

UNIVERSITE KASDI MERBAH OUARGLA

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et de l'Univers

Département des Sciences de la Nature et de la Vie



Mémoire

MASTER ACADEMIQUE

Domaine: Science de la Nature et de la Vie

Filière: Biologie

Spécialité: Microbiologie Appliquée

Présente par: GUITOUN AICHA

KINA KALTOUM

Thème

ÉTUDE DE LA QUALITÉ MICROBIOLOGIQUE DU COLOSTRUM CAMELIN

Soutenu publiquement

Le: 02/07/2013

Devant le jury:

Mr. OULD-EL-HADJ M.D.	Professeur	President	U.K.M. Ouargla
Mme. SIBOUKEUR O.	MC(A)	Promotrice	U.K.M. Ouargla
Mme. SIBOUKEUR A.	MA(B)	Co-promotrice	U.K.M. Ouargla
M^{elle}. ATTAB S.	MA(B)	Examinatrice	U.K.M Ouargla

Année universitaire: 2012/2013

REMERCIEMENTS

Avant tout, nous remercions le Dieu de nous avoir donné le courage, la patience et la volonté pour achever ce modeste travail.

En guise de reconnaissance, nous voudrions remercier toutes les personnes qui, par leurs conseils, leur collaboration, leur soutien moral et leur amitié, ont contribué à la réalisation et à l'achèvement de ce travail.

Nous tiens à exprimer nous reconnaissance à Madame SIBOUKEUR Oumelkheir, Maître de Conférences A, du Département des SNV, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers, Université Kasdi Merbah Ouargla, qui nous a donné la chance de travailler sous sa direction, dont les encouragements et les conseils nous ont permis de réaliser ce travail.

Mes remerciements vont également à CO-promotrice Madame SIBOUKEUR Amina

Nous tiens à remercier les membres du jury :

Mr. le professeur OULD-EL-HADJ- DIDI Mohamed, de l'Université K.M. Ouargla qui nous a fait l'honneur de présider le jury de ce mémoire.

A M^{elle} ATTAB S. maître d'Assistance B de l'Université K. M. Ouargla

Un grand remerciement à mon père KINA Kuider et Mr. BATTACH El Aid éleveur de dromadaire pour leur aide précieux

Nous devons à KHAMRA Bouti Docteur vétérinaire au niveau de l'Office de l'agriculture et le développement rural dans la wilayat d'Ouargla,

Mme. SOUID Wafa, M^{elle} BOUDERHEM Amal, Mr. BOUAL Zakaria et Mr. LAAMECHE Foudil un grand remerciement pour nous avoir fait profiter de leurs connaissances.

Nos grands remerciements à tous les enseignants de promotion de 2ème année

Master Microbiologie Appliquée

Comme nous tenions à remercier les responsables de la bibliothèque de l'université KASDI Merbah et les techniciens de laboratoires pédagogiques et de recherche et toute personne ayant participé de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire.

AICHA et KALTHOUM

Sommaire

Introduction générale	2
I. Synthèse bibliographique	
Chapitre I: Dromadaire	
1. Dromadaire	5
1.1. Introduction	5
1.2. Aperçu sur le dromadaire	5
1.2.1. Présentation	5
1.2.2. Classification	5
1.2.3. Répartition de dromadaire	6
1.2.3.1. Répartition mondiale	6
1.2.3.2. Répartition en Algérie	7
1.3. Alimentation de dromadaire conduit en extensif	9
Chapitre II: Colostrum	
2. Colostrum	13
2.1. Définition du colostrum	13
2.1.1. Définition légale	13
2.1.2. Définition biologique et immunologique	14
2.2. Compositions du colostrum	14
2.2.1. Facteurs du système immunitaire	15
2.2.2. Facteurs de croissance	17
2.3. Qualité du colostrum	18
2.3.1. Quantité d'anticorps	18
2.3.2. Qualité d'anticorps	18
2.4. Contrôle de la qualité	19
2.5. Contamination microbienne de colostrum	19
2.6. Importance du colostrum	20
2.6.1. Importance du colostrum pour le nouveau-né	20
2.6.2. Applications cliniques	21
2.7. Caractérisation du colostrum bovin et camelin	23
2.7.1. Colostrum bovin	23
2.7.1.1. Composition de base	23
2.7.1.2. Composition protéique spécifique du colostrum	24
2.7.1.3. Composition en minéraux et vitamines	25
2.7.1.4. Immunoglobulines colostrales	25
2.7.2. Colostrum camelin	26
2.7.2.1. Composition de base	26
2.7.2.2. Composition protéique spécifique du colostrum	27
2.7.2.3. Composition en minéraux et vitamines	28
2.7.2.4. Immunoglobulines colostrales	28
2.7.2.5. Activité antimicrobienne du colostrum camelin	29

II. Matériel et Méthodes

1. Matériel biologique	31
1.1. Colostrum camelin	31
1.2. Milieux de culture	31
1.2.1. Milieu PCA	31
1.2.2. Milieu PDA	31
1.2.3. Milieu MRS	31
1.2.4. Milieu de Chapman	32
1.2.5. Milieu VRBG	32
1.2.6. Milieu Elliker	32
1.2.7. Milieu Désoxycholate lactose- gélose	32
2. Méthodes analytiques	33
2.1 .Méthodes physico-chimiques	33
2.1.1. pH	33
2 .1.2. Acidité titrable	33
2.1.3. Densité	33
2.2. Analyses microbiologiques	35
2.2.1. Diluant	35
2.2.2. Dilution décimale	35
2.2.3. Ensemencement	36
2.2.4. Test de la réductase	36
2.2.5. Test de la catalase	36
2.2.6. Etude de la flore microbienne	36
2.2.7. Observations macroscopique	37
2.2.8. Observations microscopiques	37
2.2.8. 1. Examen à l'état frais	38
2.2.8. 2. Examen après coloration de GRAME	38
2.3. Mesure l'activité antimicrobienne du colostrum vis-à-vis la souche de <i>Staphylococcus aureus</i>	38
2.3.1. Isolement de la souche cible (<i>Staphylococcus aureus</i>)	38
2.3.2. Repiquage de la souche cible (<i>Staphylococcus aureus</i>)	38
2.3.3. Enrichissement	38
2.2.4. Test antibactérienne	39
2.2.4.1. Méthode des puits	39
2.2.4..2. Méthode des disques	40

III. Résultat et discussion

1. Qualité physico-chimique du colostrum camelin	42
1.1. pH	43
1.2. Acidité titrable	43
1.3. Densité	44
2. Qualité microbiologique	45
2.1. Estimation de la qualité hygiénique du colostrum	45
2.2. Examens macroscopiques et microscopiques des colonies	45
2.3. Evolution de la flore microbienne du colostrum en fonction des conditions	48

et durée de l'entreposage	
2.3.1. Evolution de la flore endogène	48
2.3.2. Evolution de germes totaux	49
2.3.3. Evolution de la flore exogène	50
2.3.3.1. Flore halotolérante	50
2.3.3.2. Coliformes et entérobactéries	51
2.3.3.3. Evolution des levures	52
3. Etude de l'activité antimicrobienne du colostrum contre <i>Staphylococcus aureus</i>	52
Discussion générale	55
Conclusion générale	57
Références bibliographiques	
Annexe	

Liste des abréviations

Abréviation	Signification
• ACSAD	The Arab Center for the Studies of Arid-Zones and Dry Land
• ADN	Adénosine Désoxyribose Nucléotide
• AFNOR	Association Française de Normalisation
• Al	Aluminium
• AIDS	Acquired Immune Deficiency Syndrome
• °C	Degré Celsius
• Ca	Calcium
• CARDN	The Camel Applied Research Development Network
• Cholesterol LDL	Low Density Lipoprotein Cholesterol
• Cl	Chlorur
• Co	Cobalt
• D°	degré Dornic
• DMI	Dose Minimale Inhibitrice
• EgF	Epithelial growth factor
• FAO	Food and Agricultural Organization
• Fe	Fer
• FgF	Fibroblast growth factor
• g	gramme
• GH	Growth hormone
• h	heure
• HIV	Human Immunodeficiency Virus
• IgE	Immunoglobulines de type E
• IgD	Immunoglobulines de type D
• IGF-I	Insulin-like growth factor-I
• IGF-II	Insulin-like growth factor- II
• IgM	Immunoglobulines de type M
• ILGF	Insulin like Growth Factors
• K	Potassium
• Kg	Kilogramme

• l	litre
• LF	Lactoferrine
• LSP	Système Lactoperoxydase
• LZ	lysozyme
• Mg	Magnésium
• MG	Matière Grasse
• ml	milliliter
• MRS	Milieu de Man, Rogosa et Sharpe
• Na	Sodium
• PDGF	Platelet-derived growth factor
• pH	Potentiel Hydrique
• PP3 :	composant-3- des protéose- peptones
• PRP	Protéine Riche en Proline
• Se	Selenium
• SM	Solution Mère
• SIDA	Syndrome de Immunodéficience Acquis
• Si	Silic
• UFC	Unité Formant Colonie
• Vit	Vitamine
• VRBG	Gélose au cristal violet, au rouge neutre et à la bile
• Cellule T	Cellule Immunitaire T
• TgA	Transforming growth factors A
• TgB	Transforming growth factors B
• ZI	Zone Inhibitrice
• Zn	Zinc

Liste des figures

N°	Titre	Page
01	Systématique de camélidés (Source : MUSA, 1990; FAYE, 1997).	6
02	Procédure expérimentale	34
03	Dilution décimale	35
04	Evolution les paramètres physico-chimiques du colostrum durant son entreposage à la température ambiante	42
05	Evolution du pH du colostrum camelin durant l'entreposage à la température ambiante	43
06	Evolution de l'acidité titrable du colostrum camelin durant l'entreposage à la température ambiante.	44
7	Evolution de la flore naturelle du colostrum camelin durant l'entreposage à la température ambiante	48
8	Evolution de germes totaux du colostrum camelin durant l'entreposage à la température ambiante	49
9	Evolution de bactéries halotolérantes du colostrum camelin durant l'entreposage à la température ambiante	50
10	Evolution de coliformes et d'entérobactéries du colostrum camelin durant l'entreposage à la température ambiante	51
11	Evolution des levures du colostrum camelin durant l'entreposage à la température ambiante	52
12	Variation de la zone d'inhibition en fonction des différentes concentrations du colostrum	55

Liste des photos

N°	Titre	Page
1	<i>Camelus dromedarius</i>	5
2	<i>Camelus bactrianus</i>	5
3	Méthode des puits	39
4	Méthode des disques	40
5	Étude de l'activité antibactérienne du colostrum camelin dilue	53
6	Etude de l'activité antibactérienne du colostrum camelin non dilue.	54

Liste des tableaux

N°	Titre	Page
I	Développement des effectifs de la population camelin (LAAMECHE, 2009)	7
II	Répartition des dromadaires dans les régions principales d'élevage en Algérie (ACSAD)	8
III	Evolution des effectifs camelin de 2003-2010 (10^3 en têtes) en Algérie (FAO 2013)	8
IV	Effectif des dromadaires en Algérie par Wilayet (CARDN 1996)	9
V	Caractères de quelques plantes broutées par le dromadaire (ANONYME-3, 1965)	10
VI	Composition du colostrum et du lait de vache, d'après FOLEY et al, 1978 et MANGIN, 2002 in AMALRIC, 2011	24
VII	Composition protéique du lait et de colostrum de vache (d'après SERIEYS, 1993 et GRATIUX, 2003 <i>In</i> AMALRIC, 2011)	24
VIII	Minéraux et vitamines dans le colostrum et lait de vache (d'après LEVIEUX, 1982 et MANGIN, 2002 <i>In</i> AMALRIC, 2011)	25
IX	Concentrations en immunoglobulines du sérum, du lait et du colostrum de vache (ALLEMAND, 2008)	26
X	Composition du colostrum et du lait de Dromadaires (KONUSPAYEVA, 2007)	27
XI	Milieux nutritifs et conditions de culture des différents groupes microbiens susceptibles d'évoluer dans le colostrum.	37
XII	Evolution les paramètres physico-chimiques du colostrum camelin durant la température ambiante	42
XIII	Caractéristiques des différents types des colonies trouvées après la culture	47

Introduction

Introduction

Chez tous les mammifères, le colostrum est le premier produit de sécrétion de la mamelle, disponible immédiatement après la parturition pour le nouveau-né. Tout comme le lait, il constitue l'aliment complet indispensable à la survie du mammifère nouveau-né (**ALLEMAND, 2008**). Sa composition est différente de celle du lait. Il contient de nombreux facteurs importants pour la protection contre les infections microbiennes (**DETIFFE, 2010**).

On considère que les immunoglobulines sont les facteurs de défense les plus importants présents dans le colostrum, et sont responsables de la protection contre les maladies systémiques et entériques.

En plus des immunoglobulines, le colostrum contient d'autres facteurs antimicrobiens comprenant la lactoferrine, le lysozyme et la lactoperoxydase (**DALE et al. 2003**). Le colostrum camelin est particulièrement riche en ces facteurs antimicrobiens et en immunoglobulines (**ANONYME- 1, 2002**).

De nombreux travaux relatifs aux colostrums bovin, caprin ...etc ont été rapportés par la littérature (**DALE et al. 2003 ; ALLEMAND, 2008 ; DETIFFE, 2010...**). En revanche, relativement peu de travaux sur la microbiologie du colostrum camelin, ont été cités.

C'est dans ce contexte que s'inscrit le présent travail. Il vise l'étude de l'évolution des principaux groupes microbiens susceptibles de se trouver dans du colostrum camelin (*Camelus dromedarius*) entreposé à la température ambiante, en l'occurrence ceux appartenant à la flore de contamination.

Ce travail comporte trois volets d'investigations complémentaires:

- 1- analyse physico-chimique de l'échantillon de colostrum camelin ;
- 2- comportement de la flore originelle et de la flore de contamination lors de l'entreposage du colostrum à la température ambiante ;
- 3- étude de l'effet antibactérien du colostrum vis-à-vis d'une souche indicatrice.

I- Synthèse bibliographique

Chapitre I

I. Synthèse bibliographique

1. Dromadaire

1.1. Introduction

Le dromadaire est l'un des rares animaux domestiques adapté à l'environnement hostile des régions arides. Ses productions (lait, viande, poils) et son utilisation légendaire dans les transports caravaniers ont permis aux populations de ces zones de s'adapter aux rigueurs du climat et de vivre des maigres ressources que leur offre la terre (GRECH-ANGELINI, 2007).

1.2. Aperçu sur le dromadaire

1.2.1. Présentation

Le nom « dromadaire » dérive du terme grecque « dromados » qui veut dire course. Il est donné à l'espèce de chameau à une seule bosse, appartenant au genre *Camelus* de la famille des *Camelidae* et dont le nom scientifique est *Camelus dromedarius*. (ZEUNER, 1963 In SIBOUKEUR, 2007).

1.2.2. Classification

Le dromadaire, *Camelus dromedarius*, appartient à la famille des Camélidés qui comprend le genre *Lama* et le genre *Camelus* qui est divisé en deux espèces : *Camelus dromedarius* (dromadaire) et *Camelus bactrianus* (chameau de Bactriane). Le croisement de ces deux espèces produit des hybrides féconds (Figure 1) (GRECH-ANGELINI, 2007).



Photo 1. *Camelus dromedarius*



Photo 2. *Camelus bactrianus*

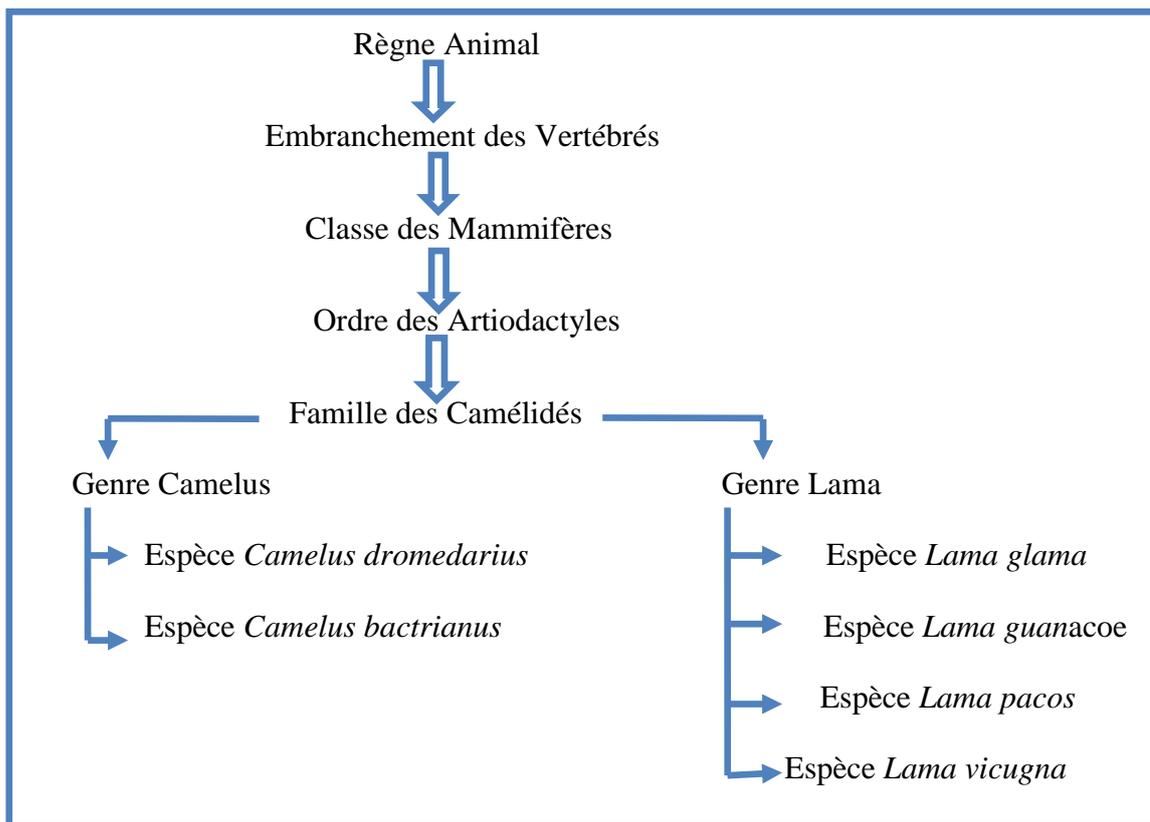


Figure 1 : Systématique de camélidés (Source : MUSA, 1990; FAYE, 1997).

