

[Saoudien J Biol Sci.](#) 2021 mars ; 28(3) : 1622-1632.  
Publié en ligne le 24 novembre 2020. doi: [10.1016/j.sjbs.2020.11.062](https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.11.062)  
PMCID : PMC7938203  
PMID : [33732048](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33732048/)

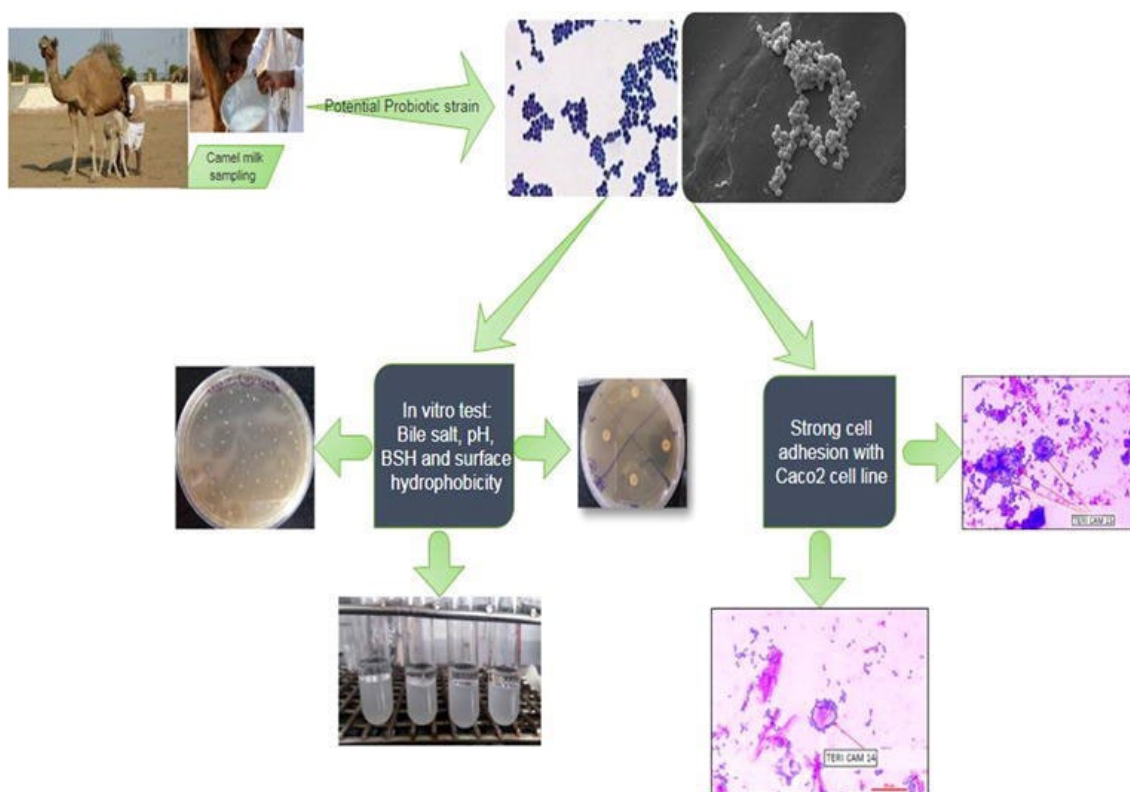
## Identification et potentiel probiotique des bactéries lactiques du Lait de Chamelle

[Anjali Sharma](#) , <sup>a</sup> [Meeta Lavania](#) , <sup>a,\*</sup> [Raghvendar Singh](#) , <sup>b</sup> et [Banwari Lal](#) <sup>a</sup>

[Informations sur l'auteur](#) [Notes sur l'article](#) [Informations sur les droits d'auteur et la licence](#) [Clause de non-responsabilité PMC](#)

[Aller à:](#)

### Résumé graphique



**Mots clés :** Lait de Chamelle, Bactéries lactiques, Probiotiques, Études in vitro, Lignée cellulaire Caco-2

[Aller à:](#)

### Résumé

Dans la présente étude, un total de 80 bactéries lactiques présumées (BL) a été isolées du Lait de Chamelle. Les LAB sélectionnés ont été identifiés comme *Lactococcus lactis* (cam 12), *Enterococcus lactis* (cam 14) et *Lactobacillus plantarum* (cam 15) et leur potentiel a été testé par tolérance et déconjugaison des sels biliaires, activité antimicrobienne, hydrophobicité de surface et potentiel d'adhésion) le long avec cela des probiotiques ont été évalués pour la formation de caillé et évalués pour les propriétés sensorielles et la synérèse. Les LAB sélectionnés ont montré une activité antimicrobienne contre un large éventail de bactéries pathogènes (*Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus cereus* et *Escherchiaia coli*). Les LAB (cam 12, cam 14 et cam15) étaient très sensibles au chloramphénicol, à la vancomycine et à la tétracycline. Des études d'adhésion in vitro avec des cellules Caco-2 ont démontré une forte activité d'adhésion avec hydrophobicité (99 %). La toxicité orale aiguë d' *E. lactis* et *L. \_plantarum* s'est révélé non toxique, non virulent et sans danger pour une application industrielle. L'étude fournit des LAB potentiels qui peuvent remplacer les aliments fonctionnels, les aliments synthétiques et la formulation de caillé industriel dans les plus brefs délais (240 min à 28–32 ° C).

[Aller à:](#)

## 1. Introduction

---

Le *Camelus dromedarius* est un grand ongulé aux doigts égaux avec une bosse sur le dos et également connu sous le nom de chameau d'Arabie. Le Lait de Chamelle est nutritif, riche en vitamines, protéines et minéraux. Par rapport au lait de vache, le Lait de Chamelle contient une plus grande quantité de composés antimicrobiens naturels ( [El-agamy et al., 1996](#) ). Il y a un total d'environ 23,9 millions de chameaux dans le monde. Sur ce total, l'Inde en compte 0,45 million, soit près de 1,9% de la population mondiale totale de chameaux ( [BAHS, 2012](#) ). Parmi cette population mondiale estimée, 17 millions seraient des dromadaires à une bosse ( *Camelus dromadaires* ) et 2 millions

seraient à deux bosses ( *Camelus bactrianus* ). Différentes races de chameaux indiens, comme *Mewari*, *Bikaneri*, *Kachchi* et *Jaisalmeri* possèdent un potentiel de production laitière d'environ  $4,190 \pm 0,12$ ,  $3,22 \pm 0,15$ ,  $3,94 \pm 0,13$  et  $2,17 \pm 0,16$  litres/jour, respectivement avec une période de lactation de 14 à 16 mois ( Singh et al., [2017a](#) , [Singh et al., 2017b](#) ). Le Lait de Chamelle est largement reconnu pour ses extraordinaires propriétés médicinales. Il est connu pour avoir un potentiel thérapeutique contre de nombreuses maladies dont le cancer. Le Lait de Chamelle est un substitut nutritif avec des valeurs alimentaires fonctionnelles améliorées ( [Alebie et al., 2017](#) ). Il a également des propriétés médicinales qui jouent un rôle essentiel dans l'amélioration du système immunitaire. Sa teneur protéique majeure est constituée de lactoferrine, de peptidoglycane, d'anticorps, d'immunoglobulines et d'enzymes (lysozyme et lactoperoxydase) qui ont un effet précieux contre les troubles majeurs. La consommation quotidienne de Lait de Chamelle pourrait améliorer le mécanisme de défense de notre système immunitaire. Par rapport au lait d'autres ruminants, le Lait de Chamelle est supérieur avec tous ces composants vitaux présents en plus de faibles valeurs de mauvaises graisses (c'est-à-dire de cholestérol) et de sucres. Il se compose également d'une grande quantité de vitamine C et d'insuline qui ont également un impact bénéfique sur la santé des êtres humains.

Étymologiquement, les probiotiques sont pro (pour) et bios (la vie). Selon la FAO, les probiotiques sont définis comme « des micro-organismes vivants qui, lorsqu'ils sont administrés en quantités adéquates, confèrent un avantage pour la santé de l'hôte » ( [FAO/WHO, 2002](#) ). Malgré la composition physicochimique du Lait de Chamelle, il possède également un microbiote bénéfique qui est principalement représenté par les LAB (bactéries lactiques). Le Lait de Chamelle est en demande en raison de sa nature saine en tant qu'aliment. De nombreuses tentatives ont été faites auparavant pour identifier les BL du Lait de Chamelle et de ses produits ( [Fguiri et al., 2016](#) , [Mahmoudi et al., 2016](#) ). La présente étude a été menée pour : (i) identifier et caractériser les bactéries lactiques potentielles du Lait de Chamelle et leur capacité probiotique. (ii) Formulation de caillé avec des levains laitiers probiotiques potentiels.

[Aller à:](#)

## 2. Matériels et méthodes

---

### 2.1. Collecte d'échantillons

Dans la présente étude, quatre races de chameaux, à savoir *Mewari*, *Bikaneri*, *Kachchi* et *Jaisalmeri*, ont été considérées. Des échantillons de lait (quatre de chaque race avec une période de lactation variable, c'est-à-dire 1, 4 et 12 mois) ont été prélevés au Centre national de recherche sur le chameau (NRCC) Bikaner, Rajasthan par la méthode de traite traditionnelle dans des récipients stériles dans des conditions appropriées.

### 2.2. Analyse physicochimique du lait

Des échantillons de Lait de Chamelle ont été analysés pour la graisse, le SNF (solides non gras), les protéines, le lactose, la densité, la température, le pH et le point de congélation à l'aide de lactoscan (Milkotronic ltd. Bulgarie) ( AOAC, 1995 ).

### 2.3. Enrichissement, isolement et criblage de LAB

Les échantillons ont été enrichis en ajoutant 1 % de volume à 50 ml de bouillon MRS (de Man, Rogosa et Sharpe). Les échantillons enrichis ont ensuite été incubés à 37 °C pendant une semaine dans l'agitateur rotatif orbital (Brunswick). Des bactéries lactiques ont été isolées d'un échantillon de lait et étalées sur un milieu MRS solidifié ( [de Man et al., 1960](#) ) pour le dénombrement. Les plaques ont été incubées à 37 °C pendant 24 à 48 h. Les colonies avec une morphologie distincte ont été prélevées et purifiées par une nouvelle sous-culture. Toutes les expériences présentées dans l'étude ont été réalisées en

triple. Les étiquettes de données sont donc la moyenne des valeurs en triple  $\pm$  écart type (moins de 5 % de la moyenne). Les résultats obtenus étaient statistiquement significatifs ( $p < 0,05$ ).

## 2.4. Caractérisation et identification des souches bactériennes

Un criblage en deux étapes a été réalisé pour sélectionner les isolats bactériens à activité probiotique ; dépistage primaire et secondaire. Le dépistage primaire impliquait une évaluation morphologique et physiologique (coloration de Gram et test de catalase) suivie d'une exposition à des conditions de stress abiotiques (tolérance à la salinité et à la température). La caractérisation morphologique a été réalisée à l'aide du kit de coloration de Gram (Hi-Media, Inde). Les cultures ont été examinées au microscope à fond clair (Olympus, Japon). Les souches ont ensuite été évaluées pour la présence de l'enzyme catalase en utilisant 3%  $H_2O_2$ . Pour étudier la morphologie de souches bactériennes sélectionnées présentant une nature probiotique, des cultures de 24 h ont été utilisées et observées au microscope électronique à balayage (MEB). Afin de préserver la morphologie de surface, la méthode CPD (séchage au point critique) a été utilisée ([Prasanna et Charalamopolous, 2018](#)). Les échantillons biologiques ont ensuite été examinés sous 10KV au microscope électronique à balayage (Zeiss EVO MA 10). Des tests biochimiques de souches bactériennes sélectionnées ont été effectués avec HiBacillus™ kit (KB013 Himedia) et les résultats ont été interprétés conformément aux instructions données. Un ADN génomique supplémentaire a été isolé en utilisant le kit ADN (kit QIAamp DNA, Qiagen). La présence d'ADN génomique a été confirmée par électrophorèse sur gel d'agarose à 0,8 %. L'amplification du gène de l'ARNr 16S a été réalisée par PCR (Eppendorf, Allemagne) en utilisant les amorces PCR oligonucléotidiques directes et inverses spécifiques universelles (Sigma-Aldrich); 27F (5'-AGAGTTTGATCMTGGCTCAG-3') et 1492R (5'-TACGGYTACCTTGTTACGACTT-3'). Le mélange de réaction PCR (25  $\mu$ L) consistait en 0,5  $\mu$ L d'amorce directe et inverse chacune (20 pmol  $\mu$ l<sup>-1</sup>), 0,5  $\mu$ L de dNTP, 2  $\mu$ L de matrice, 2,5  $\mu$ L de tampon 10X, 2,5  $\mu$ L de  $MgCl_2$ , 0,2  $\mu$ L de polymérase Taq et

16,3 µL d'eau de qualité moléculaire. Les produits de PCR ont été analysés par électrophorèse sur gel d'agarose 1%. Le produit du gène de l'ARNr 16S amplifié par PCR a été purifié à l'aide d'un kit d'extraction sur gel (Real Genomics, RBC, Inde). En outre, l'ADN amplifié par PCR purifié a été traité pour l'analyse de la séquence du gène de l'ARNr 16S (Macrogen Korea). La séquence du gène de l'ARNr 16S de souches bactériennes sélectionnées a été comparée aux séquences de référence disponibles dans la base de données NCBI à l'aide de l'algorithme BLAST (Basic Local Alignment Search Tool). Des séquences étroitement liées ont été récupérées et alignées à l'aide du programme Clustal W. L'arbre phylogénétique a été construit à partir d'un processus de matrice de distance évolutive à l'aide du logiciel MEGA 7.0 ( [Batta et al., 2013](#) ).

