



République Algérienne Démocratique Et Populaire
Ministère De L'enseignement Supérieur Et De La Recherche Scientifique



Université Chahid Cheikh Larbi Tébessi-Tébessa
Faculté des Sciences Exactes Et des Sciences De La Nature Et De La Vie
Département De Biologie Appliquée

Mémoire de fin d'étude
Présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master LMD

Filière : Sciences Biologiques

Option : Microbiologie Appliquée

Sous le Thème :

Étude du pouvoir antimicrobien des bactéries lactiques autochtones

Présenté par :

Bengana Ines

Benkhedir Ferial

Slim Choubaila

Devant le jury composé de :

Dr Smaali S.	MCA	Université de Tébessa	Président	Univ Tébessa
Dr Chadi H.	MCA	Université de Tébessa	Examineur	Univ Tébessa
Pr Mechai A.	Pr	Université de Tébessa	Promoteur	Univ Tébessa
Dr Debabza M.	MCA	Université de Tébessa	Co-promotrice	Univ Tébessa

Année universitaire :

2022/2023

Dédicaces

J'ai l'honneur et le grand plaisir de dédier ce modeste travail comme preuve de respect, de gratitude, et de reconnaissance à :

*Mes chères parents **Mohamed** et **Nadia** qui m'ont guidé de l'obscur vers la luminescence, qui ont toujours été pour moi un exemple des parents respectueux, honnêtes, qui m'ont toujours appris le sens du travail et la responsabilité, qui n'ont jamais cessé de m'encourager et me conseiller, je tiens à honorer la personne que vous êtes. Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime et le respect que j'ai toujours eu pour vous.... Merci Papa et Mama, que dieu vous procure la bonne santé et une longue vie.*

A celles que j'aime beaucoup et qui m'ont soutenue tout au long de ce projet et de ma vie ; mes sœurs et mes cousines, qui savent toujours comment me procurer la joie et le bonheur. Que dieu les protège et leurs offre la chance et le bonheur.

A mes grands-mères, mes tantes et mes oncles ainsi que mes cousins, qui m'ont toujours soutenue ... Que dieu leurs donne une joyeuse et longue vie.

A mes grands-pères, que je n'ai pu remercier car ils sont partis trop tôt. J'espère que de là où vous êtes, vous êtes fiers de moi. Reposez en paix.

*Sans oublier mes copines, qui mon épauler tout au long de mon parcours universitaires. Merci beaucoup **Ines** et **Choubaila** que dieu vous préserve.*

A tous mes amis qui deviennent la famille, avec qui j'ai passé les plus beaux ainsi que les durs moments, qui ont été là quand j'en avais besoin. Merci beaucoup que dieu vous offre la joie.

Feriel Benkhedir

Dédicaces

Grâce à Dieu « **الله** », le tout puissant qui m'a donné le courage et la volonté qu'en m'a permis de réaliser ce projet pour lequel je me destine et par conséquent ce mémoire. Je dédie cet événement marquant de ma vie et remercie le tout pour leurs conseils et soutien inconditionnel :

A mon père, grand homme, qui m'a appris le sens du travail et de la responsabilité. Ma vie, ma réussite et tout mon respect sont le fruit de mon père « **Fawzi** ».

A ma mère l'icône de générosité, et de l'amour aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime et le respect que j'ai eu toujours pour vous. Elle n'a jamais cessé de m'encourager et de prier pour moi « **Awatef** ».

A ma chère sœur « **Alaa** » et mon ange « **Adem** » auquel je souhaite un avenir radieux plein de réussite.

A mon très cher grand père « **Med Tayeb** » et ma grand-mère « **Zhaira** », mes oncles : « **Raouf, Djamel, Aziz** » et leurs épouses : « **Sihem, Djamila, Aya** » et mes tantes : « **Ibtissem, Lilia, Wided, Sabrina, Maya** ». Que dieu leur donne une longue et joyeuse vie.

A mes cousins qui ont été toujours un pilier et un réconfort.

A « **Soror** » et « **Souha** » mes âmes sœurs.

A tous les amis que j'ai connus jusqu'à maintenant et spécialement ceux qu'ont été toujours là pour m'aider, soutenue et donner la force « **H, A** ».

Enfin à toutes les personnes qui comptent pour moi, intervenues dans ma vie à un moment ou à un autre et qui m'ont accompagné et Soutenu.

Un grand merci pour cet amour et encouragement.

Sans oublier mes copines « **Ines** » et « **Feriel** » pour les beaux moments, la patience et la compréhension tout au long de cette épreuve.

MERCI

Slim Choubaila

Dédicaces

C'est avec beaucoup d'amour et d'émotion que je dédie ce modeste travail :

Ames parents, la prunelle de mes yeux, qui m'ont tout le temps encouragé, qui se sont toujours sacrifiés pour me voir heureuse et réussir dans ma vie. Aucun hommage ne pourrait être à la hauteur de l'amour dont vous ne cessez de me combler. Je vous serai éternellement reconnaissante, j'espère un jour pouvoir vous rendre fiers et que je serai toujours à la hauteur de vos attentes. Qu'Allah vous accorde une longue vie et vous garde en bonne santé auprès de nous.

A mon cher et brillant frère « Bengana Amor Ilyes » qui nous a quitté trop tôt et qui a toujours été un exemple pour moi. C'est pour cela que j'ai choisi d'étudier la microbiologie et de continuer son parcours inachevé. Mon tendre frère, j'ai tenu ma promesse, j'ai suivi tes conseils et me voilà 10 ans après en train de finaliser mon mémoire tout en pensant à toi. J'espère que de là-haut, tu seras fier de ta petite sœur.

A ma sœur « Sarah », mon deuxième pilier dans cette vie après mes parents, avec qui j'ai passé les plus beaux moments de ma vie et sur qui je peux compter. Je suis tellement reconnaissante de t'avoir auprès de moi, ta présence ainsi que ton soutien et celui de mon beau-frère « Mouaadh » comptent énormément pour.

A la mémoire de mon adorable grand-mère, ma deuxième maman « Fatima » qui aurait été très heureuse de me voir réussir. Aucun mot, aucune dédicace ne pourrait exprimer mon amour pour elle. Ceci est ma profonde gratitude pour son éternel amour, qu'elle repose en paix.

A ma très chère grand-mère « Khadijah » ainsi qu'à tous mes oncles, tantes, cousins et cousines ici et en France et spécialement à « Asma », « Selma » et « Selwa ». Je vous aime tous énormément.

A « Navimene » ma meilleure amie, ma sœur, ma confidente. Je ne te remercierai jamais assez pour ta gentillesse, ta bonté et ton soutien pendant maintenant 14ans.

A « Bila », une des personnes qui a toujours été à mes côtés dans les moments les plus durs. Je te remercie énormément pour ton soutien, tes conseils et tes encouragements durant toutes ces années. Que Dieu te facilite et t'accorde le bonheur dans ta vie.

A toutes les personnes que j'aime, qui m'ont aidé et encouragé de près ou de loin, je tiens à vous remercier du plus profond de mon cœur.

Bengana Ines

Remerciements

Au début et avant tout, El Hamdolillah ; on remercie **Allah** notre créateur tout puissant qui nous a guidé sur le droit chemin tout au long du travail et de nous avoir donné la force, le courage, la santé et la patience pour pouvoir accomplir ce dernier.

Nous adressons nos sincères remerciements et notre gratitude la plus profonde à notre promoteur **Pr. Mechai Abdelbasset** et notre Co-promoteur **Dr. Debazza Manel** pour avoir accepté de diriger ce travail, pour leur disponibilité, leur patience, leur compréhension, leurs qualités humaines, ainsi pour leurs nombreux conseils qui ont contribué à la réalisation de ce travail, pour la confiance qu'ils nous ont accordé, et leur soutien scientifique et moral tout au long du travail.

Nos vifs remerciements sont adressés à :

Dr. Smaali Saoussan pour l'honneur qu'elle nous fait de présider le jury et d'évaluer notre travail.

Dr. Chadi Hafidha pour avoir accepté d'examiner ce travail et consacré du temps à la lecture de notre mémoire.

Nous tenons également à remercier la doctorante **Melle. Boutaleb Naima** pour son aide, ses conseils, son soutien et ses encouragements ainsi que sa disponibilité.

Enfin, nous remercions chaleureusement tous ceux et celles qui nous ont appris une lettre tout au long de notre voyage éducatif, nous vous serons éternellement reconnaissantes, ainsi que toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce modeste travail, qu'ils trouvent ici l'expression de nos profondes gratitude et respects.

Résumé

Les bactéries lactiques sont connues depuis des décennies comme productrices des substances inhibitrices, telles que les bactériocines. L'objectif de notre travail est d'explorer l'activité antimicrobienne des bactéries lactiques vis-à-vis des bactéries pathogènes.

Dans le présent travail, une collection de six souches de lactobacilles appartenant aux espèces *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus reutri*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus paracasei* spp *paracasei* et une souche d'entérocoque appartenant à l'espèce *Enterococcus faecium* ont été testé et évalué pour leur pouvoir inhibiteur vis-à-vis de huit germes pathogènes et d'altération à Gram positif et négatif : *Listeria monocytogenes* ATCC 7644, *Micrococcus luteus* ATCC 4698, *Bacillus cereus* ATCC 14579, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Raoultella terrigena*, *Serratia odorifera*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* ATCC 25922 et une souche fongique *Aspergillus fumigatus* LB22.

Les essais de l'activité antimicrobienne par la méthode des puits et des spots ont mis en évidence l'effet antagoniste qui s'est manifesté par l'apparition des zones claires d'inhibition autour de ces derniers.

Les résultats obtenus par la méthode de spot ont montré que les toutes souches pathogènes à Gram positif étaient sensibles aux substances produites par les bactéries lactiques. La souche *Micrococcus luteus* ATCC 4698 a montré des zones d'inhibitions plus prononcées que les autres, la plus importante a été évaluée à 18 mm.

Les bactéries lactiques ont également inhibé la croissance des souches indicatrices à Gram négatif. *Serratia odorifera* a été la plus affectée par les activités antimicrobiennes exercées par ces dernières, avec des zones de lyse comprises entre 9 et 20 mm. Cependant elle a manifesté une résistance à l'égard de la souche S7, qui s'avère être le même cas pour *Raoultella terrigena*.

En outre, les résultats de l'activité antifongique ont indiqué que les souches lactiques S1, S3, S4 et S6 sont capables de produire des substances inhibitrices dirigées contre *Aspergillus fumigatus* LB22, par contre les souches S2, S5 et S7 se sont montrées inactives.

Quant aux résultats obtenus par la méthode de diffusion en puits, ils ont montré une inhibition seulement vis-à-vis de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, les autres souches n'ont pas été sensible à cet effet inhibiteur.

Les résultats obtenus ont montré que les propriétés antimicrobiennes des souches lactiques sélectionnées peuvent être résultent de l'effet combiné de plusieurs agents biologiques provenant de leurs activités métaboliques notamment les acides organiques, et d'autres substances de nature protéique dites « bactériocines » et aussi de l'H₂O₂.

Mots clés : Bactéries lactiques, bactéries pathogènes, substances antimicrobiennes, activité inhibitrice, bactériocines.

Abstract

Lactic acid bacteria have been known as producers of inhibitory substances, such as bacteriocins. The objective of this work is to explore the antimicrobial activity of lactic acid bacteria against pathogenic bacteria.

In the present work, a collection of six strains of lactobacilli belonging to the species *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus reutri*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus paracasei* spp *paracasei* and one strain of *Enterococcus* belonging to the species *Enterococcus faecium* were tested and evaluated for their inhibitory power against eight pathogenic germs of Gram positive and negative alterations: *Listeria monocytogenes* ATCC 7644., *Micrococcus luteus* ATCC 4698, *Bacillus cereus* ATCC 14579, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Raoultella terrigena*, *Serratia odorifera*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* ATCC 25922 and a fungal strain *Aspergillus fumigatus* LB22.

Tests of antimicrobial activity by the method of wells and spots revealed the antagonistic effect which was manifested by the appearance of clear zones of inhibition around the latter.

The results obtained by the spot method showed that all Gram-positive pathogenic strains were sensitive to substances produced by lactic acid bacteria. The *Micrococcus luteus* ATCC 4698 strain showed more pronounced zones of inhibition than the others, the largest was evaluated at 18 mm.

Lactic acid bacteria also inhibited the growth of Gram-negative indicator strains. *Serratia odorifera* was the most affected by the antimicrobial activities exerted by the latter, with lysis zones between 9 and 20 mm. However, it showed resistance to the S7 strain, which turns out to be the same case for *Raoultella terrigena*.

In addition, the results of the antifungal activity indicated that the lactic strains S1, S3, S4 and S6 are able to produce inhibitory substances directed against *Aspergillus fumigatus* LB22, on the other hand the strains S2, S5 and S7 were shown to be inactive.

As for the results obtained by the well diffusion method, they showed inhibition only against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, the other strains were not sensitive to this inhibitory effect.

The results obtained showed that the antimicrobial properties of the selected lactic strains may result from the combined effect of several biological agents resulting from their metabolic activities, in particular organic acids, and other substances of a protein nature called "bacteriocins" and also from H₂O₂.

Keywords: Lactic acid bacteria, pathogenic bacteria, antimicrobial substances, inhibitory activity, bacteriocins.

المخلص

تُعرف بكتيريا حمض اللاكتيك بأنها منتجة للمواد المثبطة ، مثل البكتريوسينات. في هذا الإطار، هدف هاته الدراسة هو استكشاف النشاط المضاد للميكروبات لبكتيريا حمض اللاكتيك ضد البكتيريا المسببة للأمراض.

في العمل الحالي، تم اختبار مجموعة من ستة سلالات من العصيات اللبنية تنتمي إلى الأنواع:

Lactobacillus brevis, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus reutri*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus paracasei* spp *paracasei*.

كما تم اختبار سلالة من المكورات المعوية التي تنتمي إلى صنف *Enterococcus faecium* من أجل اختبار قدرة التثبيط ضد ثمانية جراثيم مسببة للأمراض موجبة وسلبية الجرام بالإضافة الى سلالة فطرية

Listeria monocytogenes ATCC 7644, *Micrococcus luteus* ATCC 4698, *Bacillus cereus* ATCC 14579, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Raoultella terrigena*, *Serratia odorifera*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Aspergillus fumigatus* LB22.

كشفت اختبارات النشاط المضاد للميكروبات بطريقة الآبار والبقع عن التأثير المضاد الذي تجلى من خلال ظهور مناطق تثبيط واضحة حول الأخيرة.

أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها بطريقة البقع أن جميع السلالات المرخصة موجبة الجرام كانت حساسة للمواد التي تنتجها بكتيريا حمض اللاكتيك. أظهرت سلالة *Micrococcus luteus* ATCC 4698 مناطق تثبيط أكثر وضوحاً من غيرها ، وتم تقييم أكبرها عند 18 ملم.

كما أدت بكتيريا حمض اللاكتيك أيضاً إلى تثبيط نمو سلالات المؤشر سالبة الجرام. كانت *Serratia odorifera* هي الأكثر تائراً بالأنشطة المضادة للميكروبات التي تمارسها الأخيرة ، مع مناطق تحلل بين 9 و 20 مم. ومع ذلك ، فقد أظهرت مقاومة لسلالة S7 ، والتي تبين أنها نفس الحالة بالنسبة لـ *Raoultella terrigena*.

بالإضافة إلى ذلك ، أشارت نتائج النشاط المضاد للفطريات إلى أن سلالات اللاكتيك S1 و S3 و S4 و S6 قادرة على إنتاج مواد مثبطة موجهة ضد *Aspergillus fumigatus* LB22 ، ومن ناحية أخرى فقد تبين أن السلالات S2 و S5 و S7 غير نشطة.

أما بالنسبة للنتائج التي تم الحصول عليها بطريقة الانتشار الجيد، فقد أظهرت تثبيطاً فقط ضد *Staphylococcus aureus* ATCC 25923، ولم تكن السلالات الأخرى حساسة لهذا التأثير التثبيطي.

أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها أن الخواص المضادة للميكروبات لسلالات اللاكتيك المختارة قد تنتج عن التأثير المشترك للعديد من العوامل البيولوجية الناتجة عن أنشطتها الأيضية ، خاصة الأحماض العضوية ، والمواد الأخرى ذات الطبيعة البروتينية المسماة "البكتريوسينات" وأيضاً من H₂O₂.

الكلمات المفتاحية: بكتيريا حمض اللاكتيك، البكتيريا المرخصة ،المواد المضادة للميكروبات ، النشاط التثبيطي، البكتريوسين.

Liste des tableaux

Numéro de tableau	Titre	Page
01	Principaux genres des bactéries lactiques.	12
02	Espèces de bactéries lactiques ayant un rôle probiotique.	16
03	Classification des bactériocines.	20
04	Applications de quelques bactériocines et leur effet sur les produits alimentaires.	25
05	Les souches multirésistantes aux antibiotiques et productrices de bêta-lactamases à spectre élargi (BLSE).	31
06	Les bactéries lactiques identifiées.	32
07	L'activité antimicrobienne des souches lactiques contre les bactéries à Gram positif et une souche fongique par la méthode des puits.	38
08	L'activité antimicrobienne des souches lactiques contre les bactéries à Gram positif par la méthode de spot.	41
09	L'activité antimicrobienne des souches lactiques contre les bactéries à Gram négatif par la méthode des spots.	45

Liste des figures

Numéro de figure	Titre	Page
01	Arbre phylogénétique des principaux genres des bactéries lactiques et des genres associés obtenu par analyse des ARN 16S.	08
02	Phase contraste (A–E) et électron (F) micrographes montre les différentes morphologies cellulaire de <i>Lactobacillus</i> (A), <i>Lactobacillus gasseri</i> (B), <i>Lactobacillus agilis</i> (C), <i>Lactobacillus curvartus</i> (D), <i>Lactobacillus minor</i> (E), <i>Lactobacillus fermentum</i> (F), involution de <i>Lactobacillus</i> dans une section mince de grain du kéfir.	09
03	<i>Lactococcus lactis</i> subsp <i>lactis</i> sous forme de cellules ovoïdes par paire (photo du haut), et en chaînette (photo du bas) selon la souche.	10
04	<i>Leuconostoc lactis</i> observé au M.E.T. (x 10000).	11
05	Aspect microscopique caractéristique des Pédicoques, y compris la formation de tétrades. Avec l'aimable autorisation de WineBugs LLC.	11
06	Principaux mécanismes d'action des bactériocines.	22
07	Méthodes utilisées pour la recherche des substances antimicrobienne. (a)méthode de la double couche, (b) méthode de diffusion en puits.	34
08	Mise en évidence de l'activité antimicrobienne des souches lactiques contre les souches indicatrices ; <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923(A), <i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 7644 (B), <i>Micrococcus luteus</i> ATCC 4698(C), <i>Aspergillus fumigatus</i> LB22(D).	37
09	Pourcentage des diamètres des zones d'inhibition exercés par les souches lactiques sur <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.	38
10	Mise en évidence de l'activité antimicrobienne des souches sélectionnées vis-à-vis de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923, par la méthode des spots.	39

11	Mise en évidence de l'activité antimicrobienne des souches sélectionnées vis-à-vis de <i>Bacillus cereus</i> ATCC 14579, par la méthode des spots.	40
12	Mise en évidence de l'activité antimicrobienne des souches sélectionnées vis-à-vis de <i>Micrococcus luteus</i> ATCC 4698, par la méthode des spots.	40
13	Mise en évidence de l'activité antimicrobienne des souches sélectionnées vis-à-vis d' <i>Aspergillus fumigatus</i> LB22, par la méthode des spots.	41
14	Diamètres des zones d'inhibition exercés par les souches lactiques sur les souches indicatrices à Gram positif par la méthode des spots.	42
15	Diamètres des zones d'inhibition exercés par les souches lactiques sur la souche fongique <i>Aspergillus fumigatus</i> LB22 par la méthode des spots.	43
16	Mise en évidence de l'activité antimicrobienne des souches lactiques vis-à-vis d' <i>E.coli</i> ATCC 25922, par la méthode des spots.	43
17	Mise en évidence de l'activité antimicrobienne des souches lactiques vis-à-vis de <i>Klebsiella pneumoniae</i> , par la méthode des spots.	44
18	Mise en évidence de l'activité antimicrobienne des souches lactiques vis-à-vis de <i>Serratia odorifera</i> , par la méthode de spot.	44
19	Mise en évidence de l'activité antimicrobienne des souches lactiques vis-à-vis de <i>Raoultella terrigena</i> , par la méthode des spots.	45
20	Diamètres des zones d'inhibition exercés par les souches lactiques sur les souches indicatrices à Gram négatif par la méthode des spots.	46

Liste des abréviations

ADN	Acide désoxyribonucléique
ADP	Adénosine-diphosphate
API	Application programming interface
ARN	Acide ribonucléique
ATCC	American Type Culture Collection
ATP	Adénosine-Triphosphate
B	<i>Bifidobacterium</i>
<i>B.cereus</i>	<i>Bacillus cereus</i>
BL	Bactéries lactiques
BLSE	Bêta lactamase à spectre élargi
C°	Degré Celsius
CI	<i>Clostridium</i>
CO2	Dioxyde de carbone

E	<i>Escherichia</i>
EDTA	Acide éthylène diamine tétra acétique
EMP	Embden-Meyerhof-Parnas
En	<i>Enterococcus</i>
EPS	Exopolysaccharides
FAO	Food and Agriculture Organisation of the United Nations
FDA	Food and Drug Administration
G	Gramme
GC%	Pourcentage Guanine-Cytosine
GRAS	Generally recognized as safe
H	Heure
H₂O₂	Peroxyde d'hydrogène
HPH	Haute pression hydrostatique
K⁺	Potassium
K	<i>Klebsiella</i>

L	<i>Listeria</i>
LAB	Lactic acid bacteria
LB	<i>Lactobacillus</i>
LC	<i>Lactococcus</i>
M	Merck
<i>M. luteus</i>	<i>Micrococcus Luteus</i>
M.E.T	Microscopie électronique en Transmission
MH	Mueller-Hinton
Min	Minute
ml	Millilitre
mm	Millimètre
MRS	Man Rogosa Sharpe
NaOH	Hydroxyde de sodium
OMS	L'organisation mondiale de la santé
pH	Potentiel hydrogène

S	<i>Staphylococcus</i>
SARM	<i>Staphylococcus aureus</i> résistant à la méthicilline
SP	Espèce non précisé
SPP	Species (espèce)
SSP	Sous-espèces
Subsp	Sous-espèce
UFC	Unité formant colonie
WHO	World Health Organization
µl	Microlitre
µm	Micromètre

Sommaire

Dédicaces.....	i
Dédicaces.....	ii
Dédicaces.....	iii
Remerciements	iv
Résumé	v
Abstract.....	vi
المخلص.....	vii
Liste des tableaux	viii
Liste des figures.....	ix
Liste des abréviations	xi

Partie bibliographique

I. Introduction	1
II. Généralité.....	3
III. Définition.....	4
IV. Habitat	5
V. Taxonomie et classification des bactéries lactiques	6
VI. Les principaux genres des bactéries lactiques	8
1. <i>Lactobacillus</i>	8
2. <i>Lactococcus</i>	9
3. <i>Leuconostoc</i>	10
4. <i>Pediococcus</i>	11
VII. Les voies de fermentations des bactéries lactiques	12

VIII.	L'intérêt des bactéries lactiques	13
1.	Utilisation des BL comme culture starter	13
2.	Aptitudes technologiques	13
2.1.	Capacité acidifiante	14
2.2.	Capacité protéolytique.....	14
2.3.	Capacité lypolitique.....	14
2.4.	Capacité aromatisante	14
2.5.	Capacité texturante.....	15
3.	Aptitudes médicales : Les probiotiques.....	15
IX.	Activité antimicrobienne des bactéries lactiques.....	17
1.	Les acides organiques	17
2.	Le peroxyde d'hydrogène	18
3.	Le dioxyde de carbone	18
4.	Le diacétyle	19
5.	La reutérine	19
X.	Bactériocine	19
1.	Définition	19
2.	Classification des bactériocines	20
3.	Mode d'action des bactériocines	21
4.	Application des bactériocines.....	22
4.1.	Application agro-alimentaire.....	23
4.1.1.	Bioconservation des aliments par les bactériocines	23
4.2.	Application médicale	26
Partie expérimentale		
I.	Matériel et méthodes	28
1.	Objectifs d'étude.....	28
2.	Lieu d'étude.....	28
3.	Matériel utilisé	28

3.1. Matériel non biologique	28
3.1.1. Milieux de cultures.....	28
3.1.2. Produits chimiques.....	29
3.1.3. Appareillage.....	29
3.2. Matériel biologique	30
3.2.1 Souches bactériennes et leurs origines.....	30
4. Méthode.....	32
4.1. Provenance des souches lactiques et leur identification.....	32
4.2. Conservation des souches lactique.....	32
4.3. Conditions de croissance.....	32
4.4. Mise en évidence du pouvoir inhibiteur des bactéries lactiques.....	33
4.4.1. Méthode de détection indirecte.....	33
4.4.2. La méthode directe.....	34
II. Résultats et discussion.....	36
1. L'activité antimicrobienne et spectre d'action des bactéries lactiques.....	36
1.1. Test des puits.....	36
1.2. Test des spots	39
Conclusion et perspectives	53
Références bibliographiques.....	
Annexes	

A decorative border resembling a scroll, with a black outline and a white fill. The top and bottom edges are slightly curved, and the left side features two small, ornate scroll-like details.