1.2.3. Répartition de dromadaire

1.2.3.1. Répartition mondiale

L'aire de distribution du dromadaire s'étend sur les régions tropicales et subtropicales semi-arides et arides d'Asie et d'Afrique.

En Afrique, son aire d'habitat est limitée vers le sud par la zone charnière entre le climat semi-aride et sub-humide. Sauf en des points exceptionnels, le dromadaire ne s'avance guère au delà du 13^{ème} degré latitude nord limité qu'il est par les régions humides et plus ou moins boisées. On peut cependant le trouver en dehors de ces limites, c'est ainsi qu'il fut introduit dans le Sud-ouest Africain à dessein militaire (MAHAMAN, 1979).

Il est difficile de connaître avec exactitude la population caméline mondiale, du fait de l'absence de vaccination obligatoire chez cette espèce et de la nature des écosystèmes dans lesquels elle évolue. Les chiffres proposés par FAO s'appuient sur

des estimations, loin d'être un recensement exhaustif. Elles sous estiment sans doute la population réelle.

La population caméline connaît un développement constant de ses effectifs (Tableau I). Elle compte aujourd'hui plus de 24 millions de têtes (LAAMECHE, 2009).

Tableau I: Développement des effectifs de la population caméline (LAAMECHE, 2009)

	2004	2005	2006	2007	2008
Monde	23.397.667	23.517.490	24.109.924	24.265.916	24.732.032
Afrique	19.915.813	20.032.070	20.323.086	20.557.532	21.024.649
Asie	3.474.462	3.472.016	3.779.749	3.701.199	3.700.227

Source: FAO, 2008

2.3.2. Répartition en Algérie

Selon les statistiques de ministre de l'agriculture Algérienne en 1999 le nombre des *Camelus dromedarius* en Algérie est de 160000 têtes soit 3.24% en comparaison avec 78% des bétails, 6% des vaches, et 14% des chèvres, ce nombre ne représente que 1% de nombre totale des *Camelus dromedarius* dans le monde, et de 1.4% dans les pays Arabes, et 10% dans le grand Maghreb (ELABOUDDI et al., 2005).

En Algérie, le dromadaire est présent dans 17 Wilayate (8 Sahariennes et 9 Steppiques). 75 % du cheptel soit 107.000 têtes dans les Wilayate Sahariennes 25% du cheptel soit 34.000 têtes dans les Wilayates Steppiques (BEN AISSA, 1989).

Le tableau suivant indique la répartition des dromadaires dans les régions principales d'élevage en Algérie, et le nombre le plus élevé trouve dans la région extrême sud par un pourcentage 29,69%.

Tableau II: Répartition des dromadaires dans les régions principales d'élevage en Algérie (ACSAD)

Sud-est	33.343 tête	27.52%
Au milieu	29.190 tête	24.09%
Sud-ouest	22.312 tête	18/4%
Extrême sud	36.300 tête	29.69%

L'effectif du dromadaire en Algérie est passé de 253000 en 2003 à 314000 en 2010, cette augmentation de l'effectif de dromadaire dépend des conditions de l'élevage, et l'alimentation en étant le facteur le plus déterminant, cette évolution représente dans le tableau III.

Tableau III: Evolution des effectifs camelin de 2003-2010 (10³ en têtes) en Algérie (FAO 2013)

Années	2003	2004	2005	2006	2007	2009	2010
Camelins	253	273	269	286	291	301	314

Source: Ministère de l'Agriculture: Statistique agricoles (2000-2010).

L'effectif total de dromadaires en Algérie est de 315 982 têtes reparté en 17 wilayat, le tableau IV présente cette répartition. L'effectif le plus élevé se trouve dans les wilayat extrême sud par ordre Tamanrasset, Tindouf et Adrar. A comparaison entre les mâles et les femelles, le nombre des femelles est plus significatif que les mâles dans les plus part des wilayat.

Tableau IV: Effectif des dromadaires en Algérie par Wilayet

Wilaya	Nombre d'éleveurs	Effectif total	Mâle	Femelle	Chamelon
Adrar	1063	44031	9354	19392	15285
Laghouat	127	1899	236	1291	372
Batna	23	110	10	71	29
Biskra	NC	NC	NC	NC	NC
Béchar	NC	23400	NC	NC	NC
Tamanrasset	4000	84909	33630	47549	3730
Tebessa	28	390	18	302	70
Tiaret	20	220	133	24	63
Djelfa	33	2636	193	1764	679
M'sila	59	1970	92	1366	512
Ouargla	474	29833	3597	19038	7198
El-Bayedh	274	9610	1160	5756	2694
Illizi	NC	30117	NC	NC	NC
Tindouf	2000	46100	17400	28700	NC
El-Oued	50	39760	13089	21036	5635
Naama	74	997	101	621	275
Ghardaia	NC	NC	NC	NC	NC
Total	8225	315 982	79013	146 910	36 542

NC : non comptable

Source: CARDN 1996.

1.3. Alimentation de dromadaire conduit en extensif

Le dromadaire tire la totalité de son alimentation à partir des végétaux qu'il rencontre sur son parcours quotidien (de 20 à 30 km). Le régime alimentaire du dromadaire compte une forte proportion d'espèces de végétation non appétissantes pour les ovins et les caprins (espèces salées, espèces épineuses); la rareté de l'aliment, est souvent compensée par la durée de pâturage et la longueur du trajet; pâturage ambulatoire sélectif le phénomène de transhumance permet, à son tour une meilleure adaptation du dromadaire au rythme des disettes chronique et surtout au besoin de

rotation du troupeau camelin sur les différents types de parcours, nécessaires à la recherche d'un meilleur équilibre nutritionnel. (BEN DHIA *et al.*, 1995).

Le dromadaire a une préférence pour les plantes halophytes (riches en sel et donc en eau). Ceci lui permet d'avoir accès tout en long de l'année à une alimentation de composition hydriques stables et relativement abondante à l'inverse les bovins contraints à une alimentation en saison sèche, très pauvre en eau (YAGIL, 1985 et WILSON, 1989). Le tableau V indique les caractères de quelques plantes broutées par le dromadaire.

Tableau V: Caractères de quelques plantes broutées par le dromadaire
(ANONYME-2, 1965).

Nom	Saison de consommation				Sol	famille	Plante (annuelle / vivace)
	Prin	Eté	Aut	Hiv			
<i>Atriplex halimus</i> Guettaf		+	+	+	Salé	Salsolacées	Vivace
<i>Artelisia herba alba</i> Chih		+	+	+	Limoneux rocailleux	Composées	Vivace
<i>Stipa temacixima</i> Halfa			+	+	Sablo-limoneux	Graminées	Vivace
<i>Aristida pungens</i> Drin		+	+	+	Sableux	Graminées	Vivace
<i>Anabasis articulata</i> Adjrem					Salé	Salsolacées	Vivace
<i>Lygeum spartum</i> Sennagh			+	+	Souvent mameux	Graminées	
<i>Psitachia athantica</i> Bottoum = pistachier		+	+		Lit d'oued	Therebentacées	Vivace
<i>Ziziphus lotus</i> Sderre = jujubier		+	+	+	Lit d'oued	rhamnacées	Vivace
<i>Arthrophytum sp.</i> Remth							
<i>Srtout diplotaxis</i> Acheb	+					Crucifères	Annuelle
<i>Astragalus armatus</i> Kedad		+	+	+		Papillonacées	Vivace

-Prin: Printemps

-Aut: Automne

-Hiv: Hiver

L'alimentation joue un rôle important ; elle permet d'agir à court terme et de manière différente sur les taux de matière grasse et de protéines. En effet, selon COULON et HODEN en (1991), le taux protéique varie dans le même sens que les apports énergétiques, il peut aussi être amélioré par des apports spécifiques en acides aminés (lysine et méthionine). Quant au taux butyreux, il dépend à la fois de la part d'aliment concentré dans la ration, de son mode de présentation et de distribution (finesse de hachage, nombre de repas, mélange des aliments) (**BENHEDANE, 2012**).

Chapitre II

2. Colostrum

2.1. Définitions du colostrum

2.1.1. Définition légale

Généralement de couleur miel, jaune et visqueux, le colostrum est le premier liquide sécrété par la mamelle après la parturition. D'après certains auteurs, il n'est réellement présent que lors de la première traite, ou durant les premières 24 – 48h. Mais le deuxième article du décret du 25 mars 1924, modifié et complété par le décret du 4 janvier 1971, définit indirectement le colostrum en France. Il dispose en effet que « le lait est le produit de la sécrétion mammaire normale obtenue par une ou plusieurs traites sans aucune addition ou soustraction. L'origine doit être spécifiée s'il ne provient pas de l'espèce bovine ».

Et que : « ... sera considéré comme lait impropre à la consommation humaine : ... le lait provenant d'une traite opérée moins de 7 jours après le part et, d'une manière générale, le lait contenant du colostrum. »

Dans la réglementation française, le colostrum est donc le produit de la traite des six premiers jours après la mise bas, et sa livraison dans la collecte laitière constitue une fraude.

Cette réglementation est sous-tendue par des préoccupations d'ordre technologique : le colostrum est très riche en protéines solubles (Ig, Albumine), et beaucoup moins en protéines spécifiques du lait (caséines). Or, les protéines solubles, qui sont plus hydrophiles mais moins stables à la chaleur que les caséines, ne coagulent pas avec présure. Ce « lait » est alors moins sujet à l'acidification, à la coagulation et à l'égouttage, ce qui diminue les rendements fromagers. De plus, le fort taux de protéines contenu dans le colostrum (autres que caséines) entraîne une coagulation plus rapide et plus importante à la chaleur. Les procédés thermiques de conservation classiques tels que la pasteurisation ou la stérilisation ne peuvent donc pas s'appliquer au colostrum ou au lait contenant du colostrum. Ceci entraîne des pertes économiques, des soucis de conservation et d'utilisation (AMALRIC, 2011).

2.1.2. Définition biologique et immunologique

De manière générale, pour certains auteurs (SALMON, 1999), le colostrum représente les sécrétions accumulées dans la mamelle durant les dernières semaines de la gestation, enrichies des protéines, qui ont transsudé du sang sous l'influence des œstrogènes et de la progestérone.

le colostrum est « le mélange de sécrétions lactées et de constituants du sérum sanguin, qui s'accumulent dans la glande mammaire pendant la période sèche et qui peut être récolté immédiatement avant ou après la parturition» (FOLEY et al., 1978).

Pour LEVIEUX (1984), qui s'intéresse surtout à l'immunité procurée par le colostrum, il s'agit uniquement du produit de la première traite (et non pas de la première journée). Pour FOLEY et al., (1978), qui s'intéressent au surplus de colostrum non commercialisable, la définition s'étend alors au mélange des six premières traites.

D'un point de vue purement immunologique, le colostrum est un liquide contenant les éléments de l'immunité passive du jeune ruminant. C'est la sécrétion de la glande mammaire durant les 48 premières heures suivant la mise-bas, qu'elle soit tétée ou traite. Les quantités de cellules et d'anticorps diminuent régulièrement et rapidement d'une buvée ou d'une traite à l'autre dans les deux premiers jours ; au-delà, leur quantité est très proche de celle du lait, même si un fond d'immunité lactogène, à efficacité imprécise, persiste jusqu'au sevrage (AMALRIC, 2011).

Les concentrations en IgG et IgM sériques de la mère ne sont pas reliées à celles du colostrum, dans lequel elles sont sélectivement concentrées (en particulier les IgG) (SAWYER et al., 1977 In AMALRIC, 2011).

2.2. Composition du colostrum

Le colostrum se distingue généralement du lait par son aspect et ses propriétés. Pourtant, la composition moyenne et ordinaire demeure une notion discutable car les variations interindividuelles sont très importantes (AMALRIC, 2011).

Les composantes les plus importantes du colostrum peuvent être en principe décomposées en deux grandes catégories: les facteurs du système immunitaire et des facteurs de croissance. Les fabricants de médicaments ont essayé de copier (ingénieur génétiquement) et le marché de plusieurs des composants individuels du colostrum, notamment l'interféron, la γ -globuline, l'hormone de croissance, l'IGF-1 et inhibiteurs de la protéase (ZOLTANP et RONA, 1998).

2.2.1. Facteurs du système immunitaire

- **Immunoglobulines (A, D, E, G et M)**

Ce sont les facteurs de l'immunité les plus abondants dans le colostrum; IgG neutralise des toxines et des microbes dans la lymphe et système circulatoire; IgM détruit des bactéries tandis que les IgE et IgD sont hautement antivirales (ZOLTANP et RONA, 1998).

- **Lactoferrine**

La lactoferrine est une glycoprotéine contenant deux sites capables chacun de fixer un ion ferrique (Fe^{3+}). Cette capacité à capter le fer explique en partie son rôle dans le contrôle de la croissance de certaines bactéries pathogènes (ZAGULKI et al., 1989, DIARRA et al., 2002 In KONUSPAYEVA, 2007).

La lactoferrine a une activité antivirale, anti-bactérienne et anti-inflammatoire, cette propriété permet de traiter le cancer, HIV, Cytomégalovirus, herpès, syndrome de la fatigue chronique, *Candida albicans* et autres infections (ZOLTANP et RONA, 1998).

- **Polypeptide riche en proline (PRP)**

C'est une hormone qui régule le fonctionnement du thymus, en stimulant le système immunitaire. Notamment dans les maladies d'auto-immunes (polyarthrite rhumatoïde, lupus, sclérodermie, syndrome de la fatigue chronique, allergies, etc.) (ZOLTANP et RONA, 1998).

- **Leucocyte**

Les leucocytes stimulent la production de l'interféron, ce qui ralentit la reproduction virale, et la pénétration des parois cellulaires (**ZOLTANP et RONA, 1998**).

- **Enzymes**

Les enzymes lactoperoxydase-thiocyanate, peroxydase et de la xanthine oxydase oxydent les bactéries par leur capacité à libérer du peroxyde d'hydrogène (**ZOLTANP et RONA, 1998**).

- **Lysozyme**

C'est un agent hydrolysant et renforçant le système immunitaire capable de détruire les bactéries et les virus au contact (**ZOLTANP et RONA, 1998**).

- **Cytokine**

C'est une interleukine qui règle la durée et l'intensité de la réponse immunitaire, elle est responsable de la communication entre les cellules, de la stimulation de l'activité des cellules T et de la production des 4 immunoglobulines. L'interleukine-10 a une activité anti-inflammatoire, en particulier dans les articulations arthritiques (**ZOLTANP et RONA, 1998**).

- **Inhibiteurs de la trypsine et des inhibiteurs des protéases**

Prévenir la destruction des facteurs immunitaires et de croissance dans le colostrum d'être dégradé dans le tractus gastro-intestinal; ils empêchent aussi *Helicobacter pylori* de se fixer aux parois de l'estomac et peut avoir un rôle bénéfique dans le traitement de la gastro-duodéal ulcères (**ZOLTANP et RONA, 1998**).

- **Lymphokines**

C'est une like-hormone peptidique produit par les lymphocytes activés qui servent de médiateur de la réponse immunitaire (**ZOLTANP et RONA, 1998**).

- **Oligo Polysaccharides et Glycoconjugates**

Leur rôle consiste à attirer et se lier à des agents pathogènes (*Streptococcus*, *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Cryptosporidium*, *Giardia*, *Entamoeba*, *Shigella*, *Clostridium*, et à empêcher de se fixer ou d'entrer dans les membranes muqueuses (ZOLTANP et RONA, 1998).

- **Vitamine C**

La vitamine C joue un rôle biologique considérable par ses propriétés antioxydantes. Récemment, il a été montré qu'elle avait aussi une action positive sur la réponse immunitaire des organismes agressés par diverses maladies (KONUSPAYEVA, 2007).

2.2.2 Facteurs de croissance

Parmi les facteurs, nous citons :

- Croissance épithélial (EGF)
- Insuline comme facteur de croissance I et II (IGF-1 et IGF-II)
- Croissance des fibroblastes (FGF)
- Croissance dérivé des plaquettes (PDGF)
- Facteurs de croissance transformants A et B (TgA et B)
- Hormone de croissance (GH, STH)

Ceux-ci permettent ensemble à stimuler la croissance cellulaire et tissulaire en stimulant la formation de l'ADN. Les versions génétiquement modifiées de l'IGF-1 et de GH sont maintenant vendues comme des anti-âges et des médicaments contre le SIDA. Ils sont trouvés naturellement et par hautes concentrations dans le colostrum. Plusieurs études montrent que ces facteurs de croissance sont capables d'augmenter la production de cellules T, accélérer la guérison, l'équilibre de la glycémie, de réduire les besoins en insuline, d'augmenter la masse musculaire, la croissance et la réparation osseuse en métabolisant la graisse pour combustible (ZOLTANP et RONA, 1998).

2.3. Qualité du colostrum

On évalue la qualité d'un colostrum par la quantité et la qualité (la gamme) des anticorps qu'il contient.

2.3.1. Quantité d'anticorps

La simple observation visuelle donne une bonne indication de la qualité d'un colostrum. Un colostrum jaunâtre, épais et crémeux est riche en anticorps. Par contre un colostrum pâle et fluide est pauvre en anticorps (MICHEL, 2005). De plus, la qualité du colostrum dépend de nombreux facteurs:

- **La concentration d'anticorps dans le colostrum diminue avec les facteurs suivants:** La durée inadéquate de la période de tarissement (moins de 4 semaines), le vêlage prématuré, la traite avant le vêlage, ou la perte du colostrum avant le vêlage;
- **L'âge de la vache:** En moyenne la concentration d'anticorps dans le colostrum d'une vache adulte est plus élevée (8%) que dans celui d'une vache primipare (5-6%). De même, la variété d'anticorps présent dans le colostrum augmente avec l'âge de la vache;
- **La race laitière:** Le colostrum de la Holstein contient moins d'anticorps (6%) que celui des autres races laitières (8-9%) (MICHEL, 2005).

2.3.2. Qualité d'anticorps

Un colostrum de bonne qualité est riche en anticorps qui protège le veau contre une grande variété d'organismes pathogènes présents dans l'environnement. L'exposition à un agent infectieux est une condition requise pour développer une résistance immunitaire. Les vaccins et les organismes pathogènes auxquels la vache a été exposée, détermine directement les types d'anticorps trouvés dans son colostrum. C'est au cours de sa vie qu'une vache acquiert une bonne immunité contre les maladies spécifiques à l'environnement où elle se trouve. Ainsi, le colostrum d'une vache adulte qui est née et a été élevée dans l'exploitation est idéal pour protéger n'importe quel nouveau-né de cette exploitation. Par contre la valeur immunitaire du colostrum d'une vache récemment

introduite dans un élevage est faible. De même, l'introduction d'un veau de moins de 6 à 8 semaines dans un élevage est à déconseiller parce qu'il n'a pas les anticorps spécifiques à son nouvel environnement (MICHEL, 2005).