## 2.5. Criblage de souches bactériennes sélectionnées pour les attributs probiotiques

Explorer les attributs probiotiques de neuf souches sélectionnées (sur la base d'un dépistage primaire); chaque souche a été soumise à un criblage secondaire. Trois espèces de BL ont été utilisées ( *Lactobacillus plantarum* , *Lactococcus lactis* et *Enterococcus lactis* ) et leurs propriétés probiotiques ont été étudiées en détail. Conformément aux directives de la FAO/OMS ; deux une souche bactérienne doit réussir tous les tests impliqués dans cette étape pour prouver sa valeur en tant que candidat probiotique potentiel ( [FAO/WHO, 2002](#) ). Ce dépistage implique la réalisation de divers tests *in vitro* qui sont décrits ci-dessous dans les sections suivantes

### 2.5.1. Tolérance aux acides

Une tolérance aux acides a été étudiée pour la ou les souches bactériennes sélectionnées. Le bouillon MRS avec l'enzyme pepsine (3 mg/mL) a été utilisé comme milieu. Le pH du bouillon a été ajusté à différentes valeurs de pH (2,0, 3,0 et 4,0) avec du



HCl 1,0 N et un ensemble de contrôle (pH 7,0) a été utilisé avec le même (Pereira et Gibson, 2002 ). De plus, le bouillon a été inoculé avec des cultures cultivées pendant la nuit de souches putatives et incubé à 37 ° C pendant 24 h. L'échantillonnage a été effectué à un intervalle de 6 h. La densité optique a été mesurée à 620 nm et des comptages viables ont également été pris en compte.

### 2.5.2. Tolérance aux sels biliaries

Les souches ont été étudiées pour tester leur capacité à se développer en présence de sels biliaries à différentes concentrations. Ceci a été réalisé en utilisant trois sels sélectionnés (désoxycholate de sodium, taurocholate de sodium et acide cholique, HiMedia) à différentes concentrations de 0,1 %, 0,2 % et 0,3 % (p/v) ( Kuda et al., 2016 ). Ces différentes concentrations de sels biliaries ont été préparées dans des flacons de 100 mL, contenant 20 mL de bouillon MRS stérile. Le contrôle a été maintenu en utilisant du bouillon MRS. Les flacons ont ensuite été inoculés avec une culture LAB cultivée pendant la nuit et incubés à 37 ° C pendant 15 h. Des aliquotes ont été prélevées à un intervalle de temps de 6 h et la DO<sub>620</sub> des échantillons a été mesurée pour vérifier la viabilité des cellules à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible (Shimadzu, Japon).

### 2.5.3. Activité hydrolase des sels biliaries

Pour étudier l'activité BSH des souches, une méthode d'essai sur plaque a été réalisée ( Gallego et al., 2013 ). Pour tester l'activité, des cultures cultivées pendant la nuit ont été étalées sur des plaques de gélose MRS en utilisant la méthode de la plaque étalée sur des plaques de gélose MRS contenant différents sels biliaries (comme mentionné dans la tolérance aux sels biliaries). Les plaques ont été incubées à 37°C pendant 72h. La présence de halos précipités autour des colonies a confirmé l'activité BSH.

### 2.5.4. Hydrophobicité de la surface cellulaire

Le critère fondamental du processus d'adhésion est la capacité des organismes à adhérer à l'hydrocarbure qui a été déterminée par le protocole modifié de ( [Vinderola et Reinheimer, 2003](#) ). La culture LAB cultivée dans un bouillon MRS a été récoltée par centrifugation à 6000 g pendant 10 min lavée deux fois dans 0,05 MK<sub>2</sub> HPO<sub>4</sub> et a été mise en suspension dans le même tampon pour obtenir une DO d'environ 1,0. Environ 3 ml de cette suspension bactérienne ont été mis en contact avec 0,6 ml de trois hydrocarbures différents (n-hexadécane, toluène et xylène) en tourbillonnant sur un vortex pendant 2 min. Les phases ont été laissées se séparer par décantation à 37 ° C pendant 1 h et la phase aqueuse a été décantée dans un tube à essai/flacon propre. L'OD<sub>560nm</sub> a été mesuré pour la phase aqueuse éliminée. La diminution de la valeur de l'absorbance de la phase aqueuse a été considérée comme équivalente à l'hydrophobicité de la surface cellulaire (H%), qui a été calculée avec la formule donnée.

$$H\% = [UN_0 - UN] \times 100$$

où A<sub>0</sub> et A sont l'absorbance avant et après extraction avec des hydrocarbures

## 2.6. Évaluation de la sécurité des LAB (bactéries lactiques)

### 2.6.1. Sensibilité aux antibiotiques

La sensibilité aux antibiotiques de la ou des souches bactériennes a été déterminée par la méthode de diffusion sur disque de gélose publiée par ( [Bauer et al., 1966](#) ). Des plaques de gélose MRS ont été préparées, dans lesquelles 100 µL de culture fraîchement cultivée ont été mélangés avec 10 mL de milieu. Des disques d'antibiotiques ont été placés sur la surface de gélose solidifiée. Et les plaques ont été incubées à 37°C pendant 48h. La résistance aux antibiotiques suivants, à savoir la pénicilline G (10 µg), la streptomycine (100 µg), la lincomycine (15 µg), l'amikacine (10 µg), la tétracycline (30 µg), le chloramphénicol



(25 µg) a été testée. La zone d'inhibition a été mesurée en millimètres (mm).

### 2.6.2. Test d'activité antimicrobienne

L'activité antimicrobienne de la ou des souches bactériennes a été vérifiée à l'aide de la méthode de diffusion en puits d'agar ( [Balouiri et al., 2016](#) ). Les souches ont été criblées pour la production d'antimicrobiens contre *Staphylococcus aureus* ( ATCC-6538 ), *E. coli* ( ATCC-11775 ), *Bacillus cereus* ( ATCC-BAA-512 ) et *Pseudomonas aeruginosa* ( ATCC-19429 ). Des plaques de gélose Mueller Hinton ont été préparées et ensemencées avec des bactéries indicatrices. Des puits (5 mm) ont été réalisés dans les plaques de gélose et remplis avec 100 µL de culture de souche testée. Les plaques ont été incubées à 37 °C pendant 24 à 48 h. Une zone nette d'inhibition a été mesurée en mm.

### 2.6.3. Test d'activité hémolytique

Pour tester l'activité, la souche LAB cultivée pendant la nuit a été striée sur une plaque de gélose au sang et incubée à 37 ° C pendant 48 h. Les plaques ont été observées pour la formation de toute β-hémolyse (propre) ou α-hémolyse (verdâtre) et γ-hémolyse (pas de telles zones hémolytiques) autour des colonies ( [Wang et al., 2016](#) ).

### 2.6.4. Amines biogènes

La production d'amines biogènes a été évaluée par un protocole modifié ( [Bover-cid et Holzapfel, 1999](#) ). Les souches ont été striées sur des plaques MRS substituées par des acides aminés (tyrosine, lysine, arginine, histidine et ornithine) achetés chez Sigma-Aldrich. Les plaques ont été incubées à 37°C pendant 72h. La production d'amines biogènes a été confirmée par le changement de couleur de l'indicateur.

### 2.6.5. Test d'adhésion cellulaire in vitro

L'adhésion cellulaire est le principal critère pour examiner le potentiel d'un probiotique. La capacité d'adhérence d'une bactérie probiotique à adhérer aux cellules épithéliales du tractus intestinal est une condition préalable à l'établissement de la colonisation. Dans la présente étude, l'adhérence intercellulaire a été déterminée en utilisant la lignée cellulaire CaCo2 et la jonction d'adhérences où la cellule interagit avec la jonction intracellulaire d'interaction a été surveillée et le score d'adhérence a été déterminé en utilisant la coloration de Giemsa et observé 20 champs microscopiques différents (Han et al., [2017](#)). Le potentiel d'adhésion bactérienne envers le CaCo2 a été examiné pour *L. plantarum* et *E. lactis*. La lignée cellulaire a été maintenue dans les conditions recommandées (à 37 °C dans une atmosphère humidifiée à 5 % de CO<sub>2</sub> et 95% d'air). Des études d'adhérence in vitro ont été menées au Centre national de toxicologie (NTC) de Pune.

### 2.7. Fermentation du lait par des souches LAB isolées

Le lait était acheté sur le marché local. Les échantillons de lait ont été bouillis (80–90 °C) et refroidis à (40 °C). Le lait a été inoculé avec 1 % des souches (souches utilisées dans cette étude : *L. lactis*, *L. plantarum* et *E. lactis*.) en maintenant le nombre de cellules à  $1 \times 10^6$  et le lait a été versé dans des plats en verre à évaporation stérilisés. Le volume de lait utilisé pour la fermentation était de 50 mL. Les fermentations ont été effectuées à 28–32 °C pendant 4 h. Des échantillons de caillé formulés ont été analysés pour les propriétés biochimiques telles que le pH, l'acidité ([AOAC, 1995](#)) et la synérèse avec un protocole modifié ([Hickisch et al., 2016](#)). Le nombre viable de micro-organismes a également été évalué après la fermentation en étalant des dilutions en série d'échantillons sur des plaques MRS incubées pendant 24 à 48 h à 37 °C. Le nombre de cellules viables a été exprimé en log des unités formatrices de colonies (UFC) moyennes.

## 2.8. Évaluation du goût

Des échantillons de caillé formulé ont été analysés pour la couleur/l'apparence, la texture, l'odeur, le goût et la préférence générale. L'expérience a été menée en mars 2018 avec l'aide de membres du laboratoire (le groupe d'âge appartient au début de la quarantaine à la fin de la cinquantaine avec un nombre égal de candidats masculins et féminins). Un groupe de dix membres a été formé et a effectué des analyses de goût (la formation a été donnée aux membres en interne avec le laboratoire lui-même sur la base des directives décrites par Sensory Evaluation Practices, 2e édition par [Stone et Sidel, 1993](#)). Des échantillons ont été fournis aux membres dans une tasse de 5 à 10 ml par tasse pour analyse du goût.

Conformément aux directives, l'analyse du goût du caillé formulé a été observée et notée comme décrit ([Stone et Sidel, 1993](#)). Les scores de goût inclus; Aime extrêmement = 9, Aime beaucoup = 8, Aime modérément = 7, Aime légèrement = 6, Ni aime ni n'aime pas = 5, N'aime pas légèrement = 4, N'aime pas modérément 3, N'aime pas beaucoup = 2, N'aime pas extrêmement = 1.

Toutes les expériences présentées dans l'étude ont été réalisées en triple. Les étiquettes de données sont donc la moyenne des valeurs en triple  $\pm$  écart type (moins de 5 % de la moyenne). Les résultats obtenus étaient statistiquement significatifs ( $p < 0,05$ ).

