



Réf : ...../UAMOB/F.SNV.ST/DEP.BIO/2021

## MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

### EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME MASTER

Domaine : SNV      Filière : Biotechnologies  
Spécialité : Biotechnologie microbienne

Présenté par :

*Boukabous Salima et Nadour Asma*

### *Thème*

*Etude de l'activité antibactérienne des bactéries lactiques  
contre les bactéries pathogènes de poulet de chair*

Soutenu le : 15/07/2021

Devant le jury composé de :

<i>Nom et Prénom</i>	<i>Grade</i>		
<i>M. HAMDIS N.</i>	<i>MCB</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Président</i>
<i>Mme. BENBARA T.</i>	<i>MAA</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Promotrice</i>
<i>Mme. YOUSFI M.</i>	<i>MAB</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Examinatrice</i>

Année Universitaire : 2020/2021

# Remerciement

Nous remercions ALLAH le tout puissant, de nous avoir donné la force et la patience  
tout au long de notre parcours.

Il nous est agréable de remercier notre promotrice Mme. BENBARA T. pour nous  
avoir assuré l'encadrement, pour son aide précieux et ces conseils avisés autant que  
pour sa disponibilité que pour le temps qu'il nous a consacré.

Comme nous sommes très reconnaissantes à tous les enseignants qui nous ont appris  
tout au long de notre cursus, pour leurs conseils et leur aide.

Nous remercions également M. HAMDIS qui a bien voulu présider le jury Ainsi que  
Mme. YOUSFI pour avoir acceptée d'examiner notre travail.

Notre remerciement s'adressent à tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué  
directement à la réalisation de ce modeste travail, trouvent ici nos sentiments de  
profonde gratitude et de reconnaissance infinie. Très cordialement.

# Dédicaces

Je remercie ALLAH le tout puissant qui ma permet d'arriver à ce but et m'avoir  
donné la force d'aller jusqu'au bout de ce travail.

Je dédie ce travail à Mon premier amour restant pour toujours mes parents: Mon  
père Mohammed. Ma douce et très chère mère Fatma. Qui n'ont cessé de  
m'encourager et qui ont toujours donné le meilleur d'eux même pour me voir  
réussir, merci pour votre amour incommensurable. J'espère que vous êtes fières de  
moi. Que Dieu vous protège et vous garde à mes cotés.

À mes chères sœurs qui m'ont soutenue tout au long de mes études. A mes chers  
frères, à mes nièces et mes neveux et ma tante. A ma chère grand-mère qu'Allah  
bénisse son âme. A ma petite amie bien aimée Yasmine.

Et en fin je dédie ce travail à ceux qui me sont chers, qu'ils m'aiment et je les aime

**Asma**

# Dédicaces

Je remercie ALLAH le tout puissant qui ma permet d'arriver à ce but et m'avoir  
donné la force d'aller jusqu'au bout de ce travail.

Je dédie ce modeste travail accompagné d'un profond amour

A celle qui m'arrosé de tendresse et d'espoirs, à la source d'amour ma mère

A mon support dans ma vie mon père qu'Allah bénisse son âme

A mes chères frères et sœurs

A ma belle sœur Samia

A toutes mes nièces et tous mes neveux

A mes meilleures amies

Je les adresse mes vrais sentiments

**Salima**

---

## Liste des abréviations

---

<b>3-HPA</b>	3-hydroxypropionaldéhyde
<b>ADN</b>	Acide DésoxyriboNucléique
<b>AGCC</b>	Acides Gras à Chaine Courte
<b>APEC</b>	<i>Avian Pathogenic Escherichia coli</i> ou <i>E. coli</i> pathogène aviaire
<b>BI</b>	Bactéries lactiques
<b>CO<sub>2</sub></b>	Dioxyde de carbone
<b>EMB</b>	Eosine Methylene Blue
<b>FPM</b>	Force Proton Motrice
<b>g</b>	Gramme
<b>G+C</b>	Guanine + Cytosine
<b>h</b>	Heure
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	Eau oxygénée
<b>ml</b>	Millilitre
<b>mm</b>	Millimètre
<b>MRS</b>	Man-Rogosa et Sharp
<b>NaCl</b>	Chlorure de sodium
<b>NAD</b>	Nicotinamide Adenine Dinucléotide
<b>NADH</b>	Nicotinamide Adenine Dinucléotide
<b>O<sub>2</sub></b>	Oxygène
<b>pH</b>	potentiel d'Hydrogène
<b>TIG</b>	Tractus Gastro-Intestinal
<b>UFC</b>	Unité Formant Colonie
<b>UTO</b>	Unités Taxonomiques Opérationnelles
<b>µl</b>	Microlitre
<b>µm</b>	Micromètre

## Liste des figures

---

Figure	Titre	Pages
Figure 01:	Vue latérale du tractus digestif de poulet .....	3
Figure 02:	Morphologie des bactéries pathogènes de poulet de chair sous microscope électronique.. .....	10
Figure 03:	Structure chimique de divers composés antimicrobiens produits par les bactéries lactiques .....	16
Figure 4:	Méthode de test de spot. ....	25
Figure 5:	Développement des bactéries lactiques sur bouillon MRS. ....	26
Figure 6:	Aspect macroscopique des colonies des bactéries lactiques sur gélose MRS.....	27
Figure 7:	Aspect microscopique des bactéries lactiques apparues sous microscope optique (G x40) .....	28
Figure 8:	Résultat de test de catalase (catalase négative). ....	28
Figure 9:	Résultats de test de spot à l'égard des bactéries indicatrices testés .....	30
Figure 10:	Résultats obtenus par le test de spot à l'égard d' <i>E. coli</i> .....	31
Figure 11:	Résultats obtenus par le test de spot à l'égard de <i>Salmonella</i> .....	32
Figure 12:	Résultats obtenus par le test de spot à l'égard de <i>Staphylococcus spp.</i> .....	34
Figure 13:	Résultats obtenus par le test de spot à l'égard de <i>Staphylococcus</i> clinique.....	35
Figure 14:	Spectre d'action de la souche Lb 15 envers les bactéries pathogènes. ....	36
Figure 15:	Spectre d'action de la souche Lb 22 envers les bactéries pathogènes. ....	38
Figure 16:	Aspect macroscopique des bactéries pathogènes sur gélose appropriées. ....	62
Figure 17:	Aspect des spots des isolats lactiques sur gélose MRS.....	62
Figure 18:	Spectre d'action de la souche Lb 1 envers les bactéries pathogènes. ....	63
Figure 19:	Spectre d'action de la souche Lb 9 envers les bactéries pathogènes. ....	63
Figure 20:	Spectre d'action de la souche Lb 12a1 envers les bactéries pathogènes. ....	64
Figure 21:	Spectre d'action de la souche Lb 23 envers les bactéries pathogènes. ....	64
Figure 22:	Spectre d'action de la souche Lb 30 envers les bactéries pathogènes. ....	65
Figure 23:	Spectre d'action de la souche Lb 33 envers les bactéries pathogènes. ....	65

## Liste des tableaux

Tableau	Titre	Pages
<b>Tableau I:</b>	Classification des bactériocines produites par les bactéries lactiques (Dortu et Thonart, 2009).....	18
<b>Tableau II:</b>	Bouillons de revivification des bactéries utilisées. ....	22
<b>Tableau III:</b>	Les bactéries utilisées et leurs milieux de cultures appropriés. ....	22
<b>Tableau IV:</b>	Les caractéristiques macroscopiques des colonies des bactéries lactiques. ....	27
<b>Tableau V:</b>	Résultats de l'étude microscopique et biochimique des bactéries lactiques. ....	29
<b>Tableau VI:</b>	Caractères morphologiques et physiologiques des genres présumés de bactéries lactiques, T°C: température optimales d'isolement, type de fermentation, nombres des isolats. ....	59
<b>Tableau VII:</b>	Diamètre des zones d'inhibition (en mm) obtenues par le test de spot à l'égard des souches pathogènes.....	60
<b>Tableau VIII:</b>	La composition de la gélose nutritive et bouillon nutritif. ....	61

# Sommaire

Introduction.....	1
-------------------	---

## Partie I: Synthèse bibliographique

### Chapitre I: La flore intestinale de poulet de chair

1. Tractus intestinal de poulet de chair .....	3
2. Microbiote intestinal de poulet de chair.....	3
2.1. La composition du microbiote intestinal du poulet.....	4
2.2. Les fonctions de microbiote intestinal .....	4
2.1.1. L'échange de nutriments .....	4
2.1.2. La modulation du système immunitaire .....	5
2.1.3. Le développement du système digestif.....	5
2.1.4. L'exclusion des agents pathogènes .....	5
3. Les bactéries pathogènes de poulet de chair .....	5
3.1. <i>Salmonella</i> .....	5
3.2. <i>Escherichia coli</i> .....	6
3.3. <i>Clostridium perfringens</i> .....	7
3.4. <i>Staphylococcus aureus</i> .....	8
3.5. <i>Compylobacter</i> .....	9
3.6. <i>Pseudomonas aeroginosa</i> .....	9

### Chapitre II: Les bactéries lactiques.

1. Généralités sur les bactéries lactiques.....	11
1.1. Historique .....	11
1.2. Habitat .....	11
1.3. Description générale.....	11
1.4. Classification.....	12
2. Caractéristiques des principaux genres des bactéries lactiques .....	12



2.1. <i>Lactobacillus</i> .....	12
2.2. <i>Enterococcus</i> .....	13
2.3. <i>Pediococcus</i> .....	13
2.4. <i>Streptococcus</i> .....	13
2.5. <i>Lactococcus</i> .....	14
2.6. <i>Leuconostoc</i> .....	14
3. Intérêts des bactéries lactiques	14
3.1. Amélioration des caractéristiques organoleptiques.....	14
3.2. La bioconservation .....	15
3.3. Additifs alimentaires .....	15
4. Activité antibactérienne des bactéries lactiques .....	16
4.1. Les acides organiques.....	16
4.2. Les bactériocines .....	17
4.2.1. Aspects généraux .....	17
4.2.2. Classification des bactériocines.....	18
4.2.3. Mode d'action des bactériocines .....	18
4.3. La reutérine .....	19
4.4. Le dioxyde de carbone .....	19
4.5. Le peroxyde d'hydrogène.....	19
4.6. Le diacétyl .....	20

## Partie II: Partie pratique

### Matériel et méthodes

1. Origine des souches de bactéries lactiques.....	21
1.1. Souches lactiques.....	21
1.2. Souches pathogènes.....	21
2. La revivification des souches.....	21

3. Pré-identification des isolats.....	22
3.1. Examen macroscopique.....	22
3.2. Examen microscopique après coloration de Gram.....	22
3.3. Recherche de catalase.....	23
4. Etude de l'activité antibactérienne.....	23
4.1. Préparation des cultures des 18 heures des bactéries lactiques.....	23
4.2. Préparation des cultures des 18 heures des souches pathogènes.....	24
4.3. Réalisation de test de spot.....	24

## Résultats et discussion

1. Etude morphologique des bactéries lactiques.....	26
1.1. Les bactéries lactiques dans un milieu liquide.....	26
1.2. Aspect macroscopique des bactéries lactiques sur milieu solide.....	26
1.3. Etude microscopique.....	27
1.4. Test de catalase.....	28
2. Résultats de l'effet antagoniste des bactéries lactiques.....	29
2.1. L'activité antibactérienne vis-à-vis d' <i>E.coli</i> .....	31
2.2. L'activité antibactérienne vis-à-vis de <i>Salmonella</i> .....	32
2.3. L'activité antibactérienne vis-à-vis de <i>Staphylococcus</i> .....	33
2.4. Spectre d'action des bactéries lactiques.....	36
Conclusion.....	41

## Références bibliographiques

# Introduction

L'aviculture est actuellement le sous-secteur agricole qui connaît la croissance la plus rapide, particulièrement dans les pays en développement (notamment en Algérie). Ce système de production animale devrait continuer à se développer à l'échelle mondiale, car la demande de viande et d'œufs est stimulée par la croissance démographique, l'étalement urbain et l'augmentation des revenus dans cette industrie. La volaille est considérée comme la source de protéines la plus efficace au Monde. Au cours des 6 ou 7 dernières décennies, cet élevage de volailles est régi par un processus de sélection intensif, les poulets qu'il produit convertissent efficacement la nourriture en masse musculaire, et constituent ainsi une partie essentielle de la chaîne alimentaire humaine pour la production des protéines de haute qualité qui répondent aux besoins des consommateurs (**Fenardji, 1990 ; Mottet et Tempio, 2017**).

Le microbiote intestinal du poulet est doté d'un ensemble de micro-organismes commensales, symbiotiques et pathogènes, qui colonisent généralement le tractus gastro-intestinal. Les bactéries pathogènes peuvent affecter la qualité de la viande de poulet, lors des processus de fabrication tels que l'élevage, l'abattage ou la manipulation de la viande ou des abats en absence des mesures sanitaires. Cependant, les poulets de chair peuvent constituer une menace pour la santé humaine, notamment en tant que vecteur de maladies infectieuses et en raison de leur rôle dans la résistance aux antibiotiques. La contamination la plus connue associée aux maladies dans les élevages de poulets de chair est provoquée par la bactérie *Salmonella enterica* sérotype Enteritidis qui se transmet verticalement à la progéniture, ce qui entraîne une mortalité élevée dans les troupeaux de poulets de chair (**Barbour et al., 1999 ; Braden, 2006 ; Clavijo et Flórez, 2018**).

Les antibiotiques sont utilisés comme facteurs de croissance et agents thérapeutiques dans l'industrie de l'élevage depuis plus de 50 ans. Cependant, la recherche d'alternatives aux antibiotiques est devenu une priorité cruciale car leur utilisation excessive et immodérée chez les poulets est devenu néfaste à cause de l'apparition des antibiotiques résiduels dans les viandes, la population bactérienne résistante qu'elle soit pathogène ou commensale, et la demande croissante d'une production biologique (**Sanders et al., 2011**).

Ces dernières décennies, les chercheurs ont accordés une attention accrue aux bienfaits des espèces bactériennes notamment les bactéries lactiques chez les humains et les animaux. La raison en est que ces espèces sont des habitants naturels de système digestif et

sont donc déjà familières avec le tractus gastro-intestinal et peuvent facilement proliférer sans effet néfaste sur l'hôte. Les souches lactiques sont capables d'interagir avec les cellules épithéliales et de renforcer le système immunitaire de l'hôte. Elles sont capables de produire des métabolites bactéricides et bactériostatiques tels que les bactériocines et les acides organiques. Cette activité antimicrobienne permet de contrôler les agents pathogènes et d'inhiber leur croissance. L'application des souches natives de bactéries lactiques en tant que probiotiques dans l'industrie d'avicole pourrait donc constituer le substitut le plus approprié pour le contrôle et la prévention des maladies infectieuses d'origine bactérienne de poulets de chair. Des bactéries lactiques aux propriétés fonctionnelles remarquables ont été évaluées dans plusieurs études comme des candidats probiotiques possibles (**Smith, 2014 ; Arasu, 2016**).

Le but de ce travail est d'étudier l'activité antibactérienne des souches lactiques préalablement isolées, purifiées et identifiées vis-à-vis des bactéries indicatrices pathogènes chez le poulet de chair. Cette activité est étudiée suivant la méthode de diffusion sur gélose (méthode de spot), afin de révéler le pouvoir antagoniste des isolats de bactéries lactiques, et d'évaluer leur spectre d'action envers les bactéries pathogènes utilisées dans ce test.

# Synthèse Bibliographique

# Chapitre I

## La flore intestinale de poulet de chair

## 1. Tractus intestinal du poulet de chair

Le système digestif des poulets décompose les aliments mécaniquement et chimiquement, ce qui permet aux nutriments d'être absorbé. La segmentation de tube digestif favorise la croissance de plus de 900 espèces de bactéries diversifiées. Ce microbiote participe aux processus qui assure une digestion, une absorption et une excrétion efficaces de l'alimentation, et joue un rôle important en matière de croissance et de santé de l'hôte (Apajalahti *et al.*, 2004). L'étude de l'anatomie du tractus gastro-intestinal (TIG) du poulet permet de comprendre le fonctionnement du tube digestif à savoir le transport, le stockage, et la décomposition des aliments, et repère directement la relation avec le microbiote intestinal (Clavijo et Flórez, 2018). Selon Larbier et Leclercq, 1992, le bon fonctionnement des différents organes de tractus digestif reflète la croissance et l'état sanitaire de poulet (Larbier et Leclercq, 1992). La figure 01 représente l'anatomie du tractus digestif du poulet

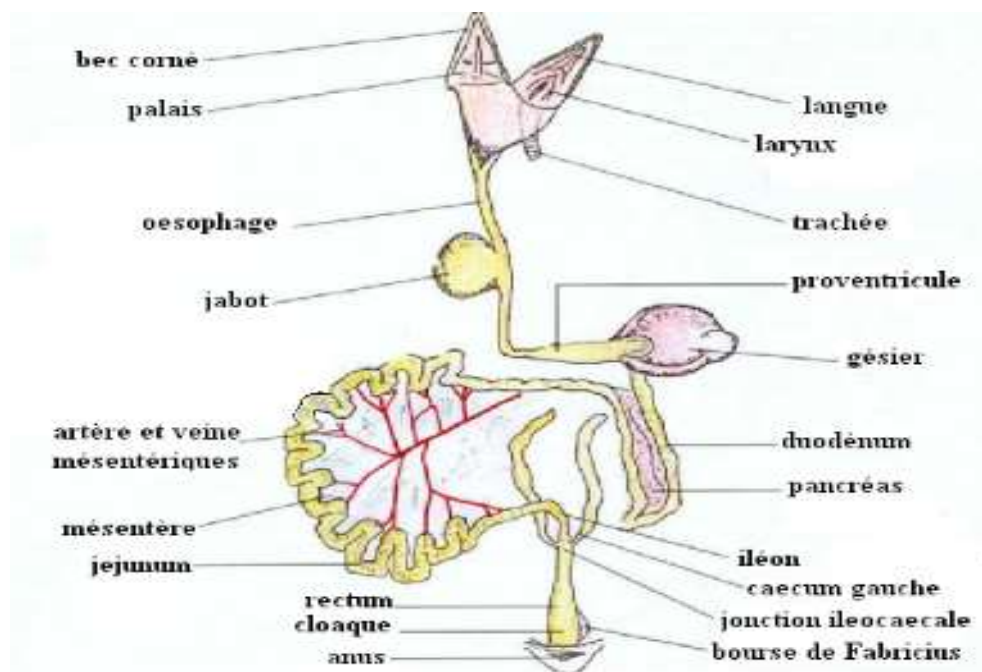


Figure 01: Vue latérale du tractus digestif de poulet (Guérin *et al.*, 2001)

## 2. Microbiote intestinal de poulet de chair

Le microbiote est défini comme la communauté microbienne, y compris les micro-organismes commensales, symbiotiques et pathogènes, qui colonisent généralement les différents organes des humains et animaux, et sont environ deux fois plus nombreux que les cellules somatiques et germinales de l'hôte, le génome collectif de ces symbiotes est connu



sous le nom de microbiome (**Sender et al., 2016**). La voie intestinale de la volaille abrite une communauté microbienne complexe et dynamique constituée principalement de bactéries que l'on appelle le microbiote intestinal (**Zhu et al., 2002**)

### **2.1. La composition du microbiote intestinal du poulet**

Chaque organe du système digestif exerce des fonctions importantes dans le processus digestif et l'absorption des nutriments. La composition du microbiote se diversifie selon les organes de tractus gastro-intestinal de sorte que ces microorganismes pourraient être considérés comme des écosystèmes séparés, malgré le fait qu'ils sont fortement interconnectés et remplissent des fonctions dépendantes des organes dans les quelles elles se trouvent (**Snel et al., 2002**).

