

ETUDE DE L'ACTIVITE ANTIBACTERIENNE DE LA NISINE CONTRE *Pseudomonas fluorescens*

SOUID Wafa, BOUDJENAH Saliha, SIBOUKEUR Oumelkher
Laboratoire de protection des écosystèmes en zones arides et semi arides
Faculté des sciences de la nature et de la vie et sciences de la terre et de l'univers
Université Kasdi Merbah Ouargla, Ouargla 30000, Algérie. E-mail: souid.wafa@yahoo.fr

Résumé.- Cette étude porte sur l'activité antibactérienne d'une souche lactique (*Lactococcus lactis* ssp. *lactis*) isolée à partir du fromage camelin contre une souche psychrotrophe (*Pseudomonas fluorescens*). La souche nisinogène est isolée à partir d'un fromage camelin frais préparé avec un rendement non négligeable, égale à 35,5 %. La souche test, est une souche psychrotrophe isolée à partir d'un échantillon de lait de chamelle cru, conservé à 4°C pendant plus de 3 jours. Le surnageant neutralisé d'une culture de *Lactococcus lactis* ssp. *lactis*, sur milieu M17 (8000 g/ 20 min à 4°C) est testé contre la souche de *Pseudomonas fluorescens* selon trois techniques de diffusion sur gel; les spots, les puits et les disques. Le surnageant neutralisé a présenté une activité antibactérienne qui s'est manifesté par l'apparition de zones d'inhibition dont le diamètre diffère selon la nature du test utilisé. Des diamètres variant entre 9 et 18 mm et entre 12 et 29 mm sont enregistrés respectivement avec les puits et les disques. La technique des spots donne des résultats peu apparents.

Mots clés: Lait, dromadaire, *Pseudomonas fluorescens*, *Lactococcus lactis* ssp. *lactis*, nisine.

STUDY OF THE ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF NISIN AGAINST *Pseudomonas fluorescens*

Abstract.- In this research, we are interested in the study of antibacterial activity of lactic strain (*Lactococcus lactis* ssp. *Lactis*) isolated from camel cheese against a psychrotrophic strain (*Pseudomonas fluorescens*). The nisin producer strain was isolated from a camel cheese prepared with fresh yield significant, equal to 35.5%. The test strain is a psychrotrophic strain isolated from a sample of raw camel milk, stored at 4 ° C for more than 3 days. The culture medium of *Lactococcus lactis* ssp. *Lactis* in M17 medium was centrifuged (8000 g, 20 min at 4 ° C). Thus, the supernatant was neutralized and tested against *Pseudomonas fluorescens* strain with three gel diffusion techniques; spots, shafts and discs. The neutralized supernatant presented antibacterial activity which is manifested by the appearance of inhibition zones diameter differs depending on the type of test used. Diameters varying between 9 and 18 mm and between 12 and 29 mm respectively were recorded with the wells and the discs. The technique of spots gave less conclusive results.

Key words: milk, dromedary, *Pseudomonas fluorescens*, *Lactococcus lactis* ssp. *lactis*, nisin.

Introduction

Le lait de chamelle, comme celui des autres mammifères, est un milieu de composition chimique et physique complexe, permettant au chamelon de couvrir ses besoins énergétiques et nutritionnels pendant la première étape de son existence [1].

La transformation du lait camelin est réputée difficile, notamment la fabrication fromagère [2]. L'aptitude d'un lait à la transformation fromagère est étroitement liée à la nature de ses constituants [3]. KAMOUN et RAMET (1989) ont montré la possibilité de

transformer ce lait en fromage, présentant une conservabilité satisfaisante à condition de tenir compte des particularités inhérentes à sa composition physico-chimique [1]. Plus récemment, des travaux entrepris au niveau de l'université de Ouargla, rapportent que la substitution des enzymes habituellement utilisées en fromagerie (présure commerciale), par des protéases gastriques issues de caillettes de dromadaires adultes (âgés de 8 à 9 ans) permet d'améliorer l'aptitude du lait camelin à la coagulation [4].