Le comité d'éthique du Centre national de recherche sur le chameau, Bikaner a approuvé le protocole et tous les membres ont donné leur consentement écrit avant de participer à l'étude.

[Aller à:](#)

## 3. Résultats et discussion

---

### 3.1. Caractérisation d'un échantillon de Lait de Chamelle

Dans la présente étude, toutes les races indiennes de chameaux ( *Mewari*, *Kachchi*, *Bikaneri* et *Jaishalmeri* ) avec une période de lactation variable ont été prises en considération pour le dépistage du potentiel des LAB. En Inde, les races de chameaux portent le nom de la région dont elles sont originaires. Le Lait de Chamelle de toutes les races indiennes avec une période de lactation de 1 à 12 mois a été examiné pour la caractérisation physicochimique où la graisse, le solide non gras (SNF), les protéines, la teneur en cendres et le pH ont été étudiés ([Tableau 1](#)). Le Lait de Chamelle est riche en vitamine C en raison de laquelle son pH est bas et cela aide finalement à l'absorption dans le tractus gastro-intestinal. Il est également riche en minéraux comme Ca, Fe et Zn ([Tableau 2](#)). Comme le rôle du Zn est crucial dans le développement et le maintien d'un système immunitaire fonctionnel, sa déficience peut entraîner des complications dans le fonctionnement global du système ( [Gizachew et al., 2014](#) ). Les valeurs totales de graisse (2,82%) et de SNF (6,61%) étaient plus élevées à *Bikaneri* par rapport aux autres races de chameaux. La matière grasse du lait est principalement constituée d'acides gras polyinsaturés à longue chaîne (AGPI) ( [Wernery, 2007](#) ). Les protéines sont le constituant principal du Lait de Chamelle et ont une valeur nutritionnelle majeure. Le pourcentage de protéines varie de 2,01 à 2,95 %. La présence de  $\beta$  lacto globuline n'a pas été trouvée à la place de laquelle la  $\beta$  caséine était présente ([Tableau 2](#)). Les protéines du lait sont des complexes de caséine et des fractions de protéines de lactosérum et constituent un groupe hétérogène de composés. Les protéines de lactosérum constituent environ 20 à 25 % des protéines totales et l' $\alpha$  - lactalbumine est le principal composant du Lait de Chamelle.

**Tableau 1**

Affichage de la valeur de la composition du lait (pourcentage) de différentes races de chameaux en Inde.

Race de chameau	Longitude et latitude	pH	Composition du lait (pourcentage)					
			Eau	Graisse	FN S	Protéine	Lactose	Cendre

<b>Bikane ri</b>	28.0229° N, 73.3119° E	6,35 ± 0,00 2	83,9 7 ± 0,0 2	2,82 ± 0,001	6,61 ± 0,00 2	2,16 ± 0,001	3,68 ± 0,001	0,76 ± 0,000 1
<b>Jaislmeri</b>	26.9157° N, 70.9083° E	6,35 ± 0,00 2	85,1 3 ± 0,01	2,50 ± 0,001	6,18 ± 0,00 3	2,01 ± 0,001	3,47 ± 0,001	0,71 ± 0,000 2
<b>Katchhi</b>	23.7337° N, 69.8597° E	6,39 ± 0,00 1	84,1 3 ± 0,0 3	2,68 ± 0,001	6,60 ± 0,00 2	2,14 ± 0,001	3,69 ± 0,001	0,76 ± 0,000 1
<b>Méwarhi</b>	29.9917° N, 78.5931° E	6,38 ± 0,00 2	84,5 1 ± 0,0 2	2,72 ± 0,001	6,38 ± 0,00 3	2,10 ± 0,001	3,56 ± 0,001	0,73 ± 0,000 3

[Ouvrir dans une fenêtre séparée](#)

Les valeurs sont données sous forme de moyenne ± écart type (SD) à partir d'expériences en triple.

## Tableau 2

Profil en acides gras et minéraux de la composition du Lait de Chamelle (valeur moyenne).

Acide gras	Acide butyrique C <sub>3</sub> H <sub>7</sub> CO OH	Acide caproïque C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub>	Acide caprylique C <sub>8</sub> H <sub>16</sub> O <sub>2</sub>	Acide caprique C <sub>10</sub> H <sub>20</sub> O <sub>2</sub>	Acide laurique C <sub>12</sub> H <sub>24</sub> O <sub>2</sub>	Acide myristique C <sub>14</sub> H <sub>28</sub> O <sub>2</sub>	Acide myristoléique C <sub>14</sub> H <sub>26</sub> O <sub>2</sub>	Acide palmitique C <sub>16</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>	Acide palmitoléique C <sub>16</sub> H <sub>30</sub> O <sub>2</sub>	Acide stéarique C <sub>18</sub> H <sub>36</sub> O <sub>2</sub>	Acide oléique C <sub>18</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>	Acide linoléique C <sub>18</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>	Acide arachidique C <sub>20</sub> H <sub>40</sub> O <sub>2</sub>
Valeur % en poids	0,31–0,75	0,2–0,6	0,2–0,3	0,2–0,4	1–1,8	15,9–25,2	1,7–4,5	25–29,5	6,1–19,1	1,9–11,7	6,8–24,9	0,9–0,2	0,6–3,4
Profil minéral	N / A	K	Californie	P	mg	Fe	Zn	Cu	α-caséine	β-caséine	κ-caséine	–	–
Valeurs	29,70 ± 0,53 mEq/L	50,74 ± 0,51 mEq/L	94,06 ± 0,75 mg%	41,68 ± 0,55 mg%	11,82 ± 0,22 mg%	1,00 ± 0,12 mg/dl	2,00 ± 0,02 mg/dl	0,44 ± 0,04 mg/dl	21%	65%	3,47%	–	–

[Ouvrir dans une fenêtre séparée](#)

Les valeurs sont données sous forme de moyenne en pourcentages (%).

Le Lait de Chamelle est le meilleur complément naturel au lait maternel car il manque de β lactoglobulines, une protéine que l'on trouve normalement dans le lait d'autres ruminants et qui peut parfois provoquer une réaction allergique. Le principal

constituant fonctionnel du Lait de Chamelle est la présence d'immunoglobulines largement, et ils sont censés être utiles dans la réduction des réactions allergiques en améliorant le système immunitaire (Shabo et al., [2005](#)).

### 3.2. Isolement et caractérisation des LAB (bactéries lactiques)

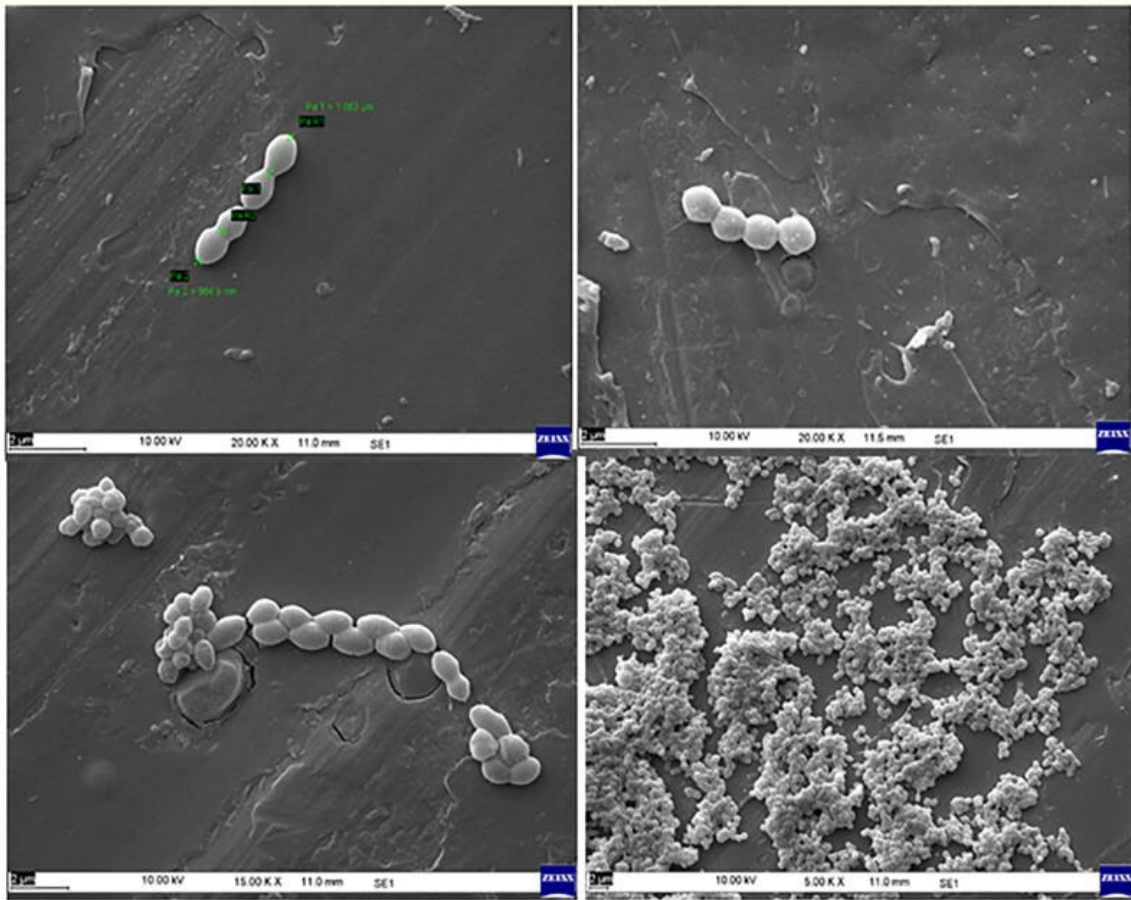
L'isolement de LAB à partir de Lait de Chamelle a été réalisé sur MRS Agar. Un total de quatre-vingts LAB présumés ont montré un Gram positif et un négatif de catalase ont été considérés pour des tests supplémentaires. Les quatre-vingts isolats de LAB ont été étudiés pour leurs caractéristiques morphologiques et physiologiques. Sur la base de la température (37 à 45 ° C) et de la tolérance au sel (6 à 8% de NaCl), à la tolérance au pH (2 à 5), seuls neuf isolats de LAB ont été pris en compte pour une caractérisation probiotique détaillée, dont seulement trois LAB (cam 12 *L. lactis*, cam 14 *E. lactis* et cam 15 *L. plantarum*) ont montré une tolérance aux sels biliaires. Ces trois LAB ont été étudiés plus en détail pour l'identification, la caractérisation biochimique et les propriétés probiotiques (tableau S1).

L'utilisation maximale du sucre a été observée avec la came 14 et a pu utiliser tous les sucres testés, notamment le lactose, le glucose, le saccharose, le mannitol, le galactose, l'arabinose et le tréhalose. Toute l'utilisation du sucre testée a été observée dans tous les LAB sélectionnés (cam12, cam14 et cam15), mais l'utilisation de l'arabinose n'a été observée que dans la came 14. L'utilisation du sucre a été réalisée à l'aide du kit HiBacillus (Himedia). Un autre test de réduction des nitrates s'est révélé positif dans cam 12 *L. lactis*. Dans le test Voges - Proskauer (VP), la came 14 s'est révélée positive, le test VP détermine la production d'acétoïne à partir du glucose qui est un précurseur de la synthèse du 2, 3 Butane-diol. D'autres chercheurs ont également étudié et rapporté des résultats similaires pour les espèces d'*Enterococcus* ([Morandi et al., 2013](#)).

Les micrographies des souches ont révélé des cocci (329,0–787,5 nm), des bâtonnets (584,2–943,1 nm) et se sont produits



en paires ou en chaînes. Morphologiquement, les souches étaient gram-positives et non mobiles, sous imagerie SEM, aucun flagelle ou fibrille polaire n'a été observé (Fig. 1). Ainsi *E. lactis* (came 14), *L. lactis* (came 12) et *L. plantarum* (cam 15) partagent également la similitude et la ressemblance morphologique avec les membres du groupe LAB avec des espèces probiotiques potentielles en herbe ( [Nuryshv et al., 2016](#) ).