Ce microbiote a été reconnu pour avoir un rôle important dans la croissance et la santé de l'hôte. L'étude de la diversité de cet écosystème et le plus souvent basée sur la culture sur des milieux sélectifs, mais moins de 20% des microorganismes trouvés dans ce tractus ont été cultivés, car la plupart des bactéries intestinales sont exigeantes et elles ont des besoins souvent inconnus. Bien que l'avènement des techniques moléculaires a permis aux chercheurs d'identifier la majorité de ces microorganismes (**Gaskins et al., 2002 ; Yegani et Korver, 2008**).

Une étude réalisée pour analyser la diversité de microbiome intestinal des poulets de chair a établi la présence de 915 unités taxonomiques opérationnelles (UTO), définies comme ayant une distance phylogénétique de 3%, équivalentes aux espèces classées en 13 embranchements, dont les *Firmicutes* (70%), les *Bacteroides* (12,3%) et les *Proteobacteria* (9,3%) qui représentent plus de 90% de toutes les séquences. Au total, 117 genres ont été décrits, parmi lesquels *Clostridium*, *Ruminococcus*, *Lactobacillus* et *Bactéroïdes* étaient prédominants (**Wei et al., 2013**).

### **2.2. Les fonctions de microbiote intestinal**

Divers types d'interaction ont été trouvés entre les poulets de chair et leur microbiote intestinal (**Clavijo et Flórez, 2018**), principalement axé sur:

**2.1.1. L'échange de nutriments:** les bactéries commensales du système digestif apportent des métabolites qui sont importants pour le métabolisme et la santé des

poulets. Il s'agit notamment des acides gras à chaîne courte (AGCC), de l'ammonium, des acides aminés et des vitamines (Pan et Yu, 2014).

**2.1.2. La modulation du système immunitaire:** le système immunitaire des poulets comprend à la fois la réponse immunitaire innée et acquise. Le microbiote joue un rôle important dans la modulation de la régulation et de l'activation de ces deux éléments (Carter *et al.*, 2009).

**2.1.3. Le développement du système digestif:** les organes du système digestif subissent des modifications anatomiques et physiologiques à la période suivant l'éclosion de l'œuf. Le développement rapide du tractus intestinal offre une niche idéale pour la colonisation par des microorganismes, ces derniers jouent également un rôle important dans le développement du tube digestif (Uni *et al.*, 1999).

**2.1.4. L'exclusion des agents pathogènes:** le microbiote intestinal peut ajuster l'environnement intestinal et contrôler les agents pathogènes dans le tube digestif par la stimulation du système immunitaire, la concurrence pour les sites d'adhésion et les nutriments et par la sécrétion des substances antimicrobiennes (Chaucheyras-Durand et Durand, 2010).

### 3. Les bactéries pathogènes de poulet de chair

L'environnement intestinal des volailles peut être colonisé par des bactéries pathogènes, donc les poulets peuvent jouer un rôle important en tant que réservoirs contribuant à la transmission d'agents pathogènes d'origine alimentaire. Parmi les taxons qui peuvent causer des maladies chez les animaux et qui ont été signalés dans le microbiote du poulet, on trouve *Campylobacter* (principalement *Campylobacter jejuni* et *Campylobacter coli*), *Salmonella enterica*, *Escherichia coli* et *Clostridium perfringens* (Oakley *et al.*, 2014)

#### 3.1. *Salmonella*

Les salmonelles appartiennent à la famille des *Enterobacteriaceae* et sont classées dans le genre *Salmonella* sur la base de déterminants morphologiques et biochimiques homogènes. Les salmonelles sont des bacilles à Gram négatif, non sporulées et non encapsulées, de type aéro-anaérobies facultatives. La mobilité est assurée par des flagelles péritriches, néanmoins, les sérovars Pullorum et Gallinarum et certains mutants ne sont pas mobiles. Ces bâtonnets sont de 2 à 3 µm de long et les colonies ont généralement un diamètre

de 2 à 4 mm. Leur développement est optimal pour des températures proches de la température corporelle des animaux à sang chaud, 35 à 37 °C (mésophiles), il s'agit alors d'un pathogène facultatif qui infecte l'hôte par voie orale. Ces microorganismes sont extrêmement résistants aux conditions environnementales, même au gel, ce qui explique leur caractère ubiquitaire (**Korsak et al., 2004**).

*Salmonella* est un taxon mineur du microbiome intestinal du poulet, dont la distribution dans la volaille est occasionnelle et transitoire (**Wegener et al., 2003**). Elle est capable de provoquer des maladies pathogènes chez l'Homme et chez les espèces aviaires. Les sérotypes Enteritidis, Gallinarum, et Pullorum sont actuellement les plus répandus dans le secteur avicole, mais la sensibilité à la maladie dépend de l'âge, du statut immunitaire de l'hôte ou la charge bactérienne ingérée (**Castagnos, 2003 ; Van Immerseel, 2005**).

Les salmonelles ubiquitaires peuvent donner des septicémies chez les jeunes sujets ou alors des entérites banales chez les adultes, mais certaines salmonelles, par exemple *Salmonella* sérotypes Enteritidis et Typhimurium, envahissent les organes (ovaires et oviductes) et peuvent être responsables de somnolence avec des yeux clos, d'anorexie, de retards de croissance, de chutes de ponte, une diarrhée liquide profuse, entérites, hépatites et parfois des malformations. La contamination des œufs par les salmonelles peut mener à un niveau très élevé de mortalité embryonnaire et une mort rapide des poussins nouvellement éclos, avant l'observation de signes cliniques (**Gast et Porter, 2020**).

Les poulets en abattoir indiquent un taux de contamination de la surface des carcasses allant de 17,6% à 27,2%, tandis que 34,6% à 49,0% des viandes découpées sont infectées par *Salmonella*. C'est pourquoi le contrôle des agents pathogènes de la ferme est d'une grande importance (**Bornert, 2000**).

### **3.2. *Escherichia coli***

*Escherichia coli* est une *gammaprotéobactéria* à Gram négatif, anaérobies facultatives, non sporulée et négative à l'oxydase, de 2-3 micromètre de long pour 0.6 micromètre de large avec des extrémités arrondies. Cette bactérie est un bâtonnet en général mobile et possède une couronne flagellaire (**Barnes et al., 1989**). *E. coli* est présente dans l'intestin des animaux, et en faible abondance durant le long du cycle de vie des poulets en bonne santé. Cependant, seules certaines souches ont les facteurs de virulence spécifiques qui

peuvent provoquer des maladies chez les poulets, ces souches sont connues sous le nom *E. coli* pathogène aviaire ou " *Avian Pathogenic Escherichia coli* "(APEC). Les APEC appartiennent fréquemment à trois sérogroupes : O1, O2 et O78 (**Dho-Moulin et Fairbrother, 1999**).

L'APEC est principalement associée à des infections extra intestinales, dont la plupart affectent les voies respiratoires, ce qui entraîne une dépression, de la fièvre et la mort. Les lésions respiratoires comprennent l'aérosacculite (ou maladie de l'air) avec un exsudat séreux à fibrineux. Les infections respiratoires et si elles ne sont pas maîtrisées, peuvent évoluer en bactériémie et en septicémie mortelle qui se manifeste par une polysérosite, péricardite, de périhépatite, d'entérite, et d'une péritonite des œufs; appelées collectivement colibacillose. Les infections du tractus ou les infections généralisées entraînent une variété de maladies qui sont responsables de graves pertes économiques (**Dho-Moulin et Fairbrother, 1999**). Il est cependant clair que le microbiote intestinal, y compris *E. coli*, peut agir comme un réservoir pour la dissémination de la résistance aux antibiotiques dans d'autres bactéries pathogènes telle que *Salmonella* (**Castellanos et al., 2017**).

La contamination de l'APEC chez le poulet de chair peut être une contamination verticale qui résulte de la transmission d'*E. coli* provenant d'éleveurs, via les coquilles à l'éclosion, ou *in ovo*, qui en résultent de salpingite, ou une contamination horizontale: se fait généralement par le contact avec d'autres oiseaux, ou par les excréments, l'eau et la nourriture contaminées par *E. coli* (**Dho-Moulin et Fairbrother, 1999**).

### 3.3. *Clostridium perfringens*

*Clostridium perfringens* est une bactérie anaérobie stricte à Gram positif, en forme de bâtonnet, sporulé, encapsulé et non mobile, tellurique, sulfite-réducteurs. Cette espèce est thermophile, sa température optimale de croissance étant comprise entre 40 et 45 °C. Elle provoque un spectre de maladies humaines et animales comme l'entérite nécrotique chez les poulets. La virulence de cette bactérie résulte en grande partie de sa capacité prolifique de production de plusieurs toxines, y compris l'entérotoxine de *C. perfringens* et la  $\beta$ -toxine (**McClane et al., 2012**).

Les maladies entériques sont une préoccupation importante pour l'industrie avicole en raison des pertes de production, de l'augmentation de la mortalité, de la diminution du bien-

être des oiseaux et du risque accru de contamination des produits avicoles destinés à la consommation humaine. Les souches de *C. perfringens* peuvent être isolées à partir d'intestin de poulet sain. Cependant, la présence de certains facteurs prédisposent les poulets à contracter la maladie, notamment les lésions des muqueuses et les régimes alimentaires de croissance à forte teneur en polysaccharides non amylacés solubles (Timbermont *et al.*, 2011).

L'entérite nécrotique survient généralement chez les poulets de chair environ 4 semaines après l'éclosion et se retrouve dans toutes les zones avicoles du Monde. Elle peut se manifester sous la forme d'une maladie clinique aiguë caractérisée par une nécrose des muqueuses de grandes parties de l'intestin grêle, recouvertes d'une pseudomembrane jaune-brun ou biliaire (Helmboldt et Bryant, 1971), ou d'une affection subclinique qui entraîne des pertes de production dues à une mauvaise digestion et absorption, une réduction de la moyenne du gain de poids et une augmentation du rapport de conversion alimentaire (Elwinger *et al.*, 1992).

### 3.4. *Staphylococcus aureus*

Appartenant au genre de *Staphylococcus*, parfois appelée staphylocoque doré, *Staphylococcus aureus* est un coque Gram positif, il mesure de 0,5 à 1 µm de diamètre, non sporulé, immobile, aéro-anaérobie facultatif et possède une catalase et une coagulase. C'est un germe mésophile, capable de se multiplier entre 4 et 46 °C, de manière optimale à 37 °C, pour un pH allant de 5 à 9, avec un optimum de 7,2 à 7,6. C'est une bactérie halotolérante et xérophile car elle se développe même en présence de sel et dans les aliments déshydratés. *S. aureus* produit de nombreuses toxines dont les entérotoxines staphylococciques qui sont responsables d'épidémies liées à cette bactérie (Salifou *et al.*, 2013).

*S. aureus* est un commensal et un pathogène bien connu d'un grand nombre d'espèces animales, y compris les humains. Une grande variété d'infections peut être causée par *S. aureus*, des infections superficielles de la peau et des tissus mous à la septicémie potentiellement mortelle. L'intoxication alimentaire par *Staphylococcus aureus* affecte des centaines de milliers de personnes chaque année. *S. aureus* provoque également des maladies invasives telles que l'arthrite (chez la volaille) et la septicémie (chez la volaille et l'Homme) (Hazariwala *et al.*, 2002).

*S. aureus* provoque un problème économique et présente une cause majeure de maladies animales associées au bétail notamment les infections squelettiques de la volaille (**Lowder et al., 2009**). Chez les poulets, plusieurs symptômes de la maladie ont été décrites, telles que la nécrose du peigne, nécrose des cellules hépatiques, nécrose liquéfiée des cellules épidermiques avec hyperplasie, la formation de vésicules dans l'épiderme, une congestion et des hémorragies avec thrombus fibrineux du derme sous-jacent dans le rayon. *S. aureus* n'était présent qu'en petit nombre (environ 10 UFC/g) sur la peau des poulets de chair avant transformation. Au cours du traitement, la contamination des carcasses augmente jusqu'à plus de 10<sup>3</sup> UFC/g de peau (**Nakamura et al., 1997 ; Fluit, 2012**).

### 3.5. *Compylobacter*

*Compylobacter jejuni* est une bactérie Gram-négative, oxydase positive classée comme microaérophile et capnophile (sa croissance est favorisée par la présence d'anhydride carbonique), il nécessite des conditions atmosphériques de 3 à 10% d'oxygène et de 5 à 10% de dioxyde de carbone pour une croissance optimale, avec une plage de températures de croissance entre 30 et 47 °C. Les cellules de *C. jejuni* peuvent être courbes, en forme de bâtonnet ou spirale, de taille de 0,2 à 0,8 µm de largeur et de 0,5 à 5,0 µm de longueur. Sa mobilité est assurée par des flagelles amphitriches (**Gundogdu et Wren, 2020**).

*C. jejuni* est généralement considéré comme un commensal non pathogène chez les oiseaux. Il est présent en forte concentration dans le microbiote intestinal des poulets (10<sup>7</sup> UFC/g) (**Clavijo et Flórez, 2018**). Des études épidémiologiques ont révélé que la colonisation intestinale est le facteur le plus important qui contribue à la contamination des carcasses (**Meade et al., 2009 ; Meunier, 2017**). Ces infections extra-intestinales dépendent de plusieurs facteurs dont la virulence de la souche infectieuse et la sensibilité de la souche aviaire à l'infection. *Campylobacter* entraînerait une dégradation de la muqueuse intestinale des oiseaux conduisant à des infections systémiques avec diarrhée associées à des réponses inflammatoires prolongées (**Sanyal et al., 1984**).

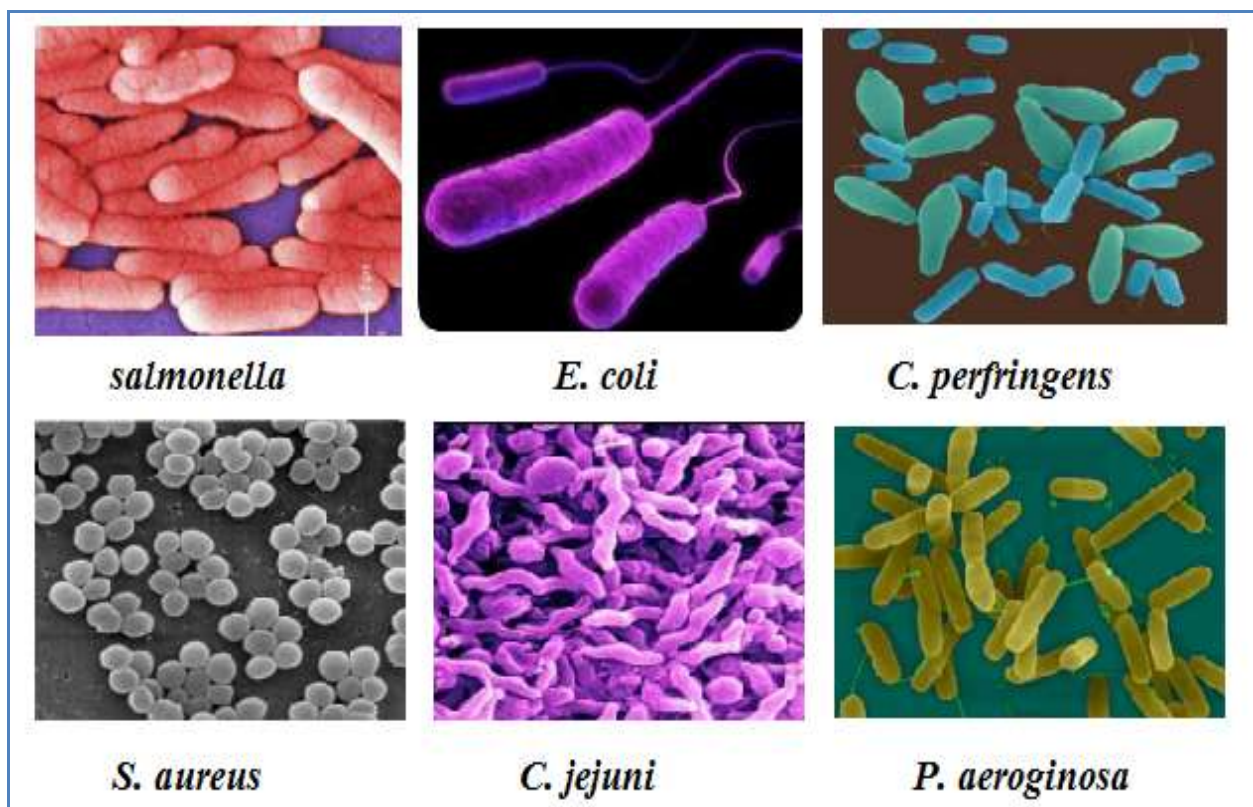
### 3.6. *Pseudomonas aeruginosa*

*Pseudomonas aeruginosa* est un bacille, Gram négatif, strictement aérobie, mobile, non capsulé et non sporulé, et phototrophe. Sa température optimale de croissance est comprise entre 30 et 37 °C. *P. aeruginosa* est omniprésente dans l'environnement tels que, le



sol, l'eau et les environnements humides et peut être commensale du tube digestif (Wolfgang *et al.*, 2003).

L'infection par *P. aeruginosa* est responsable d'une mortalité importante dans les troupeaux de poulets contaminés. Les signes cliniques incluent des problèmes respiratoires, des diarrhées et des septicémies, ce qui produit une dyspnée, des altérations sur les surfaces séreuses tapissant les sacs aériens et la cavité péritonéale. Cet agent provoque également une hypertrophie des organes internes, une périhépatite et une péricardite. Le taux le plus élevé d'isolement de *P. aeruginosa* a été enregistré dans le foie, le poumon, les sacs aériens, le nez et le cœur. Les principaux symptômes observés chez les oiseaux vivants étaient des plumes ébouriffées, des ailes tombantes et de la diarrhée avec un risque de mortalité élevé (Shukla et Mishra, 2015).



**Figure 02:** Morphologie des bactéries pathogènes de poulet de chair sous microscope électronique (Salifou *et al.*, 2013).

# Chapitre II

## Les bactéries lactiques



## 1. Généralités sur les bactéries lactiques

### 1.1. Historique

Un examen de données d'études moléculaires, métaboliques et de la paléontologie a conduit à suggérer que les bactéries lactiques dont les lactobacilles existent bien avant l'apparition d'oxygène dans l'atmosphère, ces microorganismes ont été retrouvés dans des sédiments datant de 2,75 milliards d'années, ce qui peut expliquer leur caractère anaérobie (Quiberoni *et al.*, 2001 ; Bernandeau *et al.*, 2006). En 1857, Pasteur a établi le lien entre la fermentation et les bactéries. Une première culture pure était d'ailleurs une culture de *Lactococcus lactis* à l'époque appelée "*Bacterium lactis*" obtenue et décrite par Lister en 1873 (Teuber, 1995 ; Quiberoni *et al.*, 2001). Au début du XX<sup>ème</sup> siècle, Elie Metchnikoff remarque que la bonne santé des paysans bulgares est liée à leur consommation de produits laitiers fermentés et suggère donc que certains microorganismes pourraient exercer des effets bénéfiques sur la santé humaine (Samot, 2012).

Les bactéries lactiques ont été décrites pour la première fois par Orla-Jensen en 1919 (Orla-jensen, 1919), en se basant sur les caractères phénotypiques classiques (la morphologie, le mode de fermentation des glucides, la croissance à certaines températures, et la forme de l'acide produit (Carr, 2002 ; Khalid, 2011).

