

Table de matière

<i>Résumé.</i>	i
<i>Abstract.</i>	ii
<i>ملخص</i>	iii
<i>Table de matière.</i>	iv
<i>Liste des tableaux.</i>	xi
<i>Liste des figures.</i>	xii
<i>Abréviations.</i>	xiii
<i>Introduction.</i>	1
<i>Chapitre I : Les bifidobactéries, probiotiques et lait camelin : Revue de littérature.</i>	3
<i>Partie 1. Les bifidobactéries.</i>	3
1.1 Historique et taxonomie.	3
1.2 Les bifidobactéries, micro-organismes du microbiote intestinal.	7
1.2.1 Description générale de l'écosystème gastro-intestinal.	7
1.2.2 La composition du microbiote intestinal.	8
1.3.3 La situation des bifidobactéries dans cet écosystème complexe.	9
1.3 Caractéristiques des bifidobactéries.	12
1.3.1 Caractéristiques phénotypiques.	12
1.3.1.1 Morphologie.	12
1.3.1.2 La composition de la paroi cellulaire.	13
1.3.2 Caractéristiques physiologiques.	14
1.3.2.1 Température.	14
1.3.2.2 Résistance et sensibilité au pH.	15
1.3.2.3 Sensibilité et tolérances à l'oxygène.	15
1.3.2.4 Résistance et sensibilité aux antibiotiques.	15
1.3.2.5 Production des substances antimicrobiennes.	16
1.4 Besoins nutritionnels des bifidobactéries.	16
1.4.1 Besoin en acides aminés.	16
1.4.2 Besoins en sels minéraux et vitamines.	17
1.4.3 Besoin en facteurs bifidogènes.	17
1.5 Métabolisme des bifidobactéries.	19
1.5.1 Métabolisme de carbonohydrates.	19
1.5.2 Métabolisme protéolytique.	23
1.5.3 Métabolisme de l'urée.	23

1.5.4	Réduction de nitrate.	24
1.5.5	Production de vitamines.	24
1.6	La génétique des bifidobactéries.	25
1.6.1	Le Contenu en guanine+cytosine (G+C%).	25
1.6.2	Les Plasmides.	25
1.6.3	Les séquences d'ADN étudiées.	26
1.6.3.1	Le gène codant pour l'ARN ribosomal 16S.	26
1.6.3.2	Le gène codant pour la protéine <i>Hsp 60</i>	26
1.7	Incorporation des bifidobactéries dans les produits laitiers.	28
1.8	La viabilité des bifidobactéries dans les produits laitiers.	28
	Partie 2 : Les probiotiques.	31
2.1	Historique de leur utilisation et définitions.	31
2.2	Souches à fort potentiel probiotique.	31
2.3	Critères de sélection des probiotiques.	32
2.4	Les effets bénéfiques des probiotiques.	32
2.5	Les effets probiotiques des bifidobactéries.	34
2.5.1	La réduction du cholestérol.	34
2.5.2	Soulagement de l'intolérance au lactose.	35
2.5.3	Activité des bifidobactéries contre les infections entériques.	35
2.5.4	Prévention du cancer du côlon.	36
2.5.5	Stimulation du système immunitaire.	37
2.5.6	Effet des bifidobactéries sur les rectocolites hémorragiques RCH.	38
	Partie 3 : Le lait camélin.	39
	Introduction.	39
3.1	Définition de lait.	39
3.2	La production laitière caméline mondiale.	39
3.3	Les propriétés de lait camélin.	41
3.4	Composition de lait camélin.	41
3.4.1	Les protéines de lait camélin.	45
3.4.1.1	Les caséines camélines.	45
3.4.1.2	Les protéines camélines du lactosérum.	47
3.4.2	Le lactose camélin.	48

3.5	Qualité microbiologique du lait camélin.	48
3.6	Aptitude à la transformation technologique du lait camélin.	49
3.6.1	Fabrication de fromage.	59
3.6.2	Fabrication du beurre.	51
3.6.3	Fabrication de yaourt.	52
	 <i>Chapitre II : Matériel et Méthode.</i>	53
1	Origine des échantillons.	53
2	Milieux de Cultures.	53
2.1	Milieux de cultures pour les bifidobactéries.	53
2.2	Lait de chamelle.	53
3	Isolement et purification des bifidobactéries.	53
4	Purification des souches.	54
5	Pré identification des bifidobactéries.	54
5.1	Étude macroscopique.	54
5.2	Étude microscopique.	54
6	Identification du genre.	55
6.1	Recherche de la catalase.	55
6.2	Recherche de l'oxydase.	56
6.3	Recherche de type fermentaire.	56
6.4	Recherche du citrate perméase sur milieu Kempler et Mc Kay.	56
6.5	Mise en évidence de la production d'indole.	56
6.6	Mise en évidence de l'uréase.	56
6.7	Protéolyse de la gélatine.	56
6.8	Test de croissance sur bile (2 %).	57
6.9	Antibiogramme des souches isolées.	57
7	Test de thermorésistance.	57
8	Test de croissance en milieu hyper-salé.	58
9	Caractérisation des espèces.	58
10	Tests physiologiques.	59
10.1	Influence du pH.	59
10.2	Influence de la température d'incubation.	59
11	Conservation des souches bactériennes.	60

11.1	Conservation à courte durée.	60
11.2	Conservation à longue durée.	60
12	Aptitude technologique des bifidobactéries.	60
12.1	Test de coagulation du milieu lait en culture pure.	60
12.2	Étude de la cinétique de croissance dans le lait de chamelle.	60
12.3	Détermination de l'acidité titrable.	62
12.3	Suivi du pH au cours de la croissance.	62
	Chapitre III : Résultats.	64
1	Isolement et dénombrement des bifidobactéries.	63
2	Pré-identification des souches.	64
	a) Aspect macroscopique.	64
	b) Aspect microscopique.	64
3	Recherche de type fermentaire.	68
4	Mise en évidence des autres enzymes.	68
5	Test de la culture sur la bile.	70
6	Antibiogramme des souches isolées.	71
7	Tests complémentaires.	73
7.1	Test de thermorésistante.	73
7.2	Test de croissance en milieu hyper-salé.	73
7.3	Test de l'influence de la température d'incubation.	73
7.4	Test de l'influence du pH.	74
8	Identification de l'espèce.	75
9	Aptitude technologique des bifidobactéries.	77
9.1	Caractéristiques du coagulum en culture pure.	77
9.2	Cinétique de croissance des souches de bifidobactéries dans le lait de chamelle.	77
9.3	L'évolution de l'acidité titrable et du pH pendant la cinétique de croissance.	79
	Chapitre IV : Discussion.	82
	Chapitre V : Conclusion générale et perspectives.	90
	Annexe.	93
	Références bibliographiques.	95

Liste des tableaux

Tableau	page
Tableau 1 : La chronologie de la taxonomie de genre <i>Bifidobacterium</i> (Ballongue, 2004).	04
Tableau 2 : Les espèces actuellement reconnues de genre <i>Bifidobacterium</i> (Pokusaeva <i>et al.</i> , 2011).	06
Tableau 3 : La présence des espèces de bifidobactéries chez l'enfant et l'adulte (Matsuki <i>et al.</i> , 2004,1999).	11
Tableau 4 : Caractéristiques des principaux facteurs bifidogènes (Ballongue, 2004).	18
Tableau 5 : Caractéristiques fermentatives distinctives des espèces de genre <i>Bifidobacteriu</i> (Biavati et Mattarelli, 2006).	20
Tableau 6 : La production des vitamines par les <i>Bifidobacterium</i> (Ballongue, 2004).	24
Tableau 7 : Liste des principales souches microbiennes considérées comme probiotiques (Holzapfel <i>et al.</i> , 2001).	32
Tableau 8 : Principaux critères utilisées pour la sélection des souches probiotiques (Klaenhammer et Kullen 1999 ; Saarela <i>et al.</i> , 2000 ; Ouwehand <i>et al.</i> ,2002 ;Gueimonde et Salminen, 2006).	33
Tableau 9 : Mécanismes potentiels de l'effet anticarcinogène des probiotiques (Boutron-Ruault, 2007).	37
Tableau 10 : Quantités de lait produites par les chamelles en Algérie (Chehma, 2003).	40
Tableau 11 : Composition du lait camelin selon les sources bibliographiques disponibles dans le monde (Al-Haj et Al-Kanhal, 2010).	42
Tableau 12 : Composition du lait de chamelle (%) selon les groupes d'années (Al-Haj et Al-Kanhal, 2010).	44
Tableau 13 : Tableau récapitulatif de quelques paramètres physico-chimiques des principales caséines camélines et bovines.	47
Tableau 14 : Aspect macroscopique et microscopique des souches isolées.	64
Tableau 15 : Résultat de mise en évidence des activités enzymatiques des souches étudiées.	68
Tableau 16 : Résultat d'antibiogramme des souches isolées.	71
Tableau 17 : Résultats des tests complémentaires des différentes souches étudiées.	74
Tableau 18 : Résultats de la fermentation des différents sucres par les souches isolées.	76
Tableau 19 : Valeurs du nombre (log ufc/ml) des 03 souches de bifidobactéries étudiées.	77
Tableau 20 : Les valeurs de taux croissances et temps de génération au cours de la cinétique de croissance des 03 souches étudiées.	78
Tableau 21 : Les valeurs d'acidité titrable et du pH développés durant la cinétique de croissance des 3 souches de bifidobactéries.	79

Liste des figures

Figure	page
Figure 1 : Schéma simplifié décrivant les compartiments de l'appareil digestif de l'homme et leurs microflores. Adapté et modifié d'Ouwehand et Vesterlund (2003).	08
Figure 2 : Graphiques en secteurs basés sur l'analyse de la séquence de l'ADNr 16S représentant les phyla présents dans les communautés microbiennes fécale et adhérente du côlon chez l'adulte et l'enfant (Eckburg <i>et al.</i> , 2005 ; Palmer <i>et al.</i> , 2007).	10
Figure 3 : Observation au microscope électronique du genre <i>Bifidobacterium</i> sp (Biavati <i>et al.</i> , 2000).	12
Figure 4 : Le Peptidoglycane type de certaines espèces du <i>Bifidobacterium</i> (Klein <i>et al.</i> , 1998).	14
Figure 5 : Représentation schématique de dégradation des carbohydrates via la voie bifide (Bifid-Shunt) des bifidobactéries (Pokusaeva <i>et al.</i> , 2011).	22
Figure 6 : Arbre phylogénétique, basé sur l'analyse comparative des séquences d'ARNr 16S, montrant les relations parmi les espèces de genre <i>Bifidobacterium</i> et les genres apparentés (Turroni <i>et al.</i> , 2011 ; Felis <i>et al.</i> , 2009).	27
Figure 7 : Les principaux effets bénéfiques attribués aux probiotiques (Adapté de Mercenier <i>et al.</i> , 2002).	34
Figure 8 : Séquence primaire de la caséine κ -caméline (d'après Kappeler <i>et al.</i> , 1998).	46
Figure 9 : Séquence primaire de la caséine κ -B bovine (d'après Mercier <i>et al.</i> , 1973 ; cités par Eigel <i>et al.</i> , 1984).	46
Figure 10 : La technique suivie pour l'isolement des bifidobactéries.	54
Figure 11 : schéma représentant la mini préparation pour le test de la fermentation des sucres.	59
Figure 12 : Instruments pour la mesure de l'acidité titrable.	63
Figure 13 : L'aspect macroscopique et microscopique de la souche BE5 sur milieu MRS-Cys.	65
Figure 14 : L'aspect macroscopique des colonies de la souche BE7 sur milieu MRS-Cys.	66
Figure 15 : L'aspect macroscopique et microscopique de la souche BBF sur milieu MRS-Cys.	67
Figure 16 : Résultat test de mise en évidence de type fermentaire des souches isolées.	68
Figure 17 : Résultats des tests uréase, indole, gélatinase et d'oxydase des souches isolées.	69
Figure 18 : Résultat de mise en évidence de citrate perméase sur milieu KMK des souches isolées.	70
Figure 19 : Résultat de test de culture sur bile des souches des souches isolées.	70
Figure 20 : Résultats du test d'antibiogramme de la souche BE5 et la souche BE7.	72
Figure 21 : Résultat du test d'antibiogramme de la souche BBF.	73
Figure 22 : Résultats du test de croissance en milieu hyper-salé des souches :BBF, BB5, BE7, BN1 et BN3.	74
Figure 23 : Résultats de profil fermentaire des souches isolées après 48h d'incubation.	75
Figure 24 : Test de coagulation de lait de chamelle par les souches isolées.	77
Figure 25 : Courbe de la cinétique de croissance des 03 souches de bifidobactéries étudiées : <i>B. longum</i> (BE5), <i>B. bifidum</i> (BBF) et <i>B. breve</i> (BE7) dans le lait de chamelle.	78
Figure 26 : Le développement de l'acidité titrable durant la cinétique de croissance des 3 souches de bifidobactéries : <i>B. longum</i> (BE5), <i>B. bifidum</i> (BBF) et <i>B. breve</i> (BE7).	80
Figure 27 : Évolution du pH durant la cinétique de croissance des 3 souches de bifidobactéries : <i>B. longum</i> (BE5), <i>B. bifidum</i> (BBF) et <i>B. breve</i> (BE7).	81

Abréviations

ADN	Acide Désoxyribonucléique	MRSL-	milieu de Man, Rogosa and Sharpe Lactosé cystéiné
ADNr /ARNr	ADN ou ARN ribosomal	Cys	Sharpe Lactosé cystéiné
ADNr 16S	Acide Ribonucléique 16 Svedberg	NaCl	Chlorure de sodium
ARN	Acide Ribonucléique	NaOH	hydroxyde de sodium
ARN	Acide ribonucléique	O ₂	oxygène
<i>B</i>	<i>Bifidobacterium</i>	p/v	poids/volume
CaCl ₂	Chlorure de Calcium	pH	potentiel d'hydrogène
CO ₂	Dioxyde de carbone	pH	potentiel d'hydrogène
DAEC	Diffusément adhérente <i>Escherichia coli</i>	PM	pois moléculaire
EPEC	Entéropathogénique <i>Escherichia coli</i>	sp.	espèce
ETEC	Entérotoxigénique <i>Escherichia coli</i>	<i>St</i>	<i>Streptococcus</i>
F6PPK	fructose-6-phosphokétolase	Subsp	sous espèce
G+C	le ratio guanine + cytosine	tr/mn	tour par minute
h	heure	ufc	unité formant colonie
H ₂ O ₂	Peroxyde d'hydrogène	Vol	volume
HCl	Chlorure d'hydrogène	μ	micron
j	jours	μg	microgramme
Kb	Kilo base	%	pour cent
kDa	Kilodalton	°C	degré Celsius
<i>Lb</i>	<i>Lactobacillus</i>	°D	degré Dornique
meq	Milli équivalent		
mg	milligramme		
MG	Matières grasses		
min	minute		
ml	millilitre		
mM	milli-molaire		
mPa s	Milli pascale.seconde		
MRS	milieu de Man, Rogosa and Sharpe		
MRS-BCP	milieu MRS additionné de Pourpre de Bromocrésol.		
MRS-BCP-EV	MRS-BCP exempt d'extrait de viande		
MRS-Cys	milieu de Man, Rogosa and Sharpe cystéiné		

Introduction

Les bifidobactéries ont été découvertes et isolées pour la première fois en 1899 dans les selles de nourrissons allaités (Tissier, 1990). Elles sont, tout au long de la vie, des habitants naturels du tractus gastro-intestinal chez l'homme. Ces bactéries composent la presque totalité (85% à 99%) de la flore intestinale d'un enfant nourri au lait maternel.

Des leur découverte, ces germes suscitent l'intérêt des médecins et des nutritionnistes en raison de leur absence de pathogénicité et de leur réputation de protection contre les diarrhées (Gavini *et al.*, 1990). Elles jouent un rôle majeur dans l'équilibre et la stabilité de la microflore intestinale, d'où l'appellation de culture probiotique puisqu'elles peuvent exercer des effets physiologiques et thérapeutiques.

Effectivement, parmi ces effets probiotique, on note l'amélioration du transit gastro-intestinal, la diminution du risque de cancer du colon (Reddy, 1998), la stabilisation de la flore intestinale, la diminution des allergies alimentaires dues aux caséines laitières, la stimulation du système immunitaire (Heyman et Heuvelin, 2006) et la diminution des intolérances au lactose (Scheinbach, 1998). Ces propriétés des bifidobactéries ont favorisé leur utilisation dans des produits alimentaires appelés "*aliments fonctionnels*". Cette catégorie d'aliments regroupe tous les aliments proclamant des vertus et des effets positifs sur la santé (Stanton *et al.*, 1998). Ces produits sont de plus en plus populaires dans les pays développés et connaissent un développement remarquable (Sanders, 1998 ; Young, 1998).

Toutefois, l'effet probiotiques des bifidobactéries dépend de leur taux de survie non seulement dans les aliments mais également dans le tractus gastro-intestinal (Shah, 2000 ; Marteau et Shanahan, 2003 ; Gagnon *et al.*, 2004). Pour cette raison, il devient nécessaire d'identifier et d'évaluer la population de bifidobactéries dans les produits fermentés afin de s'assurer d'un apport en probiotiques suffisant pour obtenir les effets bénéfiques escomptés.

Le dromadaire occupe une place de choix dans les zones arides et semi arides, en raison de son excellente adaptation aux mauvaises conditions de vie, tels que le manque d'eau et de pâturage ; mais malgré tout cela, il est apte à produire un lait de bonne qualité.

Le lait camélin a un important rôle dans la nutrition humaine dans les régions chaudes et les pays arides et semi-arides de la planète. Ce lait contient tout les nutriments essentiels

trouvés dans le lait de vache (protéines, glucides et lipides) (El-Agamy *et al.*, 1998 ; Karue, 1998) et étant le plus souvent consommé à l'état cru ou fermenté (Abu-Taraboush *et al.*, 1998).

Même s'il présente une composition physico-chimique relativement similaire à celle du lait bovin, ce lait se singularise néanmoins par une teneur élevée en vitamine C et en B₃ et par la présence d'un puissant système protecteur, lié à des taux relativement élevés en Lysozyme, en Lactoperoxydase, en Lactoferrine et en bactériocines produites par les bactéries lactiques. Ceci prolonge naturellement sa conservation de quelques jours sous des températures relativement élevées.

Récemment, plusieurs études ont rapporté que le lait de chamelle possède des propriétés thérapeutiques diverses tels que l'effet anti-cancérigène (Magjeed, 2005), anti-diabétique (Agrawal *et al.*, 2007) et anti-hypertension (Quan *et al.*, 2008) et a été recommandé également d'être consommé par les enfants souffrant d'allergie aux protéines de lait bovin (Al-Attas, 2008).

L'objectif principal de notre travail est d'étudier la viabilité des bifidobactéries qui sont connus par leurs effets probiotiques dans le lait camélin connu par ces vertus nutritionnelle et thérapeutiques.

Pour répondre à cet objectif le plan et le cheminement de cette étude ont été établis comme suit :

- L'isolement et caractérisation phénotypiques des bifidobactéries.
- Étude de certains facteurs physiologique des souches identifiées.
- Étude de l'aptitude des bifidobactéries à fermenter le lait camélin.
- Étude de la viabilité des souches de bifidobactéries dans le lait camélin.

Cette étude ayant été réalisée en une étape, le mémoire est composé d'une seule partie comportant les parties de revue de littérature, matériel et méthodes, résultats, discussion et conclusion. A la fin du manuscrit, les références bibliographiques et l'annexe sont présentés.

CHAPITRE I

REVUE DE LITTÉRATURE

Chapitre I : Les bifidobactéries, probiotiques et lait camelin : Revue de littérature

Partie 1. Les bifidobactéries

1.1 Historique et taxonomie

Les bactéries appartenant au genre *Bifidobacterium*, ont été décrites pour la première fois par Tessier (1900) qui a isolé à partir de fèces d'un enfant allaité au sein, une bactérie anaérobie de morphologie bifide qu'il appela *Bacillus bifidus communis*. Au même moment, en Italie, Moro découvrait des bactéries semblables qu'il a identifiées comme des *Lactobacillus* (Ballongue, 1993).

Depuis leur première description, les bifidobactéries ont été assignées à divers genre passant du genre *Bacillus*, à celui de *Bacteroides* (Castellani et Chalmers, 1919), *Lactobacillus* (Holland, 1920), *Bifidobacterium* (Orla-Jensen, 1924), *Bacterium* (Lehmann et Neumann, 1927), *Tissieria* (Pribram, 1929), *Nocardia* (Vuillemin, 1931), *Actinomyces* (Nannizzi, 1934), *Actinobacterium* (Puntoni, 1937) et *Corynebacterium* (Olsen, 1949).

En raison des similitudes entre les bifidobactéries et les bactéries du genre *Lactobacillus*, ils ont été inclus dans ce genre comme classifié dans la 7^e édition du *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* (Breed *et al.*, 1957).

Après 1965, suite à l'apparition des nouvelles technologies génétiques, deux équipes de recherche (Sebald *et al.*, 1965; Werner *et al.*, 1966) ont démontré, grâce au pourcentage G+C, que les bifidobactéries étaient différentes des lactobacilles, des corynébactéries ainsi que des propionibactéries. Ces équipes ont démontré que le pourcentage de G+C était de 60,1% pour les bifidobactéries alors qu'il était de 67,6% pour les propionibactéries, de 54,7% pour les corynébactéries et se situait entre 33 et 49% pour les lactobacilles.

Les études effectuées par Scardovi et Trovatelli, (1965) et De Vries *et al.*, (1967) ont mené à la découverte d'une nouvelle voie de fermentation des hexoses chez les bifidobactéries, qui ne se trouve pas dans aucune des espèces du genre *Lactobacillus*.

L'enzyme principale de cette voie est une fructose-6- phosphate phosphocétolase qui clive le fructose-6-phosphate en érythrose-4-phosphate et en acétyl phosphate. C'est seulement après cette découverte que le genre est séparé des lactobacilles.

En 1971, Scardovi *et al.*, ont entrepris à appliquer largement le procédé d'hybridation ADN-ADN afin d'évaluer la validité des espèces de bifidobactéries précédemment décrites et de reconnaître de nouveaux groupes de séquences d'ADN homologues parmi les souches qui ont été isolées à partir de diverses niches écologiques. Cette technique

d'identification a aidé à résoudre une grande partie de la confusion précédemment rencontrée en matière de la différenciation entre espèces de *Bifidobacterium* qui a été faite principalement sur les tests phénotypiques de fermentation des carbohydrates.

À partir de 1974, le genre *Bifidobacterium* a été reconnu par les éditeurs du Bergey's Manual of Systematic Bacteriology et à ce moment là, le genre *Bifidobacterium* était composé de 11 espèces. Le tableau 1 résume les différents noms proposés pour cette bactérie depuis sa découverte.

Tableau 1 : La chronologie de la taxonomie de genre *Bifidobacterium* (Ballongue, 2004).

Nom	Auteur	Année
<i>Bacillus bifidus</i>	Tissier	1900
<i>Bacteroides bifidus</i>	Castellani et Chalmers	1919 1923–1934
<i>Lactobacillus bifidus</i>	Bergey's Manual, eds.1–4	1920
<i>Bifidobacterium bifidum</i>	Holland	1924
<i>Bacterium bifidum</i>	Orla-Jensen	1927
<i>Tisseria bifida</i>	Lehmann and Neumann	1929
<i>Nocardia bifida</i>	Pribram	1931
<i>Actynomices bifidus</i>	Vuillemin	1934
<i>Actinobacterium bifidum</i>	Nannizzi	1937
<i>Lactobacillus acidophilus</i> var. <i>bifidus</i>	Puntoni	1938
<i>Lactobacillus parabifidus</i>	Weiss et Rettger	1938
<i>Bifidobacterium bifidum</i>	Weiss et Rettger	1938
<i>Lactobacillus bifidus</i>	Prevot	1939–1957
<i>Cohnistreptothrix bifidus</i>	Bergey's Manuel, eds. 5–7	1944
<i>Corynebacterium bifidum</i>	Negrovi et Fischer	1949
<i>Lactobacillus bifidus</i>	Olsen	1950
<i>Lactobacillus bifidus</i> var. <i>pennsylvanicus</i>	Norris <i>et al.</i>	1953
Cinq groupes de bifidobactéries	György	1957
la description d'espèces humaine	Dehnert	1963
nouvelle espèce animale	Reuter	1969
nouvelle espèce animale	Mitsuoka	1969
nouvelle espèce animale	Scardovi	1972
la création de genre <i>Bifidobacterium</i> constitué de 11 espèces	Holdemann et Moore Bergey's Manual, ed. 8	1974

Les caractérisations physiologiques et biochimiques telles les constituants de la paroi cellulaire, la morphologie et le contenu (%) en guanine-cytosine de leur ADN ont démontré clairement que les bifidobactéries appartenaient à un genre distinct (Mitsuoka, 1982). Dans la 9^e édition du *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* (Scardovi, 1986), les bifidobactéries sont reconnues comme des membres de la famille des Actinomycetaceae. Selon ce manuel, le genre *Bifidobacterium* est composé de 29 espèces différentes, dont 14 seraient d'origine humaine, 12 d'origine animale à sang chaud et 3 proviendraient d'abeille.

Stackebrand *et al.*, (1997), par l'analyse de RNAr 16S, ont proposé une nouvelle structure hiérarchique rassemblant le genre *Bifidobacterium* avec le genre *Gardnerella* dans une seule famille de Bifidobacteriaceae dans l'ordre de Bifidobacteriales.

Le genre *Bifidobacterium* appartient au Phylum Actinobacteria, Classe "Actinobacteria," Ordre Bifidobacteriales, Famille des Bifidobacteriaceae, les autres genres appartenant à cette famille sont : *Aeriscardovia*, *Gardnerella*, *Parascardovia* et *Scardovia*. Les espèces de ces genres dégradent les hexoses par la voie du fructose- 6-phosphate " bifid shunt " ; en s'écartant de celui du genre *Lactobacillus* et les autres genres apparentés.

L'enzyme clé, considérée comme un caractère taxinomique pour ce groupe des bactéries est la fructose-6-phosphocétolase (EC 4.1.2.2) (Felis *et al.*, 2009). Avant la reclassification de certaines espèces de *Bifidobacterium* dans des nouveaux genres, cette enzymes fut considérée en tant que caractère taxinomique pour l'identification du genre, néanmoins, à présent il est considérée comme un identifiant taxinomique pour la famille des Bifidobacteriaceae (Russell *et al.*, 2011).

Selon Pokusaeva *et al.*, (2011) trente neufs (39) espèces ont été assigner au genre *Bifidobacterium* (Tableau 02). En outre, il semble que beaucoup de bifidobactéries sont encore à être découvrir tel que suggérer par plusieurs études métagénomique.

Tableau 2 : Les espèces actuellement reconnues de genre *Bifidobacterium*
(Pokusaeva *et al.*, 2011).

Espèces	Origine	Référence
<i>B. actinocoloniformis</i>	intestin de bourdon	Killer (2010) ; Reuter (1963)
<i>B. adolescentis</i>	intestin d'adulte	Reuter (1963)
<i>B. angulatum</i>	fèces des humains, eaux d'égouts	Scardovi et Crociani (1974)
<i>B. animalis</i>		Masco <i>et al.</i> , (2004)
<i>subsp. animalis</i>	fèces de poulet, rats, lapins et veau ; rivière	Scardovi et Trovatelli (1974)
<i>subsp. lactis</i>	lait fermenté	Meile <i>et al.</i> , (1997)
<i>B. asteroides</i>	intestin postérieur d'abeille de miel	Scardovi et Trovatelli (1969)
<i>B. bifidum</i>	intestin d'adulte, fèces humain, vagin	Orla-Jensen (1924)
<i>B. bohemicus</i>	intestin de bourdon	Killer (2010)
<i>B. boum</i>	rumen de bovin, fèces de cochonnet	Scardovi <i>et al.</i> ,(1979)
<i>B. breve</i>	intestin des bébés, fèces, vagin	Reuter (1963)
<i>B. catenulatum</i>	intestin d'enfant et d'adulte, vagin	Scardovi et Crociani (1974)
<i>B. choerinum</i>	fèces de porc	Scardovi <i>et al.</i> , (1979)
<i>B. coryneforme</i>	intestin postérieur d'abeille de miel	Biavati <i>et al.</i> (1982)
<i>B. crudilactis</i>	lait crue et fromages au lait cru	Delcenserie <i>et al.</i> , (2007)
<i>B. cuniculi</i>	fèces de lapin	Scardovi <i>et al.</i> , (1979)
<i>B. dentium</i>	carie dentaire humain, vagin humain	Scardovi et Crociani (1974)
<i>B. gallicum</i>	intestin d'adulte	Lauer (1990)
<i>B. gallinarum</i>	caecum de poulet	Watabe <i>et al.</i> , (1983)
<i>B. indicum</i>	abeilles, rivière	Scardovi et Trovatelli (1969)
<i>B. longum</i>	intestin de bébé et adulte, vagin	Mattarelli <i>et al.</i> , (2008)
<i>subsp. infantis</i>	intestin d'enfant et adulte, vagin	ex. Reuter (1963)
<i>subsp. suis</i>		ex. Matteuzzi <i>et al.</i> , (1971)
<i>subsp. longum</i>	fèces d'enfant et adulte, vagin	ex. Reuter (1963)
<i>B. magnum</i>	fèces de lapin, eau d'égout	Scardovi et Zani (1974)
<i>B. merycicum</i>	rumen	Biavati et Mattarelli (1991)
<i>B. minimum</i>	eaux d'égouts	Biavati <i>et al.</i> , (1982)
<i>B. mongoliense</i>	produit laitier fermenté de jument	Watanabe <i>et al.</i> , (2009)

Tableau 2 : continue

<i>B. pseudocatenulatum</i>	fèces d'enfant	Scardovi <i>et al.</i> , (1979)
<i>B. pseudolongum</i>		Yaeshima <i>et al.</i> , (1992)
subsp. <i>globosum</i>	fèces de porc, poulet, veau et rats, rumen	Biavati <i>et al.</i> , (1982)
subsp. <i>pseudolongum</i>	fèces de porc, poulet, veau et rats, rumen	Mitsuoka (1969)
<i>B. psychraerophylum</i>	caecum de porcine	Simpson <i>et al.</i> , (2004)
<i>B. pullorum</i>	fèces de poulet	Trovatelli <i>et al.</i> , (1974)
<i>B. ruminantium</i>	rumen	Biavati et Mattarelli (1991)
<i>B. saeculare</i>	fèces de lapin	Biavati <i>et al.</i> , (1991)
<i>B. scardovii</i>	fèces d'adulte	Hoyles <i>et al.</i> , (2002)
<i>B. subtile</i>	eaux d'égout	Biavati <i>et al.</i> , (1982)
<i>B. thermophilum</i>	fèces de porc, poulet et veau, rumen bovin (<i>B. ruminale</i>)	Mitsuoka (1969)
<i>B. thermacidophilum</i>	digesteur anaérobique	Dong <i>et al.</i> , (2000)
<i>B. tsurumiense</i>	plaque dentaire de hamster	Okamoto <i>et al.</i> , (2008)

1.2 Les bifidobactéries, micro-organismes du microbiote intestinal

1.2.1 Description générale de l'écosystème gastro-intestinal

Le tractus gastro-intestinal est un écosystème complexe et ouvert aux microorganismes exogènes. De par sa surface totale (muqueuse) estimée à 200-300 m², il représente la plus grande surface du corps en contact avec l'environnement (Holzapfel *et al.*, 1998).

L'écosystème gastro-intestinal est généré par une alliance stable entre l'épithélium gastro-intestinal, le système immunitaire et une importante flore microbienne. Ces trois composants sont continuellement liés entre eux et évoluent ensemble en assurant une fonction et une activité normales de l'écosystème. Si l'un des trois composants de l'écosystème est défaillant, l'alliance est altérée et par conséquent diverses pathologies s'y installent (Mc-Cracken et Lorenz, 2001).

La Figure 1 montre les principaux compartiments constituant le tractus gastro-intestinal de l'homme.

Les interactions entre les microorganismes et l'hôte peuvent être de trois types : symbiose, commensalisme et pathogénicité (Hooper et Gordon, 2001). L'hôte est protégé contre la microflore intestinale pathogène par les barrières chimiques et physiques formées par l'épithélium gastrointestinal (Kagnoff et Eckmann, 1997).

1.2.2 La composition du microbiote intestinal

L'écosystème microbien de l'intestin humain, par sa diversification et sa complexité, assure différentes fonctions pour l'hôte (Audy, 2008).

Le microbiote intestinal a été estimé à près de 10^{13} - 10^{14} cellules microbiennes représentant 400 à 500 espèces et sous-espèces. De nombreuses études comparatives basées sur la séquence de l'ADNr 16S ont été réalisées afin de caractériser le microbiote fécal chez l'enfant ainsi que les communautés microbiennes fécale et adhérente du côlon chez l'adulte (Rudi *et al.*, 2007 ; Bik *et al.*, 2006 ; Eckburg *et al.*, 2005).

Les bactéries du tractus digestif sont essentiellement des micro-organismes anaérobies où les Firmicutes et bactéroïdes sont les phyla prédominants, avec seule exception l'estomac où les bactéries du phyla Proteobacteria dominent (Bik *et al.*, 2006 ; Eckburg *et al.*, 2005).

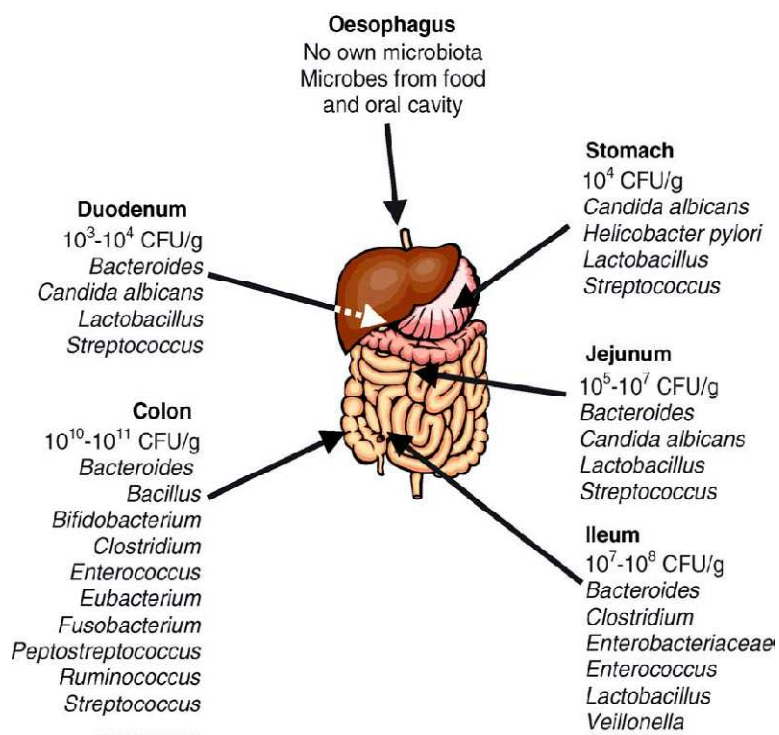


Figure 1 : Schéma simplifié décrivant les compartiments de l'appareil digestif de l'homme et leurs microflores. Adapté et modifié d'Ouwehand et Vesterlund (2003).

L'analyse de 13 355 séquences isolées de micro-organismes provenant de la muqueuse intestinale et des fèces de l'adulte a permis l'identification de 395 phylotypes bactériens, subdivisés en 7 phyla (Figure 3. A) (Eckburg *et al.*, 2005). Cette vaste étude énonce trois conclusions extrêmement intéressantes : chaque individu porte un microbiote différent ; le microbiote d'adhésion et celui des fèces le sont encore davantage ; la diversité bactérienne observée au niveau des microbiotes est plus importante que précédemment décrite (Eckburg *et al.*, 2005).

Le même type d'analyse, fondée sur l'ADNr 16S mais utilisant les puces à ADN, a été faite pour la communauté fécale chez l'enfant (Figure 3.B) (Palmer *et al.*, 2007). Des phyla identiques, mais avec des proportions différentes, ont été détectés chez l'enfant et l'individualité de la communauté microbienne a également été démontrée (Palmer *et al.*, 2007).

Les Protéobacteria occupent une proportion beaucoup plus importante dans le microbiote fécal de l'enfant que dans celui de l'adulte, qui héberge davantage de Firmicutes et de bactéroïdes (Figure 2) (Eckburg *et al.*, 2005 ; Palmer *et al.*, 2007).

La figure 3 représentant les phyla présents des communautés microbiennes fécale et adhérente du côlon chez l'adulte et l'enfant.

1.3.3 La situation des bifidobactéries dans cet écosystème complexe

La connaissance de la composition et la compréhension de la succession de l'écologie du microbiote intestinal sont nécessaires pour saisir l'importance des bifidobactéries.

Le genre *Bifidobacterium* est présent dans le tractus intestinal de la naissance à la mort de l'humain, mais les espèces et leur proportion varient selon l'âge (Tableau 3) (Gueimonde *et al.*, 2004; Matsuki *et al.*, 2004; Matsuki *et al.*, 1999).

La proportion de *Bifidobacterium* en rapport à la population totale du microbiote est très faible ou inexistante chez l'adulte lors des études ciblant par amplification PCR l'ADNr 16S total avec des amorces universelles (Eckburg *et al.*, 2005 ; Palmer *et al.*, 2007 ; Suau *et al.*, 1999; Wang *et al.*, 2003). Par contre, le genre *Bifidobacterium* a été mis en évidence chez presque tous les volontaires adultes lors de deux études ciblant spécifiquement la détection des bifidobactéries par PCR conventionnelle ou en temps réel (Q-PCR) (Matsuki *et al.*, 2004; Matsuki *et al.*, 1999). Les trois espèces prédominantes chez les adultes sont *B. catenulatum*, *B. longum* et *adolescentis*, mais des espèces généralement associées aux enfants ont également été détectées (*B. infantis* et *B. brève*) (Tableau 3).