2.4. Contrôle de la qualité

La meilleure qualité de colostrum est produite naturellement et est exempt de pesticides, herbicides, hormones anabolisantes, les stéroïdes, les antibiotiques et autres produits chimiques. Pas tous les produits de colostrum sur le marché sont biologiquement actifs en raison du traitement incorrect par l'utilisation de températures élevées et de pasteurisation ou la formation de colostrum en comprimés, une méthode qui exige une forte pression et génère de la chaleur, de détruire l'activité biologique. Le colostrum sous forme liquide est également loin d'être idéal. Il n'est pas aussi concentré que les versions en poudre du produit. Il doit être conservé au réfrigérateur en raison de sa courte durée de conservation (ZOLTANP et RONA, 1998).

2.5. Contamination microbienne du colostrum

Le colostrum peut être contaminé par des germes, soit à la suite d'un transfert mammaire de germes de la mère (ex : *Mycobacterium paratuberculosis*), soit par des germes de la mère ou de l'environnement présents sur la mamelle ou le matériel de récolte de colostrum.

Ainsi, certains programmes américains de gestion des infections prévoient que les mères donneuses de colostrum soient déclarées (par les tests adéquats) négatives en paratuberculose, salmonellose, mammite à *Mycoplasma bovis* et à *Staphylococcus aureus*, diarrhée virale bovine et leucose bovine enzootique.

Une étude américaine sur 150 échantillons de colostrum a montré que 85% d'entre eux contenaient plus de 10^6 UFC/ml de bactéries totales avec plus de 10^4 UFC/ml de coliformes fécaux (ALLEMAND, 2008).

2.6. Importance du colostrum

2.6.1. Importance du colostrum pour le nouveau-né

- **Le veau naît « sans défenses »**

Contrairement à d'autres espèces, les bovins naissent dépourvus d'anticorps. En effet, leur placenta ne laisse pas passer ceux-ci de la mère vers le fœtus. Le veau naît armé mais ne sait pas contre qui il va devoir se battre. Si son système immunitaire est au point, il doit néanmoins tout apprendre. Bref, en cas d'attaque d'un agent pathogène dans les premières semaines de vie, le temps de réaction du système immunitaire du veau est trop long pour pouvoir bloquer une infection. C'est pendant cette phase que l'immunité apportée par le colostrum est la plus importante (**DETIFFE, 2010**).

- **Le colostrum protège le nouveau-né contre les infections**

La seule source d'anticorps pour le nouveau-né est le colostrum. Toutefois, l'intestin du nouveau-né n'est perméable aux anticorps que pendant les 24 premières heures de vie. Seule l'administration rapide du colostrum permettra qu'une partie de ces anticorps passent du tube digestif vers la circulation sanguine. Les anticorps qui restent dans la lumière intestinale ont un rôle de défense locale.

Le colostrum frais contient également des globules blancs qui, comme les anticorps, vont traverser la paroi intestinale pour atteindre la circulation sanguine. Ces globules blancs vont stimuler positivement le système immunitaire du nouveau-né et lui permettre de s'adapter plus vite, grâce aux connaissances acquises du système immunitaire de la vache donneuse de colostrum. Le colostrum contient plus d'1 million de globules blanc par ml, actifs et fonctionnels dès leur absorption par le nouveau-né (**DETIFFE, 2010**).

- **Le colostrum apporte d'autres éléments au nouveau-né**

En plus du rôle de « défense de première ligne » assuré par les anticorps colostraux, le colostrum est avant tout un aliment de haute qualité, c'est une source essentielle d'énergie pour le veau grâce aux protéines, lipides, vitamines,... qu'il contient. Le colostrum est une sorte de concentré d'énergie, permettant le démarrage du veau après l'épreuve de la naissance (**DETIFFE, 2010**).

2.6.2. Applications cliniques

Grâce à des centaines d'années d'utilisation et plus de 1000 études cliniques, le colostrum a été démontré pour être complètement sûr sans interactions médicamenteuses ou d'effets secondaires à tous les niveaux d'ingestion. Les conditions cliniques suivantes ont été bien documentés de répondre favorablement à la supplémentation en colostrum:

- **Maladies virales**

Environ 75% des anticorps dans le corps sont produits par le composant IG du système immunitaire. La capacité de malades AIDS/HIV de lutter la maladie infectieuse est gravement compromise par partie en raison de dommages à l'intestin de l'inflammation chronique et la diarrhée. Le rôle de plusieurs études récentes un rapport de colostrum dans le renversement de ce problème chronique découlant des infections opportunistes comme *Candida albicans*, *Cryptosporidia*, le *rotavirus*, l'herpès simplex, des souches pathogènes de *E. Coli* et les infections de la grippe intestinale. Tous les agents pathogènes de l'intestin sont bien traités par le colostrum, sans effets secondaires. Le colostrum est composé de nombreux facteurs ayant une activité antivirale forte, en particulier des immunoglobulines, la lactoferrine et les cytokines (**ZOLTANP et RONA, 1998**).

- **Allergies et les maladies auto-immunes**

PRP de colostrum peut fonctionner comme une substance régulatrice du thymus. Il a été démontré pour améliorer ou éliminer les symptômes des deux allergies et des maladies auto-immunes (sclérose en plaques, l'arthrite rhumatoïde, le lupus et la myasthénie grave). PRP inhibe la surproduction de lymphocytes et les cellules T et réduit les principaux symptômes des allergies et maladies auto-immunes: la douleur, l'enflure et l'inflammation (**ZOLTANP et RONA, 1998**).

- **Maladie cardiovasculaire**

L'immunité altérée peut être la cause cachée de l'athérosclérose et les maladies cardiovasculaires. Par exemple, un type de chlamydia a été associée à la formation de

plaque artérielle chez plus de 79% des patients atteints de maladies cardiaques. Un récent du New England Journal of Medicine article a conclu que la maladie cardiaque est le résultat d'une sensibilisation immunitaire aux antigènes cardiaques. Le colostrum PRP peut avoir un rôle pour inverser la cardiopathie beaucoup comme il le fait avec les allergies et les maladies auto-immunes.

En outre, l'IGF-1 et de GH dans le colostrum peut abaisser le taux de cholestérol-LDL, tout en augmentant les concentrations de cholestérol-HDL. Les facteurs de croissance du colostrum favoriser la réparation et la régénération du muscle cardiaque et la régénération de nouveaux vaisseaux sanguins pour la circulation coronarienne collatérale (**ZOLTANP et RONA, 1998**).

- **Cancer**

Les avantages de cytokines dans le traitement du cancer ont d'abord été popularisés par le livre de Steven Rosenberg 1985. Depuis ce temps, les cytokines que l'on retrouve dans le colostrum ont été les protocoles simples les plus recherchés dans la recherche scientifique pour le traitement du cancer.

Le colostrum lactalbumine a été trouvé pour être en mesure de causer la mort sélective des cellules cancéreuses, ce qui laisse les tissus non cancéreux environnants affectés. La lactoferrine a même été signalé à posséder une activité anti-cancer. La combinaison des facteurs immunitaires et la croissance dans le colostrum peut inhiber la prolifération des cellules cancéreuses. Si des virus sont impliqués soit dans l'initiation ou la propagation du cancer, le colostrum pourrait se révéler être l'une des meilleures façons de prévenir la maladie en premier lieu (**ZOLTANP et RONA, 1998**).

- **Diabète**

Le colostrum contient plusieurs facteurs, qui peuvent compenser cela et d'autres allergies. Le colostrum IGF-1 peut se lier à la fois l'insuline et les récepteurs d'IGF-1 se trouvent sur toutes les cellules. Essais sur l'homme en 1990 ont rapporté que l'IGF-1 stimule l'utilisation du glucose, l'hyperglycémie aiguë traiter efficacement et de réduire un diabétique de type II s dépendance à l'insuline (**ZOLTANP et RONA, 1998**).

- **Les programmes de perte de poids**

IGF-1 est requis par l'organisme à métaboliser les graisses en énergie à travers le cycle de Krebs. Avec le vieillissement, moins d'IGF-1 est produite dans le corps. Les niveaux insuffisants sont associés avec une augmentation de l'incidence du diabète de type II et de la difficulté à perdre du poids malgré un apport nutritionnel adéquat et une activité physique suffisante. Le colostrum est une bonne source d'IGF-1 comme une thérapie complémentaire pour la perte de poids réussie (**ZOLTANP et RONA, 1998**).

2.7. Caractérisation de colostrum bovin et camelin

2.7.1. Colostrum bovin

Première sécrétion mammaire qui suit la mise-bas, son importance nutritive est la même que chez les autres Mammifères mais son importance immunologique est liée aux particularités de la gestation chez cette espèce (**ALLEMAND, 2008**).

2.7.1.1. Composition de base

Le colostrum contient un fort taux de protéines, relié à un extrait sec et une densité bien plus élevés que dans le lait. De plus, son taux de cendres brutes est, en moyenne, supérieur à celui du lait.

Si l'on s'intéresse à l'évolution de la composition du produit de la sécrétion mammaire au fil des jours à partir de la mise-bas, on constate que chez les bovins, la matière grasse et les cendres brutes diminuent, alors que le taux de lactose augmente (Tableau VI) (**AMALRIC, 2011**).

Tableau VI : Composition du colostrum et du lait de vache, d'après FOLEY et al, 1978 et MANGIN, 2002 In AMALRIC, 2011

	COLOSTRUM					LAIT
	1 ^{er} jour Post-partum	2 ^{ème} jour Post-partum	3 ^{ème} jour Post-partum	4 ^{ème} jour Post-partum	5 ^{ème} jour Post-partum	
Densité	1,056	1,040	1,035	1,033	1,033	1,032
Matières Grasses (%)	6,7	5,4	3,9	4,4	4,3	4,0
Protéines totales (%)	14,0	8,4	5,1	4,2	4,1	3,1
Lactose (%)	2,7	3,9	4,4	4,6	4,7	5,0
Cendres brutes (%)	1,11	0,95	0,87	0,82	0,81	0,74

2.7.1.2. Composition protéique spécifique du colostrum

Si l'on se penche plus précisément sur les protéines spécifiques du colostrum, on constate effectivement une moins grande quantité de caséines et plus d'immunoglobulines. Ce rapport s'inverse entre le premier et le cinquième jour post-partum (Tableau VII) (QUIGLEY, et al., 2000 In AMALRIC, 2011).

D'après ALLEMAND, (2008), sur 160 g de matières azotées par Kg de colostrum, 140 g sont des protéines, parmi lesquelles la caséine représente 48 g, l'albumine 9g et les immunoglobulines 60 g Cette richesse en protéines confère au colostrum un pH de l'ordre de 6,4 (6.5 pour le lait), et un pouvoir tampon très élevé (ALLEMAND, 2008)

Tableau VII : Composition protéique du lait et de colostrum de vache (d'après SERIEYS, 1993 et GRATIUX, 2003 In AMALRIC, 2011)

Numéro de traite	Protéines totales (g/kg)	Protéines solubles (g/kg)	Caséine (g/kg)	Caséine/protéines totales %
1	140	92	48	34,2
2	84	41	43	51,2
3	51	13	38	46,2
4	42	10	32	46,2
Lait	31	6	25	80,6

2.7.1.3. Composition en minéraux et vitamines

A l'exception du potassium, les teneurs en minéraux, oligo-éléments et vitamines du colostrum sont plus élevées que celles du lait, avec des coefficients multiplicateurs compris pour la plupart entre 2 et 10 (ALLEMAND, 2008)

Le tableau VIII ci-dessous donne un ordre de grandeur des concentrations en minéraux et vitamines dans le colostrum et dans le lait.

Tableau VIII : Minéraux et vitamines dans le colostrum et lait de vache
(d'après LEVIEUX, 1982 et MANGIN, 2002 *In* AMALRIC, 2011)

Elément	Colostrum	Lait	Elément	Colostrum	Lait
Ca (g/kg)	2,6	1,3	Si (µg/kg)	30000	2600
P (g/kg)	1,8	1	Al (µg/kg)	1200	600
K (g/kg)	1,4	1,5	Se (µg/kg)	50	20
Mg (g/kg)	0,4	0,12	Vit A UI /L	10000	1000
Na (g/kg)	0,7	0,45	Vit D UI /L	10	5
Cl (g/kg)	1,2	1	Vit E (µg/kg)	10000	1000
Zn (µg/kg)	12000	3600	Vit B1 (µg/kg)	800	450
Mn (µg/kg)	100	50	Vit B2 (µg/kg)	6000	1500
Fe (µg/kg)	1000	500	Vit B12 (µg/kg)	6	3
Cu (µg/kg)	300	120	Vit B9 (µg/kg)	8	2
Co (µg/kg)	75	1	Vit C1 (µg/kg)	4	2

2.7.1.4. Immunoglobulines colostrales

Le colostrum contient de nombreux facteurs importants pour la protection contre les infections microbiennes. On considère que les immunoglobulines sont les facteurs de défense les plus importants présents dans le colostrum, et sont responsables de la protection contre les maladies systémiques et entériques.

La plupart des études sur l'échec du transfert passif se sont concentrées sur le taux d'immunoglobulines, car ces dernières jouent un rôle essentiel dans la protection contre les maladies. Cependant, les autres composantes présentes dans le colostrum

contribuent à la santé. En plus des immunoglobulines, le colostrum contient d'autres facteurs antimicrobiens comprenant la lactoferrine, le lysozyme et la lactoperoxydase. (DALE et al., 2003).

La part de protéines solubles par rapport à la caséine est très importante : celles-ci sont essentiellement des immunoglobulines (Ig), plus particulièrement des IgG1 d'origine sanguine qui représentent plus de 85% des immunoglobulines colostrales. Les autres immunoglobulines sont des IgG2, IgA et IgM (ALLEMAND, 2008).

Le tableau IX illustre la répartition des immunoglobulines colostrales et montre la forte prédominance des IgG1.

Tableau IX : Concentrations en immunoglobulines du sérum, du lait et du colostrum de vache (ALLEMAND, 2008)

	IgG1	IgG2	IgM	IgA
Sérum	10 g/L	8 g/L	2,5 g/L	0,5 g/L
Colostrum	60 g/L (20 à 100)	2 g/L	5 g/L	4,5 g/L
Lait	< 1 g/L	0,03 g/L	0,05 g/L	0,05 g/L

2.7.2. Colostrum camelin

2.7.2.1. Composition de base

Des contrôles quotidiens, effectués dès la mise bas, ont permis de situer entre le 8^{ème} et le 9^{ème} jour la fin de la phase colostrale (ABDELLI *al.*, 1991). A la mise bas, le colostrum est de couleur crème translucide, épais, collant, acide, très dense ($d > 1,050$) et riche en extrait sec (181 g par l). 57% de cet extrait sec étaient des protéines solubles. (KAMOUN, 1995).

Le colostrum camelin est très différent du lait dans sa composition et ses propriétés. Une caractéristique très distinctive du colostrum est sa forte teneur en protéines et matière grasse environ $5,40 \pm 2,86$ % et $7,88 \pm 8,23$ contre environ $3,46 \pm 0,79$ % et $5,96 \pm 2,52$ respectivement dans le lait normal. La densité et l'acidité de colostrum sont très élevées que le lait (tableau X).

Tableau X : Composition du colostrum et du lait de dromadaires

Paramètre	Colostrum camelin		Lait camelin	
	Moyenne et Ecart-type	Référence	Moyenne et Ecart-type	Référence
MG (%)	7,88 ± 8,23	KONUSPAYEVA, 2007	5,96 ± 2,52	KONUSPAYEVA, 2007
Densité	1,050	KAMOUN, 1995	1,028 ± 0,001	EL HATMI et al., 2006
pH	6,52 ± 0,39	KONUSPAYEVA, 2007	6,40 ± 0,07	EL HATMI et al., 2006
Acidité D°	27,75 ± 3,83	KONUSPAYEVA, 2007	18,10 ± 1,13	EL HATMI et al., 2006
Protéine (%)	5,40 ± 2,86	KONUSPAYEVA, 2007	3,46 ± 0,79	KONUSPAYEVA, 2007
Lactose (%)	3,63	KONUSPAYEVA, 2007	3,00 ± 0,86	KONUSPAYEVA, 2007
Vitamine C (mg/L)	79 ± 80	KONUSPAYEVA, 2007	154 ± 105	KONUSPAYEVA, 2007
Ca (g/L)	0,589 ± 0,700	KONUSPAYEVA, 2007	1,65 ± 0,066	SBOUI et al., 2009
P (g/L)	0,404 ± 0,438	KONUSPAYEVA, 2007	1,003 ± 0,217	KONUSPAYEVA, 2007
Fer (mg/L)	2,50 ± 0,97	KONUSPAYEVA, 2007	1,20 ± 0,22	MINT MEILOUD, 2011

2.7.2.2. Composition protéique spécifique du colostrum

Les protéines majeures du colostrum sont l'IgG₁ et les immunoglobulines inhibitrices d'enzymes (IgG₂, IgG₃). Leurs concentrations à 1 h post-partum sont respectivement de 43.4 et 58.4 g/l. Le PP₃ jouerait un rôle dans la fonction immunitaire. Le colostrum camelin serait une source potentielle d'immunoglobulines inhibitrices applicables en fine thérapie humaine grâce notamment à ses deux spécificités: faible masse moléculaire (IgG₁-H55, IgG₂-H45, IgG₃-H-42) et absence de chaînes légères.

La concentration en lactoferrine est de 2,3 g/l au terme du deuxième jour de lactation L' α -lactalbumine est présente dans le colostrum et le lait à une concentration moyenne de 2.2 g/l entre la première et la 192^{ème} heure après mise-bas (KONUSPAYEVA, 2007)

2.7.2.3. Composition en minéraux et vitamines

Le Ca et le Pi sont deux éléments essentiels à la plupart des fonctions vitales de l'organisme. Leur métabolisme est fondamental dès les premiers jours de vie et pendant les phases de croissance osseuse. Toutefois, les besoins du jeune sont étroitement liés au degré de la production laitière maternelle. Le lait de la chamelle, en comparaison avec les autres espèces de ruminants domestiques, présente certaines particularités nutritionnelles et de composition. Sa production est extrêmement variable et dépend de facteurs variés d'ordre génétique, alimentaire, physiologique (déshydratation et stade de lactation) et des conditions générales climatiques et d'élevage (**EL KHASMI et al., 2005**)

Du tableau X, le teneur de Ca est élevé dans le lait par ordre $1,65 \pm 0,066$ que dans le colostrum par ordre $0,589 \pm 0,700$, par contre le teneur de Pi est important dans le colostrum que le lait.