De même, lors de la réfrigération du lait, des germes psychrotrophes sont susceptibles de produire des enzymes lipolytiques et protéolytiques thermostables, à l'origine des mauvais goûts dans les fromages (goûts amers, saveurs non désirées et atypiques...) [5]. Il s'agit de micro-organismes présents dans le lait cru, ayant une aptitude à se développer à basse température (8-4°C). Parmi cette flore, figure le genre *Pseudomonas*, et plus particulièrement l'espèce *Pseudomonas fluorescens* [6].

A des températures inférieures à 10°C, la flore lactique du lait n'étant plus dominante, d'autres micro-organismes considérés comme nuisibles en fromagerie, tels que les psychrotrophes deviennent dominants [5]. Les bactéries lactiques produisent de nombreux métabolites aux propriétés antimicrobiennes, tels que les acides organiques, le peroxyde d'hydrogène, le dioxyde de carbone, la reutéline, le diacétyl et les bactériocines. Ces dernières sont des peptides antimicrobiens inhibant la croissance de bactéries d'altération ou pathogènes [7]. En agro-alimentaire, seule la nisine issue de *Lactococcus lactis* est autorisée comme additif alimentaire (E 234) depuis 1969 par l'OMS. Selon la Generally Recognized As Safe (GRAS), la nisine possèderai un large spectre d'activité antibactérienne, essentiellement dirigé contre les bactéries à Gram positives. La nisine est efficace contre les germes pathogènes, tels que *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium tyrobuturicum* [8].

La présente étude a pour objectif de mettre en évidence l'effet antagoniste d'une souche lactique bactériocinogène (*Lactococcus lactis ssp. lactis*) contre une souche psychrotrophe contaminant du lait (*Pseudomonas fluorescens*).

1.- Matériel et méthodes

1.1.- Origine du lait

Le lait de chamelle utilisé dans la présente étude, est un mélange de lait. Il est collecté le 26 février 2011, à partir d'un élevage implanté dans la région de Ghardaïa et conduit en semi-extensif (pâturage du M'Zab).

1.2.- Analyses préliminaires

Les échantillons de lait sont transportés dans des flacons stériles, dans une glacière, au laboratoire de l'université Kasdi Merbah Ouargla pour y subir des analyses, physico-chimiques (pH, acidité et densité), et microbiologiques (test de réductase).

1.3.- Répartition des échantillons de lait

Les échantillons de lait collectés sont divisés en deux parties, la première partie est immédiatement utilisée pour la préparation d'un fromage frais en vue de l'isolement de la souche lactique productrice de nisine. La seconde partie est réfrigérée en vue de

l'isolement de la souche psychrotrophe *Pseudomonas fluorescens*.

1.4.- Méthode de fabrication du fromage frais

La méthode de fabrication du fromage frais utilisée dans le présent travail consiste à utiliser des enzymes gastriques de dromadaire (ECD), comme seul agent de coagulation. Ces enzymes sont extraites à partir de l'estomac d'un dromadaire, âgé de 14 mois [10], et conservées dans un flacon en présence de thymol, comme conservateur.

1.5.- Isolement de la souche productrice de nisine

L'isolement de la souche productrice de nisine d'intérêt à partir du fromage se fait selon la technique d'EDIMA (2007) [11].

1.6.- Identification de la souche productrice de nisine

L'identification biochimique de la souche isolée se fait par des examens: macroscopique (aspects des colonies), microscopique (après coloration de Gram), des tests (catalase et oxydase) et par des tests de la galerie de Sherman: culture à (45°C, pH de 9,6, NaCl à 6,5 %) [12,13].

1.7.- Protocole de production de la nisine

Le protocole de production utilisé s'inspire de celui réalisé par plusieurs auteurs, tels que BAREFOOT *et al.* (1983), LACHANCE (2000), XIA LIU *et al.* (2003), DOUMANDJI *et al.* (2010) [14, 15, 16, 17].

1.8.- Isolement et identification de la souche cible *Pseudomonas fluorescens*

La souche psychrotrophe *Pseudomonas fluorescens* est isolée à partir d'un lait conservé à 7°C pendant 10 jours [9].