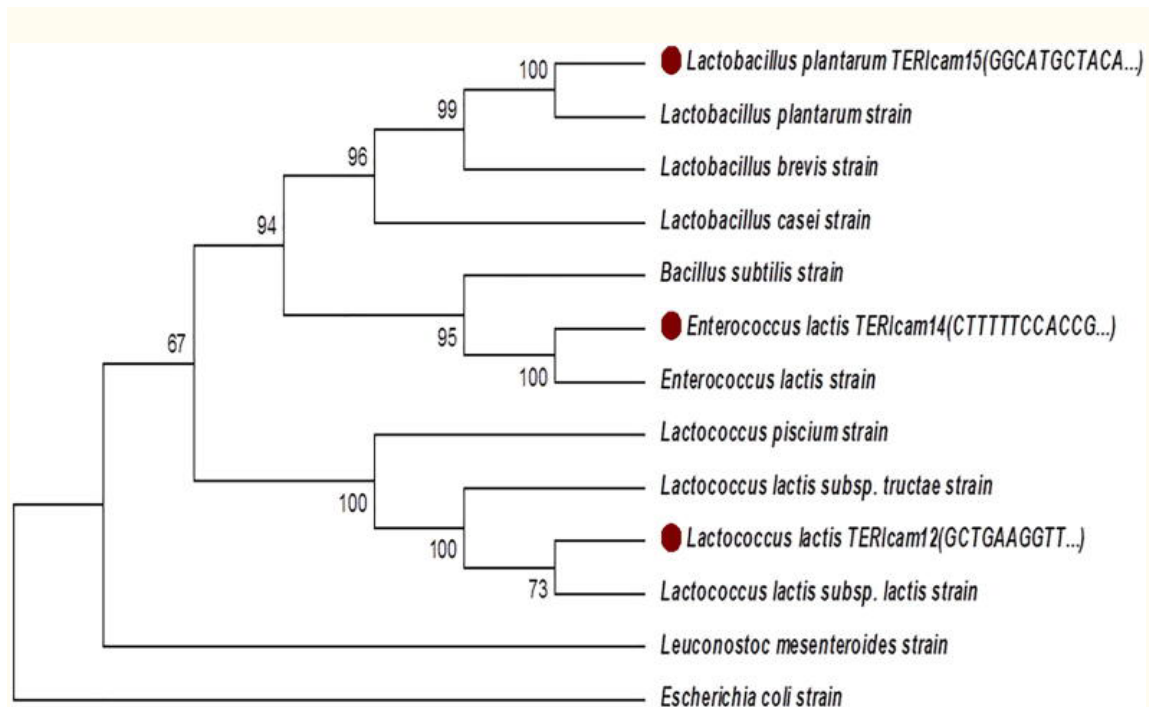


**Fig. 1**  
Images SEM de souches sélectionnées.

Sur la base de la dynamique probiotique des LAB isolées de différentes races indiennes de chameaux, l'identification a été réalisée. D'autres candidats potentiels sélectionnés (cam14, cam 12 et cam 15) ont été étudiés pour la caractérisation génétique par le gène de l'ARNr 16S. Les souches ont été identifiées comme *E. lactis*, *L. lactis* et *L. plantarum* et les numéros d'accèsion étaient [MF143551](#) , [MF143552](#) et [MF143553](#) . L'existence principale de *L. lactis* et *E. lactis* espèces dans le Lait de Chamelle ont

également été signalées dans le passé ( [Khay et al., 2011](#) , [Hamed et Elattar, 2013](#)). Isolées du Lait de Chamelle, la majorité des souches ont été identifiées comme des espèces d'*Enterococcus* , de *Lactococcus* et de *Lactobacillus* , la dominance d' *E. lactis* et *L. lactis* dans le lait a également été mis en évidence par les auteurs dans le lait de vache ( [Zamfir et al., 2006](#) ) et également dans le lait de chèvre ( [Badis et al., 2004](#) ). Il a également été observé que la présence d' *Enterococcus* dans le lait était plus importante et elle est directement liée aux pratiques de traite et à l'environnement des étables ou des fermes. Auparavant, les mêmes observations ont également été faites qu'il existe un contact direct entre la salle de traite et la présence de foin dans la litière qui semble favoriser l'inoculation du lait avec *Enterococcus faecalis* ou *Enterococcus faecium* ( [Tormo et al., 2015](#) ).

L'analyse phylogénétique avec MEGA (packages version 7.0) suggère que cam 14, cam 12 *L. lactis* et cam 15; *L. plantarum* pourrait représenter des souches qui forment une lignée distincte du type connu LAB ( [Figure 2](#) ).

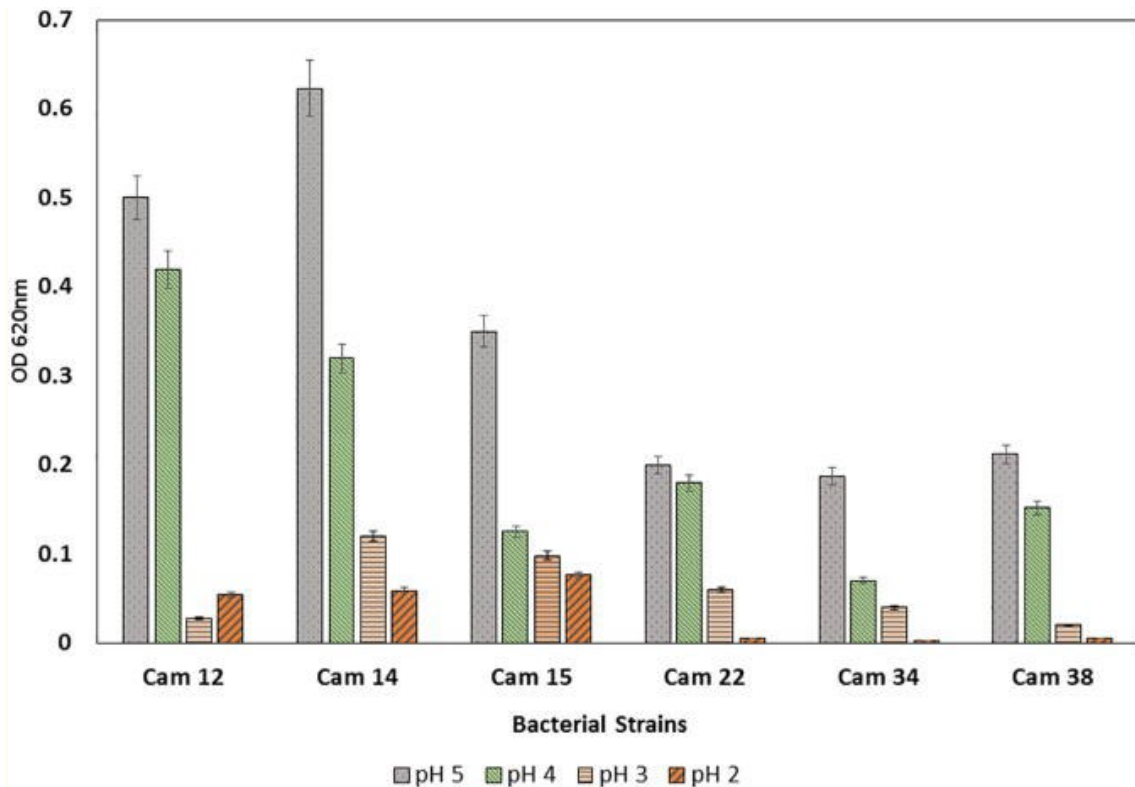


[Figure 2](#)

Analyse phylogénétique de souches sélectionnées.

### 3.3. Tolérance aux acides

L'une des principales références des probiotiques est d'être résistant à l'environnement acide. Les probiotiques vertueux ont résisté à un pH bas (allant jusqu'à pH -2,0) et ont également montré une tolérance aux niveaux élevés d'acide, qui existent dans l'estomac humain ( [Das et al., 2016](#) ). Les LAB potentiels sélectionnés ont été criblés pour leur capacité à tolérer des conditions acides dans un bouillon MRS en présence d'enzyme pepsine avec un pH ajusté à 5,0, 4,0, 3,0 et 2,0. La survie à pH 3,0 était favorable pour tous les LAB sélectionnés. Tous les LAB sélectionnés ont survécu à pH -3,0 tandis que *E. lactis* (cam 14) et *L. plantarum* (cam 15) ont poursuivi leur croissance jusqu'à pH 2,0 ([Figure 3](#) & [Tableau S2](#)). Des observations antérieures ont également été faites pour trois souches d'*E. faecium* qui ont survécu à un pH de 3,0 après 3 h ( [Strompfova et al., 2004](#) ). Au meilleur de notre compréhension, dans notre étude, la souche *E. lactis* (cam 14) du Lait de Chamelle a montré la tolérance maximale au pH même à pH 2,0 parmi les autres *Enterococcus* sp. Parmi les entérocoques, *E. faecium* est l'espèce la plus couramment utilisée dans les probiotiques commerciaux car *E. faecium* est utilisé comme probiotique efficace et il a le potentiel de défendre les animaux contre les maladies causées par *E. coli*, *Salmonellae* ou *Clostridia*. Même le probiotique bien étudié *L. rhamnosus* Le GG ne tolère les conditions acides qu'à un pH de 3,0 alors qu'à un pH inférieur, il perd sa viabilité dans les sucs gastriques ( [Goldin et al., 1992](#) ).



**Figure 3**

Tolérance aux acides de souches sélectionnées à différents pH.

Dans notre étude, le modèle de tolérance à l'acide dépend de la souche. *E. lactis* a montré la tolérance même à pH 2,0 tandis que *L. lactis* et *L. plantarum* ont montré une tolérance à pH 3,0. Des résultats similaires ont été observés par des chercheurs selon lesquels la tolérance à l'acide chez les lactobacilles et les bifidobactéries est également spécifique aux souches, même à une plage de pH de 1,5 à 3,0 ( [Lankaputhra et Shah, 1995](#) ).

### 3.4. Tolérance aux sels biliaries et hydrolyse des sels biliaries

La résistance aux sels biliaries est l'une des qualités les plus importantes des probiotiques car ils dissolvent les lipides membranaires, entraînant la fuite et la mort des cellules ( [Choi et Chang, 2015](#) ). Dans la présente étude, la tolérance et l'hydrolyse des sels biliaries ont été étudiées avec le désoxycholate de sodium, le taurocholate de sodium et le cholate de sodium. *E. lactis* et *L. plantarum* (cam 14 et cam 15) ont montré une croissance et une survie contre les sels biliaries (désoxycholate de sodium et taurocholate de sodium) dans la plage de 0,1, 0,2 et 0,3

% ([Figure 4](#)) alors qu'aucun des LAB isolés du Lait de Chamelle n'a montré de tolérance au sel biliaire de cholate de sodium. La tolérance aux acides et aux sels biliaires de tous les LAB variait considérablement en raison de leur nature spécifique ([Pitino et al., 2012](#)). Il a également été rapporté que le mécanisme de résistance à un faible pH ou à une faible concentration de bile dépend de la souche et de l'espèce ([Aarti et al., 2017](#)). Des résultats similaires ont été rapportés pour les souches d'espèces d'*Enterococcus* provenant de chiens. Il pourrait également tolérer les conditions des sels biliaires et survivre dans les conditions intestinales ([Strompfova et al., 2004](#), [Lee et al., 2011](#)). Notre étude et nos résultats suggèrent également une survie acceptable de *L. plantarum* et *E. lactis* dans l'environnement des sels biliaires, même dans un pourcentage élevé (0,3 %) des concentrations de bile. Des études antérieures sur les lactobacilles ont également suggéré une grande tolérance des souches probiotiques *L. fermentum*, *L. plantarum* et *L. paracasei* aux sels biliaires ([Zoumpopoulou et al., 2008](#)). Alors que l'action de l'hydrolase des sels biliaires est une caractéristique importante pour les candidats probiotiques, comme avec cette propriété intégrale des LAB, ils pourraient supporter l'environnement toxique présent dans l'intestin en raison des sels biliaires conjugués.