Les niveaux de vitamine A, E et B1 étaient plus hauts dans le colostrum du chameau que le lait du chameau mûr. Cependant, la vitamine C restes satisfaits plus haut dans le lait du chameau mûr. La plus haute vitamine que le contenu C peut être attribuée à l'activité plus synthétique dans les tissus mammaires pendant phase tôt d'allaitement qui a décliné comme allaitement avancée. Le pH bas dû à la vitamine le contenu C se stabilise le lait et peut être resté pour les relativement plus longues périodes (tableau X) (**MAL et PATHAK, 2010**).

2.7.2.4. Immunoglobulines colostrales

Les IgG jouent un rôle dans le système immunitaire chez les nouveau-nés. Le taux des immunoglobulines est très élevé dans le colostrum chez tous les mammifères. Cependant, la concentration d'immunoglobulines dans le lait varie selon les espèces concernées (**KONUSPAYEVA et al., 2003**)

Trois classes fonctionnelles d'IgG sont définies chez le dromadaire: Ig1, qui est composée de deux chaînes légères identiques et de deux chaînes lourdes comme dans les autres IgG; Il existe donc deux autres isotopes. Ce qui est remarquable, c'est que l'organisation des anticorps à chaînes lourdes du dromadaire diffère complètement de ce

qui est connu chez les autres vertébrés (ATARHOUCHE *et al.*, 1997). Du point de vue structural, les IgG du dromadaire sont plus proches des immunoglobulines humaines que de celles des autres ruminants.

Le pic d'IgG dans le colostrum est de $0,26 \pm 0,232$ mg/ml. Il se situe entre 18 et 30 heures après la naissance (HULSEBUSH, 1999). Dans le lait, la concentration est plus faible mais la teneur répertoriée dans le lait de chamelle est quatre fois supérieure à celle de la vache à 0 °C, et six fois plus élevée à 65 °C. Par ailleurs, elle est plus thermorésistante: il reste 0,048 mg/ml d'IgG dans le lait de chamelle à 85 °C alors qu'elle disparaît dans le lait de vache (ELAGAMY, 2000 *In* KONUSPAYEVA *et al.*, 2003).

2.7.2.5. Activité antimicrobienne du colostrum camelin

Pour tous les mammifères, le colostrum est considéré comme une nourriture vitale de nouveau-né dans les premiers jours après la naissance. Il protège le nouveau-né contre les maladies infectieuses, dû à son action combinée d'une haute concentration de transfert immunité compte et de système inhibiteur non spécifique (lactoferrine, lactoperoxydase et oxydase de la xanthine) présent dans ces fluides biologiques.

L'activité antimicrobienne du colostrum de chameaux peut être partiellement due à la lactoferrine et immunoglobulines, El HATMI *et al.* (2007) ont montrés que le colostrum contient une grande quantité d'immunoglobulines. Un grand nombre d'études a démontré un effet bactéricide et bactériostatique de lactoferrine du colostrum de différente espèce autre que le chameau. Dans conclusion, le colostrum camelin contient différent facteurs antimicrobiennes protectives incluent les peptides publié pendant le processus de la digestion qui peut exercer un impact salutaire sur la santé du boyau, en particulier pour le système de la défense immunisé bas d'enfants, assez âgé et le convalescent (JRAD *et al.*, 2011).

Matériel et méthodes

II. Matériel et méthodes

1. Matériel biologique

1.1. Colostrum camelin

L'échantillon du colostrum utilisé comme source d'isolement des micro-organismes étudié est collecté à partir d'une chamelle (*Camelus dromedarius*) provenant de Wilaya de Ghardaïa le 16 Mars 2013. Leur alimentation est basée sur la consommation des plantes spontanées dans parcours sahariens.

L'échantillon est mis dans une bouteille propre, placée immédiatement dans une glacière contenant des blocs réfrigérant et transporté vers le laboratoire de Microbiologie de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et du l'Univers.

L'échantillon de colostrum camelin analysé caractérise par une couleur crème translucide, épais, acide et salée.

1.2. Milieux de culture

1.2.1. Milieu PCA

Le milieu Plate Count Agar ou P.C.A. est une gélose ordinaire utilisé pour le dénombrement en microbiologie alimentaire. C'est une gélose à base de peptone de caséine et elle comporte diverse variantes (**GUIRAUD et ROSEC, 2004; JOFFIN et LEYRAL, 2006**). C'est un milieu prête à l'emploi sa compositions figure en (Annexe 1)

1.2.2. Milieu PDA

Le milieu Plate Dextrose Agar est utilisé pour la culture, l'isolement et la numérotation des levures et moisissures, il est utilisé dans l'analyse alimentaire (**GUIRAUD et ROSEC, 2004**). C'est un milieu prête à l'emploi sa compositions figure en (Annexe 1).

1.2.3. Milieu MRS

Le milieu de Man Rogosa et Sharpe milieu fréquemment employé sous forme gélosée pour l'isolement sélectif des lactobacilles, il est utilisé pour l'isolement et le

dénombrement des lactobacilles et de la plupart des autres genres de bactéries lactiques. Il possède des sources de carbone, de glucose, acétate, de citrate, et du Tween comme source d'oléate. Selon la sélectivité désirée, il est ajusté à pH 6,5 ou 5,5 (**GUIRAUD et ROSEC, 2004; FEDERIGHI, 2005**). C'est un milieu prêt à l'emploi. Sa composition figure en annexe 1.

1.2.4. Milieu Chapman

Il est utilisé pour l'isolement des bactéries halotolérantes. C'est un milieu de culture sélectif hypersalé utilisé pour isoler les staphylocoques (**JOFFIN et LEYRAL, 2006; ANNONYME -3, 2003**). C'est un milieu prêt à l'emploi. Sa composition figure en annexe 1.

1.2.5. Milieu VRBG

Le milieu gélose au cristal violet rouge neutre et à la bile et au glucose est utilisé pour le dénombrement des entérobactéries (**JOFFIN et LEYRAL, 2006**). C'est un milieu prêt à l'emploi. Sa composition figure en annexe 1.

1.2.6. Milieu Elliker

Est utilisable pour la plupart des genres de bactéries lactiques. Il contient en proportions équivalentes, de glucose, de lactose, et de saccharose (**FEDERIGHI, 2005**). C'est un milieu prêt à l'emploi. Sa composition figure en annexe 1.

1.2.7. Milieu Désoxycholate lactose-gélose

Il est utilisé pour le dénombrement des coliformes en microbiologie alimentaire (**JOFFIN et LEYRAL, 2006**). C'est un milieu prêt à l'emploi. Sa composition figure en annexe 1.

2. Méthodes analytiques

Les différentes méthodes utilisées dans cette étude sont résumé dans la figure 2.

2.1 .Méthodes physico-chimiques

2.1.1. pH

La valeur du pH est lue directement sur le pH mètre (marque **WTW SERIES pH 720**) après immersion de son électrode dans l'échantillon à analyser. Les mesures sont précédées d'une étape d'étalonnage qui consiste en un ajustement du cadre de lecture du pH à l'aide d'une solution de pH connue (solution pH étalon) (Annexe 2), (**AFNOR, 1986**).

2.1.2. Acidité titrable

L'acidité est déterminée par le dosage de l'acide lactique à l'aide de l'hydroxyde de sodium à 0,11 moles/l. La présence de phénolphtaléine, comme indicateur coloré, indique la limite de la neutralisation par changement de couleur (rose pale). Cette acidité est exprimée en degré Dornic (°D) où : 1 D° représente 0,1 g d'acide lactique dans un litre de lait (Annexe 3), (**AFNOR, 1980**).

2.1.3. Densité

La densité du lait (dans cette étude le colostrum) est déterminée à l'aide d'un lactodensimètre graduée dans une éprouvette de 250 ml remplie de l'échantillon à analyser la lecture donne directement la valeur de la densité (**AFNOR, 1980**).

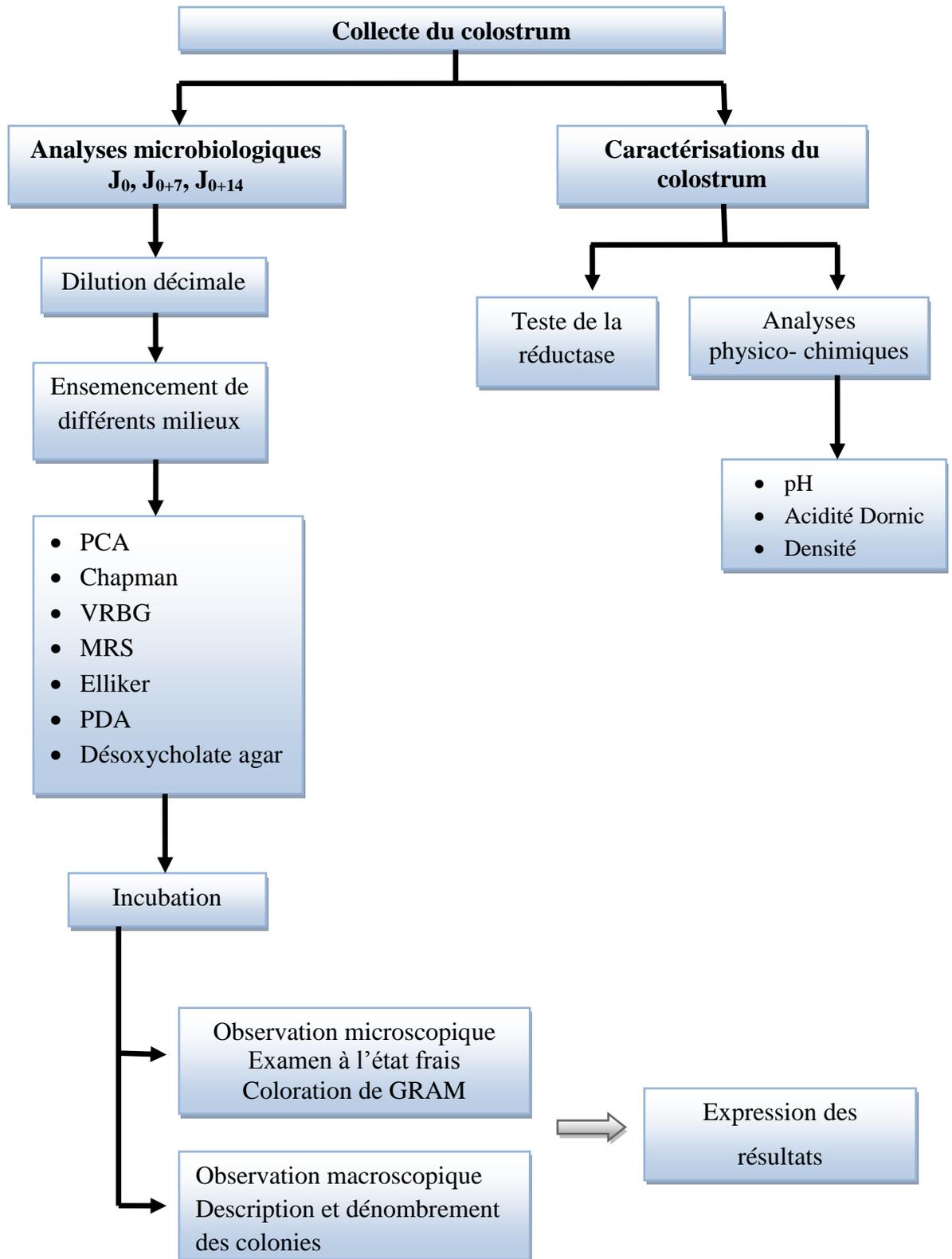


Figure 2 : Procédure expérimentale

2.2. Analyses microbiologiques

Excepté, le test de la réductase, les analyses macroscopiques, microscopiques et le dénombrement sont effectuée le premier, le septième et le quatorzième jour de l'entreposage du colostrum (J_0 , J_{0+7} , J_{0+14}) à la température ambiante (25°C).

2.2.1. Diluant

Nous avons utilisé un diluant adapté pour les bactéries aérobies mésophiles. Il est composé de :

- 1g de peptone pancréatique de caséine ;
- 8.5g de chlorure de sodium;
- 1000 ml d'eau distillée (**LARPENT et al., 1997**).

Nous avons préparé des dilutions de 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} .

2.2.2. Dilutions décimales

Elles sont généralement décimale 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , et réalisées en reportant 1cm^3 du produit, ou d'une dilution dans 9cm^3 de diluant approprié stérile, soit une dilution au 1/10. Bien homogénéiser par agitation le contenu de chaque tube avant de prélever l'inoculum et de le transvaser dans le tube suivant (**JOFFIN et LEYRAL, 2006**).

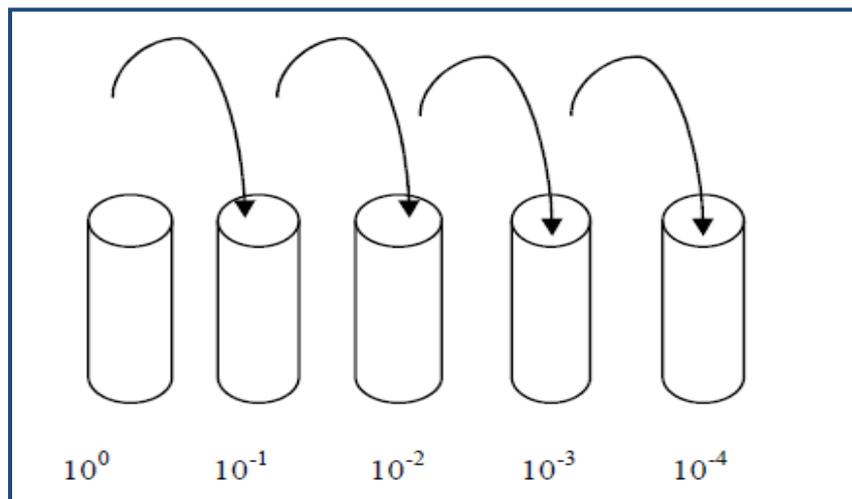


Figure 3: dilution décimale

2.2.3. Ensemencement

Dans la technique de numération en profond, les différentes dilutions sont réparties dans des boîtes de Pétri stériles. Un inoculum précis est placé dans chaque boîte, soit le milieu approprié, fondu et maintenu en surfusion vers 45° C. Le volume de milieu doit être suffisant mais il est inutile de le mesurer avec précision. Il est important de bien homogénéiser par rotation de la boîte, l'inoculum et le milieu (**JOFFIN et LEYRAL, 2006**).

2.2.4. Test de la réductase

Cette méthode, n'applique qu'à des laits n'ayant pas subi de réfrigération. Il s'agit d'une mesure indicatrice de la densité bactérienne (Annexe 4), (**BOURGEOIS et LEVEAU, 1980**).

2.2.5. Test de la catalase

La catalase est une enzyme présente dans certaines chaînes respiratoires cytochrome bactériennes. La catalase permet la décomposition du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) produit par la souche. Sa recherche consiste à mettre en contact la colonie avec de l'eau oxygénée à 10 volumes. Une effervescence due à un dégagement gazeux traduit la présence de cette enzyme (Annexe 5), (**DELARASS, 2007; BENHEDANE -BACHTARZI, 2012**).

2.2.6. Etude de la flore microbienne

On effectue les mêmes analyses pour l'analyse de lait sur l'échantillon de colostrum camelin. Nous avons procédé dans cette étude à l'ensemencement et au dénombrement des différents groupes susceptibles d'évoluer dans l'échantillon de colostrum camelin par trois répétitions effectuées pour chaque analyse. Pour interpréter les résultats, on ne tient compte que des boîtes qui contiennent entre 30 et 300 colonies (en surface et dans la masse) (**BOURGEOIS et LEVEAU, 1980**). Le dénombrement est facilité par l'emploi de compteur de colonies (marque **Funk GERAER**).

Le tableau XI récapitule les conditions de culture des différents groupes bactériens évoluant dans le colostrum :

Tableau XI: Milieux nutritifs et conditions de culture des différents groupes microbiens susceptibles d'évoluer dans le colostrum.

Milieux de culture	Micro-organismes recherchés	Type d'ensemencement	Température et durée D'incubation
PCA	Germes totaux	P	30°C / 48h
Chapman	Halotolérantes	S	30°C / 48h
VRBG	Entérobactéries	P	37°C / 24 à 48h
Désoxycholate	Coliformes	P	37°C / 48h
PDA	Levure et moisissures	S	26°C / 72h
Elliker	Bactéries lactiques mésophiles	P	30°C / 48h
Elliker	Bactéries lactiques thermophiles	P	45°C / 48h
MRS	Lactobacilles	P (DC)	35°C / 72h

2.2.7. Observations macroscopique

Pour l'examen macroscopique des bactéries communes aérobies strictes et anaérobies facultatives, les souches bactériennes doivent être cultivées sur un milieu gélosé solide en boîte de Pétri et dans un milieu liquide en tube, a fin de déterminer les caractères culturaux de ces bactéries (DELARRAS, 2007). Cette observation consiste à déterminer les caractéristiques morphologiques des colonies (taille, forme, couleur, contour, aspect).illustrée par des photos et par le teste de la catalase.

2.2.8. Observations microscopiques

Apport des renseignements morphologiques utiles mais il ne constitue qu'une première orientation et ne permet que rarement à lui seul l'identification précise du germe observé (BOULAHBAL, 1993).

2.2.8.1. Examen à l'état frais

Il permet l'observation des bactéries vivantes et la détermination de leur morphologie, de leur mode de groupement, de leur mobilité éventuelle et de la qualité approximative de bactérie (Annexe 6), (DELARRAS, 2007).

2.2.8.2. Examen après coloration de GRAM

Cette coloration ancienne, découverte par Hans Joachim GRAM en 1884, modifiée à plusieurs reprises, demeure fondamentale de 12ans plus tard en bactériologie. C'est un élément supplémentaire est fournis par une coloration différentielle (Annexe 7), (DELARRAS, 2007; BOULAHBAL, 1993).

2.3. Mesure l'activité antimicrobienne du colostrum vis-à-vis la souche de *Staphylococcus aureus*

2.3.1. Isolement de la souche cible (*Staphylococcus aureus*)

A partir un échantillon du colostrum l'isolement en fait comme suit: 1ml de colostrum introduit dans 9ml de diluant appropriée stérile pour obtention de la solution mère puis en réalise des dilutions décimales successives dans le même diluant jusqu'à une dilution 10^{-4} .

2.3.2. Repiquage de la souche

Le repiquage est réalisé en milieu solide en utilisant une anse de platine (calibrée) ou un ensemenceur (calibré) à usage unique, ou encore une pipette Pasteur boutonnée stérile (DELARRAS, 2007). Le repiquage se fait successivement en gélose de Chapman (Annexe 12).

