mg/ml, 5 mg/ml et 10 mg/ml pour préparation de Pré-culture de *Lactococcus lactis* pour chaque test.

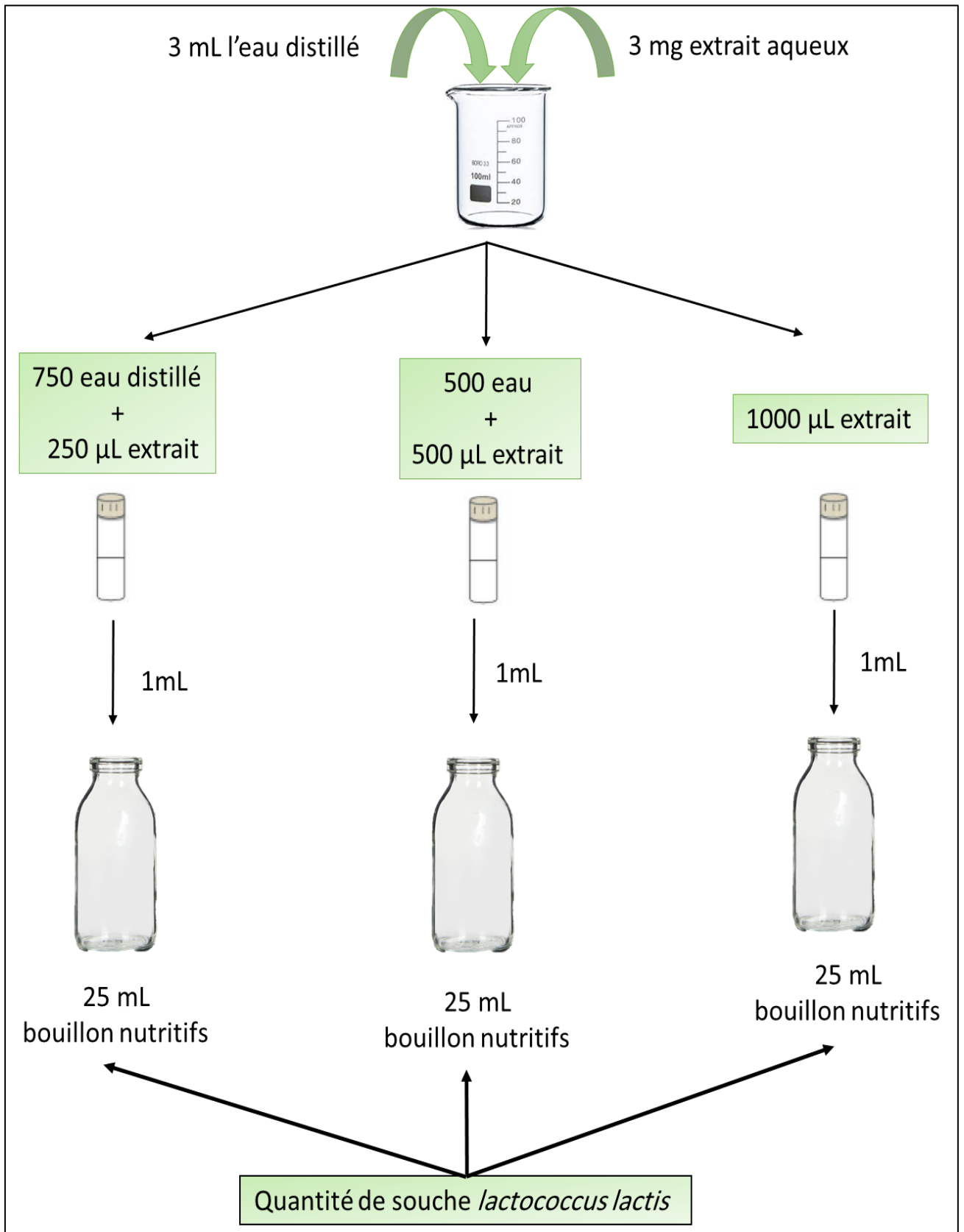


Figure 09 : Procédé de préparation de concentrés d'extraits aqueux

### **I.2.5.5.2 Tests biochimique en présence l'extrait végétal**

On répète ces tests suivants :

#### **I.2.5.5.3 Test d'acidité et test de sel biliaire,**

Le but des deux tests est l'étude le changement qui serait à *Lactococcus lactis* en présence des 2 extraits. *Lactococcus lactis* sont incubées avec les extraits et suivent le protocole précédemment adopté, après la croissance des bactéries est étudiée à différents valeurs de ph (2, 3) et à différents concentration de sel biliaire (1%,3%,5%)

#### **I.2.5.5.4 Test d'antibiotique**

Nous faisons ce test pour voir à quel point les *Lactococcus lactis* sont résistantes aux antibiotiques en présence de 2 extraits de 2.5 mg/ml, 5 mg/ml et 10 mg/ml par utilisation des disques antibiotique. (Tableau 06)

Dans chaque boîte de Pétri, nous ensemençons *Lactococcus lactis* qui ont été incubées dans l'extrait de plante avec bouillon nutritive, ensuite nous mettons les disques et après une incubation de 24 h à 37C°. Nous mesurons le diamètre de la zone d'inhibition.

#### **I.2.5.5.5 Test d'antimicrobienne**

La méthode à utilisation fréquente pour tester l'activité antimicrobienne de *Lactococcus lactis* en présence des concentrations ([2,5], [5],[10]) de extraits végétaux(Aqueux, Alcoolique), il s'agit de la méthode de la diffusion sur disque. L'agent antimicrobien se diffuse dans la gélose et inhibe la germination et la croissance du microorganisme test, puis des mesures de diamètre de la zone d'inhibition doivent être effectuées (**Khafallah & Bouguerba, 2021**).

Les souches pathogènes utilisées (*Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Candida albicans*, *klebsella sp*, *salmonella sp*, *staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*), Dans chaque boîte de Pétri, nous mettons 3 disques de 6 mm imbibés surnagent (extrait + *Lactococcus lactis*).

## **Chapitre II : Résultat et discussion**

## II. Résultat et discussions des extraits

### II.1 Description des extraits bruts

Les extraits obtenus ont des couleurs et des aspects différents.

### II.2 Rendement d'extraction

Les extraits bruts des plantes récupérés après évaporation ont été pesés pour déterminer le poids sec obtenu du *Juniper communis*. Les résultats ont été exprimés en pourcentage.

Les résultats obtenus montrent que l'extrait aqueux représente le rendement le plus élevé (23,93%). Le rendement dépend de plusieurs paramètres tels que les conditions de séchage de la plante, le broyage, la polarité des solvants et la nature des composés à extraire, le temps d'extraction et la qualité de solvant, la méthode et les conditions dans lesquelles l'extraction a été effectuée (**Bourgou, 2016**). La méthode d'extraction affecte également tout le contenu total en phénols et flavonoïdes (**Lee et al., 2003**).

### II.3 Tests phytochimiques

Les tests phytochimique ont permis de détecter les différentes familles de composés existant dans les parties étudiées par des réactions qualitatives de caractérisation. Les résultats obtenus sont regroupés dans le tableau suivant.

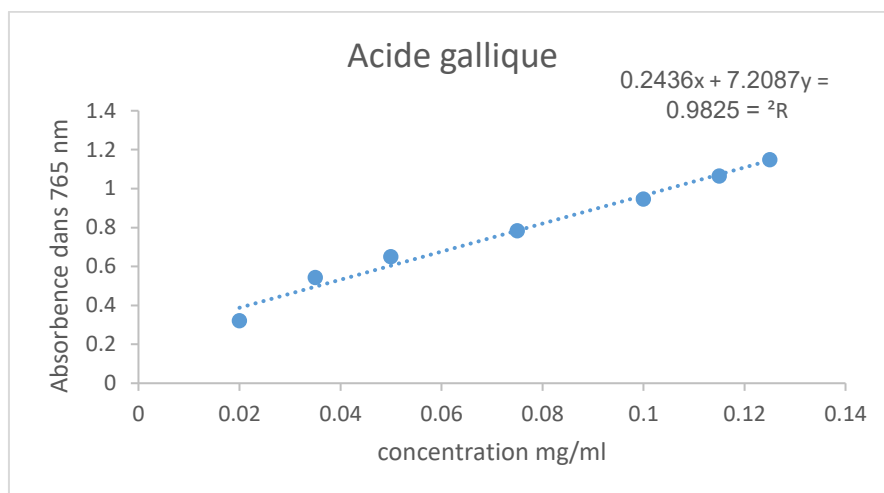
D'après ces résultats, on constate que la plupart des composants présents dans l'extrait aqueux : les polyphénols, tanins, terpénoïdes, et quinones liber en forte quantité par contre les flavonoïdes, les saponines, les sucres réducteurs et les glycosides cardiaques présenté par une faible quantité. De plus, on observe l'absence des alcaloïdes. Dans l'extrait hydro-éthanolique, nous remarquons la présence des polyphénols, tanins, flavonoïdes, alcaloïdes (test Dragendroff), terpénoïdes, quinones liber, des sucres réducteurs et des glycosides cardiaques. Mais il a été observé l'absence des saponines.

**Runeton (1999)**, a étudié les feuille d'olivier qui ont le même but thérapeutique avec *Juniperus communis* et a montré la présence des flavonoïdes, tanins, saponosides, anthraquinones, et l'absence des alcaloïdes dans les feuilles. Les résultats d'extrait hydro-alcoolique sont presque accord avec les résultats obtenu par **Moualkia et Gourmati (2015)** et **Douaouri (2017)**.