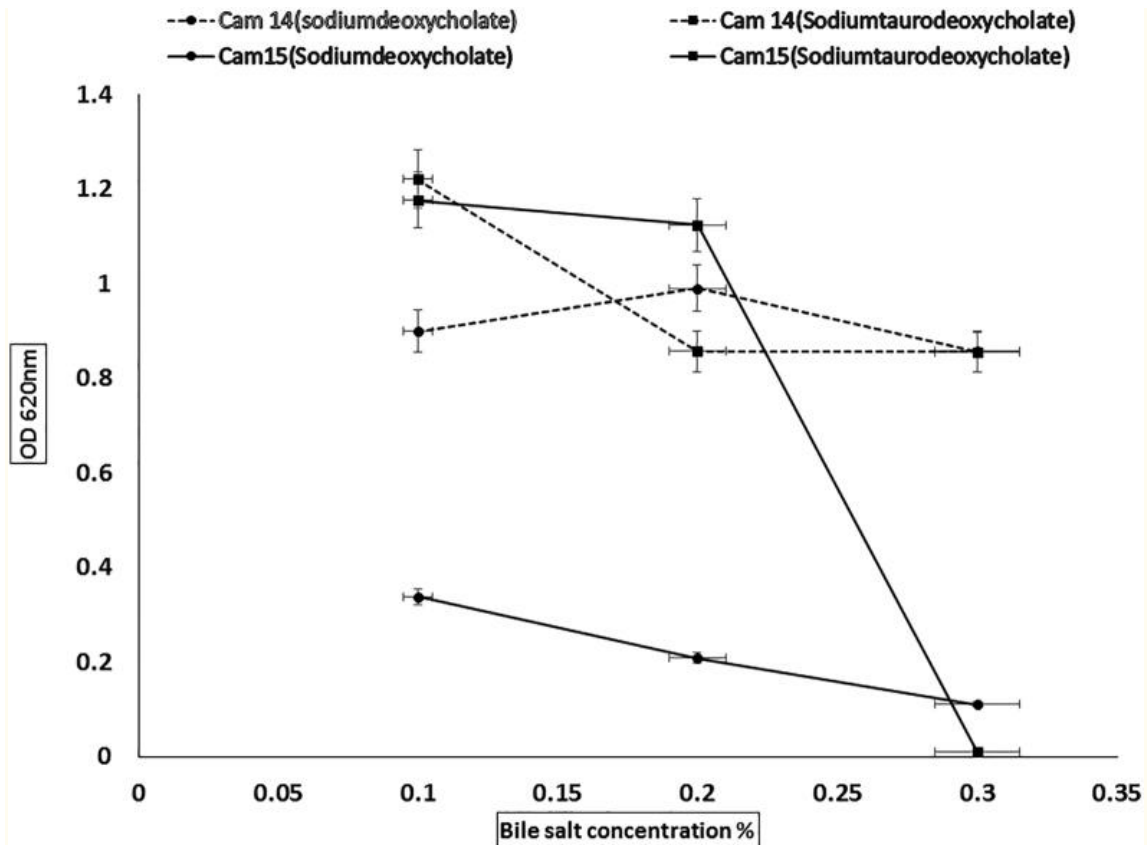


Figure 4

Données de tolérance aux sels biliaries de souches sélectionnées.

Le test d'hydrolyse des sels biliaries a été effectué avec des LAB sélectionnés et il a été observé que les LAB du Lait de Chamelle étaient capables de se développer et de conjuguer les sels biliaries. Une activité d'hydrolyse potentielle a été observée chez *Enterococcus lactis* (cam 14) avec du désoxycholate de sodium, du taurodésoxycholate de sodium et du cholate de sodium, tandis que *Lactobacillus plantarum* (cam 15) a montré une activité d'hydrolyse avec du désoxycholate de sodium, du taurodésoxycholate de sodium suivi de *Lactococcus lactis* (cam 12) a montré une activité BSH avec du sodium. taurodésoxycholate (Tableau 3).



**Tableau 3**

Activité d'hydrolyse des sels biliaires.

Souches	Désoxycholate de sodium (log <sub>10</sub> UFC/ml)	Tauro désoxycholate de sodium (log <sub>10</sub> UFC/ml)	Acide cholique log <sub>10</sub> UFC/ml
<i>Lactococcus lactis</i> (caméra 12)	Aucune colonie précipitée n'a été observée	7,0 ± 0,001	Aucune colonie précipitée n'a été observée
<i>Enterococcus lactis</i> (came 14)	8,25 ± 0,003	7,85 ± 0,002	7,89 ± 0,002
<i>Lactobacillus plantarum</i> (came 15)	7,21 ± 0,002	7,90 ± 0,001	Aucune colonie précipitée n'a été observée

[Ouvrir dans une fenêtre séparée](#)

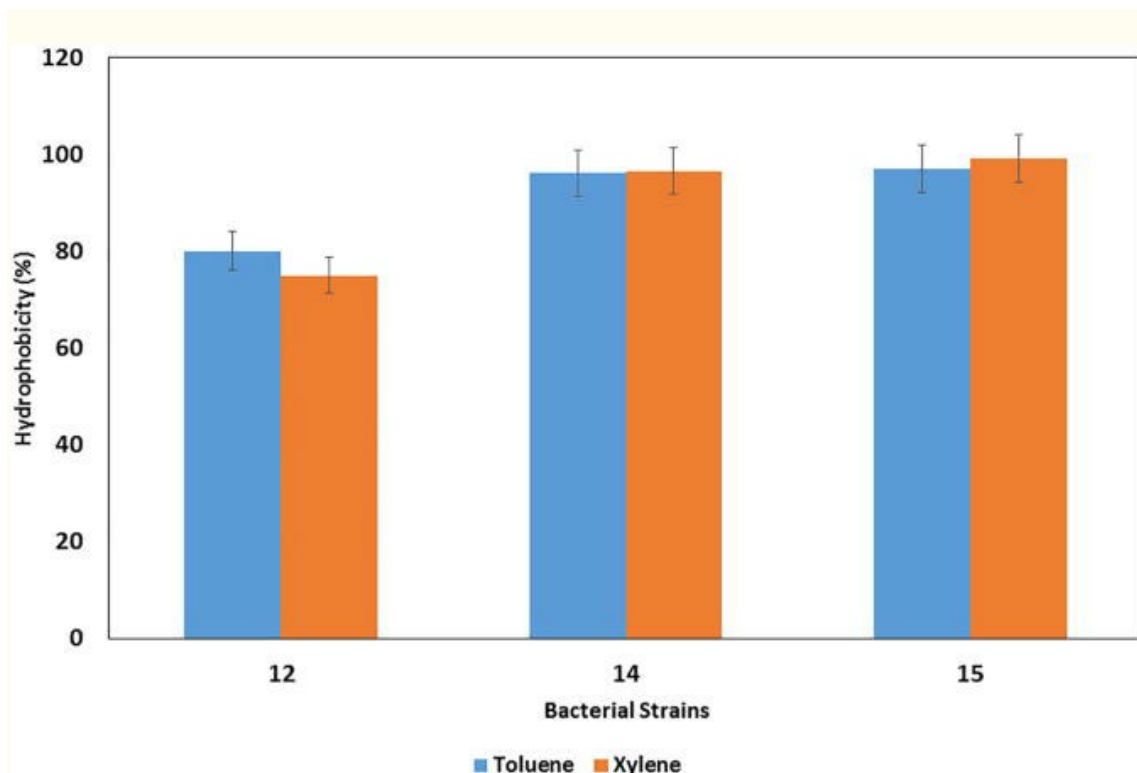
Les valeurs sont données sous forme de moyenne ± écart type (SD) à partir d'expériences en triple

Les scientifiques ont signalé et démontré la présence d'une activité hydrolase de sel de taurodésoxycholate de sodium dans toutes les souches de *L. acidophilus* et *L. \_johnsonii* isolé à partir de yaourts probiotiques ( [Schillinger et al., 2005](#) ). Les indications positives ont été montrées par le sel précipité autour des colonies par les LAB, ce qui est une bonne indication pour les probiotiques car il peut réduire l'accumulation de cholestérol chez l'homme. Des études similaires ont également été rapportées sur la Lp9 qui a montré une activité BSH positive contre le glycocholate de sodium et le taurodésoxycholate de sodium ( [Kaushik et al., 2009](#) ).

### 3.5. Hydrophobicité de la surface cellulaire

Dans la présente étude, l'hydrophobicité de la surface cellulaire *in vitro* a été étudiée et l'hydrophobicité cellulaire maximale trouvée pour *L. plantarum* (cam 15) avec du xylène (99 %) suivi du toluène (97 %). De même, *É. lactis* a montré une hydrophobicité cellulaire de 96 % avec le toluène et le xylène ([Figure 5](#)). Dans notre étude, *L. lactis* a montré la moindre hydrophobicité de surface avec le xylène et le toluène et aucune des souches n'a montré d'hydrophobicité contre le n-hexadécane. Les souches ont simplement montré la variation des modèles d'hydrophobicité (H%) avec différents hydrocarbures,

ce qui prouve que l'hydrophobicité est liée aux protéines de surface cellulaire qui sont spécifiques à la souche. Des observations similaires ont été rapportées pour *L. animalis* TSU 4 et *L. gasseri* TSU 3 qui ont montré une forte hydrophobicité contre le xylène et le toluène alors que la dernière a montré une hydrophobicité uniquement pour le xylène ( [Sahoo et al., 2015](#) ). Des chercheurs antérieurs ont suggéré que la différence dans le niveau d'expression des protéines de surface par les bactéries peut entraîner une énorme variation de l'hydrophobicité de la surface cellulaire parmi les LAB (Schillinger et al., [2005](#) ). Divers rapports ont également montré une corrélation entre l'hydrophobicité et la capacité d'adhésion ( [Ehrmann et al., 2002](#) ).

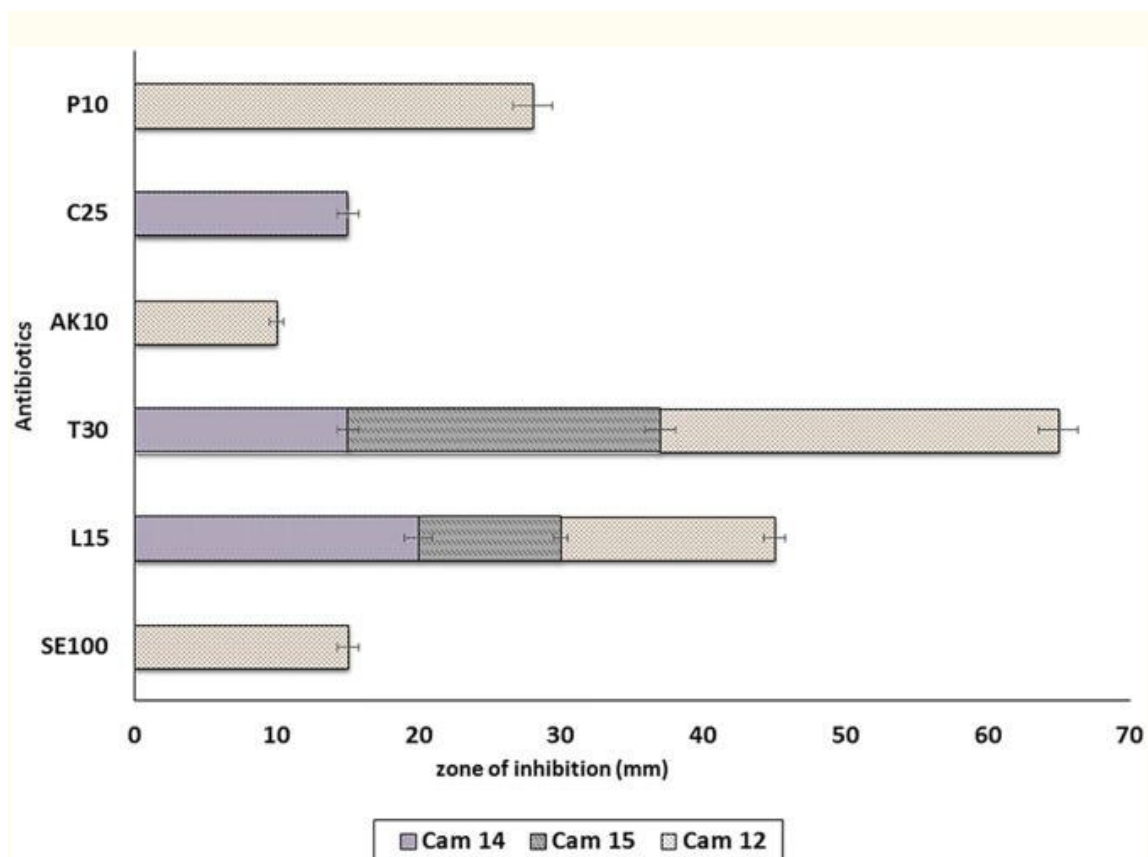


[Figure 5](#)  
Pourcentage d'hydrophobicité de surface (H%).