Partie bibliographique

Partie bibliographique

I. Introduction

Les bactéries lactiques sont largement impliquées dans la fabrication des produits laitiers fermentés du fait de leurs activités métaboliques particulières. La production d'acide lactique est essentielle à la production des produits laitiers fermentés et leur confère une saveur typique (**Mouley, 2018**).

Les effets bénéfiques caractéristiques des bactéries lactiques suscitent un intérêt majeur, certains sont maintenant bien établis tels que l'amélioration de la digestion du lactose ainsi que le traitement des désordres diarrhéiques (**Zergoug, 2017**), entre autres le secteur thérapeutique, considérés comme étant des agents biothérapeutiques vis-à-vis divers pathologies (**Hammi, 2016**). L'activité acidifiante, la production d'acides organiques et d'autres composés antimicrobiens, telles les bactériocines jouent un rôle majeur dans la bio-conservation des produits laitiers fermentés et contribuent à l'inhibition des germes ou des contaminants (**Mekri, 2016**).

La bio-conservation ou bien la technologie dite «douce» de conservation des aliments est une conservation naturelle qui préserve les propriétés organoleptiques et nutritionnelles de l'aliment, par l'utilisation de microorganismes vivants (**Ouidir et al., 2019 ; Chaalel, 2016**). Ceci résulte en une réduction logique du recours aux conservateurs « chimiques » dont certains ont montré effets indésirables sur la santé de l'homme, ainsi qu'aux traitements thermiques souvent préjudiciables aux propriétés organoleptiques et nutritionnelles des aliments (**Hadef et al., 2023**).

Ces propriétés de conservation sont le résultat des activités inhibitrices des bactéries lactiques qui incluent la compétition pour les nutriments, les changements physico-chimiques du milieu, tels que l'acidification et la production de métabolites antimicrobiens. En effet, les bactéries lactiques ont la propriété de produire de nombreuses substances antimicrobiennes telles que les acides organiques (acide lactique), du peroxyde d'hydrogène, du CO₂, de l'acétyle, de l'acétaldéhyde et des bactériocines (**Ouidir et al., 2019**).

Dans le secteur de la santé publique, l'antibiorésistance affichée par des germes pathogènes connus représente un autre défi que le monde des microorganismes pose à l'homme. Ainsi, relever ce défi reviendrait à rechercher systématiquement et de façon permanente de nouvelles molécules capables de venir à bout de ce phénomène d'antibiorésistance (**Chaalel,**

Partie bibliographique

2016). Grâce à leur mode d'action différent des antibiotiques conventionnels, les bactériocines produites par les bactéries lactiques, pourraient être considérées comme une alternative au contrôle de la prolifération et à l'inhibition des souches bactériennes pathogènes devenues résistantes aux traitements usuels.

En Algérie, un intérêt particulier a été donné aux bactéries lactiques locales dont assez de travaux sur ces bactéries des laits crus, ont été publiés (**Hadef *et al.*, 2023 ; Mechai *et al.*, 2020**). De même, des résultats de recherches sur les bactéries lactiques autochtones de fromage traditionnel de vache, de brebis et de chèvre, ont été couronnés par des publications (**Metrouh *et al.*, 2022 ; Ouidir *et al.*, 2019**) permet éventuellement de découvrir des producteurs plus performants (nombre de bactériocines et quantités produites), de découvrir de nouvelles structures peptidiques et de contribuer ainsi à une meilleure connaissance des caractéristiques de ces métabolites. Par ailleurs, le fait de disposer d'une plus large gamme de bactériocines et de bactéries productrices de différentes sources permet de répondre aux besoins, sans cesse croissant des professionnels de l'agro-alimentaire, de moyens alternatifs de conservation des aliments (**Hammi, 2016**).

Dans ce contexte, notre présente étude répond à la nécessité d'avoir une banque de données sur un des patrimoines nationaux, les bactéries lactiques autochtones.

A travers cette étude, nous allons mettre en évidence l'activité antagoniste contre des souches pathogènes et d'altération d'une collection de bactéries lactiques bactérocinogènes.

Dans ce cadre, ce travail est subdivisé en deux parties principales :

La première concerne une synthèse bibliographique qui englobera une généralité sur les bactéries lactiques, leur classification et taxonomie, leurs domaines d'utilisation ainsi que leur pouvoir antimicrobien.

La deuxième partie de ce travail est consacré au travail expérimental qui comprendra : matériel et méthodes mis en œuvre pour la réalisation de cette étude, ainsi que les résultats obtenus. Enfin, nous terminerons par une discussion générale de ces derniers.

Partie bibliographique

II. Généralité

La fermentation lactique et les bactéries lactiques sont étudiées depuis plus d'un siècle. La littérature sur le sujet regroupe des milliers d'articles et livres scientifiques (**Harle, 2020**).

En 1857, Pasteur a découvert que l'acidification du lait a été causée par les micro-organismes (**Saranraj et al., 2013**), puis en 1919, Orla Jensen a défini le terme « bactéries lactiques » (**Khodja, 2018**) qui ont été découvertes pour la première fois par Scheele à partir du lait caillé (**Saranraj et al., 2013**).

Les BL (bactéries lactiques) font partie des groupes importants de bactéries qui procurent des bienfaits pour la santé des humains, des animaux et des plantes. Leur utilisation dans la fermentation des aliments est l'une des anciennes techniques connues de conservation des aliments. Des propriétés telles que les adaptations nutritionnelles, environnementales et adhésives ont permis aux bactéries lactiques de s'adapter et de se présenter dans différents environnements allant des matrices alimentaires telles que les produits laitiers, les viandes, les légumes, le pain au levain et le vin aux surfaces muqueuses humaines telles que cavité buccale, vagin et tractus gastro-intestinal (**Saeed et al., 2013**). En plus de leur intérêt dans les filières agroalimentaires, une partie des bactéries lactiques peuvent être ingérées vivantes et peuvent offrir un certain nombre de caractéristiques probiotiques (**Toualbia, 2019**).

Les BL constituent un groupe diversifié caractérisé par la formation d'acide lactique en tant que métabolite primaire du métabolisme des sucres. Ce sont des bactéries à Gram positif qui sont généralement immobiles, asporulées, anaérobies facultatives et dépourvues de catalase, de nitrate-réductase et de cytochrome-oxydase (**Metrouh, 2022**). Elles sont généralement mésophiles avec une température optimale de croissance entre 20°C et 30°C, ou thermophiles entre 40°C et 45°. La majorité des souches se développent à pH 4.0-4.5, certaines sont en activité à pH 9.6 et d'autres à pH 3.2 (**Zergoug, 2017**). Elles possèdent de faibles activités protéolytiques et lipolytiques et ont une exigence marquée en acide aminés, dérivés de base puriques et pyrimidiques et vitamines B (**Khodja, 2018**).

Les BL provoquent une acidification rapide des matières premières par la production d'acides organiques, principalement l'acide lactique. Elles sont homofermentaires ou hétérofermentaires. Dans le premier cas, seul l'acide lactique est produit. Dans le deuxième cas, en plus de l'acide lactique sont produits aussi de l'acide acétique, de l'éthanol et le dioxyde de

Partie bibliographique

carbone. De plus, les bactéries lactiques produisent divers composés aromatiques, des bactériocines, des exopolysaccharides (EPS), des vitamines, plusieurs enzymes utiles et d'autres acides organiques (formique, succinique, propionique et butyrique). Elles jouent donc un rôle crucial dans le développement des propriétés organoleptiques et hygiéniques des produits finaux (Merzoug, 2017).

Les BL ont été largement utilisées en fermentations alimentaires et alcooliques comme pour la fermentation du fromage, levain, babeurre, légumes en saumure et yaourt. (Saranraj *et al.*, 2013). Elles sont considérées comme non pathogènes et se voient attribuer le qualificatif anglo-saxon d'organismes GRAS (Generally Regarded As Safe) dans lequel aucun rapport de maladie ou de toxicité n'est enregistré ou aucun composé nocif n'est produit par ces dernières (Elbanna *et al.*, 2019). Cependant, quelques espèces du genre *Streptococcus* et *Enterococcus* ainsi que d'autres bactéries lactiques sont considérées comme pathogènes opportunistes (Mekri, 2016).

Ces bactéries ont suscité beaucoup d'attention en tant que nouvelle approche pour contrôler les agents pathogènes dans les denrées alimentaires. Elles produisent divers composés antimicrobiens tels que les acides organiques, le diacétyl, le peroxyde d'hydrogène, les bactériocines et plusieurs enzymes lors des fermentations lactiques qui contribuent non seulement aux propriétés organoleptiques, mais inhibent également la microflore indésirable et prolongent la durée de conservation des produits (Saranraj *et al.*, 2013).

Le principal effet antimicrobien exercé par les bactéries lactiques est la production d'acide lactique et la diminution du pH (Toualbia, 2019).

III. Définition

Les bactéries lactiques connues sous l'abréviation universelle LAB de l'anglais « Lactic acid bacteria » forment un groupe hétérogène de bactéries à Gram positif, réunies par leurs caractéristiques morphologiques, métaboliques et physiologiques. (Merzoug, 2017), produisant de l'acide lactique comme produit principal du métabolisme. Ce sont des cocci (*streptocoques*, *pediococcus*, *leuconostoc*) ou bâtonnets (*lactobacillus* et *bifidobacterium*), hétérotrophes, non sporulants, catalase négatif, oxydase négatif, nitrate réductase négatif, anaérobies facultatifs, généralement immobiles, acidotolérants (Agriopoulou *et al.*, 2020) et possèdent dans leur ADN une faible proportion de bases guanine – cytosine (GC% < 50) (Fessard, 2017). Certaines

Partie bibliographique

espèces peuvent être hétérofermentaires, ce qui signifie qu'elles produisent également de l'acide acétique, de l'éthanol, du CO₂ et de l'acide formique (**Canon *et al.*, 2020**).

Les BL requièrent la présence d'acides aminés, d'acides gras, de vitamines et de minéraux pour leur croissance. Elles fermentent différents types de substrats : lait, fruits, légumes, céréales, poisson, viandes... (**Fessard, 2017**). Celles dans l'alimentation sont réputées non pathogènes et sont appelées organismes GRAS (Generally Regarded As Safe) en anglo-saxon (**Metrouh, 2022**). Elles sont principalement utilisées en tant que starter dans les produits alimentaires fermentés où elles jouent un rôle important dans les modifications des caractéristiques organoleptiques. Elles contribuent activement aux changements de saveur et de texture des aliments fermentés, en particulier des produits laitiers et produisent également différents composés aromatiques tels que le diacétyl et l'acétaldéhyde (**Canon *et al.*, 2020**). Le rôle le plus important des bactéries lactiques est leur rôle protecteur contre les infections et la colonisation de microorganismes pathogènes du tube digestif ce qui a conduit à la création du terme probiotique. Ils agissent non seulement sur les aliments mais ils sont également connus pour produire et excréter des composés à activité antimicrobienne, tels que les bactériocines. (**Saranraj *et al.*, 2013**).

IV. Habitat

Les bactéries lactiques ont été trouvées dans des sédiments datant de 2.75 milliards d'années bien avant l'apparition d'oxygène dans l'atmosphère, ce qui pourrait expliquer leur caractère anaérobie (**Hami, 2016**). Elles constituent un groupe bactérien répandu dans la nature. On les retrouve dans différentes niches écologiques et sont généralement associées à des habitats riches en nutriments telles que les niches d'origine laitière (fermentée), viande et végétale. Elles sont présentes à l'état libre dans l'environnement ou vivent en association avec un hôte, tel que l'homme ou l'animal, dans un écosystème bactérien comme le tractus gastro-intestinal et urogénital. L'écologie des bactéries lactiques est passée au fil du temps de leur sol et de leurs habitats végétaux à l'intestin des mammifères (**Ayivi *et al.*, 2020**). Ce qui s'explique, entre autres, par des températures idéales de développement variées selon les souches. (**Lamari, 2014**).

Partie bibliographique

V. Taxonomie et classification des bactéries lactiques

La systématique est en évolution permanente. Il n'y a jamais eu de règles unanimement reconnues sur la façon dont deux bactéries différentes devraient être phénotypiquement classées. La littérature scientifique suit généralement les recommandations des comités de taxonomie qui opèrent sous les auspices de l'Union internationale de sociétés microbiologiques (**Belarbi, 2011**).

Les bactéries lactiques appartiennent au phylum des Firmicutes, à la classe des *Bacilli* et à l'ordre des *Lactobacillales* (**Lamari, 2014**).

Décrites la première fois par Orla-Jensen au début du XXème siècle (1919), les BL constituent un groupe hétérogène, qui n'est pas clairement défini du point de vue taxonomique (**Von Wright et al., 2011**), la monographie de Orla-Jensen (1919) a constitué la base de la classification des bactéries lactiques, les critères utilisés sont : morphologie cellulaire, type fermentaire, les températures de croissance et l'utilisation des sucres (**Penaud, 2006**).

Les méthodes phénotypiques ne sont pas suffisantes pour permettre leur identification et leur classification (**Lamari, 2014**). Alors, de nouveaux outils de classification et d'identification des BL remplacent et/ou complètent actuellement les méthodologies traditionnelles basées sur le phénotype (**Axelsson et al., 2004**).

En 1977, Woese et Fox introduisent la phylogénie moléculaire basée sur la séquence d'ARN ribosomique. D'autres méthodes génotypiques (basées sur les acides nucléiques) sont aussi utilisées en classification, comme le pourcentage en GC ou hybridation ADN/ADN (**Penaud, 2006**). Ces techniques de biologie moléculaire ont révolutionné la taxonomie des bactéries et ont permis de mettre en évidence une forte diversité génomique au sein des bactéries lactiques. Alors la classification des bactéries lactiques a été profondément modifiée (**Lamari, 2014 ; Penaud, 2006**).

Selon la dernière édition de Bergey's manual of systematic bacteriology (2009), les BL renferment trente-cinq genres répartis sur six familles. (*Lactobacillaceae, Aerococcaceae, Carnobacteriaceae, Enterococcaceae, Leuconostocaceae, Streptococcaceae*) (**Hammi, 2016**).

Partie bibliographique

Récemment, la classification des BL a suggéré nouveaux genres, qui incluent : *Carnobacterium*, *Dolosigranulum*, *Aerococcus*, *Alliococcus*, *Enterococcus*, *Globicatella*, *Lactococcus*, *Oenococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus* et *Weissella* (Aya, 2016).

Le groupe des bactéries lactiques ne peut pas être considéré comme un groupe phylogénétique. Elles appartiennent toutes au groupe des bactéries à Gram positif, la plupart d'entre elles appartiennent au groupe des bactéries à Gram positif à bas G+C (phylum des Firmicutes), bien que les espèces de *Bifidobacterium* appartiennent au groupe des bactéries à Gram positif à haut G+C (phylum des Actinomycètes) (Hammi, 2016 ; Mechai, 2009). Si les bifidobactéries sont phylogénétiquement éloignées des BL sensu stricto (BL à bas G+C), elles sont tout de même traditionnellement incluses dans les BL car elles partagent certaines caractéristiques avec elles (elles produisent de l'acide lactique et sont utilisées dans les laits fermentés) (Mechai, 2009).

Les BL comprennent un large éventail de genres comprenant un nombre considérable d'espèces (Klein *et al*, 1998).

La relation phylogénétique entre les différents genres des bactéries lactiques est représentée dans la (figure 01) et est basée sur la comparaison des séquences d'ARNr 16S. *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Vagococcus*, *Aerococcus*, *Tetragenococcus* et *Lactosphaera* sont étroitement apparentés les uns aux autres. *Lactococcus* et *Streptococcus* apparaissent comme relativement apparentés, alors que *Lactobacillus* est phylogénétiquement distinct (Mechai, 2009).

Partie bibliographique

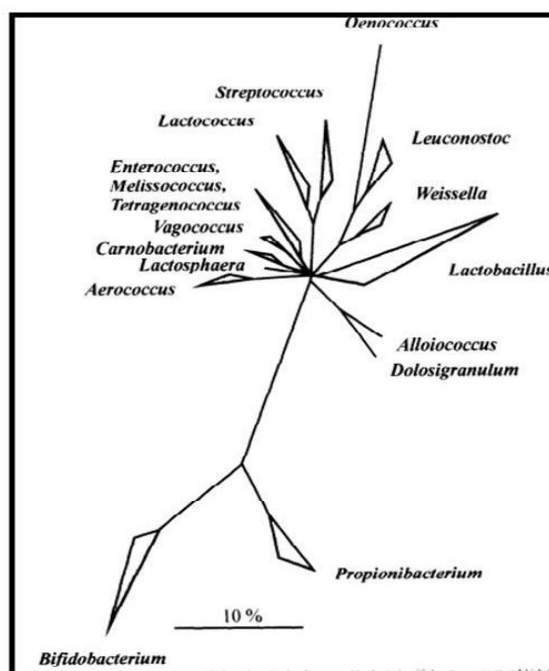


Figure01 : Arbre consensus, basé sur l'analyse comparative de l'ADN ribosomique (ADNr) montrant les différents groupes phylogénétiques des bactéries lactiques à faible (GC%) et les genres Gram positive non reliés *Propionibacterium* et *Bifidobacterium* (Saidi, 2020).

VI. Les principaux genres des bactéries lactiques

1. *Lactobacillus*

Lactobacillus est le genre le plus répandu de BL (Metrouh, 2022). Ce sont des bacilles à Gram positif, constitués de bacilles longs et fins (parfois incurvés) ou de coccobacilles (figure02) (Boumediene, 2013), non sporulants, catalase négative, se développant dans des conditions microaérophiles à strictement anaérobies (Benreguieg, 2015). Ils sont généralement immobiles à l'exception de quelques espèces qui possèdent des flagelles péritriches (Moumene, 2015).

Les espèces de *Lactobacillus* vivent largement dans les matières fermentescibles (König et al., 2017). Elles peuvent être trouvées dans les environnements laitiers riches en nutriments, les habitats microbiens d'hôtes comme les muqueuses humaines et les niches biologiques naturelles comme les plantes et le sol (Metrouh, 2022).

Partie bibliographique

Elles se répartissent en trois groupes selon leur profil fermentaire, d'après la classification de Kandler et Weiss (1986) : homofermentaires strictes, hétérofermentaires facultatives et hétérofermentaires strictes (Benreguieg, 2015).

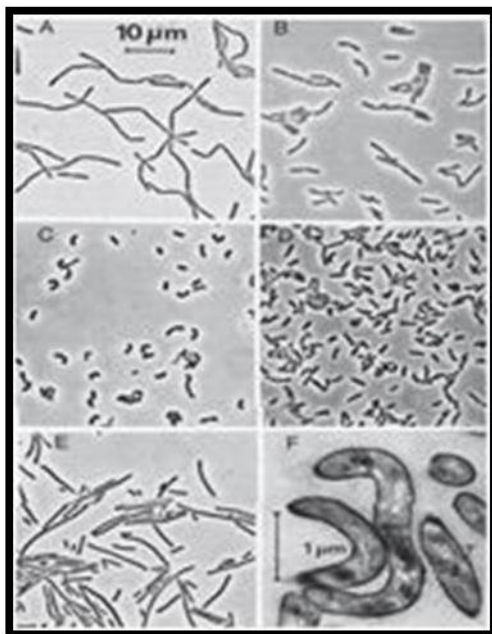


Figure02 : Phase contraste (A–E) et électron (F) micrographes montre les différentes morphologies cellulaire de *lactobacillus* : A, *Lactobacillus gasseri* ; B, *Lactobacillus agilis* ; C, *Lactobacillus curvartus*; D, *Lactobacillus minor*; E, *Lactobacillus fermentum* et F, involution de *lactobacillus* dans une section mince de grain du kéfir (Boumediene, 2013).

2. *Lactococcus*

Ce sont des microorganismes mésophiles, à Gram positif, sans activité catalase, non mobiles et se présentant sous forme de coques disposées en paires ou en chainettes (**figure 03**). Leur métabolisme est homofermentaire (Benreguieg, 2015). Ce genre est un habitant typique des plantes, des animaux et de leurs produits (Moumene, 2015).

Partie bibliographique

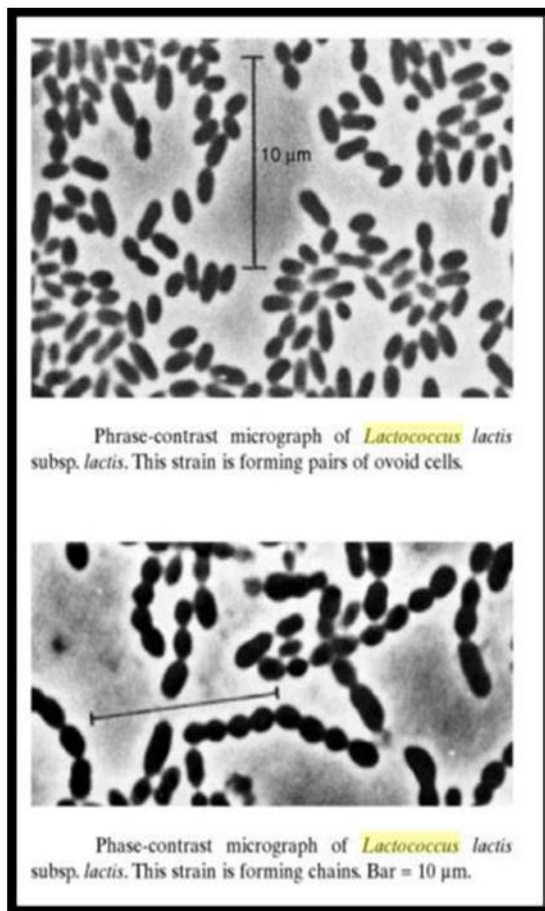


Figure 03 : *Lactococcus lactis* subsp *lactis* sous forme de cellules ovoïdes par paire (photo du haut), et en chaînette (photo du bas) selon la souche (**Bendimerad, 2013**).

3. *Leuconostoc*

Le genre *Leuconostoc* a été défini en 1878 par van Tieghem ; le mot leuconostoc vient de l'association de leukos qui veut dire clair avec Nostoc qui est une cyanobactérie, signifiant donc Nostoc incolore (**Bendimerad, 2013**). Ce sont des coques à Gram positif, mésophiles hétérofermentaires, aérobies anaérobies facultatifs produisant de l'acide D (-) lactique, de l'éthanol et du CO₂ (**Benreguieg, 2015**).

Les *leuconostocs* se présentent sous forme de cellules sphériques immobiles, souvent lenticulaires après culture sur gélose, regroupées par deux ou en chaînes (**figure 04**) (**Bendimerad, 2013**).