2.3.3. Enrichissement

Dans un milieu d'enrichissement généralement bouillon de culture (BN) (DELARRAS, 2007) L'enrichissement se fait pour but d'amplifier la culture bactérienne avant le teste de l'antibiogramme.

2.3.4. Antibiogrammes

2.3.4.1. Méthode des puits

Trois boîtes de pétri contenant le milieu Chapman sont inoculées par la germe cible (*Staphylococcus aureus*). Sur chaque boîte on creuse des puits en utilisant l'extrémité d'une pipette de Pasteur stérile (diamètre de 4,5 mm). Les puits sont remplis par la suite, par 50 µl de différentes dilutions de colostrum camelin. Les boîtes de pétri ainsi préparées sont pré-incubées pendant 2 à 4 heures à + 4 °C, afin de permettre la diffusion radiale de l'agent inhibiteur. Une incubation s'effectue alors à 37 °C pendant 18 à 24 heures, en aérobiose. L'activité vis-à-vis de la dilution est mise en évidence par l'apparition d'une zone d'inhibition (zone claire) autour du puits.

L'expression des résultats selon **DOUMANDJI et al (2010)**. La mesure du diamètre d'inhibition (Zi) est effectuée selon la formule suivante:

$$\text{Zi en (mm)} = \text{diamètre de la zone d'inhibition obtenue (mm)} - \text{diamètre de puits (4,5 mm)}$$



Photo 3: Méthode des puits

2.3.4.2. Méthode des disques

On dépose sur la géloseensemencée d'une boîte de Pétrie des disques de papier filtre préalablement stériles. Ces disques ont été préalablement imprégnés avec des solutions de diverse dilution du colostrum, séchés puis incubés à 37° C pendant 24h (ANNONYME -4, 1974).



Photo 4 : Méthode des disques

Résultats et discussion

III. Résultats et discussion

1. Qualité physico-chimique du colostrum camelin

Les caractéristiques physicochimiques du colostrum camelin, à savoir la densité, l'acidité titrable et le pH ont été déterminés durant la durée de l'entreposage, dans un but comparatif (tableau XI).

Tableau XI: Evolution des paramètres physico-chimiques du colostrum camelin durant son entreposage à la température ambiante

	J ₀	J ₀₊₇	J ₀₊₁₄
pH	6,31	5,06	4,54
Acidité D°	40	70	140
Densité	1,050	1,050	1,050

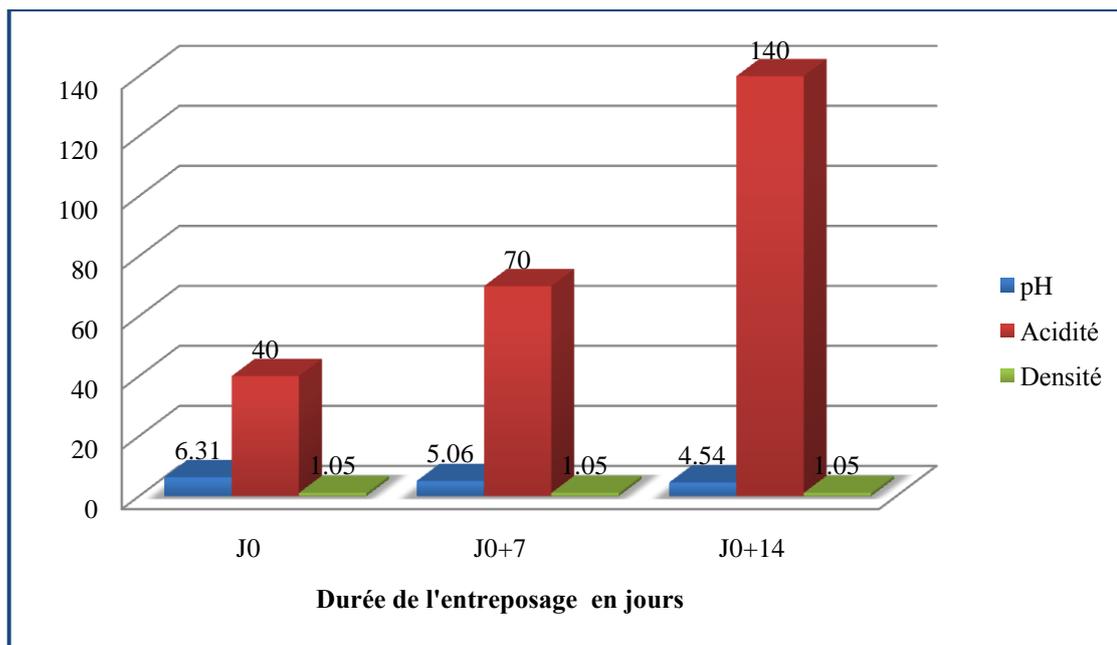


Figure 4: Evolution les paramètres physico-chimiques du colostrum durant son entreposage à la température ambiante

On observe une élévation de l'acidité et une diminution du pH. Cette variation résulte à cause d'une augmentation de la concentration d'acide lactique dans le colostrum produit par la flore endogène à partir du lactose. La densité reste constante durant l'entreposage.

1.1. pH

La figure 5 illustre la variation du pH d'échantillon de colostrum entreposé à la température ambiante.

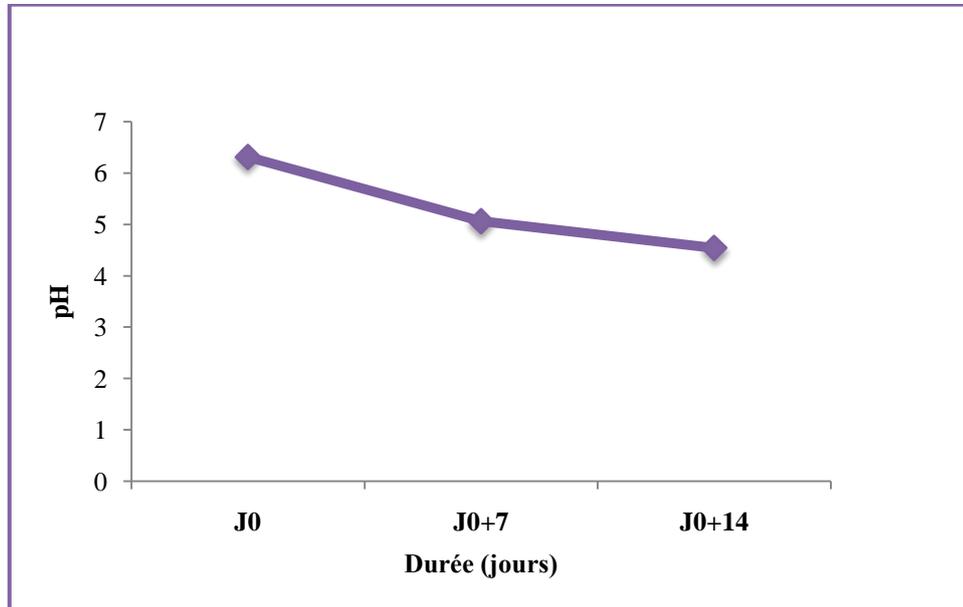


Figure 5: Evolution du pH du colostrum camelin durant l'entreposage à la température ambiante

Le pH de colostrum camelin frais est égal à 6,31. Cette valeur diminue au fur et à mesure de l'entreposage à température ambiante. Elle se situe tout fois entre l'intervalle des valeurs rapportées par **KONUSPAYEVA, (2007)** (6,96 et 5,80). A titre comparatif le colostrum bovin présente un pH de l'ordre de 6,4 (**ALLEMAND, 2008**). Cette diminution du pH aurait pour origine la richesse du colostrum en acide ascorbique (**AIT-ABDALOUAHAB, 2001**). Sa richesse en protéines confère au colostrum un pouvoir tampon relativement élevé (**ALLEMAND, 2008**).

1.2. Acidité titrable

La figure 6 représente l'évolution de l'acidité titrable en fonction de la durée de stockage

L'échantillon de colostrum camelin frais analysé, présente une acidité titrable de l'ordre de 40°D. Cette valeur est comparable à celle rapportée par **KONUSPAYEVA, (2007)** (35,55°D).

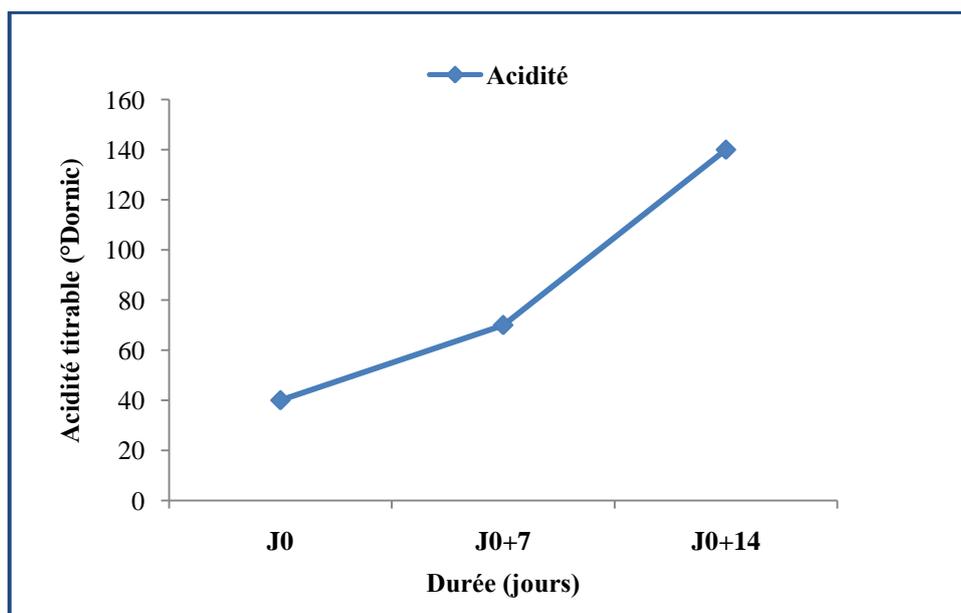


Figure 6: Evolution de l'acidité titrable du colostrum camelin durant l'entreposage à la température ambiante

L'acidité du colostrum camelin analysé est plus élevée que celle rapporté par **SBOUI et al., (2009)** pour le lait camelin qui est d'ordre $17,25 \text{ }^{\circ}\text{D} \pm 1,035$.

Durant le stockage, le colostrum devient de plus en plus acide. Au J_{0+14} son acidité dornic est égale à $140 \text{ }^{\circ}\text{D}$. Bien que l'acidité soit aussi élevée le pH diminue relativement peu (pH 4,54). Ceci est dû au pouvoir tampon élevé de ce bioproduit, rapporté par d'autres auteurs (**KONUSPAYEVA, 2007**).

1.3. Densité

La valeur de la densité d'échantillon de colostrum camelin est égale à 1,050. Elle est similaire aux valeurs rapportées par **KAMOUN (1995)**. Elle est très proche à la densité de colostrum bovin qui est égale à 1,056 (**FOLEY et al, 1978; MANGIN, 2002**).

La densité du colostrum camelin est plus élevée que celle de lait camelin qui est égale à 1.023 ± 0.0047 (**SIBOUKEUR et SIBOUKEUR, 2012**). Cette différence dépend directement de la teneur en matière sèche qui est plus importante dans le

colostrum soit 181 g par l contre 113,11 g/l dans le lait (KAMOUN, 1995; SIBOUKEUR, 2007). Elle serait également liée à la fréquence d'abreuvement.

2. Qualité microbiologique du colostrum camelin

Afin de mieux comprendre le comportement de la microflore du colostrum de chamelle, nous avons entrepris d'évaluer la flore microbienne initiale et de suivre son évolution durant l'entreposage de ce dernier à la température ambiante.

2.1. Estimation de la qualité hygiénique du colostrum

Les bactéries, en se développant, utilisent l'oxygène dissous, et abaissent le potentiel d'oxydo-réduction du milieu. Ceci peut être mis en évidence par la réduction d'indicateurs d'oxydo-réduction colorés. C'est une méthode globale, qui ne tient pas compte des activités réductrices spécifiques de chaque groupe bactérien. De ce fait elle n'est pas toujours en concordance avec le dénombrement en gélose. Cette évaluation indirecte a l'avantage d'être rapide, simple, économique, et de pouvoir se réaliser sur des volumes importants. L'activité réductrice peut être mesurée en évaluant le temps nécessaire pour obtenir un virage du bleu de méthylène (BOURGEOIS et LEVEAU, 1980).

Le temps de réduction du bleu de méthylène du colostrum ayant fait l'objet de la présente étude dépasse les huit heures. Ce résultat indique que le colostrum analysé est de bonne qualité hygiénique (Annexe 8). Ceci indique que la charge microbienne est très faible. La richesse du colostrum en protéines protectrices (LF, Lz, Ig) en serait responsable.

2. 2. Examens macroscopiques et microscopiques des colonies

Les observations des boites incubées montrent l'apparition des colonies différentes (Annexe 10, 11). Le tableau XII mentionna les principaux caractères des différents types de colonies observées.

Discussion

Dans le milieu PCA, il y a une apparition des colonies de couleur blanche, de tailles différentes en forme de cocci isolées, de chaînettes, en profondeur et à la surface.

Les colonies halotolérantes sont de couleur jaune à orange et provoquent un jaunissement du milieu Chapman. Ces colonies se trouvent à la surface sous forme de coques regroupés en amas (grappe de raisin).

Par ailleurs, le milieu PDA permet d'observer seulement des levures qui apparaissent sous forme de colonies blanches de forme coque à ovoïde, en surface.

On constate que les bactéries lactiques apparaissent sous forme d'un seul type des colonies de couleur blanche, elles sont lisses en forme de cocci, regroupés en chainettes ou isolés.

Les lactobacilles se développent en gélose MRS isolés sous forme de colonies de couleur blanche à brun-clair. Les cellules sont sous forme .de coques.

On observe une absence totale des coliformes, des entérobactéries et des bactéries lactiques thermophiles dans toutes les dilutions durant l'expérimentation.

Tableau XII: Caractéristiques des différents types des colonies trouvées après la culture

Milieux de culture	Bactéries	Caractéristiques macroscopiques		Caractéristiques microscopiques			
		Aspect des colonies	Catalase	Aspect des cellules	Mobilité	Gram	Mode de groupement
PCA	Germes totaux	Colonies Blanches de différentes tailles lisses Les colonies soit à la surface soit en profondeur	+	Cocci	Immobiles	-	Isolées et en chaînettes
Chapman	Les halophiles	Colonies de couleur Jaunes claires et foncées lisses et ridés de tailles différentes à la surface	+	Cocci	Immobiles	+	Grappe de raisin et en chaînettes
MRS	Les lactobacilles	Colonies Blanches de tailles différentes lisses	+	Cocci	Immobiles	+	En chaînettes et isolées
Elliker	Bactéries lactiques mésophiles	Colonies de couleur Blanche de différentes tailles lisses à la surface et en profondeur	+	Cocci	Immobiles	+	En chaînettes et isolées
PDA	Levures et moisissures	Levures seulement	+	Cocci	Mobiles	+	Isolées et en chaînettes
VRBG	Les entérobactéries	-	-	-	-	-	-
Désoxycholate	Les coliformes	-	-	-	-	-	-

2.3. Evolution de la flore microbienne du colostrum camelin en fonction des conditions et de la durée de l'entreposage

2.3.1. Evolution de la flore endogène

Les résultats relatifs à l'évolution de la flore lactique du colostrum camelin analysé sont illustrés par la figure 7.

Les bactéries lactiques thermophiles cultivées sur le milieu Elliker à 45 °C/48 heures sont absents de J₀ à J₀₊₁₄. Par contre les taux des mésophiles cultivées à 30° C/48 heures augmente de J₀ à J₀₊₇, puis se stabilise quelque peu jusqu'au J₀₊₁₄.

Par ailleurs, le nombre de lactobacilles (cultivés sur milieu MRS) semble diminuer très lentement jusqu'à J₀₊₇. A partir de J₀₊₈, leur nombre augmente.

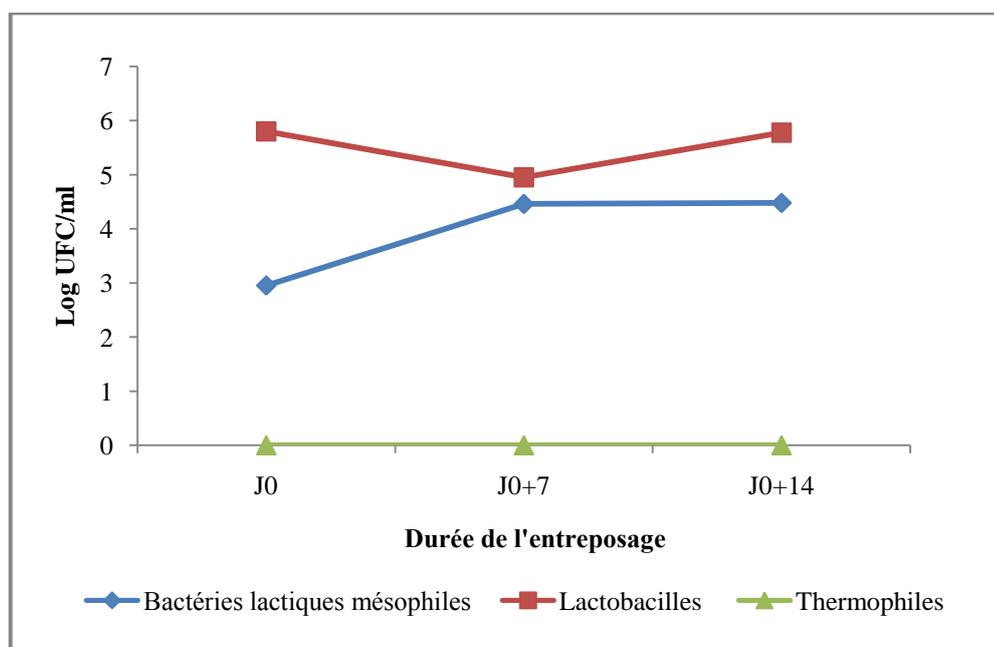


Figure 7: Evolution de la flore naturelle du colostrum camelin durant l'entreposage à la température ambiante

Les bactéries lactiques se développent à bas pH. Leur développement est optimal à pH 5,5, et s'arrête à pH 3,5 (DAVIS, 1973). Le colostrum camelin ayant un pH 6,31, favorise le développement des bactéries lactiques qui produisent simultanément des substances actives (acide lactique, acide acétique, eau oxygénée et bactériocines...).