## II.4 Dosage des composés phénoliques

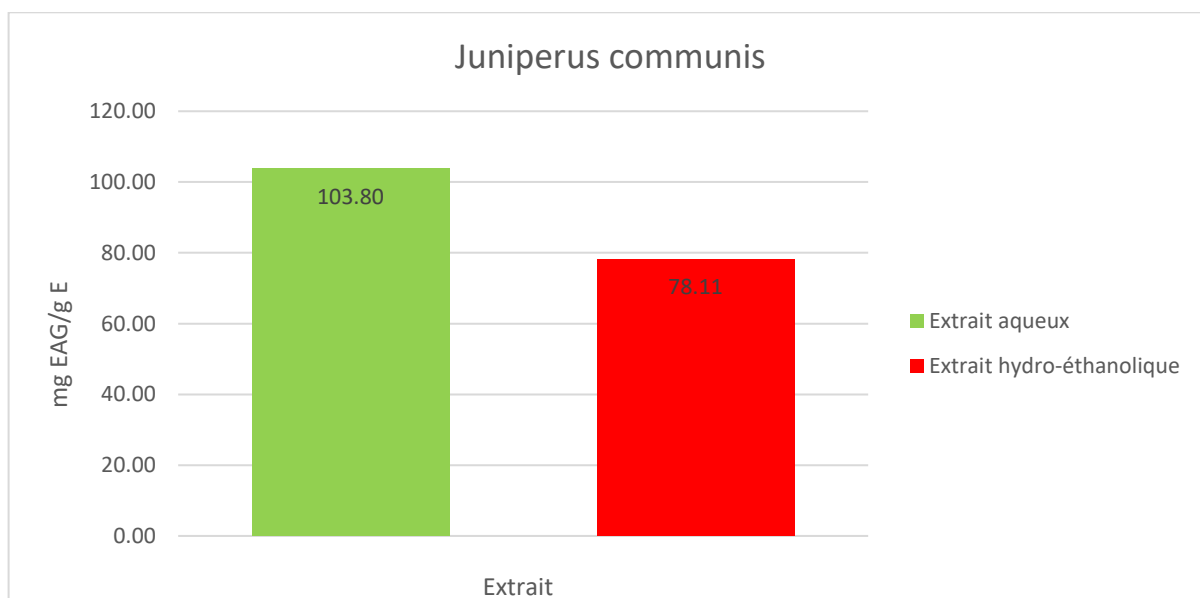
### II.4.1 Teneurs en phénols totaux

La teneur en phénols totaux d'extraits et *Juniperus communis* a été estimée par la méthode de Folin-Ciocalteu à partir d'une gamme d'étalonnage établie avec différentes concentrations d'acide gallique. Les résultats obtenus sont exprimés en milligramme équivalent d'acide gallique par gramme de l'extrait (mg EAG/g E).



**Figure 10 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux**

Les résultats de teneurs en polyphénols totaux de *Juniperus communis* est représenté dans la figure suivante :

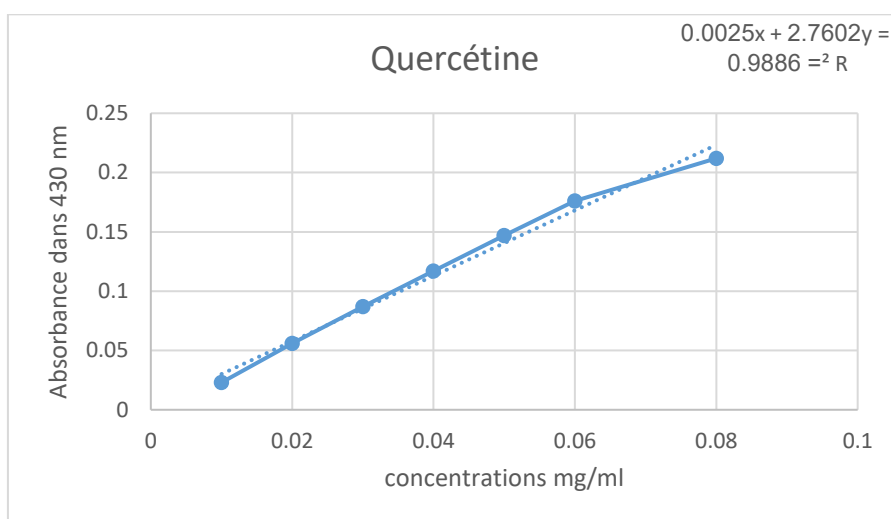


**Figure 11: teneurs en polyphénols totaux dans *Juniperus communis***

D'après les résultats obtenus, on a trouvé que l'extrait aqueux possède la teneur élevée, avec une valeur de 103.80 mg EAG/g E par rapport l'extrait hydroéthanolique (78.11 mg EAG/g E). Nos résultats sont supérieurs aux résultats obtenus par l'étude de **Khaliq *et al.*, (2015)**, dont ils ont travaillé sur l'extrait aqueux de deux autres variétés d'olive (ont le même but thérapeutique avec *Juniperus communis*) et ont trouvés que la teneur en polyphénols était comprise entre 109,6 et 161 mg/g. D'autre étude a été réalisée par **Azir (2017)**, dont la teneur était de (171.40± 6.79 mg EAG/g d'extrait) de l'extrait méthanolique des feuilles d'olive, son résultat été inférieure à nos résultats.

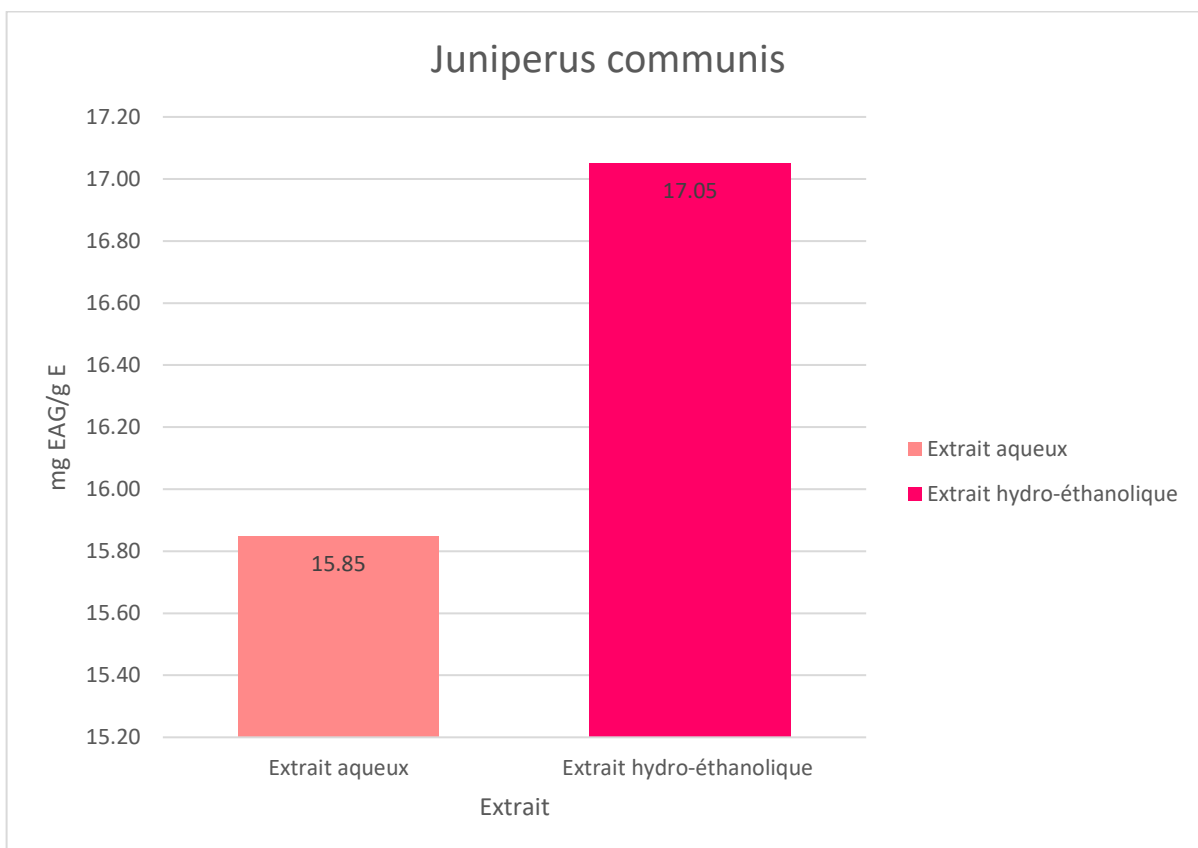
#### II.4.2 Teneurs en flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode de trichlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>). La teneur en flavonoïdes contenus dans les extraits a été calculée à partir d'une courbe d'étalonnage réalisée par la Quercétine à différentes concentrations. Les résultats sont exprimés en mg EQ/g E.



**Figure 12 : Courbe d'étalonnage de la quercétin pour le dosage des flavonoïdes**

Les résultats de teneurs en flavonoïdes de *Juniperus communis* est représenté dans la figure suivante :



**Figure 13: teneurs en flavonoïde totaux dans les *Juniperus communis*.**

A partir de ces résultats, on a remarqué que l'extrait hydroéthanolique est riche en flavonoïdes (17.05 mg EQ/g E), par rapport l'extrait aqueux qui contient une valeur moins de teneur des flavonoïdes (15.85 mg EQ/g E). Les résultats obtenus par **Ouldyerou et al., (2018)** pour l'extrait méthanolique (894,33µg d'EQ/g) sont inférieurs de nos résultats. Un autre résultat obtenu par **Stankovi et al., (2017)** sur l'extrait de méthanol (98%) des feuilles *d'Olea europaea* (ont le même but thérapeutique avec *Juniperus communis*) collectées en différents régions (Tunisie, Malta, Montenegro, France, Serbia) a montré un contenu des flavonoïdes variaient entre 52,40 et 129,39 mg de Ru/g d'extrait.

### II.5 Résultat d'isolement et d'identification des souches bactériennes

À partir de la solution mère de lait la chamelle et la première, deuxième et troisième dilution, nous obtenons après un nombre considéré de colonies, après la coloration de Gram, nous n'en choisissons que quatre. On les symbolise: **SM45°c**, **10<sup>-1</sup>45°c**, **10<sup>-1</sup>37°c**, **10<sup>-2</sup>37°c**, **10<sup>-3</sup>37°c**.

### II.5.1. Aspect macroscopique

Après l'observation macroscopique des cultures sur gélose M17, on remarque que les colonies de petite et grande taille, blanche, crémeuse. Les bactéries apparaissent homogènes, ce qui indique leur pureté, à Gram positif.

### II.5.2 Aspect microscopique

Dans notre recherche, l'observation microscopique a révélé que la forme majoritaire des cellules est la forme cocci ovoïde ou sphérique disposées par paires ou en chaînes.

### II.5.3 Tests biochimiques et physiologiques:

Les critères biochimique et physiologique sont basés sur des tests biochimiques (test de catalase et Api) et physiologiques (test de tolérance de NaCl, température) et qui permettent de mieux répertorier nos souches vers les genres appropriés. Les résultats relatifs au test biochimiques et physiologiques sont représentés dans le tableau suivant :

#### ❖ Test catalase

Dans notre étude, nous avons fait une série de tests biochimiques que nous avons trouvés que Tous les échantillons sont riches des catalase, les bactéries lactiques sont généralement catalase (+) positive , Cela indique que l'apparition de bulles est due à la production bactérienne de l'enzyme catalase, qui agit pour se débarrasser de la toxicité du H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en rompant la liaison (**Mami, 2013**), **Guedda et Ben Khelifa (2017)** ont fait la même expérience sur les bactéries lactique et ont obtenu le même résultat.