Partie bibliographique

Ces bactéries sont présentes dans de nombreux habitats naturels. Elles représentent notamment la microflore lactique dominante des végétaux frais, fréquemment retrouvés dans le lait, les levains, les laits fermentés et les fromages (**Benreguiég, 2015**).

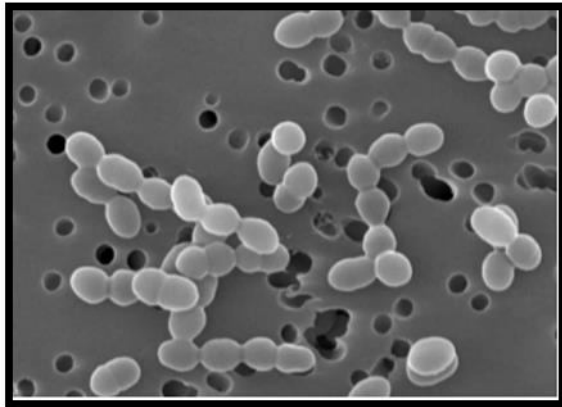


Figure04 : *Leuconostoc lactis* observé au M.E.T. (x 10000) (**Makhloufi, 2011**).

4. *Pediococcus*

Ce genre est représenté par neuf espèces ayant un métabolisme homofermentaire. Il rassemble des cellules immobiles de forme sphérique parfois ovoïdes, isolées ou en paires qui se divisent dans deux directions perpendiculaires formant ainsi les tétrades mais jamais les chaînes (**figure 05**) (**Moumene, 2015**). Il s'agit de bactéries microaérophiles (**Mechai, 2009**) qui sont présentes sur le matériel végétal, les fruits et les aliments fermentés (**König et al., 2017**).

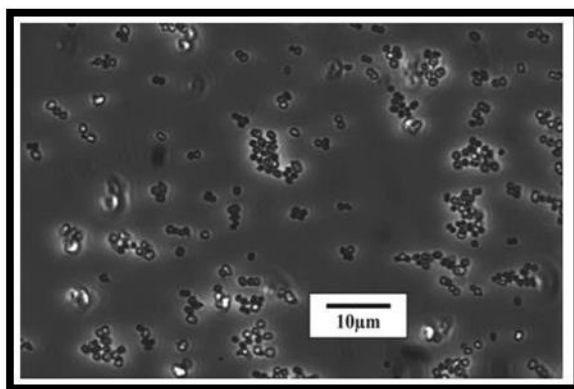


Figure05 : Aspect microscopique caractéristique des Pédiocoques, y compris la formation de tétrades avec l'aimable autorisation de WineBugs LLC (**Wade, 2019**).

Partie bibliographique

Tableau 01 : Principaux genres des bactéries lactiques (König *et al.*, 2017).

Genre	Morphologie	CG%	Fermentations des glucides
<i>Lactobacillus</i>	Bâtonnets, coccobacilles, isolé ou en chaîne	32-53	Homo ou hétérofermentaire, hétérofermentaire facultative
<i>Leuconostoc</i> , <i>Oenococcus</i>	Sphérique ou lenticulaire, en paire ou en chaînes	38-41	Hétérofermentaire
<i>Pediococcus</i>	Sphériques, paires ou tétrades	24-42	Homo ou hétérofermentaire facultative
<i>Lactococcus</i>	Cocci en chaîne	33-37	Homofermentaire
<i>Weissella</i>	Sphérique, lenticulaire irrégulières		Hétérofermentaire
<i>Streptococcus</i>	Cocci en chaîne	40	Homofermentaire

VII. Les voies de fermentations des bactéries lactiques

Toutes les BL ont un métabolisme fermentaire qui dépend fortement des glucides. Selon leurs voies de métabolisation des glucides, elles sont classées en deux catégories ; homo-fermentaire (ou homolactique) et hétéro-fermentaire (ou hétéro-lactique) (Fessard, 2017).

Le principal produit final de la voie homo-fermentaire est le lactate. La voie homo-fermentaire imprime le processus de glycolyse, également connu sous le nom de voie Embden-Meyerhof-Parnas (EMP). Elle est couramment associée aux bactéries *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Pediococcus* et *Lactobacillus*.

Au cours de ce processus, le glucose est converti en deux molécules de pyruvate, tandis que l'ADP est phosphorylé en deux molécules d'ATP. La lactate déshydrogénase convertit

Partie bibliographique

ensuite le pyruvate en lactate, permettant aux cofacteurs d'être réoxydés. Ce mécanisme doit convertir au moins 90% du glucose consommé en lactate pour être classé comme homolactique.

Ce processus peut également être utilisé pour fermenter des sucres autres que le glucose, y compris sous forme de monosaccharides et de disaccharides (**Metrouh, 2022 ; Fessard, 2017**). Ce qui rend les BL attrayants pour l'industrie, c'est leur capacité à utiliser une grande quantité de sucre pendant le processus de la fermentation pour la production de biomasse, ce qui entraîne une perte de matière primaire minimale (**Metrouh, 2022**).

La voie d'hétéro-fermentation se produit lorsqu'une molécule de glucose est fermentée en une molécule d'acide lactique, une molécule d'éthanol/acétate, une molécule de CO₂ et une molécule d'ATP. Pour convertir le glucose, la voie hétéro-fermentaire imprime la voie des pentoses phosphates. Les *Leuconostoc* et certains lactobacilles sont les principales catégories de BL qui démontrent cette forme de métabolisme (**Metrouh, 2022 ; Fessard, 2017**).

VIII. L'intérêt des bactéries lactiques

1. Utilisation des BL comme culture starter

Les bactéries lactiques sont souvent utilisées comme culture starter dans la production et la conservation de produits alimentaires comme les produits laitiers, les légumes fermentés, la viande et l'ensilage car elles améliorent considérablement la saveur et produisent des composés antimicrobiens (**Čanak et al., 2018**).

Le terme "culture starter" est défini comme une préparation microbienne d'un grand nombre de cellules soit d'un seul type, soit d'un mélange de deux ou plusieurs micro-organismes qui sont ajoutés à une matière première afin de produire un aliment fermenté, qui accélère donc son processus de fermentation (**García-Díez et al., 2021 ; Ayivi et al., 2020**).

La culture starter doit être reconnue comme sûre, capable d'être produite à grande échelle et rester viable et stable pendant le stockage (**García-Díez et al., 2021**).

2. Aptitudes technologiques

Différents aspects technologiques qui peuvent être pertinents pour le produit final doivent de plus être pris en compte lors de la sélection de BL pour les fermentations alimentaires. Les

Partie bibliographique

activités acidifiantes, protéolytiques, lipolytiques, l'aptitude aromatique et texturante sont quelques-unes des caractéristiques qui contribuent à la conservation, à la saveur et à la qualité nutritionnelle du produit (Metrouh, 2022).

2.1. Capacité acidifiante

La fonction acidifiante constitue la propriété métabolique la plus recherchée des bactéries lactiques utilisées dans les industries alimentaires. Elle se manifeste par la production de l'acide lactique à partir de la fermentation des hydrates de carbone au cours de la croissance bactérienne (Hadeif, 2012).

2.2. Capacité protéolytique

La protéolyse est sans aucun doute le processus biochimique le plus important chez les bactéries lactiques (Benmouna, 2019). Elles possèdent des protéinases, des peptidases nécessaires à la dégradation des protéines du lait en peptides et acides aminés. Ceux-ci peuvent alors être transformés en alcools et en acides. Cette activité protéolytique intervient de ce fait sur le rendement fromager, la texture et la saveur typique du fromage et par conséquent sur les caractéristiques du produit final (Mami, 2013).

2.3. Capacité lipolytique

Les propriétés lipolytiques sont généralement faibles chez les bactéries lactiques, les lactocoques sont considérés comme plus lipolytiques que *Streptococcus thermophilus* et les *Lactobacilles*. Elles peuvent cependant présenter un intérêt pour certaines applications fromagères. D'une manière générale, on distingue les estérases qui hydrolysent de façon préférentielle les esters formés avec les acides gras à chaîne courte (C2-C8) et les lipases qui sont actives sur des substrats émulsifiés contenant des acides gras à chaîne longue (>C8), ces enzymes sont impliquées dans l'hydrolyse de mono, di, et triglycérides (Hadeif, 2012).

2.4. Capacité aromatisante

Les BL contribuent à l'arôme et à la saveur des produits laitiers fermentés en métabolisant les molécules d'arôme ou les précurseurs d'arôme. Des alcools, des aldéhydes, des acides, des esters et des composés soufrés sont produits à la suite de la protéolyse de la caséine, du métabolisme des peptides et des acides aminés et du catabolisme des acides aminés. Les principaux acides aminés pour les composés gustatifs comprennent les acides aminés à chaîne

Partie bibliographique

ramifiée (valine, leucine et isoleucine), les acides aminés aromatiques (tyrosine, tryptophane et phénylalanine) et les acides aminés soufrés (méthionine et cystéine) (**Metrouh, 2022**).

2.5. Capacité texturante

La capacité des bactéries lactiques à synthétiser des exopolysaccharides (EPS) joue un rôle important pour la consistance et la rhéologie des produits transformés. Les *Lb. Delbrueckii* ssp. *bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus* produisant des EPS sont utilisés dans la fabrication des yaourts, ceci afin d'améliorer la texture, éviter la synérèse et augmenter la viscosité des produits finis. L'utilisation des EPS produits par les souches *Lc. Lactis* ssp. *cremoris* est très prometteuse pour la structure et la viscosité des produits laitiers fermentés (**Hadef, 2012**).

3. Aptitudes médicales : Les probiotiques

Les probiotiques ont été largement introduits chez l'homme et l'alimentation animale de manière croissante au cours des dernières décennies en raison de leur impact positif sur la prévention de certaines maladies et le maintien d'un bon état de santé (**Arena et al., 2018**).

Le terme "probiotique" est dérivé du grec qui signifie littéralement pour la vie. En 2002, les experts de la FAO/WHO ont défini les probiotiques comme « micro-organismes qui, lorsqu'ils sont administrés en quantités adéquates, confèrent des avantages pour la santé de l'hôte » (**Bouguerra, 2021 ; Lorn, 2020**).

Les bactéries lactiques probiotiques peuvent être isolées de différentes sources telles que les aliments fermentés, les animaux et les humains. Celles qui sont les plus couramment utilisées proviennent généralement des genres *Lactobacillus* et *Bifidobacterium* (**Ayivi et al., 2020**) (**tableau 02**).

Leurs bienfaits sur la santé consistent à rétablir l'équilibre naturel de microbiote intestinal, pour favoriser une fonction intestinale saine, stimuler le système immunitaire, réduire les ballonnements, les gaz et l'inconfort intestinal (**Lorn, 2020**). Certaines d'entre elles incluent l'application contre le syndrome du côlon irritable, le diabète ainsi que l'effet réducteur sur le cholestérol sanguin (**Fugaban et al., 2022**).

La souche doit également être :

- Sûre et ne constituer aucune menace pour l'hôte.

Partie bibliographique

- Survivre aux acides gastriques et biliaires pour persister dans l'intestin.
- Adhérer aux cellules intestinales et réduire l'adhésion des pathogènes en produisant des peptides antimicrobiens (Metrouh, 2022).

Les probiotiques exercent de nombreux et divers effets sur l'hôte dont les principaux mécanismes d'action incluent : augmentation de l'adhésion à la muqueuse intestinale et inhibition concomitante de l'adhésion des pathogènes, exclusion compétitive des microorganismes pathogènes, production des substances antimicrobiennes, amélioration de la barrière épithéliale et modulation du système immunitaire (Bouguerra, 2021).

Tableau02 : Espèces de bactéries lactiques ayant un rôle probiotique (Saidi, 2020).

<i>Lactobacillus (Lb)</i>	<i>Bifidobacterium (B)</i>	Autres BL	Autres microorganismes
<ul style="list-style-type: none"> • <i>Lb. Acidophilus</i> • <i>Lb. amylovirus</i> • <i>Lb. brevis</i> • <i>Lb. casei</i> • <i>Lb. cellobius</i> • <i>Lb. crispatus</i> • <i>Lb. curvatus</i> • <i>Lb. delbrueckii</i> • <i>Lb. farciminis</i> • <i>Lb. fermentum</i> • <i>Lb. gallinarum</i> • <i>Lb. gasseri</i> • <i>Lb. johnsonii</i> • <i>Lb. paracasei</i> • <i>Lb. plantarum</i> • <i>Lb. reuteri</i> • <i>Lb. rhamnosus</i> 	<ul style="list-style-type: none"> • <i>B. adolescentis</i> • <i>B. animalis</i> • <i>B. bifidum</i> • <i>B. breve</i> • <i>B. infantis</i> • <i>B. lactis</i> • <i>B. longum</i> • <i>B. thermophilum</i> 	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Enterococcus faecalis</i> • <i>Enterococcus faecium</i> • <i>Lactococcus lactis</i> • <i>Leuconostoc mesenteroides</i> • <i>Pediococcus acidilactici</i> • <i>Sporolactobacillus inulinus</i> • <i>Streptococcus thermophilis</i> • <i>Streptococcus Intermediu</i> 	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Bacillus spp,</i> <i>Escherichia coli strain Nissle</i> • <i>Propionibacterium freudenreichii</i> • <i>Saccharomyces cerevisiae</i> • <i>Saccharomyces boulardii</i>

Partie bibliographique

Les BL probiotiques possèdent également des propriétés antimicrobiennes. Elles sécrètent des acides organiques tels que les acides lactique, acétique et butyrique, qui contribuent à réduire le pH intestinal et donc à limiter la croissance des bactéries entéropathogènes et uropathogènes (**Metrouh, 2022**).

IX. Activité antimicrobienne des bactéries lactiques

Différents agents antimicrobiens ayant la capacité d'inhiber le développement des bactéries pathogènes comme les champignons et plusieurs bactéries à Gram négatif et à Gram positif sont produits par les bactéries lactiques (**Zergoug, 2017**), ce qui a permis à ces dernières d'obtenir un rôle important comme agents de conservation des aliments par rapport aux autres microorganismes. En effet, les bactéries lactiques et/ou leurs métabolites antimicrobiens répondent aux exigences des bio-conservateurs alimentaires, pour leur non toxicité à l'homme, les propriétés nutritionnelles qu'elles confèrent aux aliments, leur activité dans les conditions de stockage à basse température, leurs effets bénéfiques sur la santé et leur efficacité à de faibles concentrations (**Benmouna, 2019**). Cependant, lorsqu'ils atteignent une certaine concentration, ces composés peuvent interrompre la croissance des souches productrices (autoinhibition) (**Zergoug, 2017**).

Ces agents antimicrobiens sont donc importants pour la fermentation, la conservation et le stockage des aliments. Ils peuvent être divisés en trois groupes principaux :

1. Les acides organiques (acide acétique, butyrique et acide lactique).
2. Des petites molécules, par exemple le diacétyle, le peroxyde d'hydrogène, l'acétaldéhyde, l'acétoïne, la reutéline et la reutélicycline.
3. Les bactériocines peptidiques ou protéiques (**Ibrahim et al., 2021**).

1. Les acides organiques

Les acides organiques sont produits par les bactéries lactiques au cours de processus de fermentation alimentaires. Leurs effets antimicrobiens sont bien connus à l'heure actuelle (**Khodja, 2018**). Grâce à cette production, le pH du milieu dans lequel les bactéries lactiques se multiplient diminue (**Hammi, 2016**), permettant ainsi l'inhibition de la croissance des bactéries à Gram négatif et à Gram positif, ainsi que des levures et des moisissures qui pourraient être indésirables dans plusieurs produits alimentaires (**Ibrahim et al., 2021**).

Partie bibliographique

Ces acides, sous leur forme dissociée ou non dissociée, agissent au niveau de la membrane et en inhibant les systèmes membranaires de transport actif (**Khodja, 2018**).

L'activité antimicrobienne d'un acide organique dépend de sa nature (acide fort, acide faible) (**Khodja, 2018**). La capacité de ces acides faibles à inhiber les micro-organismes contaminants est attribuée à la dissociation de l'acide à un certain pH (**Fugaban et al., 2022**).

Les acides organiques sont généralement considérés comme sûrs pour l'usage humain (**Ibrahim et al., 2021**).

2. Le peroxyde d'hydrogène

La catalase, enzyme nécessaire à la dégradation du peroxyde d'hydrogène en oxygène et en eau, est absente chez les bactéries lactiques. Il en résulte une accumulation de ce composé qui peut être inhibiteur de différents micro-organismes (**Hammi, 2016**).

Le peroxyde d'hydrogène affecte les lipides membranaires et les protéines cellulaires. Il a un effet bactériostatique envers les bactéries Gram positive alors qu'il exerce un effet bactéricide contre les bactéries Gram négative (**Benmouna, 2019**).

La quantité du peroxyde d'hydrogène produite par les bactéries lactiques dépend en grande partie de la souche et de la disponibilité de l'oxygène (**Zergoug, 2017**). Il confère aux bactéries lactiques un avantage de compétition puisqu'il a été démontré qu'elles sont moins sensibles que d'autres bactéries à ses effets, mais l'effet inhibiteur du peroxyde d'hydrogène reste généralement faible (**Mekri, 2016**).

3. Le dioxyde de carbone

Les bactéries lactiques hétérofermentaire synthétisent du dioxyde de carbone (CO₂) comme métabolite secondaire, mais certaines voies métaboliques produisent également cette molécule comme sous-produit. Son accumulation dans le milieu extérieur crée un environnement anaérobie qui peut être toxique pour les microorganismes aérobies présents dans l'aliment et limite principalement la gamme d'organismes contaminants possibles (**Fugaban et al., 2022**). Toutefois, le dioxyde de carbone peut aussi, à faible concentration, stimuler la croissance de certaines bactéries (**Khodja, 2018**).

En raison de ce mécanisme, le dioxyde de carbone est utilisé depuis longtemps pour l'emballage sous vide ou à air modifié dans les industries alimentaires et des boissons ainsi que

Partie bibliographique

pour améliorer les paramètres d'hygiène des produits alimentaires et les protéger de la détérioration bactérienne (**Fugaban et al., 2022**).

4. Le diacétyle

Le diacétyle est un produit du métabolisme du citrate qui est responsable de l'arôme « beure » des produits laitiers (**Khodja, 2018**). Certaines BL, notamment *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* et certaines espèces de *Lactobacillus*, peuvent produire cette molécule qui a montré de fortes propriétés inhibitrices contre *Bacillus* spp (**Fugaban et al., 2022**). Ses propriétés antimicrobiennes sont dirigées contre les levures, les bactéries Gram négative et positive non lactiques, ces dernières y sont néanmoins moins sensibles (**Khodja, 2018**).

5. La reutérine

La reutérine qui s'est avérée être un antibiotique à large spectre (**Fugaban et al., 2022**) est une substance antimicrobienne qui est produite comme métabolite intermédiaire pendant la fermentation anaérobie du glycérol (**Khodja, 2018**) par certaines espèces de *Lactobacillus reuteri*, qui sont généralement de petites molécules antimicrobiennes et possèdent des propriétés antimicrobiennes qui inhibent plusieurs bactéries à Gram positif et négatif. Elle inactive des enzymes clés, telles que la ribonucléotide réductase (**Ibrahim et al., 2021**).

X. Bactériocine

1. Définition

Différentes définitions des bactériocines ont été données au cours du temps. La définition qui reste la plus largement acceptée est celle de Klaenhammer (1988) qui définit les bactériocines comme des protéines, ou complexes de protéines (**Boumediene, 2013**) synthétisés par les ribosomes qui peuvent être modifiés post-traductionnellement ou non, produits par de nombreuses espèces bactériennes différentes, y compris de nombreux membres de BL (**Hassan, 2020**).

Les bactériocines sont habituellement de faible poids moléculaire (mais des bactériocines à haut poids moléculaire sont également produites). La plupart d'entre elles sont de petites molécules, stable à la chaleur, cationique, amphiphile et perméables (**Boumediene, 2013**). Elles sont également incolores, inodores et insipides, ce qui améliore encore leur facilité d'utilisation potentielle et sont aussi facilement dégradés par les enzymes protéolytiques en raison de leur

Partie bibliographique

nature protéique. Leur classification est complexe, étant donné qu'elles peuvent différer par la structure des acides aminés, les propriétés biochimiques, l'activité antimicrobienne et le mode d'action (**Barcenilla et al., 2022**).

Le mécanisme antimicrobien général des bactériocines est basé sur la perturbation de la membrane cellulaire via la formation de pores ou un « effet détergent », comme dans le cas de la nisine (**Mora-Villalobos et al., 2020**). Elles peuvent inhiber les micro-organismes qui sont étroitement liés à la souche productrice, cette dernière produit une protéine d'immunité pour se protéger des effets délétères de la bactériocine qu'elle produit (**Boumediene, 2013**). A l'exception de la nisine qui est un inhibiteur d'un large éventail d'agents pathogènes d'origine alimentaire et de nombreux autres micro-organismes de détérioration à Gram positif. L'effet peut être bactéricide ou bactériostatique en fonction de l'état physiologique de la bactérie cible ou de la concentration en nisine (**Hassan, 2020**).

2. Classification des bactériocines

La première classification mondialement utilisée a été établie par Klaenhammer (1993), bien qu'elle ait subi plusieurs modifications au fur et à mesure de la découverte de nouvelles bactériocines. De nouvelles classifications ont été proposées qui comprennent quatre classes de bactériocines (**Barcenilla et al., 2022**) qui sont regroupées dans le **tableau 03**.

Tableau03 : Classification des bactériocines (**Cui et al., 2021 ; Negash et al., 2020**).

Classification	Caractéristiques	Sous-classes	Exemples
Classe I (Lantibiotiques)	Lanthionine ou peptides contenant de la β -lanthionine	Type-A (Molécules linéaires)	- Nisine. - Subtiline. - Epidermine.
		Type-B (Molécules globulaires)	- Mersacidine
Classe II	Classe hétérogène de petits peptides thermostables	Sous-classe IIa (Type bactériocines pédiocine antilistérienne)	- Pédiocine. - Entéroccine. - Sakacine.

Partie bibliographique

		Sous-classe IIb (composée de deux peptides).	- Plantaricine. - lactacine F.
		Sous-classe IIc (autres bactériocines).	- Lactococcine.
Classe III	Grands peptides thermolabiles		- Helvéticine J. - Millericine B.
Classe IV	Grands complexes avec des fragments glucidiques ou lipidiques		- Pédiocine N5p - Lactocine 27 - Entéroccine F4-9

3. Mode d'action des bactériocines

Les bactériocines inhibent la croissance des organismes cibles dans divers mécanismes, ces derniers peuvent être grossièrement subdivisés en mécanismes qui fonctionnent principalement sur l'enveloppe cellulaire et mécanismes qui sont principalement actifs dans la cellule qui affecte l'expression des gènes et la production de protéines (**Negash *et al.*, 2020**).

La plupart des modes d'action des bactériocines produites par les BL sur les bactéries à Gram positif sont connus et décrits (**Figure 06**). Certaines d'entre elles vont perturber la membrane cytoplasmique par la formation de pores, tandis que d'autres vont inhiber la biosynthèse de la paroi cellulaire ou la dégrader. Toutefois, d'autres bactériocines présentent un mode d'action qui n'est pas encore caractérisé, notamment celles qui sont actives contre les bactéries à Gram négatif (**Moussa, 2021**).

Selon Tagg *et al* (**1976**) le mode d'action des bactériocines comporte deux étapes :

1^{ère} étape : Consiste en l'adsorption de la bactériocine sur les récepteurs spécifiques ou non spécifiques de la membrane des cellules cibles.

2^{ème} étape : Phase irréversible impliquant la modification pathologique de la cellule cible.

(**Chung *et al.*, 2000**) ont confirmé que l'action des bactériocines se manifeste par la formation des pores au sein de la membrane plasmique des cellules cibles, et par conséquent la

Partie bibliographique

perte des constituants cellulaires (ATP, K⁺) qui ont un rôle dans le maintien de l'équilibre des réserves énergétiques et du pH intracellulaire. Cette perte de l'intégrité induit la baisse de la synthèse macromoléculaire (ADN, ARN, protéines).

