



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire N série:.....
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة الشهيد حمزة لخضر الوادي
Université Echahid Hamma Lakhdar - El OUED
كلية علوم الطبيعة والحياة
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
قسم البيولوجيا الخلوية والجزيئية
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

THEME

**L'activité antimicrobienne des bactéries lactiques
isolées à partir de différents types de lait**

Présenté Par :

M^{me} GUEDDA Zohra

M^{me} BEN KHELIFA Basma

Devant le jury composé de :

Président : M. KIRAM A

M.A.B, Université d'El Oued.

Examinatrice: Mme. BEKKOUCHE A

M.A.A, Université d'El Oued.

Promoteur : M. LAICHE A T

M.A.A, Université d'El Oued

Année universitaire 2016/2017

Dédicace

Grace **Allah**

Je dédie ce modeste travail :

A mes parents :

*Ma chère mère **Attousi siham**, pour l'affection et l'amour qu'elle m'a donné le courage et la force dans les moments les plus difficiles.

*Mon père **Med taher** , pour son soutien moral et ses conseils les plus précieux qui m'ont servi dans ma vie et son encouragement sans limite.

A mon cher frères : **Saad.

A mes chères sœurs : **Asma , Afra, Radja ,Aya.

A mon mari : **Nacer eddine.

Aux familles : **Medakhel et Guedda.

ZOHRA

Dédicace

Je dédie ce modeste travail

A l'esprit de ma mère **Souad

A mon père **Bahri le plus cher au monde, qui a souffert nuit et jour pour nous couvrir de leur amour et pour sa patience avec moi et son encouragement.

A mes très chères frères : **Khaled, Ali et **Fathi** .

A mes très chères sœurs : **Wafa, Houda, Nawel et **Leila**

A mon mari : **Hadj amara .

Aux familles : **BENKHELIFA et **HAMIDATOU**.

*** BASMA ***

Remerciements

*Avant tout, nous remercions **Dieu** le tout puissant, le Miséricordieux, de nous avoir donné le courage, la force, la santé et la persistance.*

*Nous remercions notre promoteur **LAICHE AMMAR TOUHAMI** , Maître assistante à l'université **ECHAHID HAMMA LAKHDER D'EL OUED**, pour l'honneur qu'elle nous a fait en dirigeant ce travail, pour ses aides, ses conseils, tout au long de l'élaboration de ce modeste travail*

*A **M. KIRAM A**, nous adressons nos remerciements les plus sincères pour l'honneur qu'il nous fait en acceptant de présider ce jury.*

*A **Mme. BEKKOUCHE A.** qui nous a fait l'honneur de bien vouloir accepter de juger ce travail.*

*Au personnel des laboratoires pédagogiques, surtout **Mme BOCHRA.***

Enfin, nous remercions, tous ceux qui de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce travail.

Résumé

La présente étude vise à sélectionner des souches lactiques isolées à partir de trois types des laits (caprin, bovin et camelin) et douées d'une activité antimicrobienne contre quelques souches pathogènes.

Les échantillons du lait analysée présentent un pH (6.22 ,6.48, 6.29) , densité (26. 35. 27), l'acidité (11.53,15.27,8.48) , avec un composition biochimique de (35.24 , 38.13 , 40.6) lactose et (27.77 , 26.65 , 21.5) de caséines.

L'analyse de ces types du lait qu'ils sont provient de la région ARAIR d'El-Oued a permis d'isoler des six souches de bactéries lactiques pour faire l'analyse de notre étude.

On note que les six souches ayant une activité antibactérienne variante de très faible à forte vis –à –vis les souches *E. coli*, *Staphylococcus aureus* et *Streptococcus sp* et *candida*. La mesure des diamètres d'inhibition révèle des diamètres qui se varient de 1 à 14 mm.

Généralement, Cette activité ce varie d'une type du lait a l'autre, pour le lait camelin on enregistre une activité de très faible a faible vis-à vis *E. coli*, *Pseudomonas a* et un peut fort chez S2 vis-à vis *Staphylococcus a* et *Candida*.

Concernant le lait bovin enregistre une activité très faible vis-à-vis *E. coli*.par contre une activité faible avec *Pseudomonas a*, *a* et *Candida*. Alors que le lait caprin présente une activité très faible contre *E. coli*. Faible contre *Pseudomonas a* et une activité forte vis-à-vis *Staphylococcus a* et *Candida*.

Mots clés : lait, souche, Bactéries lactiques, Bactéries pathogènes, Antagonisme.

Abstract

The present study aim to select a lactic strains witch isolated from three kinds of milk (goat, cattle, Camlin) and gifted with antimicrobial activity against some pathogenic strains .

The strains analysed of milks present a ph (6.22,6.48,6 .29) density (26, 35 ,27) acidity (11.53,15.27,8.48) with a biochimic composition (35.24 , 38.13 , 40.6) of lactose and (27.77 , 26.65 , 21.5) of casein.

The analyses of these three kinds of milk which comes from ARAIR region .The led to the isolation of 6 strains of lactic acid bacteria for our study analysis.

According to results we note that the 6 strains have an antimicrobial activities varies from low to strong against a pathogenic isolated bacteria (*E. coli*, *Staphylococcus aureus* et *Streptococcus aeruginosa* et *candida*). The measurement diameters of inhibition reveals diameters between 1-14 mm.

Generally , this activity varies from kind of milk to other .for a camels milk we note a very low activity against *E. coli*, *Pseudomonas* , and so strong for S2 against *Staphylococcus* et *Candida*.

Concerning Caws milk we find a very low activity against *E. coli* .on the other hand a low activity against *Pseudomonas* et *Candida*. while the goats milk have got a very low activity against *E. coli* .low activity against *Pseudomonas* and strong activity against *Staphylococcus* et *Candida*.

Keywords: milk, strains, lactic bacteria ,pathogenic bacteria, Antagonism .

ملخص

سمح تحليل حليب الناقة .البقر و الماعز المجمع من منطقة الوادي بعزل سلالات من بكتيريا الحليب للقيام بالتحاليل اللازمة للدراسة.

أنواع الحليب المدروسة تملك حموضة ph (6.22,6.48,6.29),كثافة (26.35,27), حموضة (11.53,15.27,8.48) .بالإضافة إلى مكونات كيميائية من لاكتوز (35.24,38.13,40.6) كازيين (21.5, 26.65, 27.77).

تحليل الأنواع الثلاث للحليب المجمع و المتأتي من منطقة عراير الفلاحية قاد الي عزل 6 سلالات من بكتيريا الحليب المدروسة .

من خلال النتائج المحصل عليها لاحظنا بأن ال6 سلالات لديهم نشاط متغير من جد ضعيف إلى قوي ضد السلالات الممرضة . *E. coli, Staphylococcus, Streptococcus, candida*. إن قياس أقطار منطقة التثبيط لدية أقطار متفاوتة من 1-14 ملم .

عموما هذا النشاط البكتيري متغير من نوع حليب لآخر .بالنسبة لحليب الناقة سجلنا نشاط من جد ضعيف الى ضعيف وهذا ضد السلالات *E. coli, Pseudomonas* و قريب للقوي بالنسبة للسلالة 2S ضد *Staphylococcus* .*Candida*

أما بالنسبة لحليب البقر سجلنا نشاط ضعيف جدا ضد *E. coli* على العكس ضعيف ضد *Pseudomonas et Candida*.بينما حليب الماعز يظهر نشاط ضعيف جدا ضد *E. coli* و ضعيف ضد *Pseudomonas* و قوي ضد *Staphylococcus et Candida*.

الكلمات المفتاحية حليب ، سلالة، بكتيريا الحليب ، بكتيريا المضرة، تنافس .

Liste des figures

N°	Titre des figures	Page
01	<i>Lactobacillus</i> et <i>Leuconostoc</i> observé au microscope électronique à transmission (M.E.T)	13
02	Représentation schématique des principales voies de fermentation des hexoses chez les bactéries lactiques	14
03	Protocole d'isolement des souches lactiques	22
04	Recherche de substance antimicrobienne	24
05	Aspect macroscopique sur milieu GN de quelque souches des bactéries lactique après 48h d'incubation à 37 °C.	30
06	Observation microscopique de quelques souches lactiques après la coloration de Gram (Gx40)	31
07	Résultats de test de catalase	31
08	l'effet des bactéries lactiques sur les souches pathogène	32
09	Interactions entre les souches des bactéries lactiques et <i>Escherichia coli</i>	33
10	Interactions entre les souches des bactéries lactiques et <i>Staphylococcus aureus</i> .	34
11	Interactions entre les souches des bactéries lactiques et <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	34
12	Antagonisme bactéries lactiques / <i>Candida albicans</i>	35

Liste des tableaux

N°	Liste des tableaux	Page
01	Composition lipidiques du lait	04
02	Composition minéral du lait	05
03	Teneur moyenne des principales vitamines du lait	06
04	Caractéristiques organoleptiques de lait	07
05	Les souches pathogènes utilisées	23
06	Résultats des analyses organoleptique	27
07	Résultats physico-chimique des échantillons analysé.	28
08	Résultats d'analyse biochimique	29
09	Aspects macroscopiques et milieux d'isolement des souches	30
10	Résultats des tests de catalase et coloration de Gram et aspect microscopique des souches.	31
11	Diamètre des zones d'inhibition des souches utilisé en mm	33

Liste des Abréviations

BL: Bactérie lactique .

S: Souche.

GN: Gélose nutritive.

LK: Lait camelin.

LB: Lait bovin.

LC: Lait caprin.

Mm: Millimètre.

DO: Densité optique.

NaCL: Chlorure de sodium.

PH: Potentiel d'hydrogène.

FAO: Food and Agriculture Organization.

E. coli : *Escherichia coli*.

°C: Degree Celsius.

H₂O₂: Eau oxygénée.

U.H.T: Ultra haute temperature.

μl : Microlitre.

ATP : Adénosine triphosphate.

ADP : Adénosine diphosphate .

NAD⁺/NADH, H⁺ : Couple oxydant/réducteur du nicotinamide adénine dinucléotide.

Pi : Phosphate inorganique.

SOMMAIRE

Dédicaces	
Remerciements	
Résumé	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
Introduction	01

PARTIE I : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I : le lait	03
I.1 Définition	03
I.2 Présentation générale.....	03
I.3 Les Principaux Constituants	03
I.3.1 L'eau	03
I.3.2 Les glucides.....	03
I.3.3 Les lipides.....	04
I.3.4 Les protéines.....	04
I.3.5 Sels et Minéraux	05
I.3.6 Les vitamines.....	06
I.4 Caractéristiques organoleptiques et physico-chimiques du lait.....	06
I.4.1 Caractéristiques organoleptiques.....	06
I.4.1.1 Couleur.....	07
I.4.1.2 Odeur.....	07
I.4.1.3 Saveur.....	07
I.4.1.4 Viscosité.....	08
I.4.2 Caractéristiques physico-chimiques.....	08
I.4.2.1 Densité.....	08
I.4.2.2 Acidité	08
I.4.2.3 Le Ph.....	08
I.5 Laits de consommation.....	08
I.5.1 Traitement thermique appliqué.....	09
I.5.1.1 Lait cru.....	09
I.5.1.2 Lait pasteurisé.....	09
I.5.1.3 Lait stérilisé.....	09
I.5.1.4 Lait stérilisé UHT.....	09

I.5.2. Taux de matière grasse.....	09
I.5.2.1 Le lait entier.....	09
I.6 Différents types de laits.....	10
I.6.1 Le lait de chèvre (Caprin).....	10
I.6.2 Le lait de vache (Bovin).....	10
I.6.3 Le lait de chamelle (Camelin).....	11
Chapitre II : Les bactéries lactiques	12
II.1 Généralité.....	12
II.2 Définition	12
II.3 Classification des bactéries lactiques.....	12
II.4 Caractéristique générales des bactéries lactiques.....	13
II.5 Les voies fermentaires des bactéries lactiques.....	13
II.5.1 Définition.....	13
II.5.2 Voies fermentaires générales du métabolisme carboné.....	14
II.5.2.1 Voie homofermentaire	15
II.5.2.2 Voie hétérofermentaire.....	15
II.6 Les propriétés antimicrobiennes des bactéries lactiques	15
II.6.1 Les acides organiques	16
II.6.2 Le peroxyde d'hydrogène (H ₂ O)	16
II.6.3 Le dioxyde de carbone	16
II.6.4 Le diacétyl.....	17
II.6.5 Reutéline.....	17
II.6.6 Les bactériocines.....	17
II.7 Intérêt des bactéries lactiques.....	18
II.7.1 Dans l'industrie alimentaire.....	18
II.7.2 Dans le domaine thérapeutique.....	18

DEUXIEME PARTIE II : MATERIEL ET METHODES

III.1 Echantillonnage.....	20
III.2 Caractérisation des échantillons du lait.....	20
III.2.1 Le Ph.....	20
III.2.2 La densité.....	20
III.2.3 L'acidité.....	20
III.2.4 Dosage des protéines.....	21
III.2.5 Dosage de lactose.....	21

III.3 Isolement et culture des bactérie lactique.....	21
III.4 Purification et conservation des souches.....	21
III.4.1 Conservation à courte terme.....	21
III.5 Description des souches pathogènes.....	23
III.6 Identification des isolats.....	23
III.6.1 Critère morphologique.....	23
III.6.1.1 Caractéristiques macroscopiques	23
III.6.1.2 Caractéristiques microscopiques.....	23
III.6.2 Critères physiologique et biochimique	23
III.6.2.1 Test de la catalase.....	23
III.7 Sélection des souches lactiques antimicrobiennes.....	23
III.7.1.1 Préparation des précultures des bactéries (pathogènes).....	23
III.7.1.2 Méthode d'inhibition bactérienne en gélose.....	24
III.7.2 Mesure de diamètre des zones d'inhibition.....	25

Partie IV: RESULTATS ET DISCUSSIONS

IV.1 Analyse organoleptique des échantillons du lait.....	27
IV.2 Analyses physico-chimiques.....	27
IV.2.1 Le Ph.....	28
IV.2.2 L'acidité Dornic.....	28
IV.2.3 La Densité.....	29
IV.3 Analyse biochimique.....	29
IV.4 Isolement et culture des souches lactiques.....	29
IV.4.1 Examen macroscopique.....	29
IV.4.2 Examen microscopique.....	30
IV.5 Résultats de l'activité antimicrobienne.....	32
IV.5.1 Antagonisme bactéries lactiques et microorganismes pathogènes.....	32
IV.5.1.1 Antagonisme bactéries lactiques / <i>Escherichia coli</i>	33
IV.5.1.2 Antagonisme bactéries lactiques / <i>Staphylococcus aureus</i>	34
IV.5.1.3 Antagonisme bactéries lactiques / <i>Pseudomonas aeruginos</i>	34
IV.5.1.4 Antagonisme bactéries lactiques / <i>Candida albicans</i>	35
Conclusion	37
Références bibliographiques.....	38
Annexes.....	45

INTRODUCTION

Le lait est un produit indispensable à l'équilibre de l'alimentation humaine. Il contient de nombreux nutriments qui fortifient notre organisme : protéines, glucides, lipides, sels minéraux, vitamines et oligo-éléments. Le lait fut de tous temps un symbole de fertilité, de richesse et d'abondance. Il représente un milieu biologique fortement altérable par voie microbienne en raison de sa forte teneur en eau, de son pH voisin de la neutralité et de sa richesse en composants biodégradables (lactose, protéines et lipides). (Huyghebaert, 2006).

Le lait cru représente une source de nouvelles souches des bactéries lactiques (Poisson, 2000), pouvant présenter des potentialités fermentaires intéressantes pour les industries alimentaires et pharmaceutiques.