#### ❖ Croissance à différentes concentrations de NaCl :

Nous avons observé qu'avec une tolérance au NaCl, observée une bonne croissance à différentes concentrations 2%,4% et 6.5%, cela est conforme avec l'étude de **Hadj et al., (2013)**.

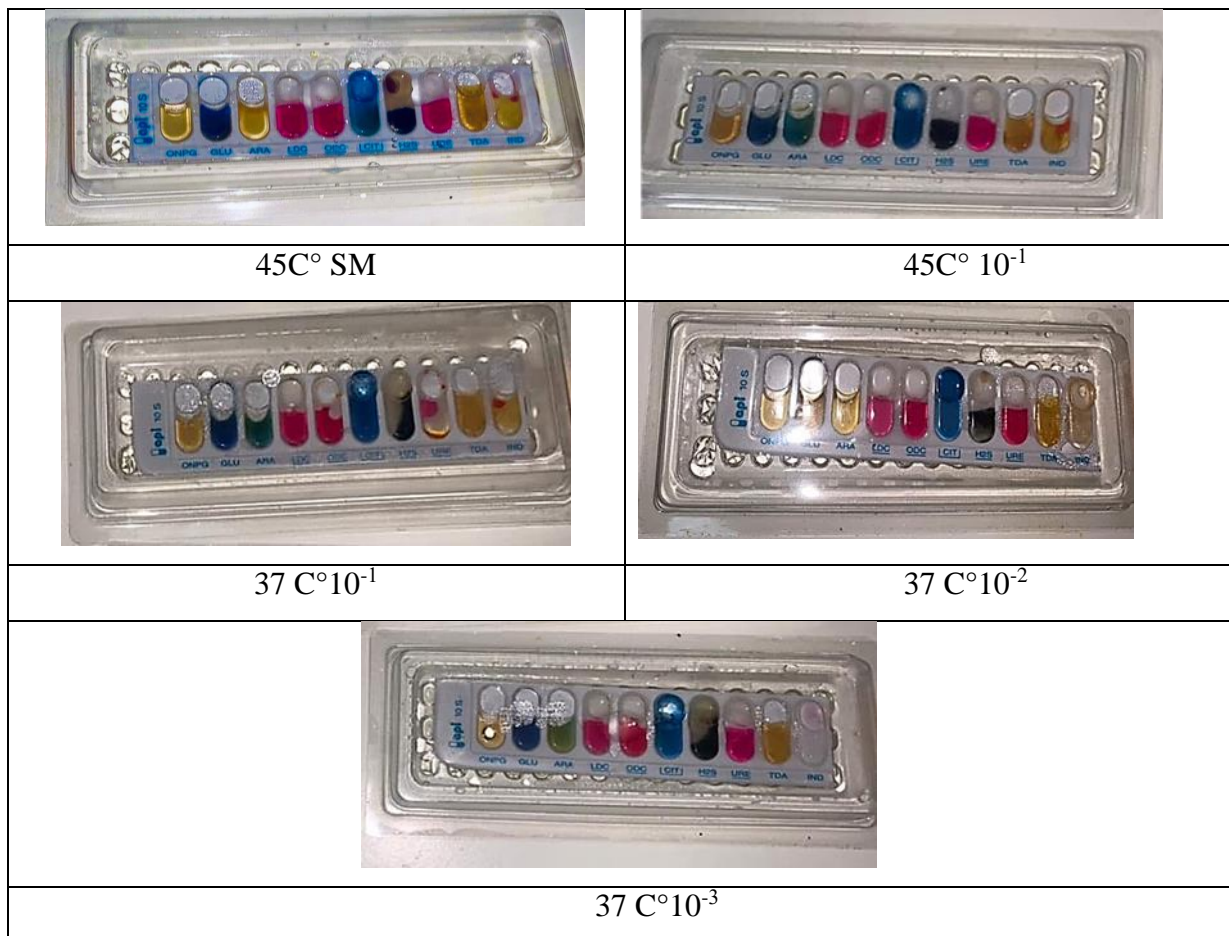
#### ❖ Croissance à différentes Températures

La température est un facteur limitant la croissance des microorganismes, les résultats de la croissance des souches bactéries lactiques à des différentes températures d'incubation présentent une similitude de croissance de différent souche à la température d'incubation de 10 °C, on remarque une augmentation significative de la croissance pour la plupart des souches en température 45 °C.

Donc, cela indique que la bactérie lactique sont capables de se reproduire a des températures élevées, cela est confirmé par l'étude de SALHI et al.,2020 selon laquelle certains souches croissent en 10 ° C et d'autres ont une meilleure croissance 45 °C.

#### ❖ Test de API 10 s (Analytical Profile Index)

Ce sont les résultats que nous avons obtenus par les galeries Api 10S ayant pour objectif de déterminer le genre et l'espèce de notre groupe, les résultats de ces tests sont résumés dans le tableau et de cette figure.



**Figure 14 : Test de API 10 s**

Après ces tests, nous avons conclu que nos souches peuvent appartenir aux espèces suivantes :

- ✓ **SM45°c:** *Streptococcus thermophiles*
- ✓ **10-145°c:** *Streptococcus thermophiles*
- ✓ **10-137°c:** *Lactococcus lactis.*
- ✓ **10-237°c:** *Lactococcus lactis.*
- ✓ **10-337°c:** *Lactobacillus acidophilus*

## II.5.4 Sélection des bactéries probiotiques

### II.5.4.1 Tolérance à l'acidité

Le critère essentiel dans la sélection d'un microorganisme à potentiel probiotique est sa capacité d'atteindre, de survivre dans le tractus digestif et notamment aux pH acides et aux sels biliaires (**Kusharyati et al., 2020**).

Incubé dans pH 2 à l'inverse dans pH 3 la croissance augmente et atteint la plus grande valeur. La croissance de *Streptococcus thermophilus* est augmentée dans toutes les valeurs de pH après l'incubation et la valeur la plus élevée en pH 3 après l'incubation.

**Linh et al., (2017)** qui ont testé la tolérance de certaines souches probiotiques aux sucs gastriques intestinaux artificiels ; ils ont constaté une diminution avec pH2 comparativement au pH 3.

### II.5.4.2 Tolérance au sel biliaire

Il est admis que pour que la majorité des probiotiques puissent avoir des rôles bénéfiques sur la santé humaine, il faut qu'ils gardent une certaine viabilité lors de la transition intestinale. De ce fait, les probiotiques doivent pouvoir passer sans dommage irréversibles la barrière acide de l'estomac, puis, l'effet inhibiteur éventuel des sels biliaires. Ainsi, la capacité de survie des probiotiques dans l'hôte après leur ingestion, dépend de leur résistance intrinsèque, des facteurs de l'hôte et du véhicule par lequel ils ont été ingérés, Le flux biliaire assure un rôle physiologique très important puisque facilitant la digestion des composés lipophiles provenant de l'alimentation. C'est également un agent antimicrobien influençant l'établissement du microbiote intestinal. La tolérance à la bile est un critère déterminant de sélection des bactéries probiotique, permettant ainsi la survie pendant le passage à travers le tractus gastrointestinal et la colonisation de l'environnement intestinal (**MARTEAU et SHAMAHON, 2003**)

Selon nos résultats mentionnés dans le tableau (II.7), il s'avère que toutes les souches ont une tolérance aux sels biliaires, aussi bien dans 1% , 3% et 5%, et la plupart ont montré une amélioration du taux de survie des sels biliaires à 5 % , en comparant nos résultats avec l'étude de **NORIEGEA et bactéries lactiques ont été al ., (2004)** , qui a confirmé par ses études que plusieurs souches de bactéries adaptées de façon stable aux sels biliaires, à travers une adaptation progressive après une croissance dans des extraits de sels biliaires en concentration croissante, nos résultats sont cohérents avec cela, comme nous l'avons observé

lors de l'augmentation de concentration des sels biliaires d'autre part , le taux de croissance des bactéries a augmenté dans la plupart des souches.

### II.5.4.3 Sensibilité aux antibiotiques

Dans cette étude les bactéries lactiques à potentielles probiotiques provenant du lait de chamelle cru ont été analysées pour leurs sensibilité aux différents antibiotiques, en utilisant la méthode de diffusion des disques d'antibiotiques sur boit de gélose (**Kharchi et Lemchouchi, 2021**)

**Tableau 08 : Résultats de test d'antibiotique. (I: intermédiaire, S: sensible, R: résistante)**

<b>Souches isolées</b> <b>Antibiotiques</b>	<i>Streptococcus thermophilus</i>	<i>Lactococcus lactis</i>
<b>GEN 10</b>	S (12mm)	S (15mm)
<b>AX 10</b>	S (24mm)	R (6mm)
<b>CIP 5</b>	S (18mm)	S (24mm)
<b>OX10</b>	R (6mm)	R (6mm)
<b>P10</b>	R (6mm)	R (6mm)

Nous notons à travers le tableau que les bactéries sont très résistantes à l'oxacilline, et à la pénicilline. *Lactococcus lactis*, *Streptococcus thermophilus* sont sensible vers Gentamicine et à la Ciproflaxacone

Dans le cas où *Lactococcus lactis* est très résistant à l'amoxicilline, et *Streptococcus thermophilus* est sensible à l'amoxicilline

Plusieurs études ont montré la résistance naturelle d'une gamme importante de bactéries lactique aux antibiotiques (**Botes et al., 2008**).

Les travaux de **Temmerman et al., (2003)** ont montré que 68,4 des probiotiques isolés ont une résistance à un antibiotique ou plus (**Rakhis et Lagdal, 2016**).

Dans la plupart des cas, la résistance n'est pas transmissible, cependant il est possible que le plasmide codant pour la résistance aux antibiotiques soit transféré à d'autres espèces et genres. C'est une raison importante pour choisir les souches manquantes de transfert potentiel de résistance (**Samedi et Charles, 2019**). C'est-à-dire les gènes de résistance aux antibiotiques doivent être stables et ne doivent pas être transférés aux agents pathogènes de l'intestin grêle, car cela aurait un effet catastrophique sur la santé humaine (**Matib et al., 2020**).

Grace aux résultats des toutes les tests que nous avons obtenues, nous avons été amenés à choisir la meilleure souche *Lactococcus lactis* parce que cela a montré les meilleures propriétés probiotique.