L'identification de la souche isolée se fait par des examens macroscopique et microscopique (à l'état frais et après coloration de Gram), des tests physiologiques, tels que la croissance à différentes températures (4°C, 43°C) et sur milieux King A et King B. L'identification biochimique est réalisée à l'aide d'une galerie miniaturisée API 20 E (Biomérieux) [12, 18].

1.9.- Étude de l'activité inhibitrice de la nisine sur *Pseudomonas fluorescens*

L'activité antimicrobienne du surnageant récupéré à partir d'une culture de la souche *Lactococcus lactis subsp. lactis* est testée selon plusieurs méthodes de la technique de diffusion sur gel préconisée par TAGG *et al.* (1976) [19]. Elle est fondée sur l'apparition d'une zone d'inhibition, provoquée par le surnageant de la culture, contenant la bactériocine, déposée dans des puits, des spots ou même imbibé sur des disques. La bactérie indicatrice est préalablement ensemencée, en tapis, en milieu gélosé approprié. La lecture de l'activité bactériocinogénique se fait par la mesure du diamètre d'inhibition autour des puits (Zi), exprimée en millimètre [20]. Une inhibition est considérée positive si le diamètre de (Zi) est supérieur à 2 mm selon DOUMANDJI *et al.* (2010) [17]. La mesure du diamètre d'inhibition (Zi) est effectuée selon la formule suivante :

Z_i (mm) = diamètre de la zone d'inhibition obtenue (mm) – diamètre de puits (4,5 mm).

L'activité antibactérienne en unité arbitraire par ml (UA/ml), est calculée à partir de la plus grande dilution (D) où il y a encore la présence d'une zone d'inhibition de plus de 2 mm, selon l'équation suivante [21] :

$$A \text{ (UA / ml)} = (1000 / 10 \mu\text{l}) \times (1/D).$$

2.- Résultats et discussion

2.1. Analyses physico-chimiques

Les résultats relatifs aux caractéristiques physico-chimiques du lait de chamelle analysé sont résumés dans le tableau I.

Tableau I.- Analyses physico-chimiques de l'échantillon de lait camelin

| Paramètres | Valeur moyenne | Ecart-type |
|------------------|----------------|------------|
| pH (T° = 18,2°C) | 6 ,546 | ±0,002 |
| Acidité (°D) | 17,5 | ±0,5 |
| Densité | 1,025 | ±0,001 |

Le pH de l'échantillon de lait camelin ayant fait l'objet de la présente étude est égal à 6 ,546 . Le lait de chamelle à l'état frais est plus acide et moins dense que les laits, bovin et humain dont les valeurs du pH sont respectivement égales à 6,6 et 7,01 [22]. Le pH ainsi que le goût du lait de chamelle peuvent dépendre de la nature des fourrages et de la disponibilité de l'eau [23]. De plus, la teneur relativement élevée en vitamine C du lait de dromadaire, est à l'origine du pH bas comparé au lait bovin [24]. Il a été montré que le pH bas du lait camelin est dépendant de la teneur en citrates, phosphates et caséines, ainsi, que de l'état sanitaire de la mamelle [25].

Le lait fraîchement trait est légèrement acide. Cette acidité provient essentiellement, des protéines, des phosphates et du CO₂ dissous. Il acquiert ensuite une acidité, dite acidité développée, car elle est provoquée par l'acide lactique et autres acides issus de la dégradation des constituants du lait par des micro-organismes [26]. L'acidité mesurée au cours de cette étude est égale à 17,5°D. Les variations dans la valeur l'acidité sont généralement dues à la variation de l'alimentation des animaux, aux conditions environnementales, ainsi qu'à la période de lactation [27].

Le taux de matière sèche du lait camelin est plus faible que celui du lait bovin [1]. Ce qui explique la faible densité enregistrée dans la présente étude, qui est de l'ordre de 1,025.