Les bactéries lactiques sont largement utilisées dans l'industrie alimentaire, en tant que starters dans les procédés de fermentations afin de répondre aux exigences croissantes des consommateurs en produits alimentaires moins traités et exempts de conservateurs chimiques. Leur apport bénéfique consiste à l'amélioration de la qualité des produits fermentés en y développant certaines caractéristiques organoleptiques, sans altérer le goût ni l'odeur, et en augmentant leur durée de conservation. Cette préservation est conférée par la production de plusieurs métabolites ayant une activité antimicrobienne tels que les acides organiques, le peroxyde d'hydrogène, le dioxyde de carbone, la reutéline, le diacétyl et les bactériocines. (Benguella, 2014).

On reconnaît depuis longtemps, aux bactéries lactiques, la propriété de produire des substances antibactériennes leur permettant de se développer préférentiellement dans divers écosystèmes. L'activité antagoniste des bactéries lactiques est due aux métabolites excrétés : l'acide lactique et autres acides organiques, peroxyde d'hydrogène, le dioxyde de carbone, le diacétyl, la reutéline et les bactériocines (LEVEAU *et al.*, 1991).

Ce travail décrit l'isolement, la purification, l'identification et l'étude de l'activité antimicrobienne des souches des bactéries lactiques isolées à partir des laits crus : de vache, de chèvres et de chèvres, collectés dans la région D'EL-OUED. Ce document se compose comme suit :

Partie I: Généralités sur le lait, leur composition et utilisation et sur les bactéries lactiques, leur classification et l'intérêt.

Partie II: Présentation des principaux matériels et méthodes utilisés et des résultats obtenus, ainsi que leur discussion.

Synthèse bibliographique



I. Le lait

I.1 Définition :

Le lait a été défini en 1908, au cours du Congrès International de la Répression des Fraudes à Genève comme étant : « Le produit intégral de la traite totale et ininterrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée. Le lait doit être recueilli proprement et ne doit pas contenir de colostrum» (Alais, 1975).

Le Codex Alimentarius en 1999, le définit comme étant la sécrétion mammaire normale d'animaux de traite obtenue à partir d'une ou plusieurs traites, sans rien y ajouter ou en soustraire, destiné à la consommation comme lait liquide ou à un traitement ultérieure.

Selon Deforges et al. en 1999, le lait cru est un lait non chauffé au-delà de 40°C ni soumis à un traitement non thermique d'effet équivalent notamment du point de vue de la réduction de la concentration en micro-organismes.

I.2 Présentation générale :

Le lait est un substrat très riche fournissant à l'homme et aux jeunes animaux naissants, un aliment presque complet. Protides, glucides, lipides, sels minéraux et vitamines sont présents à des concentration tout à fait satisfaisantes pour la croissance et la multiplication cellulaire. (Iarpent *et al.*, 1997).

- **Le lait** : c'est un produit naturel sécrété par les mammifères. A la fois aliment et boisson, il est donc d'un grand intérêt nutritionnel.

- **Les laits transformés** : ils résultent de traitement technologiques destinés à prolonger leur conservation (exemples : lait stérilisé, pasteurisé, en poudre ...).

- **Les laits modifiés** : ils ont subis des modifications de texture, de structure (exemples : yaourt, dessert lacté frais...).

- **Les fromages** : ils regroupent les fromages frais (exemples : fromage blanc, petit suisse) et les fromages affinés (exemples : camembert, roquefort, comté).

Ce groupe est donc indispensable du fait de son apport en protéines animales (comparable à celles du groupe viande, poissons, œufs), en calcium ainsi qu'en vitamines A,D et B.

I.3 Les Principaux Constituants :

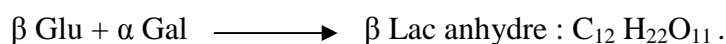
I.3.1 L'eau

Est l'élément quantitativement le plus important : 900 à 910 g par litre. En elle est dispersés tous les autres constituants du lait, tous ceux de la matière sèche.

I.3.2 Les glucides

Le sucre principal du lait est le lactose ; c'est aussi le composé prépondérant de la matière sèche totale. Sa teneur s'élève en moyenne à 50g par litre. C'est un disaccharide constitué par

de l' α ou β glucose uni à du β galactose, ce qui est à l'origine de la présence de 2 lactoses (Luquet, 1985)



Le lactose est fermentescible par de nombreux micro-organismes et il est à l'origine de plusieurs types de fermentations pouvant intervenir dans la fabrication de produits laitiers.

- **Fermentation lactique** : Due aux bactéries lactiques naturelles ou ajoutées (ferments lactiques) qui utilise le lactose en le transformant en acide lactique.
- **Fermentation propionique** : Due aux bactéries propioniques qui transforment le lactose en acide propionique et en acide acétique responsables de la saveur des fromages à pâte cuite et en gaz carbonique induisant l'ouverture de ces fromages (Luquet, 1985).
- **Fermentation butyrique** : Par des bactéries du genre *Clostridium* qui utilisent l'acide lactique déjà produit en le transformant en acide butyrique.
- **Fermentation alcoolique** : Due à des levures qui hydrolysent le lactose en glucose et galactose et qui transforment ensuite le glucose en alcool éthylique

I.3.3 Les lipides:

Les matières grasses du lait se compose principalement de triglycéride, de phospholipide et d'une fraction insaponifiable constituée en grande partie de cholestérol et de β – carotène. Le (tableau 1) indique les proportions des différents constituants de la fraction lipidique du lait (Grappin., 1999).

Tableau 01 : Composition lipidiques du lait (Grappin., 1999).

Constituants	Proportions de lipides du lait (%)
Triglycérides	98
Phospholipides	01
Fraction insaponifiable	01

I.3.4 Les protéines

Elles constituent avec les sels la partie la plus complexe du lait. Leur importance tient à plusieurs raisons : quatrième groupe des substances par son abondance après l'eau, le lactose et les matières grasses (MATHIEU, 1998). On distingue deux grands groupes des protéines dans le lait : les caséines et les protéines (POUGHEON *et al.*, 2001), les caséines

ont une teneur de 27 g/l ; elles se répartissent sous forme micellaire de phospho-caséinate de calcium et elles sont facilement dégradées par toutes protéolytique.

* Les protéines solubles du lactosérum se répartissent entre (LUQUET, 1985):

* Les albumines : β Lactoglobuline : 3 g

Lactalbumine : 1,2 g

Sérum albumine : 0,4 g

* Les globulines : Immunoglobulines : 0,7 g

Lacto-transferrine : 0,3 g

* Les enzymes : Lipase, protéase, phosphatase alcaline,

Xanthine-oxydase, lactoperoxydase

La majeure partie des protéines du lait est naturellement synthétisée dans les cellules sécrétoires de la glande mammaire. Cependant certaines proviennent des plasmocytes spécialisés, d'autres du sang (RIBADEAU *et al.*, 1989).

I.3.5 Sels et Minéraux

Les minéraux sont présents, soit en solution dans la fraction soluble, soit sous forme liée dans la fraction insoluble Certains minéraux se trouvent exclusivement à l'état dissous sous forme d'ions (sodium, potassium et chlore) et sont particulièrement biodisponibles. Les ions calcium, phosphore, magnésium et soufre existent dans les deux fractions

Le lait apporte également des oligo-éléments à l'état de traces: Zinc (3,5 .10-1g/l) ; Iode 2 à 10 .10-5g/l cuivre. Par contre, il est carencé en fer (0.3 .10-3g/l) ; il contient peu de sodium (0.5g/l) (Brulé *et al.*, 2008).

Tableau 02: Composition minéral du lait (Veisseyre, 1975)

Constituants	Teneurs moyennes g/l
Potassium	1.5
Calcium	1.25
Sodium	0.5
Magnésium	0.13
Chlore	1.0
Phosphore totale	0.95
Acide citrique	1.75

I.3.6 Les vitamines :

Les vitamines sont des substances biologiquement indispensables à la vie puisqu'elles participent comme cofacteurs dans les réactions enzymatiques et dans les échanges à l'échelle des membranes cellulaires. L'organisme humain n'est pas capable de les synthétiser. On les retrouve en très petite quantité dans les aliments. Le lait figure parmi les aliments qui contiennent la plus grande variété de vitamines, toute fois, les teneurs sont souvent assez faibles (Juillard *et al.*, 1996).

Tableau 03 : Teneur moyenne des principales vitamines du lait.

Vitamines	Teneur moyenne
Vitamine liposolubles :	
Vitamine A (+ carotènes)	40µg/100ml
Vitamine D	2,4µg/100ml
Vitamine E	100µg/100ml
Vitamine K	5µg/100ml
Vitamines hydrosolubles :	
Vitamine C (acide ascorbique)	2mg/100ml
Vitamine B1 (thiamine)	45µg/100ml
Vitamine B2 (riboflavine)	175µg/100ml
Vitamine B6 (pyridoxine)	50µg/100ml
Vitamine B12 (cyano-cobalamine)	0,45µg/100ml
Niacine et nia-cinamide	90µg/100ml
Acide pantothénique	350µg/100ml
Acide folique	5,5µg/100ml
Vitamine H (biotine)	3,5µg/100ml

I.4 Caractéristiques organoleptiques et physico-chimiques du lait :

I.4.1 Caractéristiques organoleptiques :

La caractéristique organoleptique présente des critères sur la qualité de lait analysée la couleur, gout et l'odeur.

Tableau 04 : Caractéristiques organoleptiques du lait (Jacques, 1998).

	Caractère normal	Caractère anormal
Couleur	Blanc mat Blanc jaunâtre : Lait riche en crème	Gris jaunâtre : Lait de mammité Bleu, jaune ... Lait coloré par des substances chimiques ou des pigments bactériens
Odeur	Odeur faible	Odeur de putréfaction, de moisi, de rance ...
Saveur	Saveur agréable	Saveur salée : Lait de mammité Gout amer : Lait très pollué par des bactéries
Consistance	Homogène	Grumeleuse : mammité Visqueuse ou coagulée : Pollution bactérienne

I.4.1.1 Couleur :

Le lait est un liquide blanc mat, opaque à cause des micelles de caséinates, ou parfois bleuté ou jaunâtres du fait du beta carotène ou de la lactoflavine contenue dans la matière grasse (Jacques, 1998).

I.4.1.2 Odeur :

Elle est toujours faible et variable en fonction de l'alimentation de la femelle productrice. Le lait n'as pas d'odeur propre, il s'en charge facilement au contact de récipients mal odorants, mal lavés. C'est surtout la matière grasse qui réalise fortement ces fixations. Lors de l'acidification du lait. L'odeur devient aigrelette sous l'influence de la formation d'acide lactique (chetoune, 1982).

I.4.1.3 Saveur :

La saveur normale d'un bon lait est agréable et légèrement sucré, ce qui est principalement due à la présence de matière grasse, la saveur du lait se compose de son gout et de son odeur (Horola, 2002).

I.4.1.4 Viscosité :

Elle est fonction de l'espèce, on distingue :

* Un lait visqueux chez les monogastriques (jument, ânesse, carnivores et femme). On parle du lait albumineux.

* Un lait moins visqueux chez les herbivores (lait de brebis plus visqueux que celui de la vache). Le lait est dit caséineux (Alais, 1984).

I.4.2 Caractéristiques physico-chimiques :**I.4.2.1 Densité :**

Le poids d'une substance par unité de volume est la masse volumique ; tandis que la densité est le rapport de la masse volumique avec celle de l'eau. Étant donné que la masse volumique de toute substance varie avec la température.

La densité du lait à 15°C est en moyenne 1.032 (1.028-1.035). Elle est la résultante de la densité de chacun des constituants du lait et aussi donnée que la matière grasse est le seul constituant qui possède une densité inférieure de 1. (Vignola, 2002).

I.4.2.2 Acidité :

Normalement l'acidité du lait est proche de la neutralité (pH=7,0). Il est légèrement acide et son pH varie normalement de 6,6 à 6,8. Cependant, lorsque le lait n'est pas refroidi rapidement à 4°C après la traite, les bactéries lactiques y croissent rapidement.

Ces bactéries produisent l'acide lactique qui diminue le pH (augmente l'acidité) du lait. Lorsque l'acidité est suffisamment forte à température ambiante (un pH inférieur à 4,7) caséine du lait coagule. Si la température est plus élevée, la coagulation de la caséine du lait se produit en présence de moins d'acide (un pH plus élevé). (Wattiaux, 1997).

I.4.2.3 Le pH :

Le pH renseigne précisément sur l'état de fraîcheur du lait. S'il y a une action des bactéries lactiques, une partie du lactose du lait sera dégradée en acide lactique, ce qui entraîne une augmentation de la concentration du lait en ions hydronium (H₃O⁺) et donc une diminution du pH, car : $\text{pH} = \log 1 / [\text{H}_3\text{O}^+]$ À la différence avec l'acidité titrable qui elle mesure tous les ions H⁺ disponibles dans le milieu, dissociés ou non (acidité naturelle + acidité développée), reflétant ainsi les composés acides du lait. (CIPC lait, 2011).

I.5 Laits de consommation

Le terme "Laits de consommation" désigne les différentes catégories de laits vendus à l'état liquide. Ces laits sont présentés obligatoirement en emballages fermés jusqu'à la remise au consommateur (CNERNA 1981). Les laits de consommation se caractérisent notamment par le traitement thermique qui leur est appliqué pour leur conservation, et le taux de matière grasse. (FAVIER J, 1987).

En fonction de ces divers traitements, les laits de consommation trouvés actuellement sont classés selon le :

I.5.1 Traitement thermique appliqué:

I.5.1.1 Lait cru : Définit comme le lait produit par la sécrétion de la glande mammaire d'animaux d'élevage et non chauffé à plus de 40 °C, ni soumis à un traitement d'effet équivalent. Ce lait n'a donc subi aucun traitement autre que la réfrigération mécanique immédiate après la traite à la ferme.

I.5.1.2 Lait pasteurisé : Sont obtenu par un traitement mettant en œuvre une température élevée pendant un court laps de temps (au moins 72°C pendant quinze secondes ou toute combinaison équivalente) ou par un procédé de pasteurisation utilisant des combinaisons différentes de temps et de température pour obtenir un effet équivalent .immédiatement refroidi après pasteurisation pour être ramené, dans les meilleurs délais, à une température ne dépassant pas 6°C .

I.5.1.3. Lait stérilisé : Est réservée au lait préalablement conditionné dans un emballage hermétique, puis chauffé pendant 15 à 20 minutes à une température de 115-120°C afin de détruire tous les germes susceptibles de s'y développer. Le lait est ensuite rapidement refroidi. Il se conserve à température ambiante, tant que l'emballage n'a pas été ouvert (MERIGAUD, 2009).

I.5.1.4. Lait stérilisé UHT : Le procédé dit d'ultra haute température est également un procédé de longue conservation qui permet d'écourter le temps de chauffage : les qualités gustatives du lait sont mieux préservées qu'avec la stérilisation simple. Il s'agit de porter rapidement le lait à la température de 135°C minimum pendant 2 à 4 secondes, puis de le conditionner dans une ambiance stérile. Le lait UHT peut être entier, demi-écrémé ou écrémé. On le trouve dans le commerce sous le nom « lait stérilisé UHT ». Il se conserve à température ambiante, tant que l'emballage n'a pas été ouvert.

I.5.2. Taux de matière grasse :

I.5.2.1 Le lait entier : Est un lait traité thermiquement qui, en ce qui concerne sa teneur en matière grasse, répond à l'une des formules suivantes :

* **Lait entier normalisé :** Un lait dont la teneur en matière grasse s'élève à 3,50 % m/m au minimum. Toutefois, les États membres peuvent prévoir une catégorie supplémentaire de lait entier dont la teneur en matière grasse est supérieure ou égale à 4,00 % (m/m).