#### II.5.4.4 Pouvoir antimicrobiennes

On réalise des interactions entre les souches isolées de lait et sept bactéries pathogènes de référence.

Des puits de 6 mm de diamètre sont creusés stérilement sur la gélose Muller-Henton, les boites sontensemencées en surface par la suspension de la souche pathogène et seront remplis par 60 à 80µl de surnageant filtré et neutralisé et les boites sont incubées à 37°C pendant 24 heures. Aucun résultat positif a été enregistré: absence des zones inhibitions

**Tableau 09: Pouvoir antibactérienne des souches lactique**

Souches Pathogènes	souches lactiques	
	<i>Lactococcus lactis</i>	<i>Streptococcus thermophilus</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	0	0
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	0	0
<i>Candida albicans</i>	0	0
<i>klebsella sp</i>	0	0
<i>salmonella sp</i>	0	0
<i>staphylococcus aureus</i>	0	0
<i>Escherichia coli</i>	0	0

#### II.6 Etude de l'effet des extraits végétaux sur *Lactococcus lactis*

Après avoir choisi la bactérie *Lactococcus lactis*, nous effectuons les tests de résistance à sel biliaire et résistance à pH et test antibactérienne et test antibiogramme en présence de 2 extraits de plantes : extrait alcoolique et aqueux de *Juniperus communis.*, pour étudier leur impact sur l'amélioration des propriétés probiotiques de la souches choisie.

##### II.6.1 Résistance à la bile

Ce test nous permet de savoir à quel point *Lactococcus lactis* sont résistantes au sel biliaire en présence deux extraits végétaux. Nous comparons la croissance de *Lactococcus lactis* en présence de chaque extrait avec la croissance avant utilisation l'extrait.

**Avant l'incubation:**

- En présence de différentes concentrations de l'extrait aqueux [2,5], [5], [10] nous avons trouvé que a atteint la valeur la plus élevée de la croissance à [5], [10] à des concentrations 1% et 5% de sel biliaire
- Au contraire, plus la concentration de l'extrait alcoolique est élevée, plus la croissance dans toutes les concentrations de sels biliaries est faible

**Après L'incubation:**

- La croissance en présence de différentes concentrations l'extrait aqueux augmente dans toutes les concentrations de sel biliaire.
- la croissance en présence de différentes concentrations l'extrait alcoolique [2,5], [5], [10] diminution dans toutes les concentrations de sel biliaire.
- En fin de compte, nos résultats montrent qu'extrait aqueux et alcoolique avaient de nombre plus élevés dans le nombre croissant de colonies par rapport avec la croissance avant utilisation l'extrait, et mais , l'extrait aqueux a donné un taux de croissance des colonies plus élevé que l'extrait alcoolique

**II.6.2 La tolérance au pH**

Nous avons testé la capacité de *Lactococcus lactis* à se développer à différents valeurs de pH en présence deux extraits, et comparé à leur croissance avant utilisation deux extraits, nous montre à quel point ce plante sont efficaces et leur contribution à l'amélioration de la capacité probiotique.

Nous avons analysé les résultats et noté que:

- Dans l'ensemble, le nombre de croissances de colonies augmente après incubation dans les deux extraits.
- Plus le pH est élevé, plus le nombre de colonies est élevé.

**II.6.3 Test antibiotique**

Les résultats de ce test sont présenté dans les histogrammes et le tableau montre les diamètres obtenus avec chaque antibiotique et chaque extrait. Après l'application des recommandations du comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologies (2007) (**Mami, 2013**). R: résistante <17mm ; I: intermédiaire 18mm-20mm

Nous notons que :

- En présence extrait aqueux et alcoolique de *Juniperus communis* la bactérie *Lactococcus lactis* est résisté à Oxacilline et Amoxicilline et Pénicilline mais sensible à Ciproflaxacine et Gentamicine
- Les 2 extrait aqueux et alcoolique favorisent la résistance aux antibiotiques, ceci est susceptible d'augmenter le nombre des bactéries plus en présence *Juniperus communis*. **Ait Said et Hameg (2019)** ont étudié deux plantes différentes (d'écorce de grenade et feuille d'olivier) qui ont le même but thérapeutique et ont constaté que l'effet de l'extrait d'écorce de grenade (prébiotique) sur la des bifidobactéries et résultats révèlent que le nombre de colonies des bifidobactéries bactéries est plus important en présence du gel d'extrait d'écorce de grenade. Cela démontre que le gel d'extrait d'écorce de grenade stimule la croissance des bifidobactéries. **Haddadin (2010)** montré que les extraits de feuille d'olivier pourraient bien jouer un rôle bénéfique dans la promotion des bactéries probiotique.

#### II.6.4 Pouvoir antimicrobiennes

Les bactéries pathogènes n'ont pas été affectées par le substrat d'extrait de plante de *Juniper communis* ou par d'autres bactéries, ce qui indique deux possibilités :

- ✓ Il n'y a pas d'activité de les extraits de plante avec des antimicrobiens
- ✓ Les souches pathogènes utilisées ont une grande résistance

On confirme nos résultats avec le test antibiogramme pour ces bactéries pathogènes. Ces résultat montrent que les bactéries pathogènes sont plus ou moins résistantes aux antibiotiques. Cela ne signifie pas qu'ils sont 100% sensibles aux autres extrait, mais généralement, les souches pathogènes ont une forte activité de résistance.

**Tableau 10:** Pouvoir antibactérienne des souches lactique avec extrait

souches pathogènes	souches lactiques	
	Aqueux de <i>Juniperus communis</i>	Alcoolique de <i>Juniperus communis</i>
Enterococcus faecalis	0	0
Staphylococcus haemolyticus	0	0
Candida albicans	0	0
K;kleb: klebsella sp	0	0
salmonella sp	0	0
staphylococcus aureus	0	0
E1;E2: Escherichia coli	0	0

## **Conclusion générale**

### Conclusion générale

La nature est une source de richesses inestimables pour l'homme car elle lui permet de subvenir à ses besoins alimentaires mais aussi de se soigner.

De nos jours, un grand nombre de plantes aromatiques et médicinales possèdent des propriétés biologiques très importantes qui trouvent de nombreuses applications dans divers domaines à savoir en médecine (médecine traditionnelle), pharmacie, cosmétologie et l'agriculture. Ce regain d'intérêt vient du fait que les plantes médicinales sont un réservoir de composé naturels aux effets bénéfiques, c'est-à-dire riche en substances bioactives.

Ce travail avait pour objectif d'étude l'effet d'un extrait (extrait aqueux et alcoolique) végétal de juniper communis sur les bactéries probiotique.

Nos investigations phytochimiques ont porté sur deux extraits : aqueux, et hydroéthanolique des parties *Juniperus communis*. Il consiste à quantifier les métabolites secondaires dans les extraits afin d'élargir et approfondir la connaissance phytochimique de cette plante pour des études biologiques.

Le criblage phytochimique qualitative a mis en évidence la présence des polyphénols , tanins, flavonoïdes, Terpénoïdes, Quinones liber, les sucres réducteurs, Glycosides cardiaques, dans le plante et les deux extraits. Mais Les alcaloïdes, saponines, leurs présences dans de extrait et absence dans l'autre extrait

L'analyse quantitative de extrait dè le plante *Juniperus communisa* révéle que l'extrait aqueux riche en polyphénols que l'extrait hydro-alcoolique (103,80 mg EAG/ g E).

L'extrait hydroéthanolique contient une quantité importante de flavonoïdes (17,05 mg EQ/ g E),

Enfin, dans ce travail on a évalué l'effet de ces extraits sur l'activité de la bactérie *Lactococcus lactis*. probiotiques Les souches bactériennes sont isolées à partir du lait de chamelle. Il est riche en les bactéries (*Lactococcus lactis*, *Pediococcus acidilactici*, *Streptococcus thermophilus*) qui ont un rôle dans la préservation du système digestive. L'identification et sélection des probiotiques à partir des tests physico-chimique et test galerie Api 10s.

Les probiotique sont résister différents valeurs de ph, sel biliaire et résistent les antibiotiques. Les résultats de cette étude ont montré que les *Juniperus communis*. qui

## Conclusion générale

---

contient une quantité notable de polyphénols, flavonoïdes, et de tanins peuvent jouer un rôle majeur dans l'activité de la bactérie probiotique (*Lactococcus lactis*) surtout en particulier dans l'inhibition des bactéries pathogènes.

A partir de quelle nous confirmons qu'il a un effet positif sur le système digestif

### • Perspective

Les probiotiques et les prébiotiques sont encore à un stade précoce d'utilisation et surtout à l'échelle industrielle, suite aux résultats de notre étude il serait intéressant de réaliser les points suivants :

- Etude l'effet de *Juniperus communis* sur les probiotique in vivo.
- Etude l'effet de polyphénol à les enzymes des bactéries lactique.
- Etude la valeur nutritionnelle de l'ajoute le polyphénol sur le lait et ses dérivés.

## **Références**

## Références

- **ABDOUN K., AMIN A., ABDELATIF A. 2007.** Milk composition of dromedary camels (*Camelus dromedarius*): nutritional effects and correlation to corresponding blood parameters. *Pak J Biol Sci.*10 (16):2724-7.
- **Adams R . P. 2004.**juniperus of the world: the genus juniperus .Trafford publishing co., Vancouver, 494p.
- **Ait Said, C & Hameg, M. (2021).** L'effet de l'ajout de l'extrait d'écorce de grenade (prébiotique) sur la viabilité des bifidobactéries (probiotiques) dans le yaourt. mémoire de mastère en agro-alimentaire et contrôle de qualité. Université Mouloud Mammeri, Tizi-Ouzou. Pp: 02
- **AL HAJ O.A., AL KANHAL H.A. 2010.** Compositional, technological and nutritional aspects of dromedary camel milk – review. *International Dairy Journal* 3x.1-11.
- **AMIOT J., FOURNER S., LEBEUF Y., PAQUIN P., SIMPSON R et TURGEON H. 2002.** Composition, propriétés physicochimiques, valeur nutritive, qualité technologique et techniques d'analyse du lait. In VIGNOLA C.L, Science et technologie du lait – Transformation du lait, Ecole polytechnique de Montréal, ISBN:3-25-29 (600 pages).
- **ATTIA H., KHEROUATOU N et NASRI M. 2003.** A study of the dromedary milk casein micollo and its changes during acidification. *Brazilian Journal of Food Technology*: 6. 237-244.
- **Auger, J. Laporte-Cru,1982** Flore du domaine atlantique du Sud-ouest de la France et des régions des plaines, CNDP, 516 p. (ISBN 2 86617 225 6), p. 48
- **Azir, H . (2017).** Evaluation de l'activité antioxydant des extraits des feuilles d'olea europaea sativa (olivier). thèse de magister, Université Mohammed khider, PP 5 -30
- **BAKARI et al., (2011)** ,Contribution à l'étude de l'effet des extraits d'Olea europea
- **Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D. and Idaomar M. 2008.** Biological effects Of essential oils. A review. *Food and Chemical Toxicology*, 46: 446-475.
- **Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D. and Idaomar M. 2008.** Biological effects Of essential oils. A review. *Food and Chemical Toxicology*, 46: 446-475
- **Beausoleil,M., N. Fortier, et al. (2007).** "Effect of a fermented milk combining *Lactobacillus acidophilus* C11285 and *Lactobacillus casei* in the prevention of antibiotic-associated diarrhea: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial." *Canadian Journal*