### 1.2. Habitat

Les bactéries lactiques sont ubiquitaires, elles se trouvent généralement dans les habitats riches en nutriments. Elles peuvent exister à l'état libre dans le sol, l'eau (Liu *et al.*, 2014), les plantes (Choi, 2018), la viande (Yordshahi *et al.*, 2020), les aliments fermentés (Mokoena, 2017) ou vivent en association avec l'Homme ou l'animal dans un écosystème bactérien comme le tractus gastro-intestinal (Reuben *et al.*, 2019 ; Pasolli *et al.*, 2020) ou le système génital des femmes (Florou-Paneri *et al.*, 2013 ; Adeoshun, 2019).

### 1.3. Description générale

Les bactéries lactiques sont définies comme des microorganismes procaryotes hétérogènes et chimioorganotrophes (Sánchez *et al.*, 2019). La description générale de ces microorganismes est des cocci ou bâtonnets, Gram positif, non sporulées et généralement immobiles, elles sont tolérantes aux acides (Salminen et Von Wright, 2004 ; Mokoena, 2017 ; Özogul et Hamed, 2018 ; Ringo *et al.*, 2018) et ont une teneur en G+C moins de 55%. Ce sont des anaérobies mais certaines sont des aéro-tolérantes, leur caractère principale

est la capacité de produire l'acide lactique comme produit final de la fermentation des glucides (Axelsson, 2004 ; Salminen et Von Wright, 2004 ; Ghaffar *et al.*, 2014 ; Ringo *et al.*, 2018). Elles ont des besoins nutritionnels complexes, notamment les minéraux spécifiques, des vitamines, et plusieurs acides aminés (Abdel-Rahman *et al.*, 2013 ; Taskila et Ojamo, 2013). Elles sont négatifs à l'oxydase, et à la benzidine, manquent de cytochromes et ne réduisent pas les nitrates en nitrites et sont incapables de produire la catalase à l'exception de certaines souches qui possèdent un pseudo-catalase (Taskila et Ojamo, 2013 ; Ozogul et Hamed, 2018 ; Sánchez *et al.*, 2019).

#### 1.4. Classification

Le groupe des bactéries lactiques est actuellement classé dans le phylum *Firmicutes*, classe *Bacilli*, et l'ordre *Lactobacillales* (Ozogul et Hamed, 2018). Les espèces sont classées sous forme de 20 genres mais d'un point de vue pratique de la technologie alimentaire 14 genres sont considérés comme les principaux dont : *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Aerococcus*, *Alloeococcus*, *Carobacterium*, *Dolosigranulum*, *Dolosigranulum*, *Enterococcus*, *Oenococcus*, *Tetragenococcus*, *Vaagococcus* et *Weissella* (Axelsson, 2004 ; Mokoena, 2017).

Selon le produit final de la fermentation, les bactéries lactiques sont regroupées en trois groupes : les homofermentaires obligatoires produisent l'acide lactique comme produit majeur de leur fermentation du glucose ; les hétérofermentaires obligatoires produisent un certain nombre de produit en plus de l'acide lactique notamment du dioxyde de carbone, d'acide acétique et d'éthanol. Les souches homofermentaires utilisent la voie hétérofermentaire en certain conditions comme une concentration limitante des substrats, un pH élevé ou une température basse. Ces souches sont qualifiées d'hétérofermentaire facultatives (Carr *et al.*, 2002 ; Abdel-Rahman *et al.*, 2013 ; Ganzle, 2015 ; Essma, 2019).

## 2. Caractéristiques des principaux genres des bactéries lactiques

### 2.1. *Lactobacillus*

Décrit la première fois par Beijerinck en 1901, ce genre comprend 261 espèces (en Mars 2020) (Zheng, 2020) et regroupe des espèces bâtonnets ou des coccobacilles avec une teneur en G+C comprise entre 33% et 55%. Ces bactéries sont strictement fermentatives (Bernandeau *et al.*, 2006 ; Duar *et al.*, 2017). La température optimale de leur croissance est

de 30 °C à 40 °C, mais certaines peuvent se développer à un intervalle de température allant de 2 °C à 53 °C (**Duar et al., 2017**).

Dû à leur variété, les lactobacilles sont répandues dans les différents habitats, les aliments fermentés ou détériorés, l'environnement y compris la surface des plantes, le sol le corps des humains et animaux et dans le système génital des femmes (**Parolin et al., 2015**). Elles se répartissent en trois groupes selon la température de croissance optimale et la voie de fermentation: les homofermentaires obligatoires qui sont thermophile, les hétérofermentaires facultatives et les hétérofermentaires obligatoires qui sont mésophiles (**Bernandean et al., 2006 ; Bintsis, 2018**).

## **2.2. *Enterococcus***

Le terme "entérocoque" a été créé par Thiercelein en 1899. Les cellules sont ovoïdes isolées, en paires ou en chaînes courtes. Elles possèdent une pseudo-catalase, tolérantes au sel (jusqu'à 6,5%), résistantes à la bile à 40% et à un pH d'environ 9,6. La température optimale de leur croissance se situe entre 10 °C et 45 °C avec une croissance optimale pour la plupart des espèces entre 35 °C et 37 °C (**Garcia-Solache et Rice, 2019**). Elles sont des membres du microbiote humain et se sont également répondu dans la nature (**Gao et al., 2018**).

## **2.3. *Pediococcus***

Ce genre comprend neuf espèces ayant un métabolisme homofermentaire et rassemble des cellules immobiles de forme sphérique et parfois ovoïde qui peuvent être isolées ou en paires et se divisent dans deux directions perpendiculaires formant ainsi des tétrades et non jamais des chaînes. Certaines espèces produisent une pseudo-catalase. Les cellules sont acidophiles mais non halophiles et se développent à pH 5. La température optimale de leur croissance varie dans l'intervalle de 25 °C à 35 °C. Elles sont couramment présentes dans les légumes fermentés, les produits laitiers, la viande et le tractus intestinale des animaux et des humains, elles ont un rapport G+C compris entre 35% et 44% (**Holzapfel et al., 2015**).

## **2.4. *Streptococcus***

Ce genre rassemble des cellules immobiles, sphériques ou ovoïdes, qui ont un diamètre inférieur à 2 µm avec une disposition en paires ou en chaînes longues. Elles sont des anaérobies facultatives et homofermentaires. Les streptocoques peuvent croître dans un intervalle de températures entre 20 °C et 42 °C, cependant leur température optimale de croissance est 37 °C. Ils sont incapables de se développer à 15 °C et à un pH de 9,6.

Plusieurs espèces sont commensales ou parasites de l'Homme et des animaux et certaines sont hautement pathogènes (**Hardie et Whiley, 1995**).

### **2.5. *Lactococcus***

Les lactocoques sont des coques homofermentaires, anaérobies facultatifs et non mobiles, se présentent en paires ou en chaînes. Elles peuvent croître à des températures de 10 °C, mais pas à 45 °C, et la température optimale de leur croissance est voisine de 30 °C. Les espèces de ce genre ne poussent pas à pH 9,6 ou en présence de 6,5 de NaCl. La teneur en G+C comprise entre 34% à 43% (**Alomar, 2007 ; Teuber, 2015**).

### **2.6. *Leuconostoc***

Ce genre comprend 10 espèces hétérofermentaires obligatoires. Ces bactéries ont un aspect ellipsoïdale à sphérique généralement allongée et s'arrangent en paires ou en chaînes. Elles sont non acidophiles avec un pH optimal de croissance égal à 6,5. La température optimale de leur croissance est comprise entre 20 °C et 30 °C, néanmoins certains *Leuconostoc* peuvent croître même à 5 °C (**Vos et al., 2009**).

## **3. Intérêts des bactéries lactiques**

### **3.1. Amélioration des caractéristiques organoleptiques**

Les bactéries lactiques dégradent les hexoses et disaccharides pour produire de l'énergie (**Bintsis, 2018 ; Nuryana et al., 2019**). Le catabolisme fermentaire de ces glucides produit de l'acide lactique et d'autres acides organiques tels que l'acide acétique et l'aldéhyde (**Tejero-Sariñena, 2012**). Cette qualité est très recherchée dans l'industrie alimentaire et particulièrement dans la fabrication de produits laitiers (**Piard et Desmazaud, 1991 ; Savijoki et al., 2006**).

L'acide lactique a pour rôle de favoriser la déstabilisation des micelles de caséine et la coagulation du lait et participe donc à la synérèse du caillé (**Béal et al., 2008 ; Monnet et al., 2008 ; Aryana et Olson, 2017**). L'abaissement du pH par la génération d'acides est aussi à l'origine de la mise en place des conditions physico-chimiques favorables à différentes transformations dans l'industrie laitière, égouttage du caillé en fromagerie, et butyricification (**Luquet et Corrieu, 2008**).

Les bactéries lactiques génèrent également des exopolysaccharides qui ont des propriétés rhéologiques uniques. Ces exopolysaccharides sont capables d'interagir avec les protéines et améliorer la rétention d'eau, augmenter la viscosité, l'épaississement et maintien

la texture. Ils sont utilisés pour fabriquer le yaourt, le fromage et les desserts à base de lait (Duboc et Mollet, 2001 ; Deepak *et al.*, 2016).

La protéolyse des protéines du lait améliore la digestibilité des produits, une caractéristique hautement souhaitée par l'industrie des préparations pour nourrissons (Dinçir et Kivanç, 2018 ; Garcia-Cano *et al.*, 2019), alors que les peptidases sont utilisées pour la dégradation des peptides hydrophobes amers résultants de métabolisme de quelques protéines (Savijoki *et al.*, 2006).

De nombreux composés aromatiques volatils comme l'ammoniac, les amines, le diacétyl, les aldéhydes, les alcools et les acides gras sont libérés par les bactéries lactiques à partir du métabolisme des hexoses, du citrate, des acides aminés et des matières grasses (Cholet, 2006 ; Clark et Winter, 2015 ; Chen *et al.*, 2017 ; Pangallo *et al.*, 2019).

### 3.2. La bioconservation

Grâce à leur capacité à synthétiser des substances antimicrobiennes capables de contrôler et d'empêcher les microorganismes d'altération et les pathogènes (les champignons et les bactéries) et leurs toxines (les mycotoxines), les bactéries lactiques en particulier *Lactobacillus* et *Pediococcus* sont utilisés avec succès comme des conservateurs et des additifs alimentaires naturels dans les aliments, par exemple les végétaux fermentés, les viandes séchées, les fromages. L'utilisation de ces genres offre une durée de conservation améliorée et un meilleur potentiel de conservation que les conservateurs chimiques (Park et Kim, 2011 ; Ortiz-Rivera *et al.*, 2017 ; Russo *et al.*, 2017 ; Guimarães *et al.*, 2018).

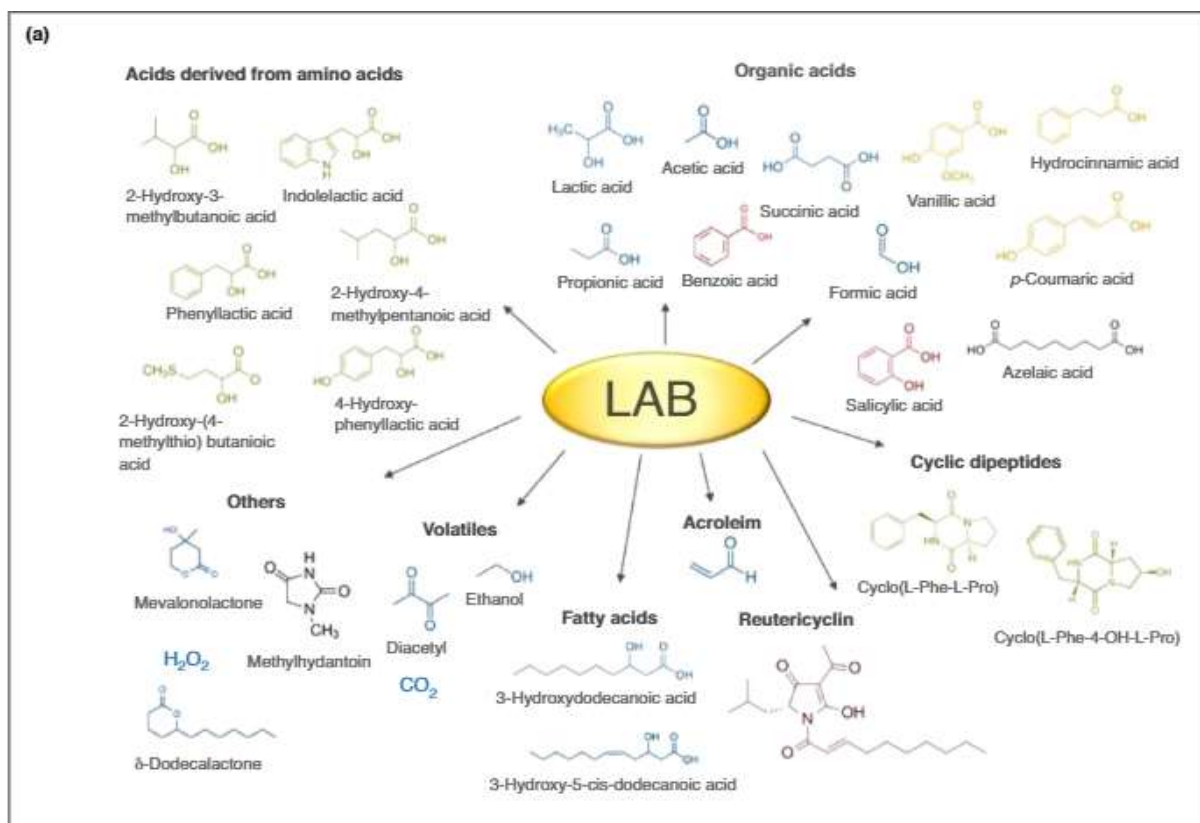
### 3.3. Additifs alimentaire

Les probiotiques sont des microorganismes vivants, lorsqu'ils sont administrés en quantités suffisantes confèrent un avantage pour la santé de l'hôte (Zielińska et Kolozyn, 2018). Les bactéries lactiques sont les probiotiques les plus couramment utilisés dans les aliments chez les humains et les animaux grâce à leur capacité à libérer des nutriments bénéfiques et d'augmenter la digestion et l'absorption des aliments par la libération d'un large éventail d'enzymes digestives (Ringo *et al.*, 2020). Les probiotiques peuvent également ajuster l'environnement intestinale en inhibant les agents pathogènes dans le tractus gastro-intestinal par la production des substances antimicrobiennes, la concurrence pour les sites de liaison sur la surface des cellules épithéliales ou par la stimulation de système immunitaire intestinale (Yang *et al.*, 2015 ; Ringo *et al.*, 2020). Les espèces *Lactobacillus acidophilus*,

*Enterococcus faecium* et *Bifidobacterium bifidum* sont les probiotiques les plus utilisés pour l'alimentation des animaux.

#### 4. Activité antibactérienne des bactéries lactiques

L'activité antibactérienne des bactéries lactiques est due à la production des substances antibactériennes dont les principaux sont les acides organiques, le peroxyde d'hydrogène, le dioxyde de carbone, le diacétyle, la reutérine et les bactériocines (Siedler *et al.*, 2019).



**Figure 03:** Structure chimique de divers composés antimicrobiens produits par les bactéries lactiques (Siedler *et al.*, 2019).

##### 4.1. Les acides organiques

De nombreux acides organiques sont produits par les souches lactiques selon la voie adoptée. L'acide lactique est le seul acide libéré par les homofermentaires, alors que les hétérofermentaires produisent en plus l'acide acétique et propionique (Carr, 2002 ; Tejero-Sariñena, 2012). Elles produisent également le formiate, le lactate et l'acétate (Nuryana *et al.*, 2019).

L'effet antagoniste des acides organiques résulte généralement de l'action de leur forme non dissociée, cette forme peut traverser passivement la membrane et acidifie le cytoplasme par libération du proton  $H^+$  ce qui diminue donc le pH neutre intracellulaire. Pour surmonter l'abaissement du pH, les microorganismes activent les pompes à protons consommant de l'énergie, en même temps l'anion  $ROO^+$  est toxique pour la réplication de l'ADN, elle perturbe les fonctions métaboliques et augmente la pression des cellules osmotiques. La combinaison de ces deux actions inhibe la croissance bactérienne, conduisant à des effets bactériostatiques et bactéricides (**Nuryana et al., 2019**). Les acides peuvent encore empêcher le développement de certains microorganismes par la diminution du pH du milieu dans lequel elles se multiplient (**Deniv et al., 2018**). D'autres activités antibactériennes moins directes ont encore été attribuées aux acides organiques et comprennent une interférence avec le transport des nutriments, dommages à la membrane cytoplasmique résultant de fuites des protéines, perturbation de la perméabilité de la membrane externe et influence sur la synthèse des macromolécules (**Ricke, 2003**).

## **4.2. Les bactériocines**

### **4.2.1. Aspects généraux**

Les bactériocines sont des petits peptides bioactifs synthétisés par ribosome et produits par différents groupes de bactérie (**Gálvez et al., 2007 ; Monnet et al., 2008 ; Aryana et Olson, 2017**). Ces peptides sont généralement des molécules cationiques et hydrophobes de faible poids moléculaire, composées de 20 à 60 résidus d'acides aminés (**Mora-Villalobos et al., 2020**). Elles présentent une activité antimicrobienne contre des bactéries apparentées (spectre étroit) ou non apparentées (large spectre) (**Gálvez et al., 2007 ; Arqués et al., 2015**). La synthèse de ces protéines a lieu pendant ou à la fin de la phase de croissance exponentielle et leur production peut souvent être induite par des conditions de stress telles que l'augmentation de la population et la pénurie de nutriments, ainsi que par le type de sources de carbone, d'azote et de phosphate présentes dans les milieux, ou même par des surfactants cationiques et autres inhibiteurs et ils peuvent encore être régulés par une communication de cellule à cellule où ils produisent des molécules auto-induites en raison de la densité de population (**Gálvez et al., 2007 ; Mora-Villalobos, 2020**).



#### 4.2.2. Classification des bactériocines

Les bactériocines synthétisées par les bactéries lactiques sont réparties en trois classes en fonction de leur poids moléculaire, les propriétés physicochimiques, le mode d'action, leurs propriétés génétiques et leur stabilité thermique (**Dortu et Thonart, 2009**).