* **Lait entier non normalisé** : Un lait dont la teneur en matière grasse n'a pas été modifiée depuis le stade de la traite, ni par adjonction ou prélèvement de matières grasses du lait, ni par mélange avec du lait dont la teneur naturelle en matière grasse a été modifiée. Toutefois, la teneur en matière grasse ne peut être inférieure à 3,50 % (m/m) .(MERIGAUD, 2009)

I.6 Différentes types des laits :

Le lait est produit par les ruminants qui transforment les protéines végétales en protéines animales. Le lait est sécrété par les glandes mammaires des femelles de plus de quelques 4000 espèces de mammifères. Sa composition varie légèrement d'une espèce de mammifère à l'autre.

I.6.1 Le lait de chèvre (Caprin):

En Algérie, l'élevage caprin vient en seconde position (14%) après le lait des ovins (26%). Il se trouve concentré essentiellement dans les zones de montagnes, des hauts plateaux et des régions arides. il est caractérisé par son adaptation aux conditions climatiques du pays et contribue à la formation du revenu et à la couverture de besoins en lait et viande d'une large couche de la population dans la plupart des zones difficiles (montagnes, hauts plateaux et régions arides) (Badis,2004) .

Le lait de chèvre est blanc mat, due à l'absence de B-carotène .contrairement au lait de vache, il a une odeur assez neutre. Parfois en fin de lactation, il a une odeur de caprin, après stockage au froid il acquit une saveur caractéristique (Gourssaud,1985).

Sa composition chimique varie selon l'espèce, condition d'environnement, et stade de lactation (Kihal et *al*,1999).

I.6.2 Le lait de vache (Bovin):

En Algérie, l'élevage des troupeaux laitiers en général est le bovin en particulier est caractérisé par sa faible contribution aux besoins en protéines animales exprimés par la population. cet élevage est cantonné dans le nord du pays où il représente 53% des effectifs, par contre il ne représente que 24,5% et 22,5% dans les régions centre et ouest.

Le lait de vache est un liquide opaque de couleur blanche, plus au moins jaunâtre selon la teneur de la matière grasse en bêta carotène . sa saveur est douce et son odeur faible (Lamontagne et *al*, 2002).

I.6.3 le lait de chamelle (Camelin):

En Algérie le nombre de tête des chameles laitière en augmentation chaque année, d'un total de 150960 tête en 2013. La production laitière cameline est estimée à 43725 litres en 2013 (Anonyme, 2013).

Le lait camelin est un liquide blanc mat en raison notamment de la structure et de la composition de sa matière grasse, relativement pauvre en B-carotène, légèrement visqueux. Il a un gout assez doux, légèrement sucré, avec un gout acide, parfois même salé (Abdel-Rahim, 1987) .

II. Les bactéries lactiques

II.1 Généralité

Les bactéries lactiques sont utilisées depuis des millénaires dans l'alimentation humaine (Penaud, 2006). La découverte de leur action sur le lait fut probablement accidentelle mais leur utilisation fut perpétuée sous forme de levains, simple récupération d'une partie du milieu de fermentation. La fermentation confère aux aliments une saveur et une texture particulière. Permet de mieux les conserver et apporte aussi certains bénéfices nutritionnels et de santé. Le développement de l'industrie de transformation, en particulier de l'industrie laitière, a conduit à la production de ferments industriels capable d'assurer à la fois la qualité et la constance du produit.

Malgré leur importance économique, les bactéries lactiques n'ont pas toujours reçu l'attention nécessaire ni de la part des microbiologistes ni de celle des industriels. (Novel, 1993).

II.2 Définition

Les bactéries lactiques sont définies comme des cellules vivantes, procaryotes, hétérotrophes et chimio-organotrophes (De Roissart, 1986). Elles forment un groupe hétérogène composé de cocci et de bacilles, dont la principale caractéristique est la production d'acide lactique à partir de la fermentation des sucres (Badis *et al.*, 2005).

Les bactéries lactiques regroupent les bactéries à coloration de Gram positif. Généralement, immobiles sporulées et micro-aérophiles. Elles ne possèdent ni catalase, ni nitrate-réductase, ni cytochrome-oxydase.

L'un des problèmes dans l'industrie alimentaire était la contamination par les germes pathogènes, qui sont fréquents à cause des maladies portées par les aliments. Pendant la décennie passée, manifestations récurrentes de diarrhée, liée à la résistance normale des agents causatifs, contribuent à son statut comme risque. (Drouault *et al.*, 2001).

II.3 Classification des bactéries lactiques

La classification phénotypique des bactéries lactiques est largement basée sur la morphologie, le mode de fermentation de glucose, la croissance à différentes températures, la capacité de croissance à de hautes concentrations de sel (6.5%, 18%), la tolérance aux pH acides, alcalins et à l'éthanol, la configuration de l'acide lactique produit à partir de glucose, l'hydrolyse de l'arginine, la formation d'acétoïne..... etc.

Les marqueurs chimio-taxonomiques comme la composition en acides gras et les constituants de la paroi cellulaire peuvent aussi être utiles dans la classification.

Les genres les plus étudiés sont : *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Enterococcus* et *Pediococcus* (Drouault *et al.*, 2001) .

Actuellement le groupe des bactéries lactiques associées aux aliments renferme les 12 genres suivantes : *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus* et *Weissella* et *Bifidobacterium*.

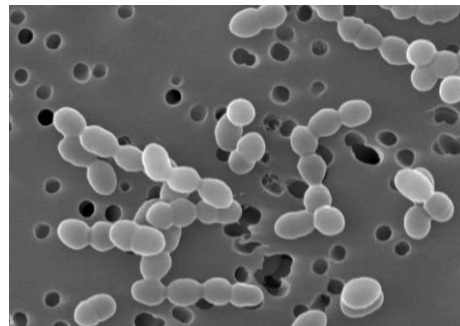
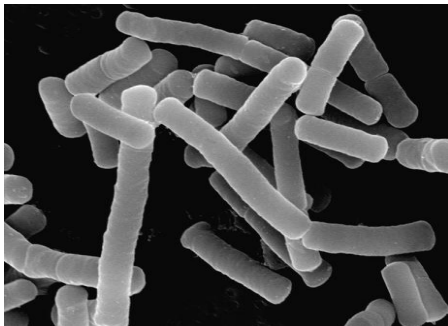


Figure 01: *Lactobacillus* et *Leuconostoc* observé au microscope électronique à transmission (VIGNOLA 2002).

II.4 Caractéristiques générales des bactéries lactiques

La première définition des bactéries lactiques (BL), basée sur la capacité des bactéries de fermenter et de coaguler le lait, englobait les coliformes et bactéries lactiques. En 1901, BEIJERINCK observe que les lactobacilles sont des bactéries à Gram positif, ce qui séparera définitivement les bactéries lactiques (à Gram positif) des bactéries coliformes (STILES *et al.*, 1997). Ce sont des bactéries anaérobies facultatives. Elles ont des exigences nutritionnelles complexes pour les acides aminés, les peptides, les vitamines, les sels, les acides gras et les glucides fermentescibles (DELLAGLIO *et al.*, 1994 ; HO THI, 2009).

Les bactéries lactiques sont trouvées dans diverses niches écologiques, tel que le lait, ainsi que certaines nourritures, la bouche, les régions gastro-intestinales et urogénitales des humains et des animaux (LOPEZ-DIAZ *et al.*, 2000; NAVARRO *et al.*, 2000; EL SHAFEI *et al.*, 2000 et MATHARA *et al.*, 2004).

II.5 Les voies fermentaires des bactéries lactiques :

II.5.1 Définition :

La fermentation est un processus produisant de l'énergie par oxydation des composés organiques, principalement des glucides, où un donneur d'électron, NADH cède ses électrons

à un accepteur endogène, le pyruvate dans la respiration les électrons sont donnés à un accepteur exogène, l'oxygène pour la respiration aérobie et le nitrate ou le sulfate pour la respiration anaérobie. (Prescott *et al.*, 2003)

II.5.2 Voies des fermentaires générales du métabolisme carboné

Les bactéries lactiques utilisent principalement l'une des deux voies majeures du métabolisme des sucres (Figure 02). Il s'agit des voies homo fermentaires (Embden-Meyerhoff- Parnas, EMP) et hétérofermentaire (voie des pentoses-phosphate). Ainsi, les bactéries lactiques sont divisées en deux groupes principaux d'espèces homo ou hétérofermentaires selon la nature et la concentration des produits terminaux issus de la fermentation du glucose.

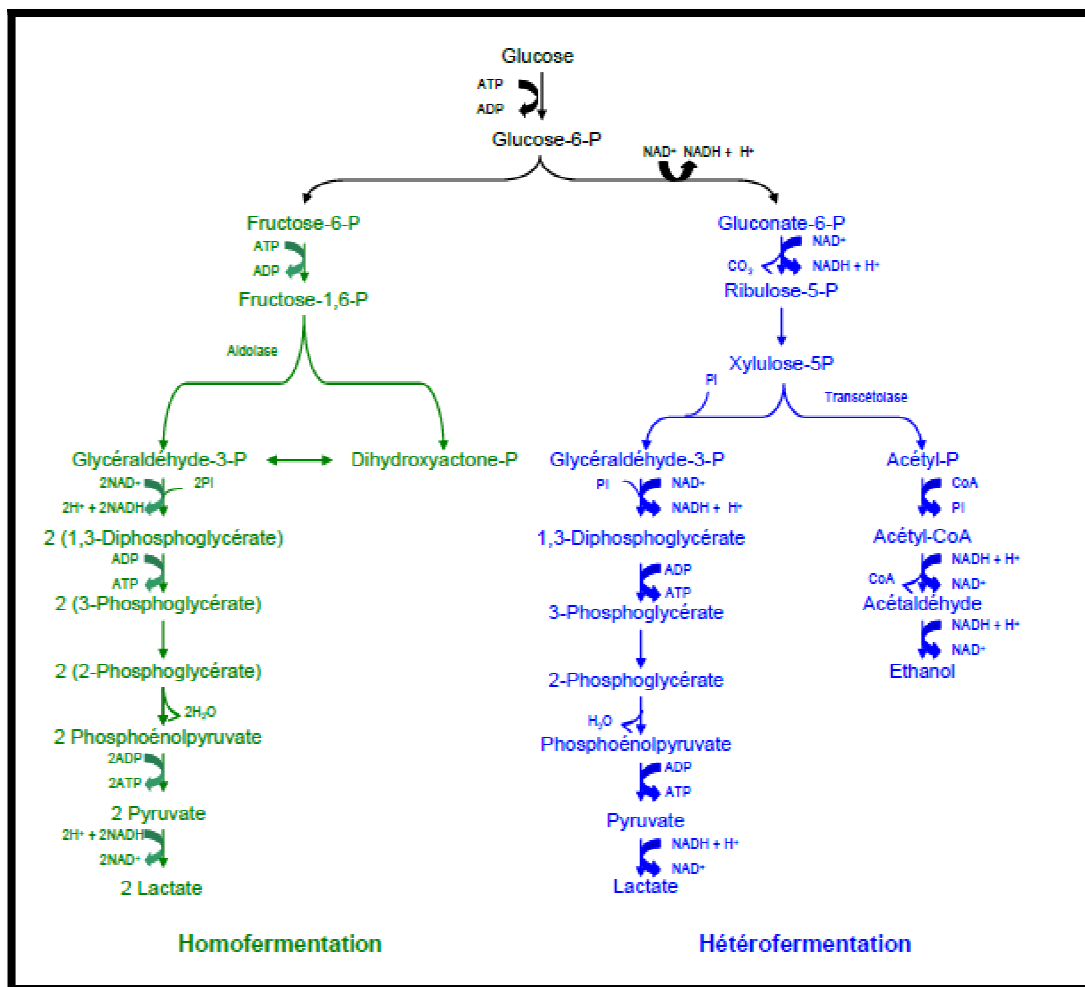


Figure 02: Représentation schématique des principales voies de fermentation des hexoses chez les bactéries lactiques (Makhloufi, 2012).

ATP : adénosine triphosphate. **ADP** : adénosine diphosphate. **NAD⁺/ NADH, H⁺** : Couple oxydant/réducteur du nicotinamide adénine dinucléotide. **Pi** : phosphate inorganique.

II.5.3 Voie homofermentaire

Les bactéries lactiques homofermentaires comprennent les espèces de lactocoques, pédiocoques, ainsi que certains lactobacilles. Cette voie conduit dans des conditions optimales de croissance à la production de deux molécules de lactate et deux molécules d'ATP par molécule de glucose consommée (Thompson *et al.*, 1994). Des sucres autres que le glucose peuvent également être fermentés via cette voie : monosaccharides, disaccharides, hexitols. Ces micro-organismes présentent un métabolisme de type homolactique lorsque le lactate représente plus de 90 % des produits de fermentation. Dans certaines conditions de croissance (certains sucres, limitation carbone.), le métabolisme de ces bactéries se diversifie vers un métabolisme mixte avec production en plus du lactate, de formiate, de CO₂, d'acétate et d'éthanol (Cocaign-Bousquet *et al.*, 1996).

La fructose-1,6-bisphosphate aldolase (FBA), est une enzyme clé présente chez toutes les espèces homofermentaires et indispensable au fonctionnement de la voie EMP. Cette enzyme catalyse la réaction menant à partir du fructose-1,6-bisphosphate (FBP) à deux molécules à 3 carbones, le dihydroxyacétone-phosphate (DHAP) et le glycéraldéhyde-3-phosphate (GAP).

II.5.4 Voie hétérofermentaire

Les bactéries lactiques qui fermentent le glucose en produisant, en plus de l'acide lactique (moins de 1,8 moles par mole de glucose), de l'acétate, de l'éthanol et du CO₂ sont dites hétérofermentaires (Thompson *et al.*, 1994). Les groupes principaux des bactéries présentant ce type de métabolisme sont les leuconostocs et certains lactobacilles.

Ces microorganismes sont dépourvus d'une FBA, d'une triose-phosphate isomérase (TPI) ainsi que d'un système PTS fonctionnel. Dans ces conditions, le glucose est accumulé par l'intermédiaire d'un transport actif puis subit une phosphorylation intracellulaire par le biais d'une glucokinase (GLK) ATP-dépendante. Le glucose-6-phosphate emprunte ensuite la partie oxydative de la voie des pentoses-phosphate qui conduit à la formation de xylulose-5-phosphate. Le xylulose-5-phosphate est scindé en acétyl-phosphate et glycéraldéhyde-3-phosphate par la D-xylulose-5-phosphate phosphocétolase, enzyme spécifique à la voie hétérofermentaire. Enfin, l'acétyl-phosphate est converti en éthanol ou en acétate, et le GAP qui rejoint la glycolyse est métabolisé en acide lactique. Le métabolisme hétérofermentaire est deux fois moins énergétique que le métabolisme homofermentaire puisqu'une mole de glucose conduit à la production d'une mole de lactate, d'éthanol, de CO₂ et d'un seul ATP.

II.6 Les propriétés antimicrobiennes des bactéries lactiques

On reconnaît depuis longtemps, aux bactéries lactiques, la propriété de produire des substances antibactériennes leur permettant de se développer préférentiellement dans divers

écosystèmes. L'activité antagoniste des bactéries lactiques est due aux métabolites excrétés : l'acide lactique et autres acides organiques, peroxyde d'hydrogène, Le dioxyde de carbone, Le diacétyl, La reutéline et les bactériocines (LEVEAU *et al.*, 1991 ; KLAENHAMMER *et al.*, 1994 ; De VUYST *et al.*, 2007).