### 3.6. Sensibilité aux antibiotiques

Le genre *Lactobacillus* est le groupe le plus important parmi les bactéries lactiques (LAB) et probablement le plus couramment utilisé comme probiotique dans une variété d'aliments, principalement des produits laitiers fermentés. Dans la présente étude, les LAB potentiels du Lait de Chamelle ont été repris pour

la sensibilité aux antibiotiques (pénicilline, amikacine, lincomycine, streptomycine, tétracycline et chloramphénicol) en utilisant la méthode de diffusion sur disque sur plaque de gélose MRS dans des conditions aérobies, et les résultats sont rapportés dans [Figure 6](#). Dans les groupes d'agents antimicrobiens qui inhibent la paroi cellulaire et la synthèse des acides nucléiques, tous les LAB (100 %) se sont révélés résistants au chloramphénicol et à la lincomycine. Seulement 30 % de LAB sont intermédiaires à la streptomycine, au chloramphénicol et à l'amikacine.



[Figure 6](#)  
Évaluation antibiotique des souches potentielles.

En ce qui concerne les mécanismes génétiques, la sensibilité aux antibiotiques de *Lactobacillus* est limitée, bien que des gènes d'antibiotiques codés par plasmide aient été signalés à la fois chez *L. reuteri* et *L. plantarum* ([Solieri et al., 2014](#)). Les lactobacilles sont généralement sensibles à la pénicilline ciblant la paroi cellulaire. De même, les lactobacilles sont généralement sensibles aux antibiotiques qui inhibent la synthèse des protéines, tels que le chloramphénicol, la lincomycine et la

tétracycline. Différents gènes de chat, codant pour une chloramphénicol acétyltransférase, ont déjà été trouvés sur un plasmide dans une souche de *L. plantarum* isolée du porc ( [Egervarn et al., 2009](#)). La tétracycline également codée pour la protection des protéines sur le ribosome et distribuée dans les lactobacilles. Sur la base des données, il est suggéré que la sensibilité et la résistance aux antibiotiques des BL varient également selon les espèces ( [Solieri et al., 2014](#) ).

### 3.7. Test d'activité antimicrobienne

Lors de la sélection des probiotiques, il est très important que les souches inhibent la croissance bactérienne pathogène dans le tractus gastro-intestinal. Toutes les souches utilisées dans cette étude ont indiqué un effet inhibiteur significatif sur la croissance des microorganismes pathogènes. Les souches cam 14 *E. lactis* et cam 15 *L. plantarum* ont montré un effet plus fort sur *S.aureus*, *E. coli*, *B. cereus* alors que cam 12 *Lactococcus lactis* avait un effet inhibiteur normal sur *E. coli*. La zone d'inhibition des souches a été indiquée (tableau S3). L'une des caractéristiques importantes des bactéries probiotiques est d'avoir la capacité d'inhiber la croissance des bactéries pathogènes. Dans notre étude, les résultats ont montré que certaines souches de LAB peuvent produire des substances antimicrobiennes (acides organiques et bactériocines) et qu'elles ont le potentiel d'être utilisées comme conservateurs alimentaires. Plus tôt également, il a été observé que la source d'isolement des LAB jouait un rôle important dans l'inhibition contre un large éventail d'agents pathogènes, ce qui est à l'appui de nos résultats ( [Annuk et al., 2003](#) ).

### 3.8. Activité amines hémolytiques et biogènes

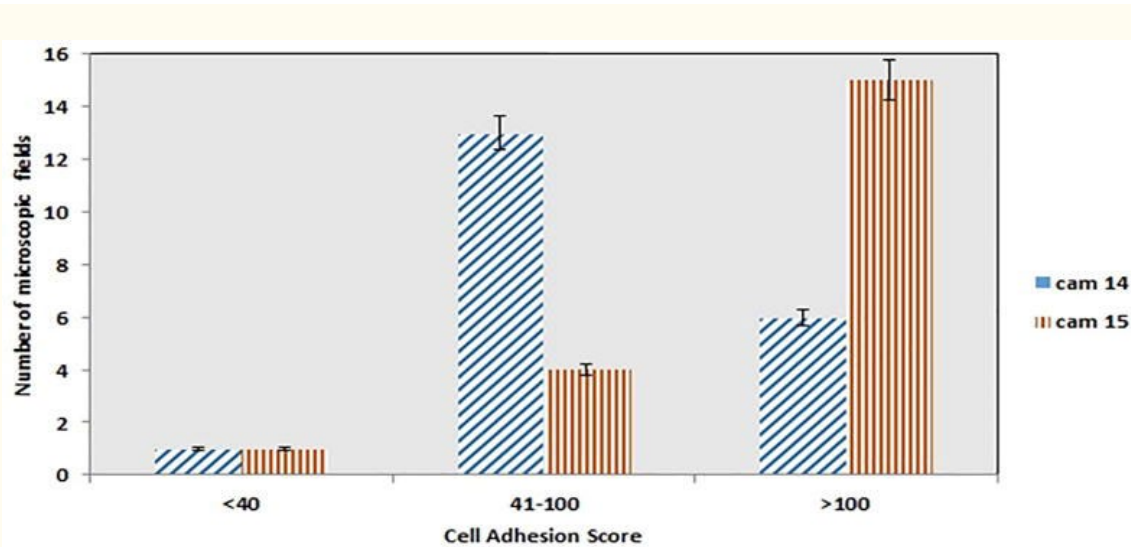
Dans la présente étude, toutes les souches n'ont montré aucune hémolyse ( $\gamma$ -hémolyse) des cellules sanguines. Les résultats ont été présentés (tableau S4). Des résultats similaires ont été rapportés dans lesquels *L. plantarum* et *Pediococcus* n'ont

montré aucune activité hémolytique ([Oh et Jung, 2015](#)). Conformément aux lignes directrices, aucune hémolyse des cellules sanguines ne prouve l'innocuité des probiotiques ([FAO/OMS, 2002](#)).

Des amines biogènes ont été produites lors de la décarboxylation des acides aminés. Plus tôt également signalé la présence de niveaux élevés d'amines biogènes dans les aliments avaient un impact grave sur les humains après la consommation ([Bover-Cid et Holzapfel, 1999](#), [Karošičová et Kohajdová, 2005](#)). L'absence d'amines biogènes est donc un critère de sécurité alimentaire. Dans notre étude, les amines biogènes n'étaient pas produites par la cam 15 *Lactobacillus plantarum*, la cam 12 *Lactococcus lactis* et la cam 14 *E. lactis*. Puisqu'il n'y a pas eu de changement de couleur, cela prouve qu'aucune amine biogène n'a été produite (données non présentées). Ainsi, came 15 *L. plantarum*, came 12 *L. lactis* et came 14 *E. lactis* valide pour être sûr en tant que cultures de démarrage.

### 3.9. Test d'adhésion cellulaire in vitro

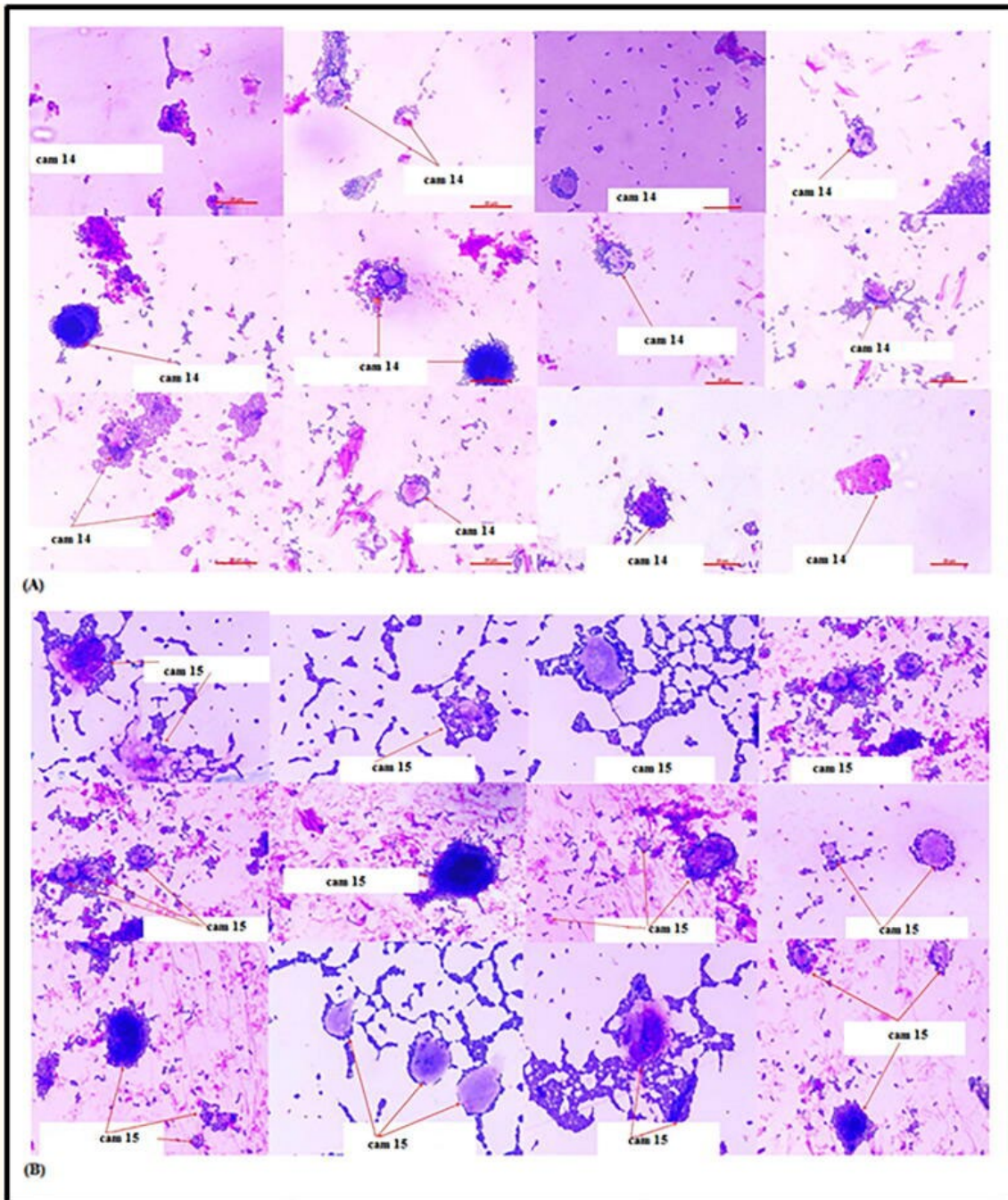
Le potentiel des probiotiques dépend invariablement de leur endurance dans le tractus gastro-intestinal. Ainsi, la capacité d'adhésion est considérée comme un standard pour sélectionner un probiotique potentiel ([Duary et al., 2011](#)). Dans la présente étude, sélectionnés potentiel LAB *L. plantrum* (cam 15) et *Enterococcus lactis* (cam 14) ont été testés pour la capacité d'adhésion avec des lignées cellulaires Caco-2. *L. plantrum* (cam 15) a montré une forte adhésion avec la lignée cellulaire Caco-2 et les scores d'adhésion (> 100 bactéries/15 champs microscopiques) sont indiqués dans [Figure 7](#) et Tableau S5. Alors que *E. lactis* (cam 14) a également montré un score d'adhésion de 100 bactéries/6 champs microscopiques. ([Figure 8](#) UN B). Lors d'une évaluation comparative, *L. reuteri* a montré un score d'adhésion de 100 %. Ces résultats concordent avec les conclusions d'une autre étude, qui a révélé qu'une capacité d'auto-agrégation élevée est liée à une forte capacité d'adhésion ([Wang et al., 2018](#)).



[Figure 7](#)

Score d'adhérence des souches (nombre de cellules bactériennes adhérant à la lignée cellulaire Caco-2).





**Figure 8**

(A) TERI cam 14 Cellules d'*Enterococcus lactis* adhérant aux cellules CaCo<sup>2</sup> (B) TERI cam15 Cellules de *Lactobacillus plantarum* adhérant aux cellules CaCo<sup>2</sup>.