Le comportement des bactéries lactiques thermophiles aurait pour origine le pH du colostrum camelin qui varie durant la durée de l'entreposage de 6,31 à 4,54. Ce pH ne favorise pas le développement de la flore thermophile est exige un pH de l'ordre de 3,8 (LUQUET, 1986).

2.3.2. Evolution de germes totaux

L'évolution des germes totaux de l'échantillon de colostrum camelin entreposé durant 14 jours à la température ambiante cultivé sur le milieu PCA à 30° C/48 heures est représenté dans la figure 8.

Nous enregistrons une augmentation du taux de germes totaux au fur et à mesure de la durée de l'entreposage. La valeur la plus élevée est enregistrée à J₀₊₁₄.

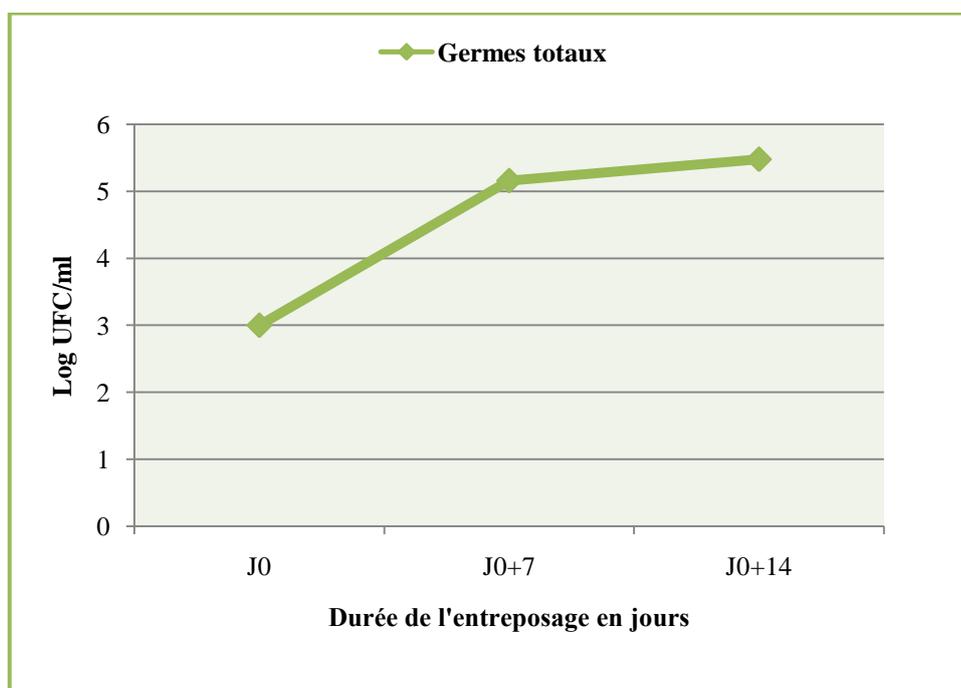


Figure 8: Evolution de germes totaux du colostrum camelin durant l'entreposage à la température ambiante

L'augmentation du taux de germes totaux dans le colostrum camelin durant l'entreposage indique que le colostrum est un milieu favorable pour leur développement.

2.3.3. Evolution de la flore exogène

2.3.3.1. Flore halotolérante

L'évolution des bactéries halotolérantes cultivées sur milieu Chapman à 37° C/48 heures est illustrée par le figure 9.

La courbe d'évolution des germes halotolérantes à la température ambiante laisse apparaître une chute brutale des halotolérantes au delà du premier jour (J₀). Le taux de germes halotolérantes à J₀ est égale à 10³ UFC/ml.

La fréquence de contamination des denrées alimentaires par *Staphylococcus aureus* est très variable selon les études et les produits (de 1 à plus de 80%). Le niveau de contamination est en général relativement faible (moins de 100 à moins de 1000 UFC /g), excepté dans les denrées crues ou il peut être plus élevé (**FEDERIGHI, 2005**).

La présence des bactéries halotolérantes montre donc que l'échantillon de colostrum ayant fait l'objet de présente étude est plus ou moins salé. Cette salinité est due soit à l'alimentation (pâturage) soit à l'eau (**FARAH, 1993**).

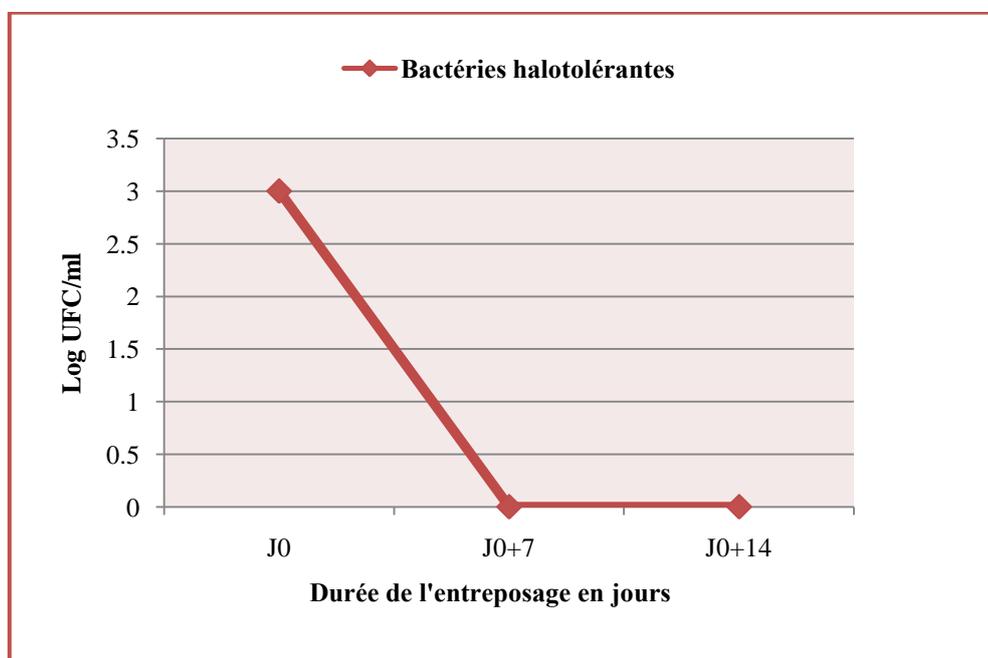


Figure 9: Evolution de bactéries halotolérantes du colostrum camelin durant l'entreposage à la température ambiante

Les staphylocoques, se développent à pH neutre, l'acidité provoquée par la fermentation lactique joue un rôle important dans l'inhibition de leur développement (KLAENHAMMER et al, 1994), ceci qui peut expliquer la diminution des halotolérantes après le premier jour. En plus, les bactéries lactiques trouvées dans le colostrum ont un rôle bactériostatique ou bactéricide vis à vis d'espèces nuisibles responsables des défauts sensoriels des aliments fermentés (*Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Flavobacterium*, etc...) ou présentant des risques pour la santé publique (*Salmonella*, *Clostridia*, *Staphylococcus*, ...etc) (CHAMBA et al, 1994 ; KLAENHAMMER et al, 1994).

2.3.3.2. Coliformes et entérobactéries

L'évolution de coliformes et d'entérobactéries est illustrée par la figure 10. Cette flore pathogène cultivées sur les milieux au Désoxycholate- agar et VRBG à 37° C/ 48 heures respectivement est absente dans le produit analysé de J₀ à J₀₊₁₄. Donc les coliformes et les entérobactéries ne se développent pas dans le colostrum camelin durant la durée de l'entreposage. Ceci indique l'absence d'une contamination exogène.

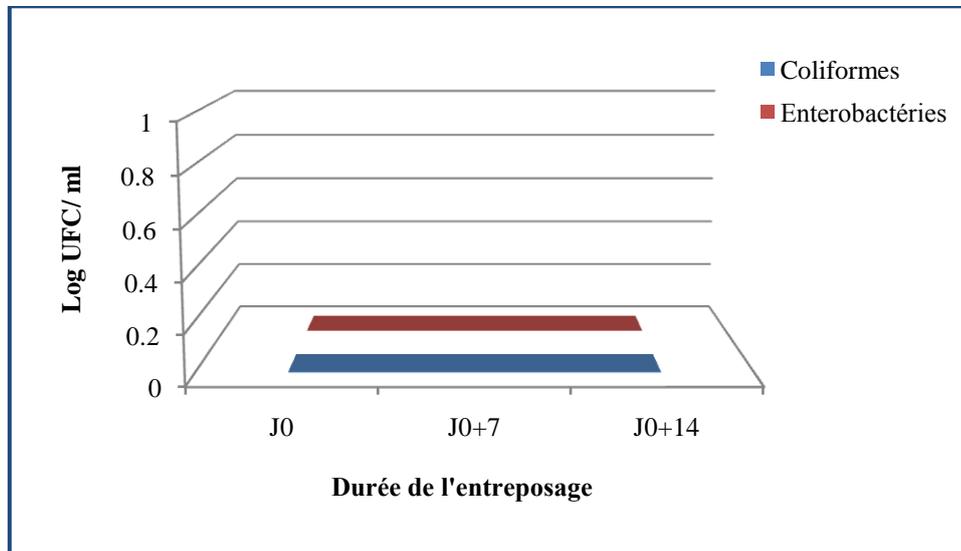


Figure 10: Evolution de coliformes et d'entérobactéries du colostrum camelin durant l'entreposage à la température ambiante

Par ailleurs, le pH du colostrum (6,31) inhibe fortement leur développement. Par ailleurs l'acidité induite par la flore indigène a pour effet de prévenir le développement de la microflore pathogène (MEYER, 1999).

2.3.3.3. Evolution des levures

L'évolution des levures dans le colostrum camelin entreposé à la température ambiante cultivé sur le milieu PDA à 28° C/ 72 heures est illustré dans la figure 11. On observe que l'évolution des levures est ascendante du J₀ de l'entreposage jusqu'à J₀₊₁₄.

Les levures sont des champignons microscopiques unicellulaires possédant un métabolisme fermentaire. Elles sont en général, acidophiles et mésophiles et se multiplient à des pH compris entre 3 et 7,5 (GUIRAUD et ROSEC, 2004). A cause de ces caractères les levures peuvent se développer dans le colostrum camelin (pH 6,31). L'augmentation de leur taux durant l'entreposage s'explique par l'augmentation de l'acidité du colostrum durant son entreposage.

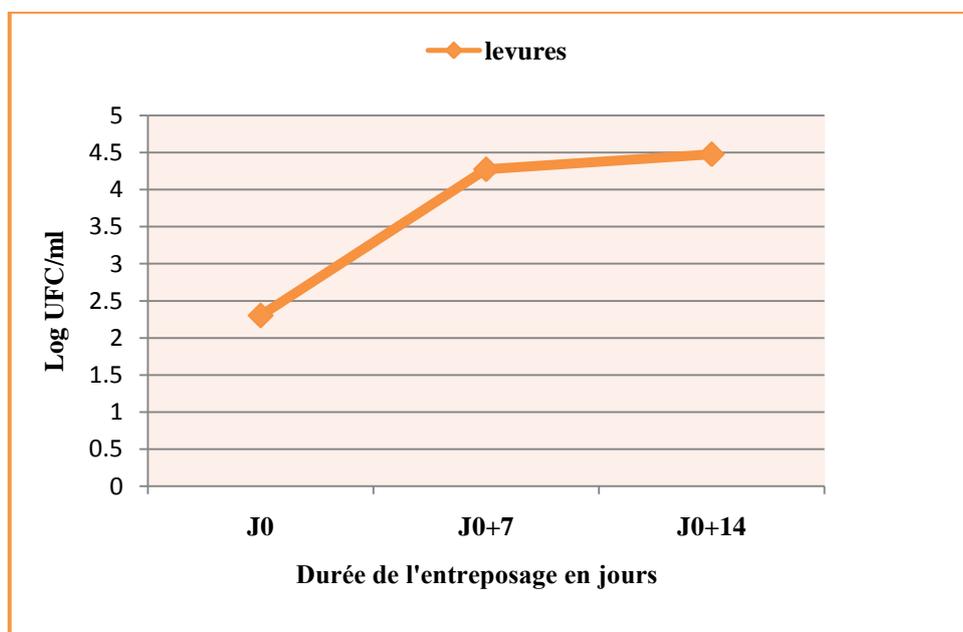


Figure 11: Evolution des levures du colostrum camelin durant l'entreposage à la température ambiante

3. Etude de l'activité antimicrobienne du colostrum contre *Staphylococcus aureus*

La possibilité que le colostrum camelin avec différentes concentrations puisse exercer une action inhibitrice vis-à-vis de souche microbienne de contamination (*Staphylococcus aureus*) a été examinée par les méthodes des disques et des puits où la diffusion du colostrum à la surface d'un milieu gélosé (Chapman) et l'inhibition (zone

d'inhibition ou ZI) exercée par ce colostrum sur cette souche est relevée dans (Photos 5 et 6).

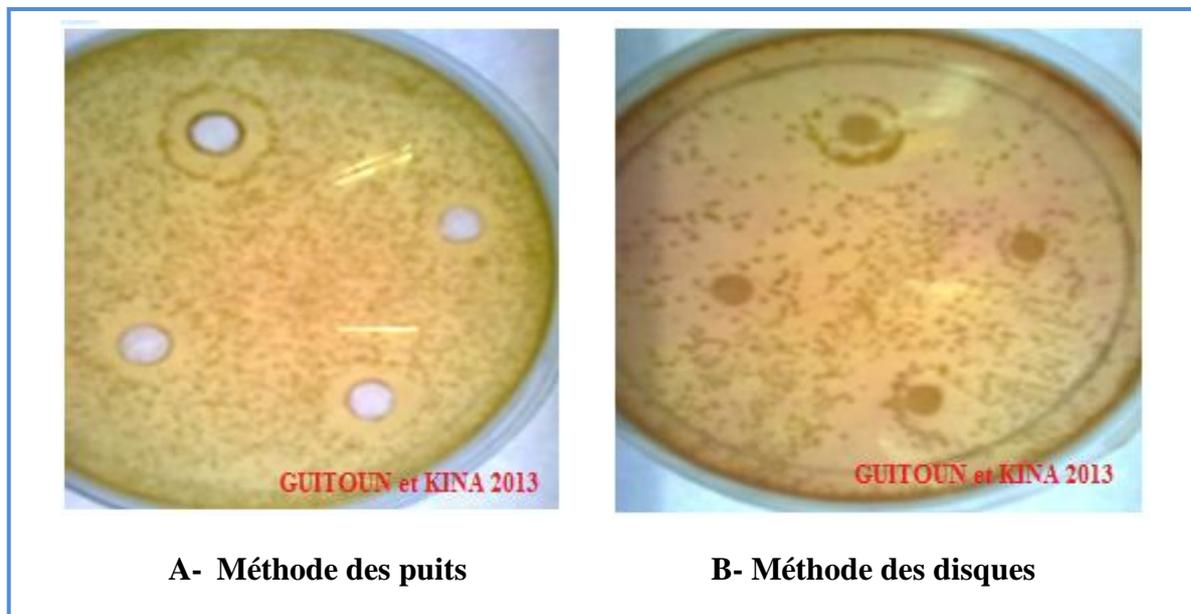


Photo 5 : Étude de l'activité antibactérienne du colostrum camelin non dilué (A et B)

Les deux méthodes sont utilisées (puits et disques) pour tester l'activité antibactérienne du colostrum camelin contre *Staphylococcus aureus*. Des zones d'inhibitions, plus importants ont été enregistrées avec la méthode des puits. Ce résultat indique la sensibilité de *Staphylococcus aureus* au colostrum. Cette sensibilité (Photos 5 et 6) aurait pour origine la richesse du colostrum en facteurs antimicrobiens (Lactoferrine, la lactoperoxydase, le lysozyme et les immunoglobulines...etc).

Les bactéries GRAM-négatif sont plus résistantes au lysozyme car elles possèdent une paroi riche en lipopolysaccharides protégeant les bactéries contre l'accès du lysozyme. En revanche, les souches de *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus lentus*, *Staphylococcus epidermis*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguis*, sont sensibles au lysozyme (**KONUSPAYEVA, 2007**).

La lactoperoxydase du colostrum de chamelle a des propriétés bactériostatiques contre les bactéries GRAM positif et des propriétés bactéricides contre les souches GRAM négatif. Parmi les bactéries sensibles au système LSP, on cite les espèces *Staphylococcus aureus*, *Salmonella species*, *Shigella sonnei*etc (**KONUSPAYEVA, 2007**).

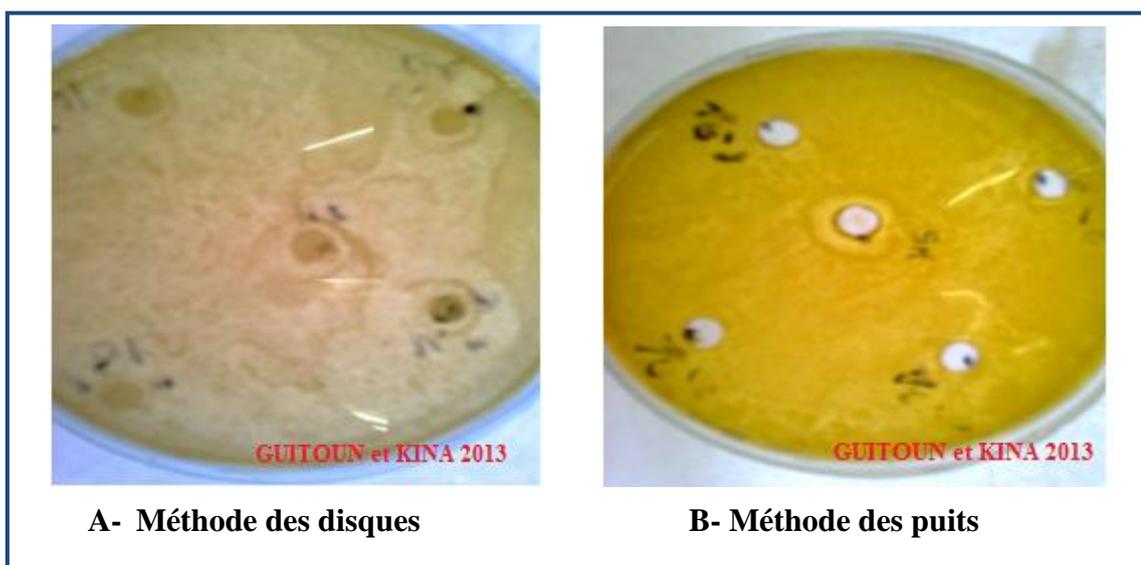


Photo 6 : Etude de l'activité antibactérienne du colostrum camelin dilué (A et B)

La LF n'a pas d'effet bactéricide sur les germes qui ont un très faible besoin en fer (**KONUSPAYEVA, 2007**). Pour les staphylocoques le fer est indispensable à leur croissance et l'une des méthodes de défense de l'hôte est la diminution de la fraction disponible du fer (fixation à la lactoferrine et à la transferrine). *S. aureus* s'adapte en sécrétant des sidérophores capables de capter et de transporter le fer dans la bactérie (**EVEILLARD, 2007**). Mais les immunoglobulines du colostrum de chamelle ont un faible effet antibactérien (**ELAGAMY et al, 1992 In KONUSPAYEVA, 2007**).