II.6.1 Les acides organiques

Il est excrété par les bactéries lactiques assurant deux importantes fonctions antimicrobiennes. Sous leur forme indissociée, ils traversent passivement la membrane cytoplasmique et pour de fortes concentrations d'acides, le milieu intracellulaire peut s'acidifier à un point tel que les fonctions cellulaires sont inhibées et le potentiel membranaire annulé (KASET, 1987 ; KLAENHAMMER *et al.*, 1994).

II.6.2 Le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂)

En présence d'oxygène, les bactéries lactiques sont capables de produire du peroxyde d'hydrogène par l'action des oxydases, de flavoprotéines et du super oxyde dismutase. Comme les bactéries lactiques ne produisent pas de catalase à cause de l'absence d'une source hème, cela permet l'accumulation du peroxyde d'hydrogène, mais pas dans des quantités significatives, parce qu'il est quand même décomposé par des peroxydases et pseudocatalases. Son effet bactéricide a été attribué à son pouvoir oxydant (SALMINEN *et al.* 1998). En effet, JUVEN et PIERSON (1996) ont démontrés son effet cytotoxique sur la cellule bactérienne qui génère des espèces hautement toxiques, telles que le radical hydroxyle qui est à la base de l'oxydation des biomolécules (TAYLOR, 2005). De plus certaines réactions produisant H₂O₂ font disparaître l'oxygène, créant un environnement anaérobie non favorable à certains micro-organismes (SALMINEN *et al.* 1998).

Le peroxyde d'hydrogène confère aux bactéries lactiques un avantage de compétition puisqu'il a été démontré qu'elles sont moins sensibles que d'autres bactéries à ses effets, mais l'effet inhibiteur du peroxyde d'hydrogène reste généralement faible (ADAMS *et al.*, 2008). Le peroxyde d'hydrogène est une substance de préservation utilisée depuis longtemps pour le lait cru, dans des conditions où il peut être difficile de refroidir le lait rapidement. La concentration de H₂O₂ requise est de 300 à 800 ppm (GUIZANI, 2007).

II.6.3 Le dioxyde de carbone

Le dioxyde de carbone est produit principalement par les bactéries lactiques hétérofermentaires. Il peut jouer un rôle en créant un environnement anaérobie qui inhibe les décarboxylations enzymatiques, et l'accumulation de CO₂ dans la bicouche lipidique de la membrane peuvent provoquer un dysfonctionnement de la perméabilité (AMMOR *et al.*, 2006). Le CO₂ peut effectivement inhiber la croissance des micro-organismes colonisant des

nombreux produits alimentaires, notamment des bactéries psychrotrophes Gram-négatives (Farber, 1991).

II.6.4 Le diacétyl

Il est produit par des souches de *Lc. Lactisub* sp. *lactisbiovar. Diacetylactis* par la fermentation du citrate (LINDGREN *et al.*, 1990 ; COGAN *et al.*, 1993). Il est responsable de l'arôme et de la saveur du beurre et de quelques autres produits laitiers fermentés. (EARNSHAW, 1992).

Les concentrations nécessaires à l'obtention d'une inhibition sont de l'ordre de 100 ppm, et sont supérieures à celles présentes dans le beurre et susceptibles de provoquer son arôme (2 à 7 ppm) (CAPLICE *et al.*, 1999)

II.6.5 Reutéine

AXELSSON *et al.*, (1989) ont mis en évidence l'action inhibitrice d'une substance produite par *Lactobacillus reuteri*. Cette substance (reutéine) a été purifiée et identifiée. La reutéine (ou 3-hydroxypropionaldehyde) est une substance antimicrobienne qui est produite comme métabolite intermédiaire pendant la fermentation anaérobie du glycérol. La reutéine a un large spectre d'activité. Elle a une action contre les procaryotes (Gram-positif ou Gram-négatif), les eucaryotes, les virus, les champignons et les protozoaires. Elle interfère avec la réplication de l'ADN. Elle a des applications aussi bien dans le domaine médical que dans le domaine alimentaire (VOLLENWEIDER, 2004).

II.6.6 Les bactériocines

La détection de la première bactériocine remonte à 1925 par ANDRE GRATIA qui a observé que la croissance des certaines souches d'*Escherichia coli* a été inhibée en présence d'un composé antibactérien, dont il a donné le nom de colicin V. La découverte d'une bactériocine chez les lactocoques remonte à 1933. A cette époque, WHITEHEAD (1933) avait observé dans un lot du lait spécifique que la présence de deux souches de lactocoques inhibait la croissance d'un ferment de culture fromagère. En 1953, Jacob *et al.* proposèrent le terme général « Bactériocine ». Les bactériocines diffèrent de la plupart des antibiotiques thérapeutiques par leur composition protéique et possèdent généralement une spécificité d'action étroite contre les mêmes espèces (TAGG *et al.* 1976). Différentes définitions des bactériocines ont été données au cours du temps. Cependant, la définition qui reste la plus largement acceptée est celle de KLAENHAMMER (1988) qui définit les bactériocines comme des protéines, ou complexes de protéines, avec une activité bactéricide contre des espèces proches de la souche productrice. Les bactériocines représentent une large classe de substances antagonistes qui varient considérablement du point de vue de leur poids

moléculaire, de leur propriété biochimique, de leur spectre d'action et de leur mode d'action (KLAENHAMMER, 1988). Toutes les bactériocines produites par des bactéries lactiques décrites jusqu'à présent ont une activité dirigée contre les bactéries Gram-positives. Aucune bactériocine produite par des bactéries lactiques avec une activité contre des bactéries Gram-négatives n'a été décrite. En effet, la membrane externe des bactéries Gram-négatives ne permet pas aux bactériocines d'atteindre la membrane interne, siège de leur activité. (SALMINEN *et al.* 1998).

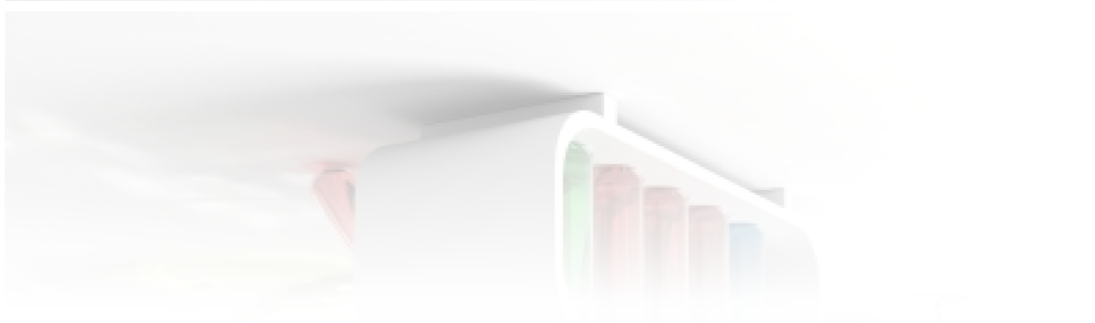
II.7 Intérêt des bactéries lactiques

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

II.7.1 Dans l'industrie alimentaire : les bactéries lactiques sont impliquées dans la fermentation et la bio-conservation des différents aliments. Elles sont aussi 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 des conservateurs chimiques grâce aux substances antimicrobiennes qu'elles secrètent (Dortu *et al.*, 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 et de conservation, et maintenance des propriétés désirables durant le stockage (Marth *et al.*, 2001).

II.7.2 Dans le domaine thérapeutique : étant des probiotiques, les bactéries lactiques apportent des bénéfices à l'hôte en conférant une balance de la microflore intestinale, et en jouant également un rôle important dans la maturation du système immunitaire. Différentes études ont démontrés le rôle préventif aussi bien que curatif de ces bactéries sur plusieurs types des diarrhées. D'autres ont cité leur capacité de diminuer les allergies liées aux aliments grâce à leur activité protéolytique. Certaines souches sont utilisées sous forme des 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 (Yateem *et al.*, 2008).

Matériel et Méthodes



III. Matériel et méthodes

Ce travail décrit l'isolement, purification, identification et l'étude de l'activité antimicrobienne des souches des bactéries lactiques isolé à partir des laits crus et aussi a monter l'importance des laits et des bactéries lactiques du ponit de vue production des substances inhibitrices des microorganismes pathogènes.

III.1 Echantillonnage

Les échantillons du lait cru de chamelle, de chèvre et de vache sont approvisionnés de la région de ARAAIR (zone agricole) commune d'EL-OUED. Il a été prélevé dans des conditions d'asepsie dans des flacons stériles de 180 ml. Le lait est conservé à 4 °C au niveau de laboratoire de l'université.

III.2 Caractérisation des échantillons du lait

Afin d'avoir une idée sur la qualité physicochimique et biochimique des laits collectés, plusieurs paramètres sont à déterminer:

III.2.1 Le pH:

La mesure du pH est effectuée à la même température. la valeur est lue directement sur le pH mètre après immersion de l'électrode dans l'échantillon à analyser. Les mesures sont précédées d'une étape d'étalonnage qui consiste en un ajustement du cadre de lecture du pH à l'aide d'une solution de pH connue (solution de Ph étalon) (ANONYME 1 ,1980).

III.2.2 La densité:

La densité du lait est déterminée à l'aide d'un lactodensimètre graduée, dans une éprouvette de 250 ml remplie de l'échantillon à analyser, la lecture directe donne la valeur de la densité (ANONYME 2 ,1986)

III.2.3 L'acidité:.

La mesure de l'acidité titrable du lait est réalisée selon la méthode normalisée (ANONYME 1 , 1980).celle-ci consiste en la mesure du volume de la solution de NaOH (0.1N) nécessaire à la titration de l'acidité du lait, en présence de phénolphtaléine comme indicateur. La valeur de l'acidité du lait est obtenue par formule suivante:

$$A=10(V/V') \text{ (g/l)}$$

A: quantité d'acide lactique en (g/l)

V:volume de la solution de NaOH utilisé (ml)

V':volume de l'échantillon

Pour obtenir l'acidité titrable en degrés DORNIC(°D), la valeur de A est multipliée par 10.

III.2.4 Dosage des protéines

La teneur en protéine totales a été déterminée par la méthode de lowry. Son principe repose sur le développement d'une coloration bleu foncée suite à l'addition protéique d'un sel de cuivre alcalin puis de réactif de folin-ciocalteu. la coloration résulte de la réaction du cuivre avec les liaisons peptidique et la réduction de l'acide phospho-tungstomolybdique par la tyrosine, le tryptophane et la cystéine. Les espèces réduites absorbent la lumière à 750 nm. Le dosage des protéines s'effectue à cette longueur d'onde en utilisant un spectrophotomètre visible. La concentration en protéine de l'échantillon analysé est déterminée en se référant à une courbe d'étalonnage établie en employant de l'albumine sérique (GUILLOU *et al.*, 1986)

III.2.5 Dosage de lactose:

Le lactose est dosé selon la méthode de Bertrand (ANONYME 3 ,1993). C'est une méthode titrimétrique basée sur la réaction à chaud d'une solution de liqueur de Fehling qui renferme des ions Cu^{2+} (cuivre II), de couleur bleu en milieu basique .a chaud en présence d'une substance réductrice, la liqueur de Fehling donne un précipité rouge d'oxyde de cuivre Cu_2O (cuivre I) (RODIE, 1984)

III.3 Isolement et culture des bactéries lactiques :

Les échantillons des laits sont réparties en tube stériles à raison de 10 ml par tube. Des dilutions décimales (10^{-1} à 10^{-4}) du lait sont réalisé dans l'eau physiologique à partir de 1 ml de la suspension mère. 1 ml de chaque dilution et ensemencé dans la masse de la gélose nutritive puis les boîtes sont incubées a 37 °C dans l'étuve.

III.4 Purification et conservation des souches :

Après la croissance bactérienne, 2 à 3 colonies sont prélevés et sur les quelles on effectue une coloration du GRAM et une recherche de la catalase. Seul les bactéries à GRAM^+ et catalase négatif ont été retenues pour chaque échantillon 3 à 4 colonies sont prélevées sur les milieux nutritives et repiquées sur milieu gélose nutritive Après la purification, les souches sont conservées par la méthode de:

III.4.1 Conservation à courte terme:

les souches pures étaient ensemencées dans des tubes de gélose inclinée, après l'incubation les tubes sont placées au réfrigérateur et le renouvellement des souches se fait toute les 4 semaines.

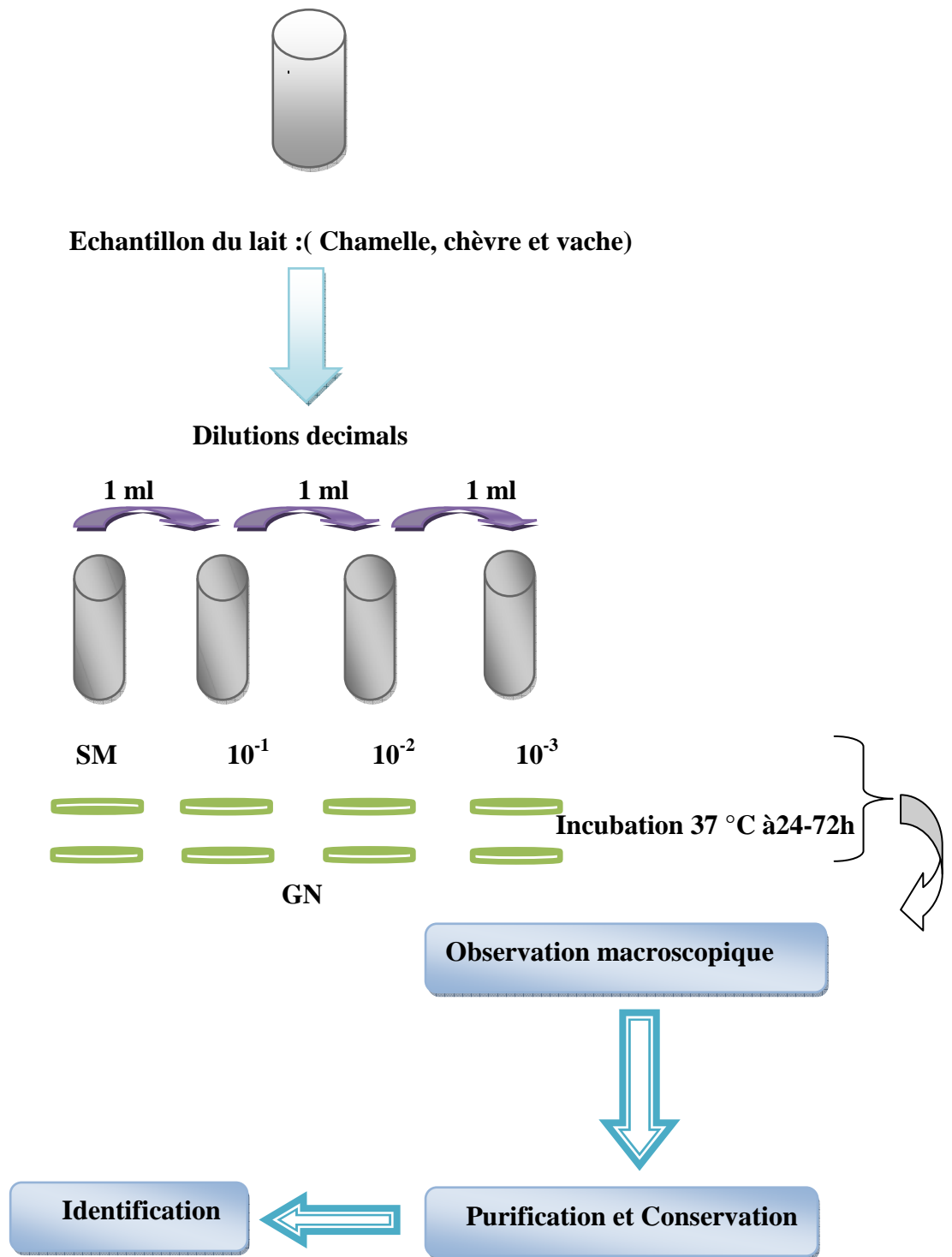


Figure (03) : Protocole d'isolement des souches lactiques

III.5 Description des souches pathogènes :

Pour les tests de l'activité antibactérienne, nous avons utilisés 4 souches bactériennes pathogènes. Ces bactéries provient de l'université de bijaia. Ces souches sont : *Candida albicans* , *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas* et *E.Coli*.