**Tableau I:** Classification des bactériocines produites par les bactéries lactiques (**Dortu et Thonart, 2009**).

Les classes	Caractéristiques
Classe I	Les lantibiotiques: peptides de taille inférieure à 5 KDa , stables à la chaleur et contenant des acides aminés modifiés
Classe II	Peptides de taille inférieure à 10 KDa , stables à la chaleur et contenant des acides aminés non modifiés
Classe III	Protéines de taille supérieure à 30 KDa sensibles à la chaleur
Classe IV	Peptides requérant une partie carbohydratée ou lipidique

#### 4.2.3. Mode d'action des bactériocines

Le siège d'activité des bactériocines est la membrane cellulaire, raison pour laquelle les espèces Gram-négatives sont protégées des bactériocines produites par les espèces Gram-positives (**Dortu et Thonart, 2009**). Généralement, les bactériocines synthétisés par les souches lactiques agissent par la perturbation du fonctionnement de la membrane cytoplasmique (**McAuliffe et al., 2001 ; Gravesen et al., 2002 ; Arous et al., 2004 ; Bauer et al., 2005**). Certaines bactériocines de la classe I, et celles de la classe II se lient avec des récepteurs cellulaires spécifiques (reconnaissance d'une cible) ou non spécifiques (interactions électrostatiques ou hydrophobe avec la membrane cellulaire). Cette liaison provoque la formation des pores non spécifique dans la membrane ce qui entraîne un efflux de petits métabolites tels que les ions, les nucléotides et les acides aminés. L'augmentation de la perméabilité va conduire à un déséquilibre ionique et à la perte de la force proton motrice (FPM) qui joue un rôle crucial dans la synthèse de l'ATP, le transport actif et la mobilité bactérienne. La perte de la force proton motrice entraîne la cessation rapide des activités cellulaires et enfin la mort cellulaire (**Hécharde et al., 2001 ; McAuliffe et al., 2001 ; Bauer et al., 2005 ; Patton et al., 2005 ; Zimina et al., 2020**). Les autres bactériocines de la classe I empêchent la synthèse des peptidoglycanes (**Bauer et al., 2005 ; Patton et al., 2005**), alors que les bactériocines de classe III ont une activité antibactérienne via la lyse des cellules



sensibles en catalysant l'hydrolyse des liens peptidiques des peptidoglycanes de la paroi cellulaire (Nilsen *et al.*, 2003 ; Meade *et al.*, 2020).

#### 4.3. La reutérine

La reutérine est un composé antimicrobien de faible poids moléculaire, neutre et soluble dans l'eau (Axelsson, 1989). C'est un mélange de différentes formes de 3-hydroxypropionaldéhyde (3-HPA) généré lors du métabolisme anaérobie du glycérol (Morita *et al.*, 2008 ; Ortiz-Rivera, 2017 ; Asare *et al.*, 2018 ; Mu *et al.*, 2018).

Produit par la plupart des souches de *Lactobacillus reuteri* de la lignée humaine et avicole (Axelsson, 1989), la reutérine est un agent antimicrobien à large spectre, elle a des puissants effets antimicrobiens contre les bactéries Gram positives et Gram négatives, les levures, les champignons et les protozoaires (Jay *et al.*, 2005 ; *et al.*, 2014 ; Ang *et al.*, 2016 ; Ortiz-Rivera, 2017). L'effet antimicrobien de cet agent reste spéculatif bien que l'inhibition de la synthèse de l'ADN et l'induction du stress oxydatif chez les microorganismes cibles aient été proposées (Jay *et al.*, 2005 ; Schaefer, 2010 ; Ang *et al.*, 2016).

#### 4.4. Le dioxyde de carbone

Le dioxyde de carbone est principalement produit par les hétérofermentaires durant la fermentation des hexoses, il peut avoir un effet antagoniste par la création d'un environnement anaérobie ce qui inhibe la décarboxylation enzymatique. L'accumulation du dioxyde de carbone dans la bicouche lipidique peut être une cause possible de dysfonctionnement de la perméabilité (Lindgren et Dobrogosz, 1990 ; Ouwehand et Vesterlund, 2004 ; Dinev *et al.*, 2018).

#### 4.5. Le peroxyde d'hydrogène

En présence d'oxygène, les bactéries lactiques sont capables de libérer le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) (Ouwehand et Vesterlund, 2004) sous l'action de flavoprotéines oxydases ou NADH peroxydase, mais sa production est influencée par la disponibilité de l'oxygène et les souches présentent dans le milieu (Lindgren et Dobrogosz, 1990). A cause de leur incapacité de synthétiser du catalase pour dégrader le peroxyde d'hydrogène en eau et oxygène, le peroxyde peut s'accumuler et être inhibiteur de différents microorganismes (Schnürer et Magnusson, 2005). Son activité antimicrobienne est le résultat d'oxydation des groupes sulfhydryle provoquant une dénaturation d'un certain nombre d'enzymes, il provoque aussi la peroxydation des lipides membranaires menant à une perméabilité accrue

de la membrane, il peut aussi être un précurseur pour la production des radicaux libres bactéricides tels que le superoxyde et l'hydroxyle qui peuvent endommager l'ADN (**Ozogul et Hamed, 2018**).

#### **4.6. Le diacétyle**

Le diacétyle est produit par certains genres des bactéries lactiques, notamment *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* et *Oenococcus* lors du métabolisme du citrate. Sa fonction biologique semble être un substrat de régénération du NAD pour les besoins énergétiques des microorganismes. Il est responsable de l'arôme attrayant de beurre et de nombreux aliments (**Clark et Winter, 2015**). Son activité antimicrobienne est due à l'inactivation d'utilisation de l'arginine par sa réaction avec la protéine de liaison à l'arginine (**Langa et al., 2014**).

# Partie Pratique

# Matériel et Méthodes

## **Lieu de d'étude**

Notre étude a été effectuée au niveau de laboratoire de microbiologie (N° 5) de la faculté des sciences de la nature et de la vie (Université Akli Mohand Oulhadj- Bouira), sous la direction de Mme. BENBARA T. et la présence de l'ingénieur de laboratoire.

## **1. Origine des souches de bactéries lactiques**

### **1.1. Souches lactiques**

Dans le but de tester et sélectionner une souche de bactérie lactique à bonne activité antibactérienne, le test d'antagoniste a été réalisé en utilisant le test de spot. Ainsi, nous avons utilisé huit souches de bactéries lactiques (Lb1, Lb9, Lb12a1, Lb15, Lb23, Lb30, Lb23, Lb33). Ces souches sont isolées à partir de la matière fécale des poulets de chair âgés de 30 jours de certains poulaillers de la wilaya de Bouira.

### **1.2. Souches pathogènes**

Quatre souches pathogènes (souches indicatrices) ont été utilisées dans cette étude à savoir : *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Staphylococcus spp* et *Staphylococcus clinique*. Ces souches font partie de la collection des bactéries pathogènes de Laboratoire de Microbiologie Appliquée (LMA) de l'université de Béjaia. Ces bactéries pathogènes sont utilisées dans cette étude car se sont des bactéries qui posent un risque d'infections graves chez le poulet de chair.

## **2. La revivification des souches**

Chaque souche de bactéries lactiques a été inoculée dans 5 ml du bouillon MRS et incubé à 37 °C pendant 24 h. Par la suite, ces cultures de 24 h ont étéensemencées par la technique des stries sur la gélose MRS et incubées à 37 °C pendant 48 h.

Pour la revivification des bactéries pathogènes, nous avons repiqués les espèces de *Salmonella*, *Escherichia coli* dans 5ml du bouillon nutritif et les souches de *Staphylococcus* dans 5 ml du bouillon Chapman. Ces bouillons sont incubés à 37°C pendant 24 h. Après cette incubation, les bouillons sont isolés sur gélose spécifique et incubé 24 h à 37°C.

Les bouillons et les géloses utilisés sont mentionné dans le tableau II et tableau III.

**Tableau II:** Bouillons de revivification des bactéries utilisées.

Bactéries	Milieux de culture (Bouillon)
Bactéries lactiques	MRS (pH = 6.7)
<i>E. coli</i>	Bouillon nutritif (pH =7.2)
<i>Salmonella</i>	Bouillon nutritif (pH =7.2)
<i>Staphylococcus clinique</i>	Bouillon Chapman (pH =7.4)
<i>Staphylococcus spp.</i>	Bouillon Chapman (pH =7.4)

**Tableau III:** Les bactéries utilisées et leurs milieux de cultures appropriés.

La bactérie	Milieux de culture (Gélose)
Bactéries lactiques	MRS (pH = 6.7)
<i>Salmonella</i>	HEKTOEN (pH =7.5)
<i>Escherichia coli</i>	EMB (pH =7.2)
<i>Staphylococcus clinique</i>	Chapman (pH =7.4)
<i>Staphylococcus spp.</i>	Chapman (pH =7.4)

### 3. Pré-identification des isolats

L'identification des bactéries lactiques consiste à réaliser un examen macroscopique, un examen microscopique et un test de recherche de la catalase (**Badis et al., 2004**).

#### 3.1. Examen macroscopique

Cet examen est réalisé à partir des colonies sur gélose MRS. Il s'effectue à l'œil nu afin de déterminer les caractères culturels des colonies à savoir : la forme, l'aspect, la taille, la couleur, l'opacité et le contour (**Harrigan et Mc Cane, 1976**).

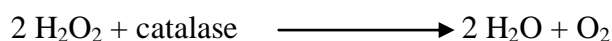
#### 3.2. Examen microscopique après coloration de Gram

L'observation microscopique par coloration différentielle (coloration de Gram) nous permet de distinguer les isolats Gram positif et Gram négatif, leur morphologie (bacille ou coque) et leurs modes d'associations (isolés, en chaînettes ou en tétrades) (**Harrigan et Mc Cane, 1976**).

Cet examen se déroule en 4 étapes (**Harrigan et Mc Cane, 1976 ; Kanak et Yilmaz, 2020**). On commence par déposer quelques gouttes de violet de gentiane sur un frottis fixé. On laisse agir pendant une minute puis on rince la lame et on redépose quelques gouttes de lugol pendant une minute pour fixer la couleur. Après, un deuxième rinçage avec l'eau distillée, on décolore les bactéries à l'aide d'alcool pendant 30 secondes, puis on verse quelques gouttes de fushine sur la lame et on laisse agir pendant 1 min. On lave la lame une autre fois par l'eau distillée et on la sèche. Après le séchage, on passe à l'observation microscopique sous microscope optique (Grossissement x40). L'apparence des bactéries violettes au microscope est définie comme Gram positive.

### **3.3. Recherche de catalase**

La catalase est une enzyme qui a la propriété de décomposer l'eau oxygénée (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) avec dégagement d'oxygène selon la réaction suivante :



Ce test s'effectue en mettant une goutte du peroxyde d'hydrogène à 3% sur une lame contenant la bactérie à tester. Le résultat est considéré comme positive s'il ya l'apparition d'une bulle après 2 minute (**Sobrun *et al.*, 2012 ; Islam *et al.*, 2020**).

Les bâtonnets ou les cocci, Gram positive et de catalase négative sont présumés être des bactéries lactiques et sont retenues et conservées pour le test de l'activité antibactérienne (**Jones *et al.*, 2008 ; Kanak et Yilmaz, 2020**).

## **4. Etude de l'activité antibactérienne**

Afin d'évaluer le spectre d'activité des espèces lactiques (inhibitrices) contre certains bactéries pathogènes (indicatrices), nous avons utilisé la méthode direct appelée la méthode de Fleming qui repose sur la co-culture des souches inhibitrices et les souches indicatrices des 18 heures.

### **4.1. Préparation des cultures des 18 heures des bactéries lactiques**

Quatre à cinq colonies de chaque culture jeune des bactéries lactiques ont été prélevé à partir d'une culture de 48 h sur gélose MRS à l'aide d'une pipette Pasteur stérile. Ces colonies sont inoculées dans un tube à essai contenant 5 ml de bouillon MRS dans des conditions aseptiques puis incubé à 37 °C pendant 18 h.

#### **4.2. Préparation des cultures des 18 heures des souches pathogènes**

A partir des boîtes de géloses de 24 h contenant les souches pathogènes, nous avons prélevé une à deux colonies par boîtes à l'aide d'une pipette Pasteur stérile. Ces colonies ont été inoculées dans des tubes à essai contenant 5 ml de bouillon nutritif et incubé à 37 °C pendant 18h. Deux tubes ont été préparés pour chaque bactérie pathogène.

#### **4.3. Réalisation de test de spot**

La solution fraîche des souches de bactéries lactiques des 18 h estensemencée par la méthode des spots en déposant 5µl à l'aide d'une micropipette sur la gélose MRS séchée devant le bec bunsen à moitié ouvertes, de façon à obtenir quatre à cinq spots identiques et de petite taille dans chaque boîte. Les boîtes sont laissées sécher près de bec bunsen pendant 30 minutes, puis incubés à 37 °C pendant 24 h.

Après l'incubation, les spots sont recouverts par 10 ml de la gélose nutritif molle contenant 1 ml de la culture de 18h d'une souche indicatrice et homogénéisé délicatement afin d'éviter le décollement des spots. Après l'incubation à 37 °C pendant 24h, les zones d'inhibition ont été mesurées. L'apparition d'une zone transparente autour du spot témoigne de l'effet antagoniste des bactéries lactiques (**Fleming *et al.*, 1975**). La méthode est schématisée dans la **figure 04**.



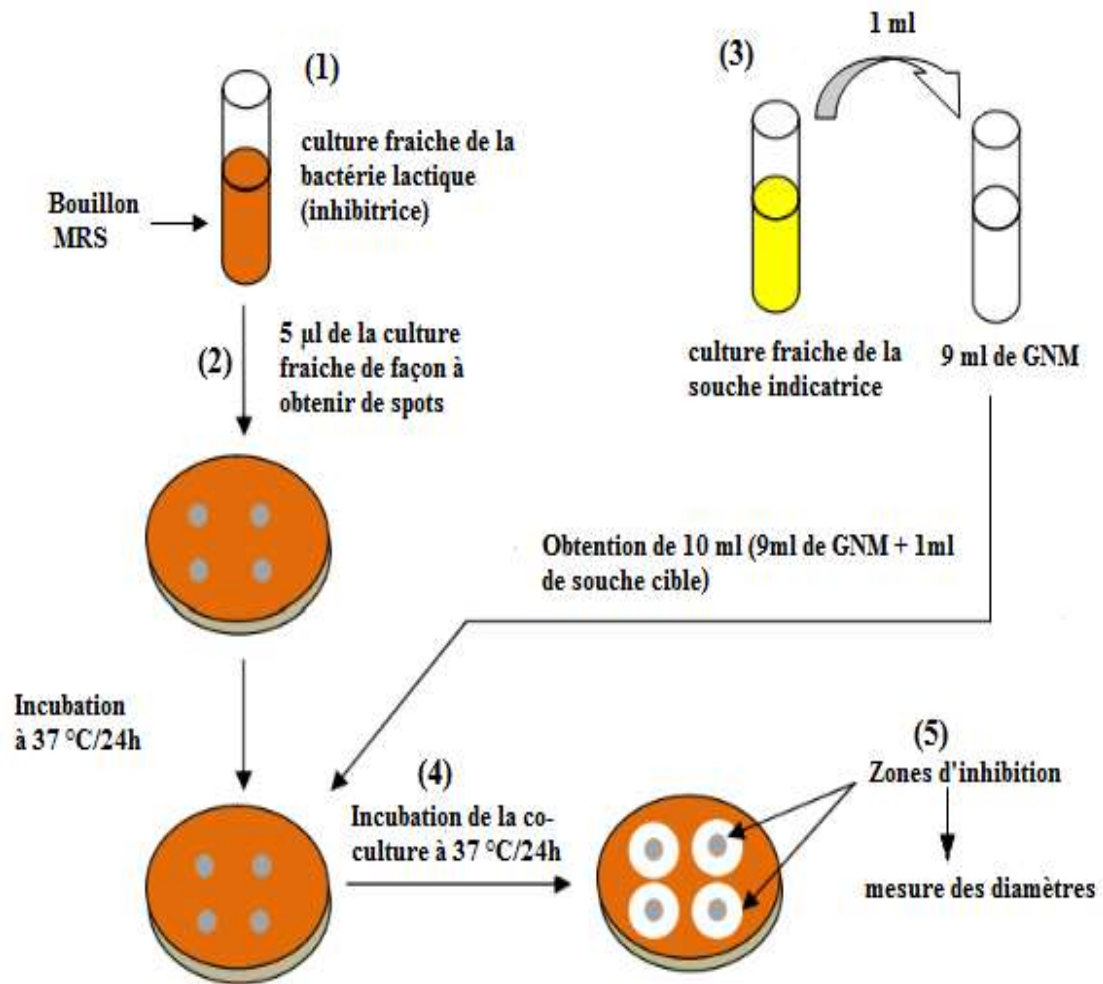


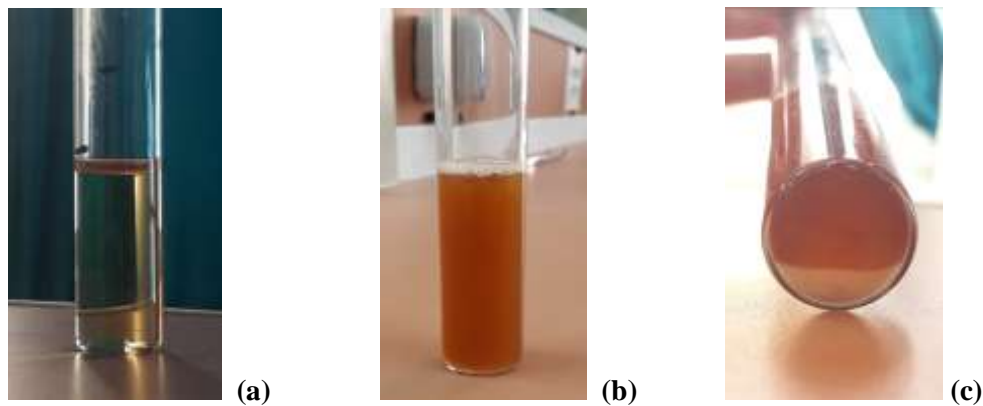
Figure 4: Méthode de test de spot.

# Résultats et Discussion

## **1. Etude morphologique des bactéries lactiques**

### **1.1. Les bactéries lactiques dans un milieu liquide**

La croissance des bactéries lactiques dans le bouillon MRS se traduit par l'apparition d'un trouble concentré au fond du tube à la recherche des conditions anaérobiques de ces microorganismes.



**Figure 05:** Développement des bactéries lactiques sur bouillon MRS. **a.** Bouillon MRS témoin, **b.** trouble des bactéries lactiques, **c.** précipitation des bactéries lactiques.

### **1.2. Aspect macroscopique des bactéries lactiques sur milieu solide**

L'observation à l'œil nu des cultures obtenues sur les boîtes de Petri contenant de la gélose MRS a permis de déduire les caractéristiques macroscopiques des colonies. Des colonies bien distinctes de 0.5 à 2 mm de diamètre, de forme rond, bombées ou plates, de bords réguliers de couleur blanchâtres, crème ou grise avec une surface lisse sont apparues sur la gélose MRS (figure 06). Les résultats sont résumés dans le **tableau IV**.



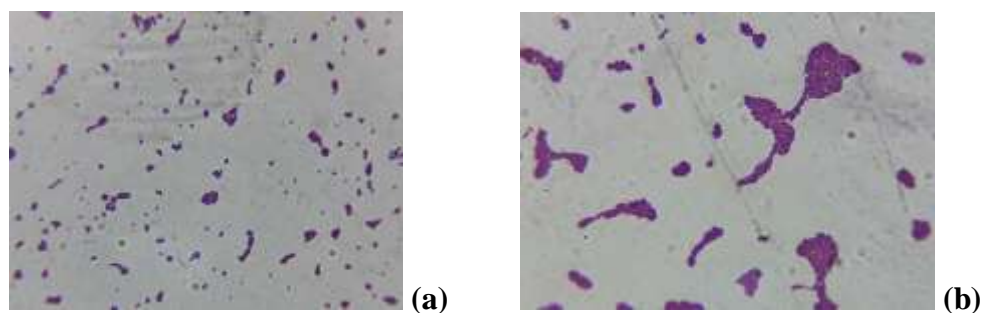
**Figure 06:** Aspect macroscopique des colonies des bactéries lactiques sur gélose MRS.