2.2.- Qualité bactériologique de lait camelin

La décoloration du bleu de méthylène par le lait de chamelle analysé a eu lieu après une durée supérieure à 4 heures. Ce lait est par conséquent de bonne qualité bactériologique. Il renferme moins de 2.10⁶ germes/ml [12, 28]. La décoloration du bleu de

méthylène est due au métabolisme bactérien et sa rapidité est directement proportionnelle au nombre de germes. L'épreuve de la réductase n'est pas un moyen d'appréciation du nombre de bactéries mais une épreuve destinée à estimer le degré de la contamination du lait [29]. Le lait de chamelle caractérisé par sa richesse en lysozyme et en vitamine C, est naturellement protégé contre les attaques extérieures. En plus, le milieu naturel du dromadaire, caractérisé par de fortes insolation, des températures élevées et de faibles humidités relatives, limite le développement des microorganismes [30].

2.3.- Fabrication du fromage camelin

A partir de 2 litres de lait de chamelle cru, nous avons produit 710 grammes de fromage frais avec un rendement de 35,5%. Ces résultats montrent que le fromage fabriqué au laboratoire, diffère de celui décrit par RAMET (1989). L'auteur a caractérisé le coagulum comme étant friable et les rendements rapportés sont de l'ordre de 8 à 10 % pour les fromages frais [1]. Au cours de ce travail, la substitution de la présure habituellement utilisée en fromagerie par des enzymes coagulantes extraites à partir des caillettes de dromadaires (ECD), au niveau des laboratoires de l'université Kasdi Merbah Ouargla (Algérie), a permis une nette amélioration de la texture et du rendement fromager de ce produit dérivé.

2.4.- Isolement et identification des souches bactériennes

2.4.1.- Isolement et identification de *Lactococcus lactis* ssp. *lactis*

La souche isolée est dénuée de catalase et d'oxydase. Elle est immobile. Elle fermente le glucose en donnant seulement de l'acide lactique (homofermentaire). Elle n'hydrolyse ni l'arginine ni le citrate. Elle croît à pH 9,6 et résiste à 45°C. Les résultats des tests physiologiques et biochimiques ont permis d'identifier la souche isolée comme étant une souche appartenant à l'espèce *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* [12]. L'espèce *Lactococcus lactis* joue un rôle important dans la conservation de nombreux aliments et dans la fabrication des fromages et des produits fermentés. En effet, les lactocoques sont généralement associés à une forte capacité d'acidification du lait. Elles présentent aussi des propriétés inhibitrices envers la flore d'altération et envers la flore pathogène du fromage, grâce à la production de métabolites tels que les acides organiques, le peroxyde d'hydrogène et les bactériocines ou à sa compétition écologique vis-à-vis des nutriments [7, 31].

2.4.2.- Isolement et identification de *Pseudomonas fluorescens*

La souche isolée est catalase positive, oxydase positive, ne réagit pas avec le rouge de méthyle (réaction RM négatif). Elle dégrade le glucose, l'amygdaline, l'arabinose et le mélibiose, en aérobiose sur la galerie biochimique API 20 E. Elle hydrolyse également l'arginine et la gélatine sur la même galerie. La croissance sur bouillon nutritif (BN) est enregistrée à température de 4°C et pas à 43°C. La production de pyoverdine (pigment) est visualisée sur milieu King B (couleur verte fluorescente). Les caractères morphologiques et les différents tests biochimiques et physiologiques permettent d'identifier la souche isolée comme étant une souche appartenant à l'espèce *Pseudomonas fluorescens* [12]. Les espèces appartenant au genre *Pseudomonas* sont dotées d'une grande activité métabolique (protéolyse, lipolyse et la dégradation des substances carbonées). En plus des différentes sources de contamination, tels que le sol, l'eau et la nourriture, la prédominance du genre

Pseudomonas dans le lait est liée à l'état sanitaire de l'animal et de l'équipement laitier [9].