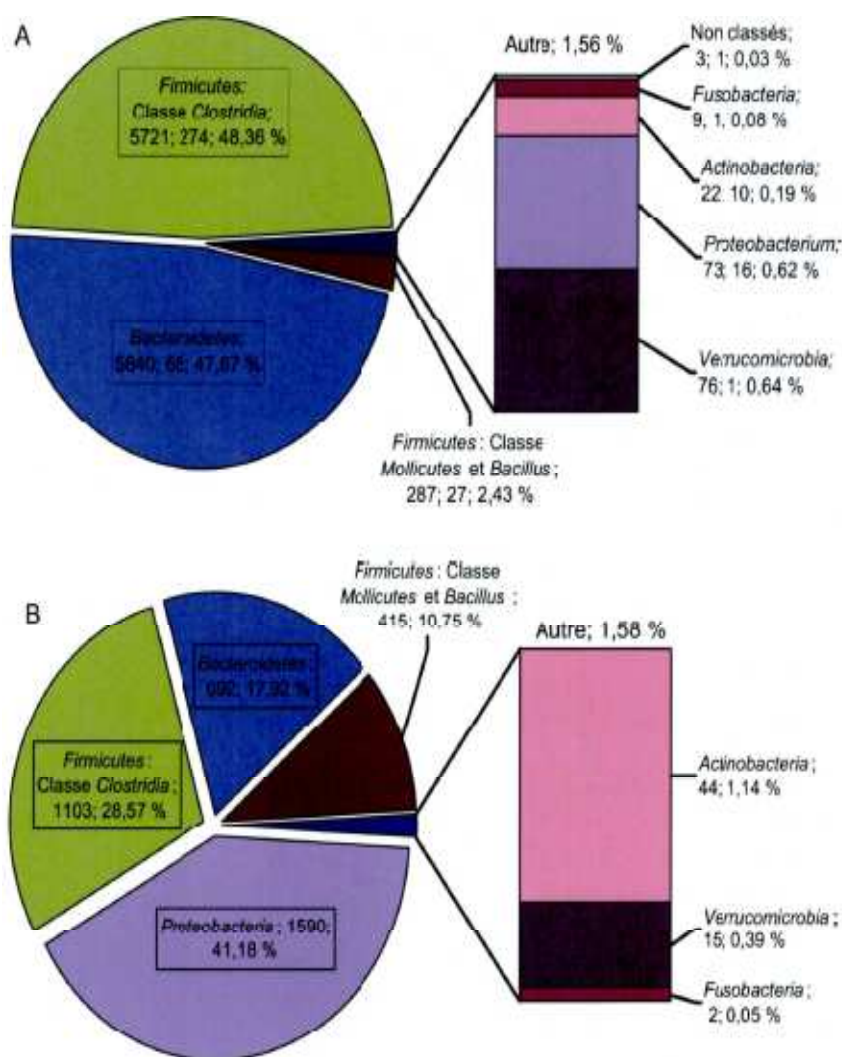


Figure 2 : Graphiques en secteurs basés sur l'analyse de la séquence de l'ADNr 16S représentant les phyla présents dans (A) les communautés microbiennes fécale et adhérente du côlon chez l'adulte et, (B) la communauté fécale chez l'enfant.

L'étiquette de chaque phylum inclut dans l'ordre, le nombre total de séquences récupérées, les phylotypes (seulement pour A) et l'abondance relative(%). (Données tirées de (A) Eckburg *et al.*, 2005) et (B) Palmer *et al.*, 2007).

Selon une récente analyse impliquant 14 sujets, les bifidobactéries seraient prédominantes dans le microbiote fécal de l'enfant. En effet, 34 % des taxa analysés appartenaient au genre *Bifidobacterium* (Rudi *et al.*, 2007).

Une seconde étude réalisée par analyse de puces à ADN et validée par Q-PCR, menée sur le même nombre d'enfants, établit au contraire une faible abondance des bifidobactéries

(Palmer *et al.*, 2007). Des bifidobactéries ont par ailleurs été détectées dans 93 % des échantillons de fèces d'enfants lors d'une étude qui ciblait uniquement les espèces du genre *Bifidobacterium* (Tableau 3). Les trois espèces prédominantes étaient *B. brève* (70 %), *B. infantis* (41 %) et *B. longum* (37 %).

En terminant, la flore des bifidobactéries est plus complexe et diversifiée chez l'adulte que chez l'enfant avec un nombre de $2,8 \pm 1,2$ espèces détectées par individu (Matsuki *et al.*, 1999).

Tableau 3 : La présence des espèces de bifidobactéries chez l'enfant et l'adulte
(Adapté de Matsuki *et al.*, 2004,1999).

Méthodes de détection	Nombre d'échantillons positifs (% du total)					
	Adultes			Enfants		
	PCR ^a (n= 48)	Q-PCR ^b (n = 46)	PCR ^c (n = 27)	PCR ^c (n = 27)	PCR ^c (n = 27)	PCR ^c (n = 27)
<i>Bifidobacterium</i> sp.	47 (98%)	46 (100%)	25 (93 %)	25 (93 %)	25 (93 %)	25 (93 %)
<i>B. adolescentis</i>	29 (60%)	38 (83%)	02 (7,4%)	02 (7,4%)	02 (7,4%)	02 (7,4%)
<i>B. angulatum</i>	02 (4,2%)	05 (11%)	01 (3,7%)	01 (3,7%)	01 (3,7%)	01 (3,7%)
<i>B. bifidum</i>	18 (36%)	13 (28%)	06 (22%)	06 (22%)	06 (22%)	06 (22%)
<i>B. brève</i>	06 (13%)	08 (17%)	19 (70%)	19 (70%)	19 (70%)	19 (70%)
<i>B. catenulatum</i>	44 (92%)	41 (89%)	05 (19%)	05 (19%)	05 (19%)	05 (19%)
<i>B. longum</i>	31 (65%)	44 (96%)	10 (37%)	10 (37%)	10 (37%)	10 (37%)
<i>B. infantis</i>	00 (00%)	02 (4,3%)	11 (41%)	11 (41%)	11 (41%)	11 (41%)
<i>B. denticum</i>	03 (6,3%)	04 (8,7%)	03 (11%)	03 (11%)	03 (11%)	03 (11%)
<i>B. gallicum</i>	00 (00%)	Non détecté	00 (00%)	00 (00%)	00 (00%)	00 (00%)

a. Les adultes étaient âgés de $38,8 \pm 8,9$ ans (moyenne \pm déviation standard).

b. Les adultes étaient âgés de 37 ± 9 ans.

c. Les enfants étaient âgés de $31,2 \pm 4,5$ jours.

1.3 Caractéristiques des bifidobactéries

1.3.1 Caractéristiques phénotypiques

1.3.1.1 Morphologie

Les bifidobactéries sont des bactéries Gram-positif, non-motiles et non-sporulantes (Ballongue, 2004). Elles ont une grande variété de formes : conoïdes, allongées avec des protubérances et des bifurcations (forme bifide en Y) ou à extrémités spatulées ; elles sont souvent disposées en chaînes étoilées en V ou en palissades. Leur morphologie a été souvent utilisée comme caractère distinctif des espèces (Dellaglio *et al.*, 1994).

Ce polymorphisme est en relation étroite avec la composition du milieu de culture. Il est démontré que l'apparition de formes bifides, peut être stimulée par l'addition de carbonates, d'acétate de sodium, de chlorures et de nombreux cations monovalents (Gavini *et al.*, 1990).

Les colonies des bifidobactéries sont d'apparence très variable, selon les souches elles forment des colonies lisses, muqueuses de contours réguliers (Scardovi, 1986).

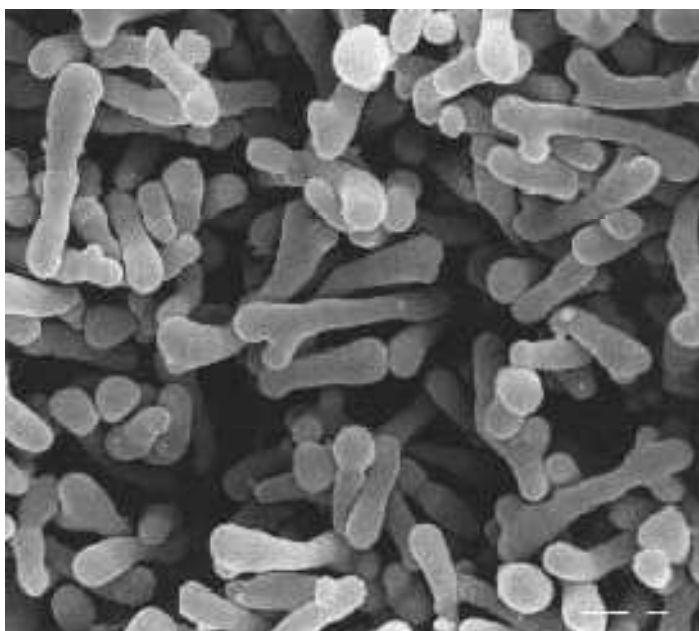


Figure 3 : Observation au microscope électronique du genre *Bifidobacterium* sp (Biavati *et al.*, 2000).

Une barre représente 1µm

1.3.1.2 La composition de la paroi cellulaire

La paroi cellulaire des bifidobactéries a une structure spécifique aux bactéries Gram positif. Elle est constituée d'une épaisse couche de muréine (peptidoglycane) entremêlée de longues chaînes de polysaccharides ainsi que de protéines et d'acides lipoteichoïques. La couche de muréine permet à ces bactéries de vivre dans un milieu ambiant qui est fréquemment hypotonique. Les protéines et les acides lipotéichoïques déterminent le caractère hydrophobe de la surface des bifidobactéries. La structure du peptidoglycane des bifidobactéries est plus proche des *Lactobacillaceae* que des *Actinomycetaceae* (Delcenserie *et al.*, 2002).

La composition en acides aminés de la muréine est variable selon les espèces et les souches d'une même espèce. Les acides aminés les plus fréquemment retrouvés sont la L-alanine, l'acide glutamique, la L-ornithine et la D-alanine. Pour certaines espèces et même certaines souches d'une même espèce, l'ornithine est remplacée par de la lysine (Biavati *et al.*, 2000).

Au niveau des composants polysaccharidiques de la paroi cellulaire, le glucose, le galactose et le rhamnose sont les plus fréquemment trouvés (Scardovi, 1986). Des différences qualitatives et quantitatives sont observées selon les espèces, les souches et les conditions de croissance (Biavati *et al.*, 2000).

Les acides lipotéichoïques forment des liaisons avec les chaînes de polysaccharides et semblent importants pour l'adhésion cellulaire des bifidobactéries à la paroi intestinale. Plusieurs bifidobactéries ont des lipoglycans de structures variables. Des études immunochimiques ont démontré que les acides lipotéichoïques portent un antigène commun aux différentes espèces du genre *Bifidobacterium* (Biavati *et al.*, 2000).

La composition en phospholipides de la membrane est un bon critère de différenciation. Seul *Bifidobacterium* contient des polyglycérolphospholipides et leurs lysodérivés, l'alanylphosphatidylglycérol et les lysodérivés du diphosphatidylglycérol. Des essais de réactions croisées avec des extraits phénoliques d'acides lipoteichoïques de *Bifidobacterium* et de *Lactobacillus* montrent que seuls les premiers réagissent. Il est, dès lors, intéressant d'envisager un sérogroupage avec, comme antigènes de groupe les acides lipoteichoïques (Delcenserie *et al.*, 2002). La figure 5 montre le Peptidoglycane type de certaines espèces du *Bifidobacterium*.

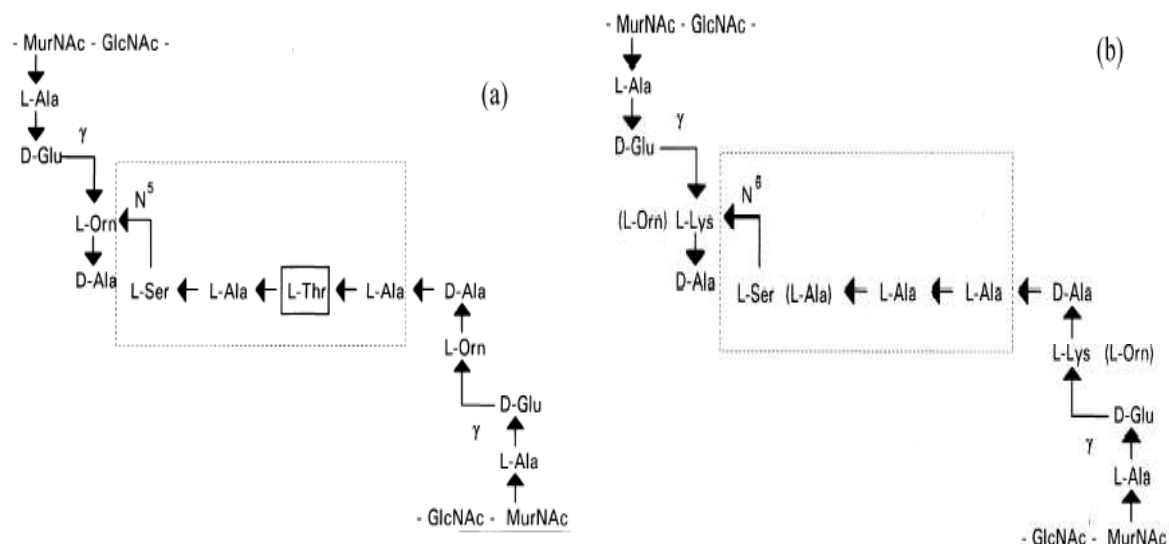


Figure 4 : Le Peptidoglycane type de certaines espèces du *Bifidobacterium*
(Klein *et al.*, 1998).

(a) Peptidoglycane type des : *B. longum* subsp. *Longum*, *B. longum* subsp. *infantis* et *B. longum* subsp. *Suis*.

(b) Peptidoglycane type de *B. animalis*, *B. choerinum*, *B. cuniculi* et *B. ruminantium*.

L-Ala, L-alanine ; L-Orn, L-ornithine; MurNAc, Acide *N*-acétylemuramique; D-Ala, D-alanine; L- Thr, L-thréonine; GlcNAc : *N*-acétylglucosamine; L-Lys, L-lysine; L-Ser, L-sérine; D-Glu, Acide D-glucosamique

1.3.2 Caractéristiques physiologiques

1.3.2.1 Température

Les bifidobactéries d'origine humaine révèlent une croissance optimale entre 36°C et 38°C tandis que les bifidobactéries d'origine animale démontrent une croissance optimale entre 41°C et 43°C. Toutefois, peu importe l'origine, ces microorganismes sont inhibés à des températures inférieures à 25°C et ne sont pas résistants à des températures supérieures à 45°C (Shah, 1997), à l'exception de *B. psychroaerophilum*, qui peut croître à température de 8°C (Cronin *et al.*, 2011) et *B. thermophilum*, *B. thermacidophilum* subsp. *Thermacidophilum* et *B. thermacidophilum* subsp. *porcinum* qui sont capable de croître aux conditions modérément thermophiles (47°C, 49,5°C et 46,5°C) (Scardovi *et al.*, 1979 ; Dong *et al.*, 2000 ; Zhu *et al.*, 2003).

En terminant, la croissance à 45°C semble distinguer entre les espèces animales et humaines (Gavini *et al.*, 1991).

1.3.2.2 Résistance et sensibilité au pH

Les Bifidobactéries sont des micro-organismes acido-tolérants. Ont un pH optimum de croissance entre 6,5 et 7. Il n'y a pas de croissance observée à pH au-dessous de 5 (Ballongue, 2004) et au-dessus de 8,5 (Biavati *et al.*, 2000) avec l'exception de *B. thermacidophilum* subsp. *thermacidophilum* qui a une croissance retardée à pH 4 (Dong *et al.*, 2000) et *B. animalis* subsp. *animalis* et *B. animalis* subsp. *lactis* qui peuvent survivre exposer au pH 3,5 pendant 3 heures (Matsumoto *et al.*, 2004).

1.3.2.3 Sensibilité et tolérances à l'oxygène

Généralement, elles sont considérées comme des microorganismes anaérobies stricts, Cependant, il semblerait que certaines souches puissent tolérer l'oxygène en présence de dioxyde de carbone (Tannock, 1999).

Meile *et al.*, (1997) ont isolé une souche de *B. lactis* contrairement aux autres espèces de bifidobactéries capable de croître en présence des concentrations élevées d'oxygène (plus grande que 5%) dans un milieu liquide contenant 0,3 mM de paraquat.

Les espèces qui tolèrent l'oxygène (ex : *B. lactis*, *B. aerophilum* et *B. psychroaerophilum*) présentent une faible activité catalytique qui élimine les traces du super oxyde d'hydrogène formées (H_2O_2) ou par le fait que le NADH oxydase de ces souches ne forme pas de H_2O_2 , alors l'accumulation d' H_2O_2 inhibe l'activité de F6PPK. Pour les souches extrêmement sensibles à l'oxygène, n'accumulent pas l' H_2O_2 et l'oxygène bloque la multiplication bactérienne par l'intermédiaire d'un potentiel d'oxydoréduction trop élevé (Ventura *et al.*, 2004).

1.3.2.4 Résistance et sensibilité aux antibiotiques

Savoir aux quels antibiotiques les bifidobactéries sont résistantes est très important pour deux raisons :

- i. Ils offrent la possibilité de maintenir les bifidobactéries dans le tube digestive sans agression et particulièrement durant un traitement aux antibiotiques.
- ii. en offrant la possibilité d'incorporer ces antibiotiques en tant que agents sélectifs dans les milieux de culture afin d'isoler les bifidobactéries depuis une flore complexe dérivée des échantillons médicaux ou diététiques (Ballongue, 2004).

Les bifidobactéries sont d'habitude très sensibles aux antibiotiques ayant un spectre d'action contre les bactéries Gram positif (macrolides, bacitracine, érythromycine,

lincomycine, novobiocine, teicoplanine et vancomycine), sensibles aux antibiotiques à large spectre d'activité (rifampicine, spectinomycine et chloramphenicol) et également aux beta-lactamines (pénicilline, ampicilline, amoxicilline, piperacilline, ticarcilline et imipenème). Une sensibilité variable a été constatée pour la tétracycline, céphalothine, et la céfotétane. Par contre, la plupart des espèces de *Bifidobacterium* sont résistantes à la métronidazole, aux antibiotiques ayant un spectre d'activité contre les bactéries Gram négatif (acide fusidique, acide nalidixique et polymixine B) et les aminoglycosides (néomycine, gentamicine, kanamycine et streptomycine).

Il convient de noter que les bifidobactéries sont résistantes à la mupirocine, un antibiotique qui a été utilisé comme agent sélectif pour l'isolement de ces espèces.

Certaines souches ont été considérées résistantes à la vancomycine et la céfoxitine, et autres résistantes à l'érythromycine, clindamycine et la tétracycline (Ammor *et al.*, 2007).

1.3.2.5 Production des substances antimicrobiennes

Malgré la grande utilisation des bifidobactéries dans la production des aliments fonctionnels les études sur son pouvoir antimicrobien est un peu restreint (Ventura *et al.*, 2004).

L'activité antimicrobienne du genre *Bifidobacterium* a été détectée en premier lieu par Tissier (1900), il a pu décrire plusieurs types des effets antagonistes de *B. bifidum* contre *E. coli*.

Récemment d'autres études décrivent l'activité antagoniste ou l'activité antimicrobienne spécifique des bifidobactéries liées à la production des acides lactique et acétique ou à la production des bactériocines (Yildirim et Johnson, 1998 ; Yildirim *et al.*, 1999 ; Abd El-Salam *et al.*, 2004 ; Bevilacqua *et al.*, 2003 ; Cheikhyoussef *et al.*, 2007 ; Cheikhyoussef *et al.*, 2008).

1.4 Besoins nutritionnels des bifidobactéries

1.4.1 Besoin en acides aminés

Les bifidobactéries sont des microorganismes aux exigences nutritionnelles élevées. La majorité des espèces sont capables d'utiliser les sels d'ammonium comme seule source d'azote. Cependant, *B. suis*, *B. magnum*, *B. choerinum*, et *B. cuniculi* ne se développent qu'en présence d'azote organique (Ballongue, 2004).

En absence de toute source d'azote organique, des quantités considérables de plusieurs acides aminés sont secrétés par les souches de *B. thermophilum*, *B. adolescentis*, *B. dentium*, *B. animalis* et *B. infantis*.

Généralement, les aminoacides produits en plus grandes quantités sont l'alanine, la valine et l'acide aspartique, à l'exception de *B. bifidum* qui peut produire jusqu'à 150 mg/litre de thréonine (Biavati et Mattarelli, 2006).

Selon Hatanaka *et al.*, (1987). La glutamine synthétase et le glutamate déshydrogénase de *Bifidobacterium* qui sont probablement impliquer dans l'assimilation des composés azotés par ces micro-organismes.

1.4.2 Besoins en sels minéraux et vitamines

Les besoins en minéraux ont été étudiés surtout chez *B. bifidum*, Cette espèce à besoin de fer, de magnésium et de manganèse. L'assimilation de fer par *B. bifidum* sous ses deux formes, ferreux ou ferrique est dépendante de l'acidité de milieu .Le fer ferreux (Fe^{+2}) est assimilé essentiellement à pH 5 et le transport de la molécule dépend d'une ATPase membranaire et son incorporation est inhibée compétitivement par le zinc, tandis que, le fer ferrique (Fe^{+3}) n'est utilisé qu'au pH neutre.par l'intermédiaire des ferro-enzymes, le fer est impliqué dans la production d'acide acétique par *B. bifidum* (Ballongue, 2004).

Il est impossible d'établir une règle pour le genre *Bifidobacterium* en ce qui concerne les exigences (besoins) en vitamines. Les souches d'origine humaine semble besoin pour leur croissance de la thiamine (B₁), pyridoxine (B₆), Acide folique (B₉), cyanocobalamine (B₁₂) et acide nicotinique(PP) (Ballongue, 2004).

1.4.3 Besoin en facteurs bifidogènes

Les premières études consacrées à la découverte des facteurs bifidogènes ont été réalisées avec la souche *B. bifidum* var, *pennsylvonicus*. Le composé N-acétyle-D-glucosamine présent dans le lait d'origine humaine a alors été identifié comme étant la substance essentielle et a été nommé facteur bifidogène 1 (Tamura, 1983).

Les facteurs bifidogènes sont des substances qui peuvent survivre au métabolisme direct de l'hôte et atteindre le gros intestin où elles sont préférentiellement métabolisées par les bifidobactéries (Ventura *et al.*, 2004).

On peut distinguer actuellement trois principale groupes de facteurs bifidogènes : les facteurs BB (BF1, BF2 et glycoprotéines), BI et les facteurs BL (Tableau 4) (Ballongue, 2004).

En outre, les fructooligosaccharides, lactoferrine, lactulose et lactitol, oligoholosides et polyholosides (raffinose, stachyose et inuline), xylooligosaccharides (D-xylane) et les oligosaccharides-transgalactosidés (isogalactobiose, galsucrose, et lactosucrose) sont considérés comme étant des facteurs bifidogènes (Ventura *et al.*, 2004). Cependant, ces derniers ingrédients sont également considérés comme prébiotiques (Amrouche, 2005).

Les facteurs BBa et BBb sont caractérisés comme des éléments de lait maternel qui ne perdent pas leur activité stimulante pour *B. bifidum* var. a et *B. bifidum* var. b, respectivement ni par le chauffage ni par l'irradiation. Les facteurs BBa sont fondés principalement à partir de l'extrait de levure, extrait de foie, laits lyophilisés, hydrolysats de caséine bovine et la mucine porcine, alors que les colostrums, lait maternel et le lait de rat, les hydrolysats de caséines humaines ainsi que la mucine porcine contiennent les facteurs BBb (tableau 4) (Ballongue, 2004).

Tableau 4 : Caractéristiques des principaux facteurs bifidogènes (Ballongue, 2004).

Facteur bifidogène	Espèces concernées	Sources	Resistance			Structure active
			Chaleur	Rayons	Lyoph.	
BB						
BF1	<i>B. bifidum</i> var. b	Lait et colostrum Hyrolysats de caséines humaine Mucines	+	+		N-Acétyle glucosamine glycoprotéines
BF2	<i>B. bifidum</i> var. a	Hyrolysats de caséines	+	+		Peptides non glycolysés
Glycoprotéines	<i>B. bifidum</i> var. a <i>B. bifidum</i> var. b	Lait maternel et colostrum				Partie glucidique
BI	<i>B. infantis</i>	Extraits des plantes Extraits de foie Lait	±	±	-	Partie protéique
BL	<i>B. longum</i>	Extraits des plantes Extraits de foie lait	-	-		Protéines différentes de facteurs BB

1.5 Métabolisme des bifidobactéries

1.5.1 Métabolisme de carbonohydrates

Les données physiologiques confirment que les bifidobactéries peuvent fermenter divers sources carbonique complexe tels que la mucine gastrique, les xylo-oligosccharides, (trans)galcto-oligosccharides, oligosaccharides de Soja, malto-oligosaccharides, fructo-oligosccharides, la pectine et autres oligosaccharides dérivés des plantes. Quoique, la faculté à métaboliser des carbonohydrates particuliers est dépendante des espèces et des souches.

L'aptitude à métaboliser les carbonohydrates peu varie considérablement entre les souches. Cependant, la majorité des bifidobactéries caractérisées utilisent le ribose, galactose, fructose, glucose, sucrose, maltose, melibiose et le raffinose, mais généralement ne fermentent pas le L-arabinose, rhamnose, N-acétylglucosamine, sorbitol, mélézitose, tréhalose, glycérol, xylitol et inuline (Pokusaeva *et al.*, 2011).

Le tableau 5 résume les caractéristiques fermentatives distinctives des espèces de genre *Bifidobacterium*.

Tableau 5 : Caractéristiques fermentatives distinctives des espèces de genre *Bifidobacterium*^a (Biavati et Mattarelli, 2006).

Les sucres	Xylose	D-Mannose	D-Fructose	D-Galactose	Sucrose	Maltose	Trehalose	Melibiose	Mannitol	Salicine	Sorbitol	L-Arabinose	Raffinose	D-Ribose	Starch	Lactose	Inuline	Cellobiose	Melezitose	Gluconate
<i>B. bifidum</i>	-	-	+ ^b	+	v ^c	- ^a	-	v	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
<i>B. longum</i>	v	v	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	+	-	+	-	-	+	-
<i>B. infantis</i>	v	v	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	+	+	-	+	v	v	v	-
<i>B. breve</i>	-	+	+	+	+	+	v	+	v	+	v	-	+	+	-	+	v	-	-	-
<i>B. adolescentis</i>	+	v	+	+	+	+	v	+	v	+	v	+	+	+	+	+	v	+	+	+
<i>B. angulatum</i>	+	-	+	+	+	+	-	-	+	+	v	+	+	+	+	+	+	-	-	v
<i>B. catenulatum</i>	+	-	+	+	+	+	v	+	v	+	+	+	+	+	-	+	v	+	-	v
<i>B. pseudocatenulatum</i>	+	+	+	+	+	+	v	+	-	+	v	+	+	+	+	+	-	v	-	v
<i>B. gallicum</i>	+	-	+	+	+	+	-	-	-	+ ^g	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-
<i>B. dentium</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+
<i>B. denticolens</i>	-	-	+	+	+	+	v	+	-	+	nd	v	+	+	+	+	+	+	-	-
<i>B. inopinatum</i>	+	-	+	-	+	+	-	+ ^b	-	v	nd	-	+ ^b	+	+	v	v	-	v	-
<i>B. pseudolongum</i>																				
<i>subsp. pseudolongum</i>	+	+ ^g	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	+	+	v	-	v	v	-
<i>subsp. globosum</i>	v	-	+ ^e	+	+	+	-	+	-	- ^f	-	v	+	+	+	+	-	-	-	-
<i>B. cuniculi</i>	+	-	-	+	+	+	-	+	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-
<i>B. choerinum</i>	-	-	-	+	+	+	-	+	-	-	-	-	+	-	+	+	-	-	-	-
<i>B. animalis</i>	+	v	+	+	+	+	v	+	-	+	-	+	+	+	+	+	-	v	v	-
<i>B. lactis</i>	+	-	-	-	+	+	-	+	-	-	-	+	+	+	-	+	-	-	-	-
<i>B. thermophilum</i>	-	+ ^h	+	+	+	+	v	+	-	v	-	-	+	-	+	v	v	v	v	-
<i>B. thermacidophilum</i>	- ^d	-	+	+	+	nd	-	+	-	- ^d	+	+ ⁱ	+	+ ⁱ	v	- ^d	-	nd	v	- ⁱ
<i>B. boum</i>	-	-	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	+	-	+	v	+	-	-	-
<i>B. merycicum</i>	+	-	+	+	+	+	-	+	-	+	-	+	+	+	+	+	-	v	-	-
<i>B. ruminantium</i>	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+ ⁱ	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-
<i>B. magnum</i>	+	-	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	+	-	+	-	-	-	-
<i>B. pullorum</i>	+	+	+	+ ^g	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	-	-	+	-	-	-
<i>B. gallinarum</i>	+	v	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	-	+	+	v	v	nd
<i>B. saeculare</i>	+	+ ^b	+	+ ^g	+	+ ^b	+	+	-	v	- ^d	+	+	+	-	+ ^g	+	-	+	-
<i>B. suis</i>	+	v ^j	v ^j	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-
<i>B. minimum</i>	-	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
<i>B. subtile</i>	-	-	+	+	+	+	v	+	-	v	+	-	+	+	+	-	v	-	+	+
<i>B. coryneforme</i>	+	-	+	+	+	+	-	+	-	+	-	-	+	+	-	-	nd	+	-	+
<i>B. asteroides k</i>	+ ^l	- ^d	+	v	+	v	-	+	-	+	-	-	+	+	-	-	-	+	-	+
<i>B. indicum k</i>	-	v	+	v	+	v	-	+	-	+	-	-	+	+	-	-	-	+	-	+

Symboles :

+, 90% ou plus des souches sont positives ; -, 90% ou plus des souches sont négatives ; v, 11- 89% des souches sont positives et nd, non déterminer ; ^a Tous les souches testées fermentent le glucose, mais ne fermentent pas le glycérol, lactate et le rhamnose ; ^b Quelques souches ne fermentent pas le sucre ; ^c Quand positive, le sucre est fermenté lentement ; ^d Certaines souches fermentent le sucre ; ^e Certaines souches sont négatives, particulièrement les souches isolées de fèces de rat et lapin ; ^f Certaines souches peut le fermenter faiblement ; ^g Généralement fermentation retardée ou légère ; ^h Certaines souches d'égoûts fermentent le sucre ; ⁱ Certaines souches fermentent faiblement ce sucre ; ^j Reporté comme "parfois non fermenté" (Matteuzzi *et al.*, 1971).

Le métabolisme de fermentation des carbohydrates par les bifidobactéries diffère de bactéries homofermentaires et hétérofermentaires. En effet, celles-ci sont dépourvues des enzymes aldolase et glucose-6-phosphate qui sont impliquées dans la glycolyse et la voie des hexoses monophosphates. La fructose-6-phosphocétolase (EC 4.1.2.22 ; F6PPK) est une enzyme typique des bifidobactéries impliquée dans la dégradation du glucose. Cette enzyme serait absente des autres bactéries Gram positif et présentant la morphologie "bifide", telle celles appartenant aux genres *Arthrobacter*, *Propionibacterium*, *Corynebacterium*, et *Actinomyces*. Trois types de F6PPK sont révélés. Ils pourraient être spécifiques de l'origine des souches (origines humaine et animale, intestins d'abeilles par exemple) (Gavini *et al.*, 1990).

Le dosage de cette enzyme est d'ailleurs à l'origine d'un test d'identification du genre *Bifidobacterium* (Scardovi, 1981). Cette enzyme scinde le fructose-6-phosphate en acétyl-1-phosphate et en érythrose-4-phosphate. Par la suite, ces métabolites intermédiaires sont transformés en acide acétique et en acide lactique.

La figure 5 montre la dégradation des carbohydrates via la voie bifide (Bifid-Shunt) des bifidobactéries.

Les bifidobactéries ne produisent ni acide butyrique ni acide propionique et le CO₂ est synthétisé seulement lors de la dégradation du gluconate (Scardovi, 1986).

La voie métabolique du fructose-6-phosphate phosphocétolase produit de l'acide lactique et de l'acide acétique comme métabolites primaires en proportion de 2:3 (De Vries *et al.*, 1967). Toutefois, certaines souches de bifidobactéries vont produire plus d'acide acétique et moins d'acide lactique. Le surplus d'acide acétique formé provient d'une autre voie métabolique des bifidobactéries qui convertit le pyruvate en acide formique et en acétate plutôt qu'en acide lactique. Par la suite, une partie de l'acide acétique est transformé en éthanol (DeVries et Stouthamer, 1968 ; Lauer et Kandler, 1976).

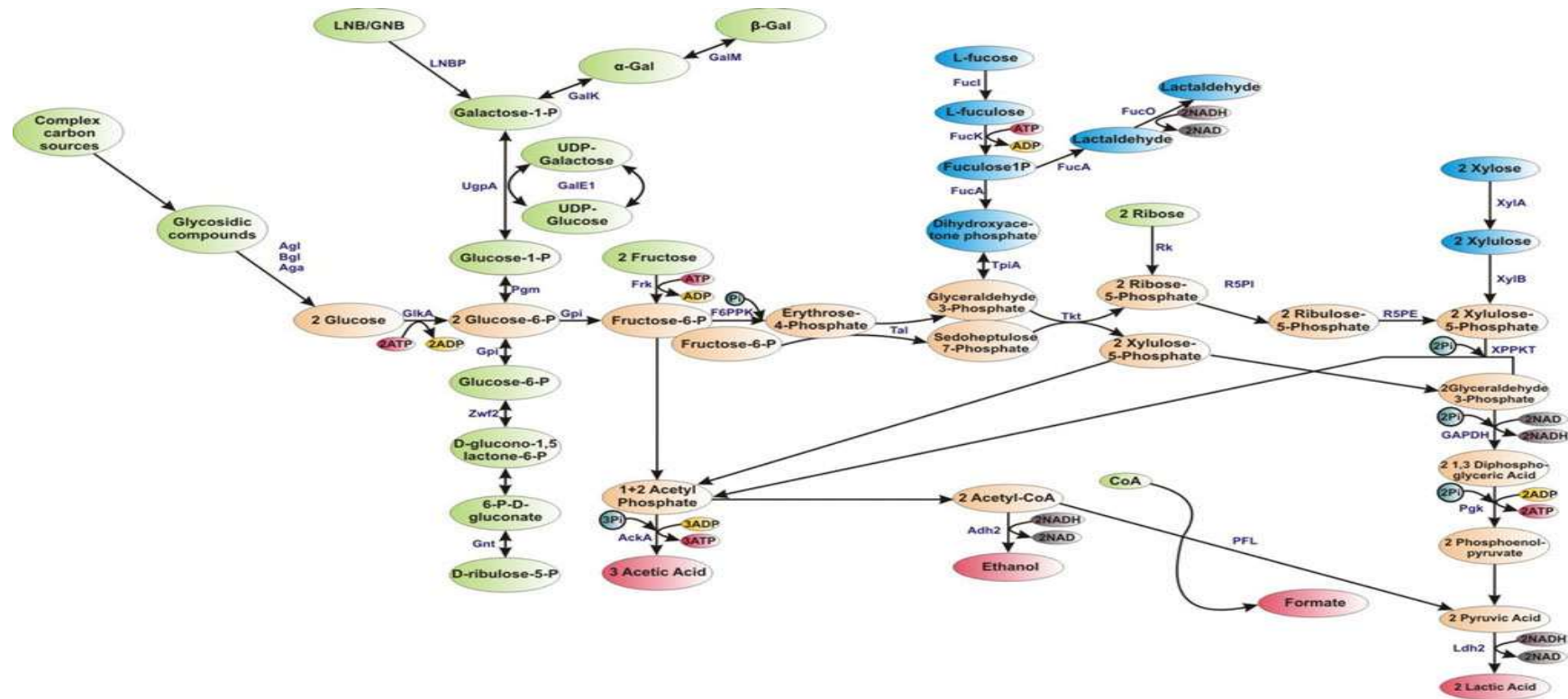


Figure 5 : Représentation schématique de dégradation des carbohydrates via la voie bifide (Bifid-Shunt) des bifidobactéries (Pokusaeva *et al.*, 2011).

Abbreviations : **AckA**, acétate kinase; **Adh2**, aldéhyde-alcool déshydrogénase 2; **Aga**, α galactosidase; **Agl**, α -glucosidase; **Bgl**, β -glucosidase; **GaleE1**, UDP-glucose 4-epimerase; **GalK**, galactokinase; **GalM**, galactose mutarotase; **GAPDH**, glyceraldéhyde- 3-phosphate déshydrogénase C; **GikA**, glucokinase; **Gnt**, 6-phosphogluconate déshydrogénase; **Gpi**, glucose 6-phosphate isomérase; **Frk**, fruktokinase; **F6PPK**, fructose-6-phosphocétolase; **FucI**, L-fucose isomérase; **FucK**, L-fuculose kinase; **FucA**, L-fuculose-1Paldolase; **FucO**, lactaldéhyde réductase; **Ldh2**, lactate déshydrogénase; **LNBP**, lacto-N-biose phosphorylase; **Pgk**, phosphoglycérique kinase; **Pgm**, phosphoglucomutase; **Pfl**, formate acétyltransférase; **Rk**, ribokinase; **R5PI**, ribose-5-phosphate isomérase; **R5PE**, ribulose-5-phosphate epimérase; **Tal**, transaldolase; **Tkt**, transketolase; **TpiA**, triosephosphate isomérase; **UppA**, UTP-glucose-1-phosphate uridylyltransférase; **XPPKT**, xylulose-5 phosphate/fructose-6-phosphate phosphocétolase; **XylA**, xylose isomérase ; **XylB**, xylulose kinase; **Zwf2**, glucose-6-phosphate 1-déshydrogénase; **Pi**, phosphate inorganique

1.5.2 Métabolisme protéolytique

Les *bifidobacterium* sont comparables aux bactéries lactiques par la présence d'une activité générale d'aminopeptidase, des dipeptidases et probablement iminopeptidases et des tripeptidases (Bockelmann et Fobker, 1991 ; Eggimann et Bachmann, 1980 ; Meyer et Jordi, 1987).

Minagawa *et al.*, (1985) ont dressé un profil de l'activité des exopeptidases d'extraits cellulaires de cinq souches d'origine humaine. Une forte activité hydrolytique sur les peptides contenant la leucine, phénylalanine, tyrosine, ou de la valine en position N-terminale a été observée.

Cheng et Nagasawa, (1985) ont identifié et purifié des exopeptidases, une leucine aminopeptidase et une proline iminopeptidase à partir d'extraits cellulaires de *B. breve*.

Desjardins *et al.*, (1990) ont détecté une activité leucine aminopeptidase sur la plupart des souches d'origine humaine qui ont été testées.

El-Soda *et al.*, (1992) ont observé une activité hydrolytique semblable à celle de *Lb. casei* chez certaines espèces de bifidobactéries (*B. infantis*, *B. longum*, et *B. adolescentis*). Ils ont confirmé la présence d'aminopeptidase, d'iminopeptidase, dipeptidase, tripeptidase et d'une carboxypeptidase.

Des souches de *Bifidobacterium* (*B. angulatum* ATCC 27535, *B. breve* NCFB 2258 et *B. bifidum* NCFB 2715) ont montré une activité protéolytique faible dans du lait de chamelle non fermenté pendant le stockage à 4°C. Cependant, cette activité a augmenté brusquement après le 9^e jour jusqu'à la fin de la période de stockage chez toutes les souches (Abu-Tarbaoush, 1998).

Une étude réalisée par Shihata et Shah, (2000) sur le profil protéolytique des ferments du yaourt (*St. thermophilus* et *Lb. delbrueckii*. subsp. *bulgaricus*, *Lb. acidophilus*) et des espèces probiotiques de *Bifidobacterium* a démontré que les bifidobactéries ont des niveaux élevés de l'activité intracellulaire d'aminopeptidase mais d'une activité protéolytique très faible comparé de celle des ferments du yaourt.