**Tableau IV:** Les caractéristiques macroscopiques des colonies des bactéries lactiques.

Code de la souche	La taille de la colonie en mm	La couleur	La forme	L'élévation	La surface des colonies	L'opacité
Lb 1	1	Blanche	arrondie	bombée	Lisse	opaque
Lb 9	1	Crème	arrondie	bombée	Lisse	opaque
Lb 12a1	2	Blanche	arrondie	Bombée	lisse	opaque
Lb 15	2	Blanche	arrondie	Bombée	lisse	opaque
Lb 22	1	grisâtre	arrondie	plate	lisse	opaque
Lb 23	1,5	crème	arrondie	bombée	lisse	opaque
Lb 30	1,5	crème	irrégulière	plate	lisse	opaque
Lb 33	2,5	crème	arrondie	bombée	lisse	opaque

### 1.3. Etude microscopique

L'étude microscopique par microscope optique après coloration de Gram, nous a révélé que toutes les souches sont à Gram positif. Ce test nous a permis aussi de distinguer la morphologie qui peut se présenter en forme de coques ou bâtonnets. Le mode d'association varie d'une souche à l'autre en paires ou en chainettes ou en amas (figure 07).



**Figure 07:** Aspect microscopique des bactéries lactiques apparues sous microscope optique (G x40) (**a.** forme cocci, **b.** forme bacille).

#### 1.4. Test de catalase

L'identification des bactéries lactiques est complétée par le test de recherche de catalase. Le test a révélé l'absence de dégagement de gaz ( $O_2$ ), les résultats obtenus montrent donc que toutes nos souches ont une catalase négative (figure 08).



**Figure 08:** Résultat de test de catalase (catalase négative).

Les différents caractères microscopiques et biochimiques des bactéries lactiques sont résumés dans le tableau V.

**Tableau V:** Résultats de l'étude microscopique et biochimique des bactéries lactiques.

Code de souche	Gram	Catalase	Forme	Mode d'association
Lb 1	+	-	coccis	Coccis en chainettes et en amas
Lb 9	+	-	bacille	En amas
Lb 12a1	+	-	coccis	Diplocoques et en chainettes
Lb 15	+	-	coccis	Diplocoques, coccis en tétrades et en amas
Lb 22	+	-	coccis	Diplocoques et en chainettes
Lb 23	+	-	coccis	En amas
Lb 30	+	-	coccis	En amas
Lb 33	+	-	coccis	En chainettes

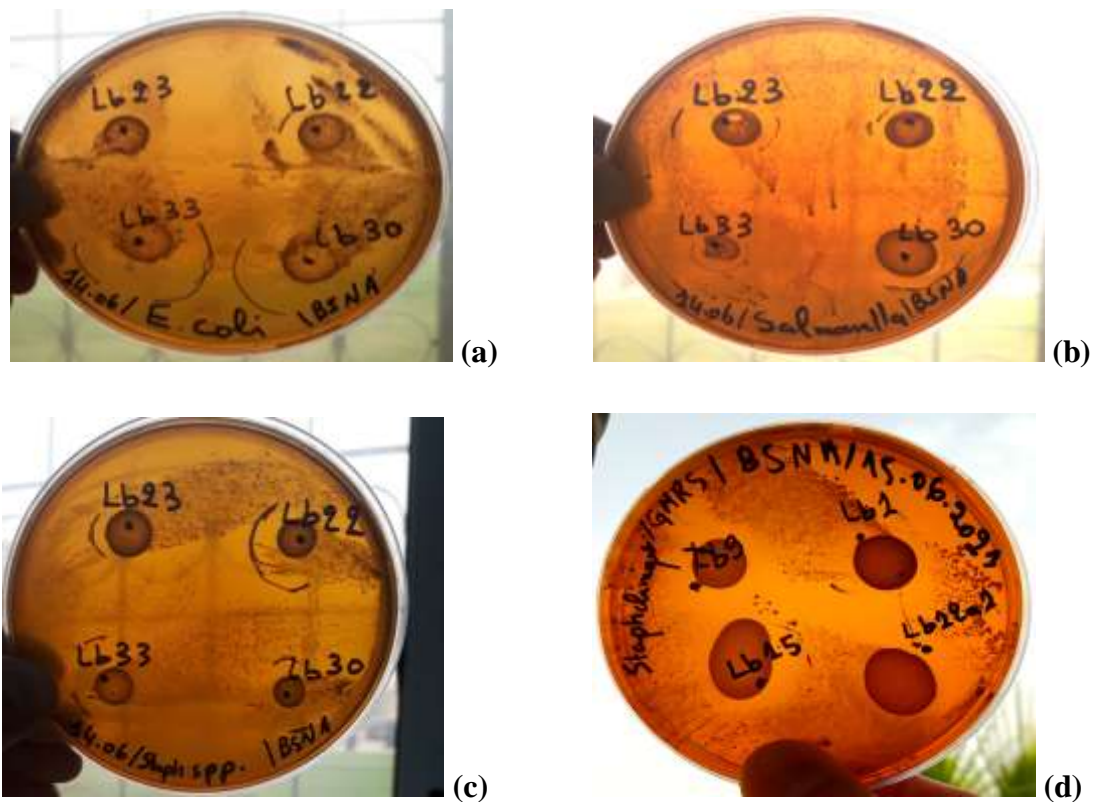
D'après les résultats des ces trois tests (examen macroscopique, coloration de Gram et le test de catalase), on peut dire que les huit souches possèdent les caractères décrites par la littérature pour les bactéries lactiques, c'est-à-dire les bactéries sont : Gram positif, catalase négative, en forme de coques ou bâtonnets isolées ou disposées en paires ou en chaines. Donc, nos souches appartiennent au groupe des bactéries lactiques ( **Jones *et al.*, 2008** ; **Kanak et Yilmaz, 2020**).

## **2. Résultats de l'effet antagoniste des bactéries lactiques**

Dans cette partie nous sommes focalisée sur la mise en évidence de l'effet antagoniste des bactéries lactiques vis-à-vis des quatre souches pathogènes à savoir *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Staphylococcus spp*, *Staphylococcus* clinique, par la méthode des spots (**Fleming *et al.*, 1975**). Les différentes associations ont été réalisées en trois répliques.

Les résultats sont exprimés en mm, par mesure du diamètre de la zone d'inhibition de la souche pathogène. Les zones d'inhibition sont claires avec des bordures bien distinctes au tour des spots de bactéries lactiques, avec des pelages d'inhibition variables (entre 10 mm et

40 mm). L'inhibition est notée positive lorsqu'elle est supérieure à 1 mm (Schillinger et Lucke ,1989). Toutes les souches présentaient un effet inhibiteur (figure 09).



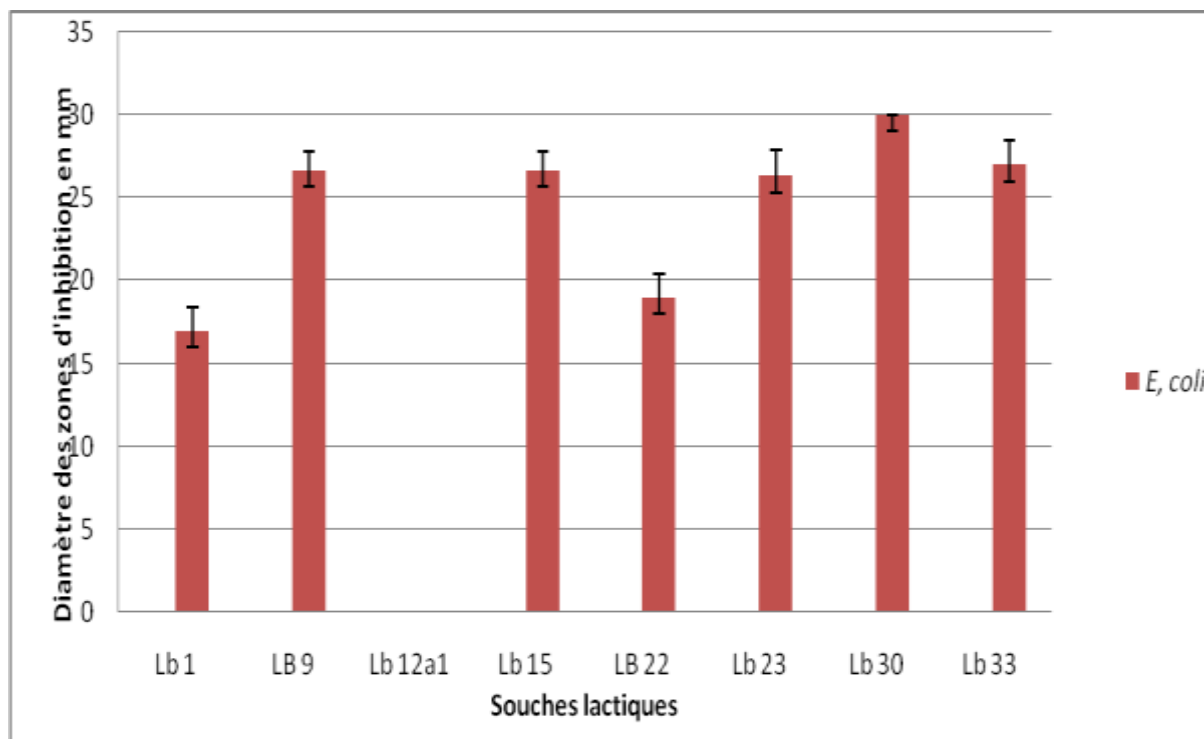
**Figure 09:** Résultats de test de spot à l'égard des bactéries pathogènes testées

(a. envers *E. coli* b. envers *salmonella*, c. envers *S. spp.*, d. envers *S. clinique*)

Les résultats d'interactions entre les bactéries lactiques et les bactéries pathogènes sont représentés sous forme d'histogramme qui décrivent les diamètres des zones d'inhibition en mm après l'interaction avec les huit bactéries lactiques, ces résultats sont mentionnés dans les figures 10, 11, 12, 13.

## 2.1. L'activité antibactérienne vis-à-vis d'*E.coli*

Ces résultats montrent que sur le totale de huit souches, sept souches lactiques ont un effet inhibiteur plus au moins important (un diamètre varie de 10 mm à 30 mm) vis-à-vis d'*E. coli*. Par contre la souche Lb 12a1 n'a pas pu inhiber la croissance de la bactérie indicatrice. Lb 30 possède l'activité antibactérienne la plus importante avec une zone d'inhibition de 30 mm, par contre la souche Lb 1 a montré un effet le plus faible (figure 10).



**Figure 10:** Résultats obtenus par le test de spot à l'égard d'*E. coli*.

Les résultats trouvés dans notre étude sont en accord avec ceux obtenus par Çadirci *et al.*, 2005. Leur étude a révélé que les deux souches : *Lactobacillus helveticus* et *Lactobacillus plantarum* possèdent une activité inhibitrice contre *E. coli* avec un diamètre d'inhibition de 24.5 mm et 28 mm respectivement. Les travaux de Abedi *et al.*, 2013 ont montré que *Lactobacillus delbrueckii* a la capacité d'inhiber la croissance d'*E. coli* avec une zone d'inhibition de 21,1 mm. D'autre part, les chercheurs Reuben *et al.*, 2019 ont mis en évidence un puissant pouvoir inhibiteur de *Pediococcus acidilactici* et de *Lactobacillus reuteri* contre *E. coli* avec une zone d'inhibition de 20 mm. Selon Dib *et al.*, 2012, *Lactobacillus plantarum* avait une activité antibactérienne envers *E. coli* avec une zone d'inhibition la plus large de 21 mm.

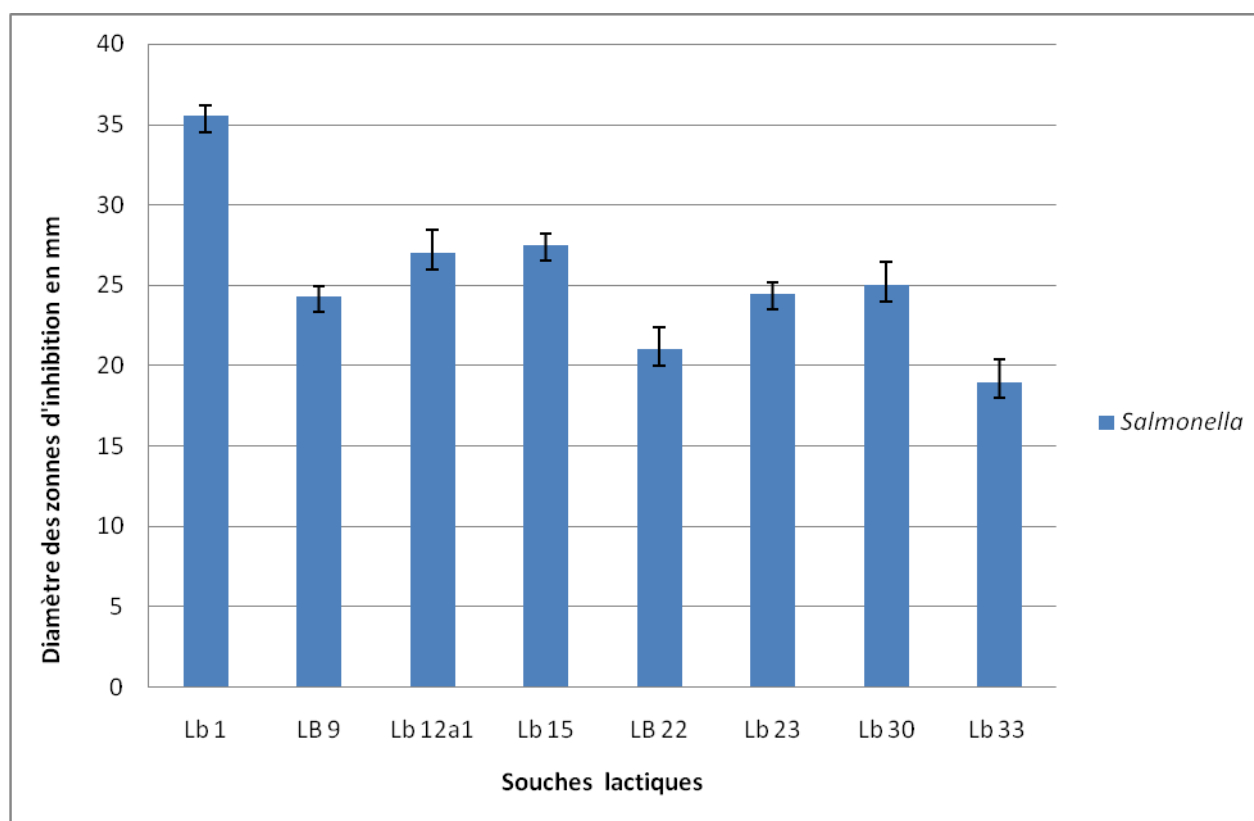


D'autre part, nos résultats sont plus intéressants que ceux obtenus par **Anes et al., 2014**, qui ont enregistré une zone de 14 mm lorsqu'ils ont étudié l'activité antibactérienne de *Lactobacillus plantarum* contre *E. coli* et ceux trouvés par **Dib et al., 2012** qui ont étudié l'activité antibactérienne de *Lactobacillus paracasei* envers *E. coli* et qui ont enregistré une zone plus réduite (12 mm).

## 2.2. L'activité antibactérienne vis-à-vis de *Salmonella*

Au total, les huit souches bactériennes ont présenté un effet antagoniste contre *Salmonella*, cette interaction positive indique l'inhibition de la croissance de la souche testée, et montre une activité antagoniste qui est traduite par l'apparition des zones d'inhibition.

La souche ayant l'activité la plus importante c'est la souche Lb 1 avec une zone d'inhibition de 35.5 mm de diamètre. Les souches Lb 9, Lb 12a1, Lb 15, Lb 22, Lb23, Lb30, Lb33, montrent des activités inhibitrices convergentes, avec des zones d'inhibition allant de 19 mm à 27 mm (figure 11).



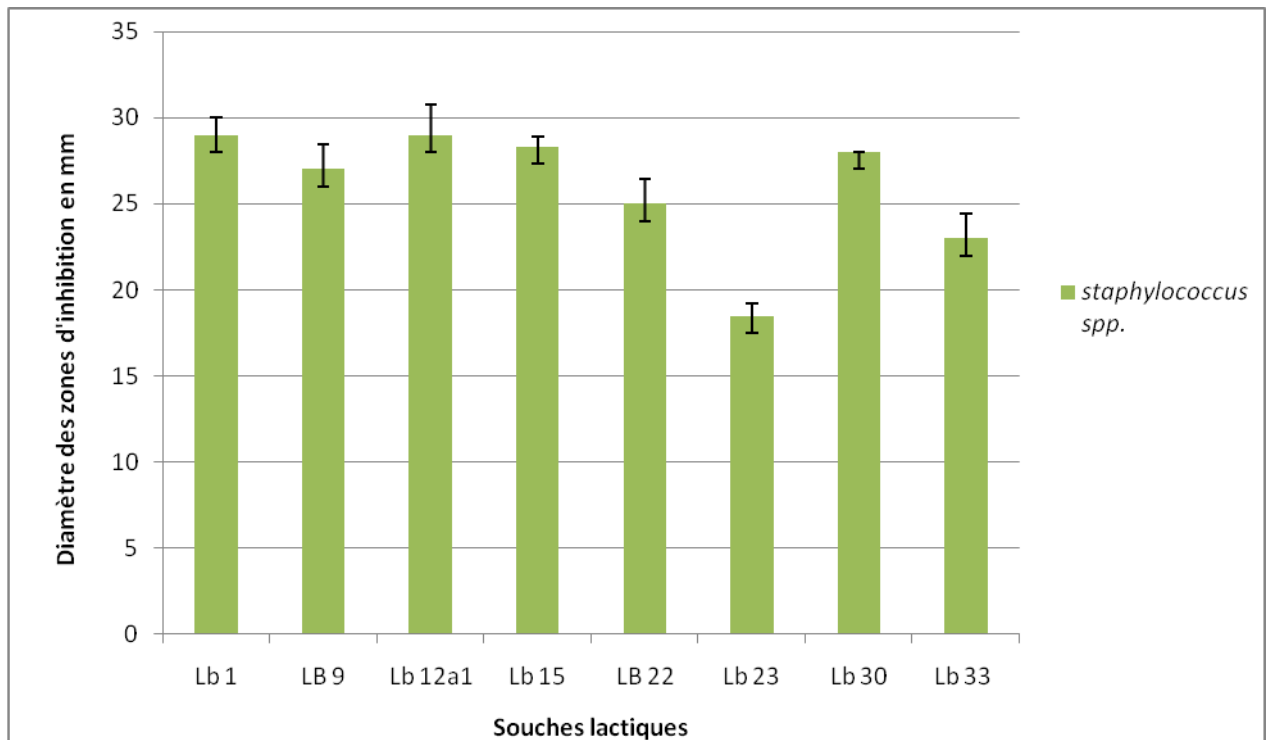
**Figure 11:** Résultats obtenus par le test de spot à l'égard de *Salmonella*.

Nos résultats sont supérieurs à ceux trouvés par l'étude réalisée par **Miyamoto et al., 2000** sur l'activité antibactérienne des bactéries lactiques isolées du contenu cloacal du mucus vaginal de poules. Cette étude a montré un effet inhibiteur envers *Salmonella enteritidis* par des souches de lactobacilles. Un diamètre de 12 mm est enregistré avec *Lactobacillus salivarius* et 11 mm pour *Lactobacillus acidophilus*. Selon **Dib et al., 2012**, la croissance des souches de *Salmonella* a été inhibée avec un halo d'inhibition de 20 mm de diamètre par *Lactobacillus casei*, ce qui est en accord avec nos résultats, bien que *Lactobacillus plantarum* a montré une faible activité antibactérienne contre *Salmonella* (14 mm). Une activité antibactérienne des isolats naturels de lactobacilles contre *Salmonella typhi* suivant la méthode de diffusion par puits d'agar a révélé une zone d'inhibition de 25.25 mm enregistrée par *Lactobacillus plantarum* et 11.33 mm par *Lactobacillus acidophilus* (**Halder et al., 2017**).