Tableau 05: Les souches pathogènes utilisées

Type de souche	Forme	Observation microscopique	Mouvement
<i>E.Coli</i>	Bacille	Gram -	Immobile
<i>Staphylococcus</i>	cocci	Gram +	Immobile
<i>Pseudomonas sp</i>	Bacille	Gram -	mobile
<i>Candida albican</i>	bourgeonnant	/	Immobile

III.6 Identification des isolats

III.6.1 Critères morphologiques:

III.6.1.1 Caractéristiques macroscopiques

L'examen macroscopique est porté sur l'observation macroscopique qui permet de décrire l'aspect des colonies bactériennes (forme, taille, pigmentation, couleur ...)

III.6.1.2 Caractéristiques microscopiques :

La coloration de Gram a été utilisée pour classer les bactéries selon leur Gram et leur morphologie sous microscope optique.

III.6.2 Critères physiologique et biochimique

III.6.2.1 Test de catalase: le test de catalase sert à démontrer si la bactérie possède l'enzyme catalase servant à décomposer le peroxyde d'hydrogène; l'activité catalytique consiste à prélever une colonie sur gélose nutritive et dissociée dans une goutte d'eau oxygénée (H₂O₂) à 10 volumes, l'apparition de bulles révélant le dégagement d'oxygène (Ahmed *et al.*, 2007).

III.7 Sélection des souches lactiques antimicrobiennes

III.7.1.1 Préparation des pré cultures des bactéries (pathogènes) :

Les bactéries pathogènes sont repiquées dans la gélose nutritive à 37 ±1°C pendant 24 h et Pour la levure, *Candida albicans* aussi.

III.7.1.2 Méthode d'inhibition bactérienne en gélose :

Pour étudier l'activité antimicrobienne des souches, la méthode de Barfoot et kaenhammer (1983) a été adoptée avec une légère modification (figure 4).

L'activité antimicrobienne des bactéries lactiques est évaluée contre les souches pathogènes. Les bactéries lactiques sont mises en culture dans le gélose nutritive et les pathogènes sont eux aussi initialement cultivés dans leurs milieux.

Schématiquement, un spot de 5 μ l de la suspension des bactéries lactiques à tester provenant d'une nuit et déposé dans des puits sur le MULLER-HINTON. Puis on prépare la solution des bactéries pathogènes dans 1 ml de l'eau physiologique on met les colonies pathogènes repiquées sur GN après, on diffuse une quantité de suspension sur le gélose qui contient les puits des bactéries lactiques.

L'incubation se fait à 37°C pendant 48h pour les bactéries et pendant 48 à 72h à 30°C pour la levure. Une zone claire autour du spot des bactéries lactiques est considérée comme une inhibition positive et ce traduit par la mesure des diamètres. (Samot *et al.*, 2013; Fleming *et al.*, 1975).

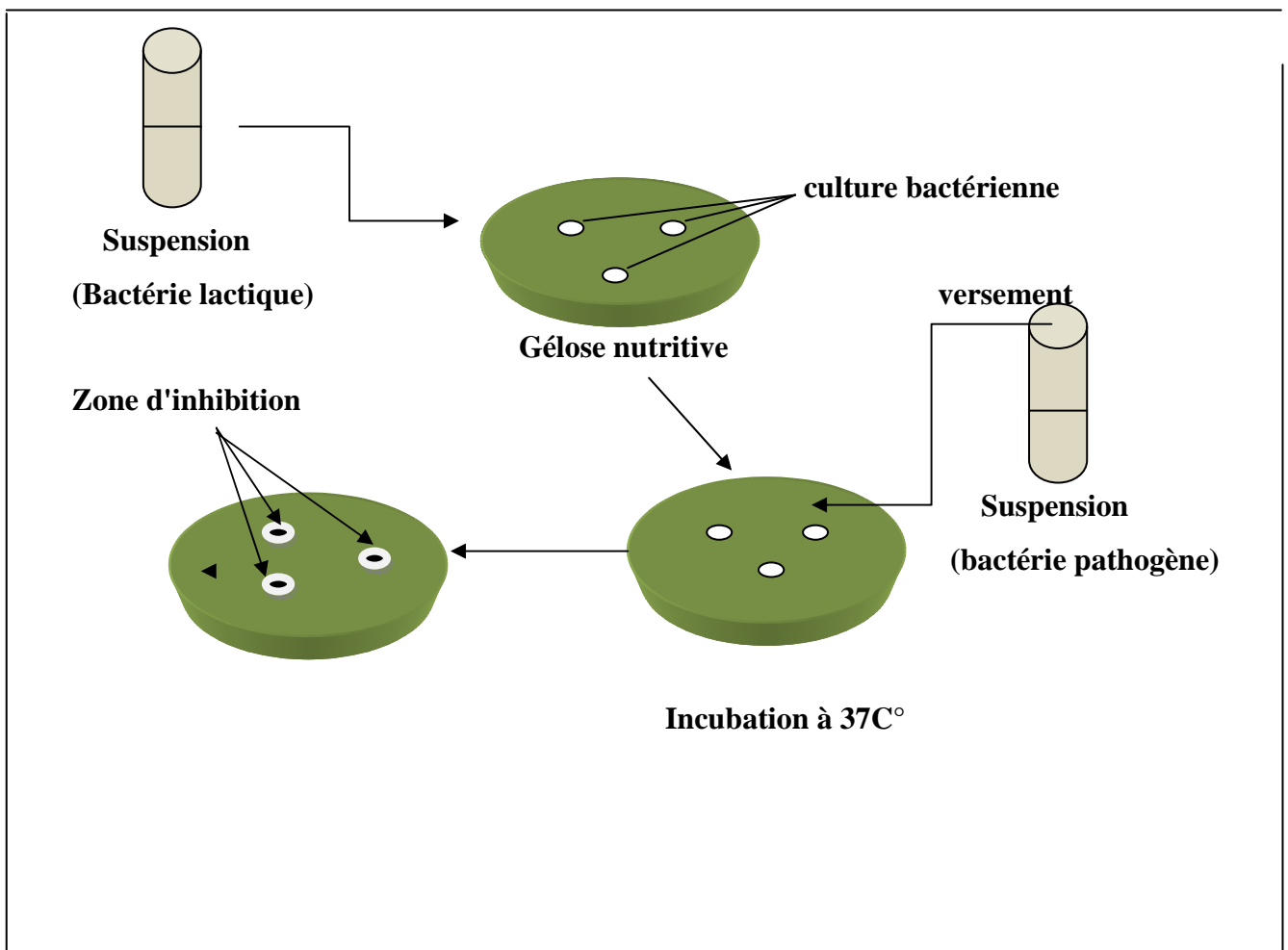


Figure 04: Recherche de substance antimicrobienne

III.7.2 Mesure de diamètre des zones d'inhibition

L'effet antibactérien des surnageants des bactéries lactique isolées est mis en évidence par l'apparition d'une zone d'inhibition (zone claire) autour des puits. La lecture de l'activité inhibitrice se fait par la mesure du diamètre d'inhibition autour des puits (Z_i), exprimée en mm (ALLOUACHE *et al.*, 2010). Une inhibition est considérée positive si le diamètre est supérieur à 2 mm THOMPSON *et al* (1984) cité par DOUMANDJI *et al* (2010). La mesure du diamètre d'inhibition (Z_i) est effectuée selon la formule suivante:

Z_i en (mm) = diamètre de la zone d'inhibition obtenue (mm) – diamètre de puit.

Résultats et discussion

IV. Résultats et discussion

IV.1 Analyse organoleptique des échantillons du lait :

Les caractéristiques organoleptiques des échantillons des laits sont mentionnées dans le tableau 06.

Tableau 06: Résultats des analyses organoleptique

Echantillon	Lait camelin	Lait bovin	Lait caprin
Caractéristiques			
Couleur	Blanc opaque	Blanc jaunâtre	Blanc opaque
Gout	Légèrement Sale	Aucune Particularité	Légèrement sucré
Odeur	Forte	Légère	Légère

La couleur blanche du lait camelin est due à l'absence de la riboflavine responsable de la couleur blanc-jaunâtre du lait bovin. La présence de la β -carotène est responsable de la couleur jaunâtre de la matière grasse du lait bovin. Cette vitamine liposoluble, absente dans le lait camelin est responsable de la couleur blanche de la matière grasse de ce lait (YAGIL *et al.*, 1980 ; EL-AGAMY, 1994 ; WANGOH *et al.*, 1998 ; FARAH, 2004). Le lait de chèvre est plus blanc que le lait de vache (CHILLIARD, 1997). Cette blancheur se répercute sur les produits laitiers caprins (DUTEURTRE *et al.*, 2005).

le goût du lait de chamelle dépendrait de la nature des fourrages broutés (YAGIL *et al.*, 1980 ; EL-AGAMY, 1994 ; WANGOH *et a.*, 1998). A un gout légèrement salé que le lait bovin qui n'ont aucun gout particulier. Le lait caprin a une gout légèrement sucré (DUTEURTRE *et al.*, 2005). Il est caractérisé par une flaveur particulière et un gout plus relevé que le lait de vache (ZELLER, 2005 ; JOUYANDEH *et al.*, 2010).

IV.2 Analyses physico-chimiques:

Les résultats de mesure de pH, acidité et densité des trois échantillons qui présentant les trois types des laits que nous avons obtenus sont représentés dans le tableau suivante:

Tableau 07 : Résultats physico-chimique des échantillons analysé.

le lait ph	Camelin (01)	Bovin (02)	Caprin(03)
pH	6.29	6.48	6.22
Acidité	18.56	15.27	11.53
Densité à 20°C	1.027	1.035	1.026

IV.2.1 Le Ph:

En observant le tableau ci-dessus nous remarquons que les deux échantillons (1et 3) possèdent presque la même valeur de pH qui égale à 6.29 pour l'échantillon 3 (le lait caprin) et 6.22 pour l'échantillon 1 (lait camelin).alors que l'échantillon 2 (bovin) possède le valeur de 6.48.

Le lait camelin serait légèrement plus acide que le lait bovin et caprin qui ont des pH respectifs égaux à 6.48 et 6.29 . ceci peut être du à une forte concentration en acide gras volatiles (YAGIL, 1985). SIBOUKEUR (2005) a signalé une valeur de pH du lait camelin se situant dans la même gamme (6,31). Il est connu que le pH du lait camelin est plus bas comparativement au lait bovin (pH :6,6)(SIBOUKEUR, 2007). tandis que le lait caprin presque près au valeur qui le caractérise de (6.45-6.90) (REMEUF *et al* , 1989).

VIGNOLA (2002) signale que le pH du lait dépend principalement de la présence de caséines et des anions phosphoriques et citriques.

IV.2.2 L'acidité Dornic :

L'acidité titrable pour les 3 échantillons des différents types des laits sont presque différente. l'échantillon 1 enregistre une acidité Dornic égale 18.56°D , alors que l'échantillon 2 possède 15.27°D. par contre le lait caprin enregistre 11.53°D.l'acidité Dornic du lait bovin est relativement faible par rapport le lait camelin et caprin .

Les valeurs de l'acidité Dornic obtenues dans cette étude pour le lait camelin se situent dans la fourchette des travaux rapportés par certains auteurs soit 18,2 °D (SIBOUKEUR, 2007), 18 °D KHASKHELI *et al.* (2005) en Inde. concernant l'acidité du lait de chèvre reste assez stable durant la lactation .elle oscille entre 16 et 17 d'acide lactique (VEINOGLU *et al*, 1982).

IV.2.3 La Densité :

Les densités mesurées du lait camelin et caprin sont respectivement égaux 1.027 ,1.026. Elles sont inférieures à celle relevée pour l'échantillon du lait bovin (1,035).

Le lait camelin est moins dense ($d= 1,027\pm 0,003$) que le lait de vache (SBOUI, 2009).

IV.3 Analyse biochimique:

Afin de situer la richesse relative de différent type du lait , nous avons dosé les principaux éléments nutritive composante du lait. les résultats d'analyse est présente dans le tableau suivante:

Tableau 08: Résultats d'analyse biochimique

Paramètre	Lait camelin	Lait bovin	Lait caprin
Lactose (g/l)	35.24	38.13	40.6
Caseines (g/l)	27.77	26.65	21.5

La teneur moyenne en lactose du lait camelin collecté est égale à 35.24g/l. cette teneur est inférieure a celle du lait bovin (38.13g/l). Le lait caprin est égale 40.6g/l. Ces résultats reflètent une certaine différence dans les teneurs en lactose des trois laits comparés. Le lait camelin est toutefois supérieure à celle rapporté par GORBAN et IZZELDIN (1997) avec 25.6 g/l . et plus faible que celle rapportés par de nombreux auteurs à savoir GNAN et SHEREHA (1986) avec 56.1g/l .KIHAL *et al.*, (1999) avec (45.1 g/l) . pour le lait caprin DECANDIA *et al.*, (2007) rapporte une valeur moyenne de 43.5g/l .

Pour le caséine, la teneur en caséines des échantillons du lait analysés est égale à 27.77g/l pour le lait camelin. Elle se rapproche de celle des caséines bovines (26.56g/l). La teneur en caséine camelines enregistrée dans cette étude est similaire à celle enregistrée par KAMOUN (1994) avec 28.8 g/l par contre, elle semble être légèrement inférieure à celle rapportée par KIHALL *et al.*,(1999) sur une étude réalisée en Algérie avec 24.53g/l, alors que la teneur en caséine pour le lait caprin REMEUF et LENIOR (1985) font état d'un plus grand écart avec 21.1 g/l .CHAITTI *et al* (2006) avec 22.3g/l et MASLE et MORGAN (2001) avec 24.1 g/l .

IV.4 Isolement et culture des souches lactiques :

IV.4.1 Examen macroscopique

Les résultats de l'examen macroscopique est illustré dans le tableau 09.

Tableau 09 : Aspects macroscopiques et milieux d'isolement des souches

Origine	Type	Code de la souche	Milieu d'isolement	Observation Macroscopique
EL-OUED	Lait camelin	S1	GN 37°C	Blanche, bombé et petite
		S2	GN 37°C	Gris, aplatie et grande
	Lait bovin	S3	GN 37°C	Blanche, bombé et petite
		S4	GN 37°C	Gris, aplatie et petite
	Lait caprin	S5	GN 37°C	Blanche, bombé et petite
		S6	GN 37°C	Gris, aplatie et grande

Les cultures obtenues sur des boîtes de Pétri sont observées à l'œil nu pour caractériser la forme, la taille, l'aspect ainsi que la couleur des colonies (Badis et *al.*, 2006). L'examen macroscopique des cultures sur milieux GN montre que les colonies sont de couleur soit de gris ou blanchâtre et la plupart d'entre eux possèdent une taille petite et grande pour certaines.



Figure 05 : Aspect macroscopique sur milieu GN de quelque souche des bactéries lactique après 48h d'incubation à 37 °C.