1.5.3 Métabolisme de l'urée

Le métabolisme de l'urée par les bifidobactéries d'origine humaine est moins important, seulement 10% des souches de *B. longum* et *B. breve* ont montré une

activité urolytique (Crociani *et al.*, 1982). Cette activité est détectée chez plus de 80% des souches de *B. Suis* par contre cette dernière est faible chez *B. bifidum* (Tamime *et al.*, 1995).

1.5.4 Réduction de nitrate

Usuellement, les bifidobactéries ne réduisent pas le nitrate. Cependant, les cellules repoussées en présence des cellules lysées peuvent être capables de le réduire. Les Cytochromes b et d sont synthétisés sous ces conditions de croissance (Biavati et Mattarelli 2006)

1.5.5 Production de vitamines

Des études comparatives menées par Deguchi *et al.*, (1985) sur la synthèse de six (06) vitamines (thiamine (B₁), riboflavine (B₂), pyridoxine (B₆), acide folique (B₉), cyanocobalamine (B₁₂), et l'acide nicotinique (PP)) ont montrées que parmi les 24 souches de 05 espèces isolées des fèces humaines que la plus part des souches examinées peuvent synthétiser tous les vitamines testés, à part la ribovalavine, avec un dégagement étendu des vitamines B₆, B₉ et B₁₂ .

Ces auteurs ont notées également que *B. bifidum* et *B. infantis* sont des bons producteurs de vitamines B₁, B₉ et PP, tandis que *B. breve* et *B. longum* libèrent des petites quantités et que *B. adolescentis* ne synthétise aucun de ces vitamines.

La production de vitamines B₂ et B₆ par *B. longum* est exceptionnel, alors que *B. breve* et *B. infantis* sont caractérisées par leur production de taux élevés en vitamines PP et H (Ballongue, 2004). Les résultats sont mentionnés au tableau 6.

Tableau 6 : La production des vitamines par les *Bifidobacterium* (Ballongue, 2004).

	<i>B. breve</i>	<i>B. infantis</i>	<i>B. longum</i>	<i>B. bifidum</i>	<i>B.adolescentis</i>
Thiamine (B ₁)	+	+++	+	+++	+
Riboflavine (B ₂)	+	+	+++	++	++
Pyridoxine (B ₆)	++	++	+++	+	+
Acide folique(B ₉)	+	+++	+	++	+
Cobalamine (B ₁₂)	+	++	+++	+	+
Acide Ascorbique (C)	++	++	+++	++	+
Acide Nicotinique (PP)	+++	+++	+	+++	+
Biotine (H)	++	+++	++	++	++

1.6 La génétique des bifidobactéries

1.6.1 Le Contenu en guanine+cytosine (G+C%)

Les bifidobactéries sont phylogénétiquement distinctes des autres bactéries lactiques avec un contenu en G+C généralement élevé qui varie de 42 % à 67 % (Russell *et al.*, 2011).

Jian *et al.*, (2001) ont classé les bifidobactéries en 3 groupes : les bifidobactéries riches en G+C (55-67%), les bifidobactéries pauvres en G+C (45%) et les bifidobactéries ayant un pourcentage G+C intermédiaire (55%). Ces trois groupes correspondent à trois phylums évolutifs différents. Cependant, Cette classification à été annulée par Jian et Dong, 2002 en reclassant *B. inopinatum* et *B. denticolens* dans deux nouveaux genres *Parascardovia inopinata* et *Scardovia denticolens* qui ont respectivement 45% et 55% de contenu G+C.

1.6.2 Les Plasmides

Les plasmides des bifidobactéries ont été rapportés initialement par Sgorbati *et al.*, (1982) en examinant 1461 isolats, représentant 24 différentes espèces afin de montrer la présence d'ADN extrachromosomique. Sur les 24 espèces étudiées de *Bifidobacterium*, seulement 04 espèces ont démontrées qu'elles possèdent des plasmides, à savoir, *B. longum*, *B. globosum*, *B. asteroides* et *B. indicum* (Cronin *et al.*, 2011).

Autre espèces de bifidobactéries d'origine humaine, par exemple *B. dentium*, *B. breve*, *B. bifidum*, *B. pseudocatenulatum* et *B. catenulatum*, ont démontrés qu'elles contiennent des plasmides libres (Biavati et Mattarelli., 2006).

Actuellement, 27 plasmides ont été séquencés. Parmi ces 27 plasmides, 16 ont été isolés à partir des souches de *B. longum*, 03 ont été caractérisés à partir des souches de *B. breve*, 02 plasmides de *B. asteroides* et 02 depuis *B. bifidum*, et un seul plasmide isolé à partir de *B. pseudocatenulatum*, *B. catenulatum*, *B. globosum* et *B. indicum* pour chacune.

La taille des plasmides s'étend de 1,8 kb (pMB1) à 10,2 kb (pNAC3), et les souches portent généralement un seul plasmide, à l'exception de 3 souches de *B. longum* lesquelles possèdent 02 plasmides et les souches de *B. longum* NAL8 et F110564 lesquelles contiennent 03 plasmides chacune.

La majorité des plasmides des bifidobactéries sont cryptiques, tandis que d'autres ne le sont pas tel que le plasmide de *B. bifidum* qui fut proposé de coder la bifidocine B (bactériocine) et le plasmide pBIF10 qui contient le gène de résistance à la tétracycline (Cronin *et al.*, 2011).

1.6.3 Les séquences d'ADN étudiées

L'étude de l'ADN est un bon moyen pour pouvoir identifier une espèce bactérienne, néanmoins également pour pouvoir étudier le lien de parenté entre les souches appartenant à la même espèce. En ce qui concerne les bifidobactéries, certaines régions du génome ont particulièrement été étudiées (Delcenserie *et al.*, 2002).

1.6.3.1 Le gène codant pour l'ARN ribosomal 16S

L'analyse du gène codant pour l'ARN ribosomal 16S (ADNr 16S) est un moyen utile en vue d'identifier des relations phylogéniques entre les espèces (Mangin *et al.*, 1999).

Le gène codant pour l'ARNr 16S a été séquencé pour presque toutes les espèces et sous espèces de bifidobactéries. Ce gène est très bien conservé, jusqu'à 99% dans le genre *Bifidobacterium* (Delcenserie *et al.*, 2002).

En tenant compte de leur différentes niches écologiques en combinant ces informations avec les analyses comparatives des séquences de leur ADN 16S, ainsi que le séquençage de gènes de ménages (*clpC*, *dnaJ*, *xfp*, *dnaB*, *rpoC* et *purF*), les différentes espèces de *Bifidobacterium* peuvent être regroupées en six (06) groupes : *B. adolescentis*, *B. asteroides*, *B. boum*, *B. longum*, *B. pullorum*, et *B. pseudolongum* (figure 6) (Turroni *et al.*, 2011).

Ainsi, basant sur l'analyse des séquences codant pour les ARNr 16S, Masco *et al.*, (2004) ont révélés que presque toutes les espèces du genre *Bifidobacterium* et l'espèce *Gardnerella vaginalis* appartiennent à un groupe phylogénétiquement distinct des autres genres.

1.6.3.2 Le gène codant pour la protéine Hsp 60

Le séquençage des gènes codants la protéine de choc thermique de 60 kDa (*hsp60*) ont été utilisés pour déduire la phylogénie au sein des bifidobactéries. Quoique certaines différences aient été rapportées, l'arbre phylogénétique construit à partir de ces séquences (*hsp60*) était essentiellement similaire à celui établi avec les gènes codants pour l'ARNr 16S. Notamment, dans l'arbre phylogénétique basé sur les séquences codantes pour la protéine *hsp60*, *G. vaginalis* et les *Bifidobacterium* furent regroupés en différents groupes, alors que l'arbre basé sur l'ADN 16S, ces deux(02) taxa furent regroupés ensemble. De plus, l'analyse de ces séquences (la protéine *hsp60*) a suggéré que *B. denticolens* et *B. inopinatum* doivent être déplacés et créer les nouveaux genres : *Scardovia* et *Parascardovia* dans la famille des *Bifidobacteriaceae* (Figure 6) (Ventura *et al.*, 2004).

Ainsi, Simpson *et al.*, (2004), par la détermination de pourcentage moléculaire en G + C et l'étude de la séquence du gène codant la protéine *hsp60*, montrent que *B. aerophilum* (espèce isolée de cæcum de porc) constitue un nouveau genre, et l'espèce a été reclassée dans un nouveau genre dénommé *Aeriscardovia* avec une seule espèce *Aeriscardovia aeriphila*.

La classification basée sur le gène codant pour la protéine *hsp60* semble être la meilleure car le dendrogramme obtenu est mieux corrélé avec le contenu en G+C (Delcenserie *et al.*, 2002).

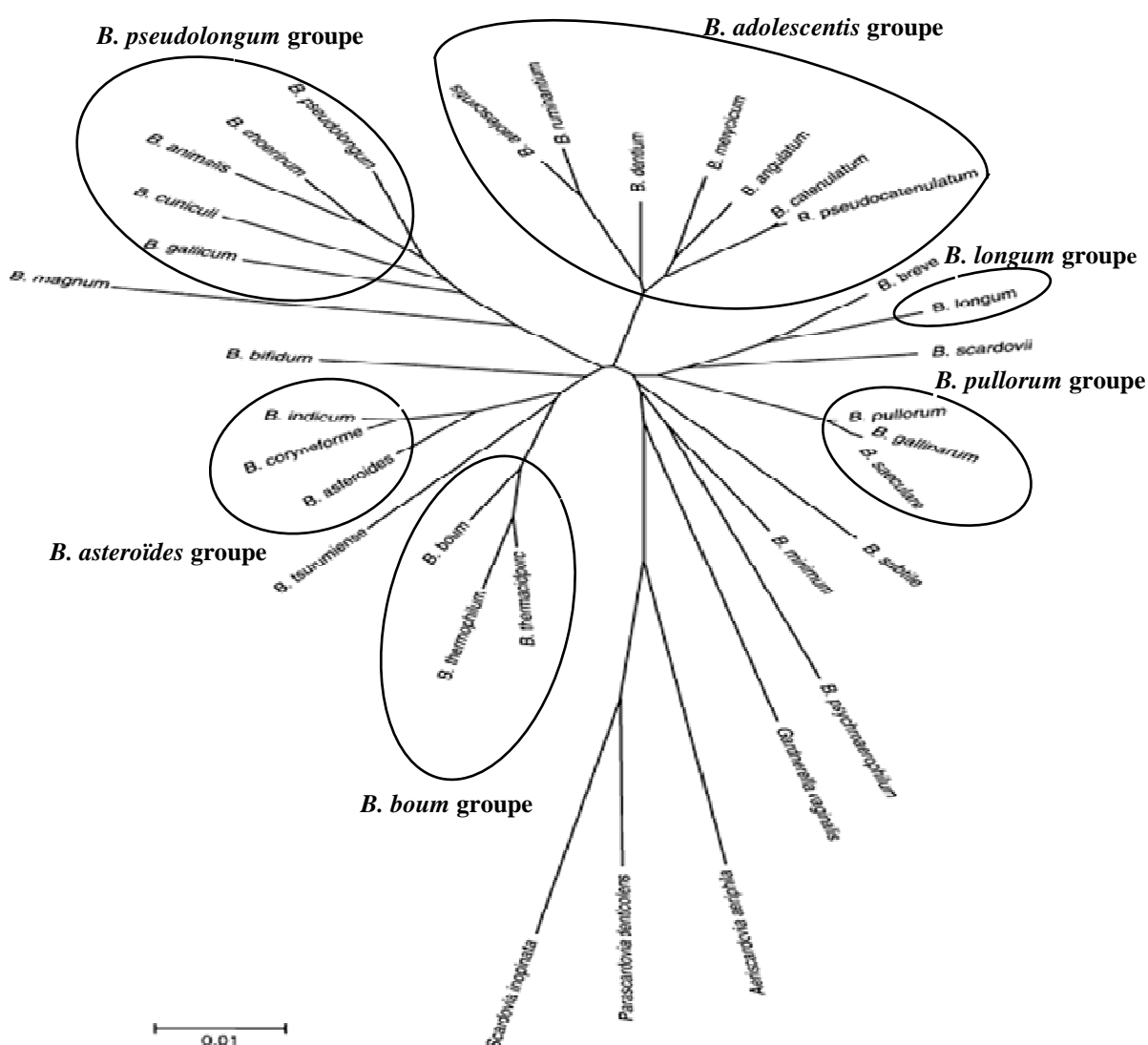


Figure 6 : Arbre phylogénétique, basé sur l'analyse comparative des séquences d'ARNr 16S, montrant les relations parmi les espèces de genre *Bifidobacterium* et les genres apparentés (adapté de Turroni *et al.*, 2011 et Felis *et al.*, 2009).

1.7 Incorporation des bifidobactéries dans les produits laitiers

Bien que les bifidobactéries fassent déjà partie de la flore intestinale indigène chez l'humain, un apport quotidien de bifidobactéries peut être nécessaire pour stimuler ou suppléer la population déjà existante. L'ingestion de bifidobactéries permet aussi de remplacer la flore qui est détruite par des infections ou encore par la prise d'antibiotiques (Piquet *et al.*, 2007).

L'incorporation des bifidobactéries s'est faite pour la première fois par Mayer, en 1948 en Allemagne. *Bifidobacterium bifidum* a été incorporé à de la nourriture pour bébé qui était prescrite à des enfants ayant des carences nutritionnelles. Par la suite, en 1968, l'équipe de Schuler-Malyoth a démontré que les bifidobactéries pouvaient être cultivées dans les produits laitiers (Rasic et Kurman, 1983).

Sur le marché mondial, on y dénombre plus de 90 produits contenant des bifidobactéries, que ce soit sous formes de laits fermentés, de desserts congelés, de fromages, de capsules, etc. (Dave et Shah, 1997; Mital et Garg, 1992; Patel *et al.*, 1991 ; Modler *et al.*, 1990).

En Algérie quatre fabricants réclame la présence de *Bifidobacterium spp* dans leur produit commercialisé sur le marché : Danone Djurjura bioactivia, Soummam Acti+, Trèfle probiotic et Djgurta biofide.

Présentement, les bifidobactéries sont incorporées aux produits laitiers de deux façons.

Les bifidobactéries peuvent être ajoutées aux produits laitiers déjà fermentés ou encore elles peuvent être ajoutées aux bactéries lactiques lors de l'ensemencement. Lorsqu'elles sont ajoutées au moment de la fabrication du produit, les bifidobactéries sont utilisées en monoculture ou encore en culture mixte avec des bactéries lactiques (Patel *et al.*, 1991).

Les espèces de bifidobactéries les plus utilisées dans le domaine laitier sont *Bifidobacterium adolescentis*, *B. bifidum*, *B. breve*, *B. longum*, *B. animalis* et *B. infantis* (Tamime *et al.*, 1995).

1.8 La viabilité des bifidobactéries dans les produits laitiers

La survie des bifidobactéries dans les produits laitiers doit être assurée jusqu'à la consommation du produit par le consommateur. Ainsi, la viabilité des bifidobactéries dépend de plusieurs facteurs parmi lesquels on retrouve le degré d'acidification, l'espèce

utilisée, les conditions de fermentations, la température d'entreposage, la post-acidification et les méthodes de conservation (Kneifel *et al.*, 1993).

Les souches de *Bifidobacterium* sont difficiles à faire croître dans les produits fermentés puisqu'elles ont un métabolisme complexe. La plupart des probiotiques ont une phase stationnaire de croissance de courte durée, suivie rapidement par une perte de la viabilité et ce, malgré des conditions d'entreposage optimales. Cette courte phase de croissance représente un problème pour les manufacturiers et constitue un défi pour les chercheurs (Lamoureux, 2000).

La croissance de la plupart des souches de *Bifidobacterium* est inhibée à des pH inférieurs à 5. Malheureusement, la plupart des laits fermentés ont un pH inférieur à 4,6 ce qui limite la propagation des bifidobactéries qui sont intolérantes à l'acide (Shah, 1997, Rasic et Kurmann, 1983).

Il semblerait qu'en utilisant des bactéries lactiques qui produisent moins d'acide que *St. thermophilus* et *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, il serait possible de maximiser la viabilité des bifidobactéries dans un lait fermenté (Ishibashi et Shimamura, 1993).

Plusieurs études ont rapporté l'utilisation de la micro-encapsulation pour protéger les bifidobactéries des conditions acides auxquelles elles sont soumises lors de l'entreposage du produit et durant le passage dans le tractus gastro-intestinal (Modler et Villa-Garcia, 1993 ; Dziezak, 1988).

Dinakar et Mistry, (1994) ont observé que des bifidobactéries ajoutées à du fromage cheddar sous forme immobilisée dans un gel de k-carraghénine demeuraient viables pour une période de 24 semaines. En revanche, l'encapsulation de *B. longum* dans de la matière grasse n'a pas permis d'améliorer la survie de la culture dans un yogourt glacé (Modler et Villa- Garcia, 1993). Il est donc important de bien caractériser et sélectionner les différents facteurs du procédé d'encapsulation pour assurer un effet protecteur maximal (Lamoureux, 2000).

La viabilité des bifidobactéries est particulièrement affectée suite à la post-acidification des laits fermentés par les bactéries lactiques. Des recherches ont démontré que la majorité des souches de *Bifidobacterium* voit leur population réduite par un facteur de 10^3 dans un lait fermenté après un entreposage de 2 semaines (Biavati *et al.*, 1992). Pour contrer ce problème, plusieurs manufacturiers substituent la souche *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* par la souche *Lb. acidophilus*. Cette dernière causerait moins de post-acidification, mais

l'utilisation de cette souche nécessite l'augmentation du temps de fermentation dans plusieurs cas (Lamoureux, 2000).

Les bifidobactéries sont des bactéries anaérobies qui tolèrent mal l'oxygène. Cette caractéristique ne facilite donc pas leur propagation dans les produits alimentaires. Pour solutionner ce problème, on suggère l'utilisation de *St. thermophilus* dont la capacité à utiliser l'oxygène est très élevée ; l'oxygène dissous dans les produits est alors consommé par les streptocoques, permettant ainsi d'augmenter la viabilité des bifidobactéries (Lamoureux, 2000).

D'autre part, la survie des bifidobactéries dans un lait fermenté serait meilleure si le produit était entreposé dans une bouteille de verre, mais l'utilisation de ce matériau d'emballage est peu économique (Shah, 1997).

Plusieurs auteurs ont constaté que le lait et ses dérivés ne constituent pas un milieu optimal de croissance pour les bifidobactéries (Murti *et al.*, 1992; Zbikowski et Ziajka, 1986 ; Rasic et Kurmann, 1983). Afin d'optimiser leur prolifération, des facteurs bifidogènes devraient être additionnés au milieu (Roy *et al.*, 1990).

Partie 2 : Les probiotiques

2.1 Historique de leur utilisation et définitions

Le mot probiotique est dérivé du Grec et signifie « pour la vie ». Metchnikoff fut le premier à travailler sur le concept des probiotiques. Au début du 20^{ème} siècle, il a rapporté dans la publication « The Prolongation of life » que des patients bulgares qui consommaient une large quantité de lait fermenté avaient une longévité plus grande. Suite à cette observation, il a essayé de modifier la microflore du côlon par l'ingestion de lait à base d'un bacille nommé Bulgarian bacillus (Fooks *et al.*, 1999).

Le terme probiotique a été introduit en 1965 par Lilly et Stillwell pour décrire une substance produite par un microorganisme afin de stimuler la croissance d'un autre microorganisme. Depuis ce temps, la définition du terme probiotique a été modifiée à plusieurs reprises. De nos jours, c'est la définition de Fuller qui prédomine.

Selon ce dernier, un probiotique est un microorganisme vivant sous forme de supplément alimentaire qui affecte de façon bénéfique l'hôte animal en modifiant l'équilibre de la microflore intestinale (Fooks *et al.*, 1999).

Enfin, selon la définition adoptée et reconnue par l'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO) ainsi que par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), les probiotiques sont définis comme des « micro-organismes vivants, qui lorsqu'ils sont administrés en quantité adéquate, ont un bénéfice pour la santé de l'hôte » (Turroni *et al.*, 2011).

2.2 Souches à fort potentiel probiotique

Parmi les microorganismes utilisés en tant que probiotiques (Tableau 7), les plus communément mis en oeuvre appartiennent au groupe hétérogène des bactéries lactiques et notamment aux genres *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* et *Enterococcus* (FAO/WHO, 2001 ; Holzapfel, 2001). Toutefois, des bactéries non lactiques, tels que *Escherichia*, *Bacillus* ont fait l'objet d'applications sur le marché du probiotique (Holzapfel, 2001). Toutefois, des interrogations subsistent en ce qui concerne l'utilisation sans danger de ces microorganismes non lactiques (Ishibashi et Yamazaki, 2001 ; Eaton et Gasson, 2001). Les espèces associées à chacun de ces groupes sont présentées au Tableau 7.

Toutes les espèces et les souches de *Bifidobacterium* ne peuvent être considérées comme probiotique. Les souches du genre *Bifidobacterium* qui ont un caractère

probiotique, classant ainsi ce genre parmi les plus importants de la nutrition humaine et de la microbiologie alimentaire, appartiennent aux espèces de *B. adolescentis*, *B. animalis*, *B. bifidum*, *B. breve* et *B. longum*. (Russell *et al.*, 2011).

Tableau 7 : Liste des principales souches microbiennes considérées comme probiotiques (Holzapfel *et al.*, 2001).

Lactobacilles	Bifidobactéries	Autres bactéries lactiques	Autres micro-organismes non bactérie lactique
<i>L. acidophilus</i>	<i>B. adolescentis</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>E. coli</i> ('Nissle 1917')
<i>L. casei</i>	<i>B. animalis</i>	<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Saccharomyces boulardii</i>
<i>L. crispatus</i>	<i>B. bifidum</i>	<i>Lactococcus lactis</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
<i>L. gasseri</i>	<i>B. breve</i>	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	
<i>L. johnsonii</i>	<i>B. infantis</i>	<i>Pediococcus acidilactici</i>	
<i>L. paracasei</i>	<i>B. lactis</i>	<i>Streptococcus Thermophilus</i>	
<i>L. plantarum</i>	<i>B. longum</i>	<i>Streptococcus diacetylactis</i>	
<i>L. reuteri</i>			
<i>L. rhamnosus</i>			

2.3 Critères de sélection des probiotiques

Afin de satisfaire à la définition des probiotiques, les micro-organismes doivent posséder diverses propriétés de survie, d'activité et de persistance dans le tractus digestif qui leurs permettront d'exercer des effets bénéfiques sur l'hôte. Ces propriétés sont propres à chaque souche et ne peuvent pas être extrapolées d'une souche à l'autre même au sein d'une seule espèce (Dunne *et al.*, 2001). Plusieurs critères majeurs de sélection *in vitro* et *in vivo* ont été établis et retenus par différents auteurs (Tableau 8).

2.4 Les effets bénéfiques des probiotiques

De nombreux effets sur la santé ont été attribués aux probiotiques. Cette gamme diversifiée passe du simple soulagement des symptômes associés à l'intolérance au lactose à la protection contre certains cancers comme celui du côlon.

La figure 7 illustre la diversité des effets bénéfiques sur la santé documentés et rapportés dans la littérature.

Tableau 8 : Principaux critères utilisés pour la sélection des souches probiotiques.

Critères de sécurité	<ul style="list-style-type: none"> • Identification taxonomique précise • Origine humaine pour utilisation chez l'humain • Souche caractérisée par des techniques phénotypiques et génotypiques • Historique de non pathogénicité et non-invasion de l'épithélium intestinal • Pas de transmission possible de gènes de résistance aux antibiotiques
Critères fonctionnels	<ul style="list-style-type: none"> • Tolérance à l'acidité, à la bile et aux enzymes digestives • Adhésion aux cellules intestinales et persistance dans le tractus intestinal • Production de substances antimicrobiennes (bactériocines, acides organiques, peroxyde d'hydrogène ou autres composés inhibiteurs) et antagonisme envers les pathogènes • Immunomodulation • Aptitude à produire des effets bénéfiques sur la santé
Critères technologiques	<ul style="list-style-type: none"> • Stabilité au cours des procédés de production et dans le produit fini • Conservation des propriétés probiotiques après production • Non modification des propriétés organoleptiques du produit fini

Adapté de Klaenhammer et Kullen (1999) ; Saarela *et al.*, (2000) ; Ouwehand *et al.*, (2002) ; Gueimonde et Salminen (2006).

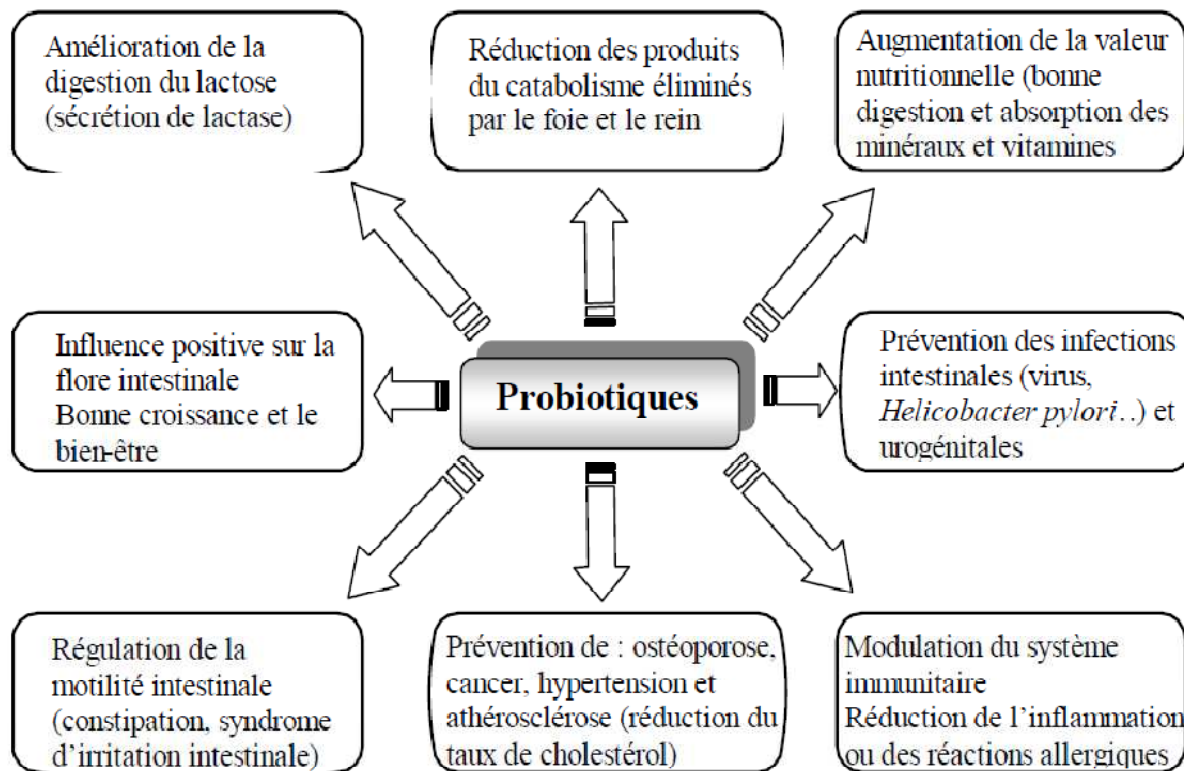


Figure 7 : Les principaux effets bénéfiques attribués aux probiotiques

(Adapté de Mercenier *et al.*, 2002).

2.5 Les effets probiotiques des bifidobactéries

Plusieurs souches de bifidobactéries exercent certains effets probiotiques comme l'amélioration du transit gastro-intestinal, le soulagement de l'intolérance au lactose, réduction du cholestérol, la stimulation du système immunitaire et la prévention du cancer (Lee et O'Sullivan, 2010). Cependant, tout comme les probiotiques en général, la capacité des bifidobactéries à protéger contre les infections entériques demeure l'effet probiotique le plus étudié chez ce genre bactérien.

2.5.1 La réduction du cholestérol

Des études ont suggéré que les bifidobactéries probiotiques jouent un rôle dans la réduction de taux de cholestérol dans le sang.

Une étude effectuée sur 25 sujets a démontré qu'une supplémentation de *B. animalis* subsp. *Lactis* et *Lb. acidophilus* diminue les niveaux de cholestérols dans le sérum. Ainsi, une étude restreinte menée sur des femmes (11-18 par groupe) a montré que

l'administration d'un yaourt contenant *Lb. acidophilus* et *B. longum* provoque une diminution d' HDL, cependant les taux de cholestérol total n'ont pas été modifiés. Le mécanisme qui conduit cette diminution est mal connu. La production d'une enzyme qui hydrolyse les selles biliaires a été suggérée comme mécanisme (Russell *et al.*, 2011).

2.5.2 Soulagement de l'intolérance au lactose

L'intolérance au lactose est causée par la diminution dans l'intestin de l'enzyme qui hydrolyse de glucide : la β -galactosidase. Ce dérèglement du métabolisme du lactose est présent chez la majorité des adultes (entre 70% et 100%) sauf pour ceux des pays du nord de l'Europe (Scandinavie, Grande-Bretagne, nord de la France) et de l'Europe centrale (Allemagne, Autriche) et provoque, lors d'ingestion de produits laitiers, des diarrhées, des ballonnements et des gaz (De Vrese *et al.*, 2001).

Jiang *et al.*, (1996) ont démontré que la consommation de lait contenant des souches de *B. longum* réduit les symptômes de la mal-absorption de lactose chez des sujets humains suite à une élévation de la sécrétion de β -galactosidase.

Une autre étude effectuée par He *et al.*, (2007) sur des individus intolérant au lactose a montrée qu'une supplémentation de *B. animalis subsp. lactis* et de cultures de yaourt diminuent les symptômes associés à cette intolérance.

2.5.3 Activité des bifidobactéries contre les infections entériques

Plusieurs souches de bifidobactéries ont montré leur efficacité à inhiber des pathogènes et à bloquer des infections entériques chez des modèles animaux et chez l'humain, provoquées par des bactéries pathogènes comme *Salmonella*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Clostridium difficile* et même les infections entériques à rotavirus (Moroni, 2007).

Bernet *et al.*, (1993) ont démontré que les souches *B. longum* 4 et *B. infantis* 1 diminuent l'adhésion sur des cellules Caco-2 de plusieurs souches de *E. coli* (ETEC, DAEC et EPEC) ainsi que de *S. typhimurium*. Cette diminution de l'adhésion de ces pathogènes augmente en fonction de la dose de bifidobactéries qui est ajoutée sur le tapis cellulaire. De plus, ces auteurs ont observé que l'adhésion des bifidobactéries sur les cellules intestinales était favorisée par une substance protéique produite par la bifidobactérie dans son milieu de culture.

Une étude effectuée chez des enfants fréquentant un hôpital a démontré que l'administration de façon préventive d'une formule lactée contenant *B. bifidum* réduisait l'incidence des diarrhées à rotavirus chez ce groupe, comparé au groupe ayant reçu la formule lactée non supplémentée en probiotiques (Saavedra *et al.*, 1994). Des auteurs ont aussi rapporté la prévention de diarrhées à rotavirus suite à l'administration de *B. brève* (Hotta *et al.*, 1987).

Enfin, d'autres groupes ont observé l'efficacité des bifidobactéries contre les diarrhées associées à la prise d'antibiotiques (Fooks et Gibson, 2002) et contre les infections à *Helicobacter pylori* (Hamilton-Miller, 2003).

Afin d'exercer cet effet, plusieurs mécanismes d'action ont été proposés : la compétition entre les bifidobactéries et les pathogènes pour les nutriments, l'inhibition de l'adhésion du pathogène, la stimulation du système immunitaire de l'hôte et la production par des bifidobactéries de substances inhibitrices comme les bactériocines.

2.5.4 Prévention du cancer du côlon

Le cancer colorectal est le second le plus répandu après le cancer des poumons chez l'homme et le cancer des seins chez les femmes en Europe (Russell *et al.*, 2011).

Certains essais ont montré que des probiotiques peuvent diminuer le niveau des molécules impliquées dans le développement du cancer du côlon comme certains enzymes, mutagènes et les sels biliaires secondaires (Wollowski *et al.*, 2001).

En effet, Matsumoto et Benno, (2004) ont mentionné que la consommation de yaourt contenant *B. lactis* LKM512 réduit significativement la mutagénéicité dans l'intestin de volontaires par comparaison à un placebo.

Tavan *et al.*, (2002) ont utilisé un modèle animal de cancérogenèse chimioinduite par des amines aromatiques hétérocycliques alimentaires (telles que produites par la consommation de viande très grillée), et mis en évidence qu'un lait fermenté avec la souche *B. animalis* DN-173 010 diminue la formation de cryptes aberrantes, témoin d'une inhibition de l'étape d'initiation.

La consommation par neuf volontaires sains d'un produit laitier fermenté contenant plusieurs souches (*Lb. acidophilus* A1, *B. bifidum* B1, *St. lactis* et *St. cremoris*) à la dose de 300 g/j pendant trois semaines, était associée à une diminution des concentrations

fécales de nitroréductase, azoréductase et β -glucuronidase (enzymes impliquées dans l'activation des métabolites précancérigènes) (Boutron-Ruault, 2007).

Les mécanismes potentiels impliqués dans un effet anticarcinogène des probiotiques ont été résumés dans des revues récentes de la littérature (Tableau 9).

Tableau 9 : Mécanismes potentiels de l'effet anticarcinogène des probiotiques
(Boutron-Ruault, 2007).

Mécanismes	Travaux ayant testé ce mécanisme
Antigénotoxicité Tests des comètes et Ames	Tests des comètes et Ames
Inhibition de l'activité d'enzymes coliques	Études in vivo chez l'homme et l'animal
Contrôle de la croissance de bactéries potentiellement néfastes	Études sur l'activité antibactérienne de probiotiques
Interaction avec les colonocytes	Études d'adhésion sur lignées cellulaires et effets de l'adhésion des bactéries aux colonocytes
Stimulation du système immunitaire	Mesures de l'augmentation des réponses sécrétoires et inflammatoires chez l'homme et chez l'animal
Production de métabolites physiologiquement actifs	Différenciation et apoptose in vitro induites par les acides gras à courte chaîne

2.5.5 Stimulation du système immunitaire

Les bifidobactéries sont connues d'avoir des effets immunomodulateurs sur les cellules muco-sales de l'hôte mais les mécanismes exactes de l'activité d'immunomodulation des bifidobactéries et les autres bactéries intestinales n'est pas parfaitement connus et subissent actuellement des recherches scientifiques vastes (Russell *et al.*, 2011).

Une étude menée sur des souris a démontré une diminution de la sécrétion des cytokines pro-inflammatoires (IFN- γ , TNF- α , et IL-12) suite d'une supplémentation de *B. longum* subsp. *infantis* (Russell *et al.*, 2011).

Lee *et al.*, (2004) ont observés que *B. infantis* joue un rôle d'immunorégulateur dans la suppression des cytokines th2 pendant la sensibilisation d'antigène.

Une étude menée sur des souris a montré que l'administration d'une supplémentation de *B. longum* provoque une augmentation de production d'anticorps de type IgA par les cellules mucosales (Lee et O'Sullivan, 2010).

Un essai clinique en double insu contre placebo comportant 25 sujets (60–83 ans) ayant consommé pendant six semaines du lait supplémenté ou non avec *B. lactis* ($1,5 \times 10^{11}$ ufc /jour) montre une sécrétion accrue d'IFN α (sang périphérique), une augmentation de la phagocytose par les polymorphonucléaires (PMN) et une activité bactéricide accrue, 3, 6 et 12 semaines après la fin de l'intervention (Heyman et Heuvelin, 2006).

Une autre menée sur 30 volontaires sains consommant du lait écrémé ou du lait écrémé enrichi en *B. lactis* HN019 (5×10^{10} ufc /jour), l'activité phagocytaire des PMN augmente de 15 % et l'activité tumoricide NK de plus de 70 %, ce potentiel bénéfique s'éteignant après arrêt du traitement (Heyman et Heuvelin, 2006).

2.5.6 Effet des bifidobactéries sur les rectocolites hémorragiques RCH

Dans une étude préliminaire, 20 malades atteints de RCH et recevant un traitement standard (mésalazine, 3 g/jour) ont été supplémentés pendant 12 semaines, soit par un lait fermenté par *B. bifidum*, *B. breve* et *Lb. acidophilus* (100 ml/ jour), soit par un placebo. Le groupe recevant le lait fermenté a présenté un index d'activité clinique et un score histologique significativement diminué par rapport au groupe placebo. Les concentrations fécales d'acides gras à chaîne courte, incluant le butyrate, étaient plus élevées dans ce groupe. Également, une autre étude utilisant *B. longum* associé à un prébiotique (inuline–oligofructose) (2×10^{11} ucf et 6 g de prébiotique deux fois par jour) administré en plus du traitement anti-inflammatoire classique, a conduit à une amélioration clinique plus importante après un mois du traitement en présence du symbiotique, ainsi qu'une diminution d'index de l'inflammation colique telle que les défensives, le TNF α et l'IL1 β (Heyman et Heuvelin, 2006).

Partie 3 : Le lait camélin

Introduction

Les dromadaires sont considérés d'être une bonne source de lait et de viande. Outre cet aspect, les dromadaires sont exploités pour d'autres fins tels que le transport et les courses.

D'une manière générale, le dromadaire est très estimé et il représente pour son propriétaire la concrétisation de sa réussite sociale (Al-Haj et Al-Kanhal, 2010).

Le lait camélin constitue depuis des temps très lointains, la principale ressource alimentaire pour les peuplades nomades qui le consomment habituellement à l'état cru ou fermenté. Il est considéré comme l'aliment de base pour une période annuelle prolongée, dans la plupart de ces zones pastorales sahariennes.

3.1 Définition de lait

Le lait est un aliment de couleur blanchâtre produit par les cellules sécrétrices des glandes mammaires des mammifères femelles. Le lait sécrété dans les premiers jours après la parturition s'appelle le colostrum. Quelle que soit l'espèce, la fonction première du lait est de nourrir la progéniture jusqu'à ce qu'elle soit sevrée (Vilain, 2010).

3.2 La production laitière caméline mondiale

Les dromadaires sont connus qu'ils occupent les régions arides et désertiques où les conditions climatiques de ces régions pastorales rendent difficile d'estimer la production de lait camélin. Autres facteurs, y compris la race, la durée de lactation, l'alimentation et les conditions de gestion des cheptels jouent un rôle important dans l'inconsistance des données (Cardellino *et al.*, 2004).

D'après les dernières statistiques officielles éditées par la FAO, (2008), la production mondiale de lait de dromadaires et chameaux (la distinction n'est pas faite) est estimée d'environ 5,3 millions tonnes par an. Seulement 1,3 million tonnes sont consommés par l'homme alors le reste est prélevé par les chamelons.

La Somalie est actuellement estimée d'être le premier producteur mondial de lait de chamelle (850 000 tonnes par an), suivie de l'Arabie Saoudite par 89 000 tonnes (FAO, 2008).