Tandis que (Schved *et al.*, 1994) assurent que les bactériocines peuvent avoir trois types d'effets :

- Effet bactériostatique : Ralentissement ou arrêt de la croissance.
- Effet bactéricide : Perte de la viabilité et lyse cellulaire telle que la nisine.
- Effet bactéricide sans aucune lyse cellulaire (Zergoug, 2017).

Certaines bactériocines de classe I inhibent le lipide-II sur la membrane cellulaire, éliminant ainsi la synthèse de peptidoglycane. D'autres bactériocines forment des pores pour inhiber ou tuer leurs bactéries cibles (Negash *et al.*, 2020).

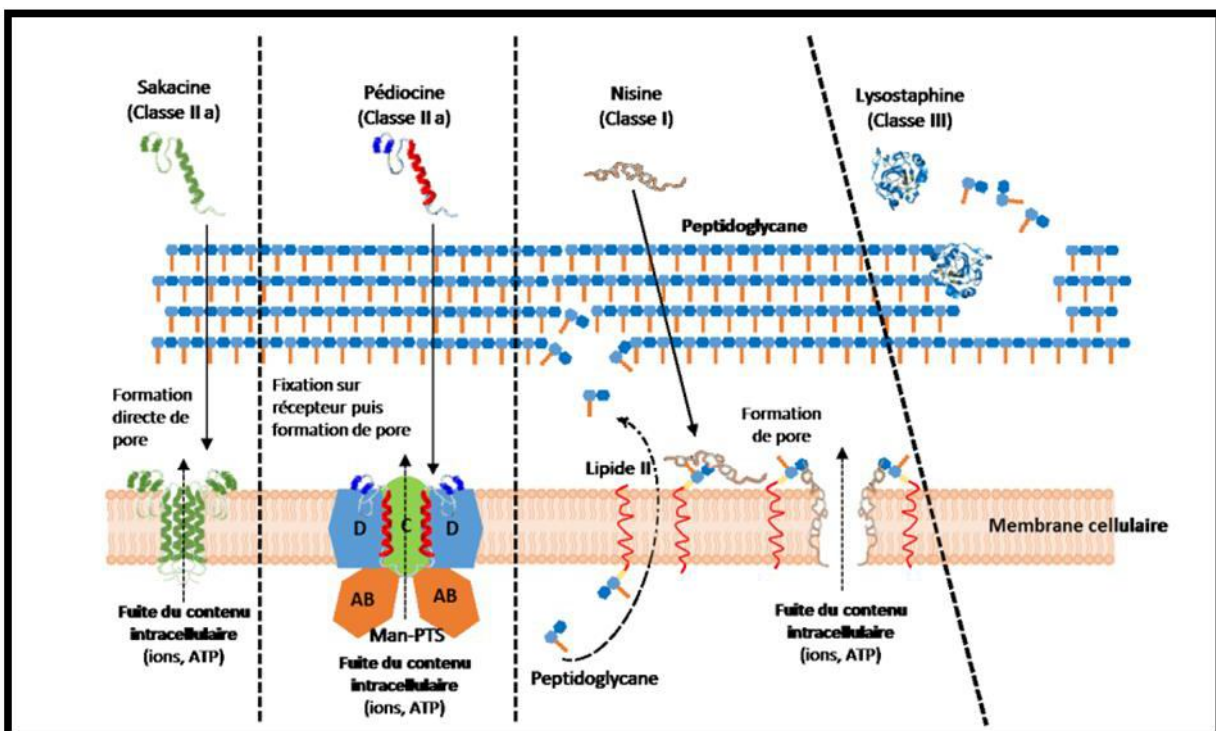


Figure 06 : Principaux mécanismes d'action des bactériocines (Fernandez, 2014).

4. Application des bactériocines

Deux types d'application des bactériocines sont envisageables, il s'agit d'une application agro-alimentaire et le champ d'étude dans ce domaine ne cesse de s'accroître. Un autre domaine très prometteur a vu le jour, il s'agit de l'application médicale (Benmouna, 2019).

Partie bibliographique

4.1. Application agro-alimentaire

La détérioration des aliments et des boissons est toujours une préoccupation dans l'industrie alimentaire (Ng *et al.*, 2020). Certaines méthodes de conservation telles que la pasteurisation, l'appertisation, le salage ou le séchage peuvent prolonger la durée de conservation des produits, mais peuvent altérer leur qualité (Mekri, 2016). Les additifs chimiques ont également été largement utilisés pour conserver les aliments, mais leur toxicité peut causer des problèmes de santé (Ng *et al.*, 2020).

En réponse à la forte demande de produits naturels pour la conservation alimentaire, la bioconservation est devenue une méthode populaire qui utilise des micro-organismes non pathogènes ou des métabolites pour prolonger la durée de conservation des aliments et inhiber la flore indésirable sans altérer leurs caractéristiques organoleptiques. La bactériocine est le bioconservateur le plus utilisé dans l'industrie alimentaire (Ng *et al.*, 2020).

4.1.1. Bioconservation des aliments par les bactériocines

L'application des bactériocines a été largement explorée en tant que bioconservateur puissant pour la réduction et la destruction de différents agents pathogènes d'altération et d'origine alimentaire, notamment *L. monocytogenes*, *Clostridium* spp. Et *Staphylococcus* spp (Fugaban *et al.*, 2022).

Les bactériocines produites par les BL sont considérées comme idéales pour une utilisation avec des aliments pour les raisons suivantes (**tableau 04**) :

1. Les sous-produits des BL sont classés par la Food and Drug Administration « FDA » comme « GRAS ».
2. Ils sont inodores et incolores.
3. Ils n'impactent pas les caractéristiques organoleptiques et sensorielles des aliments.
4. Contrairement aux antibiotiques traditionnels, les bactériocines sont éliminées par le système digestif par des enzymes protéolytiques.
5. De plus, les bactériocines ont le potentiel d'être bio-conçues pour améliorer les performances (Ibrahim *et al.*, 2021).

Les bactériocines peuvent être appliquées comme additif alimentaire (d'un point de vue législatif) sous une forme purifiée, semi-purifiée ou sous la forme d'un concentré obtenu après fermentation d'un substrat alimentaire comme le lait ou la viande (Siboukeur, 2018).

Partie bibliographique

Les bactéries productrices de bactériocine peuvent également être appliquées dans les produits alimentaires, la bactériocine sera alors produite in situ (**Khodja, 2018**).

Il existe aussi un autre mode d'application des bactériocines. Ce dernier consiste en leur immobilisation sur les cellules productrices, dans des gels ou des films tels que l'alginate de calcium, la gélatine, la cellulose, les protéines de soja, des films de polysaccharides (les bio-emballages). La bactériocine sera alors libérée dans le produit au cours de la conservation. Ces emballages permettent de réduire la croissance des microorganismes pathogènes ou indésirables pouvant se développer en surface durant la conservation du produit (**Siboukeur, 2018**). Jusqu'à présent, la nisine et la pédiocine PA-1 sont des bactériocines autorisées comme conservateurs alimentaires (**Balciunas et al., 2013**).

La nisine, l'une des bactériocines qui a été approuvée par la « FDA » des États-Unis et « OMS » pour être appliquée dans les usines alimentaires, est utilisée dans plus de 48 pays (**Negash et al., 2020**) et est commercialisée sous une forme semi-purifiée à l'état lyophilisé sous le nom de NisaplinTM (**Makhloufi, 2011**). Elle est efficace dans plusieurs systèmes alimentaires, inhibant la croissance d'un large éventail de bactéries Gram positive, elle protège contre les organismes sporulés résistants à la chaleur tels que ceux des genres *Bacillus* et *Clostridium* (**Negash et al., 2020**). En plus de cela, de nombreuses études ont prouvé que la combinaison de la nisine avec des antibiotiques peut tuer ou inhiber la croissance des pathogènes à Gram négatif (**Ng et al., 2020**).

La nisine A a été étudiée pour l'inhibition de la flore d'altération dans la viande et les produits carnés (**Mechai, 2009**) telle que *C. botulinum* et *L. monocytogenes* (**Ng et al., 2020**). Pour sa part, la nisine Z est largement utilisée pour inhiber la croissance ou tuer *L. monocytogenes* et *S. aureus* dans le fromage pour prolonger sa durée de conservation (**Ng et al., 2020 ; Mechai, 2009**).

Les souches productrices de nisine Z sont aussi utilisées dans l'imitation des gaz produits lors de la fermentation, souvent dus à la surcroissance de spores de *Clostridium* et en particulier de *Cl. Tyrobutyricum* (**Mekri, 2016**). En outre, la nisine Z exerce une activité inhibitrice contre le *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (SARM), un agent pathogène susceptible de provoquer une infection cutanée et pulmonaire chez l'homme (**Ng et al., 2020**).

Partie bibliographique

La souche *Pediococcus acidilactici* productrice de pédiocine PA-1/ AcH, une bactériocine de classe Iia commercialisée sous le nom d'Alta™ 2341, s'est révélée être responsable de la bonne conservation de la viande par diminution des populations de *L. monocytogenes* et de *Clostridium perfringens* (Mekri, 2016). Il a été prouvé que la pédiocine PA-1 peut également aider à préserver les filets de poisson en inhibant la croissance de *L. monocytogenes* (Ng *et al.*, 2020).

Tableau04 : Applications de quelques bactériocines et leur effet sur les produits alimentaire (Benmouna, 2019).

Application	Bactériocine/classe	Effet
Dans les produits laitiers	Nisine /classe I	Prévenir la prolifération d'endospore de <i>Cl. botulinum</i> et la contamination par <i>L. monocytogenes</i> dans le fromage.
	Lactacine 3147/classe I	Inhibition de <i>L. monocytogenes</i> dans les yaourts naturels et le fromage écrémé.
	Pédiocine PA-1/AcH/classe Iia	Inhibition de <i>L. monocytogenes</i> dans les fromages blancs, crèmes et sauces à base de fromage.
	Entéroccine AS-48/ classe Iic	Inhibition de <i>L. monocytogenes</i> et <i>S. aureus</i> dans le lait écrémé.
Dans les viandes et les volailles	Nisine, en combinaison avec des acides organiques, lysozyme et chélateurs	Décontamination des surfaces de préparations de viandes crues.
	Nisine sous forme de film, activée par l'EDTA	Inhibition des entérobactéries et des espèces appartenant à <i>Carnobacterium</i> dans les tranches de bœuf pendant la réfrigération.

Partie bibliographique

	Nisine en combinaison avec HPH	Inhibition d' <i>E. coli</i> et des <i>Staphylococcus</i> sp dans le jambon cuit.
	Pédiocines / classe IIa	Inhibition de <i>L. monocytogenes</i> dans les viandes crues.
Dans les poissons	Nisine avec traitement à la chaleur (65°C)	Inhibition totale de <i>L. innocua</i> dans le caviar d'esturgeon ou de saumon.
	Nisine immobilisée à des films plastiques	Inhibition de <i>L. monocytogenes</i> dans le saumon fumé pendant la réfrigération.

HPH : haute pression hydrostatique

4.2. Application médicale

A l'opposé de leur utilisation dans les produits alimentaires, leur utilisation directe en santé humaine ou vétérinaire est envisagée, cependant, aucune bactériocine n'est à ce jour commercialisée comme médicament. Néanmoins, quelques-unes d'entre elles sont en cours d'essais cliniques (**Chaalel, 2016**).

Les bactériocines ont le potentiel d'être utilisées comme des traitements des infections cutanées, de la gingivite, de la mammité, des otites et traitements des infections systémiques et/ou urogénitales. Elles peuvent également être utilisées en conjonction avec d'autres antimicrobiens pour minimiser l'apparition de résistance ou pour améliorer l'efficacité antimicrobienne (**Metrouh, 2022**). L'un des nouveaux domaines de recherche les plus intéressants est l'étude des bactériocines en tant qu'agents anticancéreux potentiels. Elles pourraient éventuellement être utilisées pour le contrôle postopératoire des bactéries infectieuses (**Benmouna, 2019**).

Partie bibliographique

(Dembélé *et al.*, 1998) ont démontré quelques années auparavant, que les bactériocines produites par le genre *Lactobacillus* contribuent à la protection du vagin contre différentes bactéries pathogènes telles que : *Escherichiacoli*, *Serratia marcescens*, *Shigella boydii*, *Listeria monocytogenes*, *Listeria ivanovii*, *Listeria innocua* et *Staphylococcus aureus* (Zergoug, 2017).

Quelques lantibiotiques sont utilisables dans les applications médicales pour l'espèce humaine et animale. L'épidermine produite par *Staphylococcus epidermidis* est active contre *Propionibacterium acnes*, qui cause l'acné. La nisine, quant à elle, peut être utilisée dans le traitement des ulcères gastriques vu sa stabilité aux pH acides et son activité contre *Helicobacter pylori* (Khodja, 2018).

L'utilisation de la nisine dans l'application vétérinaire comme médicament préventif et comme remède contre la mammite chez les bovins a également été étudié dans l'industrie vétérinaire. Des médicaments injectables à base de nisine ont été contrôlés près de 99,9 % des bactéries qui causent la mammite, comme *Staphylococcus aureus* et *Streptococcus Agalactiae* après administration de médicaments (Negash *et al.*, 2020).

A decorative border resembling a scroll, with a black outline and rounded corners. The top edge is slightly curved, and there are small circular motifs at the top-left and bottom-left corners.

Materiel et methodes

Matériel et méthodes

I. Matériel et méthodes

1. Objectifs d'étude

Les objectifs assignés à cette étude s'articulent autour des points suivants :

- ✚ L'étude du pouvoir antagoniste des bactéries lactiques productrices des substances antimicrobiennes vis-à-vis des souches à Gram négatif multirésistantes aux antibiotiques et des souches de référence à Gram positif.

2. Lieu d'étude

Notre travail a été réalisé au sein du laboratoire de microbiologie du département de Biologie Appliquée de la faculté des sciences exacte et science de la nature et de la vie, de l'Université Larbi Tebessi de Tébessa pendant une durée d'un mois et 20 jours de l'année universitaire 2022\2023.

3. Matériel utilisé

3.1. Matériel non biologique

Lors de la réalisation de nos expériences, nous avons utilisé le matériel de laboratoire suivant :

3.1.1. Milieux de culture

- La gélose MRS (**Man, Rogosa, Sharpe**) fournie par **Conda/pronadisa- Espagne** a été utilisée pour la culture et l'isolement des bactéries lactiques plus précisément l'espèce de lactobacilles.
- Le bouillon MRS (**MRS-broth**) fournie par **Conda/pronadisa- Espagne** a été utilisé pour le repiquage et l'enrichissement des souches lactiques cibles.
- La gélose MH (**Muller Hinton**) fournie par **HIMEDIA** a été utilisée dans l'étude de l'évaluation de l'activité antibactérienne des souches lactiques.
- Le bouillon nutritif (**Nutrient Broth**) fourni par **Biokar diagnostics-France**, a été utilisé pour le repiquage et l'enrichissement des souches pathogènes utilisées.
- Gélose nutritive.
- MH molle.

Matériel et méthodes

3.1.2. Produits chimiques

- Na OH (Hydroxyde de sodium) : Pour ajuster les pH des cultures.
- Eau distillée : Pour la préparation des milieux de culture.
- Alcool : pour la stérilisation de ph mètre.
- Eau physiologique : pour la suspension.

3.1.3. Appareillage

- Étuve réglable à 37°C (**Memmert**), utilisée pour l'incubation des souches lactiques et pathogènes utilisées.
- Étuve réglable à 30°C (**Salvis LAB Incucenter, Suisse**), utilisée pour l'incubation des souches fongiques.
- Agitateur vortex (**IKA VORTEX 3**).
- Centrifugeuse (**SIGMA-2-16P**), avec une vitesse maximale de 12000 tr/min.
- Le pH/MV mètre (**HI 22 11 HANNA instruments**) avec électrode, ph de 0 à 13.
- Plaque chauffante avec agitateur magnétique (**DAIHAN LabTech CO., LTD**).
- Balance de précision.
- Autoclave.
- Réfrigérateur.
- Bec benzène.
- Micropipettes.

3.2. Matériel biologique

3.2.1. Souches bactériennes et leurs origines

Les souches indicatrices (souches sur lesquelles est testée l'action inhibitrice des bactéries productrices de facteurs antibactérien) ont été isolées et identifiées par la doctorante Melle Amra Amel au niveau du laboratoire de recherche des Molécules Bioactives et Applications : S8E14 Merg *E. coli* isolée de merguez, S19 E21 Merg *Klebsiella pneumoniae* ssp *ozanae* isolée de merguez, S15 E23 lait *Raoultella terrigena* isolée de lait cru, S43 E9 AS VP *Serratia odorifera* isolée de viande de poulet. Ces souches sont également multirésistantes aux antibiotiques et productrices de bêta-lactamases à spectre élargi (BLSE) (Tableau 05). Cependant, les souches de référence utilisées sont : *Micrococcus luteus* ATCC 4698, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Bacillus cereus* ATCC 14579 et *Listeria monocytogenes* ATCC 7644 appartiennent à la collection de notre laboratoire.

Matériel et méthodes

Tableau 05 : Les souches multirésistantes aux antibiotiques et productrices de bêta-lactamases à spectre élargi (BLSE).

Souches	B-Lactamines												Aminosides			Quinolones			Divers				Phénotype de résistance	
	AMX	PRL	TTC	TTC	CL	FOX	AMC	CAZ	CTX	FEP	ATM	IPM	ETP	GN	AK	NA	OFX	CIP	C	NIT	FOS	COT		
(S8.E14.Merguez) <i>Escherichia coli</i>	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	S	S	S	S	R	R	R	R	R	S	S	R	
(S19.E21.Merguez) <i>Klebsiella pneumoniae spp ozaena</i>	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	S	S	S	S	R	R	R	R	S	S	R	R	
(S15.E23. Lait) <i>Raoultella terrigena</i>	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	S	S	R	S	S	R	R	R	S	S	R	R	
(S43.E9.AS.Viande de poulet) <i>Serratia odorifera</i>	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	S	R	R

R : Résistante, S : Sensible, I : Intermédiaire, AMX : Amoxicilline, PRL : Pipéracilline, TIC : Ticarcilline, TTC : Ticarcilline+Acide,

Clavulanique, CL : Colistine, FOX: Céfoxitine, AMC : Amoxicilline + Acide clavulanique, CAZ : Ceftazidime, CTX : Céfotaxime,

FEP :Céfépime, ATM : Aztréonam, IPM : Impipénème, ETP : Ertapénème, GN : Gentamicine, AK : Amikacine, NA : Acide Nalidixique,

OFX : Ofloxacin, CIP : Ciprofloxacine , C : Chloramphénicol, NIT : Nitrofurantoïne, FOS : Fosfomycine, COT : Cotrimoxazole ,

BLSE : bêta-lactamase à spectre élargi

Matériel et méthodes

4. Méthode

4.1. Provenance des souches lactiques et leur identification

Les souches lactiques utilisées dans notre travail (07 souches lactique) sont isolées et identifiées par Zouari Souad et Benarfa Taki Eddine dans le cadre d'un mémoire de Master sous la direction de Pr Mechai Abdelbasset et Dr Debabza Manel.

Les souches lactiques sont identifiées au niveau de l'espèce et la souche par la galerie biochimique API 50 CHL (**tableau 06**).

Tableau 06 : Les bactéries lactiques identifiées

Code des souches	Origine d'isolement	Espèce . présumée
01	Klila	<i>Lactobacillus plantarum</i>
02	Dhan	<i>Lactobacillus paracasei</i>
03	Jben	<i>Lactobacillus plantarum</i>
04	Jben	<i>Lactobacillus paracasei</i>
05	Klila	<i>Lactobacillus reuteri</i>
06	Zebda	<i>Lactobacillus paracasei ssp paracasei</i>
07	Jben	<i>Enterococcus faecium</i>

4.2. Conservation des souches lactique

Pour affirmer la viabilité des bactéries sélectionnées, deux techniques de conservation ont été employées :

- * conservation courte durée par culture en duplicate sur une gélose de conservation à 4°C.
- * conservation longue durée en triplicata par congélation à -20°C en présence du glycérol à 20 % de micro-cryotube contenant soit de lait écrémé ou de milieu d'enrichissement adaptéensemencées par un seul isolat lactique.

4.3. Conditions de croissance

La croissance et la survie des BL dépendent de différents facteurs tels les milieux et les caractéristiques physico-chimiques de culture. Pour leur isolement ou même enrichissement, plusieurs milieux peuvent être adoptés :

Matériel et méthodes

- * Le milieu M17 proposé par **(Terzaghi et Sandine, 1975)** pour l'isolement des streptocoques lactiques.
- * Le milieu MRS proposé par **(De Man *et al.*, 1960)** pour la culture des Lactobacilles.
- * Le lait écrémé stérile à 10% utilisé pour l'enrichissement ou la conservation en cas d'addition avec le glycérol.

En raison de l'appartenance de ce type bactérien au groupe microaérophile, son incubation s'effectue dans les conditions d'anaérobiose avec une incubation à 30°C pendant 24-48 h **(Fitzsimons *et al.*, 1999)**.

La composition de tous les milieux utilisés dans la recherche est présente dans la partie annexe.

4.4. Mise en évidence du pouvoir inhibiteur des bactéries lactiques

La recherche d'éventuelle production de substances inhibitrices par les bactéries lactiques est réalisée selon deux méthodes :

4.4.1. Méthode de détection indirecte

Les souches purifiées sont testées pour la production de substances antibactériennes autres que les acides organiques suivant la méthode des puits (méthode indirecte) de méthode de **(Barefoot et Klaenhammer, 1983) (figure 07 b)**. Un bouillon MRS est inoculé par la souche à tester au $1/10^3$ à partir d'une culture de 18 h à 37°C (fin de la phase exponentielle) de façon à obtenir 10^2 à 10^3 UFC/ml, puis incubé pendant 18 h à 37°C. La culture obtenue est centrifugée à 4500 g pendant 20 min et à 4°C. Le surnageant est ajusté à pH 6 avec de la soude 1M (Merck), puis filtré (filtre d'ester mixte de cellulose, 0,45 µm, Costar). Le filtrat obtenu constitue l'extrait de culture. Parallèlement, des boîtes de Pétri sont préparées de la façon suivante : des boîtes sont recouvertes de 10 ml de gélose MHensemencée avec une souche indicatrice. Après solidification, des puits de 6 mm de diamètre sont creusés dans la gélose à l'aide d'un tube stérile. Les boîtes sont ensuite séchées pendant 20 min, avant que les puits soient remplis d'extrait de culture (80 µl). Après diffusion complète de ce dernier dans la gélose (1 à 2 h à température ambiante), les boîtes sont incubées pendant 18 h à 37°C, puis examinées pour la présence de zones d'inhibition (zones claires dans une nappe trouble formée par la croissance de la bactérie indicatrice) autour des puits.

Matériel et méthodes

4.4.2. La méthode directe

Selon Fleming *et al* (1975), consiste à cultiver les deux souches dans le même milieu en double couche. Sur du MRS solide tamponné et à partir des cultures jeunes des souches de bactéries lactiques (un spot de la souche à caractériser en phase exponentielle de croissance), qu'on a incubé à 30°C pendant 24h. On a versé 1ml de cultures jeunes de bactéries pathogènes (*Micrococcus luteus* ATCC 4698, *Staphylococcus aureus* ATCC25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Bacillus cereus* ATCC 14579 *Klebsiella pneumoniae*, *Serratia odorifera*, *Raoultella terrigena*) dans 7ml de MH semi-solide (contenant 0,7% d'agar-agar) qu'on a versé par-dessus la première gélose conformément à la méthode de la double couche. Après solidification du milieu, les boîtes de Pétri sont mise à 37°C pendant 24h. La lecture des résultats consiste à déterminer la présence d'un halo clair autour des souches ensemencées en touche et de mesurer leurs dimensions (Figure 07 a).