Le mécanisme d'adhésion implique l'interaction entre les lipides, le peptidoglycane et les protéines de surface présentes sur la paroi cellulaire bactérienne. Des constituants protéiques liés à la paroi cellulaire bactérienne facilitant l'adhésion bactérienne aux cellules épithéliales intestinales ont été démontrés pour de nombreuses espèces de *Lactobacillus* ([Singh et al., 2017a](#), [Singh et al., 2017b](#)). Les résultats de cette étude

démontrent que les souches probiotiques *Lactobacillus plantrum* (cam 15) *Enterococcus lactis* (cam 14) testées étaient fortement adhésives avec les cellules épithéliales intestinales qui pourraient aider à concurrencer les entéropathogènes. Cependant, il est significatif que le mécanisme d'adhésion et la capacité d'adhésion soient hautement spécifiques aux souches probiotiques.

Récemment, de nombreux rapports ont suggéré que l'hydrophobicité d'une cellule est liée à la propriété d'adhésion des cellules bactériennes qui favorise la colonisation vers les cellules épithéliales ( [Caggia et al., 2015](#) ). Ainsi, la colonisation des probiotiques dans les cellules épithéliales est spécifique de la souche et dépend notamment de la sécrétion de protéines extracellulaires par les bactéries.

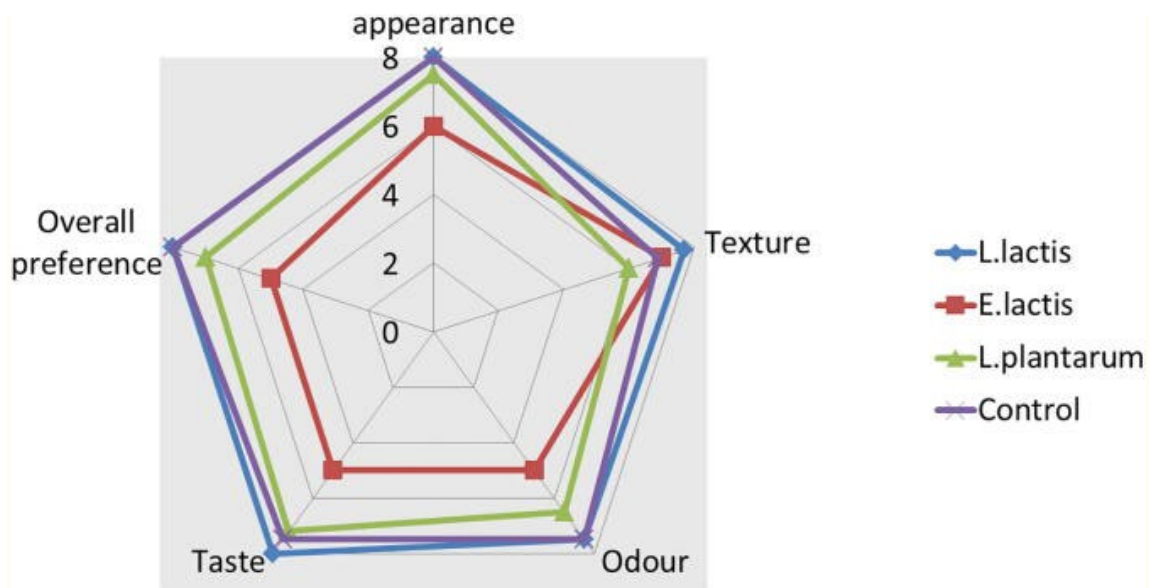
### 3.10. Propriétés post-fermentaires du caillé formulé

Les valeurs titrables d'acidité et de pH des échantillons de lait fermenté (caillé) ont été déterminées à 4 h (tableau S6). La valeur du pH des trois échantillons de caillé probiotique a diminué. La diminution du pH est la plus élevée dans le caillé inoculé avec *E. lactis* et la diminution la plus faible a été observée avec *L. lactis* . Les valeurs d'acidité titrables variaient de 0,90 à 0,95 % par rapport aux formulations de caillé probiotiques, des niveaux d'acidité plus faibles ont été observés dans les échantillons témoins. Les valeurs de synérèse variaient de 20 à 30% dans les échantillons de caillé inoculés par rapport à l'échantillon témoin, la valeur augmente à 50%. Comme la synérèse est une caractéristique indésirable dans la formation du caillé car elle conduit à la séparation de la phase liquide du gel ( [Muganga et al., 2015](#) ). À partir de l'observation ci-dessus, on peut supposer que la synérèse et la texture du caillé formulé ont été influencées par les souches probiotiques utilisées et le temps de fermentation. Le rôle du micro-organisme est important dans les produits laitiers et fermentés car la culture starter joue un rôle en donnant l'originalité au produit final en termes de texture, de saveur et de préférence globale (Cocolin et al., 2018). Le nombre

de cellules viables de *L. plantarum* (cam 15) *E. lactis* (cam 14) et *Lactococcus lactis* (cam 12) est présenté dans le tableau S6.

### 3.11. Évaluation du goût du caillé formulé

Les scores ont été enregistrés pour la couleur/l'apparence, la texture, le goût, l'odeur et la préférence globale sont résumés ([Figure 9](#)). Tous les caillés probiotiques formulés ont été évalués avec des valeurs comparables par les membres formés par rapport à l'échantillon de contrôle/caillé ordinaire. Dans cette étude, le caillé formulé avec *L. lactis* et *L. plantarum* est globalement préféré au caillé formulé avec le starter probiotique *Enterococcus lactis*. Cela est dû aux souches probiotiques spécifiques utilisées comme starters car elles produisent divers composés aromatisants et acides au cours du processus de fermentation qui est spécifique à la souche. D'après l'étude, le caillé formulé avec *E. lactis* comme levain n'avait pas la saveur authentique du caillé. De même, un chercheur a signalé que le caillé formulé avec le starter *E. faecium* était de couleur chamois, n'avait pas la saveur du caillé et avait une sensation grasse en bouche ([Ramakrishnan et al., 2014](#)). Le faible score de préférence obtenu pour le caillé formulé par *E. lactis* peut être dû au test de palais différent et au manque de consommation de caillé avec des levains probiotiques. De plus, un test de pathogénicité pour cam14 et cam15 a été effectué. Les résultats de toxicité orale aiguë suggèrent que la présence de LAB n'a été observée dans aucun des organes. Par conséquent, les cultures sont un substitut non toxique, non virulent et sûr aux formulations probiotiques.



**Figure 9**

Attributs de goût présentés sous la forme d'un diagramme radar des données d'évaluation du goût du caillé probiotique formulé (*L. lactis*, *L. plantarum* et *E. lactis* et échantillon témoin).

[Aller à:](#)

## 4. Conclusion

Le lait des races de chameaux indiens comme *Mewari*, *Bikaneri*, *Kachchi* et *Jaisalmeri* a été examiné pour le LAB efficace pour vérifier leur potentiel probiotique. Selon les propriétés morphologiques, physiologiques et biochimiques et la confirmation par les séquences du gène de l'ARNr 16S, les LAB potentiels ont été identifiés comme étant *L. lactis*, *E. lactis* et *L. plantarum*. Les résultats ont montré qu'*Enterococcus lactis* était très résistant aux sels biliaires à faible pH et élevé, tandis que *Lactobacillus plantarum* adhérait fortement à la lignée cellulaire épithéliale humaine Caco2. Les souches étaient très sensibles au chloramphénicol, à la vancomycine et à la tétracycline. Parmi tous les LAB du Lait de Chamelle, *L. plantarum*, *L. lactis* et *E. lactis* se sont avérés être un probiotique efficace. Même les souches ont été utilisées pour formuler le caillé et une analyse du goût a été effectuée. Et cela montre l'acceptabilité globale des échantillons de caillé formulés en utilisant cam15 *L. plantarum* et *L. lactis*. Par conséquent, *L.*



*plantarum* et *L. lactis* (qui se réfèrent respectivement à cam15 *L. plantarum* et cam12 *L. lactis*) en tant que probiotique dynamique bioactif et pourraient constituer un substitut viable aux aliments synthétiques pour nourrissons. Par conséquent, des essais cliniques appropriés seront étudiés pour valider la puissance des probiotiques développés.

[Aller à:](#)

## Contributions d'auteur

---

AS a réalisé l'ensemble des expériences à l'échelle du laboratoire et a également rédigé le manuscrit as. ML avait conçu le cadre de recherche. RS a aidé à l'analyse du goût. BL et ML ont revu le manuscrit de manière critique. Tous les auteurs ont lu et approuvé le manuscrit.

[Aller à:](#)

## Déclaration d'intérêts concurrents

---

Les auteurs déclarent qu'ils n'ont pas d'intérêts financiers concurrents ou de relations personnelles connus qui auraient pu sembler influencer le travail rapporté dans cet article.

[Aller à:](#)

## Remerciements

---

Nous sommes reconnaissants à TERI pour fournir les installations d'infrastructure pour accomplir la présente étude. Nous sommes reconnaissants au Département de la biotechnologie (subvention DBT n°

BT/PR10482/PFN/20/866/2013), gouvernement indien pour son soutien financier en collaboration avec le partenaire du projet, le Dr Raghvendar Singh, Centre national de recherche sur le chameau. Nous tenons également à remercier le directeur du CNRC pour son soutien et ses conseils liés à l'analyse du goût. Nous tenons également à remercier M. Sanjiv Kumar, TERI pour la collecte d'échantillons du NRCC. Nous tenons également à remercier le personnel technique de notre laboratoire pour toutes sortes d'aide au cours de l'étude.

[Aller à:](#)

## Notes de bas de page

---

Examen par les pairs sous la responsabilité de l'Université King Saud.

## Références

---

1. Aarti C., Khusro A., Varghese R., Arasu M.V., Agastian P., Al-Dhabi N., Ilavenil S., Choi K. *In vitro* studies on probiotic and antioxidant properties of *Lactobacillus brevis* strain LAP2 isolated from *Hentak*, a fermented fish product of north-east India. *LWT - Food Sci. Technol.* 2017;86:438–446. doi: 10.1016/j.lwt.2017.07.055. [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
2. Alebie G., Yohannes S., Worku A. Therapeutic applications of camel's milk and urine against cancer: current development efforts and future perspectives. *J. Cancer Sci. Ther.* 2017;9:468–478. doi: 10.4172/1948-5956.1000461. [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
3. Annuk H., Shchepetova J., Kullisaar T., Songisepp E., Zilmer M., Mikelsaar M. Characterization of intestinal lactobacilli as putative probiotic candidates. *J. Appl. Microbiol.* 2003;94:403–412. doi: 10.1046/j.1365-2672.2003.01847.x. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
4. AOAC, 1995. Official methods of analysis of the association of official analytical chemists. Arlintong, VA.
5. Badis, A., Guetarni, D., Boudjema, B.M., Henni, D.E., K.I.H.A.L., M., 2004. Identification and technological properties of lactic acid bacteria isolated from raw goat milk of four Algerian races. *Food Microbiol.* 21, 579 – 588. doi: 10.1016/j.fm.2003.11.006
6. BAHS, 2012. Basic Animal Husbandry Statistics, <http://www.dahd.nic.in>.
7. Balouiri M., Sadiki M., Ibensouda S.K. Methods for in vitro evaluating anti-microbial activity: A review. *J. Pharmaceutical Anal.* 2016;6:71–79. doi: 10.1016/j.pha.2015.11.005. [[PMC free article](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
8. Batta N., Subudhi S., Lal B., Devi A. Isolation of a lead tolerant novel bacteria species, *Achromobacter* sp. TL-3: Assessment of bioflocculant activity. *Indian J. Exp. Biol.* 2013;51:1004–1011. doi: hdl.handle.net/123456789/23472. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]