En Algérie, les camélins ne sont pas considérés comme producteurs de lait. L'excédent de la traite de lait n'est utilisé que pour l'autoconsommation, et cela après que le chamelon ait tété sa mère. Une chamelle ne se laisse traire que si son petit est à ses côtés.

La production de lait entre, pour la majeure partie, dans l'alimentation des bergers isolés dans les parcours et des nomades. La production laitière des chamelles varie d'une région à l'autre, en fonction de la race, de l'individu, de l'alimentation, etc. Les estimations faites par quelques auteurs, nous donnent des valeurs allant de 0,5 à 10 kg/jour, avec des durées de lactation de 12 à 18 mois, comme le montre le tableau 10 (Chehma, 2003).

D'une façon générale, il faut noter que la production de lait camélin n'est pas tellement étudiée en Algérie, et les quelques chiffres disponibles sont surtout ceux obtenus sur la base d'enquêtes et non de mesures ni de suivis (Chehma, 2003). Selon la FAO (2008), La production de lait camélin en Algérie est estimée d'environ 8100 tonnes par an.

Actuellement, il existe une laiterie « Ibnou (maraïi Mzaab) qui commercialise un lait de chamelle pasteurisé et un lait fermenté « Lben ». Cependant, la quantité livrée est très limitée et non disponible tout le temps.

Tableau 10 : Quantités de lait produites par les chamelles en Algérie, selon différents auteurs (Chehma, 2003).

Population/zones	Production moyenne (kg)	Durée moyenne de lactation (mois)	Auteurs
Globalement	04-5	-	Gast <i>et al.</i> , 1969
Globalement	04-10	-	Burgemeister, 1975
Population Sahraoui	02-4	12-16	Chehma, 1987
Population Sahraoui	04-11	12-16	Bouregba et Lounis, 1992
Dromadaire de la steppe	0,5-5	12-18	Boubekeur et Guettafi, 1994
Population Sahraoui	03-5	12-14	Arif et Reggab, 1995
Population Targui	03-4	-	Settafi, 1995
Population Sahraoui	02-8	12	Guerradi, 1998
Population Targui	02-5	-	Bessahraoui et Kerrache, 1998

3.3 Les propriétés de lait camélin

Le lait de chamelle normal est généralement opaque et de couleur blanche avec un goût sucré et piquant (acide) mais parfois même salé. Cette variabilité dans le goût est surtout liée au type de plantes ingérées par les chamelles ainsi qu'à la disponibilité en eau. Il devient mousseux par une légère agitation. Sa densité moyenne est de $1,029 \text{ g.cm}^{-3}$ et une viscosité à 20°C de 1,72 (mPa s) par rapport au lait de vache qui est moins visqueux (2,04 mPa s) dans les mêmes conditions (Al-Haj et Al-Kanhal, 2010).

Le pH du lait camélin crue étant compris entre 6,5 et 6,7. Néanmoins, un pH légèrement bas de 6,4 et de 6 a été également enregistré. Le pH de lait camélin est semblable à celui de lait de brebis alors qu'il est légèrement inférieur à celui de lait de vache (Al-Haj et Al-Kanhal, 2010).

Le lait camélin pasteurisé peut durer plus de 10 jours à 4°C (Wernery, 2008). Son acidité fut rapportée qu'elle s'augmente rapidement lorsque le lait est laissé poser à température ambiante (Ohri et Joshi, 1961). D'autre part, le lait de chamelle fut rapporté qu'il demeure stable longtemps à cette dernière température par comparaison aux autres laits. Cette stabilité du lait camélin est probablement due à la teneur élevée en antibactériens tels que les lysozymes, lactoferrines et les immunoglobulines comparativement à celui de lait de vache ou bufflesse (Benkerroum, 2008 ; El-Agamy, 2000 ; Kappeler *et al.*, 1999 ; Konuspayeva *et al.*, 2007).

3.4 Composition de lait camélin

Contrairement aux autres espèces mammifères, la composition de lait camélin a été retrouvée qu'elle est moins stable au regard des autres espèces mammifère tel que le lait bovin. Cependant cette variation observée dans la composition pourrait être attribuée à plusieurs facteurs tels que les procédures de mesures analytiques, les lactations géographiques, les conditions alimentaires et les échantillons prélevés à partir de différentes races. En plus, d'autres facteurs sont inclus y compris le stade de lactation, l'âge de chamelle et le nombre de vêlages (la mise bas) (Khaskheli *et al.*, 2005).

L'origine géographique et les variations saisonnières furent retrouvées qu'elles sont les facteurs les plus décisifs dans la composition de lait camélin (Al-Haj et Al-Kanhal, 2010).

La composition chimique globale de lait camélin (Tableau 11), même si elle fluctue

selon les auteurs, montre néanmoins des teneurs importantes et équilibrées en nutriments de base (protéines, matière grasse et lactose) avec des proportions similaires à celles présentes dans le lait de vache.

Konuspayeva *et al.*, (2009) ont analysé la composition de lait de dromadaire au cours des ans entre 1905 et 2006. Les changements de composition à travers les différentes périodes sont motionnés dans le tableau 12. Quant au période de 2007 à 2012 très peu de références sont disponibles dans la littérature. Ces changements compositionnels pourrait être due à plusieurs facteurs à savoir, les procédures de mesure analytique, le régime alimentaire, le climat, la disponibilité d'eau, la gestion de cheptel et autres facteurs (Al-Haj et Al-Kanhal, 2010).

Tableau 11 : Composition du lait camélin selon les sources bibliographiques disponibles dans le monde entier (%)^a (Al-Haj et Al-Kanhal, 2010).

Références*	Protéines	Lipides	Lactose	Matières minérales	solides Totales	Remarques (nombre des échantillons, individuel/groupe, race, saison et région)
Yagil et Etzion, 1980*	4,9	3,9	5	0,63	13,8	Israël
Mukasa-Mugerwa, 1981	4,02	4,33	4,21	0,79	13,36	groupe, Arabie Saoudite
El-Agamy, 1983*	3,7	2,9	5,8	0,7	13,1	Égypte
Sawaya <i>et al.</i> , 1984	2,95	3,6	4,4	0,79	11,74	11 échantillons, groupe, Nedjd d'Arabie Saoudite
Gnan et Sherida, 1986*	3,3	3,3	5,61	0,82	13,03	Libye
Abdel-Rahim, 1987*	4	3,2	4,8	0,7	13,4	Pakistan
Abu-Lehia, 1987*	2,68	3,31	4,67	0,8	11,29	Arabie Saoudite
Hassan <i>et al.</i> , 1987*	2,5	3,5	3,9	0,8	11	Est d'Afrique
Hjort af Ornas, 1988*	3	5,4	3,3	0,7	13,7	Somalie
Jardali, 1988*	3,45	3,7	4,62	0,74	12,63	Est d'Afrique
Ellouze et Kamoun, 1989*	2,29	3,55	4,69	0,9	11,4	Tunisie
Abu-Lehia, 1989	4	3,8	5,5	0,8	14,2	Arabie Saoudite
Mehaia et Al-Kanhal, 1989*	3,35	3,24	4,52	0,8	11,91	Arabie Saoudite

Taha et Keilwein, 1989*	3,19	5,22	5	0,8	14,5	Égypte
Bayoumi, 1990*	3,27	3,6	5,53	0,8	13,2	Égypte
Elamin et Wilcox, 1992	2,81	3,15	4,16	0,83	10,95	81 échantillons, groupe, Majaheim, Arabie Saoudite
Farag et Kabary, 1992	3,1	3,9	4,47	0,8	12,36	40 échantillons, groupe, Égypte
Mehaia 1993	2,54	3,9	4,71	0,79	11,94	groupe, Majaheim, Arabie Saoudite
Mehaia <i>et al.</i> , 1995	2,52	2,85	4,46	0,8	10,63	8 échantillons, groupe, Hamra, Arabie Saoudite
Mehaia <i>et al.</i> , 1995	2,36	2,46	4,44	0,81	10,07	8 échantillons, groupe, Wadah, Arabie Saoudite
Mehaia <i>et al.</i> , 1995	2,91	3,22	4,43	0,79	11,35	8 échantillons, groupe, Majaheim, Arabie Saoudite
Mehaia, 1996	3,22	0,28	4,45	0,69	8,64	groupe, Majaheim, Arabie Saoudite
El-Agamy <i>et al.</i> , 1998*	3,26	3,95	4,74	0,85	12,8	Égypte
Karue, 1998*	3,42	5,6	3,65	0,86	12,14	Kenya
Mehaia, 1998*	2,54	3,9	4,71	0,79	11,94	Arabie Saoudite
Ramdaoui et Obad, 1998*	3,36	2,74	4,19	0,86	11,14	Maroc
Wangoh <i>et al.</i> , 1998*	3,08	4,2	4,18	0,79	12,66	Kenya (Somali)
Wangoh <i>et al.</i> , 1998*	3,31	4,81	4,28	0,83	13,44	Kenya (Turkana)
Wangoh <i>et al.</i> , 1998*	3,13	4,29	4,05	0,82	12,45	Kenya
Zhao, 1998*	3,45	4,15	4,55	0,7	8,85	Chine (Dromadaire)
Zia-Ur-Rahman et Straten, 1998*	2,68	5,22	4,3	0,73	10,4	Pakistan
Zia-Ur-Rahman et Straten, 1998*	4	3,5	3,26	0,83	13,3	Pakistan
Zia-Ur-Rahman et Straten, 1998*	3	4,5	4,1	0,78	11,1	Pakistan
Guliye <i>et al.</i> , 2000*	2,79	3,39	4,81	0,77	11,5	Kenya
Attia <i>et al.</i> , 2001*	2,81	1,2	5,4	0,99	9,61	6 échantillons, individuel, Tunisie
Indra, 2003*	3,53	4,47	4,95	0,7	13,64	N/Ac
Kouniba <i>et al.</i> , 2005*	3,25	2,65	4,05	0,83	10,8	Maroc
Abdoun <i>et al.</i> , 2007	3,5	3,26	3,6	0,67	11,03	50 échantillons, groupe,

						Dromadaire Arabe, Soudan
Kamal <i>et al.</i> , 2007	3,3	3,78	5,85	0,7	15,06	groupe, hiver, Égypte
Haddadin <i>et al.</i> , 2008	2,69	2,95	3,92	0,82	12,3	groupe, différente saison, Jordanie
Shuiep <i>et al.</i> , 2008	2,93	2,64	3,12	0,73	9,56	112 échantillons, groupe, différente saison, Est de Soudan
Shuiep <i>et al.</i> , 2008	2,94	2,85	2,9	0,73	9,41	112 échantillons, groupe, différente saison, Ouest de Soudan
Bakheit <i>et al.</i> , 2008	3,4	3,4	3,6	0,8	10,9	44 échantillons, groupe, Nord de Soudan
Omer <i>et al.</i> , 2009	2,06	2,35	4,41	0,94	9,78	70 échantillons, groupe, Soudan (différentes régions)
La moyenne	3,1	3,5	4,4	0,79	11,9	
écart-type (ET)	0,5	1,0	0,7	0,07	1,5	

^a : Les références marquées par une étoile sont citées par Konuspayeva *et al.*, (2009).

Tableau 12 : Composition du lait de chamelle (%) selon les groupes d'années ^a
(Al-Haj et Al-Kanhal, 2010).

Année	Protéines	Lipides	Lactose	Matières minérales	solides Totales	Nombre de Références
1905-1969	3,7 ± 0,3	3,6 ± 0,8	5,1 ± 0,8	0,75 ± 0,09	13,0 ± 0,5	12
1972-1982	3,9 ± 0,8	4,5 ± 0,8	4,0 ± 0,6	0,75 ± 0,12	12,9 ± 1,5	9
1983-1992	3,2 ± 0,6	3,8 ± 0,7	4,8 ± 0,6	0,78 ± 0,06	12,8 ± 1,2	23
1993-2006	3,1 ± 0,4	3,6 ± 1,3	4,4 ± 0,5	0,80 ± 0,06	11,4 ± 1,4	20
2007-2009	3,0 ± 0,5	3,0 ± 0,5	3,9 ± 1,0	0,77 ± 0,09	11,1 ± 2,0	7

^a Les valeurs entre l'année 1905 à 1992 sont adaptées de Konuspayeva *et al.*, (2009)

3.4.1 Les protéines de lait camélin

Le contenu en protéines totales de lait camélin varie de 2,15 à 4,90 % (Konuspayeva *et al.*, 2009); la moyenne est de $3,1 \pm 0,5$ % (Tableau 11). D'ailleurs, les races camélines et les conditions saisonnières furent particulièrement retrouvées qu'elles jouent un rôle important dans le contenu protéique de lait camélin.

La teneur en protéine a été retrouvée quelle est similaire pour les espèces de la même race, telle que la race Majaheim (Elamin et Wilcox, 1992 ; Sawaya *et al.*, 1984). Néanmoins, cette teneur en protéine fut également rapporté qu'elle varie conformément à la saison même pour la même race ; le contenu en protéine a été démontré d'être bas en août (2,48 %) et élevé en décembre et janvier (2,9 %) (Haddadin *et al.*, 2008).

Les protéines de lait camélin pourraient être classifiées en deux constituants : les caséines et les lactoséroprotéines.

3.4.1.1 Les caséines camélines

Les caséines sont les majeures protéines de lait camélin. Elles représentent à savoir 52-87 % des protéines totales (Farag et Kabary, 1992 ; Khaskheli *et al.*, 2005; Mehaia *et al.*, 1995).

La β -caséine est la principale caséine retrouvée suivie par la caséine α_{S1} , et constituent respectivement environ 65% et 21% des caséines totales (Kappeler *et al.*, 2003) par rapport au lait de vache où les caséines β et α_{S1} constituent 36% et 38% respectivement (Davies et Law, 1980). Le lait camélin est similaire au lait humain dont il contient un pourcentage élevé en β -caséines, ce pourcentage élevé pourrait refléter sa forte digestibilité et son incidence faible de provoquer une allergie intestinal chez les bébés (Abou-Soliman, 2005 ; El-Agamy *et al.*, 2009).

Quant aux κ -caséines, Kappeler *et al.*, (2003) ont rapporté qu'elle représente seulement 3,47% des caséines camélines comparativement au lait bovin où les κ -caséines représentent 13% des caséines totales (Davies et Law, 1980). D'ailleurs, autres auteurs ont rapporté que les κ -caséines peuvent éventuellement échappées à la détection ou cachées par d'autres composants de caséines et cela due à leur teneurs faibles (Farah et Atkins, 1992).

Les caséines α_{S1} , α_{S2} , β et κ camélines présentent globalement les mêmes caractères généraux rencontrés dans le lait bovin. Toutefois, un caractère acide a été marqué (teneurs élevées en glucose), la présence de résidus phosphoséryl (en nombre variable selon la protéine considérée) et de résidus glucidiques pour la κ -caséine (figure 9 et 10), une forte

proportion de résidus apolaires répartis de façon non uniforme le long des chaînes peptidiques et un polymorphisme génétique, établi notamment pour la caséine α_{S1} (Kappeler *et al.*, 1998). Ces protéines présentent toutefois quelques différences répertoriées sur le tableau 15.

La comparaison des 20 résidus d'acides aminés de la région N-terminal des caséines α_{S2} et β camélines étudiées par Ochirkhuyag *et al.*, (1997) et Kappeler *et al.*, (1998), montre que celles-ci diffèrent par 5 résidus, suggérant ainsi que ces protéines aussi, dans le cas de la chamelle, existeraient au moins sous forme de deux variantes génétiques.

Glu-	Val-	Gln-	Asn-	Gln-	Glu-	Gln-	Pro-	Thr-	10	Cys-	Phe-	Glu-	Lys-	Val-	Glu-	Arg-	Leu-	Leu-	Asn-	20
Lys-	Thr-	Val-	Lys-	Tyr-	Phe-	Pro-	Ile-	Gln-	30	Phe-	Val-	Glu-	Ser-	Arg-	Tyr-	Pro-	Ser-	Tyr-	Gly-	40
Asn-	Tyr-	Tyr-	Gln-	His-	Asn-	Leu-	Ala-	Val-	50	Ile-	Asn-	Asn-	Gln-	Phe-	Ile-	Pro-	Tyr-	Pro-	Asn-	60
Tyr-	Ala-	Lys-	Pro-	Val-	Ala-	Ile-	Arg-	Leu-	70	Ala-	Gln-	Leu-	Pro-	Gln-	Cys-	Gln-	Ala-	Leu-	Pro-	80
Asn-	Ile-	Asp-	Pro-	Pro-	Thr-	Val-	Glu-	Arg-	90	Pro-	Arg-	Pro-	Arg-	Pro-	Ser-	Phe-	Ile-	Ala-	Ile-	100
Pro-	Pro-	Lys-	Lys-	Thr-	Gln-	Asp-	Lys-	Thr-	110	Asn-	Pro-	Ala-	Ile-	Asn-	Thr-	Val-	Ala-	Thr-	Val-	120
Glu-	Pro-	Pro-	Val-	Ile-	Pro-	Thr-	Ala-	Glu-	130	Ala-	Val-	Asn-	Thr-	Val-	Val-	Ile-	Ala-	Gln-	Ala-	140
Ser-P	Ser-	Glu-	Phe-	Ile-	Thr-	Thr-	Ser-	Thr-	150	Glu-	Thr-	Thr-	Thr-	Val-	Gln-	Ile-	Thr-	Ser-	Thr-	160
Glu-	162																			169
	Ile																			

Figure 8 : Séquence primaire de la caséine κ -caméline (d'après Kappeler *et al.*, 1998).

HGlu-	Glu-	Gln-	Asn-	Gln-	Glu-	Gln-	Pro-	Ile-	10	Arg-	Cys-	Glu-	Lys-	Asp-	Glu-	Arg-	Phe-	Phe-	Ser-	20
Lys-	Ile-	Ala-	Lys-	Tyr-	Ile-	Pro-	Ile-	Gln-	30	Tyr-	Val-	Leu-	Ser-	Arg-	Tyr-	Pro-	Ser-	Tyr-	Gly-	40
Asn-	Tyr-	Tyr-	Gln-	Gln-	Lys-	Pro-	Val-	Ala-	50	Leu-	Ile-	Asn-	Asn-	Gln-	Phe-	Leu-	Pro-	Tyr-	Pro-	60
Tyr-	Ala-	Lys-	Pro-	Ala-	Ala-	Val-	Arg-	Ser-	70	Ala-	Gln-	Ile-	Leu-	Gln-	Trp-	Gln-	Val-	Leu-	Tyr-	80
Asp-	Thr-	Val-	Pro-	Ala-	Lys-	Ser-	Cys-	Gln-	90	Ala-	Gln-	Pro-	Tyr-	Thr-	Met-	Ala-	Arg-	His-	Pro-	100
Pro-	His-	Leu-	Ser-	Phe-	Met-	Ala-	Ile-	Pro-	110	Pro-	Lys-	Lys-	Asn-	Gln-	Asp-	Lys-	Thr-	Gln-	Ile-	120
Thr-	Ile-	Asn-	Thr-	Ile-	Ala-	Ser-	Gly-	Gln-	130	Pro-	Thr-	Ser-	Thr-	Pro-	Thr-	Ile-	Glu-	Ala-	Glu-	140
Ser-	Thr-	Val-	Ala-	Thr-	Leu-	Glu-	Ala-	Ser-	150	Pro-	Glu-	Val-	Ile-	Glu-	Ser-	Thr	Pro-	Glu-	Ile-	160
Thr-	Val-	Gln-	Val-	Thr-	Ser-	Thr-	Asp	(v.A)	169	Val										OH

Figure 9 : Séquence primaire de la caséine κ -B bovine (Eigel *et al.*, 1984).

↙ : sites possibles de glycosylation ↓ : site d'attaque par la chymosine

Tableau 13 : Tableau récapitulatif de quelques paramètres physico-chimiques des principales caséines camélines et bovines.*

Paramètres	Caséine α S1		Caséine α S2		Caséine β		Caséine κ	
	LC	LV	LC	LV	LC	LV	LC	LV
Proportion dans les caséines totales	22-38b (a)	36	9,5-21 (a)	10	28-65 (a)	34	3,5-5 (a)	13
Résidus d'acides aminés	207 (b)	199	178 (b)	207	217 (b)	209	162 (b)	169
Poids Moléculaire (Da)	24755 - 35500 (a)	23600	21993 - 26300 (a)	25250	24900 - 32000 (a)	24000	22294 - 22987 (a)	19000
Point isoélectrique	4,41 (b)	4,26	4,58 (b)	4,78	4,76 (b)	4,49	4,11 (b)	3,97
Résidus cystéine	0	0	2	2	0	0	2	2
Groupements phosphoséryls	6 (b)	8	9 (b)	10	4 (b)	5	1 (b)	1
Résidus proline	19	17	8	10	35	35	22	20
Acides aminés Acides	38	31	26	19	22	22	14	17
Acides aminés Basiques	30	25	27	33	21	20	17	17
Présence de Glucides	0	0	0	0	0	0	Oui (c)	oui
Similitude de structure (%)	39 (b)		56 (b)		64 (b)		56 (b)	

Légende : LC : lait de chamelle ; LV : lait de vache ;

(a) : selon Jardali et Ramet (1991), Ochirkhuyag *et al* (1997) et Kappeler *et al.*, (1998) ;

(b) : selon Kappeler *et al.*, (1998) ;

(c) : selon Baber *et al.*, (1994) ;

(d) : selon Le- Bars et Gripon (1989 et 1993) ; Trujillo *et al.*, (1998) ;

(*) : données pour les variants α S1- B, α S2- A, β - A2 et κ - B bovins, d'après Eigel *et al.*,(1984).

3.4.1.2 Les protéines camélines du lactosérum

Les lactoséroprotéines camélines sont le second principal composant des protéines camélines et constituent 20 à 25% des protéines totales. Leur contenu varie entre 0,63 et 0,80 % de la matière protéique de lait (Farag et Kabary, 1992 ; Khaskheli *et al.*, 2005 ; Mehaia *et al.*,1995).

A l'exception de la β -Lactoglobuline des homologues à l' α -Lactalbumine, l'Albumine sérique bovine, les Immunoglobulines, les Protéose-peptones, la Lactoferrine, la Lactopéroxydase et le Lysozyme du lait bovin, ont été isolées, identifiées et caractérisées (Ochirkhuyag *et al.*, 1998 ; Kappeler *et al.*,1999 ; El-Agamy, 2000 ; Girardet *et al.*,2000).

3.4.2 Le Lactose camélin

Le contenu en lactose varie de 2,40 à 5,80% (Konuspayeva *et al.*, 2009); la moyenne est de $4,4 \pm 0,7$ % (Tableau 12). La large fluctuation de contenu en lactose pourrait être due au type des plantes broutées dans les déserts (Khaskheli *et al.*, 2005).

Il a été rapporté que seul les valeurs de la concentration en lactose restent quasiment invariables au cours de la saison (Haddadin *et al.*, 2008) et sous les conditions hydratées ou déshydratées (Yagil et Etzion, 1980). De même, le contenu en lactose fut le seul retrouvé qu'il varie que légèrement pour certaines races de part les différentes parties du monde (Elamin et Wilcox, 1992 ; Haddadin *et al.*, 2008; Mehaia *et al.*, 1995; Sawaya *et al.*, 1984).

Les modifications dans la teneur en lactose sont à l'origine des variations dans la saveur du lait camélin. Les concentrations élevées observées pour ce dernier expliqueraient la saveur parfois sucrée du lait de chamelle rapportée par plusieurs auteurs (Gnan et Shereha, 1986 ; Bayoumi, 1990).

3.5 Qualité microbiologique du lait camélin

Le lait est un produit naturellement périssable du fait de sa teneur élevée en eau, son pH voisin de la neutralité et de sa composition en éléments nutritifs.

Le lait referme inévitablement une microflore dont la nature et l'importance sont conditionnées par l'état sanitaire de l'animal, les conditions de traite, la température, la durée de conservation... etc. Sous des conditions rigoureuses de collecte, sa charge ne dépasse cependant pas 5.10^3 germes /ml (Larpent *et al.*, 1997).

Si la microflore du lait bovin a fait l'objet de nombreuses études, cela est loin d'être le cas du lait camélin où quelques travaux seulement lui sont consacrés. L'une des raisons principales de cette carence est la relative absence des moyens matériels et humains (laboratoires, chercheurs...) tout près des lieux de collecte ce qui éviterait à recourir à la congélation ou à l'utilisation d'agents anti-microbiens, comme c'est généralement le cas des études physico-chimiques.

L'étude réalisée par Barbour *et al.*, (1984) met en évidence l'inhibition des bactéries pathogènes par le lait camélin. Al-Mohizea *et al.*, (1994), en s'appuyant sur la numération de quatre groupes de micro-organismes (la flore aérobie totale, les psychrotrophes, les coliformes et bactéries sporulantes) déduisent que la qualité hygiénique du lait camélin est satisfaisante.

Yagil *et al.*, (1994) soutiennent que la pasteurisation du lait de chamelle n'est pas indispensable si tous les dromadaires du troupeau sont en bonne santé. L'activité antimicrobienne du lait de chamelle, due à la présence des protéines protectrices citées (Lysozyme, lactopéroxydase, lactoferrine, immunoglobulines, vitamine C, etc.) serait responsable de cet état (Barbour *et al.*, 1984).

A partir du lait de chamelle, 10 souches de bactéries psychrotrophes, produisant des lipases (Al-Saleh et Zahran, 1999), ont été extraites et caractérisées. Leur activité lipasique varie entre 0,26-3,43 meq d'acide palmitique 100 g/l de MG de lait de vache par heure. *Pseudomonas fluorescens* RM4 est la souche la plus active. Elle peut croître et sécréter des lipases à pH 5,50-8,50. Dans les milieux de culture enrichis en protéines de lait, la production de lipases augmente.

L'activité antimicrobienne du lait camélin due à la synergie des effets précédemment cités, confère au lait camélin une bonne aptitude à la conservation, mais se répercute négativement sur ses aptitudes à la transformation en produits dérivés (Farah *et al.*, 1990 ; Kamoun, 1995 ; Ramet, 1994 ; Abu-Taraboush *et al.*, 1998).

3.6 Aptitude à la transformation technologique du lait camélin

Il a été rapporté que le lait camélin n'est convenable que pour boire. Cependant, divers produits ont été fabriqués à base de lait de chamelle tels que le fromage, le lait fermenté, le yaourt, les glaces (ice cream) ainsi que le beurre (Al-Haj et Al-Kanhal, 2010).

3.6.1 Fabrication de fromage

Certains fromages traditionnels de lait camélin sont fabriqués par des nomades localisés à l'Ahaggar, à la péninsule du Sinaï, en Tunisie et au Kenya (Yagil *et al.*, 1994). Ces fromages sont élaborés par thermo-coagulation des protéines et obtention d'une pâte humide en forme de galette à consommer rapidement ou après séchage naturel et/ou salage (Gast *et al.*, 1969 ; Yagil, 1982 ; Mohamed *et al.*, 1990). D'autres types de fromages (secs) nommés "Afig et Ogt" sont fabriqués, respectivement, au Kenya et en Arabie Saoudite (Al-Ruqaie *et al.*, 1987 ; Mehaia, 1994).

Toutefois, les particularités des constituants du lait de chamelle (faible proportion en κ -caseines, grande taille des micelles caséiniques, petite taille des globules gras, présence d'un système antibactérien ...etc.), ne permettent pas le transfert aisé de la technologie fromagère du lait bovin au lait camélin. C'est le cas de la fabrication des fromages à coagulation acide (pâte fraîche) où la formation du caillé est assez lente (Kamoun, 1995 ;

Ramet, 1993 et 1994) du fait que l'acidification est limitée par le système antimicrobien du lait (Barbour *et al.*, 1984 ; Gnan *et al.*, 1994 a ; Kamoun, 1995 ; El-Agamy, 2000 a).

La coagulation du lait de chamelle à l'aide de la présure est irréalisable selon certains auteurs (Gast *et al.*, 1969). En revanche, d'autres travaux ont montré qu'elle était possible moyennant un apport de CaCl_2 (Farah et Bachmann, 1987 ; Ramet, 1994) ou un ajout de lait d'autres espèces (chèvres, brebis ou bufflesse), ou enfin par l'utilisation parallèle de ferments lactiques (Mohamed *et al.*, 1990).

D'autres agents coagulants sont proposés en dehors de la présure bovine. Il s'agit de la pepsine bovine (Wangoh *et al.*, 1993 ; Ramet, 1994), de la présure caméline (El-Abbassy et Wahba, 1986 ; El-Batawy *et al.*, 1987 ; Wangoh *et al.*, 1993 ; Wangoh, 1998) et enfin de protéases coagulantes microbiennes de *Mucor miehei* et d'*Endothia parasitica* (Ramet, 1985 et 1990).

Il en ressort cependant de tous ces travaux, qu'un meilleur coagulum est obtenu en utilisant soit des enzymes gastriques de dromadaires, soit la pepsine bovine. Ceci résulterait d'une meilleure affinité de ces extraits enzymatiques pour les caséines camélines, comme semblent le suggérer les travaux de Kappeler *et al.*, (1998), où il est montré que le site de coupure de la chymosine par exemple est différent selon les caséines κ considérées (bovines et camélines). Toutefois, une réserve souvent exprimée, relative à l'utilisation de la pepsine bovine, est qu'elle possède une activité protéolytique assez prononcée qui peut se manifester dans les fromages par la libération de peptides amers.

Les autres protéases ne présentant pas ces inconvénients, seraient les mieux indiquées (Ramet, 2001).

Notons cependant que Mohamed *et al.*, (1990) ont obtenu un fromage à pâte dure de type "GRANA" à partir du lait de chamelle non standardisé. Ces auteurs n'ont signalé aucune difficulté lors de sa fabrication et estiment que les divergences des résultats observés d'un auteur à un autre sont attribuables aux origines très différentes des laits utilisés.

Faisant appel à la coagulation mixte, Ramet (1989 ; 1991) et Mehaia (1993 a, b et 1994) ont fabriqué du fromage à pâte molle à base de laits de chamelle seul, ou en mélange avec du lait de brebis (Jardali-Maatouk, 1994 ; Ramet, 1990) ou du lait de vache (Mehaia, 1993 a, b et 1994). Néanmoins, ces auteurs font état de rendements faibles quand le fromage est obtenu exclusivement à partir du lait camélin.

Récemment, une innovation technique, consistant en la mise au point d'un ferment (Camifloc ND), permettant de coaguler le lait de chamelle, a offert une opportunité intéressante aux éleveurs camélins du Sahel (Mali et Niger), de valoriser les excédents laitiers sous forme de fromage (Via-Franck *et al.*, 2003). Cette opération se heurte cependant aux difficultés d'approvisionnement en Camifloc ND qui, de surcroît, semble plus utiles aux éleveurs pour traiter les diarrhées du chamelon que pour faire du fromage (Via-Franck *et al.*, 2003).

3.6.2 Fabrication du beurre

En se référant à l'analyse bibliographique, il apparaît que la possibilité de faire du beurre à partir du lait de dromadaire est très controversée. Pour beaucoup de nomades, cette transformation n'est pas possible (Dickson, 1951 ; Wilson, 1984) alors que d'autres auteurs donnent un avis plus nuancé et font état de produits fabriqués dans des conditions assez satisfaisantes (Knoess, 1986 ; Yagil, 1982). Des recherches ont confirmé une faisabilité qui reste toutefois plus délicate que pour le lait de vache (Farah *et al.*, 1989; Ramet, 1990).

Ces difficultés semblent résulter de l'état particulier des globules gras qui sont de petite taille et possèdent une enveloppe membranaire importante (Knoess *et al.*, 1986; Rao *et al.*, 1970). De ce fait, la résistance mécanique des globules est vraisemblablement accrue : celle-ci entraîne, lors du barattage, un temps d'agitation très long de l'ordre de 5 heures lorsqu'on traite le lait directement (Ramet, 1990).

En pratique beurrière, la maîtrise de la température est essentielle car elle conditionne l'état physique de la phase grasse ; si la température est trop basse, l'ensemble du globule gras est à l'état cristallisé ; la libération d'une petite fraction de matière grasse liquide nécessaire à réaliser la coalescence des globules gras pour former le grain de beurre ne se fait pas et conduit à l'absence de formation d'un grain de beurre. Inversement, si la température est trop élevée, l'ensemble de la matière grasse est sous forme liquide, le beurre formé est très mou et une fraction non négligeable est perdue sous forme d'huile dans le babeurre.

L'importance de ce facteur température a été confirmée dans un travail réalisé au Kenya qui a montré qu'à la température de 10 à 12°C, habituellement observée pour baratter la crème de lait de vache, la formation de grains de beurre ne se fait pas et qu'au-dessus de 36°C, le rendement en beurre commençait à diminuer; les conditions optima du barattage

ont été trouvées à 25°C avec une crème titrant 22,5 % de matière grasse et une durée d'agitation de 11 minutes (Farah *et al.*, 1989).

Au plan organoleptique, le beurre issu du lait de dromadaire se caractérise par sa couleur très blanche (Farah *et al.*, 1989; Ramet, 1990); celle-ci résulte vraisemblablement de la présence d'un non-gras important composé de protéines résiduelles difficilement dissociables de la phase grasse et d'eau capillaire retenue entre les grains de beurre (Ramet, 1990). La texture du produit se distingue, à la coupe et à la dégustation, par un caractère collant et grassex (Farah *et al.*, 1989; Ramet, 1990). Son goût et son odeur sont neutres et peu typés.

3.6.3 Fabrication de yaourt

Le yaourt fabriqué à partir de lait camélin fut rapporté d'avoir une texture liquide et très molle. L'addition à la fois de 0,75% d'alginate de sodium et 0,075% de chlorure de calcium au lait camélin fut rapporté qu'il produit un yaourt similaire à celui obtenu à partir de lait bovin (Hashim *et al.*, 2008).

CHAPITRE II

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Chapitre II : matériel et méthodes

1 Origine des échantillons

Une dizaine d'échantillons de selles ont été prélevés chez des bébés âgés de 2 à 6 mois, naissaient par accouchement vaginale, ne recevant pas de traitement antibiotique, nourris exclusivement au sein.

Les selles sont émises dans des récipients stériles (crachoirs), et sont maintenu en anaérobiose à basse température lors de son transport et jusqu'à la mise en route de l'analyse au laboratoire.

2 Milieux de Cultures

2.1 Milieux de cultures pour les bifidobactéries

L'isolement des bifidobactéries constitue l'étape la plus critique puisqu'il nécessite des conditions assez spécifiques, qui mettent en jeu des systèmes d'anaérobiose comme les anaero-cults ou les gas-packs et des milieux très riches additionnés d'un agent réducteur tel la cystéine-chlorhydrique (Scardovi, 1986).

- L'isolement des bifidobactéries à partir des selles des nourrissons s'est fait sur milieu MRS additionné de 0,05 % de cystéine-chlorhydrique et 2 mg/l d'acide nalidixique par l'ensemencement dans la masse.
- La numération des bifidobactéries à partir des milieux lait a été faite sur milieu MRS Lactosé à 5 % additionnée de 0,05 % de cystéine-HCl.

2.2 Lait de chamelle

On a utilisé le lait chamelle stérilisé en vue de déterminer l'activité biotechnologique des souches de bifidobactéries.

Le lait de chamelle crue a été obtenus de la petite entreprise « Richlait ». Le lait a été collecté en respectant les conditions d'asepsie dans des flacons stériles lors de la traite chez les éleveurs de la région de Ouargla puis transporter dans une glacière à 4°C au laboratoire dans les meilleurs délais. Le lait a été pasteurisé à 85°C pendant 30 minutes dans un bain Marie et rapidement refroidi à 4°C jusqu'à ce qu'il soit inoculé (Papadimitriou *et al.*, 2007).

3 Isolement et purification des bifidobactéries

L'isolement et le dénombrement des bifidobactéries à partir des matières fécales ont été réalisés sur gélose MRS-Cys.

A partir de chaque échantillon un gramme de selle a été suspendu dans un tube contenant 9 ml d'eau physiologique cystéinée (voir annexe). Chaque suspension a été homogénéisée pendant 2 à 3 minutes, puis des dilutions décimales sont réalisées de l'ordre de 10^{-8} , 10^{-9} et 10^{-10} . Prendre trois (03) boîtes de Pétri stériles, à l'aide d'une micropipette, mettre dans chaque boîte 1ml de la dilution 10^{-8} (répéter cette opération pour les 2 autres dilutions) .Couler aseptiquement dans chaque boîte de Pétri la gélose fondue et maintenue à 45 ± 1 °C. Homogénéiser soigneusement l'inoculum avec le milieu en effectuant des 8.

Après solidification de milieu, les boîtes de Pétri sont incubées dans une jarre d'anaérobiose avec les anaero-cults capable de produire l' H_2 et le CO_2 pendant 5 jours à $37^\circ C$ (Beerns, 1990 ; Frank *et al.*, 1993). Les boîtes contenant un nombre de colonies compris entre 25 et 300 sont retenues.

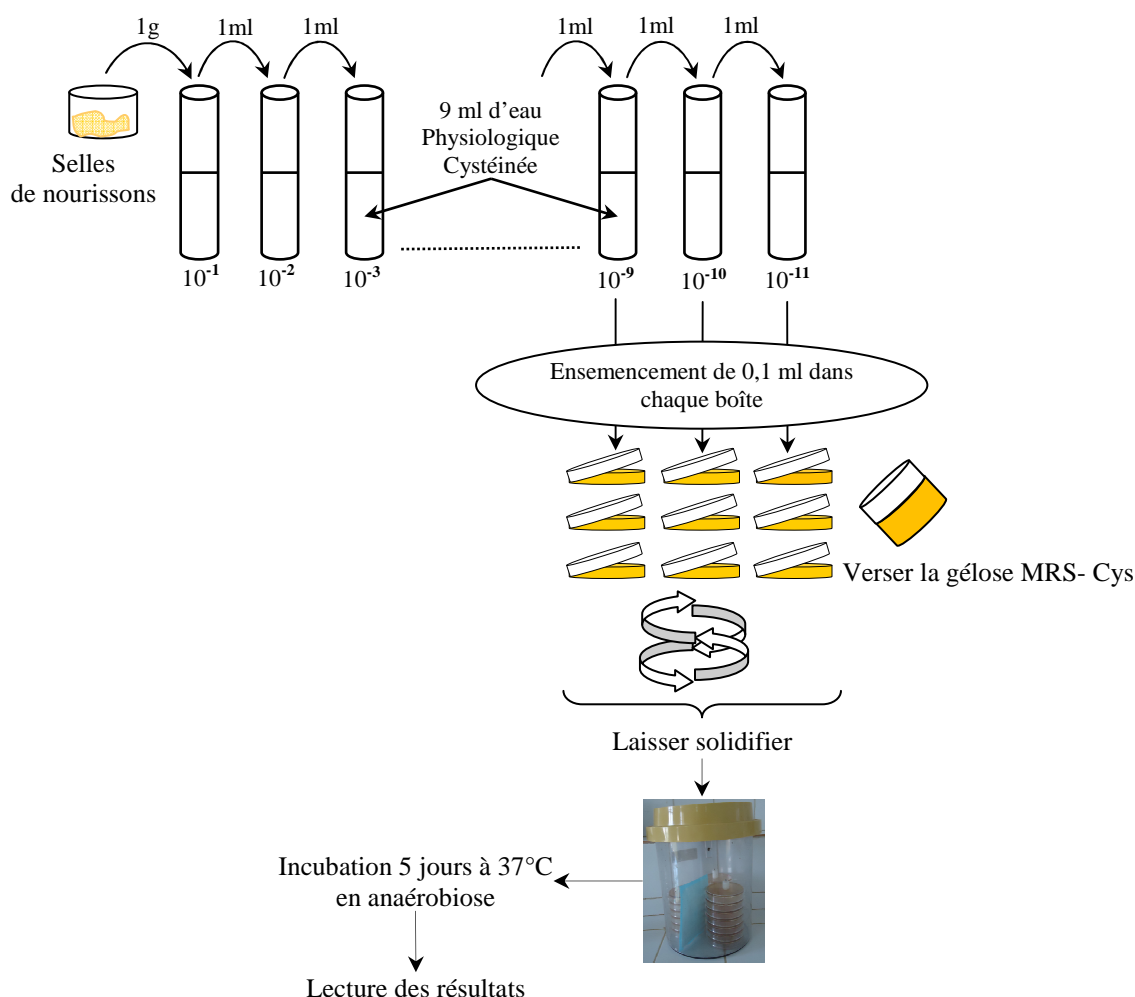


Figure 10 : La technique suivie pour l'isolement des bifidobactéries

4 Purification des souches

A partir des colonies obtenues des purifications sont faites sur milieu MRS-Cys par repiquage successif. L'opération est renouvelée en prenant chaque fois au hasard des colonies identiques bien distinctes. Ceci conduit à obtenir une culture dont la pureté est estimée par observation microscopique après coloration de Gram.