- **Belhamra, Z. (2017).** Croissance et survie des probiotiques en présence des édulcorants et des additifs alimentaires, thèse de doctorat. Université Ferhat Abbas Sétif 1 Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, 147p
- **Bellakhdar J. (1997).** La Pharmacopie Marocaine Traditionnelle. Ibis Press, Paris, 272.
- **BEN HAMADOUCHE Yasmine et NESNAS Assia (14 juillet 2019).** Extraction et caractérisation des extraits coagulants issus de caillettes de dromadaires adultes et non sevrés UNIVERSITE MOULOUDMAMMERIDETIZIOUZOU
- **Benjamin CARMONA 29 janvier 2016** LES PROBIOTIQUES (BACTERIES ET LEVURES) : OU EN EST-ON AUJOURD’HUI ? UNIVERSITE DE MONTPELLIER UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques p(1).
- **Bermudez-Brito, M., Plaza-Díaz, J., Muñoz-Quezada, S., Gómez-Llorente, C., & Gil, A. (2012).** Probiotic mechanisms of action. *Annals of Nutrition and Metabolism*, 61(2), 160-174.
- **BHAVBHUTI M., JAYDEEP YOGANANDI., MEHTA, K.N. WADHWANI., V.B. DARJI et K.D. APARNATHI. 2014.** Comparison of physico-chemical properties of camel milk with cow milk and buffalo milk. *Journal of Camel Practice and Research*. 21 (2), p 253-258.
- **BIOMERIEUX, 2006,**Contribution à l'étude de l'effet des extraits d'Olea europea
- **Borne Yeasts on Human Health. Nutrients. 2010;**2(4):449-473.
- **BOTES,2008,**Contribution à l'étude de l'effet des extraits d'Olea europea
- **Bottacini F, Ventura M, van Sinderen D, O’Connell Motherway.2014** Diversity, ecology and intestinal function of bifidobacteria. *Microbial Cell Factories*. ;13(1):1-15.
- **BOUBEZARI M.T., (2010).** Contribution a l'étude des caractéristiques physicochimiques et mycologiques du lait chez quelques races bovines, ovines et caprines dans quelques élevages de la région de Jijel, Mémoire de magister ,université Mentouri, faculté des sciences , Constantine, Algérie
- **Boudjouref M, Belhattab R, Bouteghrine S,2018** Antioxidant activity and phenolic content of *Artemisia campestris* from two regions of Algeria. *World J Environ Biosci.*; 7(2): 61 66.)
- **Bougandoura, N., & Bendimerad, N. (2013).** Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha* sp. *Nepeta (L.) Briq. Nature & Technology*, (9), 14.

- **BOUGUERRA, 2020**, Contribution à l'étude de l'effet des extraits d'Olea europea
- **Bouguerra, A. (2021)**. Evaluation du potentiel probiotique des souches lactiques isolées à partir du lait de chamelle. Thèse doctorat Microbiologie. Université Ferhat Abbas, Sétif 1. Pp: 01
- **Bouguerra, A.(2012)**. Caractérisation des bactéries lactiques du lait de chamelle. Thème Magister en microbiologie. Université Ferhat Abbas -SETIF.
- **Boukhalfi, F.(2020)**. Contribution à l'évaluation de quelques caractères probiotiques et technologique de Bifidobactéries isolées à partir des selles de nourissons et lait maternel.Mémoire de Master en Microbiologie appliquée. Université Mohamed Khider de Biskra.
- **Boukhalfi, F.(2020)**. Contribution à l'évaluation de quelques caractères probiotiques et technologique de Bifidobactéries isolées à partir des selles de nourissons et lait maternel.Mémoire de Master en Microbiologie appliquée. Université Mohamed Khider de Biskra.
- **Boumelta, A & Benfridja, N. (2021)**. Survie et activité antioxydante de souches probiotiques dans un système simulé au tube digestif. Mémoire mastère en microbiologie appliquée. Université Mohammed Seddik Ben Yahia, Jijel. Pp: 01
- **Bourgou, S., Serairi, B.R., Medini, F. & Ksouri, R. (2016)**. Effet du solvant et de la méthode d'extraction sur la teneur en composés phénoliques et les potentialités antioxydantes d'Euphorbiahelioscopia. Journal of new sciences 32. Pp : 1649-1655
- **Callen G., 1976** : Les conifères cultivés en Europe. Vol.01.Ed.Baillière.423p.
- **CARDELLINO, R., ROSATI, A and MOSCOM, C.2004**. Current status of genetic resources, recording and production systems in Africa, Asia and America camelids FAO/CAR seminar on camelids. Sousse, Tunisia: Food and Agriculture Organization of the United Nations and International Committee for Animal Recording.
- **Cherrad, Z. & Tazegouaret, I.(2020)**. Isolement, identification et diversité génétique par les marqueurs moléculaires des bactéries lactiques qui présentent l'activité protéolytique isolées du lait de Chèvre.Mémoire de Master en Microbiologie appliquée. Université Larbi Ben M'hidi Oum el-Bouaghi.
- **CHETHOUNA F. 2011**. Etude des caractéristiques physico-chimiques, biochimiques et la qualité microbiologique du lait camelin pasteurisé, en comparaison avec le lait camelin cru. Thèse de Magister en Sciences Biologiques Université Kasdi Merbah Ouargla.
- **Coudeyras, S & Forestien, C. (2010)**. Microbiote et probiotiques : impact en santé humaine. Canadien Journal of Microbiology, 56(8) 611-650

- **Daoudi, A., Hrouk, H., Belaidi, R., Slimani, I., Ibjibijen, J., Nassiri, L. (2016)** Valorisation de *Ruta montana* et *Ruta chalepensis*: Etude ethnobotanique, Screening phytochimique et pouvoir antibactérien . *J Mater Environ Sci.* 7 (3): 926-935.
- **DEALMEIDA & al., (2015)**, Contribution à l'étude de l'effet des extraits d'*Olea europea*
- **Debazac.E., 1991.** Manuel des conifères 2ème Edition. P252.
- **Diouf, P.N., Stevanovic, T. & Boutin, Y. (2009).** The effect of extraction process on polyphenol content, triterpene composition and bioactivity of yellow birch (*Betula alleghaniensis Britton*) extracts. *Industrial Crops and Products*, 30(2), 297-303
- **Djelloul.Daouadji,S.(2021).** Isolement et identification des bactéries antagonistes vis-à-vis des souches pathogènes multirésistantes. These en Microbiologie Moléculaire et Protéomics. Université Djillali Liabes de SIDI BEL ABBE
- **Douaouri, N.H. (2018).** Contribution à une étude phyto thérapeutique, anti inflammatoire et antioxydante du grenadier (*Punica granatum L.*) – Etude in vivo, thèse doctorat, Université Abdelhamid ibn Badis de Mostaganem. Pp: 40-41.
- **DOUFFI Anissa& AMROUNE Youssra 20 Juin 2021** *Artemisia herba-alba* et *Juniperus communis*: Phytochimie et Pharmacologie (Synthèse théorique) Université Mohamed Boudiaf, M'Sila
- eaux. Thèse magister. Univ. Kasdi MERBAH.Ouargla.pp:
- Ecole Supérieure de Technologie de Fès, Maroc.- B.P : 2427, Fès, Maroc.
- **EL IMAM ABDALLA A. 2012.** Composition and Anti-Hypoglycemic Effect of Camel Milk. In Proceedings of the 3 rd Conference of the International Society of Camelid Research.
- **EL-HATMI H., LEVIEUX A. and LEVIEUX D. 2006.** Camel (*Camelus dromedarius*) immunoglobulin G,  $\alpha$ - lactalbumin, serum albumin and lactoferrin in colostrum and milk during the early post partum period. *J. Dairy Res.*, 73, 1-6.
- **ELLOUZE S et KAMOUN M. 1989.** Evolution de la composition du lait de dromadaire en fonction du stade de lactation. *Options Méd.*, 6, 307-323.
- **Enescu, C. M., Houston Durrant, T., Caudullo, G., de Rigo, D., (2016).** *Juniperus communis* in Europe: distribution, habitat, usage and threats. *European Atlas of Forest Tree Species.*
- **FAO/OMS (2001).** Health and Nutritional Properties of Probiotics in Food including Powder Milk with Live Lactic Acid Bacteria. Food and Agriculture Organization of the