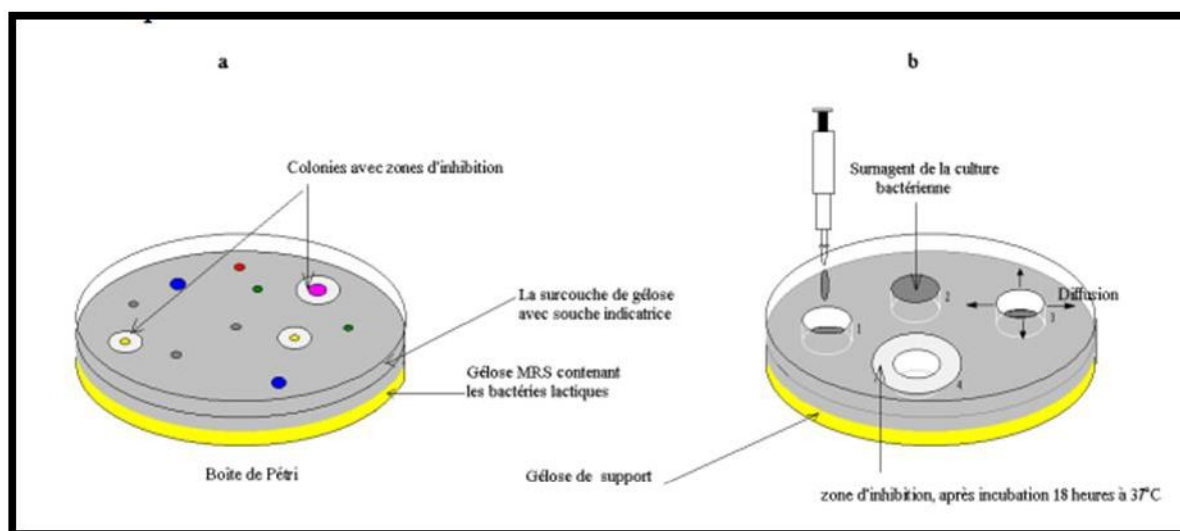


Figure 07 : Méthodes utilisées pour la recherche des substances antimicrobienne. (a) méthode de la double couche, (b) méthode de diffusion en puits (Barefoot et Klaenhammer, 1983).

A decorative border resembling a scroll, with a black outline and two circular scroll-like details at the top-left and bottom-left corners. The text is centered within this border.

Résultats et discussion

Résultats et discussion

II. Résultats et discussion

1. L'activité antimicrobienne et spectre d'action des bactéries lactiques

L'activité antimicrobienne de toutes les souches lactiques isolées de produits laitiers préparés traditionnellement a été évaluée contre une variété de bactéries à Gram positif : *Bacillus cereus* ATCC 14579, *Micrococcus luteus* ATCC 4698, *Listeria monocytogenes* ATCC 7644 et *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ainsi que des bactéries à Gram négatif multirésistantes aux antibiotiques. Il s'agit des souches : *E.coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae*, *Serratia odorifera*, *Raoultella terrigena*, et également contre une souche fongique qui est *Aspergillus fumigatus* LB22 par les deux méthodes: la méthode des puits et des spots.

1.1. Test des puits

Les résultats de l'interaction obtenue, révèlent la présence d'une zone claire au tour des puits.

Les résultats de l'interaction entre les extraits des bactéries lactiques et les bactéries pathogènes Gram positives ainsi que la souche fongique sont mentionnés dans les **(figures 08 a, b, c et d)** suivantes :

Résultats et discussion

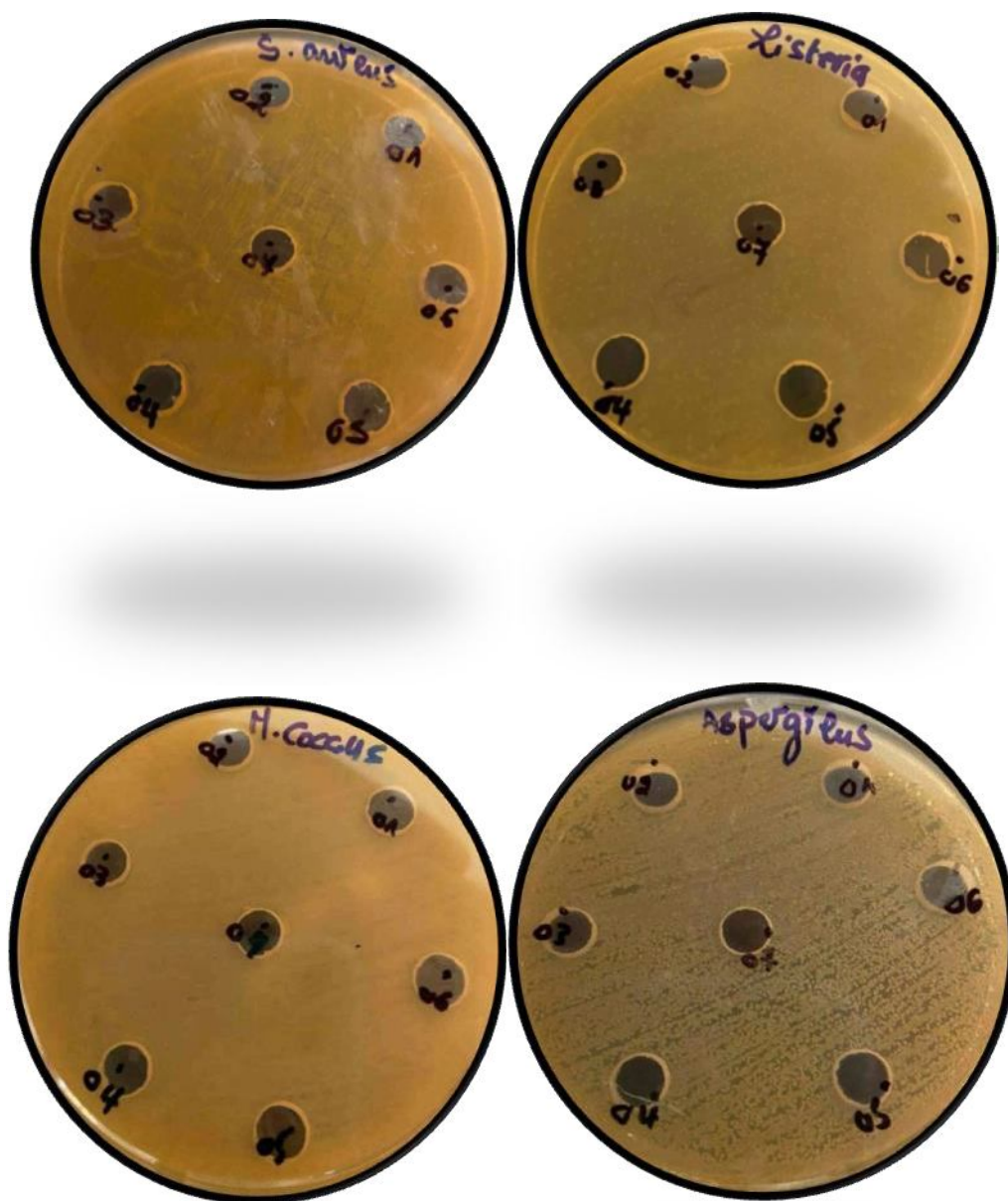


Figure08 : Mise en évidence de l'activité antimicrobienne des souches lactiques contre les souches indicatrices ; (A) *Staphylococcus aureus* [ATCC 25923], (B) *Listeria monocytogenes* [ATCC 7644], (C) *Micrococcus luteus* [ATCC 4698], (D) *Aspergillus fumigatus* [LB22].

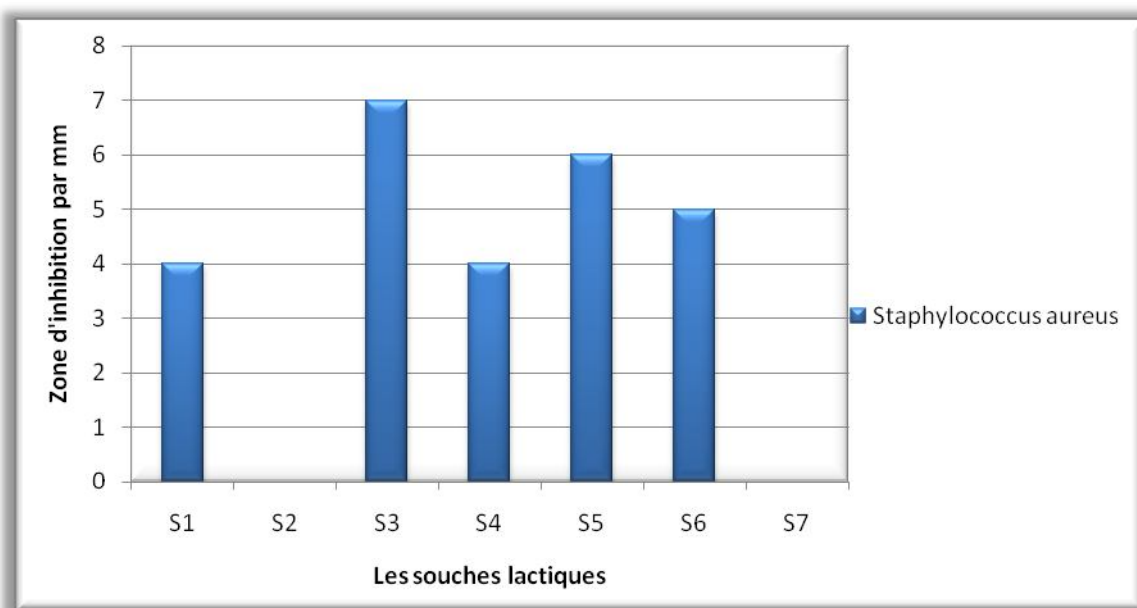
Les résultats des tests d'inhibition des souches pathogènes par les souches lactiques sont aussi exprimés en mm, par mesure de diamètre de la zone d'inhibition et sont présentés dans le (tableau 07).

Résultats et discussion

Tableau 07 : L'activité antimicrobienne des souches lactiques contre les bactéries Gram positives et une souche fongique par la méthode des puits (**Barefoot et Kaenhammer, 1983**).

Souches indicatrices	Les souches lactiques						
	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	4	0	7	4	6	5	0
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 7644	0	0	0	0	0	0	0
<i>Micrococcus luteus</i> ATCC 4698	0	0	0	0	0	0	0
<i>Aspergillus fumigatus</i> LB22	0	0	0	0	0	0	0

Ces résultats sont aussi représentés et exemplifiés dans le graphique suivant (**Figure 09**) :



Résultats et discussion

Figure 09 : Diamètres des zones d'inhibition exercés par les souches lactiques sur *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 par la méthode des puits.

D'après les résultats obtenus, il paraît que les surnageants neutralisés à pH = 6.5 des 7 souches lactiques testés montrent une activité :

- Minime : envers la souche *Staphylococcus aureus* [ATCC 25923] avec des zones d'inhibition allant de 4 à 7 mm par les souches S1, S3, S4, S5 et S6. Par contre, les souches S2 et S7 se sont avérées inactives envers cette dernière.
- Nulle : envers la souche *Listeria monocytogenes* [ATCC 7644], *Micrococcus luteus* [ATCC 4698] et *Aspergillus fumigatus* LB22.

1.2. La méthode des spots

Le criblage primaire a indiqué que les sept souches lactiques étudiées, manifestent une activité antagoniste vis-à-vis de presque la totalité des germes cibles testés en formant des zones d'inhibition autour des points de culture avec une différence de taux d'activité inhibitrice qui varie d'une souche à une autre (**figures 10, 11, 12, 13, 16, 17, 18 et 19**).

Cependant, une activité antagoniste inexistante par la souche lactique (7) a été observée vis-à-vis de et quelques souches pathogènes et souche fongique

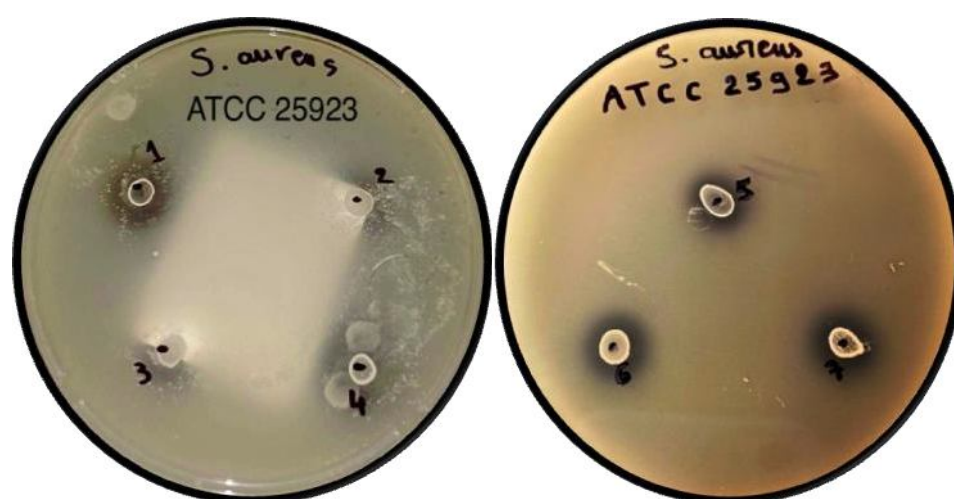


Figure10 : Mise en évidence de l'activité antimicrobienne des souches sélectionnées vis-à-vis de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, par la méthode de spot.

Résultats et discussion

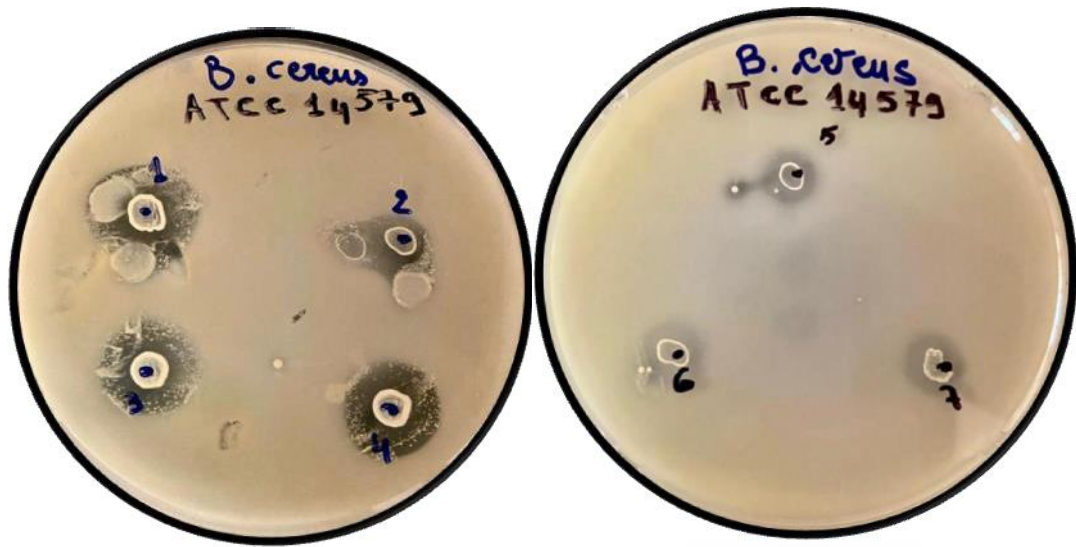


Figure 11 : Mise en évidence de l'activité antimicrobienne des souches lactiques vis-à-vis de *Bacillus cereus* ATCC 14579, par la méthode de spot.

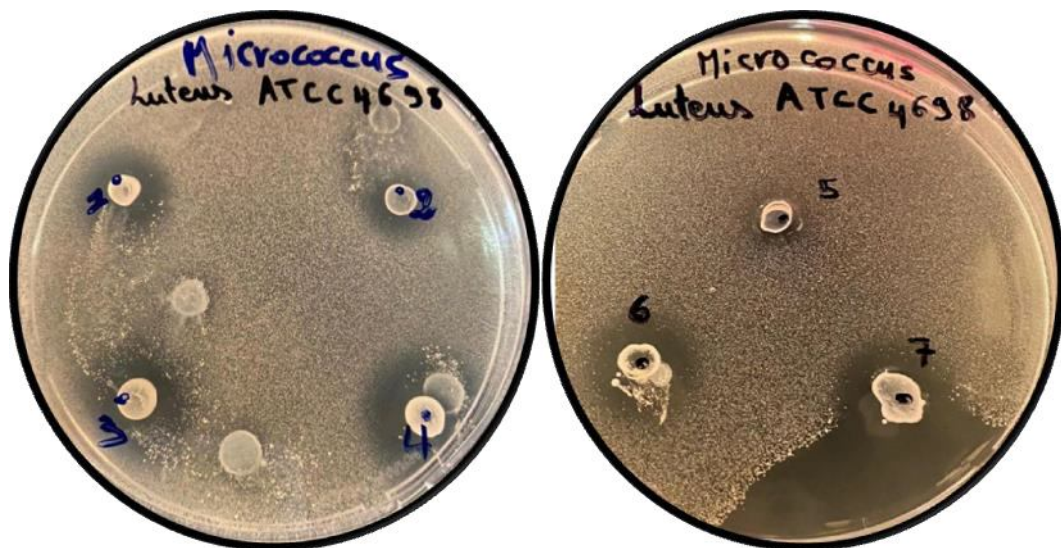


Figure 12 : Mise en évidence de l'activité antimicrobienne des souches sélectionnées vis-à-vis de *Micrococcus luteus* ATCC 4698, par la méthode de spot.

Résultats et discussion

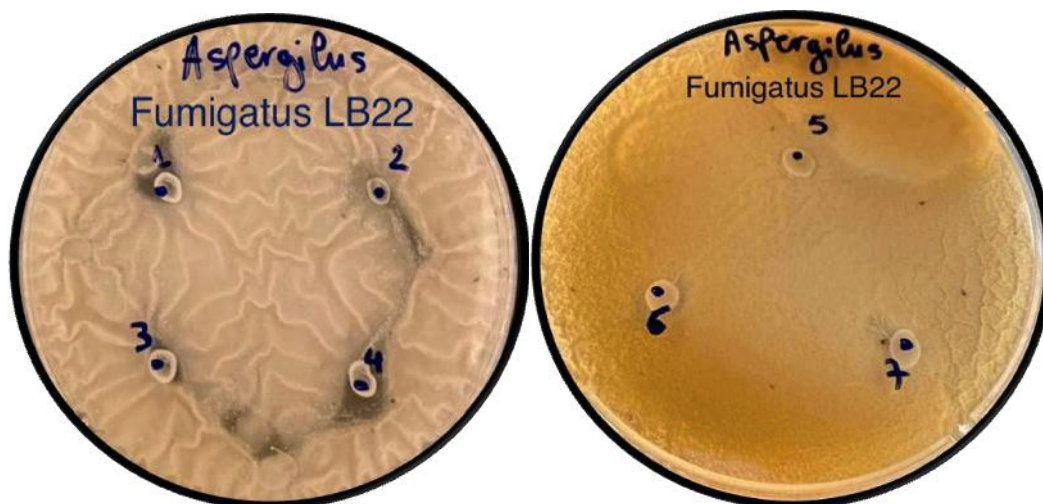


Figure 13 : Mise en évidence de l'activité antimicrobienne des souches lactiques vis-à-vis d'*Aspergillus fumigatus* LB22, par la méthode des spots.

Les résultats des tests des différentes souches lactiques sélectionnées vis-à-vis des souches indicatrices à Gram positif, exprimés en mm, sont présentés dans le **(tableau 08)**. La mesure des diamètres des zones d'inhibition a été faite avec un pied à coulisse.

Tableau 08 : L'activité antimicrobienne des souches lactiques contre les bactéries à Gram positif par la méthode des spots.

Souches indicatrices	Souches lactiques sélectionnées						
	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	14	15	14	14	12	11	11
<i>Micrococcus luteus</i> ATCC 4698	15	14	15	18	9	15	17
<i>Bacillus cereus</i>	18	12	15	16	10	12	10

Résultats et discussion

ATCC 14579							
<i>Aspergillus fumigatus</i> LB22	12	0	9	8	0	12	0

Ces résultats sont aussi représentés et exemplifiés dans les graphiques suivants (**figures 14, 15**) :

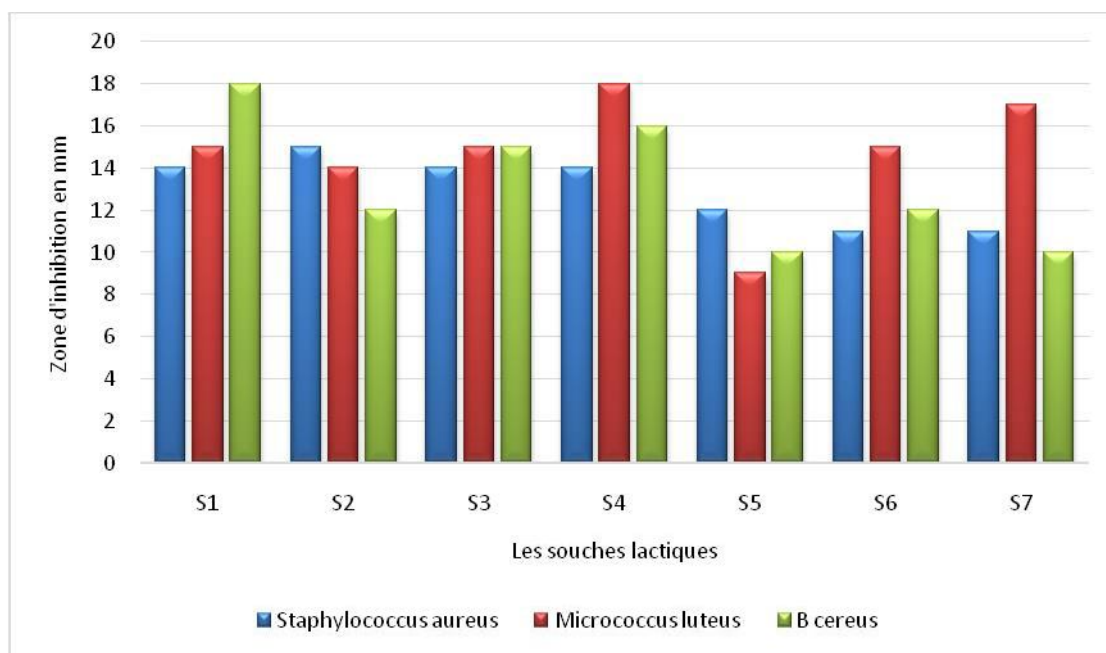


Figure 14 : Diamètres des zones d'inhibition exercés par les souches lactiques sur les souches indicatrices à Gram positif par la méthode des spots.