L'étude de **Reuben et al., 2019**, a révélé un effet antagoniste vis-à-vis de *S. Enteritidis* des souches probiotiques potentielles de bactéries lactiques provenant de tractus gastro-intestinal de poulets de chair contre les bactéries pathogènes. Les résultats montrent une zone d'inhibition de 17 mm obtenu par *Pediococcus acidilactici* et 14 mm par *Lactobacillus reuteri*. L'interaction des isolats de *Pediococcus acidilactici* contre *Salmonella typhimurium* est traduite par un halo d'inhibition de 20,41 mm (**Salehizadeh et al., 2020**).

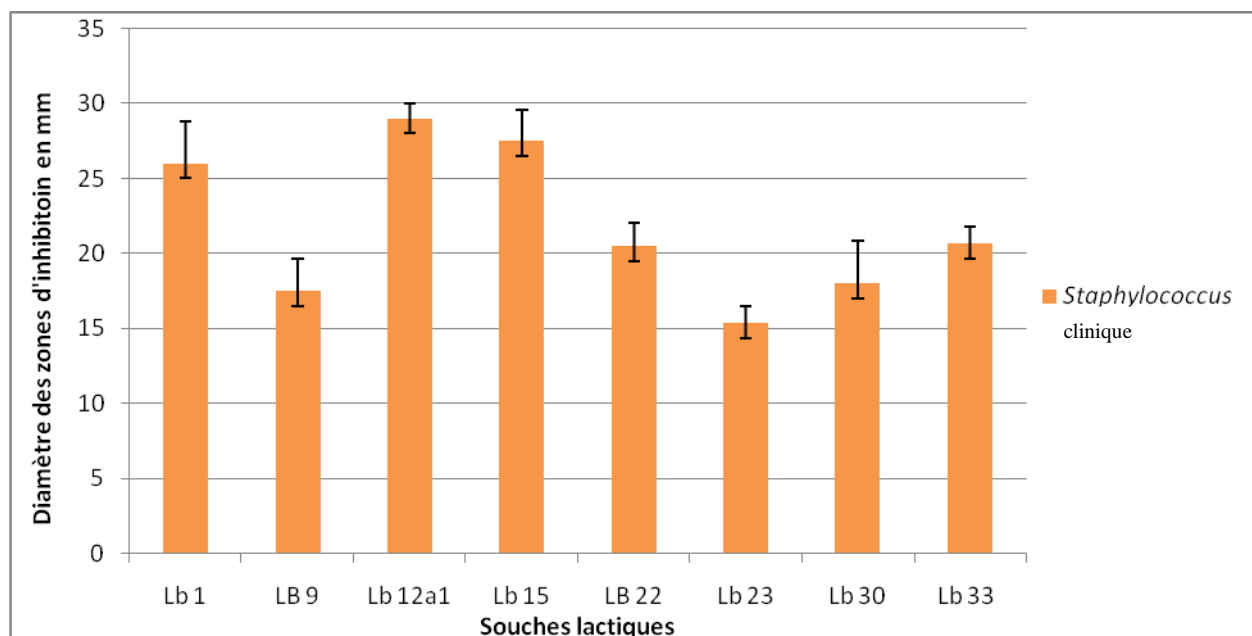
### 2.3. L'activité antibactérienne vis-à-vis de *Staphylococcus*

Les résultats de l'interaction entre les bactéries lactiques et *Staphylococcus spp.* montrent une activité antibactérienne importante avec un diamètre de zone d'inhibition allant de 18.5 mm à 29 mm. Les souches qui ont enregistré le large diamètre sont Lb 1 et Lb 12a1 avec un diamètre de 29 mm. Par ailleurs Lb 23 a montré un diamètre le plus réduit avec une mesure de 18.5 mm (figure 12).



**Figure 12:** Résultats obtenus par le test de spot à l'égard de *Staphylococcus spp.*

Ces résultats montrent que toutes les souches lactiques ont un effet inhibiteur plus au moins important (un diamètre varie de 15.33 mm à 29 mm) vis-à-vis de *Staphylococcus* clinique. Les souches Lb 1, Lb 12a1 et Lb 15 possèdent l'activité antibactérienne la plus importante avec des zones d'inhibition de 26 mm, 29 mm et 27.5 mm respectivement, par contre la souche Lb 23 a montré un effet plus faible avec un diamètre de 15.33 mm de mesure.



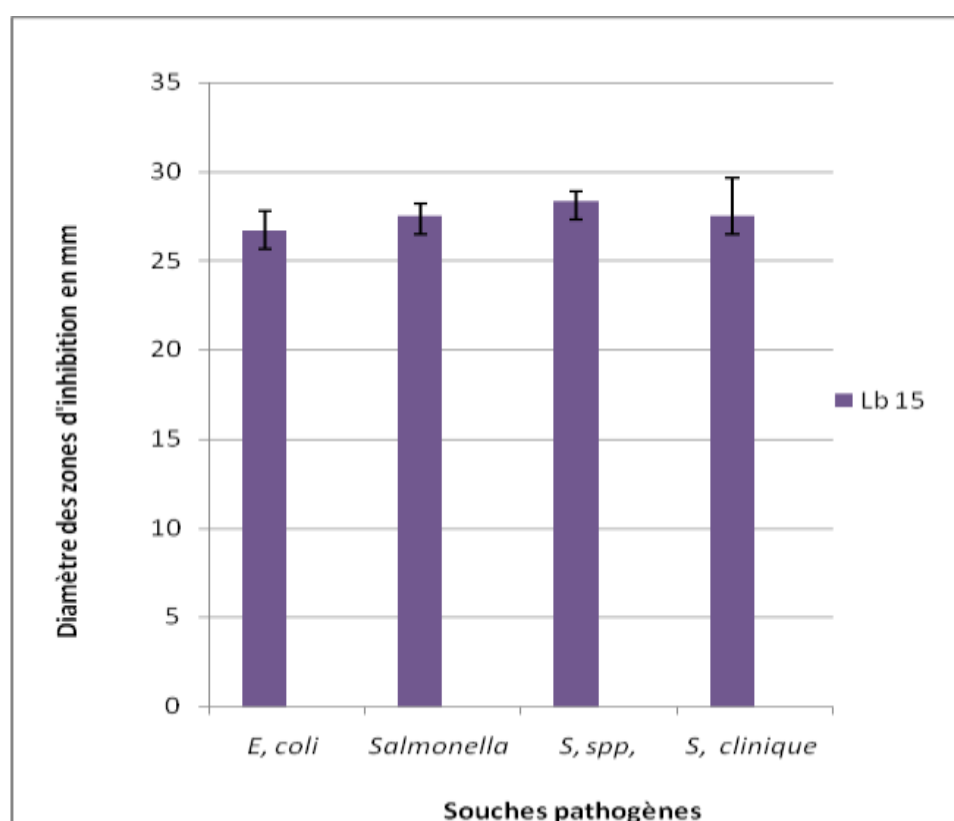
**Figure 13:** Résultats obtenus par le test de spot à l'égard de *Staphylococcus* clinique.

Les diamètres d'inhibition enregistrés par notre étude sont convergents à ceux obtenus par **Allouche et al., 2010**, qui ont révélé l'activité antimicrobienne des souches de *Lactobacillus thermophilus* sélectionnées vis-à-vis de *S. aureus* avec un diamètre d'inhibition de 21.5 mm, et **Zanzan et al., 2018** qui ont montré l'effet antagoniste des entérocoques (*E. faecium* et *E. faecalis*) envers *S. aureus*, avec un halo d'inhibition de 20 mm à 30 mm de diamètre. **Karska-Wysocki et al., 2010** ont aussi trouvé que des mélanges contenant différents rations de souches lactiques (*Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*) présentent une activité antibactérienne contre *Staphylococcus aureus*, dont la zone d'inhibition mesure environ 30 mm. En revanche, l'étude de **Djadouni et Kihal, 2012** a révélé que *Lactobacillus* sp et *Leuconostoc* sp ont un effet inhibiteur envers *S. aureus*, dont la zone d'inhibition est de 14 mm. Selon **Alebiosu et al., 2017**, *Lactobacillus fermentum* présente une zone d'inhibition de 11 mm vis-à-vis le *Staphylococcus aureus*, alors que le diamètre de la zone d'inhibition a mesuré 13 mm pour *Lactobacillus plantarum*.

Parmi les quatre souches indicatrices étudiées, *S. spp* et *Salmonella* étaient les bactéries les plus sensibles, les huit bactéries lactiques testés ont pu inhiber leur croissance. Par contre *E. coli* et *S. clinique* étaient moins sensibles.

## 2.4. Spectre d'action des bactéries lactiques

D'après l'analyse des résultats obtenus, on remarque que la bactérie lactique Lb 15 est douée d'un large spectre d'action, traduit par des grands pelages d'antagonisme allant de 26.5 mm à 28.5 mm envers les quatre souches pathogènes. Sachant que Lb 15 présente l'activité la plus importante contre *S. spp.* Cela indique que cette souche possède une activité antibactérienne importante (figure 14).



**Figure 14:** Spectre d'action de la souche Lb 15 envers les bactéries pathogènes.

La souche Lb 1 présente une zone d'inhibition de 35.5 mm à l'égard de *Salmonella*, par ailleurs elle a enregistré un diamètre le plus réduit (17 mm) envers *E. coli*.

Lb 9 a présenté des zones d'inhibition convergentes de 26.6 mm, 24.33 mm, 27 mm, envers *E. coli*, *Salmonella*, *S. spp.* respectivement. Par contre un diamètre de 17.5 mm est enregistré envers *S. clinique* comme étant le plus réduit.

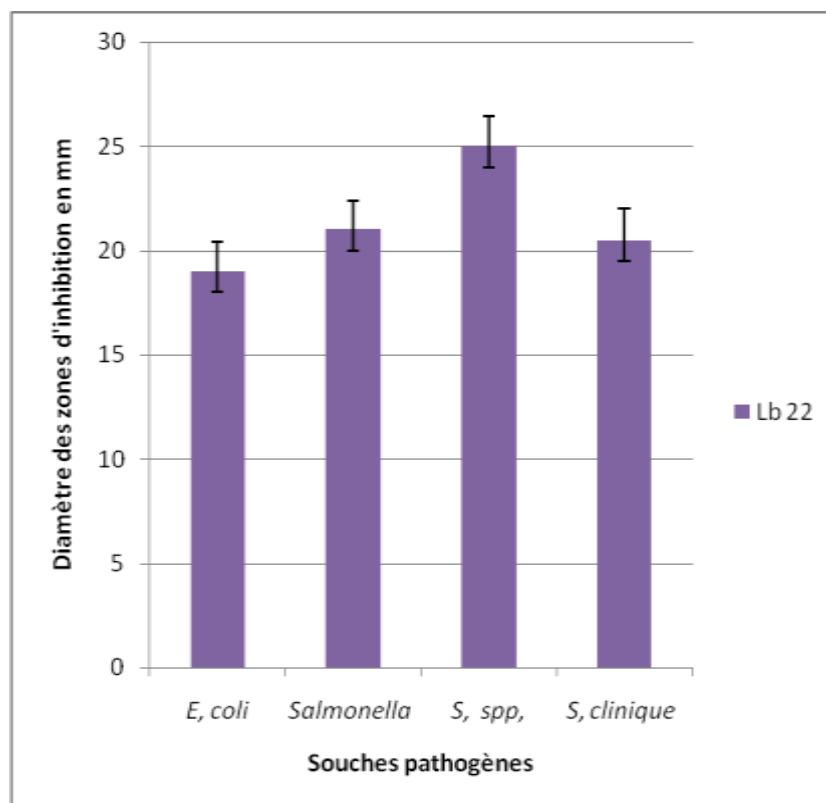
Lb 12a1 ne présente pas un effet inhibiteur contre *E. coli*, néanmoins elle présente des larges pelages d'inhibition de 29 mm contre les staphylocoques, et de 27 mm envers *Salmonella*.

La souche Lb 23, présente des zones d'inhibitions modérées, dont les diamètres sont de 26.3 mm et 24.5 mm envers *E. coli* et *Salmonella* respectivement, alors que les diamètres contre les staphylocoques sont plus réduits (18.5 mm pour *S. spp.* et 15.3 mm pour *S. clinique*).

L'interaction de Lb 30 contre les bactéries indicatrices présente des diamètres d'inhibition allant de 25 mm à 30 mm à l'égard de *E. coli*, *Salmonella* et *S. spp.*. Par ailleurs, cette souche a enregistré un diamètre moindre contre *S. clinique* (18 mm).

Pour Lb 33, l'activité antibactérienne la plus importante a été enregistrée envers *E. coli* avec un diamètre de 27 mm. Pendant que elle a enregistré des pelages réduits et convergents envers les autres bactéries pathogènes allant de 19 mm à 23 mm.

Parmi les bactéries lactiques qu'on a testé, Lb 22 a présenté un spectre d'action contre les quatre souches indicatrices, cependant les diamètres d'inhibition enregistrés sont les plus réduits par rapport aux autres bactéries lactiques, l'activité la plus élevée était envers *S. spp.* (25 mm), des diamètres de 19 mm, 20.5 mm et 21 mm ont été enregistré envers *E. coli*, *S. clinique* et *Salmonella* respectivement (figure 15).



**Figure 15:** Spectre d'action de la souche Lb 22 envers les bactéries pathogènes.

D'après les résultats obtenus après l'interaction des isolats de bactéries lactiques testés avec les bactéries à Gram négatif, *E. coli*, *Salmonella* et à Gram positif à savoir *S. spp.* et *S. clinique*, on a déduit que les huit isolats ont montré des effets antagonistes contre tous les micro-organismes indicateurs testés, à l'exception de Lb 12a1 qui n'a montré aucun effet inhibiteur envers *E. coli*. Cependant, les degrés d'antagonisme variaient entre eux.

Nos résultats sont en accord avec ceux trouvés par **Musicasang et al., 2009**, leur étude révèle que vingt souches lactiques ont un effet antagoniste contre les bactéries à Gram positif et à Gram négatif, notamment *E. coli*, *Salmonella sp.*, et *S. aureus*. **Labiau et al., 2005**, ont aussi trouvé les mêmes résultats lorsque ils ont étudié l'activité de 20 souches lactiques isolées à partir des biotopes différentes contre des microorganismes pathogènes Gram positif et négatif. Par contre **Anas et al., 2008**, ont montré que les bactéries à Gram positif (*S. aureus*), sont plus sensibles aux effets antagonistes des lactobacilles que les Gram négatif (*E. coli*).

L'effet antagoniste des bactéries lactiques est du à la production de nombreuses molécules antibactériennes dont les plus étudiées sont les bactériocines, les acides organiques, le peroxyde d'hydrogène, la reutéline et le diacétyle (**Siedler et al., 2019**).

Les bactériocines produites par les bactéries lactiques sont surtout actives sur les pathogènes à Gram positif, elles agissent en formant des pores dans la membrane cytoplasmique, ce qui entraîne un dérèglement de fonctions cellulaires (**McAuliffe et al., 2001 ; Gravesen et al., 2002**). D'après **Allouche et al., 2010**, l'effet antagoniste de *Lactobacillus acidophilus* contre *Escherichia coli* est du à une activité antimicrobienne, qui est entièrement détruite sous l'action des enzymes protéolytiques, ceci suggère que la partie biologiquement active de la bactériocine est de nature protéique (**Allouche et al., 2010**). Les travaux de **Najett, 2018**, portent sur le criblage pour la production de substances antagonistes qui a été réalisé dans des conditions excluant toute inhibition éventuelle qui pourrait être due à l'acidité ou à la production du peroxyde d'hydrogène ou aux peptides bioactifs ont conduit à conclure que la croissance de *Salmonella sp.* peut être inhiber par les bactériocines.

Toutefois et en basant sur des études récentes, **Al Kassaa et al., 2015** déduiraient que certains bactériocines produites par des bactéries lactiques appartenant aux genre *Lactobacillus* et *Enterococcus* ont un spectre d'activité plus large incluant des bactéries à Gram positif et à Gram négatif également. Les bactériocines produites par les bactéries lactiques présentent plusieurs avantages, En effet, elles permettent aux bactéries lactiques bactériocinogènes d'exercer un effet compétitif auprès des microorganismes dans les écosystèmes naturels. Elles peuvent être utilisées comme alternatifs aux antibiotiques, ou en association avec les antibiotiques naturels (**Al Kassaa et al., 2015**).

Selon **Hassanzadazar et al., 2014**, l'activité antibactérienne des bactéries lactiques envers les bactéries à Gram négatif s'est avérée être due à leur production d'acide organique, et non de peroxyde d'hydrogène ou de bactériocines. Alors que, *Entérocooccus spp.* a la capacité d'inhiber les bactéries par différents mécanismes tels que la production d'entérotoxines (**Zanzan et al., 2018**).

D'après **Karska-Wysocki et al., 2010**, l'optimisation de l'activité antibactérienne des bactéries lactiques envers *Staphylococcus aureus* peut se faire par la combinaison des différents isolats lactiques, ces isolats peuvent produire plusieurs composants antibactériens,



qui sont absents lorsque chaque espèce a été cultivée séparément en monoculture pure. Les données montrent que les cultures des bactéries lactiques ont produit les composés antibactériens réduisant le nombre de cellules de *Staphylococcus aureus* de plus de  $5 \log_{10}$  UFC de population en 24 h à 37 °C (Karska-Wysocki *et al.*, 2010).

Suivant Cleusix *et al.*, 2007 ; Amara et Shibl, 2015 ; Mu *et al.*, 2018 ; Mohammed *et al.*, 2020, la reutéline produite par *Lactobacillus reuteri* possède une activité antibactérienne contre les bactéries à Gram positif à savoir *Staphylococcus* et les bactéries à Gram négatif y compris *Salmonella* et *E. coli*.

L'étude de Lanciotti *et al.*, 2003, a révélé que le diacétyl est capable d'empêcher la croissance d'*E. coli* et *S. aureus*. D'autre part, Tejero-Sariñena *et al.*, 2012 ont déduit que l'inhibition de la croissance de *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, est due à la diminution du pH provoqué par la libération des acides organiques produits par les bactéries lactiques.

# Conclusion

Les bactéries lactiques constituent une partie de la microflore naturelle de poulet. Elles possèdent un large éventail des propriétés bénéfiques dont la plus intéressante est leur capacité de synthétiser des molécules antibactériennes telles que les bactériocines et les acides organiques. Notre travail a été consacré donc à l'identification de huit souches lactiques, isolées à partir de la matière fécale de poulet de chair, à travers un examen microscopique, macroscopique et biochimique ainsi que l'étude de leur pouvoir antagoniste vis-à-vis des microorganismes pathogènes de poulets de chair qui appartiennent aux espèces suivantes : *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Staphylococcus spp*, et *Staphylococcus clinique*.

Les résultats obtenus montrent que les huit souches lactiques possèdent une activité inhibitrice envers les quatre espèces indicatrices, Gram positif et Gram négatif. Les isolats Lb 1 et Lb 30 ont présenté les zones d'inhibition les plus larges (30 mm) envers *Salmonella* et *E. coli* respectivement. La souche Lb 15 est douée d'un large spectre d'action, traduit par des diamètres d'inhibition allant de 26.5 mm à 28.5 mm envers les quatre souches pathogènes. Alors que Lb 22 a présenté un spectre d'action contre les quatre souches indicatrices, néanmoins, les diamètres d'inhibition enregistrés sont les plus réduits par rapport aux autres bactéries lactiques.