- United Nations and World Health Organization (Organisation Mondiale pour la Santé OMS) .Working Group Report. Cordoba, Argentina.
- **FARAH. Z.1993.** Composition and characteristics of camel milk. . Journal of Dairy Research,60: 603-626.
  - **Faure, S., Pubert, C., Rabiller, J., Taillez, J., & Yvain, A. L. (2013).** Que savons-nous des probiotiques?. Actualités Pharmaceutiques, 52(528), 18-21.
  - **FAYE B. 1997.** Guide de l'élevage du dromadaire. CIRAD-EMVT, Montpellier, première édition, 126 p.
  - **Fijan S.2014** Microorganisms with Claimed Probiotic Properties: An Overview of Recent Literature. International Journal of Environmental Research and Public Health.;11(5):4745-4767.
  - **Garcia, D., Zamora, A., Goâmez, J., Jordano, P et Hoâdar, J., (2000).** Géographical variation in seed production. Predation and abordation in *Juniperus communis*throughout its range in Europe. Journal of Ecology 2000.88. pp 436-446.
  - **GASMI & KHADRI, 2020,**Contribution à l'étude de l'effet des extraits d'Olea europea
  - **Guedda, Z. Ben khelifa ,(2017).** L'activité antimicrobienne des bactéries lactiques isolées à partir de différents types de lait. Mémoire de Master en biochimie. Université Echahid Hamma Lakhdar-ELOUAD ..
  - **Güney, D., & Güngörmüşler, M. (2021).** Development and Comparative Evaluation of a Novel Fermented Juice Mixture with Probiotic Strains of Lactic Acid Bacteria and Bifidobacteria. Probiotics and Antimicrobial Proteins, 13(2), 495-505.
  - **Haddadin, M. S. Y. (2010).** Effect of olive leaf extracts on the growth and metabolism of two probiotic bacteria of intestinal origin. Pakistan Journal of Nutrition, 9(8), 787793. <https://doi.org/10.3923/pjn.2010.787.793>
  - **Hadji W ., 2013:** Valorisation des huiles essentielles :cas de l'utilisation de l'huile dans les
  - **Hadouchie, J., T.M., Halla, N., (2016).** Screening phytochimique, activités antioxydantes et pouvoir hémolytique de quatre plantes sahariennes d'Algérie. Phytothérapie, 1-9.
  - **Harborne, A. J. (1998).** Phytochemical methods a guide to modern techniques of plant analysis. springer science & business media
  - **Haroune, N & Ouatmani, S. (2016).** Les Probiotiques et les prébiotiques. Mémoire de mastère en sciences alimentaires. Université Abderrahmane Mira, Bejaia. Pp: 01
  - **Huys G, Botteldoorn N, Delvigne F, Vuyst L, Heyndrickx M, Pot B,2013** et al. Microbial characterization of probiotics–Advisory report of the Working Group « 8651

- Probiotics » of the Belgian Superior Health Council (SHC). *Molecular Nutrition and Food Research*.;57(8):1479-1504.
- isolées à partir du lait camelin, Université Echahid Hamma Lakhdar- EL OUED
  - **Joffin, J.N. & Leyral, G.(1996)**. Microbiologie technique. Centre Régional de Documentation Pédagogique d'Aquitaine Bordeaux, France. 219-223.
  - *Juniperus communis* Source: <http://fr.wikipedia.org/w/index.php?oldid=85224137> Contributeurs: Abalg, Abrahami, Bloody-libu, Bob08, Callisto, Chtalafin, David Berardan, Dfeldmann, Ediacara, Fabienkhan, GL, HenkvD, Herr Satz, Jacqhal, Jean.claude, Jeantosti, Jeffdelonge, Karl1263, L. Ocelli, Liné1, Lmaltier, MPF-UK, Nataraja, Nipisiquit, Pixeltoo, R, Riba, Roby, Romanc19s, Rosier, Spedona, Thierry Caro, Tooony, VonTasha, Zubro, 9 modifications anonymes
  - **Kablan B.J., Adiko M., Abroguia D.P. (2008)**. Evaluation in vitro de l'activité antimicrobienne de *Kalanchoe crenata* et de *Manotes longiflora* utilisées dans les ophtamies en cote d'Ivoire. *Pharmacognosie*. 6 :282-288.
  - **Karumi, Y; Onyeyili, P.A; Ogugb uaja, V.O. (2004)**. Identification of active principales of balsamina (*Balsam apple*) leaf extract. *J. Med. Scien*. 4: 179-182.
  - **Khaliq, A., Sabir, S. M., Ahmad, S. D., Boligon, A. A., Athayde, M. L., Jabbar A., Qamar., & Khan, A. (2015)**. Antioxidant activities and phenolic composition of Olive (*Olea europaea*) leaves. *Journal of Applied Botany and Food Quality* 88:pp. 16 – 21
  - **Kim, J., Muhammad, N., Jhun, B. H., & Yoo, J. W. (2016)**. Probiotic delivery systems: a brief overview. *Journal of Pharmaceutical Investigation*, 46(4), 377-386.
  - **Klaenhammer T. R (1998)**. "Functional activities of *Lactobacillus* probiotics: genetic mandate." *International Dairy Journal*.8(5-6): 497-5
  - **KONUSPAYEVA G., LOISEAU G., FAYE B., 2004**. La plus-value « santé » du lait de chamelle cru et fermenté : l'expérience du Kazakhstan. *Renc. Rech. Rumin.*, 11 : 47-50.
  - **Kusharyati, D.F., Pramono, H., Ryandini, D., Manshur, T.A., Dewi, M.A., Khatimah, K., & Rovik, A. (2020)**. Bifidobacterium from infant stool: the diversity and potential screening. *Biodiversitas*, 21(6), 2506-2513.
  - *L. et Punica granatum L.* sur les bactéries probiotiques
  - **Latreche, B.(2016)**. Caractérisation des bactéries lactiques isolées du beurre cru, évaluation de leurs aptitudes technologiques et leur utilisation dans la fabrication de la crème sure. Mémoire de Magister en Sciences Alimentaires. Université Des Freres Mentouri Constantine.

- **Lee, K. W., Kim, Y. J., Lee, H. J., & Lee, C. Y. (2003).** Cocoa has more phenolic phytochemicals and a higher antioxidant capacity than teas and redwine. *Journal of agricultural and food chemistry*, 51(25): P: 7292-7295.
- **LEMCHOUNCHI Fatima Zahra, KHARCHI Manel**20-Jun-2021University mouhamed khider of Biskra Repository
- **LINH,2017,**Contribution à l'étude de l'effet des extraits d'Olea europea
- **Linnaeus, C. (1758).** *Systema Naturae per regna tria naturae, secundum classes, ordines, genera, species, cum characteribus, differentiis, synonymis, locis.* Editio decima, reformata [10th revised edition], vol. 1: 824 pp. Laurentius Salvius: Holmiae.
- **Madsen, K., A. Cornish, P. Soper, C. McKaigney, H. Jijon, C. Yachimec, J. Doyle, L. Jewell, and C. De Simone (2001).** Probiotic bacteria enhance murine and human intestinal
- **Maire R. (1952).** Flore de l'Afrique du Nord. Encyclopédie biologique. Volume 01. Ed. Paul Lechevalier, Paris : 366.
- **Mal, G., Pathak, K.M.L. (2010).** Camel milk and milk products. *Smv's dairy year book*, 7: 97-103.
- **MAMI,2013,**Contribution à l'étude de l'effet des extraits d'Olea europea
- **Mansouri, N ., Satrani, B., Ghanmi, M. , El Ghadraoui, L., Guedira, A et Aafi, A., (2011).** Composition chimique, activité antimicrobienne et antioxydante de l'huile essentielle de *Juniperus communis* du maroc. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*, Vol. 80, 2011, p. 791 – 805.
- **MATHIEU J. 1998.** *Initiation à la Physico-Chimie du Lait.* Tec. Doc., 1ère Ed., Lavoisier, Paris.
- **Matib, L et al.(2020).** Propriétés probiotiques des bactéries lactiques du lait maternel et de la flore intestinale des nourrissons. Mémoire de Master. Microbiologie Appliquée. Universitaire Mohammed El-seddik-Djijel.
- **Matsuzaki T. and Chin J(2000).** "Modulating immune responses with probiotic bacteria."*Immunology and cell biology.*78(1): 67-73.
- **Mattarelli P, Holzapfel W, Franz CMAP, Endo A, Felis GE, Hammes W,2014 et al.** Recommended minimal standards for description of new taxa of the genera *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* and related genera. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 64(4):1434-1451.
- **Mazari, K., Bendimerad, N., Bekhechi, C., Fernandez, X. (2010)** Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils isolated from Algerian *Juniperus phoenicea* L. and *Cupressus sempervirens* L. *J Med Plant Res*. 4(10): 959-964

- **McFarland L.2007** Meta-analysis of probiotics for the prevention of traveler's diarrhea. *Travel Medicine and Infectious Disease*. 5(2):97-105.
- **Moslehi-Jenabian S, Pedersen L, Jespersen L.** Beneficial Effects of Probiotic and Food
- **Moslehi-Jenabian S, Pedersen L, Jespersen L.2010** .Beneficial Effects of Probiotic and Food Borne Yeasts on Human Health. *Nutrients*.;2(4):449-473
- **Moualkia, H & Gourmati, M .(2015).** Détermination de substances naturelles a potentialités antioxydante et anti- inflammatoire de plantes *Punica granatum L* et *Lawsonia inermis*. mémoire de mastère en Biologie et Physiologie Végétale . Université des frères Mentouri, Constantine. pp: 86-106
- **Mr. Amar OULAD BELKHIR (2018)** Thèse doctorale, Universite Kasdi Merbah - Ouargla (Algérie) Faculte des Sciences de la Nature et de la Vie Departement des Sciences Agronomiques; 137p
- **Muniyandi, K., George, E., Sathyanarayanan, S., George, B. P., Abrahamse, H., Thamburaj, S., &Thangaraj, P. (2019).** Phenolics, tannins, flavonoids and anthocyanins contents influenced antioxidant and anticancer activities of *Rubus* fruits from Western Ghats, India. *Food Science and HumanWellness*, 8(1), 73-81.
- **Mureşan, A., Sârbu, I., Pelinescu, D., Ionescu, R., Csutak, O., Stoica, I., &VassuDimov, T. (2017).** In vitro selection of some lactic acid bacteria strains with probiotic potential. *Romanian Biotechnological Letters*, 23(4) ,1-14
- **Nagpal R., A. Kumar et al. (2012).** "Probiotics, their health benefits and applications for developing healthier foods: a review." *FEMS microbiology letters*.334(1): 1-15.
- **Nagpal R., H. Yadav et al. (2007).** "Potential of probiotics and prebiotics for symbiotic functional dairy foods: an overview." *International Journal of Probiotics and Prebiotics*. 2(2/3): 75.
- **Naïmi, S. (2014).** Isolement , caractérisation et étude in vitro de l ' activité anti-inflammatoire de différentes souches probiotiques
- **Oloyede OI., (2005).** Chemical profile of Unripe Pulp of *Carica papaya*. *Pak J Nutr*; 4. P379-381.
- **Ould Ahmed, M. (2009).** Caractérisation de la population des dromadaires en Tunisie (*Camelus dromedarius*). Thèse de doctorat, Institut national agronomique de Tunisie, Tunisie.