IV.4.2 Examen microscopique :

Les résultats de cet examen présente que les bactéries « Gram-positif » apparaissent en violet foncé tandis que les bactéries « Gram-négatif » sont colorées en rose. (Delarras, 2007). Le tableau ci-dessous résume ces résultats

Tableau 10 : Résultats des tests de catalase et coloration de Gram et aspect microscopique des souches

Code	Coloration de Gram	Catalase	Forme	Regroupement
S1	+	-	Coque	Chaînette
S2	+	-	Coque	Chaînette
S3	+	-	Coque	Chaînette
S4	+	-	Coque	Chaînette
S5	+	-	Coque	Chaînette
S6	+	-	Coque	Chaînette

Après la coloration de Gram, on a passé à l'observation microscopique au (Gx10), (Gx40) et (Gx100) avec l'huile à immersion, où on a pu observer que les bactéries étaient Gram positives. Apparaissant généralement sous formes de coques avec un mode d'associations généralement en chaînette (figure 6,7) .

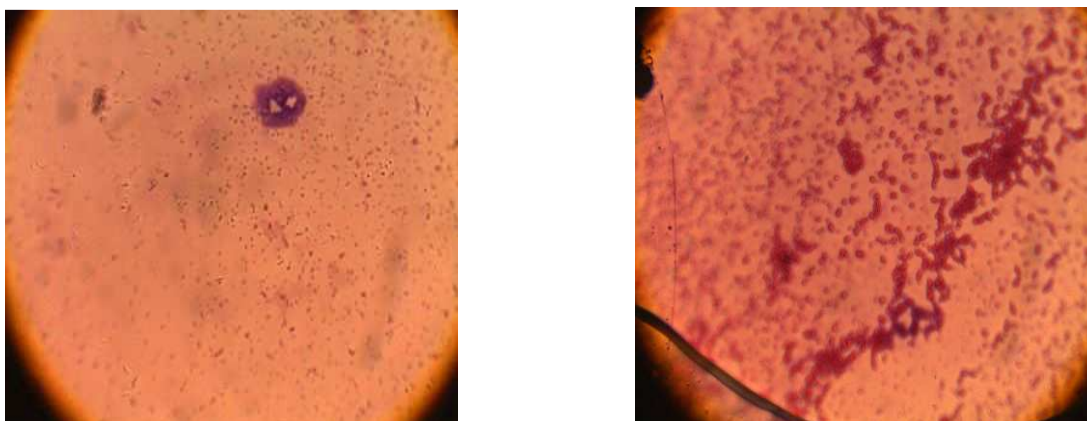


Figure 06 : Observation microscopique de quelques souches lactiques après la coloration de Gram (Gx40)

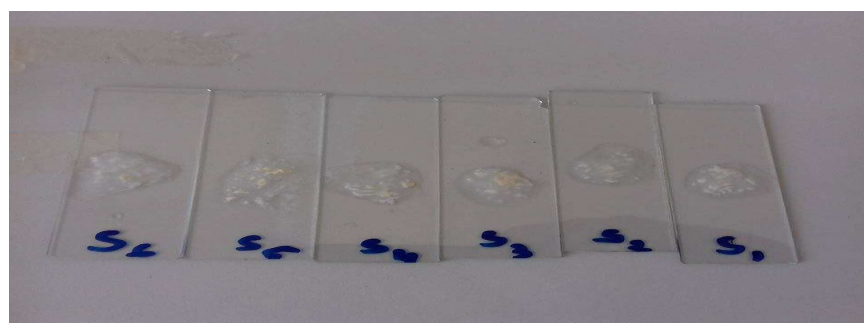


Figure 07 : Résultats de test de catalase.

Après le test de catalase on trouve que les 6 souches après les menées par H_2O_2 ne forment aucune bulle d'air, donc le test est une catalase négative.

IV.4 Résultats de l'activité antimicrobienne

IV.4.1 Antagonisme bactéries lactiques et microorganismes pathogènes

La capacité de compétition des bactéries lactiques résulte de leur activité fermentaire associée à la production des divers composés antimicrobiens dans le but d'inhiber la prolifération des microorganismes. Des nombreuses substances à activité antagoniste produites par les bactéries lactiques ont régulièrement été mises en évidence (Rodrigues *et al.*, 2002).

Afin d'évaluer leur potentiel antimicrobienne, le spectre d'activité de ces souches a été élargi à une gamme des souches des bactéries pathogènes et/ou altérantes à Gram positif et à Gram négatif (figure 06). La méthode de spots sur gélose a été choisie pour cet objectif car c'est une méthode simple qui permet de tester l'effet de plusieurs bactéries lactiques à la fois vis-à-vis d'une souche indicatrice (Polak Berecka *et al.*, 2009).

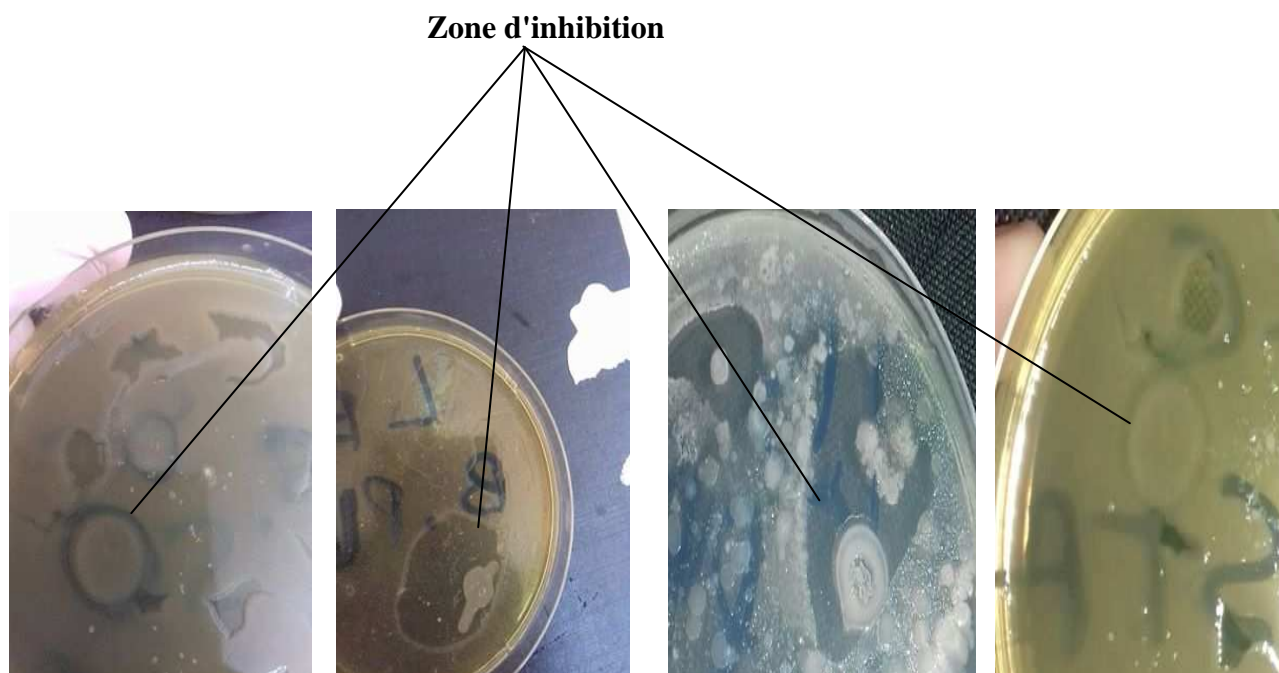


Figure 08: l'effet des bactéries lactiques sur les souches pathogène

Tableau 11: Diamètre des zones d'inhibition des souches utilisé en mm.

Ech S pathogène	Lait camelin		Lait bovin		Lait caprin	
	S1	S2	S3	S4	S5	S6
<i>E.coli</i>	4	3	8	7	5	5
<i>Staphylococcus</i>	6	7	10	13	5	7
<i>Pseudomonas</i>	7	10	7	14	14	2
<i>Candida</i>	7	10	7	10	10	10

Les résultats obtenus au niveau de la figure (08) ont démontré la présence des zones d'inhibition autour des spots traduisant ainsi une activité inhibitrice des souches lactiques testées contre la totalité des souches cibles utilisées. Le tableau (11) représente les moyennes des diamètres d'inhibition exprimées en millimètres obtenues pour chaque souche. Le pouvoir inhibiteur des bactéries lactiques, d'origine laitière ou autre, contre des bactéries pathogènes et altérantes a été mentionnée par plusieurs auteurs (De Martinis *et al.*, 2001 ; Anas *et al.*, 2008 ; Yateem *et al.*, 2008 ; Moraes *et al.*, 2010 ; Abrams *et al.*, 2011 ; Castro *et al.*, 2011).

IV.4.1.1 Antagonisme bactéries lactiques / *Escherichia coli*

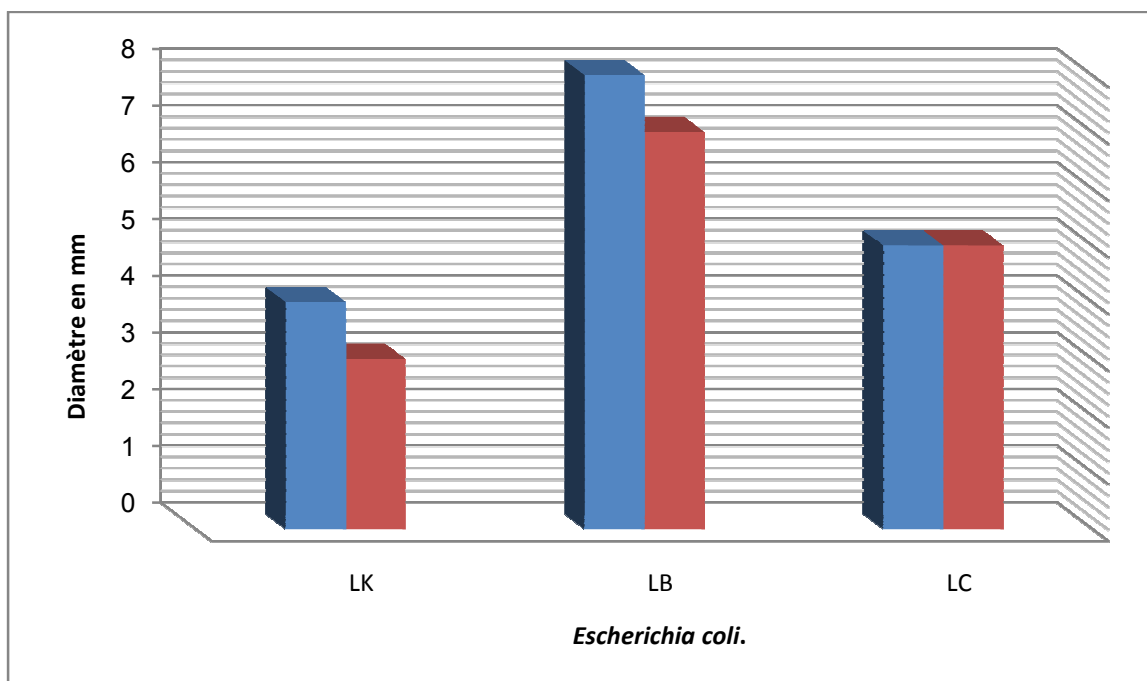


Figure 09: Interactions entre les souches de bactéries lactiques et *Escherichia coli*.

La figure 09 montre que les souches S1, S2, S5 et S6 ayant une activité très faible vis-à-vis d'*Escherichia coli*., qu'il représente une zone d'inhibition de diamètre moins ou égale 5

mm. Les souches S3 et S4 ont une activité faible vis-à-vis d'*Escherichia coli*. de diamètre moins de 10 mm.

IV.4.1.2 Antagonisme bactéries lactiques / *Staphylococcus aureus* :

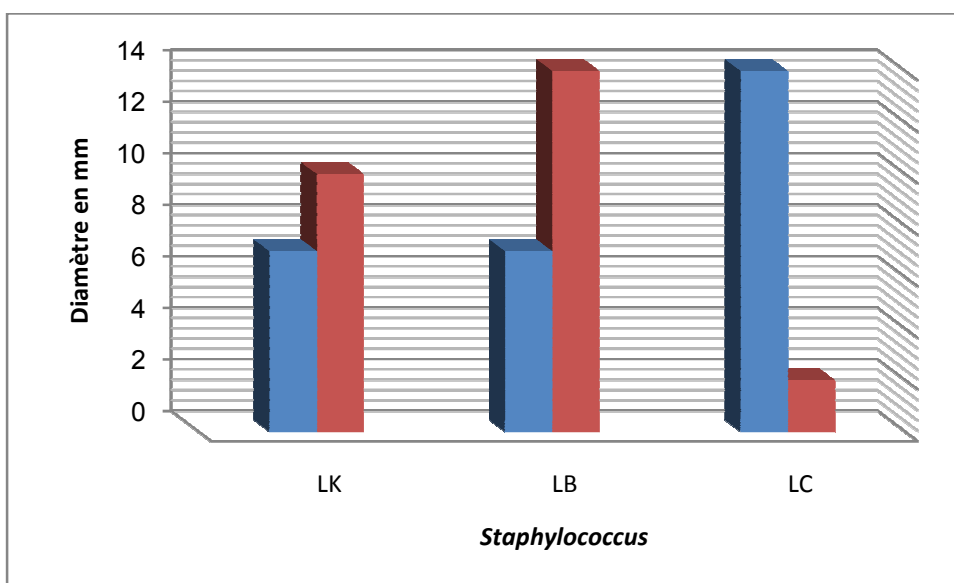


Figure 10: Interactions entre les souches de bactéries lactiques et *Staphylococcus aureus*.

En remarquant dans la figure précédente, nous distinguons un diamètre de zone d'inhibition qui égale à 14 mm pour les deux souches S4,S5 donc ayant une forte activité vis- à- vis *Staphylococcus* avec S2 . Et une faible activité pour S1,S3 et très faible activité pour S2.

IV.4.1.3 Antagonisme bactéries lactiques / *Pseudomonas aeruginosa*:

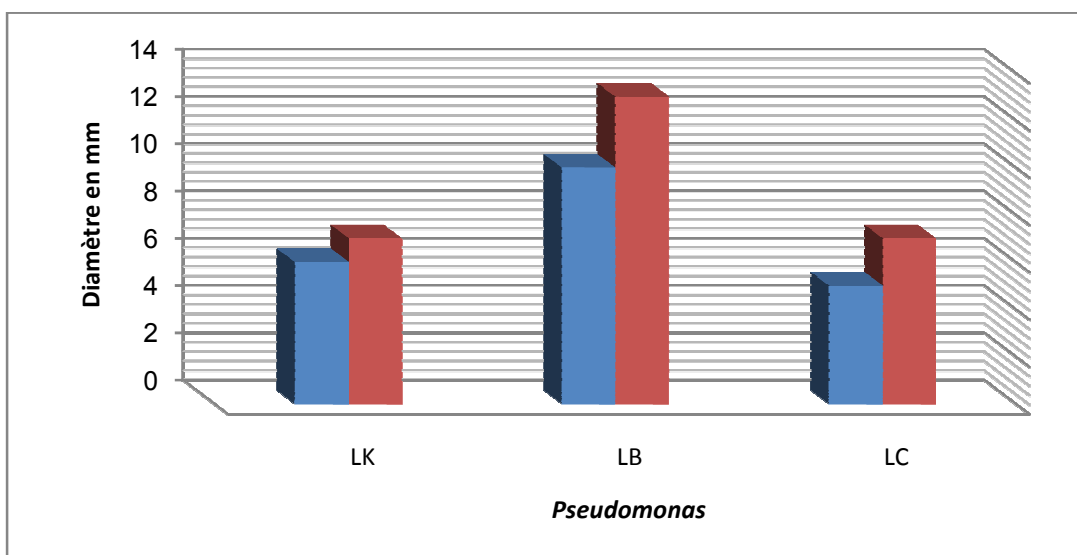


Figure 11: Interactions entre les souches de bactéries lactiques et *Pseudomonas aeruginosa*

En remarquant une activité faible pour S1.S2.S5.S6 avec une diamètre entre 5 et 7 .et une activité forte pour S3.S4.