2.5.- Etude de l'activité antibactérienne de l'extrait de la nisine sur *Pseudomonas fluorescens*



Photo 1.- Activité antibactérienne du SCN vis-à-vis *Ps. fluorescens* par la méthode des spots



Photo 2.- Activité antibactérienne du SCN vis-à-vis *Ps. fluorescens* par la méthode des disques



Photo 3.- Activité antibactérienne du SCN vis-à-vis *Ps. fluorescens* par la méthode des puits

En travaillant dans des conditions expérimentales éliminant l'influence de l'acide lactique (par neutralisation du pH de surnageant) et le peroxyde d'hydrogène, l'activité antimicrobienne due à l'action de la bactériocine pour la souche *Lactococcus lactis ssp. lactis* étudiée a révélé un spectre d'inhibition dirigé vis-à-vis du germe cible *Ps. fluorescens*.

Les 3 méthodes de diffusion sur gel donnent des résultats positifs avec apparition des zones d'inhibition (Zi) bien distinctes (halos clairs) autour des spots, des puits et des

disques. Les résultats obtenus sont illustrés par les photos 1, 2 et 3. Les zones d'inhibition (Z_i) ont des diamètres variables. Ces derniers se situent entre 9 et 18 mm avec une moyenne de 8,75 mm (> 2 mm), obtenue par la technique des puits à partir de 4 puits considérés comme positifs. Ce résultat est considéré comme positif selon THOMPSON *et al.* (1996) [32].

Par la méthode des disques imprégnés de surnageant, les diamètres des zones d'inhibition varient de 12 à 29 mm avec un diamètre moyen égal à 20,05 mm (au niveau de 10 disques).

Les mesures des diamètres moyens des zones d'inhibition (Z_i) sont présentées sur le tableau II:

Tableau II.- Mesure des diamètres moyens des zones d'inhibition (Z_i) pour la technique des puits et des disques

| Techniques | Diamètres moyen des zones d'inhibition (mm) | Ecart-type |
|---------------------|---|-------------|
| Méthode des puits | 8,75 (pour 4 puits positifs) | $\pm 0,030$ |
| Méthode des disques | 20,05 (pour 10 puits positifs) | $\pm 0,022$ |

L'activité antibactérienne estimée par la méthode de la dilution critique de THOMPSON *et al.* (1996) [33], est donc égale à 3200 UA/ml. Cette mesure peut être plus ou moins acceptée, MEGHROUS *et al.* (1999) [34] rapportent que l'estimation de l'activité d'une bactériocine par la méthode de diffusion dans l'agar est une mesure relative, car la sensibilité de la bactérie cible, le milieu de croissance utilisé, la concentration d'agar du milieu test, ainsi que la concentration en bactériocine sont tous des facteurs pouvant affecter les résultats.

En règle générale, les bactériocines des bactéries lactiques ne sont pas actives contre les bactéries à Gram négatif. Ceci est dû à la différence dans la composition de l'enveloppe cellulaire des bactéries Gram positives et Gram négatives. Toutefois, certaines études ont suggéré qu'un changement des propriétés de perméabilité de la membrane externe suite à certains traitements utilisés (l'ajout de EDTA, lysozyme...) en combinaison avec des bactériocines ou encore des conditions de stress rendraient les bactéries Gram négatives sensibles aux bactériocines [35, 36, 37]. A notre connaissance, aucune étude sur l'effet de la nisine utilisée seule sur les *Pseudomonas* n'a été signalée dans la littérature. Cependant, le spectre d'activité des quelques bactériocines (comme la nisine) selon KLAENHAMMER (1993) [38], peut ne pas être restreint aux espèces proches taxonomiquement ou même occupant la même niche écologique que la bactérie productrice. D'un point de vue pratique, le champ d'activité d'une bactériocine peut être plus ou moins large suivant les conditions du milieu et la concentration en substance active [38].

Conclusion

Les résultats de cette étude révèlent la possibilité d'utiliser la nisine produite par une souche d'origine cameline pour la préservation du lait camelin réfrigéré. L'isolement

des bactéries lactiques particulièrement à partir du fromage ou du lait de chamelle et la mise en évidence de leur pouvoir antagoniste par la production des bactériocines, contre la flore à Gram négatif, constitue un sujet intéressant à approfondir dans la mesure où peu d'informations sont disponibles dans la littérature sur ces microorganismes.