Résultats et discussion

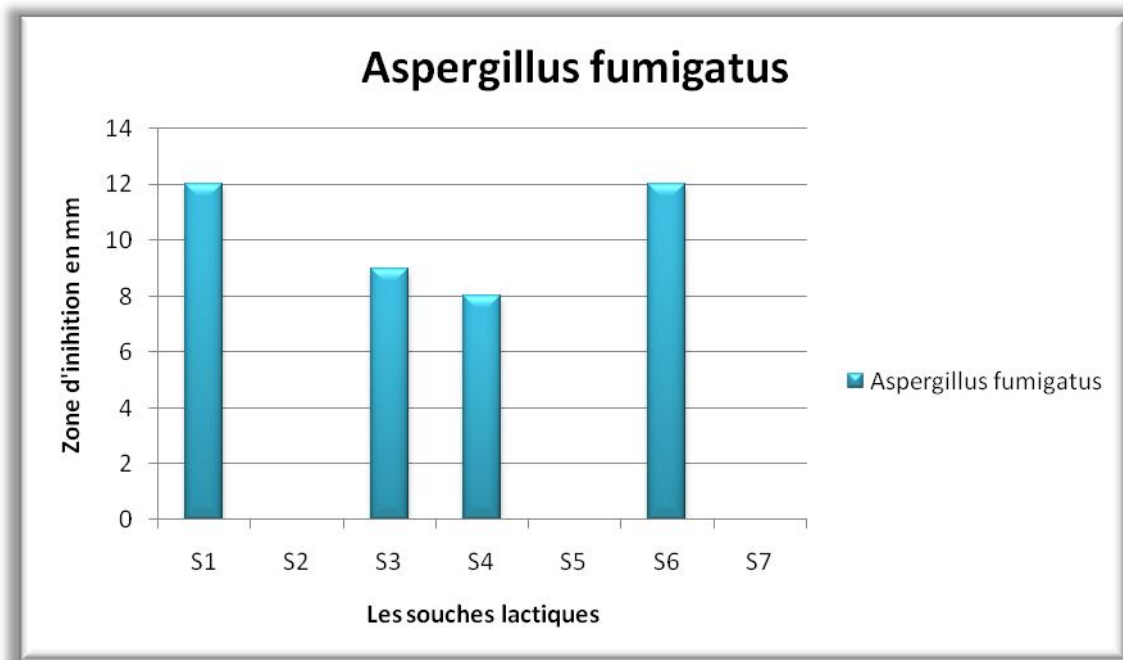


Figure 15 : Diamètres des zones d'inhibition exercés par les souches lactiques sur la souche fongique *Aspergillus fumigatus* LB22 par la méthode de spot.

1.2.1.1. Gram négatif

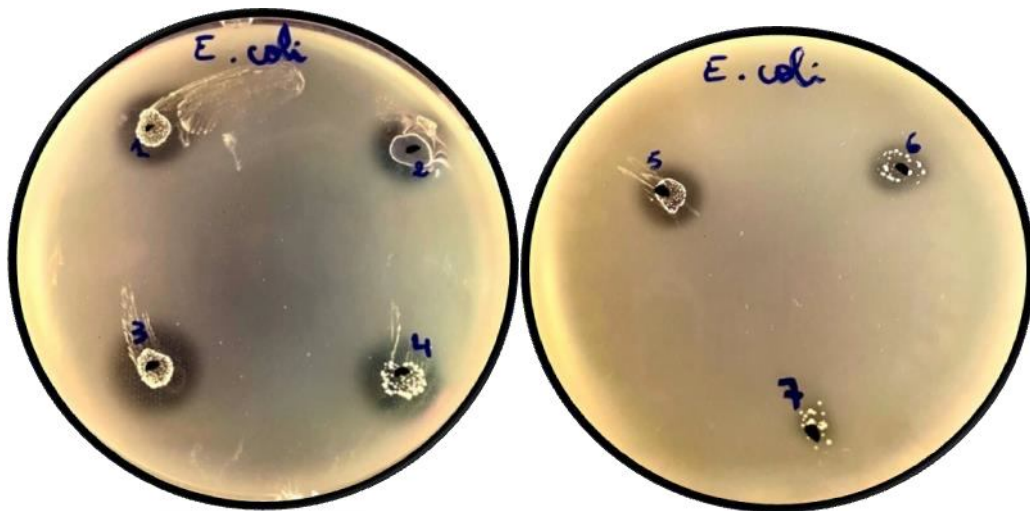


Figure 16 : Mise en évidence de l'activité antimicrobienne des souches lactiques vis-à-vis d'*E.coli* ATCC 25922, par la méthode des spots.

Résultats et discussion

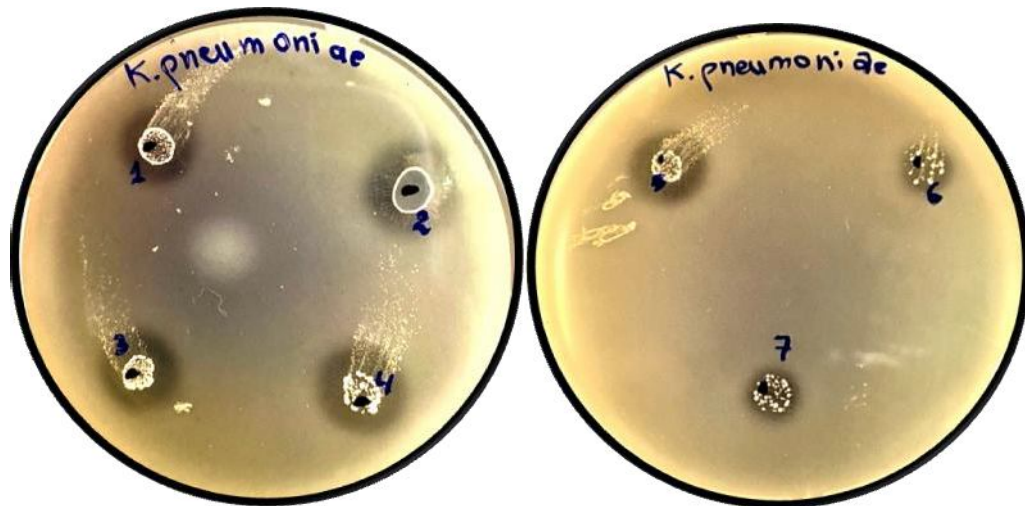


Figure 17 : Mise en évidence de l'activité antimicrobienne des souches lactiques vis-à-vis de *Klebsiella pneumoniae*, par la méthode des spots.

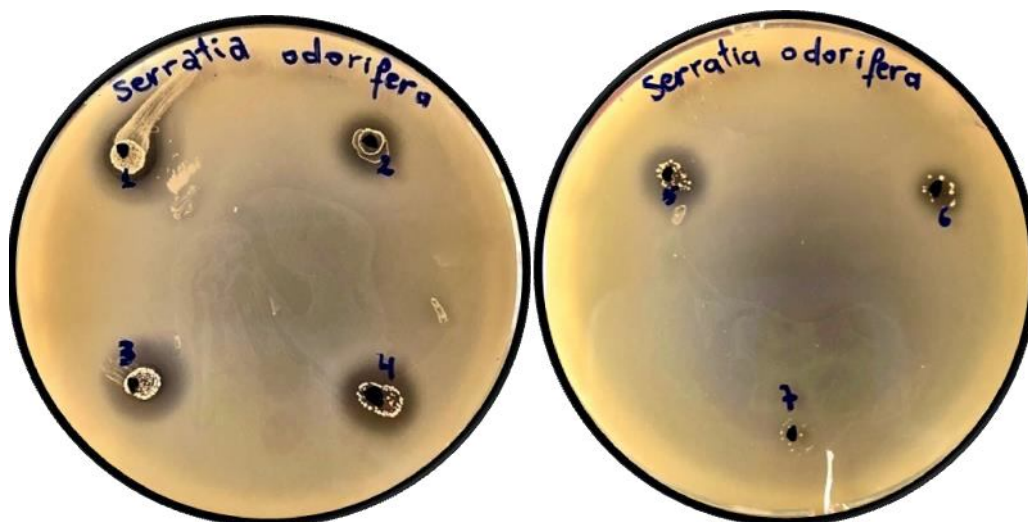


Figure18 : Mise en évidence de l'activité antimicrobienne des souches lactiques vis-à-vis de *Serratia odorifera*, par la méthode des spots.

Résultats et discussion

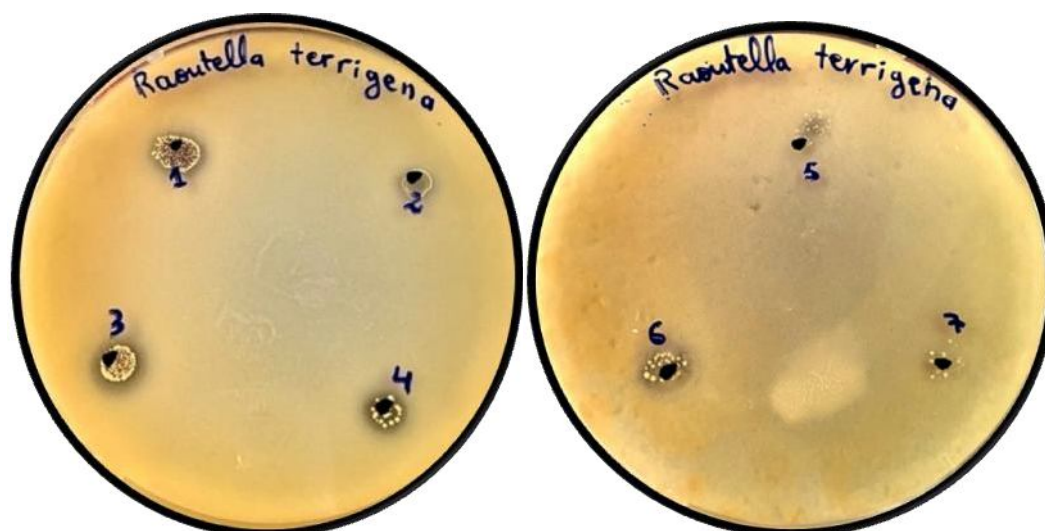


Figure 19 : Mise en évidence de l'activité antimicrobienne des souches lactiques vis-à-vis de *Raoultella terrigena*, par la méthode des spots.

Les résultats des tests d'inhibition des différentes souches lactiques sélectionnées vis-à-vis des souches indicatrices à Gram négatif, exprimés en mm, sont présentés dans le (**tableau 09**). La mesure des diamètres des zones d'inhibition a été faite à un pied à coulisse.

Tableau 09 :L'activité antimicrobienne des souches lactiques contre les bactéries à Gram négatif par la méthode de spot.

Souches indicatrices	Souches lactiques sélectionnées						
	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7
<i>E.coli</i> ATCC 25922	15	12	13	11	10	9	6
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	13	15	14	14	14	9	7
<i>Serratia odorifera</i>	20	13	15	13	14	9	0
<i>Raoultella terrigena</i>	11	6	10	7	8	10	0

Résultats et discussion

Ces résultats sont aussi représentés et exemplifiés dans le graphique suivant (**figure 20**) :

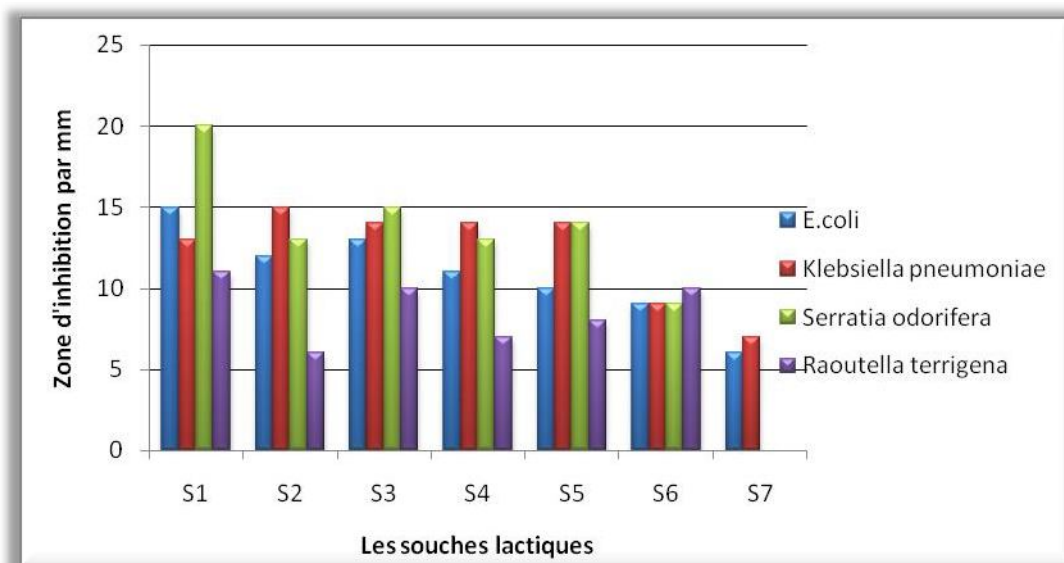


Figure 20 : Diamètres des zones d'inhibition exercés par les souches lactiques sur les souches indicatrices à Gram négatif par la méthode des spots.

Les deux tableaux précédents (08) et (09) représentent les résultats obtenus par le test des spots. Ils montrent clairement que les sept souches lactiques utilisées ont une activité inhibitrice contre les souches indicatrices à Gram positif et à Gram négatif.

Les souches isolées S1, S2, S3, S4, S5, S6 et S7 sont plus actives vis-à-vis des bactéries pathogènes à Gram positif que celles à Gram négatif.

Concernant les bactéries à Gram positif, les activités les plus prononcées sont effectuées par la souche S1 envers *B. cereus* ATCC 14579 et par la souche S4 envers *Micrococcus luteus* ATCC 4698, par des zones d'inhibition de 18 mm chacune.

Par contre, les activités les plus faibles sont effectuées par la souche S3 et S4 contre *Aspergillus fumigatus* LB22, ainsi que la souche S5 contre *Micrococcus luteus* ATCC 4698, par des zones d'inhibition à l'ordre de 9, 8 et 9 mm respectivement.

Dans le cas des bactéries à Gram négatif, *Serratia odorifera* s'est avérée être la plus sensible à l'activité de la souche S1, par une zone de lyse de 20 mm de diamètre. Par contre, elle a été résistante à l'effet inhibiteur de la souche S7.

Résultats et discussion

En outre, des zones d'inhibitions importantes de 15 mm ont été remarquées vis-à-vis d'*E.coli* ATCC 25922 par la souche S1, *K. pneumoniae* par la souche S2 et envers *Serratia odorifera* par la souche S3.

Cependant, l'activité de la souche S7 s'est avérée la plus faible, où on a obtenu des zones d'inhibition de 6 et 7 mm de diamètre contre *E.coli* ATCC 25922 et *K. pneumoniae*. Par contre, elle a été inactive envers *Serratia odorifera* et *Raoultella terrigena*.

Enfin, on remarque que les souches S2, S5 et S7 n'exercent aucune inhibition vis-à-vis de la souche fongique *Aspergillus fumigatus* LB22.

L'activité antagoniste de 7 souches de bactéries lactiques isolées a été mise en évidence par l'inhibition de la croissance bactérienne des souches cibles testées selon la technique de diffusion en puits et la méthode des spots.

Concernant la variabilité de l'effet antimicrobien des souches isolées, (**Schillinger et Lucke, 1989**) ont remarqué une différence dans l'effet antimicrobien selon la méthode utilisée.

D'après les résultats obtenus par le test des puits, on remarque que les surnageants des souches de lactobacilles isolées, neutralisés à pH= 6,5 ont inhibé seulement la croissance de *S. aureus* ATCC 25923 ; où on a enregistré des zones d'inhibition de l'ordre de 4, 7, 4, 6 et 5 mm par les souches S1, S3, S4, S5 et S6 respectivement. Des résultats similaires ont été observés par (**Zouari et Benaarfa, 2018**) et par (**Izerghouf et Habhoub, 2021**).

Toutefois les autres lactobacilles ainsi qu'*Enterococcus faecium* n'ont montré aucune activité vis-à-vis des autres pathogènes. Ces résultats sont en contradiction avec ceux de (**Mechai et Kirane, 2008**) et (**Daoudi et Khelif, 2018**) qui ont démontré la présence d'une activité antimicrobienne. Ils ont observé des degrés variables d'inhibition de divers microorganismes pathogènes par des surnageants de culture de bactéries lactiques. Dans le cas de (**Mechai et Kirane, 2008**), ils ont obtenu des zones de lyse importantes contre *Listeria monocytogenes* supérieures à 10 mm effectuées par *Lactobacillus plantarum* et *Lactobacillus brevis*.

(**Song et Richard, 1997**) ont rapporté que la résistance de *Listeria* aux bactériocines est due principalement à la composition chimique de la membrane.

Résultats et discussion

Pour la souche *Micrococcus luteus* ATCC 4698, nos résultats se concordent avec ceux de **(Izerghouf et Habhoub, 2021)**, aucun pouvoir antimicrobien n'a été observé.

Selon Labioui *et al* **(2005)**, l'activité antimicrobienne diffère d'une souche de *Lactobacillus* à l'autre. L'absence d'activité antimicrobienne ne signifie pas forcément que la substance est absente ou pas assez active, mais cela peut être dû à une mauvaise diffusion de celle-ci, dans le milieu, car n'étant pas polaire ou bien constituée de composés non polaires.

Quant aux résultats de test d'antagonisme obtenus par la méthode des spots, on observe que la majorité des souches lactiques présentent une activité inhibitrice avec des degrés variables d'inhibition plus ou moins prononcés. Ces résultats indiquent que les souches lactiques sont capables de synthétiser des substances inhibitrices ayant une activité antimicrobienne et ne présentent pas le même spectre d'action vis-à-vis de ces pathogènes. La majorité sont actives contre les souches indicatrices à Gram positif mais pas contre toutes les bactéries indicatrices à Gram négatif et la souche fongique ; on a observé que la souche S7 est totalement inactive vis-à-vis de *Serratia odorifera* et *Raoultella terrigena*. De plus, les souches S2, S5 et S7 sont inactives vis-à-vis de l'*Aspergillus fumigatus* LB22 (aucune zone d'inhibition).

Nos résultats se rapprochent de ceux cités par plusieurs études menées dans le même contexte que le nôtre et réalisées sur des produits laitiers tels que les laits crus, les fromages et les yaourts comme **(Belhamra, 2017)**, **(Mermouri, 2018)**, **(Deffous *et al.*, 2017)** et **(Izerghouf et Habhoub, 2021)**.

Selon Lewis *et al* **(1991)**, l'absence des zones d'inhibition par la méthode de spot peut être à l'origine de plusieurs facteurs, notamment l'agrégation des molécules de bactériocines entre elles, l'hydrolyse des bactériocines par des protéases non spécifique et une faible concentration en bactériocines dans le surnageant sous l'effet de la dilution.

Cependant, presque toutes ces BL ont une activité antimicrobienne importante envers *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, dont l'intervalle des diamètres des zones d'inhibition est compris entre 11 et 15 mm. On remarque que la souche lactique S2 présente l'activité la plus importante avec un diamètre de zone d'inhibition de 15 mm.

Nos résultats sont en cohésion avec ceux trouvés par **(Khodja, 2017)**, qui a trouvé des zones d'inhibition entre 12 et 16 mm de diamètre.

Résultats et discussion

En revanche, ils sont inférieurs à ceux de **(Rahmeh et al., 2019)**, qui ont obtenu des zones d'inhibition assez importantes de 13 mm par *Lb. reutri*, 18 mm par *Lb. brevis*, 20 mm par *Lb. Plantarum* et 34.7 mm par *En. faecium*.

(Belhamra, 2017) a trouvé que *Staphylococcus aureus* est la plus sensible à l'action des bactéries lactiques avec un diamètre compris entre 30,5 à 43,5mm. Ces inhibitions peuvent être dues à une variété des substances inhibitrices produites par les bactéries lactiques.

Les résultats les plus faibles de l'effet antagoniste sont obtenus par **(Heikkila et al., 2003)** par des bactéries isolées à partir de lait maternel, dont le diamètre des zones d'inhibition est compris entre 1 et 2 mm.

D'après **(Leonard, 2013)**, l'effet bactéricide des souches lactiques peut être attribué à divers facteurs comme la compétition nutritionnelle et pour l'espace ainsi la production d'un ensemble de métabolites possédant des propriétés antimicrobiennes. Ces métabolites sont des acides organiques (principalement l'acide lactique), le peroxyde d'hydrogène, le dioxyde de carbone, le diacétyle, la reutéline et les bactériocines. Le métabolite antimicrobien que produisent toutes les bactéries lactiques est l'acide lactique, ce métabolite modifie le pH du milieu et peut avoir une influence sur les bactéries pathogènes telle que *Staphylococcus aureus*.

(Charlier et al., 2009 ; COMA et al., 2001) montrent que le potentiel antagoniste de bactéries lactiques peut également être attribué à la production de bactériocines qui sont actives contre *S. aureus*.

Contrairement aux résultats obtenus par la technique de diffusion en puits, on remarque que la souche *Micrococcus luteus* ATCC 4698 présente des zones d'inhibition importantes par la méthode des spots de l'ordre de 15, 14, 15, 18, 9, 15 et 17 mm par les souches S1, S2, S3, S4, S5, S6 et S7 respectivement.

Nos résultats se rapprochent à ceux de **(Izergouf et Habhouf, 2021)** qui ont obtenu des zones d'inhibition allant de 13 à 24 mm.

Le test d'antagonisme des sept souches lactiques contre *Bacillus cereus* ATCC 14579 a révélé une forte activité inhibitrice avec des zones d'inhibition allant de 10 à 18 mm. La zone la plus importante de 18 mm est effectuée par la souche S1.

Résultats et discussion

Nos résultats sont inférieurs à ceux de **(Belhamra, 2017)**, qui a trouvé des diamètres d'inhibition allant de 28,5 à 41mm par *Lactobacillus plantarum* ainsi qu'aux résultats de **(Izerghouf et Habhoub, 2021)**.

(Guertarni, 2018) a rapporté que les bactéries lactiques isolées de différents milieux (lait de vache cru, selles des enfants, lait de brebis et de chèvre) ont démontré un effet inhibiteur des souches pathogènes responsables des maladies diarrhéiques telles que *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Raoultella terrigena* et *Serratia odorifera*. Ces recherches sont semblables à notre étude dont on a remarqué après la mise en évidence de l'activité antagoniste par la méthode de spot, que nos souches lactiques exercent une activité qu'on peut dire importante sur les bactéries à Gram négatif.

On peut dire que les diamètres des zones d'inhibition d'*E.coli* ATCC 25922 sont importants pour la majorité des souches lactiques. Ils sont compris entre 6 et 15 mm, on remarque un diamètre plus élevé par les deux souches S1 et S3 de l'ordre de 15 et 13 mm.

Nos résultats sont inférieurs à ceux de **(Rahmeh et al., 2019)** qui ont trouvé une activité importante de 17 mm par *Lb. brevis*, 21.7 mm par *Lb. reutri*, 24 mm par *Lb. plantarum* et 35mm par *En. faecium*. Par contre, ils sont en accord avec ceux de **(Alouane et Belkadi, 2019)** et supérieurs à ceux de **(Azhar et al., 2015)**, qui ont trouvé des zones d'inhibition plus réduites de 0.81 à 2.5 mm par l'isolement de 128 souches lactiques à partir de centaines d'échantillons de saucisses collectés dans différents supermarchés.

D'après **(Mami et al., 2012)**, la production d'acide lactique, de l'acide acétique et la diminution consécutive du pH sont de loin les plus importants facteurs d'inhibition. Dans une étude menée par **(Mami, 2013)**, il est suggéré que l'inhibition de l'espèce de *Lactobacillus plantarum* à l'égard de souche pathogène *E. coli* est attribuée à des bactériocines **(Taylor, 2005)** a montré qu'*E. coli* est inhibée par l'acide lactique à pH 5,1. Une étude de **(Antonio et al., 1999)** a montré que la production d'acide lactique, d'H₂O₂, de bactériocines et d'autres substances antimicrobiennes par les lactobacilles contribuent, avec le maintien d'un pH acide inférieur à 4,5 à produire un effet barrière réduisant fortement les risques d'infection **(Izerghouf et Habhoub, 2021)**.

Cependant, les souches S1, S2 et S3 présentent une activité plus prononcée à l'égard d'Enterobacter (*Klebsiella pneumoniae* et *Raoultella terrigena*) avec des diamètres de zone

Résultats et discussion

d'inhibition dans l'intervalle de 7 à 15 mm et 6 à 11mm. La souche S2 est considérée la plus active avec 15mm de diamètre contre *Klebsiella pneumoniae*.

Nos résultats sont en contradiction à ceux de **(Bouzaid *et al.*, 2016)** qui ont eu une activité nulle contre *K.pneumoniae* par les lactobacilles isolés de deux biotopes (lait cru de vache et viande hachée de dromadaire) et inférieurs à ceux de **(Alouane et Belkadi, 2019)** qui ont montré que les lactobacilles ont un effet antagoniste sur *K. pneumoniae* avec des zones d'inhibition qui varient entre 26 et 39mm.