L'activité antibactérienne du colostrum dépend de sa concentration pour cela on a réalisé différentes dilutions de colostrum dans le but de déterminer la dose inhibitrice minimale (DMI) (figure 12).

La figure 12 indique que le diamètre de la ZI varie selon la concentration du colostrum. Le diamètre maximal est égal à 10 mm pour le colostrum non dilué et le diamètre minimal est égal à 4 mm pour la dilution 10^{-3} . C'est-à-dire que le colostrum non dilué donne une bonne activité antibactérienne contre le *Staphylococcus aureus*. La dose minimale inhibitrice est obtenue avec la dilution 10^{-3} . La dilution 10^{-4} ne donne aucune activité antibactérienne.

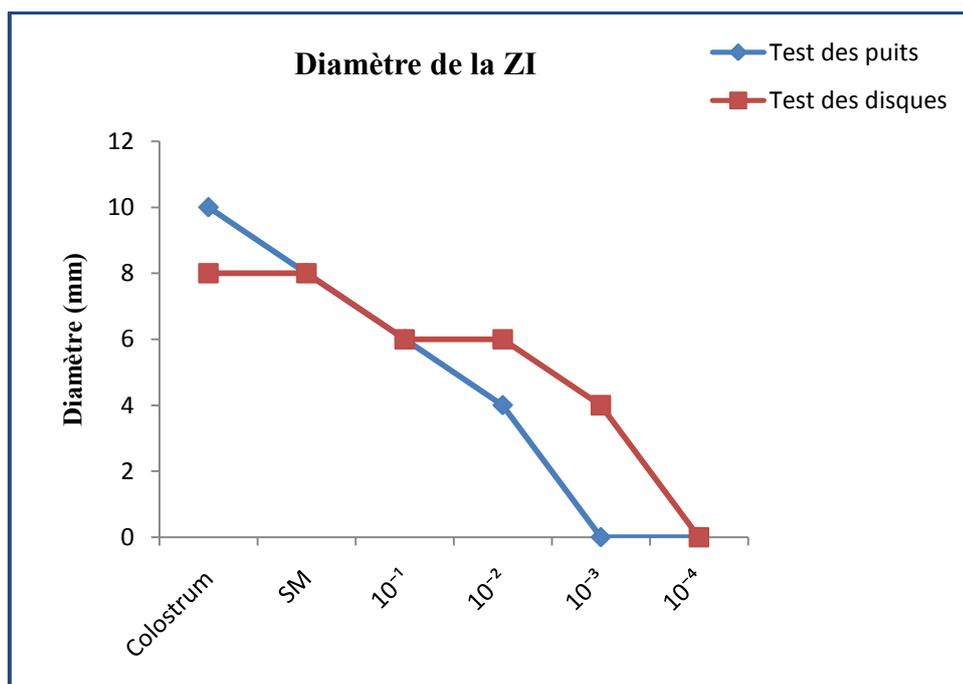


Figure 12: Variation de la zone d'inhibition en fonction des différentes concentrations du colostrum

Conclusion

Conclusion

Pour tous les mammifères, le colostrum est considéré comme une nourriture vitale de nouveau-né dans les premiers jours après la naissance. Il protège le nouveau-né contre les maladies infectieuses. A travers cette étude, nous avons tenté d'apporter une contribution à une meilleure connaissance du colostrum camelin. Nous avons commencé par l'analyse physico-chimique de ce produit. L'analyse microbiologique, principale objectif de cette étude a consisté en un suivi de l'évolution de la flore indigène et de la flore de contamination au cours de l'entreposage du colostrum à la température ambiante. L'activité antibactérienne du colostrum camelin vis-à-vis *Staphylococcus aureus* a également été abordée.

Les résultats montrent que le colostrum camelin, collecté de région de Guerrara, présente globalement des caractéristiques physico-chimiques différentes de celles du lait camelin. Son pH est égale à 6,31 (versus 6,4.), son acidité dornic égale à 40 °D (versus 18,2°D) et sa densité est égale à 1,050 (versus 1.023).

L'analyse microbiologique montre une absence totale des entérobactéries et des coliformes dans le colostrum frais. En revanche, la flore halotolérante a été mise en évidence par une culture sur milieu Chapman.

Le suivi de l'évolution de la flore banale et de la flore de contamination durant quatorze jours d'entreposage à la température ambiante a permis de mettre en exergue l'aspect auto-épuratif particulièrement efficace de ce bioproduit. En effet, l'étude montre que durant l'entreposage le taux des bactéries halotolérantes diminuent au fur et à mesure que la durée de stockage augmente. En revanche, la flore banale et les levures ont tendance à augmenter.

L'étude a montré une activité inhibitrice du colostrum camelin contre le développement l'espèce *Staphylococcus aureus*. La dose minimale inhibitrice est obtenue avec la dilution 10^{-3} .

Cette étude constitue une ébauche qui nécessite d'être approfondie par :

- 1- Etude comparable de l'activité antimicrobienne de colostrum caprins, bovins, camelins et humain ;
- 2- Etude de l'activité antimicrobienne des immunoglobulines du colostrum camelin vis-à-vis des différentes espèces pathogènes.

Référence bibliographique

Références bibliographiques

- ABIDI K. (2001).** Contribution à la connaissance du lait camelin: Etude de l'évolution de la microflore du lait entreposé à la température ambiante et à 4° C. Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme d'Ingénieur d'Etat en Agronomie Saharienne. Université d'Ouargla.
- AIT-ABDALOUAHAB N. (2001).** Microbiologie alimentaire Office des Publications Universitaires. Algérie, 7.
- ALLEMAND. H. (2008).** Evaluation par technique radiale de la qualité du colostrum et du transfert colostral chez les Bovins. Thèse Doctorant. Ecole nationale vétérinaire de Lyon, 23, 29, 30, 43 - 50.
- AMALRIC S., AMALRIC C., AMALRIC M.F. (2011).** Variabilité de la concentration immunoglobulines G du colostrum de brebis et conséquences sur la survie précoce de l'agneau. Mémoire de Doctorat. Université Paul-Sabatier de Toulouse, 16-18.
- ANONYME-1 (2002).** Memento de l'agronome. Minister des affaires étrangères. France, 7.
- ANONYME-2 (1965).** Les chameaux en Algérie. Office des Publications Universitaires. Algérie, 45.
- ANONYME -3 (2003).** Bactériologie. Service de bactériologie en Université Pierre et Marie Curie. France, 31.
- ANONYME -4 (1974).** Bactériologies pratique. Office des Publications Universitaires. 10.
- ATROUCH T., BENDAHDAN N., HAMERS-CASTERMAN C., HAMERS R., MUYLHDERMANS S. (1997).** cDNA sequence coding for the constant region of the dromedary gamma3 heavy Chain antibody. J Camel Pract. Res., 4.
- BAKHT B.K. et ARSHAD. I. (2001).** Production and composition of camel milk...review. Pak. 1. Agri. Sci. Vol. 38, 65.
- BEN AISSA R. (1989).** Le dromadaire en Algérie. In Tisserand J.-L. (ed.). Séminaire sur la digestion, la nutrition et l'alimentation du dromadaire, 19.
- BEN DHIA M., GADOUAR T., SMITI N. (1995)** In Tisserand J.-L. (ed.) . Séminaire sur l'élevage et alimentation du dromadaire ,9-17.

- BENHEDANE-NEE BACHTARRZI N. (2012).** Qualité microbiologique du lait crus destiner à la fabrication d'un type de camembert dans une unité de l'est Algérien. Thèse Doctorant. Université MENTOURI Constantine, 36-41.
- BOULAHBAL F. (1993).** Microbiologie clinique (manuel de bactériologie médicale générale). Office des publications universitaires. Algérie, 103-105.
- BOURGEOIS M. et LEVEAU J.Y. (1980).** Techniques d'analyse et de contrôle dans les industries Agro- Alimentaires. Apria. Paris, 19-294.
- DALE L., GODSON D., STEPHEN D., ACRES D., DEBORAH M., HAINES D. (Décembre 2003).** Échec du transfert passif et gestion efficace du colostrum chez les veaux. La médecine vétérinaire des grands animaux rondes cliniques. Université de Sasktchewan. Vol. 3, n° 1 0.
- DELARRAS C. (2007).** Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyse ou de contrôle sanitaire. Edition Technique et documentation. Paris, 88-248.
- DETIFFE. J. (2010).** Colostrum et transfert d'immunité. Arsia, 6.
- DIENG M. (2001).** Contribution à l'étude de la qualité microbiologique des laits caillés industriels commercialisés sur la marche Dakaroise. Thèse Doctorant. Université CHEIKH ANTA DIOP de Dakar, 104.
- DOUMANDJI A., HELLAL A., SAIDI N. (2010).** Purification de la bactériocine à partir de *Lactobacillus acidophilus* 11. Rev. Microbiol. Ind. San et Environn., 4(2), 25-47.
- ELAGAMY E.L. (2000).** Effect of heat treatment on camel milk proteins with respect to antimicrobial factors: a comparison with cows' and buffalo milk proteins. Alexandria University. Alexandria. Egypt.
- EI-HATMI H., GIURARDET J.M., GAILLARD J. L., HABIB-YAHYAOUI M., HAMADI A. (2007).** Characterisation of whey proteins of camel (*Camelus dromedarius*) milk and colostrum. In Small Ruminant Research 70, 267–271.
- EL KHASMI M., RIAD F., SAFWATE A., ELABBADI N., FARH M., FAYE B., COXAME V. (2005).** La chamelle allaitante face au stress calcique: une fonction endocrine adaptée aux conditions désertiques. Article sécheresse. Vol.16. n° 4, 262.
- FOLEY, J A et OTTERBY, D E. (1978).** Availability, storage, treatment, composition and feeding value of surplus colostrum: A review. J Dairy Sci. Aug 1978, Vol. 61, 8, 1033-60.

- FAYE B., KONUSPAYEVA G., SERIKBAEVA A. (2003).** Les produits laitiers traditionnels à base de lait de chamelle en Asie centrale. *In* Lait de chamelle pour l'Afrique. FAO Production et santé animales, 78, 79.
- FEDERIGHI M. (2005).** Bactériologie alimentaire 2^{ème} édition. ECONOMICA. Paris, 219-240.
- GRECH-ANGELINI S.J.CH. (2007).** Effets de la déshydratation sur le métabolisme énergétique et sur l'état corporel de dromadaire *Camelus dromedarius*. Thèse de doctorat vétérinaire. Université Paul Sabatier de Toulouse, 13, 16.
- GUIRAUD J. P. et ROSAC J. Ph. (2004).** Pratique des normes en microbiologie alimentaire. AFNOR. France, 95- 268.
- JOFFIN Ch.et JOFFIN J.N. (2010).** Microbiologie alimentaire 6^{ème} édition. Centre régionale de documentation pédagogique d'Aquitain. Lorraine, 101.
- JOFFIN J.N. et LEYRAL G. (2006).** Microbiologie technique (dictionnaire des techniques) Tome 1. 4^{ème} édition. Centre régionale de documentation pédagogique d'Aquitain. France, 114-235.
- JRAD .Z., EL HATMI .H. , ARROUM. S. (2011).** Antimicrobial Activity of Camel's Colostrum Against *Listeria innocua*, 266, 267.
- HULSEBUSH C. (1999).** Immunoglobulin G status of camels during 6 months postpartum. Hohenheim Tropical Agriculture Series Ed., Verlag publ., Weikersheim (Allemagne), 40.
- KAMOUN M. (1995).** Le lait de dromadaire : production, aspects qualitatifs et aptitude à la transformation. Options Méditerranéennes : Série B. Etude des et Recherches, 13, P 84.
- KLAENHAMMER T.R., FREMAUX C. et HECHARD Y. (1994).** Activités antimicrobiennes des bactéries lactiques ; *In* " Bactéries Lactiques I"; de Roissard et Luquet. Tech. Doc. Lavoisier. Paris.
- KONUSPAYEVA G. (2007).** Variabilité physico-chimique et biochimique du lait des grands camélidés (*Camelus bactrianus*, *Camelus dromedarius* et hybrides) au Kazakhstan. Mémoire de Doctorat. Université Montpellier, 38, 40, 46, 88, 132.
- KONUSPAYEVA G., LOISEAU G., LEVIEUX D., FAYE B. (2008)** .Lactoferrin and immunoglobulin content in camel milk from Bactrian Dromedary and hybrids *In* Journal of Camelid Sciences I, 54-62.
- LAAMECHE F. (2010).** Etude technico-économique de la conduite d'alimentation des chameaux laitiers en système d'élevage intensif dans la région de Ghardaïa.

Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme d'Ingénieur d'Etat en Agronomie Saharienne. Université d'Ouargla, 4.

LEVIEUX, D. 1984. Transmission de l'immunité colostrale chez le veau. *Le Point Vétérinaire* 16. 1984, Vol. 82, 311-5.

MAHAMAN O. (1979). Contribution a l'étude du dromadaire et de sa pathologie infectieuse. Thèse de doctorat vétérinaire. Université de Dakar, 3.

MAL G., PATHAK K.M.L. (2010). Camel milk and milk products. *In National Research Centre on Camel. India, 97.*

MICHEL A. (2005). Qu'est ce que le colostrum?. Institut Babcock, 2, 3.

MOUALEK I. (2009). Caractérisation du lait de chèvre collecté localement : séparation chromatographiques et contrôles électrophoriques des protéines. Mémoire de Magistère. Université Mouloud MAMMARI de Tizi Ouzou, 92.

SBUI A., KHORCHANI T., DJEGHAM. M., BELHADJ O. (2009). Comparaison de la composition physicochimique du lait camelin et bovin du Sud tunisien; variation du pH et de l'acidité à différentes températures *In Afrique SCIENCE* 05(2), 293 – 304.

SIBOUKEUR A. et SIBOUKEUR O. (2012). Caractéristiques physico-chimiques et biochimiques du lait de chamelle collecté localement en comparaison avec le lait bovin *In Annales des Sciences et Technologie. Vol.4. n° 2, 102-107.*

YAGIL R. (1982) Camels and camel milk *In* FAO Animal production and health paper

ZOLTANP. M.D et RONA. M.Sc. (1998). Bovine Colostrum Emerges as Immunity Modulator. *American Journal of Natural Medicine, 2-8.*

المراجع بالعربية:

عبد الكاظم العبودي و كيجل ميروك و هني جمال الدين و عائد الدليجي (2005) ، المجلد في علوم الإبل ، دار الرياض، ص 42,47,94

Annexes

Annexes 01 : Milieux de culture

Milieu Plate Count Agar (PCA) (**JOFFIN et LEYRAL, 2006**)

Tryptone	5.0g
Extrait de levure	2.5g
Glucose	1.0g
Agar	15.0g
Eau distillée	1000 ml

Milieu Man, Rogosa, Sharpe (MRS) (**BOURGEOISE et LEVEAU, 1980**)

Peptone	10g
Extrait de viande	8g
Extrait de levure	4g
Acétate de sodium	5g
Phosphate bi potassique	2g
Citrate d'ammonium	2g
Sulfate de magnésium, 7H ₂ O	0.2g
Sulfate de manganèse, 4H ₂ O	0.05g
Glucose	20g
Tween 80	1ml
Agar	10g
Eau distillée	1000 ml

pH 6.2

Stérilisation 15 minutes à 120° C

Milieu Potatoes Dextrose Agar (PDA) (**BOURGEOISE et LEVEAU, 1980**)

Extrait de pommes de terre	200g
Glucose	20g
Agar-agar	15g
Eau distillée	1000 ml

Acidifié à pH 3.5

Stérilisation 15mn à 120° C

Milieu de Elliker (**BOURGEOISE et LEVEAU, 1980**)

Tryptone	20g
Extrait de levure	5g
Gélatine	2.5g
Lactose	5g
Saccharose	5g
Glucose	5g
Acétate de sodium	1.5g
Chlorure de sodium	4g
Acide ascorbique	0.5g
Eau distillée	1000 ml

pH 6.8

Stérilisation 15 minutes à 120° C

Milieu VRBG (gélose au cristal violet rouge neutre et à la bile et au glucose) selon

(DIENG, 2001)

Peptone	7g
Extrait de levure	5g
Sels biliaires	1,5g
Glucose	10g
Chlorure de sodium	5g
Agar	11g
Rouge neutre	0,03g
Cristal violet	0,002g
Eau distillé	1000 ml

pH 7.4

Milieu de Chapman (JOFFIN et LEYRAL, 2006)

Peptone	10.0g
Extrait de viande de bœuf	1.0g
Chlorure de sodium	75.0g
Mannitol	10.0g
Rouge de phénol	0.025g
Agar	15g
Eau distillé	1000 ml

pH 7.4

Milieu Désoxycholate gélose selon (JOFFIN et LEYRAL, 2006)

Peptone	10.0g
Citrate de sodium	1.0g
Lactose	10.0g
Rouge neutre	0.03g
Désoxycholate de sodium	1.0g
Chlorure de sodium	5.0g
Hydrogénophosphate de potassium	2.0g
Agar	13.0g
Eau distillé	1000 ml

pH 7.3

Annexe 02: Mesure le pH (AFNOR, 1986 *In* ABIDI, 2001)

1. Réactifs

Solution tampons d'étalonnage de pH-mètre.

2. Appareillage

- PH-mètre
- Bécher

3. Mode opératoire

Dans un bécher de 50 ml, on étalonne l'appareil avec la solution tampon d'étalonnage. Après standardisation du pH-mètre, on introduit l'échantillon à analysée

dans un bécher de 50 mL bien lavée à l'eau distillée, aussi que l'électrode. Le résultat est donné après l'introduction l'électrode dans l'échantillon.

Annexe 03: Mesure de l'acidité titrable (MOUALEK, 2009)

. Réactif

- Solution d'hydroxyde de sodium(NaOH) : solution titrée (0.11N) soude Dornic. 1 ml de cette solution correspond à 0.01g d'acide lactique. Elle peut être préparée en diluant à 1000 ml, 111ml de solution d'hydroxyde de sodium 1N.
- Phénolphtaléine : solution à 1g dans 100 ml d'éthanol à 95-96%.