Références bibliographiques

- [1].- Kamoun M. et Ramet J. P., 1989. Conservation et transformation du lait de dromadaire. Options Méditerranéennes, Série séminaires, n° 6: 229-231.
- [2].- Faye B., 1997. Guide de l'élevage du dromadaire. Ed. Sanofi, Libourne : 38-39.
- [3] Goursaud J., 1985. Composition et propriétés physico-chimiques. In : LUQUET F. M.- Laits et produits laitiers. Ed. Technique et documentation, Lavoisier, 1(1): 1-90.
- [4].- Siboukeur O., Mati A. et Hesses B., 2005. Amélioration de l'aptitude à la coagulation du lait cameline (*Camelus dromedarius*): Utilisation d'extraits enzymatiques coagulants gastriques de dromadaires. Cahier Agriculture, 14(5): 473-478.
- [5].- Le Jaouen J. C., 1993. Guide national des bonnes pratiques en production fromagère fermière. Ed. Institut de l'élevage, Paris, 3: 123-144.
- [6].- Law J., Haandrikman A., 1997. Proteolytic enzymes of lactic acid bacteria. Int Dairy J, vol. 7: 1-11.
- [7].- Dortu C., Thonart P., 2008. Les bactériocines des bactéries lactiques: caractéristiques et intérêts pour la bioconservation des produits alimentaires. Biotechnol. Agron. Soc. Environ., 13 (1): 143-154.
- [8].- Kalchayanand N., Hanlin M. B. and Ray B., 2008. Sublethal injury makes Gram negative and resistant Gram-positive bacteria sensitive to the bacteriocins, pediocin ACH and nisin. Letters in Applied Microbiology, 15: 239-243.
- [9].- Millière J. B. et Veillet-Poncet L., 1979. Détermination de la flore bactérienne caséolytique psychrotrophe des laits crus réfrigérés. Le Lait, 59: 581-582.
- [10].- Boudjenah-Haroun S., Laleye C. L., Moulti-Mati F., Si Ahmed S., Mahboub N., Siboukeur O. and Mati A., 2011. Comparative study of milk clotting activity of crude gastric enzymes extracted from camels' abomasum at different ages and commercial enzymes (rennet and pepsin) on bovine and camel milk. Emir. J. Food Agric., 23 (4): 301-310.
- [11].- Edima C., 2007. *Carnobacterium maltaromaticum* : caractéristiques physiologiques et potentialités en industries fromagères. Thèse de doctorat à L'INPL, Université de Nancy, 48 p.
- [12].- Guiraud J., P., 1998. Microbiologie alimentaire. Ed. DUNOD, Paris: 76-122.
- [13].- Joffin J. N. et Leyral G., 2001. Microbiologie. Dictionnaire des Techniques. Ed. Collection Biologie Technique. CRDP d'aquitaine, Bordeaux: 122-130.