Selon Gaamouche *et al* **(2014)**, l'inhibition de ce type de bactéries peut probablement être due au pouvoir acidifiant élevé des bactéries lactiques, ainsi la production d'autre type des acides organiques qui vont diffuser vers le cytoplasme et modifier son pH donc la mort de la cellule cible.

A noter que l'effet des souches lactiques qui représentent une activité antimicrobienne bien distinct à l'égard des souches pathogènes utilisées dans le test des spots est dû soit à la concentration des substances, soit à la résistance de ces souches cibles à ces substances **(Alouane et Belkadi, 2019)**.

Parmi les quatre bactéries à Gram négatif qu'on a utilisé (*E.coli* ATCC 25922, *K.pneumonia*, *Raoultella terrigena* et *Serratia odorifera*), c'est la souche *Serratia odorifera* qui a été la plus sensible envers l'activité antagoniste des souches lactiques et plus précisément par la souche S1 avec une zone d'inhibition de 20mm. En revanche, la souche S7 n'a montré aucune activité inhibitrice envers cette dernière et notamment envers *Raoultella terrigena*.

La croissance des bactéries à Gram négatif en présence des bactéries lactiques antagonistes peut être due principalement à la présence d'une membrane externe qui constitue une véritable barrière et empêche les bactériocines à d'atteindre la membrane interne **(Mekri, 2016)**.

Les résultats de l'activité antifongique ont démontré que seulement les souches lactiques S1, S3, S4 et S6 sont capables de produire des substances inhibitrices dirigées contre *Aspergillus fumigatus* LB22 avec un diamètre d'inhibition de l'ordre de 12, 9, 8 et 12 mm.

Selon Delavenne **(2012)**, les activités antifongiques retrouvées chez les bactéries lactiques sont souvent des souches dépendantes. Néanmoins, certains genres et espèces semblent


Résultats et discussion

plus actifs que d'autres. Le genre *Lactobacillus* est le plus retrouvé dans les travaux sur la recherche d'activités antifongiques des bactéries lactiques.

L'activité antifongique des bactéries lactiques n'est pas encore totalement élucidée, les molécules impliquées et mécanisme d'action non plus. Il s'agit de métabolites primaires et secondaires issus de la fermentation et des différentes voies de dégradation utilisées par les bactéries lactiques. Cependant, selon Crowley *et al* (2013), les bactéries lactiques produisent de nombreux métabolites antifongiques tels que les acides organiques, le diacétyle, les antimycotiques bioactifs, peptides, acides gras, acides carboxyliques, bactériocines, peroxyde d'hydrogène, lactones, alcools, CO₂ et la reutérine qui ont la capacité d'inhiber la croissance fongique. Elles peuvent aussi dégrader les mycotoxines telles que ; les ochratoxines, les aflatoxines et les toxines de *Fusarium* (Izerghouf et Habhoub, 2021).

Les variations des zones d'inhibition sont dues au fait qu'une souche de *Lactobacillus* peut produire plusieurs molécules antimicrobiennes (différents spectres d'action) dont la nature dépend de la composition du milieu de culture (Alouane et Belkadi, 2019).

Pour conclure on remarque que dans notre cas, l'activité inhibitrice des *Lactobacillus* et *Enterococcus* était plus importante envers les bactéries à Gram positif contrairement aux résultats de (Alouane et Belkadi, 2019), qui ont constaté qu'ils ont une activité inhibitrice sur les bactéries à Gram négatif nettement supérieure à celle observée contre les pathogènes à Gram positif.

A decorative border resembling a scroll, with a horizontal top edge that curls up at the right end, and a vertical left edge that curls down at the bottom end.

Conclusion

Conclusion

Conclusion et perspectives

Les bactéries lactiques se comportent comme d'excellents ambassadeurs d'un monde microbien souvent calomnié. L'un des intérêts de recherche sur ces dernières est de développer une stratégie permettant de limiter la croissance des germes indésirables afin de prolonger la date limite des produits alimentaires sans qu'ils ne perdent leurs valeurs nutritives et leurs qualités organoleptiques.

Le but de notre travail consiste à vérifier l'effet inhibiteur des bactéries lactiques vis-à-vis de quelques bactéries pathogènes à Gram positif et négatif multi résistantes aux antibiotiques.

L'activité antagoniste des sept bactéries lactiques sélectionnées est mise en évidence vis-à-vis de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Micrococcus luteus* ATCC 4698, *Listeria monocytogenes* ATCC 7644, *Bacillus cereus* ATCC 14579, *Aspergillus fumigatus* LB22, *E.coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae*, *Raoultella terrigena* et *Serratia odorifera*.

Les résultats obtenus par la méthode des spots ont révélé que la majorité des isolats produisent et excrètent des substances inhibitrices capables d'inhiber la croissance et la prolifération des souches pathogènes et fongiques testées. Par contre ceux obtenus par la méthode des puits ont indiqué que seulement *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 a été sensible à l'effet inhibiteur. Cependant l'absence de l'activité antimicrobienne ne signifie pas forcément que la substance est absente ou pas assez active, mais cela peut être dû à une mauvaise diffusion de celle-ci dans le milieu.

L'activité inhibitrice des bactéries lactiques serait probablement due à la synergie entre les différents métabolites : les acides organiques, le diacétyle, le peroxyde d'hydrogène et les bactériocines.

Les résultats obtenus par la présente étude restent préliminaires, ils doivent être complétés par une série d'autres tests à savoir :

➤ Il serait intéressant d'approfondir les investigations physico-chimiques et biologiques sur ces souches afin d'isoler les molécules responsables des activités observées (thermo- stabilité, sensibilité aux enzymes protéolytiques, glycolytique et lipolytiques, activité à différents pH, sensibilité aux détergents).

Conclusion

- Rechercher la nature exacte des facteurs inhibiteurs (l'acide lactique, peroxyde d'hydrogène, bactériocines).
- Elargir l'étude de l'activité sur d'autres bactéries à Gram positif et négatif.
- L'étude des mécanismes d'action de ces différentes souches.

A decorative border resembling a scroll, with a horizontal top edge, a vertical left edge, and a horizontal bottom edge. The top-left and bottom-left corners are rolled up, and the top-right corner is rounded. The text is centered within this frame.

Références bibliographiques

[Références bibliographiques]

Références bibliographiques

Agriopoulou, S., Stamatelopoulou, E., Sachadyn-Król, M., Varzakas, T. (2020). Lactic acid bacteria as antibacterial agents to extend the shelf life of fresh and minimally processed fruits and vegetables: Quality and safety aspects. *Microorganisms*, 8(6), 952. Disponible sur : <https://doi.org/10.3390/microorganisms8060952>. Consulté le : 10/02/2023.

Alouane, L., Belkadi, S. (2019). Etude de l'activité antibactérienne de certaines souches de bactéries lactiques vis-à-vis des bactéries pathogènes résistantes aux antibiotiques. Mémoire de Master : Biotechnologie microbienne. Bouira : Université Akil Mohand Oulhadj, 136 p. Disponible sur : <http://dspace.univ-bouira.dz:8080/jspui/handle/123456789/5320>. Consulté le : 13/05/2023.

Antonio, M. A., Hawes, S. E., Hillier, S. L. (1999). The identification of vaginal *Lactobacillus* species and the demographic and microbiologic characteristics of women colonized by these species. *Journal of Infectious Diseases*, 180(6), 1950-1956. Disponible sur : <https://doi.org/10.1086/315109>. Consulté le : 10/05/2023.

Arena, M. P., Capozzi, V., Russo, P., Drider, D., Spano, G., Fiocco, D. (2018). Immunobiosis and probiosis: antimicrobial activity of lactic acid bacteria with a focus on their antiviral and antifungal properties. *Applied microbiology and biotechnology*, 102, 9949-9958. Disponible sur: <https://doi.org/10.1007/s00253-018-9403-9>. Consulté le : 15/03/2023.

Atya, A., Khassaf, A. (2016). Recherche et caractérisation de nouveaux peptides antimicrobiens à partir de bactéries lactiques isolées du meconium. Thèse de Doctorat : Ingénierie Des Fonctions Biologiques. Lille : Université de L'ille 1, 157 p. Disponible sur : <https://pepite-depot.univ-lille.fr/LIBRE/EDSMRE/2016/50376-2016-Alatya.pdf>. Consulté le: 27/02/2023.

Axelsson, L., (2004). Lactic acid bacteria. *In*: Salminen, S., Von Wright, A., Ouwehand, A. *Lactic acid bacteria: Microbiological and functional aspects*. 3ème Edition. Boca Raton : CRC Printp. 1-66. Disponible sur : <https://doi.org/10.1201/9780824752033>. Consulté le : 03/03/2023.

Ayivi, R. D., Gyawali, R., Krastanov, A., Aljaloud, S. O., Worku, M., Tahergorabi, R., Ibrahim, S. A. (2020). Lactic acid bacteria: Food safety and human health applications. *Dairy*, 1(3), 202-232. Disponible sur: <https://doi.org/10.3390/dairy1030015>. Consulté le : 05/03/2023.

[Références bibliographiques]

- Azhar, M., Hasan, A., Lubna, M.I. E. (2015). Effect of lactic acid producing bacteria on some potential pathogens in sausage. *Assiut Veterinary Medical*, 61(144), 240-247. Disponible sur : <https://doi.org/10.21608/AVMJ.2015.170043>. Consulté le : 20/05/2023.
- Balciunas, E. M., Martinez, F. A. C., Todorov, S. D., de Melo Franco, B. D. G., Converti, A., de Souza Oliveira, R. P. (2013). Novel biotechnological applications of bacteriocins. *Food Control*, 32(1), 134-142. Disponible sur : <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2012.11.025>. Consulté le : 20/04/2023.
- Barcenilla, C., Ducic, M., López, M., Prieto, M., Álvarez-Ordóñez, A. (2022). Application of lactic acid bacteria for the biopreservation of meat products. *Meat Science*, 183, 108661. Disponible sur : <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2021.108661>. Consulté le : 16/04/2023.
- Barefoot, S. F., Klaenhammer, T. R. (1984). Purification and characterization of the *Lactobacillus acidophilus* bacteriocin lactacin B. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 26(3), 328-334. Disponible sur : <https://doi.org/10.1128/aac.26.3.328>. Consulté le 13/04/2023.
- Belarbi, F. (2011). Isolement et sélection des souches de bactéries lactiques productrices des métabolites antibactériens. Mémoire de magister : Microbiologie Alimentaire et Industrielle. Oran : Université d'Oran1-Ahmed Ben Bella, 130 p. <https://www.pnst.cerist.dz/detail.php?id=56655/>. Consulté le 27/02/2023.
- Belhamra, Z. (2017). Croissance et survie des probiotiques en présence des édulcorants et des additifs alimentaires. Thèse de Doctorat : Microbiologie. Sétif : Université Ferhat Abbas de Sétif 1, 147 p. Disponible sur : <http://dspace.univ-setif.dz:8888/jspui/bitstream/123456789/1146/1/Th%C3%A8se%20BELHAMRA%20Zineb.pdf>. Consulté le : 14/05/2023.
- Bendimerad, N. (2013). Caractérisation phénotypique technologique et moléculaire d'isolats de bactéries lactiques de laits crus recueillis dans les régions de l'Ouest Algérien. Essai de fabrication de fromage frais type « Jben ». Thèse de Doctorat : Microbiologie, Microbiologie Alimentaire. Tlemcen : Université Aboubeker Belkaid de Tlemcen Algérie, 255 p. Disponible sur : <http://dspace.univ-tlemcen.dz/bitstream/112/2036/1/Doctorat-Bendimerad-Nahida.pdf>. Consulté le : 05/04/2023.
- Benmouna, Z. (2019). Etude de bactériocines de bactéries lactiques et leurs effets sur les bactéries pathogènes et/ou d'altération. Thèse de Doctorat : Biotechnologie ; Ecosystèmes

[Références bibliographiques]

Microbien Complexes. Oran : Université Ahmed Ben Bella d'Oran 1, 219 p. Consulté le : 02/04/2023.

Benreguieg, M. (2015). Propriétés antibactériennes et probiotiques de bactéries lactiques isolées à partir du Lait de vache, de chèvre et de brebis dans la région de l'ouest algérien. Thèse de Doctorat : Microbiologie. Mostaganem : Université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem, 181 p. Disponible sur : <http://e-biblio.univ-mosta.dz/bitstream/handle/123456789/1110/CD5.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Consulté le : 03/03/2023.

Bouguerra, A. (2021). Evaluation du potentiel probiotique des souches lactiques isolées à partir du lait de chamelle. Thèse de Doctorat : Microbiologie. Sétif : Université Ferhat Abbas de Sétif 1, 141 p. Disponible sur : <http://dspace.univ-setif.dz:8888/jspui/bitstream/123456789/3785/1/bouguerra%20th%c3%a8se%20finale.pdf>. Consulté le : 26/03/2023.

Boumediene, K. (2013). Recherche des bactéries lactiques productrices des bactériocines et l'étude de leur effet sur des bactéries néfastes. Mémoire de Magister en Biologie : Maitrise de la Qualité Microbiologique et du Développement Microbien. Tlemcen : Université Abou Bekr Belkaïd de Tlemcen, 80 p. Disponible sur : <http://dspace.univ-tlemcen.dz/bitstream/112/6435/1/BOUMEDIENE%20Karima.pdf>. Consulté le : 06/04/2023.

Bouzaid, M., Chatoui, R., Latrache, H., Hasib, A. (2016). Activité antimicrobienne des souches de bactéries lactiques isolées de viande hachée de dromadaire et du lait cru de vache (Maroc). Revue de Microbiologie industriel, sanitaire et environnemental, 10(1), 1-12. Disponible sur : https://www.researchgate.net/publication/308174453_ACTIVITE_ANTIMICROBIENNE_DES_SOUCHES_DE_BACTERIES_LACTIQUES_ISOLEES_DE_VIANDE_HACHEE_DE_DROMADAIRE_ET_DU_LAIT_CRU_DE_VACHE_MAROC. Consulté le : 13/05/2023.

Čanak, I., Markov, K., Melvan, E., Starčević, A., Živković, M., Zdravec, M., Frece, J. (2018). Isolation and characterisation of *L. plantarum* O1 producer of plantaricin as potential starter culture for the biopreservation of aquatic food products. Food technology and biotechnology, 56(4), 581. Disponible sur: <https://doi.org/10.17113/ftb.56.04.18.5707>. Consulté le: 05/03/2023.

Canon, F., Nidelet, T., Guédon, E., Thierry, A., Gagnaire, V. (2020). Understanding the mechanisms of positive microbial interactions that benefit lactic acid bacteria co-

[Références bibliographiques]

- cultures. *Frontiers in Microbiology*, 11, 2088. Disponible sur : <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.02088>. Consulté le : 10/02/2023.
- Chaalel, A. (2016). Les substances antagonistes (i.e Bactériocines) produites par une souche de *Lactobacillus rhamnosus* et une souche de *Lactobacillus plantarum*: caractérisation biochimique et effets *in vitro* attendus chez quelques germes responsables de toxi-infections. Thèses de doctor : Biotechnologie et santé. Mostaganem : Université Adelhamide Benbadis, 146 p. Disponible sur : <http://e-biblio.univ-mosta.dz/handle/123456789/1111>. Consulté le : 20/05/2023.
- Charlier, C., Cretenet, M., Even, S., Le Loir, Y. (2009). Interactions between *Staphylococcus aureus* and lactic acid bacteria: an old story with new perspectives. *International journal of food microbiology*, 131(1), 30-39. Disponible sur: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2008.06.032>. Consulté le : 20/05/2023.
- Chung, H. J., Montville, T. J., Chikindas, M. L. (2000). Nisin depletes ATP and proton motive force in mycobacteria. *Letters in applied microbiology*, 31(6), 416-420. Disponible sur: <https://doi.org/10.1046/j.1472-765x.2000.00840.x>. Consulté le : 20/03/2023.
- Coma, V., Pardon, I.S.P., Deschamps, A., Pichavant, F.H. (2001). Antimicrobial Edible Packaging Based on Cellulosic Ethers, Fatty Acids, and Nisin Incorporation To Inhibit *Listeria innocua* and *Staphylococcus aureus*. *Journal of Food Protection*, Vol. 64(4), 470–475. Disponible sur : https://www.researchgate.net/publication/12026473_Antimicrobial_Edible_Packaging_Based_on_Cellulosic_Ethers_Fatty_Acids_and_Nisin_Incorporation_To_Inhibit_Listeria_innocua_and_Staphylococcus_aureus. Consulté le: 13/05/2023.
- Crowley, S., Bottacini, F., Mahony, J., Van Sinderen, D. (2013). Complete genome sequence of *Lactobacillus plantarum* strain 16, a broad-spectrum antifungal-producing lactic acid bacterium. *Genome Announcements*, 1(4), e00533-13. Disponible sur : <https://doi.org/10.1128/genomea.00533-13>. Consulté le : 15/05/2023.
- Cui, Y., Luo, L., Wang, X., Lu, Y., Yi, Y., Shan, Y., Lü, X. (2021). Mining, heterologous expression, purification, antibactericidal mechanism, and application of bacteriocins. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 20(1), 863-899. Disponible sur: <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12658>. Consulté le : 10/04/2023.

[Références bibliographiques]

- Daoudi, H., Khelif, C. (2018). Contribution à l'étude de l'activité antimicrobienne des bactéries lactiques isolées à partir du lait cru. Mémoire de Master : Biochimie : Biochimie. El-Oued : Université Echahid Hamma Lakhdar de El Oued, 104 p. Disponible sur: <http://dspace.univ-eloued.dz/handle/123456789/739>. Consulté le : 17/05/2023.
- De Man, J. C., Rogosa, M., Sharpe, M. E. (1960). A medium for the cultivation of lactobacilli. *Journal of Applied Microbiology*, 23(1), 130-135. Disponible sur : <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.1960.tb00188.x>. Consulté le 01/04/2023.
- Deffous, S., Foughalia, Z., Ait Meddour, A. E. (2017). Étude de l'activité antibactérienne et d'adhésion des souches de bactéries lactiques. Mémoire de Master : Microbiologie Appliquée. Jijel : université Mohammed Seddik ben Yahia de Jijel, 77 p. Disponible sur : <http://dspace.univ-jijel.dz:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/1994/M-MB-01-17.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Consulté le : 17/05/2023.
- Delavenne, E. (2012). Propriétés antifongiques de bactéries lactiques isolées de laits crus. Thèse de doctorat : Microbiologie. Bretagne : Université de Bretagne occidentale Brest, 212 p. Disponible sur : <https://theses.hal.science/tel-02358823/document>. Consulté le: 14/05/2023.
- Dembélé, T., Obdrálek, V., Votava, M. (1998). Inhibition of bacterial pathogens by lactobacilli. *Zentralblatt für Bakteriologie*, 288(3), 395-401. Disponible sur : [https://doi.org/10.1016/S0934-8840\(98\)80013-3](https://doi.org/10.1016/S0934-8840(98)80013-3). Consulté le : 01/05/2023.
- Elbanna, K., Abdalrahim, S., Zohri, A. N. A., Khider, M., Kamal El-Dean, A. M., Abulreesh, H. H., Ahmad, I. (2019). Phenotypic and genotypic characterization of exopolysaccharide producing bacteria isolated from fermented fruits, vegetables and dairy products. *J. Pure Appl. Microbiol*, 13, 1349-1362. Disponible sur : <https://doi.org/10.22207/JPAM.13.3.06>. Consulté le : 18/02/2023.
- Fernandez, B. (2014). Activité biologique et impact sur le microbiote intestinal des bactéries lactiques bactériocinogènes. Thèse de Doctorat : sciences et technologies des aliments. Québec, Canada : Université Laval, 143 p. Disponible sur : <https://www.collectionscanada.gc.ca/obj/thesescanada/vol2/QQLA/TC-QQLA-30845.pdf>. Consulté le : 29/03/2023.
- Fessard, A. (2017). Recherche de bactéries lactiques autochtones capables de mener la fermentation de fruits tropicaux avec une augmentation de l'activité antioxydante. Thèse de

[Références bibliographiques]

- Doctorat : Science agricole. France, Université de la Réunion, 174 p. Disponible sur : <https://theses.hal.science/tel-01974108/document>. Consulté le : 22/03/2023.
- Fleming, H. P., Etchells, J. L., Costilow, R. N. (1975). Microbial inhibition by an isolate of *Pediococcus* from cucumber brines. *Applied microbiology*, 30(6), 1040-1042. Disponible sur : <https://doi.org/10.1128/am.30.6.1040-1042.1975>. Consulté le : 05/04/2023.
- Fugaban, J. I. I., Holzapfel, W. H., Todorov, S. (2022). The Overview of natural by-products of beneficial lactic acid bacteria as promising antimicrobial agents. *Applied Food Biotechnology*, 9(2), 127-143. Disponible sur: <https://doi.org/10.22037/afb.v9i2.37544>. Consulté le : 23/04/2023.
- Gaamouche, S., Arakrak, A., Bakkali, M., Laglaoui, A. (2014). Antimicrobial activity of lactic acid bacteria and bacteriocins isolated from a traditional brine table olive against pathogenic bacteria. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci*, 3(11), 657-666. https://www.researchgate.net/publication/325575709_Antimicrobial_activity_of_lactic_acid_bacteria_and_bacteriocins_isolated_from_a_traditional_brine_table_olives_against_pathogenic_bacteria. Consulté le: 15/05/2023.
- García-Díez, J., Saraiva, C. (2021). Use of starter cultures in foods from animal origin to improve their safety. *International journal of environmental research and public health*, 18(5), 2544. Disponible sur: <https://doi.org/10.3390/ijerph18052544>. Consulté le : 13/04/2023.
- Guetarni, H. (2018). Les probiotiques et leur métabolite : une alternative de traitement des pathologies gastro-intestinales systèmes agraires et environnement. 2 (2) :11-22. Disponible sur : <https://www.asjp.cerist.dz/en/article/67250>. Consulté le : 20/03/2023.
- Hadef, S. (2012). Evaluation des aptitudes technologiques et probiotiques des bactéries lactiques locales. Mémoire de magister : Microbiologie appliquée. Ouargla : Université Kasdi Merbah-Ouargla, 135 P. Disponible sur : https://dspace.univ-ouargla.dz/jspui/bitstream/123456789/500/1/Hadef_Sawsen.pdf.
- Hadef, S., Idoui, T., Sifour, M., Genay, M., Dary-Mouroto, A. (2023). Screening of Wild Lactic Acid Bacteria from Algerian Traditional Cheeses and Goat Butter to Develop a New Probiotic Starter Culture. *Probiotics Antimicrob Proteins*, 15(2) :387-399. <https://doi.org/10.1007/s12602-022-10000-2>. Consulté le : 23/05/2023.

[Références bibliographiques]

Hammi, I. (2016). Isolement et caractérisation de bactériocines produites par des souches de bactéries lactiques isolées à partir de produits fermentés marocains et de différentes variétés de fromages français. Thèse de Doctorat : chimie analytique. Strasbourg : Université de Strasbourg, 149 p. Disponible sur : <https://theses.hal.science/tel-01508549/document>. Consulté le : 20/05/2023.

Harle, O. (2020). Identification des interactions positives entre bactéries lactiques en fermentation de jus de soja. Thèse de Doctorat : Biochimie, biologie moléculaire. France : Agrocampus Ouest, 217 p. Disponible sur : <https://hal.inrae.fr/tel-03135726v2/document>. Consulté le : 13/02/2023.

Hassan, H. (2020). Rôle potentiel des cultures bioprotectrices et de leurs métabolites à activité antimicrobienne pour le contrôle de *Clostridium tyrobutyricum* dans les produits laitiers fermentés. Thèse de Doctorat : sciences et technologie des aliments. Québec, Canada : Université Laval, 169 p. Disponible sur : <https://corpus.ulaval.ca/server/api/core/bitstreams/eebfed8a-47b8-4cde-aba0-d09b39410e93/content>. Consulté le: 09/04/2023.