5 Pré-identification des bifidobactéries

Après la purification nous avons effectué les tests suivants :

5.1 Étude macroscopique :

Cette étude consiste à noter l'aspect des colonies bactériennes (contour, couleur, viscosité...).

5.2 Étude microscopique :

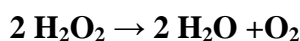
Coloration de Gram (Larpen et Larpen, 1990)

Sur les frottis fixés, on ajoute quelques gouttes de violet de gentiane qu'on laisse agir 1 minute. Le colorant est jeté, et la préparation est recouverte du lugol (solution aqueuse d'iode et d'iodure de potassium) pendant 30 secondes, l'opération est répétée une deuxième fois. Ensuite, la préparation est décolorée à l'alcool 90°. On rince avec de l'eau distillée. En fin, quelques gouttes de fuchsine de Ziehl sont versées sur la lame qu'on laisse agir 1 minutes. La lame est lavée à l'eau distillée. Après séchage, on passe à l'observation microscopique à l'immersion.

6 Identification du genre

6.1 Recherche de la catalase :

Cette enzyme est produite en abondance par les bactéries à métabolisme respiratoire qui peuvent détruire les peroxydes. La catalase est une enzyme qui catalyse :



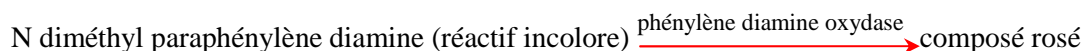
La catalase est mise en évidence en émulsionnant sur une lame la culture bactérienne à tester dans l'eau oxygénée. Le test consiste à déposer une goutte d' H_2O_2 à 10 volumes sur une lame de verre et à y ajouter à l'aide d'une pipette pasteur boutonnée l'inoculum bactérien développé sur gélose MRS-Cys.

Le résultat est immédiat et se caractérise par l'apparition de bulles, dégagement gazeux de dioxygène : **catalase**⁺, le contraire indique l'absence de l'enzyme (pas de bulles) **catalase**⁻ (Larpen et al., 1990).

6.2 Recherche de l'oxydase :

La recherche de l'oxydase est un des critères les plus discriminatifs et les plus employés pour l'identification des bactéries, surtout celle des bacilles à Gram négatif.

Ce test permet de mettre en évidence une enzyme : la phénylène diamine oxydase des bactéries à partir de leur culture en milieu gélosé. Cette enzyme est capable d'oxyder la forme réduite incolore de le N diméthyl paraphénylène diamine et en présence de l'enzyme en leur forme oxydée semi-quinonique rose violacé noircissant à l'air.



Sur une lame on dépose un disque d'oxydase et une goutte d'eau distillée, un peu de culture est prélevé et déposé sur le disque. Le résultat positif se manifeste par une coloration rose violette (Marchal *et al.*, 1991).

6.3 Recherche de type fermentaire :

Pour déterminer le type fermentaire, les souches sont repiquées sur le bouillon MRS-Cys contenant une cloche de Durham. L'incubation s'effectue en anaérobiose à 37°C pendant 24 h (Garvie, 1984).

La présence du gaz dans la cloche indique que la souche est hétérofermentaire et son absence indique qu'elle est homofermentaire.

6.4 Recherche du citrate perméase sur milieu Kempler et Mc Kay, 1980 :

Ce test permet de mettre en évidence le citrate perméase. Les souches de *Bifidobacterium* sont ensemencé sur boîtes de Pétri contenant le milieu KMK par la méthode des stries et incubées à 37 C° pendant 24h en anaérobiose.

Le résultat positif se traduit par l'apparition des colonies bactériennes de couleur bleue et le résultat négatif se traduit par l'apparition de colonies blanche.

6.5 Mise en évidence de la production d'indole sur milieu urée-tryptophane :

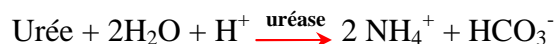
Le milieu est ensemencé avec une suspension épaisse de bactéries prélevées sur un milieu solide (une anse pleine dans 1mL de milieu) ou directement avec un morceau de colonie. Après 24 h d'incubation 2 à 3 gouttes de réactif Kovacs sont ajoutées. L'apparition d'un anneau rouge en surface traduit la présence d'indole.



6.6 Mise en évidence de l'uréase sur milieu urée-tryptophane :

Une suspension dense de chaque souche est ensemencée dans un tube contenant 0,5 ml de milieu urée-tryptophane. Après incubation à 37°C pendant 24 h :

- La coloration rouge traduit une alcalinisation du milieu, suite à l'hydrolyse de l'urée : uréase +.
- La coloration orange ou jaune montre l'absence d'hydrolyse de l'urée : uréase -.



6.7 Protéolyse de la gélatine :

Les souches sont ensemencées par piqûre centrale dans des tubes de milieu gélatine, puis laissés à la température ambiante du laboratoire (25°C).

L'absence de tout changement permet de conclure que les souches sont gélatinase négative.

6.8 Test de croissance sur bile (2 %) :

40 g de bile sont dissoutes dans 100 ml d'eau distillée et autoclaver 15 mn à 115°C. 0,5 ml de cette solution sont ajoutés à 10 ml de MRS-Cys liquide. Après inoculation avec les souches, l'incubation se fait à 37°C pendant 48 h en anaérobiose (Sebald et Petit, 1997). La croissance dans le milieu contenant la bile se traduit par la présence du trouble.

Afin calculer le volume en devant prélever de la concentration mère et que nous l'avant introduit dans les 10 ml d'MRS pour obtenir une concentration de 2%, on a appliqué la loi suivante : $C_1V_1 = C_2V_2$ où

C_1 : la concentration initiale (40%),

V_1 : le volume recherché,

C_2 : la concentration voulue (2%)

V_2 : le volume connu (10 ml d'MRS)

$$V_1 = (C_2V_2)/C_1 = (2\% \cdot 10\text{ml})/40\% = 0,5 \text{ ml}$$

6.9 Antibiogramme des souches isolées :

L'antibiogramme des souches de bifidobactéries a été réalisé par la méthode de diffusion en milieu MRS-Cys solide à pH 7.

Pour chaque souche testée, une colonie de morphologie typique a été prélevée et repiquée dans bouillon MRS et incubé pendant 18-24 h. Tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne puis le frotter sur la totalité de la surface gélosée. Disposer les disques à une distance de 60 mm, centre à centre, afin d'éviter le chevauchement des zones d'inhibition.

10 disques imprégnés d'antibiotiques (bioanalyse) ont été testés à savoir : Acide nalidixique (30µg), Amoxicilline (25 µg), Ampicilline (10 µg), Chloramphénicol (30 µg), Erythromycine (15 µg), Kanamycine (30 µg), Oxacilline (1 µg), Triméthoprime-Sulfaméthoxazol (25 µg), Vancomycine (30 µg) et Cefsulodine (30 µg).

La lecture s'effectue après 48 h d'incubation en anaérobiose en mesurant les diamètres des zones d'inhibition à l'aide d'une règle. Les résultats ont été comparés aux valeurs critiques données par le comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie 2011(voir annexe).

7 Test de thermorésistance :

Une suspension bactérienne jeune des souches sont ensemencées dans des tubes contenant du MRS-Cys liquide puis sont chauffés dans un bain-marie à 46,5 °C pendant 30 minutes, ensuite les tubes sont incubées à 37°C pendant 24 h sous conditions d'anaérobiose (Klein *et al.*, 1998). La présence de trouble après l'incubation indique la résistance des souches à cette température.

8 Test de croissance en milieu hyper-salé :

Ce test est réalisé pour éliminer les entérocoques, il est réalisé dans le bouillon MRS-Cys contenant 4% et 6,5% de NaCl (Devriese *et al.*, 1993).

Les souches de bifidobactéries sont inoculées dans des tubes contenant le bouillon MRS-Cys additionnés de 65g/l (6,5%) et 40 g/l (4 %) de NaCl, puis incubé à 37°C pendant 24h sous conditions d'anaérobiose.

La présence de trouble bactérien dans les tubes contenant 6,5% de NaCl indique la présence des entérocoques ou une contamination.

9 Caractérisation des espèces (Guessas, 2006) :

La fermentation des carbohydrates a été menée sur milieu MRS-Cys sans extrait de viande et additionné au pourpre de bromocrysol (BCP) comme indicateur de pH.

La source de carbone est représentée par l'un des sucres suivant : Arabinose, Raffinose, Sorbitol, Xylose, Mannose, Fructose, Galactose, Sucrose, Maltose, Manitol, Glucose, Lactose.

Les solutions sucres sont préparées à 3% et stérilisées par autoclavage. Un millilitre de la solution sucrée est additionné à 10 ml de MRS-BCP exempte d'extrait de viande. Vu le

nombre de souches étudiées ainsi que le nombre de tubes à essai à utiliser avec chaque souche, une mini préparation est réalisé au laboratoire.

Une plaque d'Elisa est utilisée pour ses puits. Les puits de chaque ligne contiendront une source de carbone qui sera utilisée par différentes souches (figure 11).

Une solution bactérienne servant à ensemercer les puits contenant les différentes sources de carbone à été préparée. Une culture de 18-24 heures de la souche appropriée est centrifugée à 8000 tr/mn pendant 15 min.

Le culot ainsi récupéré est a est lavée deux fois avec l'eau physiologique-Cys aux mêmes conditions pour le débarrasser des restes du milieu de culture et obtenir un culot cellulaire pur. A ce culot, 5 ml de milieu MRS-BCP-EV est additionné pour former la solution cellulaire servant à ensemercer les puits contenant différentes source de carbone ; 100 µl de cette solution bactérienne est déposée dans chaque puit. Les préparations sont recouvertes d'huile de paraffine stérile pour obtenir l'anaérobiose. Les plaques d'Elisa sont incubées en anaérobiose pendant 24-48 h à 37°C.

La lecture des résultats sa fait après 24 et 48 heures d'incubation. La fermentation des sucres est révélée par le virement de l'indicateur le (BCP) du violet au jaune.

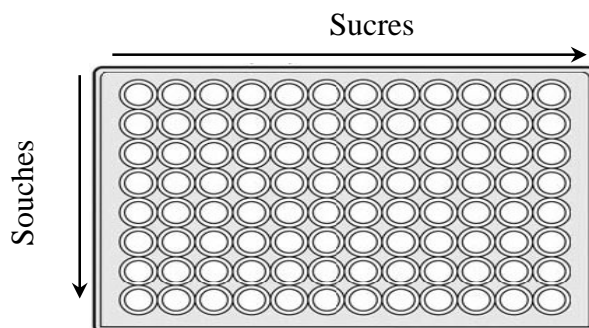


Figure 11 : schéma représentant la mini préparation pour le test de la fermentation des sucres.

10 Tests physiologiques

10.1 Influence du pH :

Pour étudier l'influence du pH sur la croissance des souches retenues, on prépare un milieu MRS-Cys à différents pH (4, 5, 6,5, 8 et 8,5) et on note si il y'a présence ou absence de croissance.

10.2 Influence de la température d'incubation :

L'effet de la température est étudié sur milieu MRS-Cys à pH 6,8. Les cultures préparées sont mises à incuber à différentes températures (25°C, 30°C, 45°C) et on note si il y'a présence ou absence de croissance.

11 Conservation des souches bactériennes

Deux types de conservation de nos souches sont à noter. Une de courte durée et l'autre à longue durée.

11.1 Conservation à courte durée :

Les souches sont ensemencées sur gélose MRS-Cys en boîtes ou en tubes inclinés. Après incubation à 37°C pendant 18-24 heures, les boîtes ou les tubes sont conservés à + 4°C. Les repiquages se font toutes les deux semaines (Scardovi, 1986).

11.2 Conservation à longue durée :

A partir de jeunes cultures (18-24 h) sur milieu liquide, les cellules bactériennes sont récupérées par centrifugation à 4000 tr/min pendant 10 min. Une fois le surnageant éliminé, le culot est maintenu en suspension dans un milieu contenant 10 % de lait écrémé enrichie par 0,05% d'extrait de levure, 30% de glycérol et 0,05 % de Cystéine-HCl.

Ainsi les cultures sont conservées en suspension dense dans des tubes eppendorf à -20°C.

Au fur et à mesure des besoins, les cultures sont décongelées rapidement et repiquées dans du lait deux fois avant l'utilisation (Samelis *et al*, 1994).

12 Aptitude technologique des bifidobactéries

12.1 Test de coagulation du milieu lait en culture pure :

Les tubes contenant 10 ml de lait de chamelle préalablement stérilisés sont ensemencés par les différentes souches de *Bifidobacterium* à la concentration de 1% chacune, puis incubés à 37°C en anaérobiose jusqu'à coagulation du lait et les caractéristiques du coagulum sont notés.

12.2 Étude de la cinétique de croissance dans le lait de chamelle :

Les caractéristiques de croissance des souches de *Bifidobacterium* dans le lait de chamelle ont été évaluées. Pour cela on procède la méthode de Abu-Taraboush *et al*, 1998.

Les souches de *Bifidobacterium* sont d'abordensemencées sur bouillon MRSL-Cys pendant 12-16 heures à 37°C.

Des flacons de 100 ml de lait de chamelle stérile sont préparées puisensemencer par 1 % (V/V) de culture bactérienne puis homogénéiser soigneusement. Chaque culture ainsi préparée est répartie en tubes à raison de 10 ml chacun ensuite incubés à 37°C pendant 33 heures en anaérobiose. Des prélèvements ont été effectués aux temps 0,2, 4, 6, 8, 10, 24 et 33 heures afin d'évaluer les caractéristiques de croissances des souches étudiées.

La numération des bifidobactéries ont été a été faite sur milieu MRSL- Cys agar selon la méthode d'ensemencement dans la masse en appliquant les étapes suivantes :

- Après homogénéisation des cultures, on effectue des dilutions décimales dans l'eau physiologique additionné de 0,05% de cystéine-HCl de l'ordre de 10^{-5} , 10^{-6} et 10^{-7} .
- Prendre deux (02) boîtes de Pétri stériles, à l'aide d'une micropipette, mettre dans chaque boîte 1 ml de la dilution 10^{-5} (répéter cette opération pour les 2 dilutions décimales suivantes) pour les temps 0, 2, 4, 6, 8 et 10h et 0,1 ml (100 microlitres) pour les temps 24 et 33h.
- Verser dans chaque boîte de Pétri la gélose MRSL-Cys préalablement fondu et maintenu à $45 \pm 1^\circ\text{C}$ dans le bain d'eau contenu dans les flacons.
- Mélanger soigneusement l'inoculum avec le milieu et laisser le mélange se solidifier en posant les boîtes de Pétri sur une surface horizontale et froide.
- Retourner les boîtes préparées et les mettre dans une jarre d'anaérobiose + les gas packs.
- Incuber à 37°C pendant 48 heures.
- Ne retenir que les boîtes contenant de 25 à 300 colonies.

Afin de calculer le nombre des unités formant colonie (ufc)/ml on a appliqué la formule suivante :

$$N_{ufc} = \frac{\Sigma C}{V(n_1 \cdot 1) + (n_2 \cdot 0,1) + (n_3 \cdot 0,01) + \dots + (n_n \cdot 10^{-(n-1)})d}$$

où

ΣC est la somme des colonies dénombrées sur les boîtes.

V : le volume ensemencer dans la boîte de Petri.

n_1 est le nombre de boîtes ayant servi au dénombrement à la première dilution utilisée.

n_2 est le nombre de boîtes ayant servi au dénombrement à la deuxième dilution utilisée.

d est la valeur correspondant a la dilution a partir de laquelle les premiers comptage ont été effectués.

Le taux de croissance (μ) et le temps de génération (G) ont été calculés selon Prescott *et al.*, 2003 selon les équations suivantes :

$$\text{Le taux de croissance } \mu_{(h^{-1})} = (\log x_t - \log x_{t_0}) / \log 2 \cdot (t - t_0)$$

$$\text{Le temps de génération } G_{(h)} = 1/\mu$$

où X_t et X_0 sont le nombre des colonies (cfu/ml) à temps t_t et t_0 .

12.3 Détermination de l'acidité titrable :

Cette manipulation a pour but de déterminer par titrage la concentration molaire en ions H_3O^+ dans un échantillon de lait. Cette concentration est exprimée en "degrés Dornic".

Le dosage de l'acidité au cours de la croissance dans le lait chamelle est effectué selon la méthode décrite par Accolas *et al.*, (1977), en utilisant le NaOH (N/11) en présence de l'indicateur de phénolphthaléine (à 1 % dans l'alcool).

A partir des tubes incubés contenant les cultures en lait, le contenu d'un tube est versé dans un bêcher dans lequel sont ajoutées 3 gouttes de solution de phénolphthaléine.

Le titrage s'effectue à l'aide d'une burette avec de la soude dornic sous agitation. On considère que le virage est atteint, quand la couleur blanche du lait vire au rose pâle et persiste pendant une dizaine de secondes.

Noter le volume de la solution titrante utilisé en dixièmes de millilitres. Les résultats sont exprimés en degrés dornic selon la formule suivante :

$$\text{Acidité dornic} = n \times 10$$

Avec n : volume de la soude dornic.

1 degré dornic = 1°D = 0,1 g d'acide lactique dans un 1 litre de lait.

12.3 Suivi du pH au cours de la croissance :

L'acidité développée dans le lait est suivi aussi par une mesure de pH à l'aide d'un pH mètre.

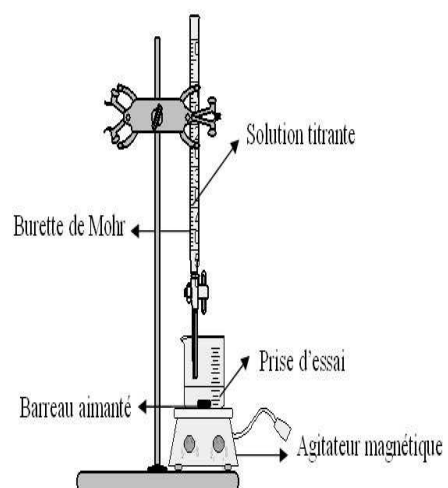


Figure 12 : Instruments pour la mesure de l'acidité titrable.

CHAPITRE III

RÉSULTATS

Chapitre III : résultats

1. Isolement et dénombrement des bifidobactéries

Les résultats de la numération réalisée sur MRS-Cys obtenue après les analyses microbiologiques effectuées sur les échantillons, ont montré un taux important de bactéries présumées des bifidobactéries dans les selles de nourrissons qui varie de 2.10^{10} à 10^{12} ufc/g.

2. Pré- identification des souches

a) Aspect macroscopique :

Après les séries de purification sur milieu solide et liquide (MRS-Cys), les colonies de bifidobactéries développées sur le milieu MRS-Cys sont d'un aspect punctiformes, bombées, luisantes, de couleur blanchâtres et crème, de contour régulier de diamètre variable. Cet aspect macroscopique est souvent rencontré chez les bifidobactéries (Figure 13, 14, 15) (Tableau 14).

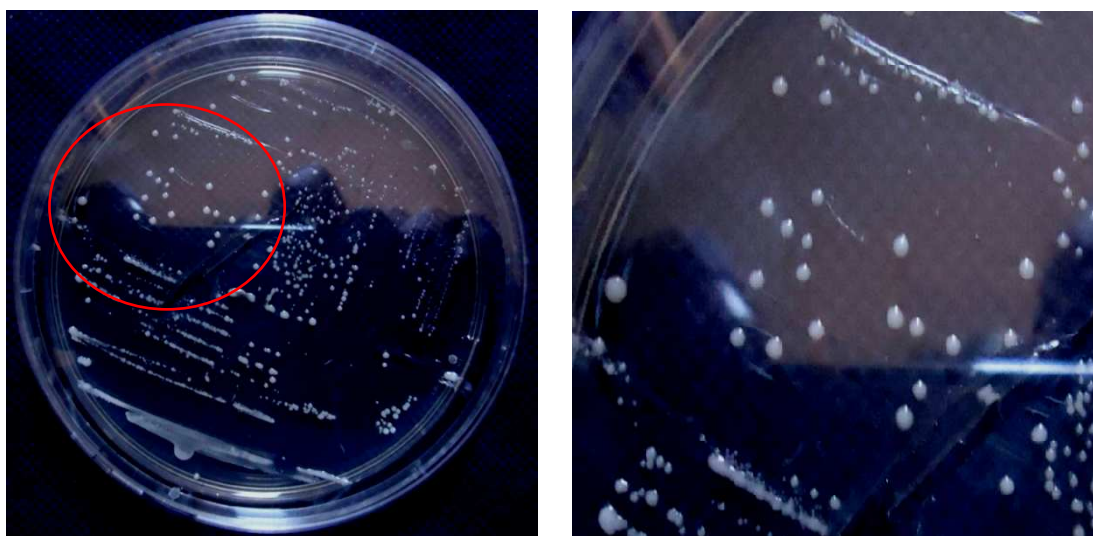
b) Aspect microscopique

L'observation microscopique après la coloration de Gram effectuée sur les colonies obtenues a révélé la présence de bacilles à Gram positif de forme bifide (Y, V), court bâtonnets à extrémité arrondis et souvent forme spatulées parfois sous forme de petits bacilles réguliers ou sous forme coccoïde. Ce pléomorphisme cellulaire est en relation étroite avec la composition du milieu de culture.

Le pléomorphisme est typique aux bifidobactéries, il est généralement pris comme un indice d'orientation dans l'identification du genre et des espèces.

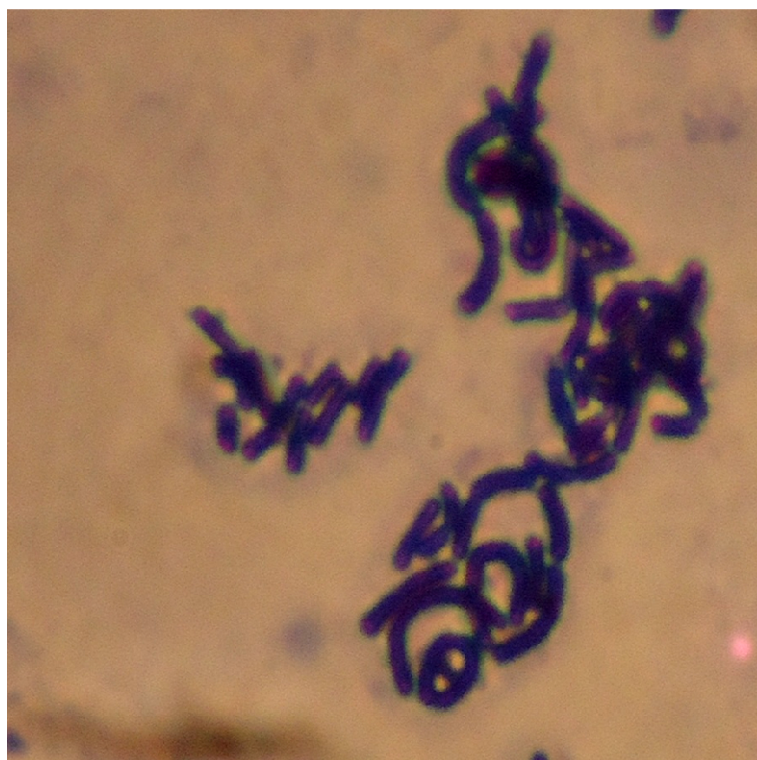
Tableau 14 : Aspect macroscopique et microscopique des souches isolées.

Aspect souches	Macroscopique	Microscopique
BE7	Colonies blanchâtres, luisantes, surface lisse, visqueuses, bombées à contour régulier	Cellules en bâtonnets courts à contour ondulés, spatulés et extrémités arrondies, incurvés en V
BE5	Colonies blanchâtres, punctiformes, blanchâtres crémeuses, contour régulier	Cellules en bâtonnets courts, parfois allongées, extrémité arrondie, en forme V
BBF	Colonies opaques, blanchâtres, surface lisse, contour régulier	Cellules sous forme de bâtonnets courts, polymorphe, contour ondulés irrégulier, extrémité bombée



(a)

(b)



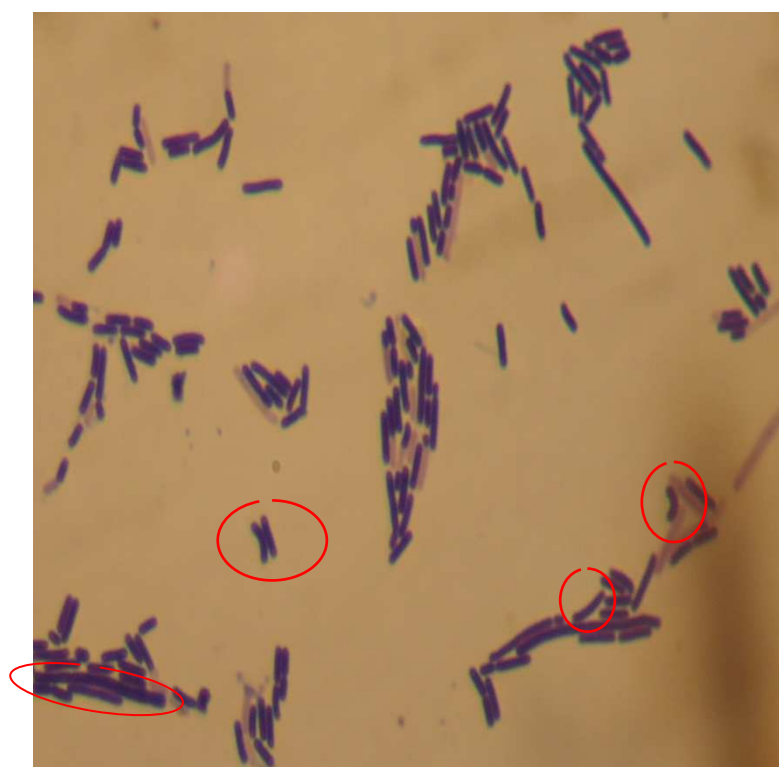
(c)

Figure 13 : l'aspect macroscopique et microscopique de la souche BE5
(a) et (b) : l'aspect macroscopique des colonies de la souche sur milieu MRS-Cys
après 24 h d'incubation à 37°C
(c) : la morphologie des cellules de la souche après coloration de Gram
observé sous le microscope optique (x 1500)



(a)

(b)



(c)

Figure 14 : l'aspect macroscopique et microscopique de la souche BE7

(a) et (b) : l'aspect macroscopique des colonies de la souche sur milieu MRS-Cys
après 24 h d'incubation à 37°C

(c) : la morphologie des cellules de la souche après coloration de Gram
observé sous le microscope optique (x 1500)

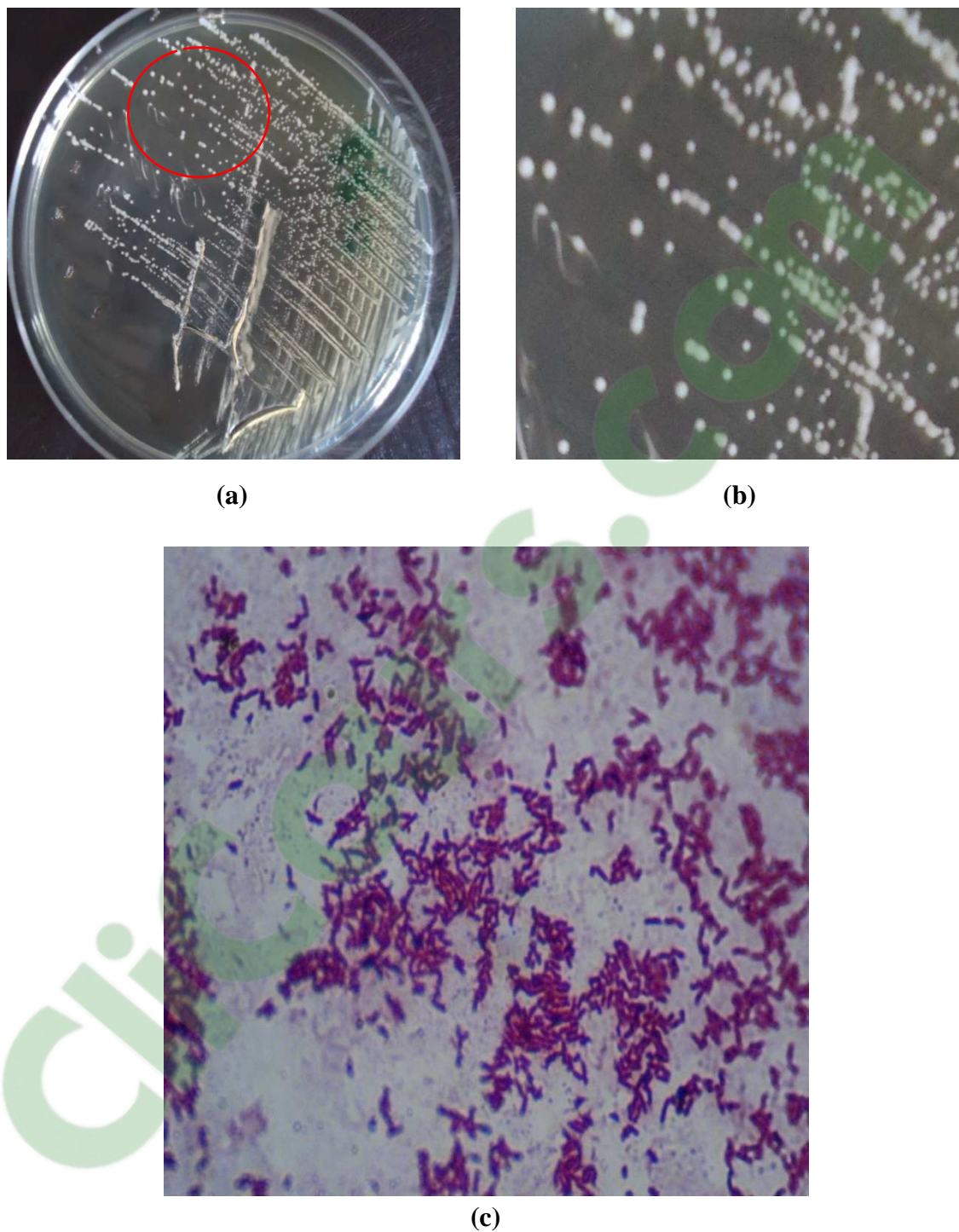


Figure 15 : l'aspect macroscopique et microscopique de la souche BBF
(a) et (b) : l'aspect macroscopique des colonies de la souche sur milieu MRS-Cys
après 24 h d'incubation à 37°C
(c) : la morphologie des cellules de la souche après coloration de Gram
observé sous le microscope optique (x 1500)

3. Recherche de type fermentaire

Toutes les souches ensemencées dans le milieu MRS-Cys renfermant la cloche de Durham ont montré une bonne croissance au fond des tubes sans dégagement de gaz dans la cloche (figure 18).



Figure 16 : résultat test de mise en évidence de type fermentaire des souches isolées.

4. Mise en évidence des autres enzymes

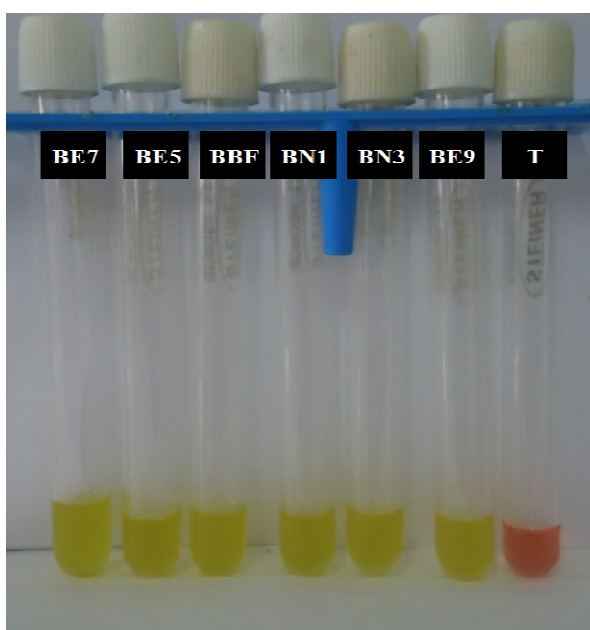
Les activités des enzymes suivantes : catalase, oxydase, uréase, gélatinase et la production d'indole ont été étudiées. Les résultats nous montrent que les souches étudiées ne possèdent ces enzymes excepté le citrate perméase (positif).

Les résultats sont démontrés dans le tableau 15 et les figures 17 et 18.

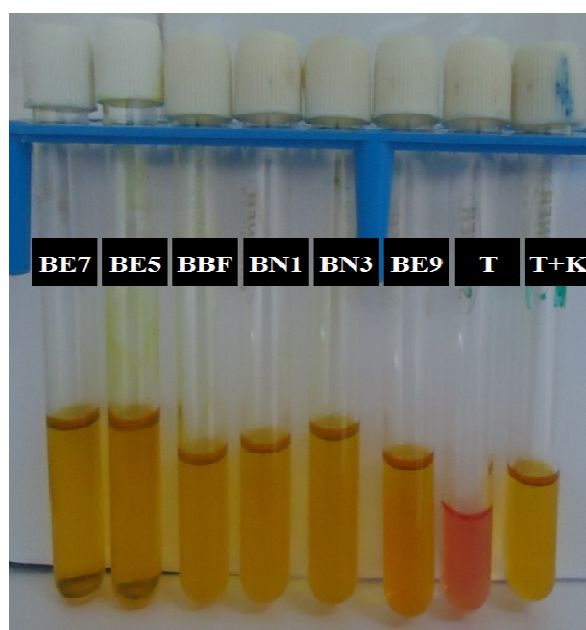
Tableau 15 : Résultats de mise en évidence des activités enzymatiques des souches étudiées.

Enzymes Souches	Catalase	Oxydase	Uréase	Production d'indole	Gélatinase	Citrate Perméase
BE7	-	-	-	-	-	+
BE5	-	-	-	-	-	+
BBF	-	-	-	-	-	+
BE9	-	-	-	-	-	+
BN1	-	-	-	-	-	+
BN3	-	-	-	-	-	+

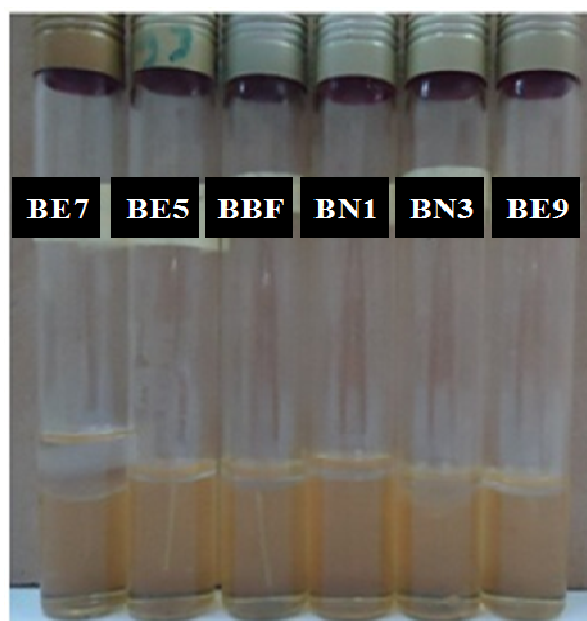
(+) ; résultat positif (présence), (-) ; résultat négatif (absence)



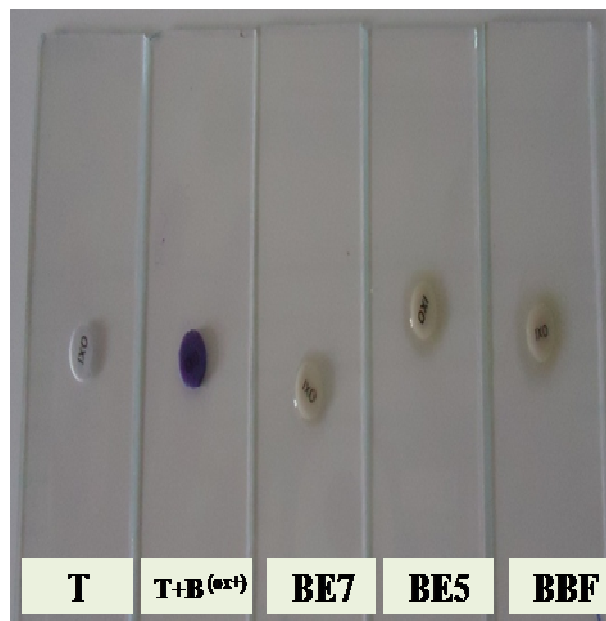
(a) résultat de test de mise en évidence de l'uréase



(b) résultat de test de mise en évidence de la production d'indole



(c) résultat de test de gélatinase



(d) résultat de test de production d'oxydase

Figure 17 : Résultats des tests d'uréase, indole, gélatinase et d'oxydase des souches isolées.