- [14].- Barefoot S. F., Klaenhammer T. R., 1983. Detection and activity of lactacin B, a bacteriocin produced by *Lactobacillus acidophilus*. Appl. Environ. Microbiol., 45: 1808–1815.
- [15].- Lachance M., 2000. Purification et caractérisation d'une bactériocine produite par *Lactococcus lactis ssp. lactis* MJC15. Département des sciences des aliments et de nutrition. Université Laval, Qc., 543 p.
- [16].- Xia L., Yoon-Kyung C., Shang-Tian Y., Ahmed E. Y., 2003. Continuous nisin production in laboratory media and whey permeate by immobilized *Lactococcus lactis*. Process Biochemistry, 40: 13-24.
- [17].- 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.
- [18].- Vezina L. et Lacroix M., 2000. Tests biochimiques classiques pour l'identification des Pectobacterium (*Erwinia* pectinolytiques) et des *Pseudomonas fluorescents*. Laboratoire de diagnostic en phytoprotection-MAPAQ : 2-6.
- [19].- Tagg J. R., Dajani A. S., Wannamaker L. W., 1976. Bacteriocins of Gram-positive bacteria. Microbiol Rev., 40: 722-756.
- [20].- Allouache F. N., Hellal A., Laraba A., 2010. Etude de l'activité antimicrobienne des souches de lactobacilles thermophiles utilisées dans l'industrie laitière. Revue de Nature et Technologie, 3: 13-20.
- [21].- Champagne A., 2007. Potentiel antagoniste des bactéries lactiques épiphytes de plantes fourragères contre le développement des clostridies dans l'ensilage. Université Laval, Québec, 132 p.
- [22].- Sboui A., Khorchani T., Djegham M. et 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. Afrique Science, vol. 05(2) : 293-304.
- [23].- Gorban A. M. S. et Izzeldin O. M., 1999. Study on cholesterol ester fatty acids in camel and cow milk lipid. International Journal of Food Science and Technology, vol. 34: 229-234.
- [24].- Saley M., 1993. La Production laitière du dromadaire. Ed Maisons-Alfort, Paris : 50-76.
- [25].- Mathieu J., 1998. Initiation à la physicochimie du lait. Ed. Tec et doc-Lavoisier, Paris, 221p.
- [26].- Badaoui D., 2000. Contribution à la connaissance du lait de chamelle: Essai de caractérisation des protéines par Electrophorèse sur Gel de Poly-Acrylamide (PAGE). Mémoire d'Ingénieur, sciences agronomiques, Université d'Ouargla, 25 p.

- [27].- Abu-Taraboush H. M., Al-Dagal M. M., Al-Royli M. A., 1998. Growth, viability, and proteolytic activity of Bifidobacteria in whole camel milk. *Journal of Dairy Science*, 81: 354-361.
- [28].- Larpent J. P., 1970. Manuel pratique de microbiologie. Ed. Hermann, Paris, 218 p.
- [29].- Petransexie M., Serres L., Amarigios P., 1973. Analyses physiques et chimiques. *In* : Contrôle de la qualité des produits laitiers. Direction des services vétérinaires, Ministère de l'Agriculture, Paris, 345 p.
- [30].- Saidi M., Siboukeur O., Ouled Belkheir A. et Guerradi, 1999. Caractéristiques physico-chimiques, composition et qualité bactériologique du lait de chamelle population sahraoui (wilayates d'Ouargla et Ghardaïa). Aptitudes technologiques. Premières journées sur la recherche cameline, Ouargla: 129-133.
- [31].- O'Sullivan L., Ross R.P. et Hill C., 2002. Potential of bacteriocin-producing lactic acid bacteria for improvements in food safety and quality. *Biochimie*, 84: 593-604.
- [32].-Thompson J. K., Collins M. A. et Mercer W. D., 1996. Characterization of a proteinaceous antimicrobial produced by *Lactobacillus helveticus* CNRZ 450. *J. Appl. Bacteriol.*, 80: 338-348.
- [33].- Mayr-Harting A., Hedges A.J., Berkley R. C. W., 1972. Methods for studying bacteriocins. *In*: method in Microbiology. J.R Norris and D.W. Ribbons. Ed. Academic Press., New York 7A: 315-322.
- [34].- Meghrous J., Goulhen F., Lacroix C., 1999. Production of a nisin Z/pediocin mixture by pH-controlled mixed-strain batch cultures in supplemented whey permeates. *J. Appl. Microbiol.*, 86: 399-406.
- [35].- Abee T., 1995. Pore-forming bacteriocins of Gram-positive bacteria and self-protection mechanism producer organism. *FEMS Microbiol. Letters*, 129: 1-10.
- [36].- Cintas L. M., Casaus M. P., Herranz C., Nés I. F. and Hernandez P. E., 2001. Review: Bacteriocins of lactic acid bacteria. *Food Sci. Technol. Int.* 7: 281-305.
- [37].- Deegan L. H., Cotter P. D., Hill C. et Ross P., 2006. Bacteriocins: Biological tools for bio preservation and shelf-life extension. *Inter. Dairy J.* 16: 1058-1071.
- [38].- Klaenhammer T. R., 1993. Genetics of bacteriocins produced by lactic acid bacteria. *FEMS Microbiol Rev.*, 12: 39-86.