- **Ouldyeou k., Righi S., Meddah B., Tir touil A. , Bouhadi D., H. A. (2018).** Eude phytochimique et activité antioxydante de quelques plantes antidiabétique au niveau de la wilaya de mascara. *Journal of Advanced Research in Science and Technology*, 5(1), 670679.
- **Ouwehand AC, Salminen S, Isolauri E (2002).** Probiotics: an overview of beneficial effects. *Ant. Van. Leeuw.* 82: 279–289.
- **Park, W.Y., Haenlein, G. F. W. (2006).** Handbook of milk of non-bovine mammals. Blackwell Publishing, USA.
- **Patterson (2008).** Probiotiques : bien faits au- delà des fonctions nutritionnelles de base .AAFC.1-4.
- Phytothérapie: 10-18
- **Piquepaille, C. (2013).** Place des probiotiques dans le traitement de diverses pathologies intestinales. Thèse pour le diplôme docteur en pharmacie. Université de Limoges. Pp: 14
- **Quezel P. et Gast M. (2011).** Genévrier. *Encyclopédie Berbère*, Vol. 20 : 3016-3023.
- **Rakhis, S. Ladjal, H.(2016).** Etude de quelques propriétés probiotiques des quelques souches *Lactobacillus* isolées de lait chamelle et de chèvre. Mémoire de master. Nutrition et Santé. UNIVERSITE ABDEL HAMID IBN BADIS-Mostaganem.
- **Rameau J-C. (2008).** Flore forestière française, Vol. 03, Paris : 2421.
- **Raphaëlle, M.-S. (2015).** les probiotiques. Thèse de doctorat . Université de lille 2, faculté des sciences pharmaceutiques, p109.
- **Ren, D. & al., (2014).** In vitro evaluation of the probiotic and functional potential of *Lactobacillus* strains isolated from fermented food and human intestine. *Anaerobe*, Volume 30, pp. 1-10.
- **Riou-Nivert, P., (2001).** Les résinéux. Connaissance et reconnaissance. Tome I. 2 édition. 256p.
- **Rossoni, R.D., de Camargo Ribeiro, F., de Barros, P.P., Mylonakis, E., Junqueira, J.C. (2020).** A Prerequisite for Health: Probiotics. *Microbiomics*, 225–244.
- **S.LAIRINI & al., 2011,** Valorisation de l'extrait aqueux de l'écorce de fruit de *Punica granatum* par l'étude de ses activités antimicrobienne et antioxydante (Enhancement of the aqueous extract of the bark of *Punica granatum* fruit through the study of its antimicrobial and antioxidant activities) Equipe Bioindustie et Technologie Alimentaire. Laboratoire

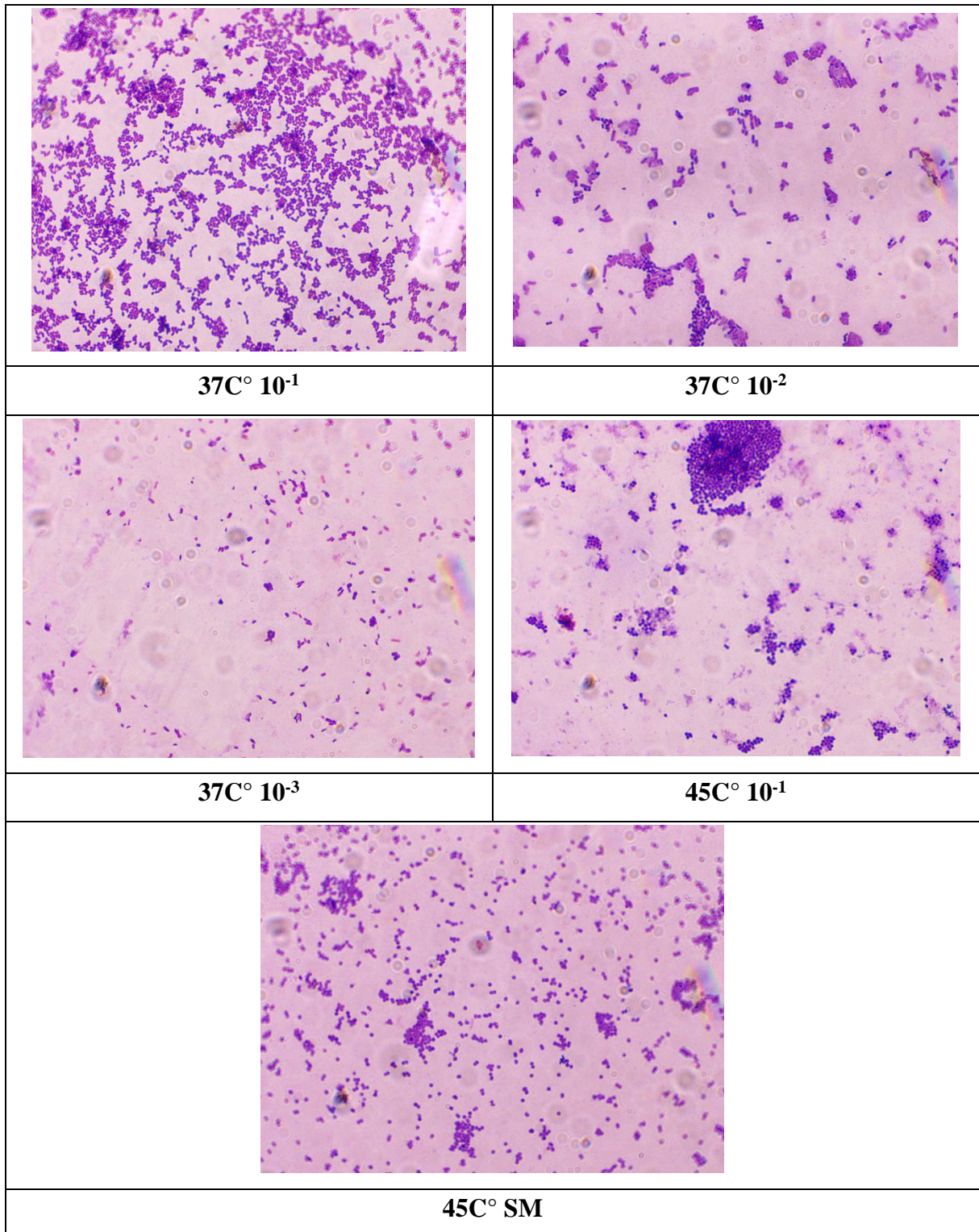
- Agroalimentaire et Sécurité Sanitaire des Aliments (LASSA). Université Sidi Mohammed Ben Abdallah
- **Salhi, H. & Souaker, A.(2020)**. Isolation of lactic acid bacteria strains via goat and camel raw milk and evaluation of their probiotic effects.Mémoire de Maste en Biochimie Appliquée. Universite Echahid Hamma Lakhdar-ELOUAD .
  - **SALHI.H et .SOUAKER .A.2020**, Isolation of lactic acid bacteria strains viagoat and camel raw milk and evaluation of their probiotic effects, El-chahid Hamma Lakhdar, El-OUED ,memoir master
  - **Salminen S, von Wright A, Morelli L, Marteau P, Brassart D, de Vos WM, Fonden R, Saxelin M, Collins K, Mogensen G, Birkeland SE, Mattila-Sandholm T (1998)**. Demonstration of safety of probiotics - A review. *Int. J.*
  - **Salminen, S. J., M. Gueimonde, et al. (2005)**. "Probiotics that modify disease risk." *The Journal of nutrition*.135(5): 1294-1298.
  - **Sanders ME (2000)**. Considerations for use of probiotic bacteria to modulate human health. *J. Nutr.* 130(Suppl): 384-390.
  - **SBOUI A., KHORCHANI T., DJEGHAM M. et BELHADJ O. 2009**. Omparaison de la composition physicochimique du lait camelin et bovin du Sud tunisien; variation du pH et de l'acidité à différentes températures ; Afrique *SCIENCE* 05(2), 293 – 304.
  - **Schultz M., A. Timmer et al. (2004)**."Lactobacillus GG in inducing and maintaining remission of Crohn's disease." *BMC gastroenterology*.4 (1): 5.
  - **Seigue A., (1985)**. La foret circum méditerranéenne et ses problèmes. Ed. Neuve et Larose, Paris : 503.
  - **Shewale, R. N., Sawale, P. D., Khedkar, C. D., & Singh, A. (2014)**. Selection criteria for probiotics: A review. *International Journal of Probiotics and Prebiotics*, 9 (1–2), 1722.
  - **Siboukeur, O. 2007**. Etude du lait camelin collecté localement : caractéristiques physico-chimiques et microbiologiques ; aptitudes à la coagulation. thèse de doctorat en Sciences Agronomiques université INA ELHarrach-Alger.95p.
  - **Spacova, I., Dodiya, H. B., Happel, A.-U., Strain, C., Vandenheuvel, D., Wang, X., & Reid, G. (2020)**. Future of probiotics and prebiotics and the implications for early career researchers. *Frontiers in Microbiology*, 11, 1400
  - **Stanković, M., Ćurčić, S., Zlatić, N., & Bojović, B. (2017)**. Ecological variability of the phenolic compounds of *Olea europaea* L. leaves from natural habitats and cultivated

- conditions. *Biotechnology and Biotechnological Equipment*, 31(3), 499–504.  
<https://doi.org/10.1080/13102818.2016.1275804>
- **Stassi., Havala., Loukis A., Philanoss. and Verykakidou., 1996**-The antimicrobial activity of the essential oils of four *Juniperus* species growing wild in Greece. *Flavour and fragrance*. Vol 11. pp:71-74.
  - **Steensels J, Snoek T, Meersman E, Nicolino M, Voordeckers K, Verstrepen K. 2014** Improving industrial yeast strains: exploiting natural and artificial diversity. *Fems Microbiology Reviews*;38(5):947-995.
  - **Temmerman R., Pot B., Huys G and Swings J (2003)**. Identification and antibiotic susceptibility of bacterial isolates from probiotic products. *Int. J. Food Microbiol.* 81 :1-10
  - **TERZAGHI & SANDINE, (1975)** ,Contribution à l'étude de l'effet des extraits d'*Olea europea*
  - **Trabut, L. (1935)**. Répertoire des noms indigènes des plantes spontanées, cultivées et utilisées dans le nord de l'Afrique, Alger, La Typolitho et J. Carbonel. P 356.
  - **Trease E et Evans W.C., (1987)**. *Pharmacognosy Billiaire*. Ed. Tindall London. 13: P 61-62.
  - **Tuck, K.L. & P.J. Hayball. (2002)**. Major phenolic compounds in olive oil: Metabolism and health effects. *J. Nutr. Biochem.*, 13: 636-644.
  - **Tuhin K. B., Nandini P., Srikanta P., Shrabana C., Saheli B., Tapan S., (2016)**. Evaluation of *Cynodon dactylon* for wound healing activity. *Journal of Ethnopharmacology*, vol. 197, p. 128-137
  - **Turroni F, Duranti S, Bottacini F, Guglielmetti S, Van Sinderen D, Ventura M. 2014** *Bifidobacterium bifidum* as an example of a specialized human gut commensal. *Frontiers in Microbiology.*;5(417):1-8.
  - **Vasiljevic T, Shah NP (2008)**. Probiotics—From Metchnikoff to bioactives. *Int. Dairy. J.* 18: 714–728.
  - **WANGO J., FARAH Z. and PUHAN Z. 1998**. Composition of Milk from 3 Camels (*Camelus dromedarius*) Breeds in Kenya during Lactation. *Milchwissenschaft*, 53, 136-139.
  - **WGO: World Gastroenterology Organisation. (2008)**. Probiotiques et prébiotiques. Recommandation pratique.
  - **Wollowski, I., G. Rechkemmer, et al. (2001)**. "Protective role of probiotics and prebiotics in colon cancer." *The American journal of clinical nutrition.* 73(2): 451s-455s.