(a) **T** : Témoin ; Urée-indole vierge (orange) (+ : rouge, - : jaune)

(b) **T** : Témoin ; Urée-indole vierge, **T+k** ; Urée-indole + réactif de Kovacs (+ : anneau rouge, - : rose-orange)

(d) **T** : disque d'oxydase vierge, **T+B^(ox+)** ; disque d'oxydase + Bactérie oxydase⁺ (+ : violet, - : incolore)

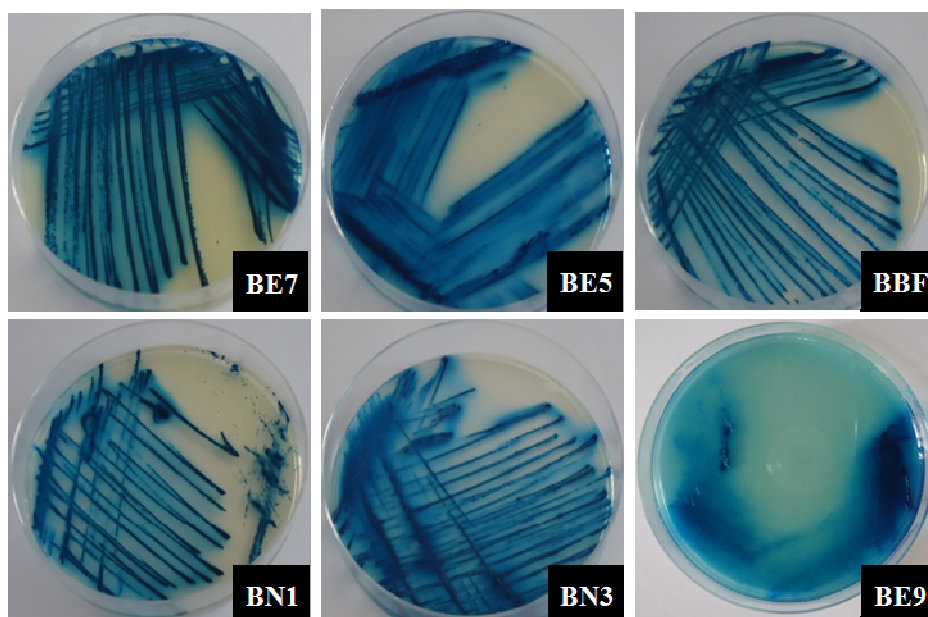


Figure 18 : résultat de mise en évidence de citrate perméase sur milieu KMK des souches isolées.

5. Test de la culture sur la bile

Toutes les souches ensemencées sur milieu MRS-Cys contenant 2% de bile, développent un trouble avec une opacité importante dû à la précipitation des sels biliaries, ceci confirme leur résistance qui est un des critères des probiotiques (figure 19).

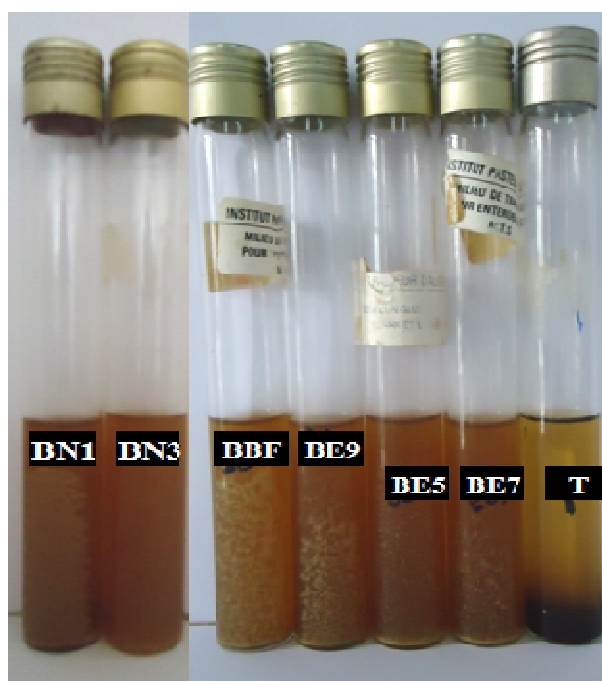


Figure 19 : résultat de test de culture sur bile des souches isolées.

6. Antibiogramme des souches isolées

Comme toutes les bactéries la résistance ou la sensibilité des bifidobactéries aux antibiotiques est un critère qui contribue d'une part pour leur sélection et d'autre part pour leur classification.

Les résultats de l'antibiogramme montrent que toutes les souches sont résistantes aux antibiotiques utilisés comme agents sélectifs dans les milieux pour les bifidobactéries (acide nalidixique, vancomycine et kanamycine). Par contre, sont sensibles à l'érythromycine, amoxicilline et au chloramphénicol.

La sensibilité ou la résistance aux autres antibiotiques utilisés varient d'une souche à l'autre (Tableau 16).

Tableau 16 : Résultat d'antibiogramme des souches isolées.

Nom	Dose (µg)	BE5	BE7	BBF	BE9	BN1	BN3
Acide nalidixique (NA)	30	00 (R)	00 (R)	00 (R)	00 (R)	00 (R)	00 (R)
Amoxicilline (AX)	25	25 (S)	25 (S)	24 (S)	24 (S)	26 (S)	25 (S)
Ampicilline (AM)	10	00 (R)	01 (R)	00 (R)	01(R)	03 (R)	02 (R)
Chloramphénicol(C)	30	35 (S)	35 (S)	36 (S)	27 (S)	30 (S)	28 (S)
Erythromycine (E)	15	30 (S)	28 (S)	30 (S)	30 (S)	30 (S)	30 (S)
Kanamycine (K)	30	12 (R)	09 (R)	08 (R)	05 (R)	06 (R)	10 (R)
Oxacilline (OX)	1	08 (R)	12 (S)	22 (S)	05 (R)	06 (R)	05 (R)
Trimethoprim Sulfamethoxazol (SXT)	25	24 (S)	00 (R)	30 (S)	26 (S)	27 (S)	28 (S)
Vancomycine (V)	30	00 (R)	00 (R)	00 (R)	00 (R)	00 (R)	00 (R)
Cefsulodine (CFS)	30	00 (R)	0 (R)	0 (R)	0 (R)	00 (R)	00 (R)

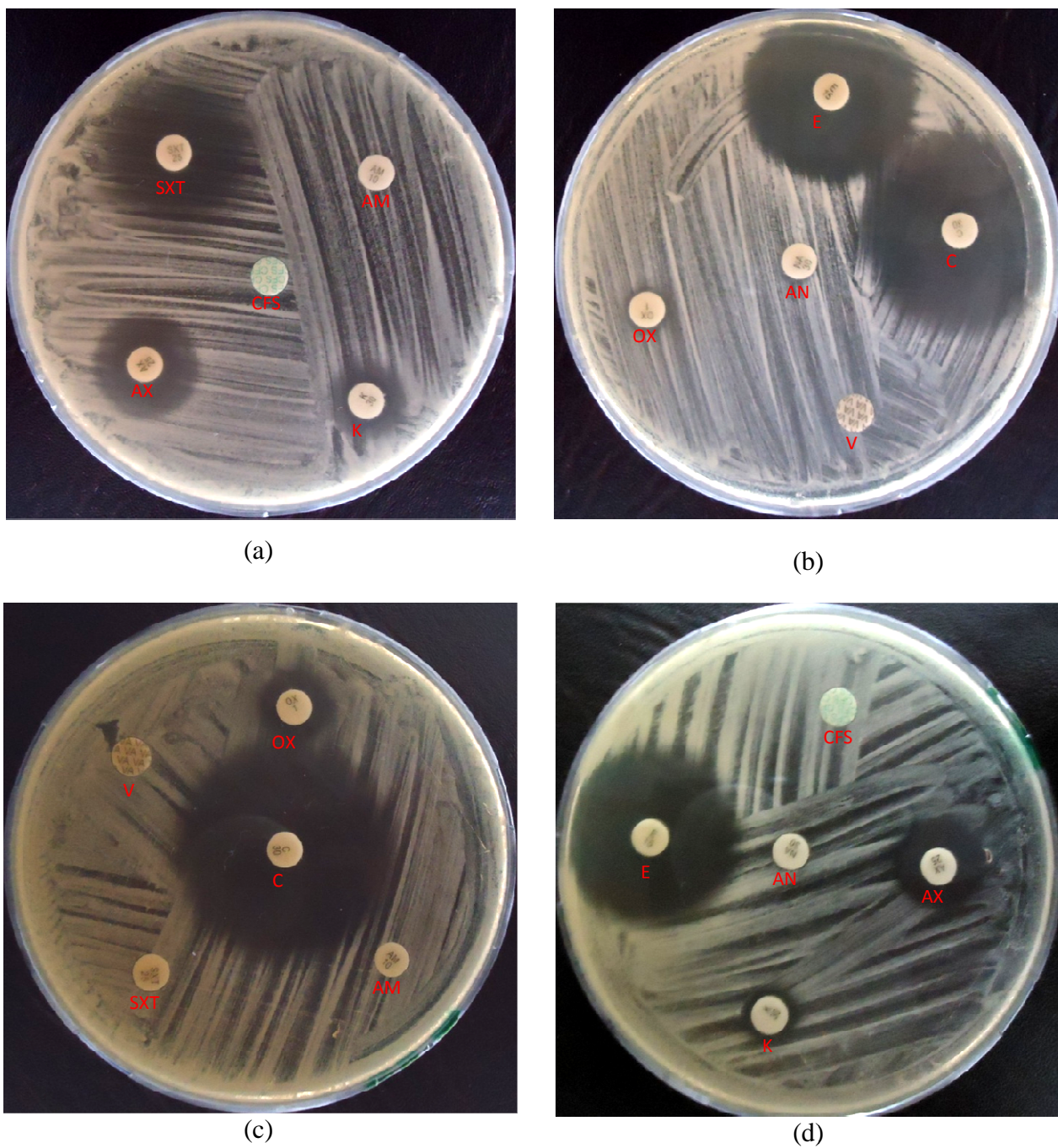


Figure 20 : Résultats du test d'antibiogramme de la souche BE5 (a et b) et la souche BE7 (c et d).

(NA) ; Acide nalidixique, (AX) ; Amoxicilline, (AM) ; Ampicilline, (C) ; Chloramphénicol (E) ; Erythromycine, (K) ; Kanamycine, (OX) ; Oxacilline, (V) ; Vancomycine, (SXT) ; Triméthoprim Sulfaméthoxazol, (CFS) ; Cefsulodine.

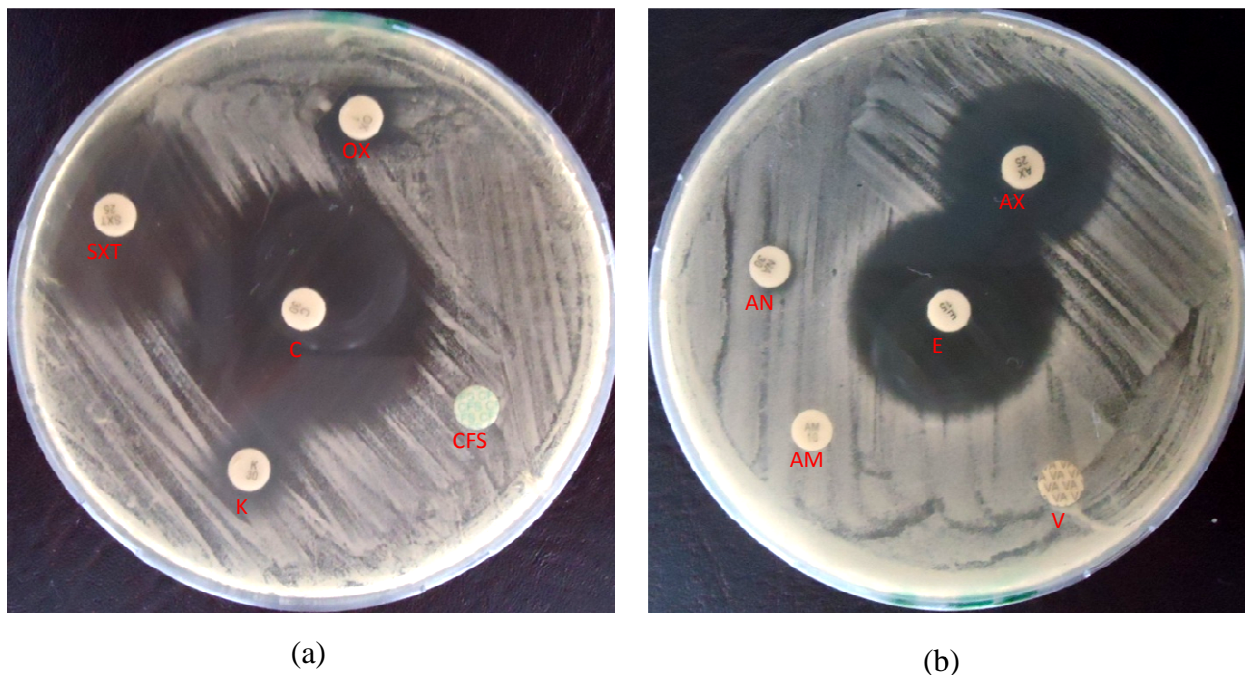


Figure 21 : Résultat du test d'antibiogramme de la souche BBF.

(NA) ; Acide nalidixique, (AX) ; Amoxicilline, (AM) ; Ampicilline, (C) ; Chloramphénicol (E) ; Erythromycine, (K) ; Kanamycine, (OX) ; Oxacilline, (V) ; Vancomycine, (SXT); Triméthoprim Sulfaméthoxazol, (CFS) ; Cefsulodine

7. Tests complémentaires

7.1 Test de thermorésistance

Aucune croissance n'a été observée dans le milieu MRS-Cys pour les souches incubées à une température de 46,5°C.

7.2 Test de croissance en milieu hyper-salé

Toutes les souches de bifidobactéries sont développées sur milieu MRS-Cys additionné de 4% de NaCl, cependant aucune croissance n'est détectée en milieu à 6,5% de NaCl (figure 22).

7.3 Test de l'influence de la température d'incubation

Toutes les souches ont montrées une croissance aux températures de 25°C et 30°C sauf au 45°C aucun trouble n'a été observé. Cependant la charge de trouble bactérien observé dans les deux premières températures est moins importante qu'observée à 37°C.

7.4 Test de l'influence du pH

Aucun trouble n'est observé dans les milieux à pH 4, 5 et 8,5 pour toutes les souches. Toutefois, une croissance significative a été observée à pH 6,5.

Le tableau 17 résume les résultats des tests complémentaires des différentes souches étudiées.

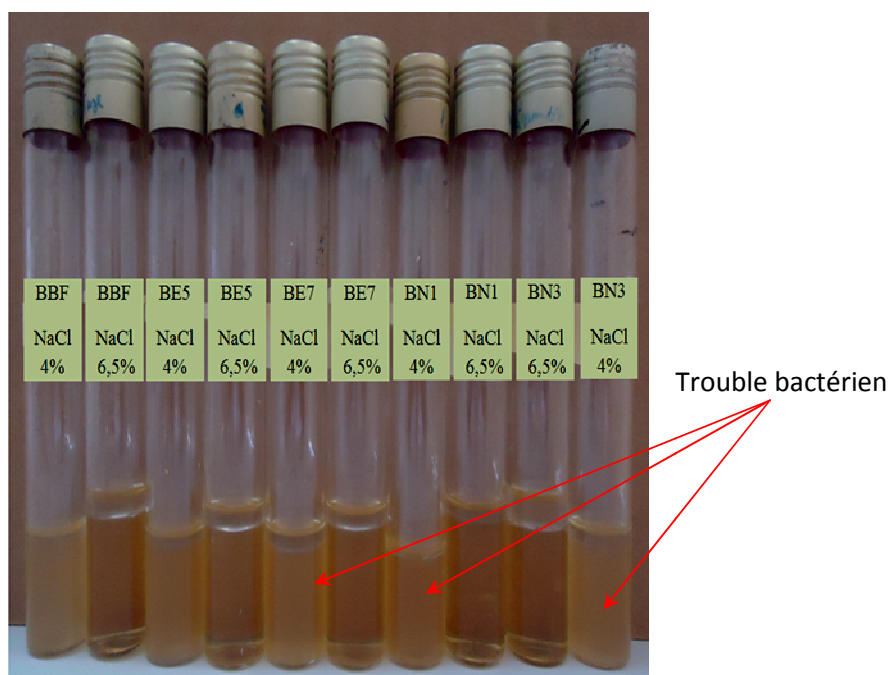


Figure 22 : Résultats du test de croissance en milieu hyper-salé des souches BBF, BE5, BE7, BN1 et BN3.

Tableau 17 : Résultats des tests complémentaires des différentes souches étudiées.

Tests	Souches					
	BBF	BB5	BE7	BN1	BN3	BE9
Thermorésistance à 46,5 °C /30 mn	-	-	-	-	-	-
Croissance à 4% de NaCl	+	+	+	+	+	+
Croissance à 6,5% de NaCl	-	-	-	-	-	-
Croissance à 25°C	+	+	+	+	+	+
Croissance à 30°C	+	+	+	+	+	+
Croissance à 45°C	+	+	+	+	+	+
Croissance à pH 4	-	-	-	-	-	-
Croissance à pH 5	-	-	-	-	-	-
Croissance à pH 6,5	+	+	+	+	+	+
Croissance à pH 8,5	-	-	-	-	-	-
+ : croissance - : pas de croissance						

8 Identification de l'espèce

L'identification des espèces appartenant au genre *Bifidobacterium* est faite en comparant les profils fermentaires obtenus avec les profils-types donnés par la littérature, ce qui permet l'identification de la bactérie.

Les résultats de la fermentation des différents sucres après 48 h d'incubation sont regroupés dans la figure 23 et le tableau 18.

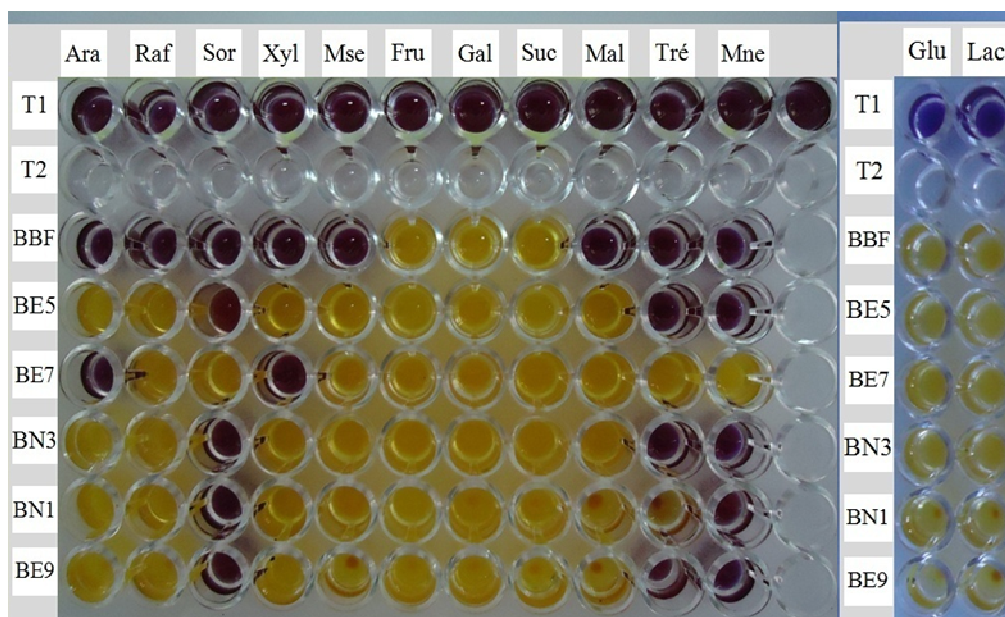


Figure 23 : Résultats de profil fermentaire des souches isolées après 48h d'incubation.

Ara ; Arabinose, Raf ; Raffinose, Sor ; Sorbitol, Xyl ; Xylose, Mse; Mannose, Fru; Fructose, Gal; Galactose, Suc; Sucrose, Mal; Maltose, Tré ; Tréhalose, Mne ; Mannitol, Glu ; Glucose, Lac ; Lactose

T1, T2 ; Témoins, **T1** ; MRS-BCP + sucres, **T2** ; Sucres, (+) jaune ; fermentation, (-) pourpre ; pas de fermentation

Tableau 18 : Résultats de la fermentation des différents sucres par les souches isolées.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Sucres Souches	Ara	Raf	Sor	Xyl	Mse	Fru	Gal	Suc	Mal	Tré	Mne	Glu	Lac
BBF	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+	+
BE5	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+
BE7	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
BN3	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+
BN1	+	+	-	+	+	+	+	+	+	±	-	+	+
BE9	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+

Ara ; Arabinose, Raf ; Raffinose, Sor ; Sorbitol, Xyl; Xylose, Mse; Mannose, Fru; Fructose, Gal; Galactose, Suc; Sucrose, Mal; Maltose, Tré; Tréhalose, Mne; Mannitol, Glu; Glucose, Lac; Lactose, (+) : fermentation, (-) : pas de fermentation

Ces résultats montrent que toutes les souches fermentent certains sucres (fructose, galactose, sucrose, glucose et le lactose).

En outre, les souches BE5, BN3, BN1 ainsi que la souche BE9 fermentent l'arabinose, le xylose et le maltose, par contre, ne fermentent pas le sorbitol, le tréhalose ainsi que le mannitol.

La comparaison de profil de ces souches avec le profil fermentaire décrit par Mitsuoka, (1984) et Scardovi, (1986) a conduit que ces souches appartiennent à l'espèce *longum*.

Le résultat de profil fermentaire montre que la souche BBF se caractérise par une fermentation un peu restreint des sucres testés par rapport aux autres souches. Effectivement, cette souche ne fermente que 5 sucres, à savoir le fructose, le galactose, le sucrose, le glucose et le lactose et son profil suggère de la classer parmi l'espèce *Bifdobacterium bifidum*.

Quant à la souche E87, le résultat de son profil fermentaire à démontré qu'elle a fermentée presque tout les sucres mis à part l'arabinose et le xylose, cette particularité nous a permis en se référant à la littérature de l'identifier comme *Bifdobacterium breve*.

9 Aptitude technologique des bifidobactéries

9.1 Caractéristiques du coagulum en culture pure

Le lait de chamelleensemencé avec les souches pures de bifidobactéries s'est coagulé après cinq jours d'incubation. Cependant, le coagulum obtenu a une consistance et une texture très fragile, très friable et d'aspect floconneux.



Figure 24 : Test de coagulation de lait de chamelle par les souches isolées.

9.2 Cinétique de croissance des souches de bifidobactéries dans le lait de chamelle.

L'évolution de la croissance de 03 souches des 06 souches isolées et identifiées de bifidobactéries dans le lait de chamelle stérile en fonction de temps a été étudiée pendant 33 heures. Les taux de croissance ainsi que les temps de générations au cours de la cinétique ont été déterminés à partir des équations citées aux matériel et méthodes.

Les résultats sont présentés dans le tableau 19 et 20 et la figure 25.

Tableau 19 : Valeurs du nombre (log ufc/ml) des 03 souches de bifidobactéries étudiées.

Temps (heures)	0 h	2 h	4 h	6 h	8 h	10 h	24 h	33 h	souches
Log ufc/ml	6,29	6,55	7,09	7,34	7,54	8,52	8,87	8,4	<i>B. bifidum</i> (BBF)
	7,13	7,45	7,5	7,77	8,47	8,5	9,02	8,45	<i>B. breve</i> (BE7)
	6,09	6,43	7,38	8,42	9,28	9,29	10,27	9,66	<i>B. longum</i> (BE5)

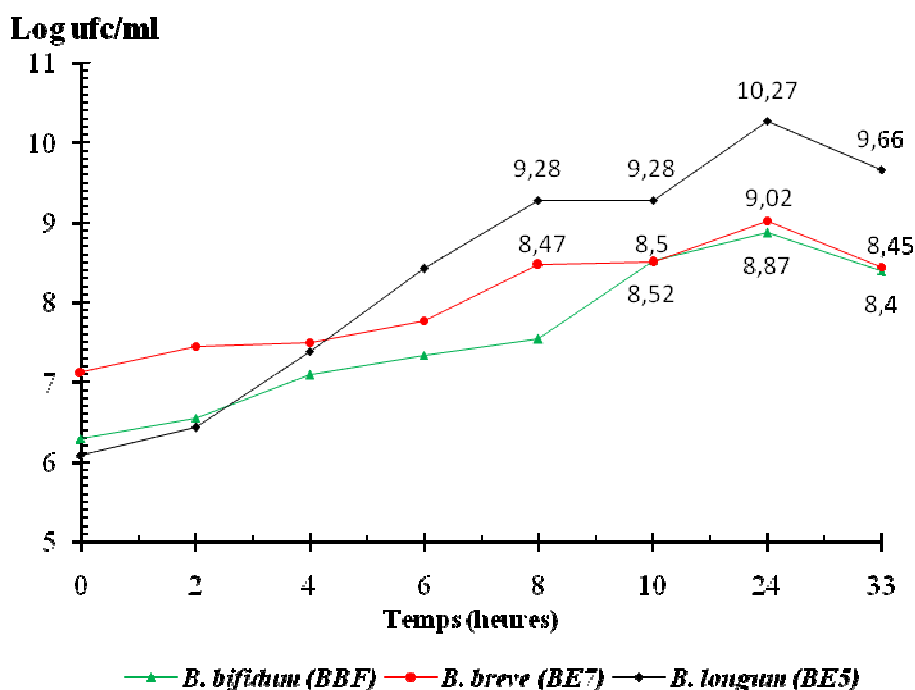


Figure 25 : Courbe de la cinétique de croissance des 03 souches de bifidobactéries étudiées : *B. longum* (BE5), *B. bifidum* (BBF) et *B. breve* (BE7) dans le lait de chamelle.

Tableau 20 : Les valeurs de taux croissances et temps de génération au cours de la cinétique de croissance de 03 souches étudiées.

souches	Paramètres de croissance	
	taux de croissance μ (h^{-1})	temps de génération G (h)
<i>B. bifidum</i> (BBF)	0,55	1,8
<i>B. breve</i> (BE7)	0,45	2,1
<i>B. longum</i> (BE5)	1,55	0,6

Les résultats montrent que le nombre des bifidobactéries exprimé en log ufc/ml augmente proportionnellement en fonction de temps d'incubation durant les 24 heures (0h-24h) qui suivent l'inoculation. Par contre, une diminution de ce nombre est observée durant les 9 dernières heures (de 24h-33h). D'après le tableau 20, on remarque également que le taux de croissance ainsi que le temps de génération sont instables et oscillent selon la souche et le temps. En outre, on observe que la souche *B. longum* (BE5) à une croissance plus élevée avec un taux de croissance de $1,55 \text{ h}^{-1}$ par rapport aux deux autres souches *B. bifidum* (BBF) et *B. breve* (BE7) qui ont un taux de croissance de 0,55 et $0,45 \text{ h}^{-1}$ respectivement.

9.3 L'évolution de l'acidité titrable et du pH pendant la cinétique de croissance.

L'acidité titrable développée ainsi que l'évolution du pH au cours de la cinétique des 3 souches de bifidobactéries ont été mesurés. Les résultats sont présentés dans le tableau 21 et la figure 26 et 27.

Tableau 21 : Les valeurs d'acidité titrable et du pH développés durant la cinétique de croissance des 3 souches de bifidobactéries.

Temps (heures)	0	2	4	6	8	10	24	33	Souche
Acidité titrable °D (degré Dornic)	15	16	17	18	19	20	28	57	<i>B. bifidum</i> (BBF)
	16	17	18	19	19	20	30	58	<i>B. breve</i> (BE7)
	15	16	16	17	18	21	36	61	<i>B. longum</i> (BE5)
pH	6,8	6,77	6,72	6,64	6,57	6,46	5,65	5,45	<i>B. bifidum</i> (BBF)
	6,8	6,75	6,71	6,65	6,58	6,45	5,77	5,55	<i>B. breve</i> (BE7)
	6,8	6,74	6,71	6,61	6,53	6,45	5,55	5,22	<i>B. longum</i> (BE5)

À la suite des résultats, il a été constaté que l'acidité titrable de lait augmente en fonction de temps et de la souche. Néanmoins, l'acidité développée est légère comparativement au temps coulé. D'une façon générale l'acidité titrable développée est presque la même pour les laits contenant la souche *B. bifidum* (BBF) et *B. breve* (BE7) mais par contre on remarque une acidité titrable acquise légèrement élevée pour le lait de chamelle contenant *B. longum* (BE5).

En ce qui concerne le pH, contrairement à l'acidité titrable, ce dernier s'abaisse en fonction de temps et selon l'espèce de bifidobactérie étudiées. Toutefois, cet abaissement de pH est léger par rapport au temps coulé. En effet, on constate que le pH initial enregistré de lait été de 6,8 et diminue jusqu'à un pH final de 5,45, 5,55 et 5,22 pour les laits contenant *B. bifidum* (BBF), *B. breve* (BE7) et *B. longum* (BE5) respectivement. On remarque que la différence mesurée entre le pH initial et les pH finaux ne diminue que d'un score de 1,35, 1,25 et 1,58 pour le lait contenant *B. bifidum* (BBF), *B. breve* (BE7) et *B. longum* (BE5) respectivement relativement au temps d'incubation coulé (33h).

En outre, il existe une forte corrélation entre l'augmentation de l'acidité, l'abaissement de pH et la quantité en acide lactique produite dans le lait. De fait, c'est la concentration en acide lactique qui responsable de l'acidité titrable développée et la diminution de pH et bien évidemment sans oublier l'effet de l'acide acétique pour ce dernier.

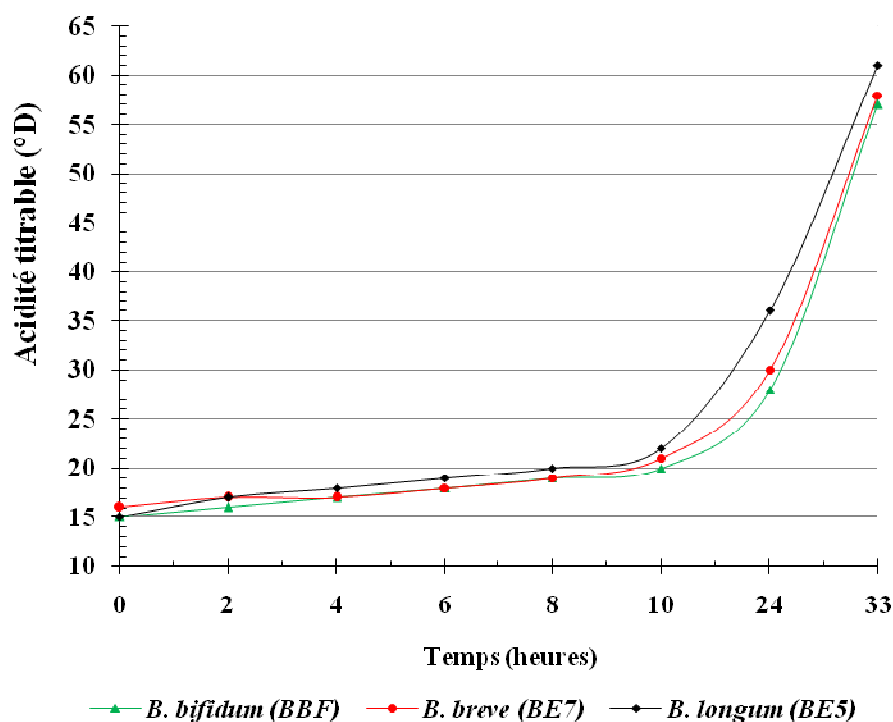


Figure 26 : Le développement de l'acidité titrable durant la cinétique de croissance des 3 souches de bifidobactéries : *B. longum* (BE5), *B. bifidum* (BBF) et *B. breve* (BE7).

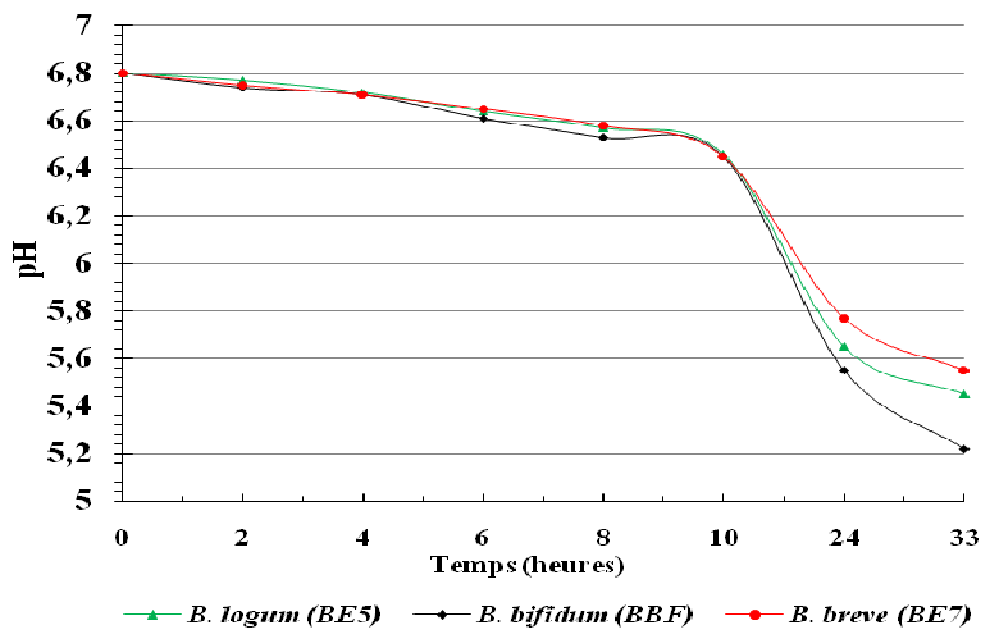


Figure 27 : Évolution du pH durant la cinétique de croissance des 3 souches de bifidobactéries : *B. longum* (BE5), *B. bifidum* (BBF) et *B. breve* (BE7).

CHAPITRE IV

DISCUSSION

Chapitre IV : discussion

Les bifidobactéries sont des bactéries commensales de l'homme, elles sont également retrouvées chez les animaux (Biavati *et al.*, 2000). Leur isolement nécessite des conditions assez spécifiques, qui mettent en jeu des systèmes d'anaérobiose comme les anaerocult ou les gas-pack et des milieux de cultures très riches tels que le milieu TPY, Beerens et MRS cystéiné (Scardovi, 1986 ; Payne *et al.*, 1999; Hadadji *et al.*, 2005).

Le résultat de dénombrement a révélé un taux élevé des bifidobactéries, qui varie de 2.10^9 à 10^{11} ufc/g de selles dans certains échantillons. Des taux similaires ont été trouvés par plusieurs auteurs (Ferraris *et al.*, 2010 ; Solís *et al.*, 2010 Hadadji *et al.*, 2005 ; Vlková *et al.*, 2004).

Ces taux élevés des bifidobactéries dans les selles peuvent être expliqué par la présence des facteurs bifidogènes dans le lait maternel, tels que des oligosaccharides comme le galactose, le fucose et le N-acetylglucosamine, qui stimulent la croissance des bifidobactéries (Bezkorovainy et Miller-Catchpole, 1989). L'absence de ces facteurs dans les préparations de laits pourrait expliquer la déférence observée entre les flores des enfants nourris au lait maternel et ceux nourris au lait de vache (Tamime *et al.*, 1995).

Bien d'autres études ont rapporté que le

de bifidobactéries est élevé chez les nourrissons allaités au sein par rapport à ceux allaités au lait maternisé (Harmsen *et al.*, 2000 ; Favier *et al.*, 2002 ; Fenaro *et al.*, 2003).

La pré-identification des souches basée sur des aspects macroscopiques a montré que les bifidobactéries développent sur le milieu MRS-Cys des colonies punctiforme à contour régulier et aspect variable. Elles sont catalase et oxydase négatives. Les cellules formant les colonies sont Gram positive, caractérisées par des formes variables (polymorphes), mais souvent des formes bâtonnets en V qui sont typiques aux bifidobactéries (Khanta, 1999).

D'autres formes sont rencontrés : des bâtonnets fins, plus au moins longs et épais ces caractéristiques ont été déjà citées par plusieurs auteurs (Beerens, 1990, Gomes et Malta, 1999 ; Leahly *et al.*, 2005).

Le pléomorphisme observé chez les bifidobactéries est souvent associé à la composition du milieu de culture. Des études ont démontré que la morphologie cellulaire des

bifidobactéries est influencée par la nature de la source de carbone présente dans le milieu de culture (Biavati et Mattarelli, 2006).

Toutes les souches isolées et étudiées sont citrate positive, elle ne forme pas de l'indole, ne possède pas une activité uréasique et ne liquéfie pas la gélatine. Ces caractères biochimiques concordent avec les caractéristiques spécifiques au genre *bifidobacterium* rapporté par Hadadji *et al.*, (2005).

Les souches isolées étudiées ont montrées une bonne croissance en milieu additionné de 2% de sels biliaries. Effectivement, il a été démontré que les bifidobactéries dégradent les sels biliaries, ce critère probiotique est due à une enzyme qui hydrolyse les sels biliaries (BHS), cette enzyme à été isolé de la souches *B. longum* BB536 par Grill *et al.*, (1995) , et chez la souche *B. longum* SBT2928 par (Tanaka *et al.*, 2000).

Les mécanismes adaptatifs de tolérance aux sels biliaries pourraient conduire à une meilleure adaptation à l'environnement colique et aux sources de carbone disponibles ainsi qu'à une augmentation de la viabilité persistance de *Bifidobacterium* dans l'environnement intestinal (De los Reyes-Gavillan *et al.*, 2005 ; Gueimonde *et al.*, 2007).

Nos souches isolées à partir des selles de nourrissons sont résistant à l'acide nalidixique et la kanamycine. Cette résistance à ces 2 antibiotiques a été démontrée et signaler par plusieurs auteurs (D'Aimmo *et al.*, 2007 ; Ouoba *et al.*, 2008 ; Kiwaki et Sato, 2009 et Kushiro *et al.*, 2009). Ces 2 antibiotiques sont utilisés comme agents sélectifs dans les milieux pour l'isolement et la numération des bifidobactéries provenant du tractus intestinal ou encore des selles humaines (Ventura, 2004).

Certaines bifidobactéries sont également munies d'une antibiorésistance envers certains antibiotiques comme la vancomycine (Charteris *et al.*, 1998). Cette antibiorésistance a été observée chez nos souches. Cependant, certaines souches ont été considérées résistantes à la vancomycine (Ammor *et al.*, 2007).

La sensibilité des bifidobactéries à la chloramphénicol, à l'erythromycine et l'amoxicilline a été signalée aussi par divers auteurs (Ouoba *et al.*, 2008; Mättö *et al.*, 2007 ; Masco *et al.*, 2006) chez des souches d'origines diverses. Cette sensibilité à ces derniers antibiotiques a été effectivement observée chez les souches isolées.

Ces résultats s'accordent avec les littératures disponibles pour les bifidobactéries avec quelques exceptions dues éventuellement au mal conservation des antibiotiques ou au mal manipulation.

Le critère d'antibiorésistance a intensifié l'utilisation des antibiotiques dans la détermination du genre et dans la connaissance des souches (Charteris *et al.*, 1998).

La différenciation des espèces de bifidobactéries repose sur la fermentation des carbohydrates. En effet, (Schell *et al.*, 2002) ont démontré que la souche NCC 2705 de *bifidobacterium longum* possède des gènes codant pour des enzymes (fumarase, oxoglutarate déshydrogénase, et le malate déshydrogénase) qui permettent la dégradation de plusieurs sucres (arabinose, xylose, ribose, cellobiose, melibiose, maltose, raffinose et mannose).