2. Appareillage

- Burette graduée en 10 ml
- Erlenmeyer 50 ml
- Pipette de 10 ml

3. Mode opératoire

- Dans un erlenmeyer introduire 10 ml de colostrum ;
- Ajouter 0.1ml de la solution de phénolphtaléine ;
- Titrer par la solution d'hydroxyde de sodium jusqu'au virage au rose. On considère que le virage est atteint lorsque la coloration rose persiste pendant une dizaine de secondes ;
- Lire le volume sur la burette (en millilitre de NaOH titré).

4. Expression des résultats (AFNOR, 1986 *In* ABIDI, 2001) :

L'acidité est exprimée en grammes d'acide lactique par litre du lait.

$$A = 10 \times V_1 / V_0$$

V₀ : volume de lait de la prise d'essai, en ml

V₁ : volume de la solution d'hydroxyde de sodium en ml

A: Acidité

Selon **MOUALEK (2009)** La valeur en acidité titrable exprimé en degré Dornic D°, est donnée par l'expression suivante:

$$1D^{\circ} = 0.1 \text{ ml de NaOH à N / 9}$$

Annexe 04: Test de réductase

1. Réactif

- Bleu de méthylène 0.5%

2. Appareillage

- Bain marie à 37°C
- Tubes à essais munis de bouchon
- Micropipette

3. Mode opératoire

- Dans un tube, mettre 1 ml de la solution de bleu de méthylène 0.5% dans 10 ml de colostrum ;
- Agiter le tube manuellement;
- Placer le tube dans un bain marie à 37°C ;
- Noter avec précision le temps de cette immersion. Le niveau du bain marie doit être supérieur à celui du colostrum dans le tube ;
- Suivre la réaction toutes les demi-heures.

Le tube décoloré est retiré et le temps d'apparition de la décoloration doit être noté. Ceux dont le contenu reste bleu sont retournés une seule fois chaque demi-heure et soumis à une incubation plus prolongée jusqu'à disparition de teinte bleutée. Il persiste souvent une zone colorée au contact du lait avec l'air ; ne pas en tenir compte pour l'interprétation (**LARPENT et al., 1997**).

Selon **LARPENT et al., 1997** on peut approximativement estimer les résultats du test de bleu des méthylène de la façon suivante :

Durée de décoloration en heures	Nombre de germes/ ml	Qualité du lait
5 heures et plus	100.000 à 200.000	Bonne
2 à 4 heures	200.000 à 20000.000	Bonne à passable
Moins de 2 heures	2 à 10 millions	insuffisante

Annexe 05: Teste de la catalase

A partir d'un milieu solide et aérobie, prélever une quantité suffisante de culture et la mettre en suspension dans une goutte d'eau oxygénée, déposée par exemple sur une lame.

L'utilisation de l'anse est possible à condition qu'elle ne possède pas d'action catalasique, ce que l'on vérifie facilement par un test sans bactérie (**JOFFIN et LEYRAL, 2006**).

Annexe 06: La préparation de l'état frais

1. Mode opératoire

- Déposer une goutte d'eau stérile sur la lame. Prélever une fraction de colonie sur gélose, de préférence aux bords de celle-ci. Faire une suspension homogène dans la goutte d'eau en incorporant progressivement l'inoculum. On peut aussi déposer une petite goutte d'un milieu liquide, incubé au maximum 18 heures.
- Recouvrir d'une lamelle en évitant d'enfermer des bulles d'air. Le liquide ne doit pas déborder (sinon jeter la lame dans une solution désinfectante et recommencer) (**JOFFIN et LEYRAL, 2006**).

Annexe 07: Coloration de GRAM

Technique

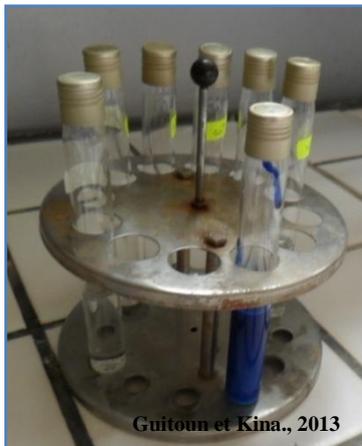
- Recouvrir le frottis de violet cristal oxalaté; laisser agir 1 minute; rincer à l'eau distillée ;
- Verser du lugol et le laisser agir pendant 1 minute; rincer à l'eau distillée ;
- Décolorer à l'alcool à 95°, entre 15 et 30 secondes (selon les auteurs) à l'eau distillée ;
- Recolorer avec de la safranine pendant 10 à 30 secondes; rincer à l'eau distillée ;

- Sécher au-dessus de la flamme d'un bec Bunsen ;

La safranine peut être remplacée par de la fuchsine de Zeihl diluée au 1/10 pendant 1 minute

Avec cette coloration double, les bactéries «GRAM positif» apparaissent en violet foncé tandis que les bactéries «GRAM négatif» sont colorées en rose ou en rouge (DELARRAS, 2007).

Annexe 08: Résultat de test de réductase du colostrum camelin



Test de réductase avant de mettre le tube dans le bain marie



Test de réductase du colostrum après 5 heures dans le bain marie



Test de réductase du colostrum après 8 heures dans le bain marie

Annexe 09 : test de l'acidité titrable



Annexe 10: Observation macroscopique des germes obtenus dans le colostrum camelin

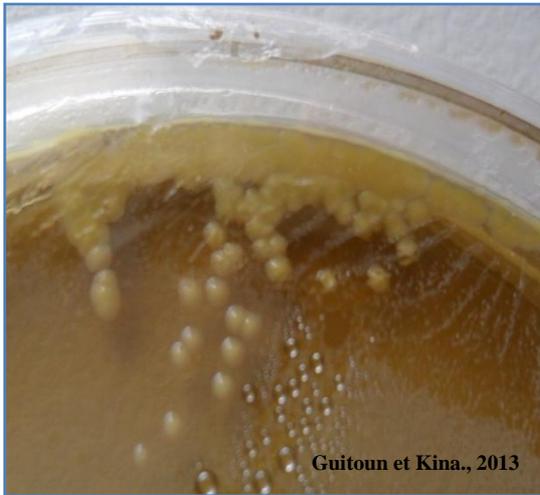


Photo : Observation macroscopique des colonies du lactobacille cultivé sur milieu MRS

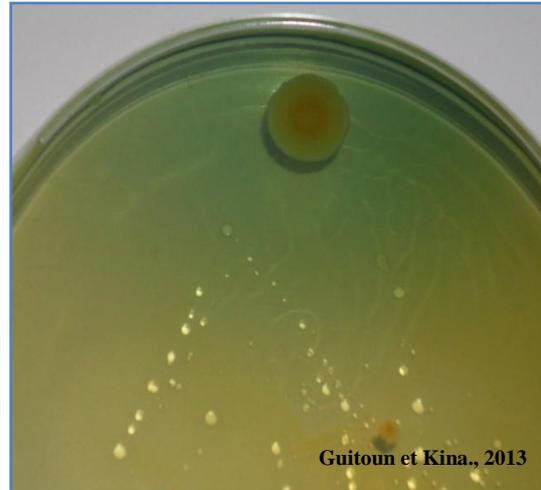


Photo : Observation macroscopique des colonies de la flore halotolérante cultivé sur milieu de Chapman



Photo : Observation macroscopique des colonies des germes totaux cultivés sur milieu PCA

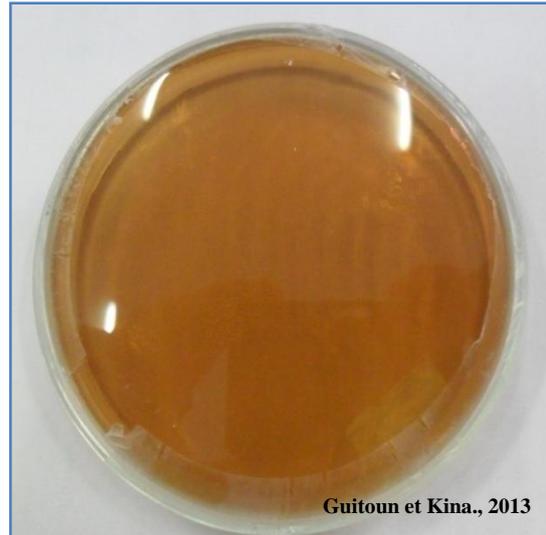


Photo : Observation macroscopique des colonies de la bactérie lactique mésophile cultivé sur milieu d'Elliker



Guitoun et Kina., 2013

Photo : Observation macroscopique des colonies de levures cultivées sur milieu PDA



Guitoun et Kina., 2013

Photo : Absence des colonies de la bactérie lactique thermophile cultivée sur milieu d'Elliker après l'incubation



Guitoun et Kina., 2013

Photo : Absence des colonies des entérobactéries cultivées sur milieu VRBG après l'incubation



Guitoun et Kina., 2013

Photo : Absence des colonies des coliformes cultivées sur milieu Désoxycholate-agar après l'incubation

Annexe 11: Observation microscopique des germes obtenues dans le colostrum camelin

Observation à l'état frais

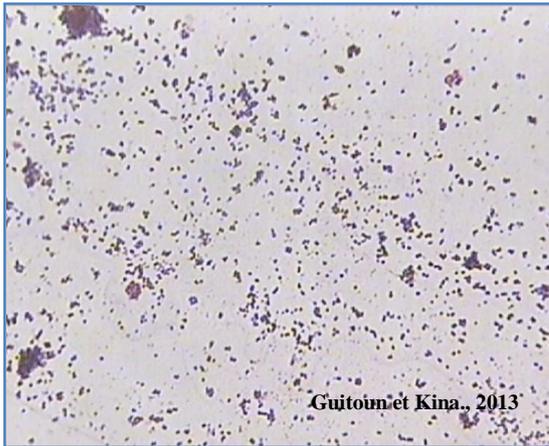


Photo : Observation microscopique des bactéries lactiques mésophiles (G x 100)

Observation après coloration de GRAM

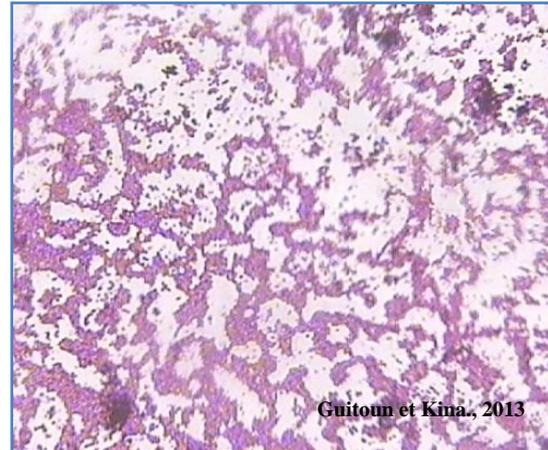


Photo : Observation microscopique des bactéries lactiques mésophiles (G x 100)

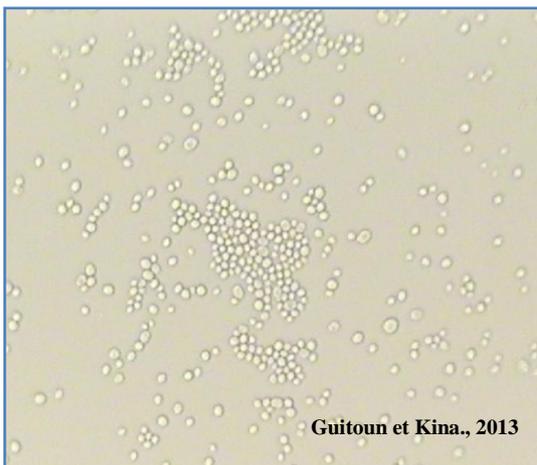


Photo : Observation microscopique des germes totaux (G x 100)

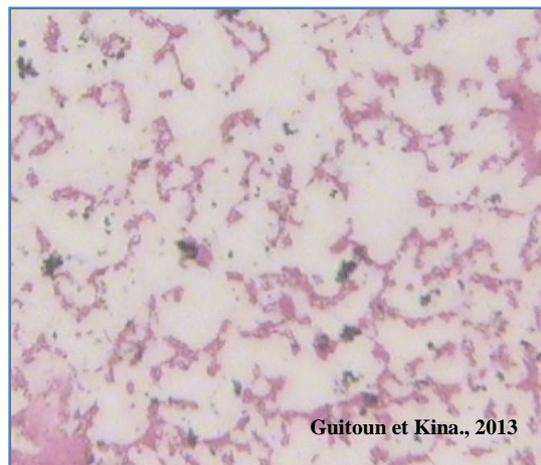


Photo : Observation microscopique des germes totaux (G x 40)

Annexe 12 : Test d'activité antibactérienne du colostrum

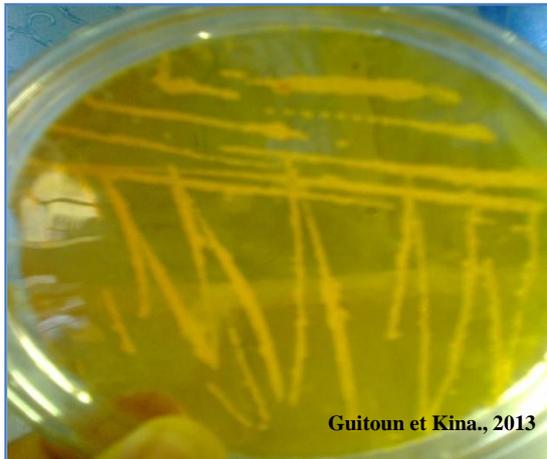


Photo : *Staphylococcus aureus* après le repiquage



Photo : Test d'activité antibactérienne (des puits et des disques)

Annexes 13 : Matériels utilisés pour les analyses physico-chimiques et microbiologiques du colostrum camelin



Micropipette



Bec Benzène



pH mètre



Densimètre



Bain marie



Etuve

Etude de la qualité microbiologique du colostrum camelin

Résumé

L'objectif de ce travail vise une contribution à l'étude de la qualité microbiologique du colostrum camelin.

Le matériel d'étude est un colostrum de chamelle (*Camelusdromedarius*) vivant en extensif dans la région de Guerrara, Wilaya de Ghardaïa. Les résultats montrent que le colostrum camelin, collecté de région de Guerrara, présente globalement des caractéristiques physico-chimiques différentes de celles du lait camelin. Son pH est égale à 6,31 (versus 6,4), son acidité dornic égale à 40 °D (versus 18,2°D) et sa densité est égale à 1,050 (versus 1,023).

L'analyse microbiologique montre une absence totale des entérobactéries et des coliformes dans le colostrum frais. En revanche, la flore halotolérante a été mise en évidence par une culture sur milieu Chapman. Le suivi de l'évolution de la flore banale et de la flore de contamination durant 14 jours d'entreposage à la température ambiante a permis de mettre en exergue l'aspect auto-épuratif particulièrement efficace de ce bioproduit. En effet, l'étude montre que durant l'entreposage le taux des bactéries halotolérantes diminuent au fur et à mesure que la durée de stockage augmente. En revanche, la flore banale et les levures ont tendance à augmenter.

Parallèlement, l'étude a montré une activité inhibitrice du colostrum camelin contre le développement l'espèce *Staphylococcus aureus*. La dose minimale inhibitrice est obtenue avec la dilution 10⁻³.

Mots clés : Colostrum, *Camelusdromedarius*, flore, *Staphylococcus aureus*, autoépuration.

Study of the microbiological quality of the camel's colostrum

ABSTRACT

Our present study aims to highlight the contribution to the knowledge of the microbiological quality of camel's colostrum.

The study material is a colostrum camel (*Camelusdromedarius*) in the extensive living area Guerrara, Wilaya of Ghardaia. The results show that the camel colostrum collected Area Guerrara, this generally different from those of camel milk physicochemical characteristics. Its pH is equal to 6.31 (versus 6.4), the Dornic acidity equal to 40 ° D (versus 18.2°D) and its density is equal to 1,050 (versus 1,023).

Microbiological analysis shows a total lack of enterobacteria and coliform in fresh colostrum. In contrast, the halotolerant flora was highlighted by a culture medium Chapman. Monitoring the evolution of the common flora and fauna of contamination during fourteen days of storage at room temperature allowed highlighting the most effective self-épuratif aspect of this bioproduct. In fact, the study shows that during storage the rate of halotolerant bacteria decreased gradually as the storage time increases. In contrast, the common flora and yeasts tend to increase.

Meanwhile, the study showed inhibitory activity against camel colostrum development of *Staphylococcus aureus* species. The minimum inhibitory dose is obtained with the 10⁻³ dilution.

Keywords: Colostrum, *Camelusdromedarius*, flora, *Staphylococcus aureus*, assimilative.

دراسة ميكروبيولوجية للبا الناقة

الملخص

الهدف من هذه الدراسة هو تسليط الضوء على القيمة الميكروبيولوجية للبا الناقة.

العينة المستعملة في الدراسة هي لبا لناقاة ولود من نوع (*Camelusdromedarius*)، يعيش في مراعي بمنطقة القرارة بولاية غرداية.

النتائج تثبت أن لبا الناقاة المأخوذ من منطقة القرارة يظهر عموما اختلاف في الخصائص الفيزيوكيميائية بالمقارنة مع الحليب، حيث تبلغ قيمة ال pH به (6.31)، الحموضة (40 °D) والكثافة (1.050) مقارنة مع (6.4)، (18.2°D) و (1.023)، للحليب.

التحليل الميكروبيولوجية للعينة أثبتت غياب كلي للبكتيريا الممرضة entérobactérie coliformes في عينة اللبا الطازج، كما أثبت وجود البكتيريا المقاومة للملوحة بوضوح، عن طريق زرعها في الوسط المغذي Chapman

متابعة تطور الجراثيم الطبيعية و الممرضة الموجودة في اللبا خلال أربعة عشرة يوما من الحفظ في درجة حرارة الغرفة يسمح بإثبات التنقية الذاتية ل ه، من خلال الدراسة استطعنا إثبات أن نسبة البكتيريا المقاومة للملوحة تقل بطول مدة الحفظ بالمقارنة مع

الخمائر و البكتيريا اللبنية فإن نسبتها تزداد.

بالتوازي الدراسة أكدت وجود فعل تثبيطي للبا ضد نمو نوع *Staphylococcus aureus*. كما أن الفعالية الأقل تأثير سجلت في التركيز 10⁻³.

الكلمات المفتاحية : اللبا، *Camelusdromedarius*، الجراثيم، *Staphylococcus aureus*، ذاتي التنقية.