En perspectives, ce travail peut être approfondi par l'étude génomique des bactéries lactiques productrices des molécules antibactériennes, ainsi l'identification et la purification de ces substances antibactériennes et la détermination de leurs propriétés physicochimiques, ce qui peut aboutir à leur optimisation, production et à leur utilisation comme des succédanés des antibiotiques pour la prévention, voire le traitement de certaines maladies infectieuses.

# Références Bibliographiques

## A

- Abdel-Rahman, M. A., Tashiro, Y., Sonomoto, K.** (2013). Recent advances in lactic acid production by microbial fermentation processes. *Biotechnology advances*, 31(6), 877-902.
- Abedi, D., Feizizadeh, S., Akbari, V., Jafarian-Dehkordi, A.** (2013). *In vitro* anti-bacterial and anti-adherence effects of *Lactobacillus delbrueckii subsp bulgaricus* on *Escherichia coli*. *Research in pharmaceutical sciences*, 8(4), 260.
- Adeoshun, F. G., Ruppitsch, W., Allerberger, F., Ayeni, F. A.** (2019). Prevalence and antimicrobial properties of lactic acid bacteria in nigerian women during the menstrual cycle. *Polish journal of microbiology*, 68(2), 203
- Al Kassaa, I., Belguesmia, Y., Chihib, N. E., Hamze, M., Bendali, F., Nagmouchi, K., Drider, D.** (2015). Applications des bacteriocines et bactéries lactiques dans le contrôle des pathogènes alimentaires, Chapitre 10.
- Alebiosu, K. M., Adetoye, A., Ayeni, F. A.** (2017). Antimicrobial activities of lactic acid bacteria against *Pseudomonas aeruginosa*, *Providencia vermicola*, *Alcaligenes faecalis* and methicillin resistant *S. aureus*. *West African Journal of Pharmacy*, 28(2), 132-142.
- Allouche, F. N., Hellal, A., Laraba, A.** (2010). Etude de l'activité antimicrobienne des souches de lactobacilles thermophiles utilisées dans l'industrie laitière. *Nature & Technology*, (3), 13.
- Alomar, J.** (2007). Étude de propriétés physiologiques de *Lactococcus lactis* et de *Lactococcus garvieae* pour la maîtrise de *Staphylococcus aureus* en technologie fromagère (Doctoral dissertation, Institut National Polytechnique de Lorraine).
- Amara, A. A., Shibl, A.** (2015). Role of Probiotics in healthimprovement, infection control and diseasetreatment and management. *Saudi pharmaceutical journal*, 23(2), 107-114.
- Anas, M., Ahmed, K., Mebrouk, K.** (2014). Study of the antimicrobial and probiotic effect of *Lactobacillus plantarum* isolated from raw goat's milk from the region of Western Algeria. *World Applied Sciences Journal*, 32(7), 1304-1310.

- Anas, M., Eddine, H. J., & Mebrouk, K.** (2008). Antimicrobial activity of *Lactobacillus* species isolated from Algerian raw goat's milk against *Staphylococcus aureus*. *World J Dairy Food Sci*, 3(2), 39-49.
- Ang, L. Y. E., Too, H. K. I., Tan, E. L., Chow, T. K. V., Shek, P. C. L., Tham, E., Alonso, S.** (2016). Antiviral activity of *Lactobacillus reuteri* protectis against Coxsackievirus A and Enterovirus 71 infection in human skeletal muscle and colon cell lines. *Virology journal*, 13(1), 1-12.
- Apajalahti J, Kettunen A, Graham H.** (2004). Characteristics of the gastrointestinal microbial communities, with special reference to the chicken. *Worlds Poultry Science Journal*; 60.
- Arasu, M. V., Al-Dhabi, N. A., Ilavenil, S., Choi, K. C., Srigopalram, S.** (2016). *In vitro* importance of probiotic *Lactobacillus plantarum* related to medical field. *Saudi journal of biological sciences*, 23(1), S6-S10.
- Arous, S., Dalet, K., Héchard, Y.** (2004). Involvement of the mpo operon in resistance to class IIa bacteriocins in *Listeria monocytogenes*. *FEMS microbiology letters*, 238(1), 37-41.
- Arqués, JL, Rodríguez, E., Langa, S., Landete, JM and Medina, M.** (2015). Antimicrobial activity of lactic acid bacteria in dairy products and the intestine: effect on pathogens. *Bio Med Research International*.
- Aryana, K. J., Olson, D. W.** (2017). A 100-Year Review: Yogurt and Other cultured dairy products. *Journal of Dairy Science*, 100(12), 9987-10013
- Asare, P. T., Zurfluh, K., Greppi, A., Lynch, D., Schwab, C., Stephan, R., Lacroix, C.** (2020). Reuterin demonstrates potent antimicrobial activity against a broad panel of human and poultry meat *Campylobacter* spp. isolates. *Microorganisms*, 8(1), 78.
- Axelsson, L.** (2004). Lactic acid bacteria: classification and physiology. *Food science and technology-new york-marcel dekker*, 139, 1-66.
- Axelsson, L. T., Chung, T. C., Dobrogosz, W. J., Lindgren, S. E.** (1989). Production of a broad spectrum antimicrobial substance by *Lactobacillus reuteri*. *Microbial ecology in health and disease*, 2(2), 131-136.

## B

- Badis, A., Guetarni, D., Boudjema, B. M., Henni, D. E., & Kihal, M.** (2004). Identification and technological properties of lactic acid bacteria isolated from raw goat milk of four Algerian races. *Food Microbiology*, 21(5), 579-588.
- Barbour, E. K., Jurdi, L. H., Talhouk, R., Qatanani, M., Eid, A., Sakr, W., Spasojevic, R.** (1999). Emergence of *Salmonella enteritidis* outbreaks in broiler chickens in the Lebanon: epidemiological markers and competitive exclusion control. *Revue scientifique et technique-Office international des épizooties*, 18, 710-714.
- Barnes, H. J., Whiteman, C. E., Bickford, A. A.** (1989). Avian disease manual.
- Bauer R. Dicks L.M.T.,** (2005). Mode of action of lipidII-targeting lantibiotics. *International Journal of Food Microbiology.*, 101, 201-216.
- Béal, C., Marin, M., Fontaine, E., Fonseca, F., Obert, J. P.** (2008). Production et conservation des ferments lactiques et probiotiques.
- Bernardeau, M., Guguen, M. and Vernoux, JP.** (2006). Beneficial lactobacilli in food and feed: long-term use, biodiversity and proposals for specific and realistic safety assessments. *FEMS Microbiology Examinations*, 30 (4), 487-513.
- Bintsis, T.** (2018). Lactic acid bacteria as starter cultures: An update in their metabolism and genetics. *AIMS microbiology*, 4(4), 665.
- Bornert, G.** (2000). Le poulet sans salmonelles: mythe ou réalité. *Revue Méd. Vét*, 151(12), 1083-1094.
- Braden, C. R.** (2006). *Salmonella enterica* serotype Enteritidis and eggs: a national epidemic in the United States. *Clinical Infectious Diseases*, 43(4), 512-517.

## C

- Çadirci, B. H., Çitak, S.** (2005). A comparison of two methods used for measuring antagonistic activity of lactic acid bacteria. *Pakistan Journal of Nutrition*, 4(4), 237-241.

- Carr, F. J., Chill, D., Maida, N.** (2002). The lactic acid bacteria: a literature survey. *Critical reviews in microbiology*, 28(4), 281-370.
- Carter, A. J., Adams, M. R., Woodward, M. J., La Ragione, R. M.** (2009). Control strategies for *Salmonella* colonization of poultry: The probiotic perspective. *Food Science Technology*, 5, 103-15.
- Castagnos, S.** (2003). Contribution à l'étude de l'efficacité d'une flore de barrière indéfinie (AVIGUARD) contre les salmonelles sur des poulets labels du Sud-Ouest (Doctoral dissertation).
- Castellanos, L. R., Donado-Godoy, P., León, M., Clavijo, V., Arevalo, A., Bernal, J. F., Hordijk, J.** (2017). High heterogeneity of *Escherichia coli* sequence types harbouring ESBL/AmpC genes on IncII plasmids in the Colombian poultry chain. *PloS one*, 12(1), e0170777.
- Chaucheyras-Durand, F., Durand, H.** (2010). Probiotics in animal nutrition and health. *Beneficial microbes*, 1(1), 3-9.
- Chen, C., Zhao, S., Hao, G., Yu, H., Tian, H., Zhao, G.** (2017). Role of lactic acid bacteria on the yogurt flavour: A review. *International Journal of Food Properties*, 20 (sup1), S316-S330.
- Choi, A. R., Patra, J. K., Kim, W. J., Kang, S. S.** (2018). Antagonistic activities and probiotic potential of lactic acid bacteria derived from a plant-based fermented food. *Frontiers in microbiology*, 9, 1963
- Cholet, O.** (2006). Etude de l'écosystème fromager par une approche biochimique et moléculaire (Thèse de doctorat, INAPG (AgroParisTech)).
- Clark, S., Winter, C. K.** (2015). Diacetyl in foods: a review of safety and sensory characteristics. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 14(5), 634-643.
- Clavijo, V., Flórez, M. J. V.** (2018). The gastrointestinal microbiome and its association with the control of pathogens in broiler chicken production: a review. *Poultry science*, 97(3), 1006-1021.



Cleusix, V., Lacroix, C., Vollenweider, S., Duboux, M., Le Blay, G. (2007). Inhibitory activity spectrum of reuterin produced by *Lactobacillus reuteri* against intestinal bacteria. *BMC microbiology*, 7(1), 1-9.

## D

Deepak, V., Ramachandran, S., Balahmar, R. M., Pandian, S. R. K., Sivasubramaniam, S. D., Nellaiah, H., Sundar, K. (2016). *In vitro* evaluation of anti cancer properties of exopolysaccharides from *Lactobacillus acidophilus* in colon cancer cell lines. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Animal*, 52(2), 163-173.

Dho-Moulin, M., Fairbrother, J. M. (1999). Avian pathogenic *Escherichia coli* (APEC). *Veterinary research*, 30 (2-3), 299-316.

Dib, H., Hajj Semaan, E., Mrad, R., Ayoub, J., Choueiry, L., Moussa, H., Bitar, G. (2012). Identification et évaluation de l'effet probiotique des bactéries lactiques isolées dans des fromages caprins traditionnels. *Lebanese Science Journal*, 13(1), 43-48.

Dinçer, E., Kıvanç, M. (2018). Lipolytic activity of lactic acid bacteria isolated from Turkish pastrami. *Anadolu University Journal of Science and Technology-C Life Sciences and Biotechnology*, 7 (1), 12-19.

Dinev, T., Beev, G., Tzanova, M., Denev, S., Dermendzhieva, D., Stoyanova, A. (2018). Antimicrobial activity of *Lactobacillus plantarum* against pathogenic and food spoilage microorganisms: a review. *Bulgarian Journal of Veterinary Medicine*, 21(3).

Djadouni, F., Kihal, M. (2012). Antimicrobial activity of lactic acid bacteria and the spectrum of their biopeptides against spoiling germs in foods. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 55(3), 435-444.

Dortu, C., Thonart, P. (2009). Bacteriocins of lactic acid bacteria: characteristics and advantages for the bioconservation of food products. *Biotechnology, Agronomy, Society and Environment*, 13 (1), 349-356.

Duar, R. M., Lin, X. B., Zheng, J., Martino, M. E., Grenier, T., Pérez-Muñoz, M. E., Walter, J. (2017). Lifestyles in transition: evolution and natural history of the genus *Lactobacillus*. *FEMS Microbiology Reviews*, 41, S27-S48.

**Duboc, P., Mollet, B.** (2001). Applications of exopolysaccharides in the dairy industry. *International Dairy Journal*, 11(9), 759-768.

## **E**

**Elwinger, K. A., Schneitz, C., Berndtson, E., Fossum, O., Teglöf, B., Engstöm, B.** (1992). Factors affecting the incidence of necrotic enteritis, caecal carriage of *Clostridium perfringens* and bird performance in broiler chicks. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 33(4), 369-378.

**Essma, M. G.** (2019). Modelisation mathématique de quelques activités à intérêt technologique chez des souches de bactéries lactiques isolées de lait fermenté l'ben" algérien (doctoral dissertation, université de Mostaganem).

## **F**

**Fenardji, F.** (1990). Organisation, performances et avenir de la production avicole en Algérie. L'aviculture en Méditerranée, Montpellier, CIHEAM, Options Méditerranéennes, Série A, Séminaires Méditerranéens, 253-261.

**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.

**Florou-Paneri, P., Christaki, E., Bonos, E.** (2013). Lactic acid bacteria as source of functional ingredients. In *Lactic acid bacteria-R & D for food, health and live stock purposes*. Intech Open

**Fluit, A. C.** (2012). Livestock-associated *Staphylococcus aureus*. *Clinical Microbiology and Infection*, 18(8), 735-744.

## **G**

**Gaenzle, M. G.** (2015). Lactic metabolism revisited: metabolism of lactic acid bacteria in food fermentations and food spoilage. *Current Opinion in Food Science*, 2, 106-117.

**Gálvez, A., Abriouel, H., López, R. L., Omar, N. B.** (2007). Bacteriocin-based strategies for food biopreservation. *International journal of food microbiology*,

- Gao, W., Howden, B. P., Stinear, T. P.** (2018). Evolution of virulence in *Enterococcus faecium*, a hospital-adapted opportunistic pathogen. *Current opinion in microbiology*, 41, 76-82.
- García-Cano, I., Rocha-Mendoza, D., Ortega-Anaya, J., Wang, K., Kosmerl, E., Jiménez-Flores, R.** (2019). Lactic acid bacteria isolated from dairy products as potential producers of lipolytic, proteolytic and antibacterial proteins. *Applied microbiology and biotechnology*, 103 (13), 5243-5257.
- García-Solache, M., Rice, L. B.** (2019). The *Enterococcus*: a model of adaptability to its environment. *Clinical microbiology reviews*, 32(2).
- Gaskins, H. R., Collier, C. T., Anderson, D. B.** (2002). Antibiotics as growth promotants: mode of action. *Animal biotechnology*, 13(1), 29-42.
- Gast, R. K., Porter Jr, R. E.** (2020). *Salmonella* infections. *Diseases of poultry*, 717-753. Chapitre 16.
- Ghaffar, T., Irshad, M., Anwar, Z., Aqil, T., Zulifqar, Z., Tariq, A., Mehmood, S.** (2014). Tendances récentes de la biotechnologie de l'acide lactique: un bref examen de la production à la purification. *Journal de recherche sur les rayonnements et sciences appliquées*, 7 (2), 222-229.
- Gravesen, A., Ramnath, M., Rechinger, K. B., Andersen, N., Jänsch, L., Héchard, Y., Knøchel, S.** (2002). High-level resistance to class IIa bacteriocins is associated with one general mechanism in *Listeria monocytogenes*. *Microbiology*, 148(8), 2361-2369.
- Guérin, J. L., Balloy, D., Villate, D.** (2012). Maladies des volailles. France Agricole. 576 p.
- Guimarães, A., Santiago, A., Teixeira, J. A., Venâncio, A., Abrunhosa, L.** (2018). Anti-aflatoxigenic effect of organic acids produced by *Lactobacillus plantarum*. *International journal of food microbiology*, 264, 31-38.
- Gundogdu, O., Wren, BW** (2020). Profil microbe: *Campylobacter jejuni* – instinct de survie. *Microbiology*, 166 (3), 230-232.

## H

- Halder, D., Mandal, M., Chatterjee, S. S., Pal, N. K., Mandal, S.** (2017). Indigenous probiotic *Lactobacillus* isolates presenting antibiotic like activity against human pathogenic bacteria. *Biomedicines*, 5(2), 31.
- Hardie, J. M., Whiley, R. A.** (1995). The genus *Streptococcus*. In *The genera of lactic acid bacteria*. Springer, Boston, MA. pp. 55-124.
- Harrigan, W.F. et Mc Cance, M.E.** (1976). *Methods in Food and Dairy Microbiology*, Academic Press, Orlando. Eds. Laboratory.
- Hassanzadazar, H., Ehsani, A., Mardani, K.** (2014). Antibacterial activity of *Enterococcus faecium* derived from Koopeh cheese against *Listeria monocytogenes* in probiotic ultra-filtrated cheese. In *Veterinary research forum: an international quarterly journal*, 5 (3), p. 169
- Hazariwala, A., Sanders, Q., Hudson, C. R., Hofacre, C., Thayer, S. G., Maurer, J. J.** (2002). Distribution of staphylococcal enterotoxin genes among *Staphylococcus aureus* isolates from poultry and humans with invasive staphylococcal disease. *Avian Diseases*, 46(1), 132-136.
- Héchar, Y., Pelletier, C., Cenatiempo, Y., Frère, J.** (2001). Analysis of  $\sigma_{54}$ -dependent genes in *Enterococcus faecalis*: a mannose PTS permease (EIIMan) is involved in sensitivity to a bacteriocin, mesentericin Y105. *Microbiology*, 147(6), 1575-1580.
- Helmboldt, C. F., Bryant, E. S.** (1971). The pathology of necrotic enteritis in domestic fowl. *Avian Diseases*, 775-780.
- Holzappel, W. H., Franz, C. M., Ludwig, W., Dicks, L. M.** (2015). *Pediococcus*. *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria*.
- Islam, R., Hossain, M. N., Alam, M. K., Uddin, M. E., Rony, M. H., Imran, M. A. S., & Alam, M. F.** (2020). Antibacterial activity of lactic acid bacteria and extraction of bacteriocin protein. *Advances in Bioscience and Biotechnology*, 11(2), 49-59.

## **J**

- Jay, J. M., Loessner, M. J., Golden, D. A.** (2005). *Bacillus cereus* gastroenteritis. *Modern food microbiology*, 7th edition, Springer Science+ Business media, Inc., New York, USA pp, 583-590.

**Jones, R. J., Hussein, H. M., Zagorec, M., Brightwell, G., & Tagg, J. R.** (2008). Isolation of lactic acid bacteria with inhibitory activity against pathogens and spoilage organisms associated with fresh meat. *Food microbiology*, 25(2), 228-234.

## K

**KANAK, E. K., & YILMAZ, S. Ö.** (2020). Identification, antibacterial and antifungal effects, antibiotic resistance of some lactic acid bacteria. *Food Science and Technology*, (AHEAD).

**Karska-Wysocki, B., Bazo, M., Smoragiewicz, W.** (2010). Antibacterial activity of *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus casei* against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Microbiological research*, 165(8), 674-686.

**Khalid, K.** (2011). An overview of lactic acid bacteria. *International journal of Biosciences*, 1(3), 1-13.

**Korsak, N., Clinquart, A., Daube, G.** (2004). *Salmonella* spp. dans les denrées alimentaires d'origine animale: un réel problème de santé publique. *Ann. Méd. Vét*, 148, 174-193.

## L

**Labioui, H., Elmoualdi, L., El Yachoui, M., & Ouhssine, M.** (2005). Sélection de souches de bactéries lactiques antibactériennes. *Bulletin-societe de pharmacie de bordeaux*, 144(3/4), 237.

**Lanciotti, R., Patrignani, F., Bagnolini, F., Guerzoni, M. E., Gardini, F.** (2003). Evaluation of diacetyl antimicrobial activity against *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* and *Staphylococcus aureus*. *Food Microbiology*, 20 (5), 537-543.