Les résultats ont démontré que les souches BE5, BN3, BN1 et la souche BE9 fermentent à peu près tous les sucres testés (fructose, galactose, sucrose, glucose, lactose, l'arabinose, le xylose et le maltose) sauf le sorbitol, le tréhalose ainsi que le mannitol.

La comparaison du profil fermentaire de ces souches avec le profil fermentaire décrit par Mitsuoka, (1984) et Scardovi, (1986) nous a permis à les identifier comme *Bifidobacterium longum*.

De même, le profil fermentaire de la souche BE7 à montré que cette dernière fermente également presque tout les sucres à part l'arabinose et le xylose, cette particularité nous a mené en se référant à la littérature que la souche BE7 appartient à l'espèce *breve*.

Contrairement aux autres, la souche BBF se particularise qu'elle n'a pas fermentée 8 sucres (arabinose, raffinose, sorbitol, xylose, mannose, tréhalose et le manitol) de 13 sucres testés. En effet. Cette souche a dégradée que 5 sucres, à savoir le fructose, le galactose, le sucrose, le glucose et le lactose et son profil suggère de la classer parmi l'espèce *Bifidobacterium bifidum*.

Ces 3 espèces isolées *B. longum*, *B. breve* et *B. bifidum* sont fréquemment isolées et prédominantes dans le microbiote fécal des nourrissons allaités au sien. D'ailleurs, Ces résultats obtenus sont se conforment avec les résultats obtenus par (Solís *et al.*, 2010 ; Zinedine et Faid, 2007 ; Hadadji *et al.*, 2005 ; Vlková *et al.*, 2004).

L'étude de certains facteurs tel que la température et le pH est indispensable pour l'optimisation des conditions de croissance et la production de la biomasse.

L'effet du pH sur la croissance microbienne agit sur l'activité enzymatique, la perméabilité cellulaire de certains nutriments qui dépend de l'équilibre ionique.

Les bifidobactéries sont généralement sensibles à des pH inférieurs à 5 (Ballongue, 2004). En effet, les résultats ont montré qu'à pH 4 et 5 aucune croissance n'a été observée. Ceci semble être en accord avec les résultats obtenus par Reilly et Gilliland, (1999).

Cependant, les souches de *B. animalis* sont plus résistantes à des pH acides que les souches appartenant à d'autres espèces de *Bifidobacterium* (Mättö *et al.*, 2004). Donkor *et al.*, (2006) ont observé que le nombre de *B. lactis* B94 diminue à des pH acides.

Matsumoto *et al.*, (2004) ont indiqué que la tolérance des souches de *B. longum*, *B. adolescentis* et *B. pseudocatenulatum* à des pH acides est très limitée, une diminution significative de la viabilité des souches dans un milieu à pH 3 après seulement une heure d'incubation. De même, un ralentissement significatif de la croissance de toutes les souches étudiées cultivées dans le milieu MRS-Cys à pH 8, une inhibition totale dans le milieu à pH 8,5. La croissance optimale pour les différentes souches a été obtenue dans le milieu à pH de 6,5.

Ces résultats confirment que les bifidobactéries préfèrent les milieux neutres ou légèrement acides à des pH compris entre 5 et 8 tel que signalé par plusieurs auteurs (Romond *et al.*, 1992 ; Wang et Gibson, 1993 ; Akalin *et al.*, 2004 ; Collado *et al.*, 2006).

La température d'incubation agit sur le développement des bifidobactéries. Les résultats de la croissance des souches de *Bifidobacterium* isolées en milieu MRS-Cys, incubées à différentes températures montrent une variabilité de croissance selon la température d'incubation.

En effet, à la température d'incubation de 25°C et 30°C toutes les souches ont montré une croissance. Toutefois, la croissance des souches est meilleure à 30°C qu'à 25 °C mais moyennement significative qu'à la température optimale (37°C). En revanche, à une température de 45°C on observe une absence totale de croissance des souches de *bifidobacterium* étudiées. Ce comportement, peut être expliqué par le fait que les souches sont d'origine humaine et ne supportent pas les températures élevées. Les résultats obtenus sont semblables avec les résultats rapportés par plusieurs auteurs (Scardovi, 1986 ; Shah, 1997 ; Biavatti *et al.*, 2000 ; Dong *et al.*, 2000).

Ces observations montrent d'une part que la température d'incubation est un paramètre important qui peut affecter la croissance des bifidobactéries. D'autre part, confirme que les

bifidobactéries d'origine humaine sont des germes mésophiles poussant à des températures optimales de 30 à 37°C.

Les résultats ont démontrés que le lait camélinensemencé par les souches de bifidobactéries a pris assez de temps pour se coaguler. De plus, le coagulum obtenu est assez mou, friable, d'une rigidité faible et d'aspect floconneux. De tels résultats ont été mentionnés par Ramet, (2003) et Konuspayeva, (2007).

En effet, la coagulation de lait camélin est réputée difficile et longue et ceci est due au teneur réduite en matière sèche totale, le diamètre élevé des micelles de caséine, la teneur réduite en caséine kappa qui jouent un rôle essentiel dans le caillage enzymatique, et la taille réduite des globules gras (Al-Haj et Al-Kanhal, 2010).

Ces différences, expliquent que le lait de dromadaire ne peut pas être transformé en yoghurt, fromage et beurre par l'application des diagrammes technologiques classiques.

Les difficultés de transformation de ce lait seraient contournables par des adaptations technologiques couramment utilisées en industrie laitière pour corriger les laits (kamoun, 1995).

Bien que plusieurs recherches aient rapporté que les bifidobactéries poussent difficilement dans le lait (Janer *et al.*, 2004 ; Østlie *et al.*, 2003 ; Gomes et Malcata, 1999 ; Dave et Shah, 1998), nos souches ont bien poussé dans le lait camélin.

Selon les résultats obtenus, toutes les souches ont bien poussées dans le lait camélin avec un taux de croissance variable selon la souche et le temps. La souche de *B. longum* (BE5) s'est particularisée par un taux de croissance assez élevé ($1,55h^{-1}$) et a atteint un nombre de 9,28 log ufc/ml après 8 heures de son inoculation dans le lait par rapport aux *B. bifidum* (BBF) et *B. breve* (BE7) qui ont enregistré après 8 heures un nombre de 7,54 log ufc/ml et 8,47 log ufc/ml respectivement. Cette proportionnalité de croissance avec le temps d'incubation continue jusqu'à 24 heures où les 3 souches atteignent leur apogée de croissance.

Ces présents résultats obtenus sont assez proches de ceux obtenus par Al-Saleh, (2001) en évaluant la croissance de 6 espèces de *bifidobacterium* (*B. longum* ; *B. bifidum* ; *B. breve* ; *B. adolescentis* ; *B. infantis* et *B. angulatum*) afin de choisir des espèces comme des cultures starter. De plus, nos résultats obtenus semble aussi comparable avec ceux obtenus par Abu-Taraboush *et al.*, (1998) mais avec quelque exceptions.

Généralement, il y a des contradictions en ce qui concerne les résultats de comportement de croissance des bifidobactéries dans le lait.

Une étude faite sur 22 souches de différentes espèces de bifidobactéries d'origine humaine par Desjardins *et al.*, (1990) ont démontré que plusieurs espèces pouvaient croître dans le lait sans supplémentation de facteurs de croissance. Toutefois, Klaver *et al.*, (1993) ont rapporté que certaines souches sont incapables de bien croître dans le lait pur.

L'incapacité de certaines souches de *bifidobacterium* de pousser dans le lait a suggéré leur exigences pour plusieurs facteurs de croissances tels que les amino-sucres, le digestat de caséines bovines et l'extrait de levure (Roy *et al.*, 1990).

Néanmoins, Klaver *et al.*, (1993) ont mentionné que les souches de bifidobactéries qu'ont été incapables de croître dans le lait n'est pas due au manque aux facteurs de croissance mais en raison de l'absence d'activité protéolytique chez la plupart de ces microorganismes. Les mêmes auteurs ont aussi démontré que le taux de croissance des bifidobactéries dans le lait pouvait être augmenté par la présence de souches protéolytiques telles que *Lb. acidophilus*, *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ou *Lb. casei*. Ces espèces protéolytiques fournissent suffisamment de composés azotés utilisables qui permettent la croissance des bifidobactéries.

Le manque d'activité protéolytique chez les bifidobactéries a été également proposé auparavant par Ziajka et Zbikowski., (1986).

Il semble que l'activité protéolytique joue un rôle très important dans la bonne croissance des bifidobactérie dans le lait camélin.

Al-Saleh, (2001) a rapporté que les bifidobactéries peuvent bien poussées dans le lait de chamelle du fait de son taux élevé en peptides et en acides aminés libres. Ces aminoacides libres peuvent améliorer la croissance des *bifidobacterium* des la première phase de l'incubation.

En effet, Abu-Taraboush *et al.*, (1998) ont rapporté que lait camelin renferme plus de peptides et d'acides aminés libres que dans le lait bovin. Ces derniers sont facilement dégradés par les microorganismes et pour cette raison le lait camélin a une activité métabolique élevée lorsqu'il est utilisé dans la préparation de culture starter.

L'importance des acides aminés libre et des peptides pour la croissance des bifidobactéries a été étudiées par Cheng et Nagasawa., (1984). Ces chercheurs ont présumé

que les acides aminés libres peuvent être utilisés pendant la première phase de l'incubation et que les peptides deviennent utilisables durant l'incubation prolongée des cultures de *Bifidobacterium*.

Al-Saleh., (2001) a constaté qu'il existe une relation parallèle entre la biomasse produite et l'activité protéolytique chez les espèces de bifidobactéries. L'espèce *B. longum* 2716 a démontré une forte activité et par conséquent une biomasse élevée a été produite par rapport aux *B. angulatum* 2237 et *B. infantis* 2205.

Les travaux menés par Abu-Taraboush *et al.*, (1998) portant sur quatre espèces (*B. breve* ; *B. bifidum* ; *B. longum* et *B. angulatum*), rapportent que le lait camelin est un excellent milieu de culture, naturel, pour les bifidobactéries.

En outre, le stockage de ce lait à 4°C n'affecte pas leur viabilité et leur activité protéolytique est plus forte que dans le lait bovin. A cet effet, ces mêmes auteurs préconisent, l'utilisation de la poudre de lait camelin comme milieu de préculture de cette flore à haut potentiel nutritionnel et thérapeutique.

La cinétique d'acidification de lait de chamelle au cours de la croissance a été évaluée. Les résultats ont démontré que l'abaissement du pH et le développement de l'acidité titrable ne changent que d'une façon minimale et particulièrement dans les 10 premières heures qui suivent l'inoculation et une légère accumulation d'acidité a été observée après les 23 heures qui suivent. De plus, on a constaté que la souche *B. longum* (BE5) a un pouvoir acidifiant un peu plus élevé par rapport aux *B. breve* (BE7) et *B. bifidum* (BBF).

Ces résultats sont en accord avec ceux observés par Abu-Taraboush *et al.*, (1998) et Al-Saleh., (2001) qui ont remarqué que le pH et l'acidité titrable ne changent que d'une façon infime au cours de la croissances des bifidobactéries dans le lait camélin.

L'évolution minime de l'acidification du lait camélin en dépit de la bonne croissance de nos souches est due peu être d'une part au faible pouvoir acidifiant des bidobactéries et d'autre part au pouvoir tampon élevé de lait camelin.

En effet, la faible acidification par les *Bifidobacterium* en culture pure à été signalé par plusieurs auteurs (Mahi *et al.*, 2006; Chekroun *et al.*, 2006 ; Hadadji et Bensoltane , 2006).

Ceci peut être attribué au fait que les bifidobactéries produisent deux molécules d'acides lactiques et trois molécules d'acides acétiques à partir de deux molécules de glucose (De Vries et Stouthamer, 1968). Il arrive même que le pyruvate soit clivé en acide

formique et en acétyl-1-phosphate plutôt qu'en acide lactique (Ruas-Madiedo *et al.*, 2005).

Le pouvoir tampon élevé de lait camelin par rapport aux laits d'autres espèces a été également signalé par plusieurs auteurs (Konuspayeva, 2007 ; Al-Saleh et Hammad, 1992 ; Ellouze et Kamoun, 1989). Cette propriété contrôle le pH durant la fermentation et donc reflète le taux de libération de minéraux micellaires dans le lait (Attia *et al.*, 2001).

Kamoun et Ramet., (1989) ont rapporté que l'acidification du lait de dromadaire, réalisée soit par voie fermentaire soit par voie exogène était plus lente que pour le lait de vache. Ces différences traduisent un effet tampon propre du milieu résultant de sa composition minérale et protéique particulière.

Abu-Taraboush., (1996) a rapporté que le lait camelin se caractérise par un effet tampon plus élevé par rapport au lait bovin qui permet d'expliquer l'absence de relation directe entre le pH et l'acidité titrable.

De même, Konuspayeva., (2007) a rapporté que le lait de dromadaire présente un pouvoir tampon élevé ralentissant la baisse de pH.

Le pouvoir tampon de lait de chamelle semble jouer un rôle favorable sur la croissance des bifidobactéries dans le lait de dromadaire. Desjardins *et al.*, (1990) ont constaté que la plupart des souches de bifidobactéries ont démontré une corrélation entre le taux de croissance et l'acidité produite, et les données reportées dans cette étude s'accorde avec ces observations. Kabeir *et al.*, 2009 ont rapporté que le pouvoir tampon bas est le principal facteur affectant la viabilité des microorganismes dans les aliments fermentés avec le taux élevé des carbohydrates et le profil diminué des protéines.

CHAPITRE V

CONCLUSION GÉNÉRALE

ET PERSPECTIVES

Chapitre V : conclusion générale et perspectives

Lors de l'étude on a essayé d'associer les vertus nutritionnelles et thérapeutiques de lait camelin avec les vertus probiotiques des bifidobactéries afin d'élaborer un lait camélin fermenté comme *aliments fonctionnels*. Pour cette raison nous avons tenté de suivre le comportement de croissance des souches de bifidobactéries isolées à partir des selles de nourrissons allaités au sein dans le lait camelin stérile.

La caractérisation morphologique et biochimique ainsi que la résistance à certains nombre d'antibiotiques utilisés dans les milieux sélectifs pour les bifidobactéries de nos souches confirme leur appartenance au genre *Bifidobacterium*.

Les résultats de fermentation des différents carbohydrates montrent leur appartenance à trois espèces *longum*, *breve* et *bifidum*. Ces trois espèces sont retrouvées fréquemment dans les selles de nourrisson allaités au sein.

La croissance des souches de bifidobactéries en milieu à 2% de sels biliaires et qui est proche de celle du colon (5 mM) montre leur effet probiotique.

L'étude des caractères physiologiques des souches de bifidobactéries montre qu'elles préfèrent des pH neutre, sont mésophiles et ne tolèrent pas des températures au dessus de 45°C.

L'étude de la cinétique de croissance montre que les souches identifiées se développent bien dans le lait camélin et leur taux de croissance est satisfaisant, surtout l'espèce *B. longum*.

Le suivi de l'évolution de l'acidité titrable et du pH au cours de la fermentation du lait de Chamelle à révélé que ce dernier possède un pouvoir tampon élevé. Ce pouvoir avait un impact favorable sur la croissance des souches isolées.

À la suite des résultats obtenus dans cette étude on conclut que l'association entre le lait camelin et les bifidobactéries probiotiques est très prometteuse.

En perspectives, il serait intéressant de réaliser les points suivants :

- Identification génotypique des souches de bifidobactéries étudiées.
- Tester le comportement de ces souches envers les souches autochtones.
- Étude supplémentaire sur le potentiel technologique des souches, surtout l'activité protéolytique.

- Étude approfondie sur les caractéristiques probiotiques des souches.
- Étude de la viabilité des souches de bifidobactéries étudiées pendant l'entreposage dans le camelin.
- Étude de l'association entre les bifidobactéries et les ferments lactiques dans le lait camélin.

ANNEXE

Annexe

Milieux de cultures

Milieu MRS-Cystéine (De Man Rogosa et Sharpe, 1960)

Extrait de levure	5g
Extrait de viande	10g
Peptone	10g
Acétate de sodium	5g
Citrate de sodium	2g
Glucose	20g
KH ₂ PO ₄	2g
MgSo ₄	0,25g
MnSo ₄	0,05g
Agar-agar	15g
Cystéine-HCL	0,5g
Eau distillée	1000ml

PH=6,8

Autoclavage : 120°C pendant 20 minutes

Milieu MRS lactosé 5% -cystéiné

Extrait de levure	5g
Extrait de viande	10g
Peptone	10g
Acétate de sodium	5g
Citrate de sodium	2g
lactose	50g
KH ₂ PO ₄	2g
MgSo ₄	0,25g
Mnso ₄	0,05g
Agar-agar	15g
Cystéine-HCL	0,5g
Eau distillée	1000ml

PH=6,8

Autoclavage : 120°C pendant 20 minutes

Milieu MRS-BCP sans extrait de viande

MRS sans extrait de viande (milieu liquide) 1000 ml

Pourpre de Bromocrésol 0,025 mg

pH = 7.0

Milieu KMK (Kempler et Mc Kay, 1980)

Extrait de levure	3g
Biopolytone	2,5g
Glucose	5g
Agar	15g
Eau distillée	1000ml
pH=6,8	

Le milieu est réparti à raison de 100 ml par flacon, puis autoclavé 15mn à 121°C

Au moment de l'emploi on ajoute :

1 ml d'une solution aqueuse de ferricyanide de potassium 10 % (P/V)

1 ml d'une solution aqueuse à 2.5 % (P/V) de citrate ferrique et citrate de sodium (P/P)

Ces solutions stérilisation par filtration (millipores 0.22 µm) sont conservées à l'obscurité à 4°C

Milieu urée-indole (Institut de pasteur Algérie)

Tryptophane	3g
Phosphate monopotassique	1g
Phosphate dipotassique	1g
Chlorure de sodium	5g
Urée	20g
Alcool à 95°	10ml
Rouge de phénol	25mg
Eau distillée	1000ml

Réactif Kovacs (Institut de pasteur Algérie)

Diméthyl-amino-4-benzaldéhyde	50g
Acide chlorydrique pur	250cm
Pentanol	750cm

Eau physiologique Cystéinée

Chlorure de sodium	8,5g
Peptone	0,5g
Eau distillée	1000ml
pH=7	

Autoclavage : 120°C pendant 20 minutes

Diamètres critiques pour les antibiotiques testés selon comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie 2011

Antibiotiques	charge du disque	Diamètres critiques (mm)	
		S	R
Acide nalidixique (NA)	30 µg	≥ 25	< 21
Amoxicilline (AX)	25 µg	≥ 23	< 16
Ampicilline (AM)	10 µg	≥ 21	< 16
Chloramphénicol(C)	30 µg	≥ 23	< 19
Erythromycine (E)	15 µg	≥ 22	< 17
Kanamycine (K)	15 µg	≥ 21	< 19
Oxacilline (OX)	1 µg	≥ 11	-
Triméthoprim Sulfaméthoxazol (SXT)	23,75 µg	≥ 16	< 10
Vancomycine (V)	30 µg	≥ 17	-
Cefsulodine (CFS)	30 µg	≥ 22	< 14

RÉFÉRENCES

BIBLIOGRAPHIQUE

- Abd El-Salam, M.H., Saleh, F. A., Kholif. A. M., El-Sayed, E. M., Abdou, S. M., El-Shibiny, S.2004.** Isolation and characterization of bacteriocins produced by *Bifidobacterium lactis* BB-12 and *Bifidobacterium longum* BB-46. 9th Egyptian conference for dairy science and technology, Cairo, Egypt, 9-11.
- Abou-Soliman, N. H.2005.** Studies on goat milk proteins: molecular and immunological characterization with respect to human health and nutrition. Ph.D. Thesis, Alexandria University, Egypt.
- Abu-Lehia, I. H.1989.** Physical and chemical characteristics of camel milk fat and its fractions. Food Chemistry, 34, 261-271
- Abu-Tarbaoush H. M., Al-Dagal M. M. et Al-Royli M.1998.** Growth, viability and proteolytic activity of bifidobacteria in whole camel milk. J. Dairy Sci., 81: 354-361.
- Accolas, J. P., Bloquel, R., et Regnier J.1977.** Propriétés acidifiantes des bactéries lactiques thermophiles en relation avec la fabrication du yaourt ; Lait. 67 : 1-23.
- Agrawal, R. P., Budania, S., Sharma, P., Gupta, R et Kochar, D. K. 2007.** Zero prevalence of diabetes in camel milk consuming Raica community of northwest Rajasthan, India. Diabetes Research and Clinical Practice, 76, 290-296.
- Akalin, A.S., Fenderya, S et Akbulut, N. 2004.** Viability and activity of bifidobacteria in yoghurt containing fructooligosaccharides during refrigerated storage. International Journal of Food Science. 39: 613-621.
- Al-Attas, A. S. 2008.** Determination of essential elements in milk and urine of camel and in *Nigella sativa* seeds. Arabian Journal of Chemistry, 1, 123-129.
- Al-mohizea, I.S., Abu-lehia I.H.et El-beheri M. 1994.** Bacterial growth pattern in pasteurized camel's milk. Egypt. J. Dairy. Sci., 22, 243-252.
- Al-ruqaie, I.M., El-nahhal, H.M., Wahdan A.N.1987.** Improvement in the quality of the dried fermented milk product « oggtt ». J. Dairy Res., 54, 429-435.
- Al-Saleh, A.A., Zahran, A.S. 1999.** Synthesis of extracellular lipase by a strain of *Pseudomonas fluorescens* isolated from raw camel milk. Food Microbiology, 16, 149- 156.
- Al-Saleh, A. A. 2001.** Bifidus camel milk powder: Sensory evaluation and viability of *Bifidobacteria*. J.King Saud Univ. Agri. Sci., 13: 45-53.
- Al-Saleh, A, A et Y. A. Hammad.1992.** Buffering capacity of camel milk. Egypt. J. Food Sci. 20:85-97.
- Ammor, M. S., Flórez Belén, A., Mayo, B.2007.** Antibiotic resistance in non-enterococcal lactic acid bacteria and bifidobacteria. Food Microbiology 24 : 559-570
- Amrouche, T.2005.** Contribution à l'étude du pouvoir immunomodulateur des bifidobactéries : analyse in vitro et étude ex vivo des mécanismes moléculaires impliqués. faculté des sciences de l'agriculture et de l'alimentation université laval Québec.
- Attia, H., Kherouatou, N., Dhoub, A. 2001.** Dromedary milk lactic acid fermentation: Microbiological and rheological characteristics. Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology 26, 263-270.
- Audy, J.2008.** Approche transcriptionnelle pour l'étude de gènes chez CRC 2. Thèse de doctorat philosophie. Département des sciences des aliments et de nutrition .Faculté des sciences de l'agriculture et de l'alimentation. Université Laval. Québec. Canada.
- Ballongue, J.2004.** Bifidobacteria and probiotic action. In Salminen, S., von Wright, A. and Ouwehand, A. Eds., Lactic Acid Bacteria. Microbiological and functional Aspects. Marcel Dekker, New York, pp 67-123.

- Ballongue, J.1993.** Bifidobacteria and probiotic action. Salrinen, Seppo and Wright, Attevon. Lactic acid bacteria. Marcel Dekker, inc ed. New York; pp. 357-428.
- Barka, M, K., Abdul Manap, Y., Muhammad Nazrul, H., Khahatan, A., Shaborin, A et Shuhaimi, M. 2009.** Survival of *Bifidobacterium pseudocatenulatum* G4 during the storage of fermented peanut milk (PM) and skim milk (SM) products. African Journal of Food Science Vol. 3(6). pp. 150-155.
- Barbour, E.K., Nabbut, N.H., Frerichs, W.N Et Al Nakhli, H.M.1984.** Inhibition of pathogenic bacteria by camel's milk; relation to whey lysozyme and stage of lactation. J. Food Protect., 47, 838-840.
- Bayoumi, S.1990.** Studies on composition and rennet coagulation of camel milk. Kieler Milchwirtschaft Forschungberichte, 42, 3-8.
- Beerens, H.1990.** An elective and selective isolation medium for *Bifidobacterium spp.* Letters Applied Microbiology. 11 : 155-157.
- Benkerroum, N.2008.** Antimicrobial activity of lysozyme with special relevance to milk. African Journal of Biotechnology, 7, 4856e4867.
- Bernet, M.-F., Brassart, D., Neeser, J.-F., et Servin, A.1993.** Adhésion of human bifidobacterial strains to cultured human intestinal epithelial cells and inhibition of enteropathogen-cell interactions. Applied and Environmental Microbiology. 59:4121- 4128.
- Bevilacqua, L., Ovidi, M., Mattia, E.D., Trovatelli, L.D., Canganella, F.2003.** Screening of *Bifidobacterium* strains isolated from human faeces for antagonistic activities against potentially bacterial pathogens. Microbiological Research 158, 179-185.
- Bezkorovainy, A et Miller-Catchpole, R.1989.** Biochemistry and physiology of bifidobacteria. Boca Raton, Florida, USA: CRC Press, Inc.
- Bezkorovainy, A. et Nichols, J.H. 1976.** Glyco proteins from mature human milk whey. Pediatric Research. 10:1-5.
- Biavati, L, B., Soni, T., Mattarelli, P et Trovaletti, L .D.1992.** Survival of bifidobacteria from human habitat in acidified milk. Microbiologica: IS (2): 197-200.
- Biavati, B., Vescovo M., Torriani S., Bottazzi, V.2000.** Bifidobacteria: history, ecology, physiology and applications. Annales of. Microbiology., 50, 117-131.
- Biavati, B et Mattarelli, P.2001.** The family bifidobacteriaceae the prokaryotes Dworkin, M., Falkow, S., Rosemberg, E Shleifer, K.H and Stackbrandt, E., Eds P 1-70. Springer New York
- Biavati, B et Mattarelli, P.2006.** The family bifidobacteriaceae the prokaryotes Dworkin, M., Falkow, S., Rosemberg, E Shleifer, K.H and Stackbrandt, E., Eds P 1-70. Springer New York
- Bik, E. M., Eckburg, P, B., Gill, S. R., Nelson, K, E., Purdom, E, A., François, F., Perez-Perez, G., Blaser, M, J et D. A. Relman. 2006.** Molecular analysis of the bacterial microbiota in the human stomach. Proc Natl Acad Sci U S A 103:732-7.
- Bockelmann, W. et Fobker M. 1991.** Purification and characterization of the X-prolyldipeptidyl aminopeptidase from *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* and *Lactobacillus acidophilus*. Int. Dairy J., 1:55-66.
- Boutron-Ruault, M-C. 2007.** Probiotiques et cancer colorectal .Nutrition clinique et métabolisme. 21 : 85-88
- Breed, R,S., Murray, E,G,D et Smith, N,R.1957.** Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 7th edn, Williams and Wilkins, Baltimore.
- Cardellino, R., Rosati, A et Moscom, C.2004.** Current status of genetic resources, recording and production systems in Africa, Asia and America camelids FAO/CAR seminar on camelids. Sousse, Tunisia: Food and Agriculture Organization of the United Nations and International Committee for

Animal Recording.

Castellani, A. et Chalmers A. J.1919. Manual of tropical medicine, 3rd ed. William Wood and Co., New York.

Charteris, W.P., Kelly, P.M., Morelli, L., Collins, J.K.1998. Antibiotic susceptibility of potentially probiotic *Bifidobacterium* isolates from the human gastrointestinal tract. Lett. Appl. Microbiol. 26, 333-337.

Chehma, A.2003. Productivité pastorale et productivité laitière en Algérie. Atelier Int. sur le lait de chamelle en Afrique. FAO-CIRAD-KARKARA, Niamey Niger.

Cheikhyoussef, A., Pogori, N., Wei Chena et Hao Zhang.2008. Antimicrobial proteinaceous compounds obtained from bifidobacteria: from production to their application. International Journal of Food Microbiology, In press.

Cheikhyoussef, A., Pogori, N., Zhang, H.2007. Study of the inhibition effects of *Bifidobacterium* supernatants towards growth of *Bacillus cereus* and *Escherichia coli*. International Journal of Dairy Science 2, 116-125.

Chekroun A., Bensoltane, A., Kheroua, O et Saidi, D.2006. Biotechnological characteristics of fermented milk by bacterial associations of the strains *Streptococcus*, *Lactobacillus* and *Bifidobacterium*. Egypt. J. App. Sci. 21: 2b, 583-598.

Cheng, C. C et Nagasawa, T.1984. Effect of peptides and amino acids produced by *Lactobacillus casei* in milk on the acid production of bifidobacteria. Japanese J. Zootech. Sci., 55: 339-349.

Collado, M.C., Moreno, Y., Cobo, J; M et Hernetez, M.2006. Microbiological evaluation and molecular characterization of bifidobacteria strains in commercial fermented milks. European food research technological. 222: 112-117

Comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie.2011. coordonnateur : Soussy C.J. centre hospitalier universitaire henri mondor. la société française de microbiologie : <http://www.sfm.asso.fr/>

Crociani, F et Matteuzzi, D.1982. Urease activity in the genus *Bifidobacterium*. Ann. Microbiol. 133: 417-423.

Crociani, F., Biavati B., Alessetrini A., Chiarini C. et Scardovi V.1996. *Bifidobacterium inopinatum* sp. nov. and *Bifidobacterium denticolens* sp. nov., two new species isolated from human dental caries. Int. J. Syst. Bacteriol., 46: 564-571.

Cronin, M., Ventura, M., Fitzgerald, G, F., van Sinderen, D.2011. International Journal of Food Microbiology 149: 4-18

D'Aimmo, M.R., Modesto, M., Biavati. B.2007. Antibiotic resistance of lactic acid bacteria and *Bifidobacterium* spp. isolated from dairy and pharmaceutical products. International Journal of Food Microbiology 11:5 35-42

Dave, R.I. et Shah, N.P. 1997. Viability of yoghurt and probiotic bacteria in yoghurts made from commercial starter cultures. International Dairy Journal. 7: 31 -41.

Dave, R.I. et Shah, N.P. 1998. Ingredient supplementation effects on viability of probiotic bacteria in yogurt. J Dairy Sci. 81:2804-2816.

Davies, D. T et Law, A. J. R. 1980. Content and composition of protein in creamy milk in South-West Scotland. Journal of Dairy Research, 47, 83-90.

- De los Reyes-Gavillan C.G., Ruas-Madiedo P., Noriega L., Cuevas I., Sanchez B et Margolles A. 2005.** Effect of acquired resistance to bile salts on enzymatic activities involved in the utilization of carbohydrates by Bifidobacteria. *Lait*. 85: 113-123.
- De Vrese, M., Stegelmann, A., Richter, B., Fenselau, S., Laue, C, et Schrezenmeir J. 2001.** Probiotics - compensation for lactase insufficiency. *American Journal of Clinical Nutrition*. 73 Suppl.:421S-429S.
- De Vries, W., Gerbrey S.J., Stouthamer A.H.1967.** Carbohydrate metabolism in *Bifidobacterium bifidum*. *Biochim. Biophys. Acta*, 136: 415-425.
- De Vries, W. et Stouthamer, A.H. 1968.** Fermentation of glucose, lactose, galactose, mannitol and xylose by bifidobacteria. *Journal of Bacteriology*. 96: 472-478.
- Delcenserie V., China B., Gavini F., Beerens H., Daube G.2002.** Proposition pour un nouveau standard indicateur de la contamination d'origine fécale dans les aliments : le genre *Bifidobacterium*. *Ann. Méd. Vét*, 146: 279-293
- Dellaglio, H., De Roissart, H., Torriani, S., Curk, M.C., Janssens, D.1994.** Caractéristiques générales des bactéries lactiques. In: De Roissart, H., Luquet, F.M. Eds., *Les bactéries lactiques: aspects fondamentaux et technologiques*. Loriga, Uriage, pp. 25-116.
- Desjardins M. L., Roy D. et Goulet J.1990.** Growth of bifidobacteria and their enzyme profiles. *Journal of Dairy Science*.73: 299-307.
- Devriese, L. A., Pot, B et Collins, M.D.1993.** Phenotypic identification of the genus enterococcus and differentiation of phylogenetically distinct enterococcal species and species groups. *Journal of Applied Microbiology*. 75: 399-408.
- Dickson, H. R. P.1951.** *The Arabs of the desert*. Allen and Unwin Ltd., London, G.B.
- Dinakar, P et Mistry, V.V. 1994.** Growth and viability of *Bifidobacterium bifidum* in cheddar cheese. *Journal of Dairy Science*. 77: 2854-2864.
- Dong, X., Xin Y., Jian W., Liu X., Ling D.2000.** *Bifidobacterium thermacidophilum* sp. nov., isolated from an anaerobic digester. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol*. 50: 119-125.
- Donkor, O.N., Heniksson, A., Vasiljevic, T et Shah, N.P. 2006.** Effect of acidification on the activity of probiotics in yoghurt during cold storage. *International Dairy Journal*. 16: 1181-1189
- Dunne, C., O'Mahony, L., Murphy L., Thornton G., Morrissey D., O'Halloran S., Feeney M., Flynn, S., Fitzgerald, G., Daly C., Kiely B., O'Sullivan G.C., Shanahan F et Collins, J.K., 2001.** In vitro selection criteria for probiotic bacteria of human origin: correlation with in vivo findings. *Am J. Clin Nutr*. 73 Suppl2, 386-392.
- Dziezak, J.D. 1988.** Microencapsulation and encapsulated ingredients. *Food Technology*. 42: 136-151.
- Eaton, T.J., Gasson M.J. 2001.** Molecular screening of Enterococcus virulence determinants and potential for genetic exchange between food and medical isolates. *Appl. Environ. Microbiol*. 67, 1628-1635.
- Eckburg, P. B., E. M. Bik, C. N. Bernstein, E. Purdom, L. Dethlefsen, M. Sargent, S. R. Gill, K. E. Nelson, et D. A. Relman. 2005.** Diversity of the human intestinal microbial flora. *Science* 308:1635-8.
- Eggmann, B. et Bachmann M.1980.** Purification and partial characterization of an aminopeptidase from *Lactobacillus lactis*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 40: 876-882.
- Eigel, W.N., Butter J.E., Ernstrom C.A., Farrell J.R., Harwalkar V.R., Jenness R. et MC Whitney L. R. 1984.** Nomenclature of proteins of cow's milk; fifty revision. *Journal of Dairy Science*. 67, 1599-1631.
- El-abassy F. et Wahba H. 1986.** Studies on camel pepsin 2-manufacture of Domiati cheese with camel pepsin. *Egyptian J. Dairy Sci.*, 14, 187-194.

- El-Agamy, E.I.2000.** Effect of heat treatment on camel milk proteins with respect to antimicrobial factors: a comparison with cows' and buffalo milk proteins. *Food Chemistry*, 68, 227-232.
- El-Agamy, E.I., Abou-Shloue, Z. I et Abdel-Kader, Y. I.1998.** Gel electrophoresis of proteins, physicochemical characterization and vitamin C content of milk of different species. *Alexandria Journal of Agricultural Research*, 43, 57-70.
- El-Agamy, E.I., Nawar, M., Shamsia, S. M., Awad, S et Haenlein, G. F. W.2009.** Are camel milk proteins convenient to the nutrition of cow milk allergic children? *Small Ruminant Research*, 82, 1-6.
- El-Agamy, E. I., Ruppanner, R., Ismail, A., Champagne, C. P et Assaf, R.1992.** Antibacterial and antiviral activity of camel milk protective proteins. *Journal of Dairy Research*, 59, 169-175.
- El-Agamy, E. I., Ruppanner, R., Ismail, A., Champagne, C. P et Assaf, R.1996.** Purification and characterization of lactoferrin, lactoperoxidase, lysozyme and immunoglobulins from camel's milk. *International Dairy Journal*, 6, 129-145.
- Elamin, F. M et Wilcox, C. J. 1992.** Milk composition of Majaheim camels. *Journal of Dairy Science*, 75, 3155-3157.
- El-batawy M.A., Amer S.N. et Ibrahim S.A.1987.** Camel Abomasum as a source of rennet substitute. *Egyptian J. Dairy Sci.*, 15, 93-100.
- Ellouze, S et Kamoun, M.1989.** Evolution de la composition du lait de dromadaire en fonction du stade de lactation. *Options Méditerranéennes, CIHEAM*, n° 6, 307-311.
- El-Soda, M., Macedo A. et Olson N. F.1992.** The peptide hydrolase system of *Bifidobacterium* species. *Milchwissenschaft*, 472: 87-90.
- FAO. 2008.** Camel milk. Retrieved from. <http://www.fao.org/ag/againfo/themes/en/dairy/camel.html>.
- FAO/WHO.2001.** Evaluation of health and nutritional properties of powder milk and live lactic acid bacteria. Cordoba, Argentina: Food and Agriculture Organization of the United Nations and World Health Organization Expert Consultation Report, 1-34.
- Farag, S. I et Kabary, K. M. 1992.** Chemical composition and physical properties of camel's milk and milk fat. In *Proceedings of the 5th Egyptian conference on dairy science and technology*. Cairo, Egypt: Egyptian Society of Dairy Sciences.
- Farah Z., Streiff T. et Bachman M.R. 1989.** Manufacture and characterization of camel milk butter. *Milchwissenschaft*, 44, 412- 416.
- Farah, Z. et Bachman, M.R. 1987.** Rennet coagulation properties of camel milk. *Milchwissenschaft*, 42, 689-692.
- Farah, Z. 1986.** Effect of heat treatment on whey proteins of camel milk. *Milchwissenschaft*, 41, 763-765.
- Farah, Z et Atkins, D. 1992.** Heat coagulation of camel milk. *Journal of Dairy Research*, 59, 229e231.
- Favier, C.F.; Vaughan, E.E.; De Vos, W.M.; Akkermans, A.D.L. 2002.** Molecular monitoring of succession of bacterial communities in human neonates. *Appl. Environ. Microbiol.* 68, 219.
- Felis, G, E., Dellaglio, F., Torriani, S.2009.** Taxonomy of Probiotic Microorganisms. In *Prebiotics and Probiotics Science and Technology*. Volume 1, pp: 592- 637. Dimitris Charalampopoulos, Robert A. Rastall Eds. Springer.
- Fenaro S., Chierici R., Guerrini P et Vigi V.2003.** Intestinal microflora in early infancy: composition and development. *Acta paediatr.* 92: 48-55.