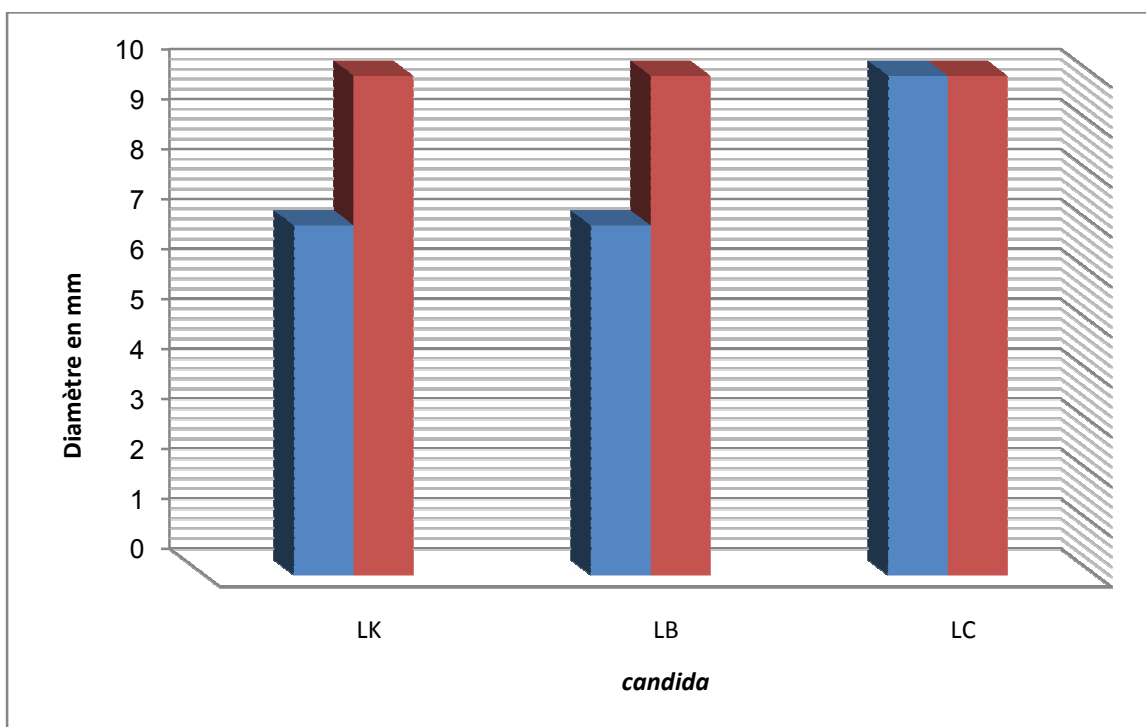
IV.4.1.4 Antagonisme bactéries lactiques / *Candida albicans*:

Figure12: Interactions entre les souches de bactéries lactiques et *Candida albicans*

La figure 12 présente une faible activité pour les souches S1.S3. alors que les souches S2.S4.S5.S6 ayant une activité forte vis –à-vis le *Candida*.

Enfin nous avons trouvés que nos résultats d’antagonisme concordent avec celles de Boudjani (2009), les diamètres des zones d’inhibition de bactéries lactiques isolées du lait cru de vache peuvent atteindre environ 20 mm.

Ces valeurs trouvées peuvent coïncident avec les travaux de Bouzid (2008), où les diamètres des zones d’inhibition des bactéries lactiques isolées du lait de chamelle sont de l’ordre de 11mm jusqu’au 17 mm.

Elles se diffèrent des travaux de Savadogo *et al.*, (2004), où les diamètres des zones d’inhibition des bactéries lactiques isolées du lait fermenté sont de l’ordre de 9 à 10 mm vis-à-vis de *Staphylococcus.aureus* et de 8 à 9 mm vis-à-vis d’*E. coli*.

En comparaison avec les travaux de Benmammer et Hamsi (2003), qu’ont trouvé des zones inhibition des souches de *Staphylococcus. aureus* (6 à 10 mm), *E. coli* (2 à 4mm), nos souches sont plus actives.

Yateem *et al.* (2008) ont isolé des souches lactiques à partir du lait de chamelle au Kuwait dont l’effet antagoniste s’était exercé uniquement sur les bactéries à Gram négatif (*Salmonella ssp* et *E. coli*), mais aucun effet n’a été détecté sur *Staphylococcus aureus*. Au

contraire, Ammor et *a l.* (2006) ont isolé des souches lactiques dont l'effet antagoniste était restreint aux bactéries à Gram positif, celles à Gram négatif étant résistantes. Il est à noter que parmi les 06 souches lactiques isolées dans cette étude, celles provenant du lait de chamelle étaient plus performantes avec un spectre d'activité large sur les bactéries indésirables testées dans ce travail. Ceci peut expliquer la longue durée de conservation du lait de chamelle et son intérêt thérapeutique (Hassan et *a l.*, 2008).

Conclusion

Le lait constitue une ressource alimentaire inestimable pour les populations de notre pays qui le consomme à l'état frais ou fermenté. C'est un produit relativement riche en éléments nutritifs de base. Il dispose d'un système protecteur et auto-épuratif naturel qui lui permet de se conserver relativement (GOUTTAYA *et al.*, 2013).

Une analyse préliminaire, réalisée sur les trois types du lait frais prélevé localement, provenant des fermes de région d'ARAAIR (El-Oued). Ces échantillons ont subis des tests biochimiques et physico-chimique. ces tests réalisée sont montrés que ces échantillons Possédaient une qualité hygiénique plus ou moins acceptable avec les résultats obtenu . pour le Ph (6.22 ,6.48, 6.29) , densité (26. 35. 27) , l'acidité (11.53,15.27,8.48) respectivement pour (camelin, bovin,caprin). Afin d'avoir une idée sur la qualité et le degré d'efficacité du système protecteur du ces types du lait.

L'isolement et l'identification des bactéries lactiques a été effectué à partir du différentes types du lait: chamelle, vache et chèvre provient de la région d EL-OUED a permis d'isoler six souches caractérisées par leur forme coque, gram positif et catalase négative.

Ces six isolats sont retenus et ont été testées pour déterminer leurs activités antimicrobiennes vis-à-vis des souches pathogènes à GRAM⁺ ((*Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas sp*) GRAM⁻ (*Escherichia coli*) et d'une levure *candida*.

Les résultats d'inhibition révèlent que les 6 souches ayant une activité antibactérienne varie de très faible à forte vis –à –vis les souches pathogènes utilisé.

Ce modeste travail a permis de monter l'importance des laits et des bactéries lactiques du ponit de vue production des substances inhibitrices des microorganismes pathogènes, de même cette étude doit être complétée d'autres travaux visant à :

- Identifier plus profondément les souches lactiques en question.
- Déterminer les substances inhibitrices sécrétées par ces souches.

Références bibliographiques

- **Anonyme. 2013.** Ministère de l'agriculture et du développement rural d'Algérie .
- **CIPC Lait Commission Interprofessionnelle des Pratiques Contractuelles (2011).** Avis relatif à la définition et aux méthodes d'analyse de l'acidité du lait n°2011-02.
- **Deforges J., Derens E., Rosset R. et Serrand M. 1999.** Maîtrise de la chaîne du froid des produits laitiers réfrigérés. Edition Cemagref Tec et Doc, Paris.
- **Desmazeaud M.J. et De Roissart H., 1994.** Métabolisme général des bactéries
- **Gaursaud , J.1985.** Le lait de vache , composition et propriétés physico –chimique .In : lait et produit laitier vache-brebis –chèvre .(tome 1).Ed : Masson, paris,p: 25-36.
- **KHASKHELI M., ARAIN M. A., CHAUDHRY S., SOOMRO A. H. et QURESHI T. A. (2005).** Physico-chemical quality of camel milk. Journal of Agriculture and Social Sciences, (2). P. 164-166.
- **KIHAL, M ., prevost , H., lhotte , M .E., Huang ,D.Q ., et divies , C., 1996.** Instabilité de plasmide –encodé citrate perméase dans leuconostoc . J .Appl . Microbiol .37:1041-1043.
- **Abdel-rahim A.G. 1987.** La composition chimique et la valeur nutritionnelle du lait de chameau (camelus dromedaries) et de chèvre (capra hircus) . world Rev.Anim.prod 23: 9-11.
- **Abrams, D., Barbosa, J., Albano, H., Silva, J., Gibbs, P. A., Teixeira, P. (2011).** Caractérisation de bacPPK34 un bactériocine produit par *Pediococcus pentosaceus* souche K34 isolée de "Alheira". Food Control, 22: 940-946.
- **ADAMS. et MOSS. 2008.** Efficacité antimicrobienne des épices: une approche pour l'utilisation dans l'alimentation.
- **Ahlem abbabsa,2012** .mémoire de magistère, Recherche de bactériocines produites par les bactéries lactiques du lait, univ Ferhat Abbas .setif
- **Ahmed Faris mohd Adnane , Irene K.P. Tan , 2007.** Isolation de bactéries acides lactiques de produits alimentaires malaisiens et évaluation de l'isolat pour le potentiel industriel , Bioresource technology., 98: 1380-1385
- **Alais C. 1975.** Sciences du lait. Principes des techniques laitières. Edition Sepac, paris.
- **ALAIS, (1975).** Science du lait, principes de techniques laitières. 37
- **ALLOUCHE F.N., HELLAL A., LARABA A., 2010.** Etude de l'activité antimicrobienne des souches de lactobacilles thermophiles utilisées dans l'industrie laitière. Nature et Technologie., 3: 13-20.
- **AMMOR, S., TAVERON, G., DUFOUR, E., CHEVALLIER, I. (2006).** Activité antibactérienne des bactéries acides lactiques.

- **Ammor, S., Tauveron, G., Dufour, E., Chevallier, I. (2006).** Antibacterial activity of lactic acid bacteria against spoilage and pathogenic bacteria isolated from the same meat small -scale facility 1- Screening and characterization of the antibacterial compounds. *Food Control*, 17: 454-461.
- **Anonyme 1 (1980).** Lait et produit laitiers: méthode d'analyse . recueil des normes françaises, 1ere édition, AFNOR, paris .
- **Anonyme 2.(1986).** Contrôle de qualité des produit alimentaires ;lait et produits laitiers.norme françaises, AFNOR, paris.
- **Anonyme 3.(1993).** Contrôle de qualité des produit alimentaires; et produits laitiers.norme françaises, AFNOR, paris.
- **BADIS, A., Guetarni ,D.,Moussa Boudjema ,B., Henni ,D.E.,Tornadijo ,M.E.,et Kihal , M.,2004.**identification of cultivable of lactic acid bacteria isolated of Algerian raw goat's milk and evaluation of their technological properties .*food Microbiol* .3: 72-78.
- **Badis, A., Guetarni, D., Kihal, M., Ouzrout, R. 2005.** Caractérisation phénotypique des Bactéries lactiques isolées à partir de lait de chèvre de deux populations locales "Arabia et Kabyle». *Scien &Tech*, 23 : 30-37.
- **Barfoot S.F., Kleanhammer T.R., 1984.**purification and characterization of the *Lactobacillus acidophilus* Bacteriocin,Lactacin b. *Antimicrobial. Agents chemother.*,26:328-334.
- **Ben Amor, K., Vaughan, E. E., De Vos, W. M. (2007).** Advanced molecular tools for the identification of lactic acid bacteria. *J. Nutr .*, 137: 741S-747S.
- **Ben Omar, N., Abriouel, H., Lucas, R., Martinez-Camero, M., Guyot, J. P., Gölvez, A. (2006).**Isolation of bacteriocinogenic *Lactobacillus plantarum* strains from ben saagla, a traditional fermented gruel from Burkina Faso. *Int. J . Food Microbiol.*, 112: 44-50.
- **Benguella N, 2014 .** Recherche de bactériocines produites par les bactéries lactiques isolées du lait de chamelle,Mem master ,Unv Aboubakr Belkaid , Tlemcen .
- **BEZZALLA F, GOUTTAYA A . 2013,** Etude de la qualité microbiologique du lait camelin collecté localement en mi-lactation,these mem, Microbiologie appliqué. UNV KASDI MERBAH OUARGLA
- **Castro, M. P., Palavecino, N. Z., Herman, C., Garro, O. A., Campos, C. A. (2011).** Lactic acid bacteria isolated from artisanal dry sausages: Characterization of antibacterial compounds and study of the factors affecting bacteriocin production. *Meat Science*, 87: 321-329.

- **CHILLIARD Y.(2008)**.composition of goat and sheep milk products: an update . small ruminants,11,110.
- **De Martinis, E. C. P., Pùblio, M. R. P., Santarosa, P. R., Freitas, F. Z. (2001)**. Antilisterial activity of lactic acid bacteria isolated from vacuum-packaged brazilian meat and meat products. *Br a z. J. Micr obiol.*, 32: 32-37.
- **De Roissart H.1986**.bactéries lactiques In Ecosystème microbien d'un atelier fermier de salaison identification et propriétés des bactéries lactiques. Thèse de doctorat.univ de rennes-France .
- **DE VUYST LUC. et LEROY F. 2007**. Bacteriocins from Lactic Acid Bacteria: Production, Purification, and Food Applications. *J. Mol. Microbiol. Biotechnol.* 13:194–199.
- **Dellaglio, F., de Roissart, H., Torriani, S., Curk, M. C. & Janssens, D. (1994)**. Caractéristiques générales des bactéries lactiques. In *Bactéries Lactiques*, pp. 25-116. Edited by H. de Roissart & F. M. Luquet. Uriage, France: Lorica.
- **DOUMANDJI A., HELLAL A., SAIDI N., 2010**. Purification de la bactériocine a partir de *Lactobacillus acidophiles* 11, *Rev. Microbiol. Ind. San et Environn.*, 4: 25-47
- **Drouault, S., Corthier, G. 2001**. Effets des bactéries lactiques ingérées avec des laits fermentés.
- **DUTEURTRE G., OUDANANG M K, et N'GABA S H. (2005)**. Les bars laitier de n'djamena(Tchad) des petites entreprises qui valorisent le lait de brouse. Acte de colloques ,ressources vivrières et choix alimentaires dans le bassin du lac Tchad : 20-22 novembre , paris X-Nanterre.
- **El Shafei H.A., abdel-Sabour H., Ibrahim N. et Mostefa Y.A. 2000**. Isolation, screening and characterisation of the bacteriocin-producing Lactic and bacteria isolated from traditional fermented. *Food Microbiol. Res.* 154: 4, 321.
- **EL-AGAMY E.I., RUPPANNER R., ISMAIL A., CHAMPAGNE C.P. et ASSAF R. (1996)**. Purification and characterization of Lactoferrin, Lactoperoxydase, Lysozyme and Immunoglobulins from camel's milk. *Int. Dairy8 b). Composition of Milk from 3 Camels (Camelus dromedarius) Breeds in Kenya during Lactation. Milchwissenschaft*, 53, 136-139.
- **Farber J.M. 1991**. Microbiological aspects of modified-atmosphere packaging technology: a review. *J. Food Prot.* 54: 58-70.
- **Fleming, H.R., Etchell, G.L., Costilow, R.N. 1985**.Microbial inhibition by isolate of *pediococcus* from cucumber brine. *Appl and Microbiology*, 30:104-1042.
- **FREDOT E., 2005**. *Connaissance des Aliments – Bases alimentaires et nutritionnelles de la diététique*, Edition Tec & Doc, Lavoisier, pp 38, 43 / 424.