- **Yadav H., S. Jain et al. (2007).**"Antidiabetic effect of probiotic dahi containing *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus casei* in high fructose fed rats." Nutrition.23(1): 62-68.
- **Yahi-Guenafdi. (2007).** Les cédraies d'Algérie, phytoécologie, phytosociologie, dynamique et conservation des peuplements. Thèse doctorat USTHB. 243p
- **Yakhlef, G., Laroui, S., Hambaba, L., Aberkane, M. C., & Ayachi, A. (2011).** Évaluation de l'activité antimicrobienne de *Thymus vulgaris* et de *Laurusnobilis*, plantes utilisées en médecine traditionnelle. Phytothérapie, 9(4), 209-218.
- **Yan, F., & Polk, D. B. (2009).** Mechanisms of Probiotic Regulation of Host Homeostasis. In: Michail S., Sherman P.M. (Eds). Probiotics in Pediatric Medicine (pp. 55-56). Humana Press.
- **Yap, C.F., Ho, C.W., Aida, W.M., Chan, S.W., Lee, C.Y., Leong, Y.S., (2009).** Optimization of extraction condition of total phenolic compounds from star fruit (*AverrhoacarambolaL*) residues. Sains malaysiana, 38 (4): 511-520.
- **ZERROUAK, K., & HADJI, N. (2019).** Contribution à l'étude phytochimique et biologique de l'espèce *Artémisia herba alba* de la région de khenchela (Doctoral dissertation, Université Mohamed BOUDIAF de M'Sila)
- **Zielińska, D., Kolożyn-Krajewska, D. (2018).** Food-Origin Lactic Acid Bacteria May Exhibit Probiotic Properties: Review. BioMed research international, 2018, 1-15

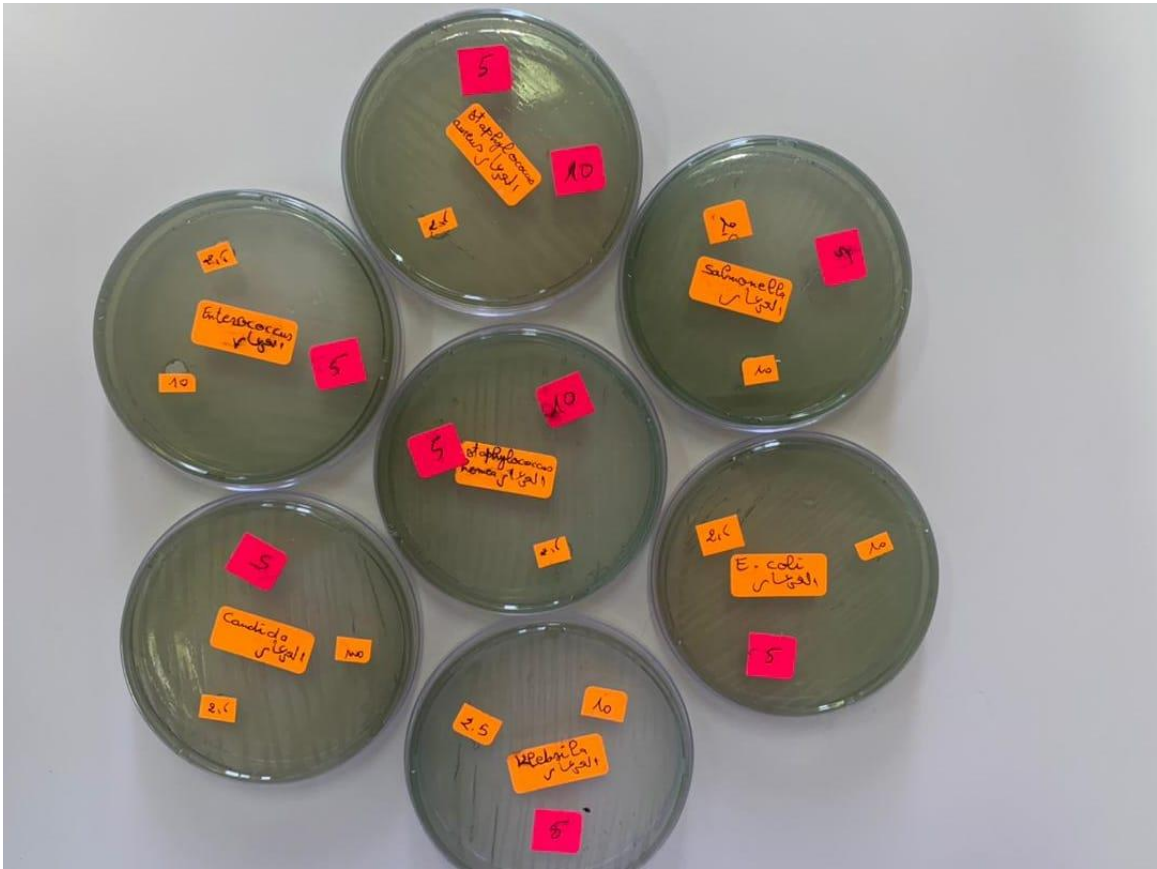
# **Annexes**

**Annexes 01: Observation microscopique**



**Figure 1 : Aspect microscopique après coloration de Gram des souches isolées  
(Photo originale, 2023).**

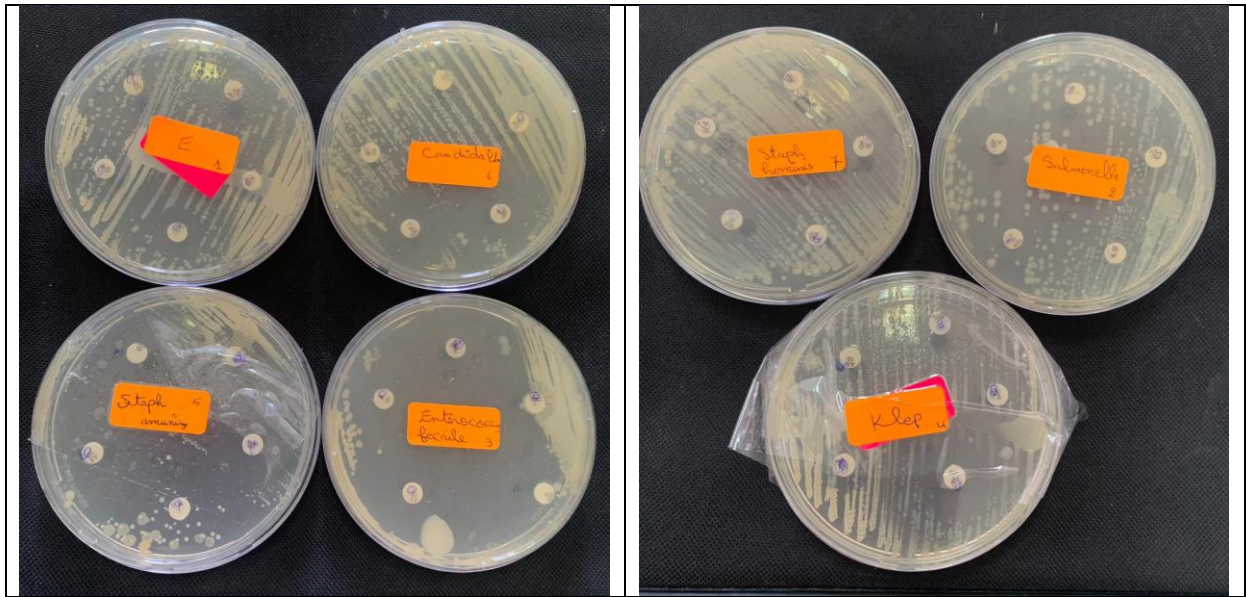
## Annexes 02: Test antimicrobien



**Figure 02 :Test antimicrobien en présence différentes concentrations des extraits**

- 1: Extrait aquatique de *Juniperus communis*
- 2: Extrait alcoolique de *Juniperus communis*
3. Les souches utilisés *Lactococcus lactis*

Annexes 03: Pouvoir antibactérienne



**Figure 02: Pouvoir antibactérienne des souches lactique avec extrait**

- **Antibiotiques utilisés**

1:Pénicilline

2:Oxacilline

3: Amoxicilline

4: Gentamicine HLG

5:Ciproflaxacine

- **Souches pathogène utilisés**

1.*Enterococcus faecalis*

2. *Staphylococcus haemolyticus*

3. *Candida albicans*

4. *K;kleb: klebsella sp*

5. *salmonella sp*

6. *staphylococcus aureus*

7. *Escherichia coli*

## Annexes 04: Tolérance au pH

**Tableau 01: Effet de Ph acide sur la viabilité de la souche dans (log UFC/ml) en présence différentes concentrations d'extrait aqueux de JC**

PH=2									
t=3h					t=0h				
10	5	2.5	t moin		10	5	2.5	t moin	concentration
5.262	5.685	3.874	2.221		4.761	5.851	4.044	2.224	Moyen

PH=3									
t=3h					t=0h				
10	5	2.5	t moin		10	5	2.5	t moin	
5.847	5.652	5.461	3.366		5.872	5.813	5.891	3.184	

**Tableau 02: Effet de pH acide sur la viabilité de la souche dans (log UFC/ml) en présence différentes concentrations d'extrait alcoolique de JC**

PH=2									
t=3h					t=0h				
10	5	2.5	t moin		10	5	2.5	t moin	concentration
5.399	5.646	5.557	2.221		5.418	5.441	5.4	2.224	Moyen

PH=3									
t=3h					t=0h				
10	5	2.5	t moin		10	5	2.5	t moin	
5.56	5.423	5.602	3.366		5.651	5.744	5.888	3.184	