- Ferraris, L., Aires, J., Waligora-Dupriet, A-J; Butel, M-J. 2010.** New selective medium for selection of bifidobacteria from human feces. *Anaerobe*.16:469-471
- Fooks, L.J., Fuller, R et Gibson, G.R. 199.** Prebiotics, probiotics and human gut microbiology. *International Dairy Journal*. 9: 53-61 .
- Frank AMK., Kegma F, et Weerkamp HA.1993.** Growth and survival of bifidobacteria in milk. *Neth. Milk. Dairy.J.* 47: 151-164.
- Gagnon M, Kheadr E, Gwenaelle LB et Fliss I.2004.** In vitro inhibition of *E. coli* 0157:H7 by bifidobacterial strains of human origin. *Int. J. Food. Microbiol*, 92: 69-78.
- Garvie, E.I. 1984.** Separation of species of the genus *Leuconostoc* and differentiation of the *Leuconostoc*'s from other lactic acid bacteria, in *methods in Microbiol.*Bergan, T.Ed, Vol 16, Academic Press, New York.147-177
- Gast, M., Maubois, J.L. et Adda, J. 1969.** Le lait et les produits laitiers en Ahagar, Centr. Rech. Anthr. Préhist. Ethn.Paris, France
- Gavini, F., Pourcher A.M., Bahaka D., Frenay J., Romond C., et Izard D. 1990.** Le genre *Bifidobacterium*. Classification, identification, aspects critiques. *Méd. Mal. Infect.* 20 : 53-62.
- Girardet, J.M., Saulnier F., Gaillard J.L., Ramet J.P. et Humbert G. 2000.** Camel *Camelus dromedarius* milk PP3: evidence for an insertion in the amino-terminal sequence of the camel milk whey protein. *Biochem. Cell. Biol.*, 78, 19-26.
- Gnan S.O., Mohamed M.O., Shereha A.M. et Iwegbe A.O.1994.** Antimicrobial activity of camel's milk. *Actes du Colloque : "Dromadaires et chameaux animaux laitiers"*, 24- 26 octobre, Nouakchott, Mauritanie.
- Gnan, S. O et Sherida, A. M. 1986.** Composition of Libyan camel's milk. *Australian Journal of Dairy Technology*, 3, 33-35.
- Gomes A.M.P et Malcata F.X, 1999.** *Bifidobacterium* spp and *Lactobacillus acidophilus*: biological, biochemical, technological and therapeutical properties relevant for use as probiotics. *Trends Food. Sci. Technol* 10: 139-157.
- Grill, J.P., Crociani, J et Ballongue, J. 1995.** Characterization of fructose 6-phosphate phosphoketolase purified from *Bifidobacterium* species. *Current Microbiology*. 31: 49-54
- Gueimonde M, et Salminen S. 2006.** New methods for selecting and evaluating probiotics. *Dig Liver Dis.* 38: S242-S247.
- Gueimonde, M., S. Tolkkio, T. Korpimaki, et S. Salminen. 2004.** New real-time quantitative PCR procedure for quantification of bifidobacteria in human fecal samples. *Appl Environ Microbiol* 70:4165-9.
- Guessas. B. 2006.** Les potentialités métaboliques des bactéries lactiques isolées du lait cru de chèvre dans le biocontrôle de *Staphylococcus aureus*. Thèse doctorat d'état. Université d'Oran.
- Hadadji M. et Bensoltan A.2006.** Growth and lactic acid production by *Bifidobacterium longum* and *Lactobacillus acidophilus* in goat's milk. *A.J.B.*, 56: 505-509.
- Hadadji M., Benaama R., Saidi N., Henni, D. E et kihal, M. 2005.** identification of cultivable *bifidobacterium* species isolated from breast-fed infants feces in west-Algeria. *African journal of biotechnology* vol. 4 5: 422430.
- Haddadin, M. S. Y., Gammoh, S. I et Robinson, R. K. 2008.** Seasonal variations in the chemical composition of camel milk in Jordan. *Journal of Dairy Research*, 75, 8e12.
- Al-Haj, O, A., Al-Kanhal, H, A., 2010.** Compositional, technological and nutritional aspects of dromedary camel milk. *International Dairy Journal*. 20: 811-821

Hamilton-Miller, J. M. T. 2003. The rôle of probiotic in the treatment and prévention of *Helicobacter pylori* infection. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 22:360- 366.

Harmsen, H. J. M., Wildeboer-Veloo, G. C. Raangs, A. A. Wagendorp, N. Klijn, J. B. Bindels, et G. W. Welling.2000. Analysis of intestinal flora development in breastfed and formula-fed infants by using molecular identification methods. *J. Pediatr. Gastroent. Nutr.* 30:61-67.

Hashim, I. B., Khalil, A. H et Habib, H.2008. Quality and acceptability of a setyoghurt made from camel milk. *Journal of Dairy Science*, 92, 857-862.

Hatanaka, M., T. Tachiki, H. Kumagai, et T. Tochikura. 1987. Distribution and some properties of glutamine syntetase and glutamine dehydrogenase in bifidobacteria. *Agric. Biol. Chem.* 51:251-257.

He, T., Priebe, M.G., Zhong, Y., Huang, C., Harmsen, H.J.M., Raangs, G.C., Antoine, J.M., Welling, G.W., Vonk, R.J.2007. Effects of yogurt and bifidobacteria supplementation on the colonic microbiota in lactose-intolerant subjects. *Journal of Applied Microbiology* 104, 595-604.

Heyman, M., Heuvelin, É. 2006. micro-organismes probiotiques et régulation immunologique : le paradoxe. *Nutrition clinique et métabolisme*. 20 : 85-94

HolletN, D, F. 1920. Generic index of the commoner forms of bacteria. *J. Bacteriol.*, 5: 215- 229.

Holzapfel, W, H., Haberer P., Snel J., Schillinger U et Huis in't Veld J. H. J.1998. Overview of gut flora and probiotics. *International Journal of Food Microbiology*, 41, 85-101.

Holzapfel, W,H, et Schillinger U.2002. Introduction to pre- and probiotics. *Food Res Int.* 35: 109-116.

Holzapfel WH, Haberer P, Geisen R, Björkroth J, Schillinger U.2001. Taxonomy and important features of probiotic microorganisms in food and nutrition. *Am J Clin Nutr.* 73: 365S-373S.

Hooper L. V et Gordon J. I.2001. Commensal host-bacterial relationships in the gut. *Science*, 292, 1115-1118.

Hotta, M., Sato, S., et Iwata, N.1987. Clinical effects of *Bifidobacterium* préparations on pédiatrie intractable diarrhoea. *Keio Journal of Médecine*. 36:298-314.

Ishibashi, N., Yamazaki, S.2001. Probiotics and safety. *Am J. Clin Nutr.* 73, 465-470.

Janer, C., Pela' ez, C., et Requena, T. (2004). Caseinomacropéptide and whey protein concentrate enhance *Bifidobacterium lactis* growth in milk. *Food Chemistry*, 86, 263-267.

Jardali-maatouk, Z.1991. Comparaison de la composition en caséines et de l'aptitude fromagère du lait de vache et du lait de dromadaire. Thèse de Doctorat de l'INPL de Nancy, France.

Jardali-Maatouk Z. 1994. Comparaison de la composition en caséines et de l'aptitude fromagère du lait de vache et du lait de dromadaire. Thèse de Doctorat de l'INPL de Nancy, France.

Jian, W., Zhu, L., Dong X. 2001. New approach to phylogenetic analysis of the genus *Bifidobacterium* based on partialHSP60 gene sequences. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 51: 1633-1638.

Jian, W et X. Dong.2002. Transfer of *Bifidobacterium inopinatum* and *Bifidobacterium denticolens* to *Scardovia inopinata* gen. nov., comb. nov and *Parascardovia denticolens* gen. nov., comb. nov., respectively. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 52:809-812.

Kagnoff, M. F et Eckmann, L. 1997. Epithelial cells as sensors for microbial infection. *Journal of Clinical Investigation*, 100, 6-10.

- Kamoun, M. 1995.** Le lait de dromadaire : production, aspects qualitatifs et aptitude à la transformation. Options méditerranéennes, Séries séminaires, 13: 81-103.
- Kamoun, M. et Ramet, J.P.1989.** Evolution de la composition du lait de dromadaire en fonction du stade de lactation. Options Méditerranéennes, CIHEAM, 6 :229-231
- Kappeler, S., Farah, Z et Puhan, Z. 1998.** Sequence analysis of Camelus dromedaries milk caseins. Journal of Dairy Research, 65, 209e222.
- Kappeler, S., Farah, Z et Puhan, Z. 1999.** Alternative splicing of lactophorin Mrna from lactating mammary gland of the camel Camelus dromedarius. Journal of Dairy Science, 82, 2084-2093.
- Kappeler, S., Farah, Z et Puhan, Z. 2003.** 50-Flanking regions of camel milk genes are highly similar to homologue regions of other species and can be divided into two distinct groups. Journal of Dairy Science, 86, 498-508.
- Karue, C. N.1998.** The dairy characteristics of the Kenyan camel. In P. Bonnet Ed., Actes du colloque, Dromadaires et chameaux, animaux laitiers/Dromedaries and camels, milking animals pp. 55e60. Nouakchott, Mauritania : CIRAD Publishing.
- 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, 164-166.
- Kiwaki, M et Sato, T. 2009 .**Antimicrobial susceptibility of *Bifidobacterium breve* strains and genetic analysis of streptomycin resistance of probiotic *B. breve* strain Yakult. International Journal of Food Microbiology 134: 211-215
- Klaenhammer, T, R, et Kullen, M, J. 1999.** Selection and design of probiotics. Int J Food Microbiol. 50: 45-57.
- Klaver, F, A, M., F. Kingma, et A. H. Weerkamp.1993.** Growth and survival of bifidobacteria in milk. Neth. Milk Dairy J. 47: 151-164
- Klein, G, A., Pack, C., Bonaparte, et G. Reuter.1998.** Taxonomy and physiology of probiotic lactic acid bacteria. Int. J. Food Microbiol. 41:103-125.
- Kneifel, W., Jaros, D et Erhard, F.1993.**Microflora and acidification properties of yogurt and yogurt-related products fermented with commercially available starter cultures. Int. J. Food Microbiol. 18: 179-189.
- Knoess, K. H., Makjdun, A. J., Rafiq, M et Hafeez, M. 1986.** Milk production potential of the dromedary with special reference to the province of Punjab. World Animal Review, 57, 11-21.
- Konuspayeva, G., Faye, B et Loiseau, G. 2009.** The composition of camel milk: a meta-analysis of the literature data. Journal of Food Composition and Analysis, 22, 95-101.
- Konuspayeva, G., Faye, B., Loiseau, G et Levieux, D.2007.** Lactoferrin and immunoglobulin contents in camel's milk Camelus bactrianus, Camelus dromedarius, and hybrids from Kazakhstan. Journal of Dairy Science, 90, 38-46.
- Kushiro, A., Chervaux, C., Cools-Portier, S., Perony, A., Legrain-Raspaud, S., Obis, D., Onou, M., van de Moer, Ariane.2009.** Antimicrobial susceptibility testing of lactic acid bacteria and bifidobacteria by broth microdilution method and Etest. International Journal of Food Microbiology 132 : 54-58
- Lamoureux, L.2000.** Exploitation de l'activité galactosidase de cultures de bifidobactéries en vue d'enrichir des produits laitiers en galacto-oligosaccharides. mémoire fin d'études supérieures pour l'obtention du grade de maître ès sciences (M.Sc.).université laval.canada.
- Larpent J. P., et Larpent MG. 1990.** Memento technique de microbiologie. Second Ed. Technique et Documentaire Lavoisier. 417 p.

- Larpen J. P., Copin M.P., Germonville A., Jacquet M. Et Thetas, J, L. 1997.** Microbiologie du lait et des produits laitiers ; in : « Microbiologie alimentaire ». ed. Larpen, Tec. Doc., 1ère Ed., Lavoisier, Paris.
- Lauer, E. et Ketler, O. 1976.** Mechanismus der variation des Verhältnisses Acetat/ Lactat bei Verganung von Glucose durch Bifidobacterien. Arch. Mikrobiol.
- Leahly, S.C., Higgins DG., Fitzgerald, G.F et Van Sinderen, D. 2005.** Getting better with bifidobacteria. J. Appl. Microbiol, 98: 1303-1315.
- Lee, Y, H., Park, J, H., Seik, S,H., Cho, S,A., Beak, M, W., Kim, C,J.2004.** Dietary intake of various lactic acid bacteria suppresses type 2 helper T cell production in antigen-primed mice splenocyte. J. Microbiol. Biotech, 14: 167-170.
- Lee, J,H., O'Sullivan, D,J. 2010.** Genomic insights into bifidobacteria. Microbiology and Molecular Biology Reviews 74, 378-416.
- Lee, Y. J., Yu, W.-K., et Heo, T.R.2003.** Identification and screening for antimicrobial activity against *Clostridium difficile* of *Bifidobacterium* and *Lactobacillus* species isolated from health infant faeces. International Journal of Antimicrobial Agents. 21:340-346
- Lehmann, K. B. et Neumann, R, O. 1927.** Bakteriologie insbesondere Bakteriologische Diagnostik, Chapter 7. Allgemeine und spezielle Bakteriologie, vol. 2.
- Lilly, D.M. et Stillwell, R, H. 1965.** Probiotics: Growth-promoting factors produced by microorganisms. Science.147: 747-748.
- Mättö, J., Malinen, E., Suihko, M.-L., Aleter, M., Palva, A., Saarela, M., 2004.** Genetic heterogeneity and functional properties of intestinal bifidobacteria. Journal of Applied Microbiology 97, 459-470.
- Mättö, J., van Hoek, A.H.A.M., Domig, K.J., Saarela, M., Floréz, A.B., Brockmann, E., Amtmann, E., Mayo, B., Aarts, H.J.M., Danielsen, M., 2007.** Susceptibility of human and probiotic *Bifidobacterium* spp. to selected antibiotics as determined by the Etest method. International Dairy Journal 17, 1123-1131.
- Magjeed, N. A. 2005.** Corrective effect of milk camel on some cancer biomarkers in blood of rats intoxicated with aflatoxin B1. Journal of the Saudi Chemical Society, 9, 253-263.
- Mahi M., Yagoubi A., Rouissat L., Tabak S, Medouakh L. et Bensoltane A. 2006.** Growth, viability and acidifying activity of bifidobacteria in goat's milk. Egypt. J. App. Sci. 21: 3, 248-261.
- Mangin I., Bouhnik Y., Bisetti N., Descaris B., 1999.** Molecular monitoring of human intestinal *Bifidobacterium* strain diversity. Res. Microbiol., 150: 343-350.
- Marchal N., Bourdon J. L., et Richard C.L., 1991.** Les milieux de culture pour l'isolement et l'identification biochimique des bactéries. Ed. Doin. P. 65-149.
- Marteau, P et Shanahan, F.2003.** Basic aspects and pharmacology of probiotics: an overview of pharmacokinetics, mechanisms of action and side effects. Best Practices and Research Clinical Gastroenterology, 17: 725-740.
- Masco, L., Ventura, M., Zink, R., Huys, G et Swings, J. 2004.** Polyphasic taxonomic analysis of *Bifidobacterium animalis* and *Bifidobacterium lactis* reveals relatedness at the subspecies level: reclassification of *Bifidobacterium animalis* as *Bifidobacterium animalis* subsp. *animalis* subsp. nov. and *Bifidobacterium lactis* as *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* subsp. nov. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 54, 1137-1143.
- Masco, L., Van Hoorde, K., De Brett, E., Swings, J., et Huys, G.2006.**Antimicrobial susceptibility of *Bifidobacterium* strains from humans, animals and probiotic products. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 58, 85-94.
- Matsuki, T., K. Watanabe, J. Fujimoto, Y. Kado, T. Takada, K. Matsumoto, et R. Tanaka. 2004.**

Quantitative PCR with 16S rRNA-Gene-targeted species-specific primers for analysis of human intestinal bifidobacteria. *Appl Environ Microbiol* 70:167-73.

Matsuki, T., K. Watanabe, R. Tanaka, M. Fukuda, et H. Oyaizu. 1999. Distribution of bifidobacterial species in human intestinal microflora examined with 16S rRNA-gene-targeted species-specific primers. *Appl Environ Microbiol* 65:4506-12.

Matsumoto, M et Benno Y., 2004. Consumption of *Bifidobacterium lactis* LKM512 yogurt reduces gut mutagenicity by increasing gut polyamine contents in healthy adult subjects. *Mutation Research*, 568, 147-153.

Matsumoto, M., Ohishi H. et Benno Y. 2004 .H⁺-ATPase activity in *Bifidobacterium* with special reference to acid tolerance. *Int. J. Food Microbiol.*, 93:109-113

Mc-Cracken, V. J et Lorenz R. G.2001. The gastrointestinal ecosystem: a precarious alliance among epithelium, immunity and microbiota. *Cellular Microbiology*, 3, 1-11

Mehaia, M. A., Hablas, M. A., Abdel-Rahman, K. M., et El-Mougy, S. A. 1995. Milk composition of Majaheim, Wadah and Hamra camels in Saudi Arabia. *Food Chemistry*, 52, 115-122.

Mehaia, M,A. 1993a. Fresh soft white cheese Domiati type from camel milk; composition, yield and sensory evaluation. *J. Dairy Sci.*, 6, 2845-2855.

Mehaia, M, A. 1993b. Composition, yield and organoleptic evaluation of the fresh Domiati cheese made from a mixture of camel and cow Milk. *Aust J. Dairy Techn.* 48, 74-77.

Mehaia, M, A. 1994. Effect of milk and calcium concentration and pH on rennet coagulation time of UF camel milk. *Egyptian J. Dairy Sci.*, 22, 297-306.

Mehaia, M, A., Hablas, M. A., Abdel-Rahman, K. M et El-Mougy, S. A. 1995. Milk composition of Majaheim, Wadah and Hamra camels in Saudi Arabia. *Food Chemistry*, 52: 115-122.

Meile, L., Ludwig, W., Rueger, U., Gut, C., Kaufmann, P., Dasen, G., Wenger, S. et Teuber, M. 1997. *Bifidobacterium luctis* sp. nov., a moderately oxygen tolerant species isolated from fermented milk. *Systematic and Applied of Microbiology*. 20: 57-64.

Mercenier, A., Pavan S et Pot B.2002. Probiotics as biotherapeutic agents: Present knowledge and future prospects. *Current Pharmaceutical Design*, 8, 99-110.

Meyer, J et Jordi R. 1987. Purification and characterization of Xprolyl- dipeptidyl aminopeptidase from *Lactobacillus lactis* and from *Streptococcus thermophilus*. *J. Dairy Sci.*, 70: 738-745.

Minagawa, E., Kaminogawa, S., Tsukasaki F., Motoshima H. et Yamauchi K. 1985. Exopeptidase profiles of bifidobacteria. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* 31:599-606.

Mital, B, K et Garg, S.K. 1992. Acidophilus milk products: Manufacture and therapeutics. *Food Reviews International*. 83: 347-389.

Mitsuoka, T. 1984. Taxonomy and ecology of bifidobacteria. *Bifidobacteria Microflora*, 3: 11-28.

Modler, H .W et Villa-Garcia, L. 1993. The growth of *Bifidobacterium longum* in a whey-based medium and viability of this organism in frozen yogurt with low and high levels of developed acidity. *Cultured Dairy Product Journal*. 281: 4-8.

Modler, H .W., McKellar, R.C. et Yaguchi, M.1990. Bifidobacteria and bifidogenic factors. *Canadian Institute of Food Science and Technology Journal*. 23(1): 29-41.

Mohamed, M. A et Larsson-Raznikiewicz, M.1990. Hard cheese from camel milk. *Milchwissenschaft*, 45, 716-718.

Molder, H., Mckellar R.C., et Yaguchi A., 1990. Bifidobacteria and bifidogenic factors. *Rev. inst.food*

sci. technol. 23: 1. 29-41.

Moroni, O. 2007. Contribution à l'étude du rôle des probiotiques dans le contrôle et la prévention des infections entériques à *Listeria monocytogenes* : analyse in vitro et études in vivo des mécanismes d'action antimicrobien. Thèse de doctorat en sciences et technologie des aliments pour l'obtention du grade de Philosophiae Doctor(Ph.D). Faculté des études supérieures de l'université Laval. Canada

Murti.T.W., Roger, S. Bouillanne.C., Leton, M. et Desmazeaud, M. 1992. Croissance de *Bifidobacterium* sp CNRZ 1494 dans l'extrait de soja et le lait de vaches, effets sur des composés aromatiques. Science des Aliments.: 1 23 : 429-439.

Nannizzi A. 1934. Repertio sistematico dei miceti dell'uomo e degli animali. Pollacci G.ed., Tratto di Micopathologia Umana Sienna 4:13.

Ochirkhuyag B., Chobert J.M., Dagalarrondo M., Choiset Y. et Haertle T. 1997. Characterization of caseins from Mongolian yak , Khainak and Bactria camel. Lait, 77, 601-613.

Ochirkhuyag, B., ChoiberT, J.M., Dagalarrondo, M., Choiset, Y et Haertle, T., 1998. Characterization of whey proteins from Mongolian yak, Khainak and Bactrian camel. J. Food Biochem. 22, 105-124.

Olsen E. 1949. Studies on the intestinal flora of infants. Ejnar Munksgaard, Copenhagen.

Orla-Jensen, S. 1924. La classification des bactéries lactiques. Lait. , 4: 468-474.

Østlie, H. M., Hellet, M. H., et Narvhus, J. A. (2003). Growth and metabolism of selected strains of probiotic bacteria in milk. International Journal of Food Microbiology, 87, 17–27.

Ouoba, L. I. I., Lei, V., Jensen, L. B. 2008. Resistance of potential probiotic lactic acid bacteria and bifidobacteria of African and European origin to antimicrobials: Determination and transferability of the resistance genes to other bacteria. International Journal of Food Microbiology 121 : 217-224

Ouwehet A. C et Vesterlund S., 2003. Health aspects of probiotics. Drugs, 6, 573-580.

Ouwehet AC, Salminen S, Isolauri E. 2002. Probiotics: an overview of beneficial effects. Anton Leeuw. 82: 279-289.

Palmer, C, E. M. Bik, D. B. Digiulio, D. A. Relman, et P. O. Brown.2007. Development of the Human Infant Intestinal Microbiota. PLoS Biol 5: 1 77.

Papadimitriou, C. G., Vafopoulou-Mastrojiannaki A., Silva S. V. Gomes A-M., Malcata F. X. et Alichanidis E.2007. Identification of peptides in traditional and probiotic sheep milk yoghurt with angiotensin I-converting enzyme ACE-inhibitory activity. Food Chem., 105: 647-656.

Patel, J.R., Dave.R.1.. Sannabhatti, S.S. et Dave, J.M.1991. Use of bifidobacteria in fermented dairy products. Indian Dairyman. : 434: 181 -1 85.

Payne, J.F, Morris AEJ et Beers P.1999. Evolution of selective media for the enumeration of *bifidobacterium* sp in milk. Journal of Applied Microbiology; 86: 353-35

Piquet, M.-A, R. Gloro, A.-M. Justum, J.-M. Reimund.2007. Les probiotiques, des outils thérapeutiques pour moduler les effets biologiques de la flore intestinale: une introduction. Springer Obes. 2: 227-233.

Pokusaeva, K., Fitzgerald, G, F., van Sinderen, D.2011. Carbohydrate metabolism in Bifidobacteria. Genes Nutr 6:285-306

Prescott, L. M, Harley. J. P, Klein. D. A, Bacq-Calberg C-M, Dusart. J. 2003. Microbiologie. Deboeck.

Pribram, E. 1929. A contribution to the classification of microorganisms. J. Bacteriol., 18: 361-394.

Puntoni, V. 1937. Sulle relazioni fra il b. bifido gli attinomiceti anaerobi tipo Wolff-Israel. Ig. Sper. , 47:

157-168.

Quan, S., Tsuda, H et Miyamoto, T. 2008. Angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptides in skim milk fermented with *Lactobacillus helveticus* 130B4 from camel milk in Inner Mongolia, China. Journal of the Science of Food and Agriculture, 88, 2688-2692.

Ramet, J. P. 2001. The technology of making cheese from camel milk (*Camelus dromedary*). Animal Production and Health Paper. No. 113. Rome, Italy: F.A.O.

Ramet, J.P. 2003. Aptitude à la conservation et à la transformation fromagère du lait de chamelle. Atelier Int. sur le lait de chamelle en Afrique. FAO-CIRAD-KARKARA, Niamey Niger, pp 93

Ramet, J. P. 1985. Study of enzymatic coagulation of camel milk in Saudia-Arabia. Mission Report, FAO, 1-73.

Ramet J. P.1991. La transformation en fromage du lait de dromadaire. Rev. Mond. Zootech., 67, 21-28.

Ramet, J. P.1990. Processing of dairy products from camel milk in Saudi-Arabia. Mission report FAO, 1-44, FAO, Rome, I.

Ramet, J. P.1994. Les aspects scientifiques et technologiques particuliers de la fabrication de fromage au lait de dromadaire. Actes du Colloque : "Dromadaires et chameaux animaux laitiers", 24-26-octobre, Nouakchott, Mauritanie.

Rao, M. B., Gupta, R. C et Dastur, N. N. 1970. Camel milk and milk products. Indian Journal of Dairy Science, 23, 71e78.

Rasic, J. Lj. et Kurmann, J. A. 1983. Bifidobacteria and their role. Microbiological, nutritional-physiological, medical and technological aspects and bibliography. Birkhauser Verlag ed. Basel, Boston, Stuttgart:

Reddy, B.S. 1998. Prevention of colon cancer by pre- and probiotics: Evidence from laboratory studies. Brit. J. Nutr. (80 suppl.2):S219-S223.

Reilly, S, S., Gillilet SE 1999. *Bifidobacterium longum* survival during frozen and refrigerated storage as related to pH during growth. J Food Sci 64:714-718

Romond M. B., Romond, C., Izard D in Hermier J., Lenoir J et Weber F 1992. Les groupes microbiens d'intérêt laitiers. Ed. Tec et Doc. Paris. 61-80

Roy, D., Dussavlt, F. et Ward, P. 1990. Growth requirements of Bifidobacfen'um strains in milk. Milchwissenschaft: 458: 500-502.

Ruas-Madiedo, P., Hernández-Barranco, A., Margolles, A., de los Reyes-Gavilán, C.G., 2005. A bile salt-resistant derivative of *Bifidobacterium animalis* has an altered fermentation pattern when grown on glucose and maltose. Applied and Environmental Microbiology 71, 6564-6570.

Rudi, K., M. Zimonja, B. Kvenshagen, J. Rugtveit, T. Midtvedt, et M. Eggesbo. 2007. Alignment-independent comparisons of human gastrointestinal tract microbial communities in a multidimensional 16S rRNA gene evolutionary space. Appl Environ Microbiol 73:2727-34.

Russell, D, A., Ross, R, P., Fitzgerald, G, F et Stanton C., 2011. Journal of Food Microbiology 149 : 88-105

Saarela, M., Mogensen G, Fonden R, Mättö J, Mattila-Setholm T. 2000. Probiotic bacteria: safety, functional and technological properties. J Biotechnol. 84: 197-215.

Saavedra, J. M., Bauman, N. A., Oung, I., Perman, J. A., et Yolken, R. H. 1994. Feeding of *Bifidobacterium bifidum* and *Streptococcus thermophilum* to infants in hospital for prévention of diarrhoea and shedding of rotavirus. Lancet. 344:1046-1049.

- Samelis, J., Maurogenakis, F. et Metaxopoulos, J., 1994.** Characterization of lactic acid bacteria isolated from naturally fermented greek dry salami. *Int. J. Food. Microbiol.* 23, 179-196.
- Seters, M, E.1998.** Development of consumer probiotics for the US market. *Brit. J. Nutr.*80 (suppl. 2) :S213-S218.
- Sawaya, W. N., Khalil, J. K., Al-Shalhat, A et Al-Mohammad, H. 1984.** Chemical composition and nutritional quality of camel milk. *Journal of Food Science*, 49, 744-747.
- Scardovi, V. 1986.** Genus *Bifidobacterium* Orla-Jensen 1924, 472^{al}. In: Sneath P.H.A., Mair N.S., Sharpe M.E., Holt J.G., eds, *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Vol. 2, Williams and Wilkins, Baltimore, pp. 1418-1434.
- Scardovi, V et Trovatelli L.D. 1965.** The fructose-6-phosphate shunt as peculiar pattern of hexose degradation in the genus *Bifidobacterium*. *Ann. Microbiol. Enzimol.* , 15:19-29.
- Scardovi, V., Trovatelli L.D., Biavati B., Zani G.1979.***Bifidobacterium cuniculi*, *Bifidobacterium choerinum*, *Bifidobacterium boum*, and *Bifidobacterium pseudocatenulatum* : four new species and their deoxyribonucleic acid homology relationships. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 29: 291-311.
- Scardovi, V., L. D. Trovatelli, et G. Zani. 1971.** Deoxyribonucleic acid homology relationships among species of the genus *Bifidobacterium*. *Int J Syst Bacteriol* 21:276-94.
- Scardovi, V. 1981.**The genus *Bifidobacterium*: The Prokaryotes. A handbook on habitats, isdation and identification of bacteria. Springer Verlag, New- York, États-unis.
- Scheinbach, S. 1998.** Probiotics: Functionality and commercial status. *Biotechnol. Adv.* 1658 1-608.
- Schell, M, A., karmirantzou, M., Snel, B, Vilanova, D., Berger, B., Pessi, G., Wahlen, M,C., Desiere, F., Bork, P., Delly, M., Primore, R,D., Arigoni, F. 2002.** The genom sequence of *Bifidobacterium longum* reflects its adaptation to the human gastrointestinal tract. *Proc natl acad sci usa* 99 : 14422-14427.
- Schuler-Malyoth, R., Ruppert, A. et Müller, F. 1968.** A survey of the theoretical and practical principles of using bifidus cultures in the dairy industry. II. Technology of the bifidus culture in the milk processing factory. *Milchwissenschaft*: 239: 554-558.
- Sebald, M., Gasser, F, et Werner, H. 1965.** DNA base composition and classification. Application to group of bifidobacteria and to related genera. *Ann. Inst. Pasteur.* 109:SS 1-269.
- Sgorbati, B., Scardovi V. et LeBlanc D.J. 1982.** Plasmids in the genus *Bifidobacterium*. *J. Gen. Microbiol.* 128: 2121-2131.
- Shah, N. P. 2000.** Probiotic bacteria: Selective enumeration and survival in dairy foods. *J.Dairy Sci.*, 83(4) : 894-907.
- Shah, N.P. 1997.** Bifidobacteria: Charactiristics and potentiel for application in fermented milk products. *Milchwissenschaft.*52 (1): 16-21.
- Shihata, A et Shah, N.P. 2000.** Proteolytic profiles of yogurt and probiotic bacteria *Int. Dairy J.*, 10: 401-408.
- Simpson, P. J., R. P. Ross, G. F. Fitzgerald, et C. Stanton. 2004.** *Bifidobacterium psychraerophilum* sp. nov et *Aeriscardovia aeriphila* gen. nov., sp. nov., isolated from a porcine caecum. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 54:401-406.
- Solís, G., delosReyes-Gavilan, C.G., Fernández, N., Margolles, A., Gueimonde, M.2010.** Establishment and development of lactic acid bacteria and bifidobacteria Microbiota in breast-milk and the infant gut. *Anaerobe* 16 : 307-310.
- Stackebrett, E., Rainey F.A. et Ward-Rainey N.L.1997.** Proposal for a new hierarchic classification system, *Actinobacteria classis nov.* *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 47:4479- 4491.

- Stanton, C., Ga Gardiner, P.B. Lynch, et K. Collins, G o Fitzgerald, et RP. Ross.1998.** Probiotic cheese. *Int. Dairy Journal*. 8:491-496.
- Suau, A., R. Bonnet, M. Sutren, J. J. Godon, G. R. Gibson, M. D. Collins, et J. Dore. 1999.** Direct analysis of gènes encoding 16S rRNA from complex communities reveals many novel molecular species within the human gut. *Appl Environ Microbiol* 65 :(4)799-807.
- Tamime, A.Y., Marshall V.M.E. et Robinson R. K.1995.** Microbiological and technological aspects of milks fermented by bifidobacteria. *J. Dairy. Res.* 62 : 151-187.
- Tamura, Z. 1983.**Nutriology of bifidobacteria. *Bifidobacteria and Microflora*; 21: 3-1 6.
- Tanaka, H., Hashiba, H., kock, j et Mierau, I., 2000.** Bile salt hydrolase of *Bifidobacterium longum*. Biochemical and genetic characterisation. *Appl. Env. Microbiology*. P.2502-2512. vol. 66, N°6.
- Tannock, G.W. 1999.** Identification of lactobacilli and bifidobacteria. *Current Issues in Molecular Biology* 1, 53-64.
- Tavan, E, Cayuela, C., Antoine, J, M., Trugnan, G ., Chaugier, C., Casset, P.2002.** Effects of dairy products on heterocyclic aromatic amine-induced rat colon carcinogenesis. *Carcinogenesis* 233 : 477-83.
- Tissier, H. 1900.** Recherches sur la flore intestinale état normal et pathologique des nourissons. Thèse de doctorat. Univenité de médecine. Paris. France. 1-253.
- Turroni, F., van Sinderen, D., Ventura, M., 2011.**Genomics and ecological overview of the genus *Bifidobacterium*. *International Journal of Food Microbiology* 149: 37-44
- Ventura, M., D. van Sinderen, G. F. Fitzgerald, et R. Zink.2004.** Insights into the taxonomy, genetics and physiology of bifidobacteria. *Antonie Van Leeuwenhoek* 86:205-223.
- Via-franck S.G., Bonfoh B., Garba M., Ilou I., Kamil H. et Faye B.2003.** FAO. Production Et Santé Animales. Valorisation du lait de chamelle au Sahel : Opération "fromages camelins" dans le Tadsit Niger et à Tombouktou Mali. Actes de l'Atelier International sur : "Lait de chamelle pour l'Afrique", 5-8 novembre, Niamey, Niger.
- Vilain, A.C.2010.**Qu'est-ce que le lait ? What's milk ? .revue française d'allergologie. 50 : 124-127
- Vlkova, E., Rada, V., Buj-Akova, D., Kme V.2004.** Enumeration, Isolation, and Identification of Bifidobacteria from Infant Feces *Folia Microbiol.* 49 2, 209-212.
- Vuillemin P. 1931.** Les champignons parasites et les mycoses de l'homme. Lechevalier, Paris.
- Wang, X et Gibson, G. R. 1994.** Regulatory effects of bifidobacteria on the growth of other colonie bacteria. *Journal of Applied Bacteriology.* 77:412-420.
- Wang, X., S. P. Heazlewood, D. O. Krause, et T. H. Florin.2003.** Molecular characterization of the microbial species that colonize human ileal and colonie mucosa by using 16S rDNA séquence analysis. *J Appl Microbiol* 95:508-20.
- Wang, X et Gibson, G.R. 1993.** Effects of the in vitro internal fermentation of oligofructose and inulin by bifidobacteria growing in human broad. *Journal of Applied Microbiology.* 75: 373-380
- Wangoh, J., Farah, Z et Puhan, Z. 1993.** Extraction of camel rennet and its comparison with calf rennet extract. *Milchwissenschaft*, 48, 322-325.
- Wangoh, J., Farah, Z., et Puhan, Z. 1998.** Composition of milk from three camel (*Camelus dromedarius*) breeds in Kenya during lactation. *Milchwissenschaft*, 53, 136-139.
- Werner, H., Gasser, F, et Sebald, M.1966.** DNA-Basenbestimmungen an 28 Bifidus Sthunen und Ansthämmen Morphologisch Ähnlicher Gattung. *Zbl. Bak. I.Brig.* 198S : 504-516

- Wernery, U. 2008.** Camel milk-new observations. In Conference proceedings: International Camel conference. Recent trends in camel research and future strategies for saving camels pp. 200-204. India: Bikaner.
- Wilson R.T., 1984.** The camel, 1-223, Longmann Group Ltd., London, G.B.
- Wollowski, I., Rechkemmer, G., Pool-Zobel, B.L.2001.** Protective role of probiotics and prebiotics in colon cancer. Am J Clin Nutr; 732 Suppl: 451S-455S.
- Yagil r., Zagorski o. et Van Creveld c. 1994.** Science and Camel's Milk Production. Actes du Colloque : "Dromadaires et chameaux animaux laitiers", 24-26-octobre, Nouakchott, Mauritanie.
- Yagil, R. 1982.** Camels and camel milk. Dans Animal production and health paper n° 26. Publication FAO, Rome.
- Yagil, R et Etzion, Z. 1980.** Effect of drought condition on the quality of camel milk. Journal of Dairy Research, 47, 159-166.
- Yildirim, Z., Johnson, M.G., 1998.** Characterization and antimicrobial spectrum of bifidocin B, a bacteriocin produced by *Bifidobacterium bifidum* NCFB 1454. Journal of Food Protection 61, 47-51.
- Yildirim, Z., Winters, D.K., Johnson, M.G., 1999.** Purification, amino acid sequence and mode of action of bifidocin B produced by *Bifidobacterium bifidum* NCFB 1454. Journal of Applied Microbiology 86, 45-54.
- Young, J. 1998.** European market developmmts in prebiotic- and probiotic-containing food stuffs. Brit. J. Nutr. 80 suppl. 2: SB 14233.
- Zblkowski, Z. et Ziajka, S. 1986.** Hydrolyzed casein as a source of bifidus factor. Die Nahrung. 303-4:4 1 5-41 6.
- Zhu, L., Li W. et Dong X.2003.** Species identification of genus *Bifidobacterium* based on partial HSP60 gene sequences and proposal of *Bifidobacterium thermacidophilum* subsp. *porcinum* subsp. nov. Int. J. Syst. Evol. Microbiol, 53:1619-1623.
- Zinedine, A., Faid, M. 2007.** Isolation and Characterization of Strains of Bifidobacteria with Probiotic Proprieties In vitro. World Journal of Dairy and Food Sciences 2 1: 28-34

Résumé

L'identification par approche phénotypique de 6 souches isolées à partir des selles de nourrissons a montré que l'espèce *B. longum* est représenté par les souches BE5, BN3, BN1 et BE9 alors que la souche BE7 et BBF appartiennent respectivement à l'espèce *B. breve* et *B. bifidum*.

Les espèces identifiées développent des colonies opaques, blanches et luisantes. Leur cellules dessinent une diversité de formes qui varie de bâtonnets aux bâtonnets en V, en Y, bâtonnets massues ou bâtonnets irréguliers. Ces aspects macro et microscopique sont souvent rencontrés chez les bifidobactéries.

Toutes les espèces identifiées sont sensibles à l'érythromycine, chloramphenicol et l'amoxicilline et résistantes à la kanamycine, l'acide nalidixique ainsi qu'à la vancomycine.

L'étude de quelques caractères physiologiques a confirmé que ces souches sont d'origine humaine sont mésophiles et ne tolèrent pas des températures supérieures à 45°C, leur pH optimum de croissance est entre 6,5 et 7.

L'évaluation de la croissance de 3 souches des espèces des bifidobactéries isolées dans le lait camélin a démontré que ce dernier constitue un lait très adéquat pour leur croissance et cela ouvre des horizons admirablement prometteurs.

L'ensemble de ces résultats suggère que l'introduction des bifidobactéries probiotiques dans les produits laitiers à base de lait camélin sera très appréciable.

Mots clé :

Selles Des Nourrissons; *Bifidobacterium*; Identification; Caractérisation; Probiotique; Evaluation; Croissance; Viabilité; Lait Camélin; Produit Laitier.