- **Goursaud J., (1985).** Composition et propriétés physico-chimiques. Dans Laits et produits laitiers vache, brebis, chèvre. Tome 1 : Les laits de la mamelle à la laitière. Luquet F.M.Edition Tec et Doc Lavoisier, Paris.
- **GUIZANI T., NIZAR T. et TRIKI S. 2007.** Microbiology of Starter Cultures. In
- **Hassan, R., El Zubeir, I. E. M., Babiker, S. A. (2008).** Chemical and microbial measurements of fermented camel milk “Gariss” from transhumance and nomadic herds in Sudan. Aust. J. Ba sic & Appl. Sci., 2: 800-804.
- **Ho Thi Nguyet Thu, 2008.** Etude de la flore lactique du Nem Chua, produit carné fermenté cru traditionnel du sud Vietnam et maîtrise du processus de fermentation par ajout de souches lactiques sélectionnées spécifiques du produit. Thèse de Doctorat en Sciences des Aliments et Nutrition. Université Bordeaux 1- France.
- **Huyghebaert. 2006.** Stratégies des produits à base de lait cru. Bruxelles.
- **IBOUKEUR O., MATI A. ET HESSAS B. (2005).** Amélioration de l’aptitude à la coagulation du lait cameline (*Camelusdromedarius*) : utilisation d’extraits enzymatiques coagulants gastriques de dromadaires. Cahiers Agricultures (14), n° 5, p. 473-478.
- **JOUYANDAH H, et ABROUMAND A.** physico- chemical ,nutritional , heat treatment effects and dairy product aspects of goats and sheep milks .world applied science journal, 11(11), 1316-1322.
- **KLAENHAMMER T.R., 1988.** Bacteriocins of lactic acid bacteria.Biochimie., 70: 337 349.
- **Lamontagne M.,Champagne C.P , Reitz A.J .Moingnaux S ., Gardner N ., Lamoureux ., jaen J., Flis I.,2002.,**microbiologie du lait in science et technologie du lait :Transformation du lait .vignola.C.L.Ecole poly technique montréal , pp:75-128.
- **Larpent J-P., Copin M-P ., Germonville A.,Jaquet M.,Thetas J-L.,1997.** Microbiologie du lait et des produits laitier in Microbiologie alimentaire technique de laboratoire . larpent J-P. Tec & Doc, lavoisier, pp: 704-805
- **LARPENT-GOURGAUD MONIQUE, MICHAUX ODILE, LRPENT J.P, DESMASURES NATHALIE, DESMAZEAUD MICHEL, MANGIN IRENE, MASSON FLORENCE, MONTEL M.C. et TAILLIEZ PATRICK., 1997.** Les ferments lactiques et bactéries apparentées In Microbiologie alimentaire Techniques de laboratoire. Larpent J-P. Tec & Doc, Lavoisier, pp: 199-255.
- **LEVEAU J-Y., BOUIXMRIELLE, De ROISSART H., 1991.** La flore lactique In Technique d’analyse et de contrôle dans les industries agroalimentaire. Bourgeois C.M., Leveau J-Y. Tec & Doc, Lavoisier, pp: 152-155.

- **LEVEAU J-Y., BOUJXMRIELLE, De ROISSART H., 1991.** La flore lactique In Technique d'analyse et de contrôle dans les industries agroalimentaire. Bourgeois C.M., Leveau J-Y. Tec & Doc, Lavoisier, pp: 152-166.
- **Lopez-Diaz T.M., Alonso C., Roman C., Garcia-Lopez M.L. et Moreno B. 2000.** Lactic acid bacteria isolated from a hand-made blue cheese. Food Microbiol. 17: 23-32.
- **Luquet F. M. 1985.** Lait et produits laitiers - Vache, brebis, chèvre. Tome 1 : Les laits De la mamelle à la laiterie. Tech. & Doc., Coll. STAA, Lavoisier, Paris
- **Marchal, N., Bourdon, J.L., Richard, C.L. 1991.** Les milieux de culture pour l'isolement et l'identification biochimique des bactéries .3 Ed. , Doin éditeurs, Paris.
- **Mathara J.M., Schillinger U., Kutima P.M., Mbugua S.K. et Holzapfel W.H. 2004.** Isolation, identification and characterisation of the dominant microorganisms of kulenaoto: the Maasai traditional fermented milk in Kenya. Int. J. Food Microbiol. 94: 3, 269-278.
- **Mathieu J. (1998).** Initiation à la physicochimie du lait. Guides Technologiques des IAA.Edition Lavoisier Tec et Doc, Paris.
- **MATHIEU J., (1998).** « Initiation à la physico-chimie du lait». Edition Lavoisier, Technique et documentation, Paris, 220 p
- **MATHIEU J., (1998).** « Initiation à la physico-chimie du lait».Edition Lavoisier, Technique et documentation, Paris, 220 p.
- **Moraes, M. P., Perin, L. M., Ortolani, M. B. T., Yamazi, A. K., Viçosa, G. N., Nero, L. A. (2010).**Protocols for the isolation and detection of lactic acid bacteria with bacteriocinogenic potential. Food Sci.Technol., 43: 1320-1324.
- **NAVARRO L., ZARAZAGA M., SAENZ J., RUIZ-LARREA F., et TORRES C., (2000).** Bacteriocin production by lactic acid bacteria isolated from Rioja red wines. J. Appl. Microbiol. 88: 4
- **Novel G., 1993.** les bactéries lactiques In microbiologie industrielle : les micro organismes d'interet industriel.leveau J-Y ., bouix M.Tec &doc , lavoisier, pp:170-374.
- **poisson D 2000.** *les pieds dans le plateau* comité de défense du fromage fermier au lait cru .pp 1-6.cheffes s/ Sarthe.
- **POUGHEON S. et GOURSAUD J., (2001).** « Le lait et ses constituants caractéristiques physicochimiques», In : DEBRY, G. Lait, nutrition et santé, Tec & Doc, Paris, 342 p.
- **Poughion sandra , Gaursaud jean, 2001.**le lait: caractéristiques physico-chimique in lait nutrition et santé . Debry G .Tec & Doc , lavoisier ,pp: 3-42

- **REMEUF F., LENOIR J. et DUBY C. (1989)**, etude des relation entre les caracteristiques physico chimique des laits de chèvre et leur aptitude à la coagulation par la présure .lait,69: 499-518.
- **RIBADEAU-DUMAS, B et GRAPPIN, (1989)**. « Milk protein analysis » Lait ,416p.
- **Saidi N.,Guessas B.,Badis A., Hadadji M .,Henni D.E, Provost H., et Kihal M .,2002** caractérisation des bactéries lactiques isolé du laits cru de chèvre des région aride d'Algérie . journalle algeriene des région aride ., 01: 01-14.
- **SALMINEN S., BOULEY M.C., BOUTRON-RUALT M.C., CUMMINGS J., FRANCK A., GIBSON G., SALMINEN S., ISOLAURI E., SALMINEN E., 1996**. Clinical uses of probiotics for stabilizing the gut mucosal barrier: succesful strains and future challenges. AnatomieLeeuwenhoek., 70: 347-358 .
- **Samot, J., Badet, C. 2013**. Antibacterial activity of probiotic candidates for oral health. Anaerobe 19 : 34-38.
- **SBOUI A. et al., (2009)**. Comparaison de la composition physicochimique du lait camelin et bovin du Sud tunisien; variation du pH et de l'acidité à différentes températures. Afrique SCIENCE, 293-198.
- **SIBOUKEUR O. (2005)**. Etude du lait camelin collecté localement : caractéristiques physico chimiques et microbiologiques ; aptitudes à la coagulation. Thèse de Doctorat. INA, Alger.
- **SIBOUKEUR O. (2007)**. Etude du lait camelin collecté localement : caractéristiques physico-chimiques et microbiologiques ; aptitudes à la coagulation. Thèse de Doctoraten Sciences Agronomiques. Institut national agronomique ELHarrach-Alger (Algérie).
- **STILES MICHAEL E., HOLZAPFEL WILHELM H., 1997**. Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy. Inter. J. Food Microbiol, 36: 1-29.
- **Tailliez patrick ,2001**.mini-revue: les bactéries lactiques, ces êtres vivant apparus il y a prés de 3 milliard d'années .lait., 81:1-11.
- **TAYLOR M.J., BANDI C. et HOERAUF A. 2005**. Wolbachia bacterial endosymbionts of filarial nematodes. Advin Parasitol. 60: 245-284.
- **THOMPSON J. et TORCHIA., D.A. 1984**. Use of 31P nuclear magnetic resonance spectroscopy and 14C fluorography in studies of glycolysis and regulation of pyruvate kinase in Streptococcus lactis. J. Bacteriol. 158: 791–800.

- **VEINOGLU B., BALTADJIEVA M., KALATZPOULOS G., STAMENOVA V., et PAPADOPOULOU E.(1982)**. La composition du lait de chèvre de la région de plovdiv en J., 6, p. 129-145.
- **Veisseyre R.1975**. Technologie du lait constitution, récolte, traitement et transformation du
- **Vignola C. (2002)**. Science et Technologie du Lait Transformation du Lait. Edition Presses Internationales Polytechnique, Canada. pp. 3-75.
- **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.

- **YAGIL R. (1982)**. Camels and camel milk. FAO animal production and health paper, 26, 169, Rome..
- **YAGIL R. et ETZION Z. (1980)**. Effect of drought conditions on the quality of camel milk. *J. Dairy. Res.*, 47, 159-166.
- **YAGIL R., ZAGORSKY O. and VAN CREVELD C. (1994)**. Science and camel's milk production. Actes du Colloque "dromadaires et chameaux animaux laitiers", 24-26 Octobre, Nouakchott, Mauritanie.
- **Yateem, A., Balba, M. T., Al-Surrayai, T., Al-Mutairi, B., Al-Daher, R. (2008)**. Isolation of lactic acid bacteria with probiotic potential from camel milk. *Int. J Da ir y Sci.*, 3: 194-199.
- **ZELLER B.2005**. le fromage de chèvre : spécificités technologique et économique Thèse de doctorat de l'université paul-sabatier.Toulouse,France .
- **Desmazeaud M.J. et De Roissart H., 1994**. Métabolisme général des bactéries lactiques. In *Bactéries lactiques*. De Roissart H., Luquet F.M. Tome 1, Lrica. pp : 169-207.
 - **Grappin, R, Pochet, S, Le lait, 1999, P 3 – 22.**

Annexes

Annexe I : Composition des Solutions de titrage.

* Solution de NaOH 0,1N :

Eau distillé	1l
NaOH	40g

* Solution de HCL 1N:

Eau distilé	100ml
Hcl.....	4ml

Annexe II: Composition des milieux de cultures (g/l)

Milieux solides

* Mueller Hinton :

Infusion de viande de boeuf	2 g
Amidon.....	15 g
Hydrolysate de caséine	17g
Agar	17 g
Eau distillée.....	1000 mL

pH =7,3.

Milieux liquides

* Eau physiologie :

NaCl	9g
Eau distillée	1000 ml

Annexe III : la composition des colorants utilisés

* Violet de gentiane au cristal :

Violet de gentiane	10g (ou 5g)
Phénol	20g
Ethanol à 0.95	100 cm ³
Eau distillée	1 dm ³

Les 3 premiers composants sont dans un premier temps dissous ensemble d'eau est ajoutée ensuite.

Annexes

* **Lugol :**

Iode 5g
IO dure de potassium 10g
Eau distillée qsp 1g
Flacon brun

* **Fuchsine de Ziehl:**

Fuchsine bosique 10g
Phénol 50g
Ethanol à 0.5 10cm³
Eau distillée 1dm³

Annexe IV : Appareils



Photo 1 : Bain marie



Photo 2 : Microscope optique



Photo 3 : Balance



Photo 4 : Etuve

Annexes



Photo 5 : Réfrigérateur



Photo 6 : Plaque chauffante



Photo 7 : pH mètre



Photo 8 : Bec benzène

Résumé

La présente étude vise à sélectionner des souches lactiques isolées à partir de trois types des laits (caprin, bovin et camelin) et douées d'une activité antimicrobienne contre quelques souches pathogènes.

Les échantillons du lait analysée présentent un pH (6.22 ,6.48, 6.29) , densité (26. 35. 27), l'acidité (11.53,15.27,8.48) , avec un composition biochimique de (35.24 , 38.13 , 40.6) lactose et (27.77 , 26.65 , 21.5) de caséines.

L'analyse de ces types du lait qu'ils sont provient de la région ARAIR d'El-Oued a permis d'isoler des six souches des bactéries lactiques pour faire l'analyse de notre étude.

On note que les six souches ayant une activité antibactérienne variante de très faible à forte vis-à-vis les souches *E. coli*, *Staphylococcus aureus* et *Streptococcus sp* et *candida*. La mesure des diamètres d'inhibition révèle des diamètres qui se varient de 1 à 14 mm.

Généralement, Cette activité ce varie d'une type du lait a l'autre, pour le lait camelin on enregistre une activité de très faible a faible vis-à-vis *E. coli*, *Pseudomonas a* et un peut fort chez S2 vis-à-vis *Staphylococcus a* et *Candida*.

Concernant le lait bovin enregistre une activité très faible vis-à-vis *E. coli*.par contre une activité faible avec *Pseudomonas a*, *a* et *Candida*. Alors que le lait caprin présente une activité très faible contre *E. coli*. Faible contre *Pseudomonas a* et une activité forte vis-à-vis *Staphylococcus a* et *Candida*.

Mots clés : lait, souche, Bactéries lactiques, Bactéries pathogènes, Antagonisme.

ملخص

سمح تحليل حليب الناقة. البقر و الماعز المجمع من منطقة الوادي بعزل سلالات من بكتيريا الحليب للقيام بالتحاليل اللازمة للدراسة.

أنواع الحليب المدروسة تملك حموضة ph (6.22,6.48,6.29), كثافة (26.35.27), حموضة (11.53,15.27,8.48). بالإضافة الى مكونات كيميائية من لاكتور (35.24,38.13,40.6) كازيين (21.5, 26.65, 27.77)

تحليل الأنواع الثلاثة للحليب المجمع و المتأتي من منطقة عراير الفلاحية قاد الي عزل 6 سلالات من بكتيريا الحليب المدروسة .

من خلال النتائج المحصل عليها لاحظنا بأن ال6 سلالات لديهم نشاط متغير من جد ضعيف إلى قوي ضد السلالات الممرضة . *E. coli*, *Staphylococcus*, *Streptococcus* , *candida*. إن قياس أقطار منطقة التثبيط لدية أقطار متفاوتة من 1-14 ملم .

عموما هذا النشاط البكتيري متغير من نوع حليب لآخر . بالنسبة لحليب الناقة سجلنا نشاط من جد ضعيف الى ضعيف وهذا ضد السلالات *E. coli*, *Pseudomonas* و قريب للقوي بالنسبة للسلالة S2 ضد . *Staphylococcus* , *Candida* .

أما بالنسبة لحليب البقر سجلنا نشاط ضعيف جدا ضد *E. coli* على العكس ضعيف ضد *Pseudomonas et Candida*. بينما حليب الماعز يظهر نشاط ضعيف جدا ضد *E. coli* و ضعيف ضد *Pseudomonas* و قوي ضد *Staphylococcus et Candida*.