Heikkilä, M. P., Saris, P. E. J. (2003). Inhibition of *Staphylococcus aureus* by the commensal bacteria of human milk. *Journal of applied microbiology*, 95(3), 471-478. Disponible sur : <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2003.02002.x>. Consulté le : 14/05/2023.

Ibrahim, S. A., Ayivi, R. D., Zimmerman, T., Siddiqui, S. A., Altemimi, A. B., Fidan, H., Bakhshayesh, R. V. (2021). Lactic acid bacteria as antimicrobial agents: Food safety and microbial food spoilage prevention. *Foods*, 10(12), 3131. Disponible sur : <https://doi.org/10.3390/foods10123131>. Consulté le : 10/04/2023.

Izerghouf, T., Habhoub, S. (2021). Activité antimicrobienne et protéolytiques des bactéries lactiques isolées du lait et des produits laitiers fermentés. Mémoire de Master : Microbiologie Appliquée. Tebessa : Université Al-Chahid Laarbi Tebessi de Tebessa, 124 p. Disponible sur : <http://dspace.univ-tebessa.dz:8080/jspui/handle/123456789/806>. Consulté le : 20/05/2023.

Khodja, B (2018). Caractérisation phénotypique et moléculaire des souches de bactéries lactiques productrice de bactériocine. Thèse de Doctorat : Microbiologie Moléculaire et Protéomies. Sidi Bel Abbes : Université Djillalili Abes de Sidi Bel Abbes, 100 p. Disponible

[Références bibliographiques]

sur : http://rdoc.univ-sba.dz/bitstream/123456789/2001/3/D_Sbio_KHODJA_Badra.pdf.

Consulté le : 19/05/2023.

Klein, G., Pack, A., Bonaparte, C., Reuter, G. (1998). Taxonomy and physiology of probiotic lactic acid bacteria. *International journal of food microbiology*, 41(2), 103-125.

[https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(98\)00049-X](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(98)00049-X). Consulté le: 10/03/2023.

König, H., Fröhlich, J., (2017). Lactic acid bacteria. *In*: König, H., Fröhlich, J. Lactic acid bacteria: Biology of microorganisms on grapes. 2ème Edition. Suisse : Springer, p.3-41.

Disponible sur : https://doi.org/10.1007/978-3-319-60021-5_1. Consulté le : 17/03/2023.

Labioui. H., Elmoualdi. L., El Yachioui. M., Ouhssine. (2005). Selection de souches de bacteries lactique Antibacterienne. *Bull. Soc. Pharm, Bordeaux*.144, 237-250. Disponible sur :

<https://pascal-francis.inist.fr/vibad/index.php?action=getRecordDetail&idt=19954589>. Consulté

le : 20/05/2023.

Lamari, F. (2014). Utilisation de bactéries lactiques probiotiques pour prémunir les poissons d'élevage contre des vibrions pathogènes. Thèse de Doctorat : Biologie Marine. Brest :

Université De Bretagne Occidentale de Bretagne, 277 p. Disponible

sur : <https://theses.hal.science/tel-02107346>. Consulté le : 10/03/2023.

Leonard, L. (2013). Évaluation du potentiel bioprotecteur de bactéries lactiques confinées dans une matrice polymérique. Thèse de Doctorat : Sciences de l'Alimentation. France : Université de

Bourgogne, 319p. Disponible sur : [https://theses.hal.science/tel-](https://theses.hal.science/tel-01228979/file/these_A_LEONARD_Lucie_2013.pdf)

[01228979/file/these_A_LEONARD_Lucie_2013.pdf](https://theses.hal.science/tel-01228979/file/these_A_LEONARD_Lucie_2013.pdf). Consulté le : 14/05/2023.

Lewis C.B., Kaiser A., Montville T.J. (1991). Inhibition of food-borne bacterial pathogens by bacteriocins from lactic acid bacteria isolated from meat. *Appl. Environ. Microbiol.* 57 : 1683-

1688. Disponible sur : <https://journals.asm.org/doi/abs/10.1128/aem.57.6.1683-1688.1991>.

Consulté le: 15/05/2023.

Lorn, D. (2020). Screening of lactic acid bacteria for their use as aromatic starters during fermentation of vegetables. Thèse de Doctorat : Biochimie, Biotechnologie, Microbiologie.

France : Université de Bourgogne Franche-Comté, 158 p. Disponible sur :

<https://theses.hal.science/tel-03222972v1/document>. Consulté le : 03/04/2023.

[Références bibliographiques]

Makhloufi, K. M. (2011). Caractérisation d'une bactériocine produite par une bactérie lactique *Leuconostoc pseudomesenteroides* isolée du boza. Thèse de Doctorat : Microbiologie, Biochimie. Paris : Université Pierre et Marie Curie De Paris, 229 p. Disponible sur : https://theses.hal.science/tel-00678029/file/PhD_Thesis_Manuscript_KahinaMayaMAKHLOUFI.pdf. Consulté le : 14/04/2023.

Mami, A. (2013). Recherche des bacteries lactiques productrices de bactériocines à large spectre d'action vis à vis des germes impliqués dans les intoxications alimentaires. Thèse de Doctorat : Microbiologie Appliquée. Oran : Université Mohamed Boudiaf d'Oran, 176 p. Disponible sur : <https://www.pnst.cerist.dz/detail.php?id=30501>. Consulté le : 13/05/2023.

Mami, A., Boumehira, A., Hamedi, A., Henni, J., Kihal, M. (2012). Screening of autochthonous *Lactobacillus* species from Algerian raw goats' milk for the production of bacteriocin-like compounds against *Staphylococcus aureus*. African Journal of Biotechnology, 11(20), 4595-4607. Disponible sur: <https://doi.org/10.5897/AJB11.3542>. Consulté le : 15/05/2023.

Mechai, A. (2009). Isolement, caractérisation et purification de bactériocines produites par des bactéries lactiques autochtones : études physiologiques et biochimiques. Biochimie appliquée. Thèse de doctorat : Biochimie. Annaba : université Badji Mokhtar, 99 p. Disponible sur : <https://biblio.univ-annaba.dz/wp-content/uploads/2015/01/MECHAI-Abdelbasset.pdf>. Consulté le: 04/05/2023.

Mechai, A., Debabza, M., Zouari, S. (2020). Antagonistic activity of lactic acid bacteria isolated from Algerian traditional fermented milks against multi-drug resistant and β -lactamases-producing pathogenic bacteria. Research Journal of Biotechnology, 15 (4) :1-9. Disponible sur : https://www.researchgate.net/publication/341266187_Antagonistic_activity_of_lactic_acid_bacteria_isolated_from_Algerian_traditional_fermented_milks_against_multi-drug_resistant_and_beta-lactamases-producing_pathogenic_bacteria. Consulté le: 23/05/2023.

Mechai, A., Kirane, D. (2008). Antimicrobial activity of autochthonous lactic acid bacteria isolated from Algerian traditional fermented milk "Raïb". African Journal of Biotechnology, 7(16). Disponible sur: https://www.researchgate.net/publication/271198906_Antimicrobial_activity_of_autochthonous

[Références bibliographiques]

[lactic acid bacteria isolated from Algerian traditional fermented milk Raib](#). Consulté le : 13/05/2023.

Mekri, M. (2016). Effet de synergie des bactériocines issues des bactéries lactiques et pseudolactiques et des huiles essentielles d'*Inula viscosa* contre les germes pathogènes. Thèse de doctorat : Micro-organismes producteurs de métabolites secondaires et enzymes. Sidi Bel Abbès : Université Djillaliabbes de Sidi Bel Abbès, 205 p. Disponible sur : <https://www.theses-algerie.com/1937891153173412/these-de-doctorat/universite-djillali-liabes---sidi-bel-abbes/effet-de-synergie-des-bact%3%A9riocines-issues-des-bact%3%A9ries-lactiques-et-pseudo-lactiques-et-des-huiles-essentielles-d-inula-viscosa-contre-les-germes-pathog%3%A8nes>. Consulté le : 23/05/2023.

Mermouri, L. (2018). Étude de l'Effet de Souches Probiotiques de bactéries Lactiques (*Lactobacillus* spp) Isolées et Produits Fermentés sur la Valeur Nutritive de Fourrages Conservés par Ensilage. Thèse de doctorat : Biotechnologie Végétale. Oran : Université des Sciences et de la Technologie d'Oran Mohamed-Boudiaf, 177p. Disponible sur : <https://www.pnst.cerist.dz/detail.php?id=897405>. Consulté le : 18/05/2023.

Merzoug, M. (2017). Bactériocines produites par des bactéries lactiques isolées à partir de produits de terroir algérien. Thèse De Doctorat : Spécialité Écosystèmes microbiens complexes. Oran : Université Ahmed Ben Bella d'Oran, 177p. Disponible sur : <https://www.pnst.cerist.dz/detail.php?id=33507/>. Consulté le : 15/02/2023.

Metrouh, R. (2022). Caractérisation d'une collection de bactéries lactiques autochtones : étude des propriétés biotechnologiques et probiotiques. Thèse de Doctorat : Microbiologie Appliquée. Tebessa : Université Al-Chahid Chikh Larbi Tebessi de Tebessa, 185 p. Disponible sur : <http://dspace.univ-tebessa.dz:8080/jspui/bitstream/123456789/6292/1/Metrouh%20Roumaissa.pdf>. Consulté le : 05/05/2023.

Metrouh, R., Fares, R., Mechai, A., Debabza, M., Menasria, T. (2022). Technological properties and probiotic potential of *Lactiplantibacillus plantarum* SJ14 isolated from Algerian Traditional Cheese "Jben". Journal of Food Processing and Preservation, 46 (4): e16482. Disponible sur: <https://doi.org/10.1016/j.micres.2022.127289>. Consulté le : 23/05/2023.

[Références bibliographiques]

- Mora-Villalobos, J. A., Montero-Zamora, J., Barboza, N., Rojas-Garbanzo, C., Usaga, J., Redondo-Solano, M., López-Gómez, J. P. (2020). Multi-product lactic acid bacteria fermentations : Fermentation, 6(1), 23. Disponible sur : <https://doi.org/10.3390/fermentation6010023>. Consulté le : 01/03/2023.
- Mouley, M. (2018). Contribution à l'étude et la caractérisation des lactocoques indigènes isolés du lait cru de chèvre et les produits laitiers Algériens. Thèse de doctorat. Université d'Oran, 168 p. Disponible sur : <https://docplayer.fr/41611793-Theme-contribution-a-l-etude-et-la-caracterisation-des-lactocoques-indigenes-isoles-du-lait-cru-de-chevre-et-les-produits-laitiers-algeriens.html>. Consulté le : 23/05/2023.
- Moumene, M. (2015). Isolement et identification des bactéries lactiques et étude de l'effet antagoniste vis-à-vis des germes pathogènes. Thèse de doctorat : Santé, Eau et Environnement. Guelma : Université 8 Mai 1945-Guelma, 159 p. Disponible sur : <https://dspace.univ-guelma.dz/jspui/handle/123456789/425>. Consulté le : 15/03/2023.
- Moussa, D. M. (2021). Caractérisation de l'activité contre les bactéries à Gram-négatif. Expression hétérologue et étude de la relation structure activité des bactériocines produites par *Lacticaseibacillus paracasei* CNCM I-5369. Thèse de Doctorat : Biotechnologies agroalimentaires, sciences de l'aliment, physiologie. France : Université de Lille, 166 p. Disponible sur : https://theses.hal.science/tel-03917137/file/These_MADI_MOUSSA_Desire.pdf. Consulté le: 10/04/2023
- Negash, A. W., Tsehai, B. A. (2020). Current applications of bacteriocin. International Journal of Microbiology, 2020. Disponible sur : <https://doi.org/10.1155/2020/4374891>. Consulté le : 05/05/2023
- Ng, Z. J., Zarin, M. A., Lee, C. K., Tan, J. S. (2020). Application of bacteriocins in food preservation and infectious disease treatment for humans and livestock. RSC advances, 10(64), 38937-38964. Disponible sur : <https://doi.org/10.1039/D0RA06161A>. Consulté le : 29/04/2023.
- Ouiddir, M., Bettache, G., Leyva Salas, M., Pawtowski, A., Donot, C., Brahimi, S., Mabrouk, K., Coton, E., Mounier, J. (2019). Selection of Algerian lactic acid bacteria for use as antifungal bioprotective cultures and application in dairy and bakery products. Food Microbiol, 82 :160-170. Disponible sur : <https://doi.org/10.1016/j.fm.2019.01.020>. Consulté le : 22/05/2023.

[Références bibliographiques]

- Penaud, S. (2006). Analyse de la séquence génomique et étude de l'adaptation à l'acidité de *L.delbrueckii*ssp. *bulgaricus* ATCC 11842 .Thèse de doctorat : Agronomie. Paris : L'Institut National Agronomique de Paris-Grignon, 267 p. Disponible sur : <https://pastel.archives-ouvertes.fr/pastel-00002283v1/document>. Consulté le : 27/02/2023.
- Rahmeh, R., Akbar, A., Kishk, M., Al-Onaizi, T., Al-Azmi, A., Al-Shatti, A., Akbar, B. (2019). Distribution and antimicrobial activity of lactic acid bacteria from raw camel milk. *New Microbes and New Infections*, 30, 100560. Disponible sur : <https://doi.org/10.1016/j.nmni.2019.100560>. Consulté le : 15/05/2023.
- Saeed, A.H., Salam, A. I. (2013). Current limitations and challenges with lactic acid bacteria. *Food and Nutrition Sciences*, 2013. Disponible sur: <https://doi.org/10.4236/fns.2013.411A010>. Consulté le : 15/02/2023.
- Saidi, Y. (2020). Biodiversité de la microflore lactique du lait cru de dromadaire et évaluation de ses caractères technologiques. Thèse de Doctorat : Contrôle microbiologique et hygiène alimentaire. Oran : Université Ahmed Ben Bella d'Oran, 156 p. Disponible sur : https://digital.csic.es/bitstream/10261/223956/1/these_saidi_yasmine_2020.pdf. Consulté le : 13/04/2023.
- Saranraj, P., Naidu, M. A., Sivasakthivelan, P. (2013). Lactic acid bacteria and its antimicrobial properties. *Int J Pharm Biol Arch*, 4(6), 1124-1133. https://www.researchgate.net/profile/Saranraj-P/publication/261366482_Lactic_Acid_Bacteria_and_its_Antimicrobial_Properties_A_Review/links/5a28e93fa6fdcc8e8671cd77/Lactic-Acid-Bacteria-and-its-Antimicrobial-Properties-A-Review.pdf. Consulté le: 24/02/2023.
- Schillinger, U., Lücke, FK. (1989). Antibacterial activity of *Lactobacillus sake* isolated from meat. *Applied and environmental microbiology*, 55(8) : 1901-1906. Disponible sur : <https://doi.org/10.1128/aem.55.8.1901-1906.1989>. Consulté le : 20/05/2023.
- Schved, F., Lalazar, A., Lindner, P., Juven, B. J. (1994). Interaction of the bacteriocin produced by *Pediococcus acidilactici* SJ-1 with the cell envelope of *Lactobacillus* spp. *Letters in applied microbiology*, 19(4), 281-283. Disponible sur : <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.1994.tb00964.x>. Consulté le : 20/03/2023.

[Références bibliographiques]

Siboukeur, A. (2018). Etude d'une bactériocine (type nisine) produite par deux souches de bactéries lactiques (*Lactococcus lactis* subsp. *lactis*) isolées à partir des laits camelin et caprin et essai d'application dans la bioconservation des viandes. Thèse de Doctorat : Microbiologie. Ouargla : Université Kasdi Merbah, 166 p. Disponible sur : <https://dspace.univ-ouargla.dz/jspui/handle/123456789/16849>. Consulté le: 28/04/2023.

Song, H. J., Richard, J. (1997). Antilisterial activity of three bacteriocins used at sub minimal inhibitory concentrations and cross-resistance of the survivors. *International Journal of Food Microbiology*, 36(2-3), 155-161. Disponible sur: [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(97\)01254-3](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(97)01254-3). Consulté le: 20/05/2023.

Tagg, J. R., Dajani, A. S., Wannamaker, L. W. (1976). Bacteriocins of gram-positive bacteria. *Bacteriological reviews*, 40(3), 722-756. Disponible sur : <https://journals.asm.org/doi/pdf/10.1128/br.40.3.722-756.1976>. Consulté le : 13/04/2023.

Taylor M.J., Bandi C., Hoerauf A. (2005). Wolbachia bacterial endosymbionts of filarial nematodes. *Adv in Parasitol*, 60 : 245-284. Disponible sur : [http://doi.org/10.1016/S0065-308X\(05\)60004-8](http://doi.org/10.1016/S0065-308X(05)60004-8). Consulté le : 22/05/2023.

Terzaghi, B. E., Sandine, W. E. (1975). Improved medium for lactic streptococci and their bacteriophages. *Applied microbiology*, 29(6), 807-813. Disponible sur : <https://doi.org/10.1128/am.29.6.807-813.1975>. Consulté le : 01/04/2023.

Toualbia, M. (2019). Effet de certaines bactéries lactiques sur quelques bactéries pathogènes responsable de diarrhées infantiles. Thèse de doctorat : Sciences des aliments. Chlef : Université Hassiba Benbouali de Chlef, 184 p. Disponible sur : <http://dspace.univ-chlef.dz/handle/123456789/1360>. Consulté le: 09/02/2023.

Von Wright, A., Axelsson, L., (2011). Lactic acid bacteria. *In*: Lahtinen, S., Ouwehand, A. C., Salminen, S., von Wright, A. Lactic acid bacteria: Microbiological and functional aspects. 4ème Edition. Boca Raton: Taylor & Francis Group, p.1-16. Disponible sur: https://books.google.dz/books?hl=fr&lr=&id=bB3OBQAAQBAJ&oi=fnd&pg=PP1&ots=tEJALN3ZsS&sig=mDR4VtKXa4OOSRKVK9nu9b0S-kY&redir_esc=y#v=onepage&q&f=false. Consulté le: 23/03/2023.

[Références bibliographiques]

Wade, M. E., Strickland, M. T., Osborne, J. P., Edwards, C. G. (2019). Role of *Pediococcus* in winemaking. Australian journal of grape and wine research, 25(1), 7-24. Disponible sur: <https://doi.org/10.1111/ajgw.12366>. Consulté le : 15/03/2023.

Zergoug, A. (2017). Effet des probiotiques et bactériocines vis-à-vis des pathogènes responsables des infections urinaires. Thèses de doctorat : Microbiologie appliquée ; interaction microorganismes, hôtes et environnement. Mostaganem : Université Adelhame Benbadis, 166 p. Disponible sur : <http://e-biblio.univ-mosta.dz/handle/123456789/561>. Consulté le : 29/04/2023.

Zouari, S., Benaarfa, T. (2018). Inhibition des bactéries multi résistantes aux antibiotiques par des bactéries lactiques autochtones isolées de produits laitiers. Mémoire de Master : Microbiologie Appliquée. Tebessa : Université Al-Chahid Laarbi Tebessi de Tebessa, 117p. Disponible sur : <http://dspace.univ-tebessa.dz:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/2108/M%C3%A9moire%20Taki%20et%20Souad.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Consulté le: 19/05/2023.

A decorative border resembling a scroll, with a horizontal top edge that curls up at the right end and a vertical left edge that curls down at the bottom end.

Annexes

Annexe 01

Petit matériel

- Anse de platine.
- Portoir des tubes.
- Spatule.
- Bêchers.
- Pipettes graduées.
- Des bocaux en verre pour récupérer les milieux.
- Boîtes de Pétri de 10 cm de diamètre et de 2cm de hauteur.
- Ecouvillons.
- Tubes à essais.

Annexe 02

Formule des milieux de culture

1. Milieu MRS (Man, Rogosa, Sharpe) / Conda /pronadisa- Espagne :

Composition	Quantité g/l	Préparation
Extrait de viande	10	<p>-Verser 31g de MRS agar dans un bécher.</p> <p>-Additionné l'eau distillé Pour obtenir un volume total de 1L.</p> <p>-Agitation jusqu'à dissolution complète et l'ébullition.</p> <p>-Répartir en flacons.</p> <p>-Autoclavage : 121°C pendant 12min.</p>
Extrait de levure	5	
Peptone	10	
Acétate de sodium	5	
Citrate d'ammonium	2	
Glucose	20	
Sulfate de manganèse	0,20	
Sulfate de magnésium	0.05	
Phosphate dipotassique	2	
Agar-agar (uniquement gélose)	15	
Tween 80	1,08	

pH du milieu prêt -à- l'emploi à 25°C : 6,4 ± 0,2

2. Mueller Hinton /HIMEDIA :

Composition	Quantité gl	Préparation
Infusion de viande de Boeuf	300	<p>-Dans un bécher peser 19 g du MH poudre.</p> <p>-Ajouter 500ml d'eau distillée.</p> <p>-Agitation en chauffant jusqu'à dissolution complète et l'ébullition.</p> <p>-Répartir dans des flacons ou des tubes.</p> <p>-Stériliser à l'autoclave :121°C pendant 20min.</p>
Amidon	1.5	
Hydrolysate de caséine	17.5	
Agar	15	

pH du milieu prêt -à- l'emploi : $6,5 \pm 0,2$ / $7 \pm 0,2$

**3. Gélose nutritive standard Plate Count Agar (P.C.A)/Conda/ pronadisa-
Espagne**

Composition	Quantité g/l	Préparation
Extrait de viande	1.0g	-Dans un bécher peser 10 g du milieu déshydraté. -Ajouter 500ml d'eau distillée. -Agitation en chauffant jusqu'à dissolution complète et l'ébullition. -Répartir dans des tubes ou flacons. -Stériliser à l'autoclave : 121°C pendant 20min.
Extrait de levure	2.0g	
Peptone	5.0g	
Chlorure de sodium	5.0g	
Agar	15.0g	

pH du milieu prêt -à- l'emploi à 25°C : 7.4 ± 0,2

4. **Bouillon nutritive** /Biokar diagnostics-France :

Composition	Quantité g/l	Préparation
Peptone	10	-Mettre en solution 1.3 g du milieu déshydraté avec 100ml d'eau distillé. -Agiter lentement jusqu'à dissolution complète. - Répartir dans des tubes ou des flacons. -Autoclavage : 121°C pendant 15min.
Extrait de viande	5	
Chlorure de sodium	5	

pH du milieu prêt -à- l'emploi à 25°C : 7.0 ± 0,2

5. **Gélose M17** /Biokar diagnostics-France :

Composition	Quantité g/l	Préparation
Extrait de levure	2.5	-Verser 57.2g du milieu déshydraté dans un bécher. -Additionné un litre d'eau distillé. -Agiter lentement jusqu'à dissolution complète, en chauffant. -Répartir en flacons. - Stérilisé à l'autoclave :115°C pendant 20min.
Extrait de viande	5	
Tryptone	2.5	
Peptone papainique	5	
Peptone pepsique de viande	2.5	
Acide ascorbique	0.5	
Lactose	5	
Glycérophosphate de sodium	19	
Mg SO4	0.25	
Agar-agar	15	

pH du milieu prêt -à- l'emploi à 25°C : 7.1 ± 0,2

6. MRS « Man-Rogosa-Sharp » Bouillon (Conda®)

Composition	Quantité g/l	Préparation
Dextrose	20 g	<p>-Dans un bécher peser 10.45 g du milieu déshydraté.</p> <p>-Ajouter 200ml d'eau distillée.</p> <p>-Agitation jusqu'à dissolution complète et l'ébullition.</p> <p>-Répartir chaque 3ml dans un tube avec micropipette.</p> <p>-Stériliser à l'autoclave :121°C pendant 20min.</p>
Peptone bactériologique	10g	
Extrait de boeuf	8g	
Acétate de sodium	5g	
Extrait de levure	4g	
Phosphate Dipotase	2g	
Citrate d'ammonium	2g	
Tween 80	1g	
Sulfate de magnésium	0.2g	
Manganèse sulfate	0.25g	

pH du milieu prêt -à- l'emploi à 25°C : $5.7 \pm 0,2$