9. Bauer A.W., Kirby W.M., Sherris J.C., Turck M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am. J. Clin. Pathol.* 1966;45:493–496. doi: 10.1093/ajcp/45.4\_ts.493. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
10. Bover-Cid S., Holzapfel W.H. Improved screening procedure for biogenic amine production by lactic acid bacteria. *Int. J. Food Microbiol.* 1999;53:33–41. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
11. Caggia C., De Angelis M., Pitino I., Pino A., Randazzo C.L. Probiotic features of *Lactobacillus* strains isolated from Ragusano and Pecorino Siciliano cheeses. *Food Microbiol.* 2015;50:109–117. doi: 10.1016/j.fm.2015.03.010. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
12. Choi E.A., Chang H.C. Cholesterol-lowering effects of a putative probiotic strain *L. plantarum* isolated from kimchi. *LWT - Food Sci. Technol.* 2015;62:210–217. doi: 10.1016/j.lwt.2015.01.019. [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
13. Das P., Khawala S., Biswas S. *In Vitro* probiotic characterization of *Lactobacillus casei* isolated from marine samples. *LWT - Food Sci. Technol.* 2016;73:383–390. doi: 10.1016/j.lwt.2016.06.029. [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
14. De Man J.D., Rogosa M., Sharpe M.E. A medium for the cultivation of lactobacilli. *J. Appl. Bacteriol.* 1960;23:130–135. doi: 10.1111/j.1365-2672.1960.tb00188.x. [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
15. Ehrmann M.A., Kurzak P., Bauer J., Vogel R.F. Characterization of lactobacilli towards their use as probiotic adjuncts in poultry. *J. Appl. Microbiol.* 2002;92:966–975. doi: 10.1046/j.1365-2672.2002.01608.x. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
16. Duary R.K., Rajput Y.S., Batish V.K., Grover S. Assessing the adhesion of putative indigenous probiotic lactobacilli to human colonic epithelial cells. *Indian J. Med. Res.* 2011;134:664–671. [[PMC free article](#)] [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
17. Egervarn M., Roos S., Lindmark H. Identification and characterization of antibiotic resistance genes in *Lactobacillus reuteri* and *Lactobacillus plantarum*. *J. Appl. Microbiol.* 2009;107:1658–1668. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
18. El-Agamy E.I., Ruppanner R., Ismail A., Champagne C.P., Assaf R. Purification and characterization of lactoferrin, lactoperoxidase, lysozyme and immunoglobulins from camel's milk. *Int. Dairy J.* 1996;6:129–145. doi: 10.1016/0958-6946(94)00055-7. [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
19. FAO/WHO Working Group Report, 2002. Guidelines for the evaluation of probiotics in food.
20. Fguiri I., Ziadi M., Ayeb N., Arroum S., Assadi M., Khorchani T. Isolation and characterization of lactic acid bacteria strains from raw camel milk for potential use in the production of fermented Tunisian dairy products. *Int. J. Dairy Technol.* 2016;69:103–113. doi: 10.1111/1471-0307.12226. [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
21. Gallego J.B., Lopez F.N.A., Rantsiou K., Diaz R.J., Fernandez A.G., Cocolin L. Screening of lactic acid bacteria isolated from fermented table olives with probiotic potential. *Food Res. Int.* 2013;50:135–142. doi: 10.1016/j.foodres.2012.10.004. [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
22. Gizachew A., Teha J., Birhanu T. Review on medicinal and nutritional values of camel milk. *Nat. Sci.* 2014;12:35–40. [[Google Scholar](#)]
23. Goldin B.R., Gorbach S.L., Saxelin M., Barakat S., Gualtieri L., Salminen S. Survival of *Lactobacillus* species (Strain GG) in human gastrointestinal tract. *Dig. Dis. Sci.* 1992;37:121–128. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
24. Hamed E., Elattar A. Identification and some probiotic potential of Lactic Acid Bacteria isolated strains from Egyptian camel's milk. *Life Sci. J.* 2013;10:1952–1957. [[Google Scholar](#)]
25. Han Q., Kong B., Chen Q., Sun F., Zhang H. In vitro comparison of probiotic properties of lactic acid bacteria isolated from harbin dry sausages and selected probiotics. *J. Funct. Foods.* 2017;32:391–400. doi: 10.1016/j.jff.2017.03.020. [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
26. Hickisch A., Beer R., Vogel R.F., Toelstede S. Influence of lupin milk heat treatment and exopolysaccharide-producing lactic acid bacteria on the physical characteristics of lupin-based yogurt alternatives. *Food Res. Int.* 2016;84:180–188. doi: 10.1016/j.foodres.2016.03.037. [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]

27. Karovičová J., Kohajdová Z. Biogenic amines in foods. *Chem. Pap.* 2005;59:70–79. [[Google Scholar](#)]
28. Kaushik J.K., Kumar A., Duary R.K., Mohanty A.K., Grover S., Batish V.K. Functional and probiotic attributes of an indigenous isolated strain of *Lactobacillus plantarum*. *PLoS ONE*. 2009;4 [[PMC free article](#)] [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
29. Khay E., Idaomar M., Castro L.P., Bernárdez P.F., Senhaji N.S., Abrini J. Antimicrobial activities of the bacteriocin-like substances produced by lactic acid bacteria isolated strains from Moroccan dromedary milk. *Afr. J. Biotechnol.* 2011;10:10447–10455. doi: 10.5897/AJB11.1328. [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
30. Kuda T., Masuko Y., Kawahara M., Kondo S., Nemoto M., Nakata T., Kataoka M., Takahashi H., Kimura B. Bile acid – lowering properties of *Lactobacillus plantarum* Sanriku – SU3 isolated from Japanese surfperch fish. *Food Biosci.* 2016;14:41–46. doi: 10.1016/j.fbio.2016.02.004. [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
31. Lankaputhra W.E.V., Shah N.P. Survival of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifido bacterium* spp in the presence of acid and bile salts. *Cult Dairy Prod. J.* 1995;30:2–7. [[Google Scholar](#)]
32. Lee H., Yoon H., Ji Y., Kim H., Park H., Lee J., Shin H., Holzapfel W. Functional properties of *Lactobacillus* strains isolated from kimchi. *Int. J. Food Microbiol.* 2011;145:155–161. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2010.12.003. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
33. Mahmoudi I., Moussa O.B., Khaldi T.E.M., Kebouchi M., Soligot C., Le Roux Y., Hassouna M. Functional in vitro screening of *Lactobacillus* strains isolated strains from Tunisian camel raw milk toward their selection as probiotic. *Small Rumin Res.* 2016;137:91–98. doi: 10.1016/j.smallrumres.2016.03.016. [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
34. Morandi S., Silvetti T., Brasca M. Biotechnological and safety characterization of *Enterococcus lactis*, a recently described species of dairy origin. *Antonie Van Leeuwenhoek.* 2013;103:239–249. doi: 10.1007/s10482-012-9806-z. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
35. Muganga L., Liu X., Tian F., Zhao J., Zhang H., Chen W. Screening for lactic acid bacteria based on antihyperglycaemic and probiotic potential and application in symbiotic set yoghurt. *J. Funct. Foods.* 2015;16:125–136. doi: 10.1016/j.jff.2015.04.030. [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
36. Nuryshv M.Z., Stoyanova L.G., Netrusov A.I. New probiotic culture of *Lactococcus lactis* ssp. *Lactis*: effective opportunities and prospects. *J. Microbial. Biochem. Technol.* 2016;8:290–295. doi: 10.4172/1948-5948.1000299. [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
37. Oh Y.J., Jung D.S. Evaluation of probiotic properties of *Lactobacillus* and *Pediococcus* strains isolated from Omegisool, a traditionally fermented millet alcoholic beverage in Korea. *LWT - Food Sci. Technol.* 2015;63:437–444. doi: 10.1016/j.lwt.2015.03.005. [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
38. Pereira D.I., Gibson G.R. Effects of consumption of probiotics and prebiotics on serum lipid levels in humans. *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.* 2002;37:259–281. doi: 10.1080/10409230290771519. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
39. Pitino I., Randazzo C.L., Cross K.L., Parker M.L., Bisignano C., Wickham M.S.J., Mandalari G., Caggia C. Survival of *Lactobacillus rhamnosus* strains inoculated in cheese matrix during simulated human digestion. *Food Microbiol.* 2012;31:57–63. doi: 10.1016/j.fm.2012.02.013. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
40. Prasanna P.H.P., Charalampopolous D. Encapsulation of *Bifidobacterium longum* in alginate-dairy matrices and survival in simulated gastrointestinal conditions, refrigeration, cow milk and goat milk. *Food Biosci.* 2018;21:72–79. doi: 10.1016/j.fbio.2017.12.002. [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
41. Ramakrishnan V., Goveas L.C., Prakash M., Halami P.M., Narayan B. Optimization of conditions for probiotic curd formulation by *Enterococcus faecium* MTCC 5695 with probiotic properties using response surface methodology. *J. Food Sci. Technol.* 2014;51:3050–3060. [[PMC free article](#)] [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
42. Sahoo T.K., Jena P.K., Nagar N., Patel A.K., Seshadri S. In vitro evaluation of probiotic properties of lactic acid bacteria from the gut of *Labeo rohita* and *Catla catla*. *Probiotics Antimicro Prot.* 2015;7:126–136. doi: 10.1007/s12602-015-9184-8. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
43. Schillinger U., Guigas C., Holzapfel W.H. In vitro adherence and other properties of lactobacilli used in probiotic yogurt-like products. *Int. Dairy J.* 2005;15:1289–1297. doi: 10.1016/j.idairyj.2004.12.008. [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]

44. Shabo Y., Barzel R., Margoulis M., Yagil R. Camel milk for food allergies in children. *Isr. Med. Assoc. J.* 2005;7:796–798. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
45. Singh R., Mal G., Kumar D., Patil N.V., Pathak K.M.L. Camel milk: An important natural adjuvant. *Agric. Res.* 2017;6:327–340. doi: 10.1007/s40003-017-0284-4. [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
46. Singh T.P., Kaur G., Kapila S., Malik R.K. Antagonistic activity of lactobacillus reuteri strains on the adhesion characteristics of selected pathogens. *Front. Microbiol.* 2017;8:486. [[PMC free article](#)] [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
47. Solieri L., Bianchi A., Mottolise G., Lemmetti F., Giudici P. Tailoring the probiotic potential of non-starter Lactobacillus strains from ripened Parmigiano Reggiano cheese by in vitro screening and principal component analysis. *Food Microbiol.* 2014;38:240–249. doi: 10.1016/j.fm.2013.10.003. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
48. Stone, H., Sidel, J.L. Sensory evaluation practices. 1993; New York: Academic Press, Inc.
49. Stropfova V., Laukova A., Ouwehand A.C. Selection of enterococci for potential canine probiotic additives. *Vet. Microbiol.* 2004;100:107–114. doi: 10.1016/j.vetmic.2004.02.002. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
50. Tormo H., Lekhal A.H.D., Roques C. Phenotypic and genotypic characterisation of lactic acid bacteria isolated from raw goat milk and effect of farming practices on the dominant species of lactic acid bacteria. *Int. J. Food Microbiol.* 2015;210:9–15. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2015.02.002. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
51. Vinderola C., Reinheimer J. Lactic acid starter and probiotic bacteria: a comparative “in vitro” study of probiotic characteristics and biological barrier resistance. *Food Res. Int.* 2003;36:895–904. doi: 10.1016/S0963-9969(03)00098-X. [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
52. Wang Y., Zhou J., Xia X., Zhao Y., Shao W. Probiotic potential of *Lactobacillus paracasei* FM-LP-4 isolated from Xinjiang camel milk yoghurt. *Int. Dairy J.* 2016;62:28–34. doi: 10.1016/j.idairyj.2016.07.001. [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
53. Wang G., Zhang M., Zhao J., Xia Y., Phoency F.H., Ai L. A surface protein from *Lactobacillus plantarum* increases the adhesion of *Lactobacillus* Strains to human epithelial cells. *Front. Microbiol.* 2018;9:2858. [[PMC free article](#)] [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
54. Wernery, U., 2007. Camel milk - new observations. In T.K. Gahlot. Proceedings of the International Camel Conference, CVAS, Bikaner. pp. 200 – 204
55. Zamfir M., Vancanneyt M., Makras L., Vaningelgem F., Lefebvre K., Pot B., Swings J., De Vuyst L. Biodiversity of lactic acid bacteria in Romanian dairy products. *Sys. Appl. Microbiol.* 2006;29:487–495. doi: 10.1016/j.syapm.2005.10.002. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
56. Zoumpopoulou G., Foligne B., Christodoulou K., Grangette C., Pot B., Tsakalidou E. *Lactobacillus fermentum* ACA-DC 179 displays probiotic potential *in vitro* and protects against trinitrobenzene sulfonic acid (TNBS)-induced colitis and *Salmonella* infection in murine models. *Int. J. Food Microbiol.* 2008;121:18–26. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2007.10.013. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]