**Larbier, M., Leclercq, B.** (1992). Nutrition et alimentation des volailles.

**Lindgren, S. E., Dobrogosz, W. J.** (1990). Antagonistic activities of lactic acid bacteria in food and feed fermentations. *FEMS microbiology reviews*, 7(1-2), 149-163.

**Liu, W., Pang, H., Zhang, H., Cai, Y.** (2014). Biodiversité des bactéries lactiques dans *Lactic Acid Bacteria*, sous la direction de H. Zhang et Y. Cai (Dordrecht: Springer), 103–203. doi: 10.1007 / 978-94-017-8841-0\_2

**Lowder, B. V., Guinane, C. M., Zakour, N. L. B., Weinert, L. A., Conway-Morris, A., Cartwright, R. A., ... Fitzgerald, J. R.** (2009). Recent human-to-poultry host jump, adaptation, and pandemic spread of *Staphylococcus aureus*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(46), 19545-19550.

**Luquet, F. M., Corrieu, G.** (2005). Lactic acid and probiotic bacteria. *Lactic acid and probiotic bacteria*.

## M

**McAuliffe O. Hill C.,** 2001. Lantibiotics: structure, biosynthesis and mode of action. *FEMS Microbiol. Rev.*, 25, 285-308.

**McClane, B. A., Robertson, S. L., Li, J.** (2012). *Clostridium perfringens*. *Food microbiology: fundamentals and frontiers*, 465-489.

**Meade, E., Slattery, M. A., Garvey, M.** (2020). Bacteriocins, potent antimicrobial peptides and the fight against multi drug resistant species: resistance is futile?. *Antibiotics*, 9(1), 32.

**Meade, K. G., Narciandi, F., Cahalane, S., Reiman, C., Allan, B., O'Farrelly, C.** (2009). Comparative *in vivo* infection models yield insights on early host immune response to *Campylobacter* in chickens. *Immunogenetics*, 61(2), 101-110.

**Meunier, M.** (2017). Recherche et caractérisation d'antigènes vaccinaux contre *Campylobacter* par vaccinologie inverse (Doctoral dissertation, Rennes 1).

**Miyamoto, T., Horie, T., Fujiwara, T., Fukata, T., Sasai, K., Baba, E.** (2000). *Lactobacillus* flora in the cloaca and vagina of hens and its inhibitory activity against *Salmonella enteritidis* *in vitro*. *Poultry science*, 79(1), 7-11.

**Mohammed, A. A., Hussein, N. A., Niamah, A. K.** (2020). Production and extraction of reuterin from local isolate *Lactobacillus reuteri* and using it in soft cheese preservation.

**Mokoena, D.,** (2017). Bactéries lactiques et leurs bactériocines: classification, biosynthèse et applications contre les uropathogènes: une mini-revue. *Molécules*, 22 (8), 1255.

- Monnet, V., Latrille, E., Béal, C., Corrieu, G.** (2008). Croissance et propriétés fonctionnelles des bactéries lactiques. In : Bactéries lactiques de la génétique aux ferments (Corrieu G. et Luquet F.M.). Tec & Doc, Lavoisier. Paris. 512-592.
- Mora-Villalobos, JA, Montero-Zamora, J., Barboza, N., Rojas-Garbanzo, C., Usaga, J., Redondo-Solano, M., Lopez-Gomez, JP** (2020). Multi-product lactic acid bacteria fermentations: A review. *Fermentation*, 6 (1), 23.
- Morita, H., Toh, H., Fukuda, S., Horikawa, H., Oshima, K., Suzuki, T., Hattori, M.** (2008). Comparative genome analysis of *Lactobacillus reuteri* and *Lactobacillus fermentum* reveal a genomic island for reuterin and cobalamin production. *DNA research*, 15(3), 151-161.
- Mottet, A., Tempio, G.** (2017). Global poultry production: current state and future outlook and challenges. *World's Poultry Science Journal*, 73(2), 245-256.
- Mu, Q., Tavella, V. J., Luo, X. M.** (2018). Role of *Lactobacillus reuteri* in human health and diseases. *Frontiers in microbiology*, 9, 757.
- Musikasang, H., Tani, A., H-kittikun, A., & Maneerat, S.** (2009). Probiotic potential of lactic acid bacteria isolated from chicken gastrointestinal digestive tract. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 25(8), 1337-1345.

## N

- Najett, M. M.** (2018). Effet antagoniste des bactéries lactiques isolées à partir du lait de vache vis-à-vis de *Salmonella sp* (Doctoral dissertation, université Abdelhamid Ibn Badis, Mostaganem).
- Nakamura, K., Shirai, J., Imai, K., Hihara, H., Tanimura, N.** (1997). Outbreak of comb necrosis in layer breeder chickens. *Avian diseases*, 252-256.
- Nilsen, T., Nes, I. F., Holo, H.** (2003). Enterolysin A, a cell wall-degrading bacteriocin from *Enterococcus faecalis* LMG 2333. *Applied and environmental microbiology*, 69(5), 2975-2984.

**Nuryana, I., Andriani, A., Lisdiyanti, P.** (2019). Analysis of organic acids produced by lactic acid bacteria. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* 251 (1), p. 012054).

## O

**Oakley, B. B., Lillehoj, H. S., Kogut, M. H., Kim, W. K., Maurer, J. J., Pedroso, A., Cox, N. A.** (2014). The chicken gastrointestinal microbiome. *FEMS microbiology letters*, 360(2), 100-112.

**Orla-Jensen, S.** (1919). The lactic acid bacteria.

**Ortiz-Rivera, Y., Sánchez-Vega, R., Gutiérrez-Méndez, N., León-Félix, J., Acosta-Muñiz, C., Sepulveda, D. R.** (2017). Production of reuterin in a fermented milk product by *Lactobacillus reuteri*: Inhibition of pathogens, spoilage microorganisms, and lactic acid bacteria. *Journal of dairy science*, 100(6), 4258-4268.

**Ouwehand, A. C., Vesterlund, S.** (2004). Antimicrobial components from lactic acid bacteria. *Food science and technology-new york-marcel dekker*, 139, 375-396.

**Özogul, F., Hamed, I.** (2018). The importance of lactic acid bacteria for the prevention of bacterial growth and their biogenic amines formation: A review. *Critical reviews in food science and nutrition*, 58(10), 1660-1670.

## P

**Pan, D., Yu, Z.** (2014). Intestinal microbiome of poultry and its interaction with host and diet. *Gut microbes*, 5(1), 108-119.

**Pangallo, D., Kraková, L., Puškárová, A., Šoltys, K., Bučková, M., Koreňová, J., Kuchta, T.** (2019). Transcription activity of lactic acid bacterial proteolysis-related genes during cheese maturation. *Food microbiology*, 82, 416-425.

**Park, K. Y., Kim, B. K.** (2011). Lactic acid bacteria in vegetable fermentations. *Lactic Acid Bacteria, Microbial and Functional Aspects, 4th ed.*; Lahtinen, S., Ouwehand, AC, Salminen, S., Von Wright, A., Eds, 187-211.



**Parolin, C., Marangoni, A., Laghi, L., Foschi, C., Ñahui Palomino, R. A., Calonghi, N., Vitali, B.** (2015). Isolation of vaginal lactobacilli and characterization of anti-Candida activity. *PloS one*, 10(6), e0131220.

**Pasoli, E., De Filippis, F., Mauriello, IE, Cumbo, F., Walsh, AM, Leech, J., Ercolini, D.** (2020). Une analyse à grande échelle du génome relie les bactéries lactiques des aliments au microbiome intestinal. *Nature communications*, 11 (1), 1-12

**Patton G.C. Van Der Donk W.A.,** (2005). New developments in lantibiotic biosynthesis and mode of action. *Curr.Opin. Microbiol.*, 8, 543-551.

**Piard, J. C., Desmazeaud, M.** (1991). Inhibiting factors produced by lactic acid bacteria. 1. Oxygen metabolites and catabolism end-products. *Le lait*, 71(5), 525-541.

## Q

**Quiberoni, A., Rezaïki, L., El Karoui, M., Biswas, I., Tailliez, P., Gruss, A.** (2001). Distinctive features of homologous recombination in an old microorganism, *Lactococcus lactis*. *Research in microbiology*, 152(2), 131-139.

## R

**Reuben, R. C., Roy, P. C., Sarkar, S. L., Alam, R. U., Jahid, I. K.** (2019). Isolation, characterization, and assessment of lactic acid bacteria toward their selection as poultry probiotics. *BMC microbiology*, 19(1), 1-20.

**Ricke, S. C.** (2003). Perspectives on the use of organic acids and short chain fatty acids as antimicrobials. *Poultry science*, 82(4), 632-639.

**Ringø, E., Hoseinifar, SH, Ghosh, K., Doan, HV, Beck, BR., Song, SK.** (2018). Bactéries lactiques chez les poissons - Une mise à jour. *Frontiers in Microbiology*, 9, 1818.

**Ringø, E., Van Doan, H., Lee, S. H., Soltani, M., Hoseinifar, S. H., Harikrishnan, R., Song, S. K.** (2020). Probiotics, lactic acid bacteria and bacilli: interesting supplementation for aquaculture. *Journal of applied microbiology*, 129(1), 116-136

**Russo, P., Arena, M. P., Fiocco, D., Capozzi, V., Drider, D., Spano, G. (2017).** *Lactobacillus plantarum* with broad antifungal activity: A promising approach to increase safety and shelf-life of cereal-based products. *International journal of food microbiology*, 247, 48-54.

## S

**Salehizadeh, M., Modarressi, M. H., Mousavi, S. N., Ebrahimi, M. T. (2020).** Evaluation of lactic acid bacteria isolated from poultry feces as potential probiotic and its *in vitro* competitive activity against *Salmonella typhimurium*. *Veterinary Research Forum* 11 (1), p. 67.

**Salifou, C. F. A., Boko, K. C., Ahounou, G. S., Tougan, P. U., Kassa, S. K., Houaga, I., Youssao, A. K. I. (2013).** Diversité de la microflore initiale de la viande et sécurité sanitaire des consommateurs. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 7(3), 1351-1369.

**Salminen, S., Von Wright, A. (Eds.). (2004).** Lactic acid bacteria. *Microbiological and functional aspects* Vol. 139.

**Samot, J. (2012).** Evaluation du potentiel probiotique de lactobacilles buccaux (Doctoral dissertation, Université de Bordeaux Ségalen (Bordeaux 2)).

**Sánchez, Ó. J., Barragán, P. J., Serna, L. (2019).** Review of *Lactobacillus* in the food industry and their culture media. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 21(2), 63-76.

**Sanders, P., Bousquet-Mélou, A., Chauvin, C., Toutain, P. L. (2011).** Utilisation des antibiotiques en élevage et enjeux de santé publique. *INRA Productions animales*, 24(2), 199-204.

**Sanyal, S. C., Islam, K. M., Neogy, P. K., Islam, M., Speelman, P., Huq, M. I. (1984).** *Campylobacter jejuni* diarrhea model in infant chickens. *Infection and immunity*, 43(3), 931-936.

**Savijoki, K., Ingmer, H., Varmanen, P. (2006).** Proteolytic systems of lactic acid bacteria. *Applied microbiology and biotechnology*, 71(4), 394-406.

- Schaefer, L., Auchtung, T. A., Hermans, K. E., Whitehead, D., Borhan, B., Britton, R. A.** (2010). The antimicrobial compound reuterin (3-hydroxypropionaldehyde) induces oxidative stress via interaction with thiol groups. *Microbiology*, 156 (Pt 6), 1589.
- Schnürer, J., Magnusson, J.** (2005). Antifungal lactic acid bacteria as biopreservatives. *Trends in Food Science & Technology*, 16(1-3), 70-78.
- Sender, R., Fuchs, S., Milo, R.** (2016). Revised estimates for the number of human and bacteria cells in the body. *PLoS biology*, 14(8), e1002533
- Shukla, S., Mishra, P.** (2015). *Pseudomonas aeruginosa* infection in broiler chicks in Jabalpur. *Int. J. Ext. Res*, 6, 37-39.
- Siedler, S., Balti, R., Neves, A. R.** (2019). Bioprotective mechanisms of lactic acid bacteria against fungal spoilage of food. *Current opinion in biotechnology*, 56, 138-146.
- Smith, J. M.** (2014). A review of avian probiotics. *Journal of avian medicine and surgery*, 28(2), 87-94.
- Snel, J., Harmsen, H. J. M., Van der Wielen, P. W. J. J., Williams, B. A.** (2002). Dietary strategies to influence the gastrointestinal microflora of young animals, and its potential to improve intestinal health. *Nutrition and health on the gastrointestinal tract*, 37-69.

## **T**

- Taskila, S., Ojamo, H.** (2013). The current status and future expectations in industrial production of lactic acid by lactic acid bacteria. In *Lactic acid bacteria-R & D for food, health and livestock purposes*. Intech Open
- Tejero-Sariñena, S., Barlow, J., Costabile, A., Gibson, G. R., Rowland, I.** (2012). *In vitro* evaluation of the antimicrobial activity of a range of probiotics against pathogens: evidence for the effects of organic acids. *Anaerobe*, 18(5), 530-538.
- Teuber, M.** (1995). The genus *Lactococcus*. In *The genera of lactic acid bacteria* (pp. 173-234). Springer, Boston, MA

**Teuber, M.** (2015). *Lactococcus*. *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria*, 1-21.

**Timbermont, L., Haesebrouck, F., Ducatelle, R., Van Immerseel, F.** (2011). Necrotic enteritis in broilers: an updated review on the pathogenesis. *Avian Pathology*, 40(4), 341-347.

## U

**Uni, Z. E. H. A. V. A., Noy, Y. A. E. L., Sklan, D. A. V. I. D.** (1999). Posthatch development of small intestinal function in the poult. *Poultry Science*, 78(2), 215-222.

## V

**Van Immerseel, F., De Buck, J., Boyen, F., Pasmans, F., Bertrand, S., Collard, J. M., Ducatelle, R.** (2005). *Salmonella* dans la viande et dans les œufs: un danger pour le consommateur qui demande la mise en place d'un programme de lutte efficace. In *Annales de Médecine Vétérinaire*, 149 (1), pp. 34-48).

**Vos P., Garrity G., Jones D., Krieg N.R., Ludwig W., Rainey F.A., Schleifer K.-H., Whitman W.,** 2009. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology: The Firmicutes*. 21: 450.

## W

**Wei, S., Morrison, M., Yu, Z.** (2013). Bacterial census of poultry intestinal microbiome. *Poultry science*, 92(3), 671-683.

**Wolfgang, M. C., Kulasekara, B. R., Liang, X., Boyd, D., Wu, K., Yang, Q., Lory, S.** (2003). Conservation of genome content and virulence determinants among clinical and environmental isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100(14), 8484-8489.

## Y

**Yang, F., Hou, C., Zeng, X., Qiao, S.** (2015). The use of lactic acid bacteria as a probiotic in swine diets. *Pathogens*, 4(1), 34-45.

**Yegani, M., Korver, D. R.** (2008). Factors affecting intestinal health in poultry. *Poultry science*, 87(10): 2052-2063.

**Yordshahi, AS, Moradi, M., Tadjik, H., Molaei, R.** (2020). Design and preparation of antimicrobialme at packaging nanopaper with bacterial cellulose and lactic acid bacteria postbiotics. *International Journal of Food Microbiology*, 321, 108561.

## **Z**

**Zanzan, M., Achemchem, F., Hamadi, F., Latrache, H., Elmoslih, A., Amzil, K., Mimouni, R.** (2018). Anti-bacterial and anti-adherence activity of *Enterococcus spp.* against *Staphylococcus aureus* CECT 976. *Bari-Chania-Montpellier-Zaragoza*.

**Zheng, J., Wittouck, S., Salvetti, E., Franz, CM, Harris, HM, Mattarelli, P., Lebeer, S.** (2020). A taxonomic note on the genus *Lactobacillus*: Description of 23 new genera, modified description of the genus *Lactobacillus* Beijerinck 1901 and union of *Lactobacillaceae* and *Leuconostocaceae*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 70 (4), 2782-2858.

**Zhu, X. Y., Zhong, T., Pandya, Y., Joerger, R. D.** (2002). 16S rRNA-based analysis of microbiota from the cecum of broiler chickens. *Applied and environmental microbiology*, 68(1), 124-137.

**Zielińska, D., Kolożyn-Krajewska, D.** (2018). Food origin lactic acid bacteria may exhibit probiotic properties. *Bio Med research international*.

**Zimina, M., Babich, O., Prosekov, A., Sukhikh, S., Ivanova, S., Shevchenko, M., Noskova, S.** (2020). Overview of global trends in classification, methods of preparation and application of bacteriocins. *Antibiotics*, 9(9), 553.

# Annexes

## Annexes

**Tableau VI:** Caractères morphologiques et physiologiques des genres présumés de bactéries lactiques, T°C: température optimales d'isolement, type de fermentation, nombres des isolats.

Macromorphologie	Micromorphologie	Type de Fermentation	Température (°C )	Groupes (nombre d'isolats)
Colonies blanches, rondes ou lenticulaires	Coccis, diplocoques et en chaînette	Homo fermentaire	42-48	<i>Streptocoques</i>
Colonies blanches, rondes ou lenticulaire	Coccis, diplocoque et en chaînette	Homo fermentaire	30	<i>Lactocoques</i>
Colonies transparentes très petites, rondes	Coccis, ovales, en chaînette	Hétéro fermentaire	30	<i>Leuconostocs</i>
Colonies Lisses arrondies, grisâtres ou blanchâtres	Coccis en tétrades	Homo Fermentaire	30	<i>Pediocoques</i>
colonies Petites, blanches à centre marron et bombées	Bâtonnets longs enroulés ou filamenteux isolés ou en chaînettes	Homo fermentaire	45	Lactobacilles thermophiles
colonies Petites, blanches, rondes ou lenticulaires	Petits Bâtonnets en chaînettes	Homo fermentaire + hétéro fermentaire	30	Lactobacilles mésophiles

**TableauV VI:** Diamètre des zones d'inhibition (en mm) obtenues par le test de spot à l'égard des souches pathogènes.

	<i>E. coli</i>		<i>Salmonella</i>	
<b>Code lb</b>	<b>Moy (mm)</b>	<b>Ecartype</b>	<b>Moy (mm)</b>	<b>Ecartype</b>
Lb 1	17	1,41421356	35,5	0,70710678
LB 9	26,6666667	1,15470054	24,3333333	0,57735027
12a1	-	-	27	1,41421356
Lb 15	26,6666667	1,15470054	27,5	0,70710678
LB 22	19	1,41421356	21	1,41421356
Lb 23	26,3333333	1,52752523	24,5	0,70710678
Lb 30	30	0	25	1,41421356
Lb 33	27	1,41421356	19	1,41421356
	<i>Staphylococcus spp,</i>		<i>Staphylococcus clinique</i>	
	<b>Moy (mm)</b>	<b>Ecartype</b>	<b>Moy (mm)</b>	<b>Ecartype</b>
Lb 1	29	1	26	2,82842712
LB 9	27	1,41421356	17,5	2,12132034
12a1	29	1,73205081	29	1
Lb 15	28,3333333	0,57735027	27,5	2,12132034
LB 22	25	1,41421356	20,5	1,52752523
Lb 23	18,5	0,70710678	15,3333333	1,15470054
Lb 30	28	0	18	2,82842712
Lb 33	23	1,41421356	20,6666667	1,15470054



**Tableau VVII:** La composition de la gélose nutritive et bouillon nutritif.

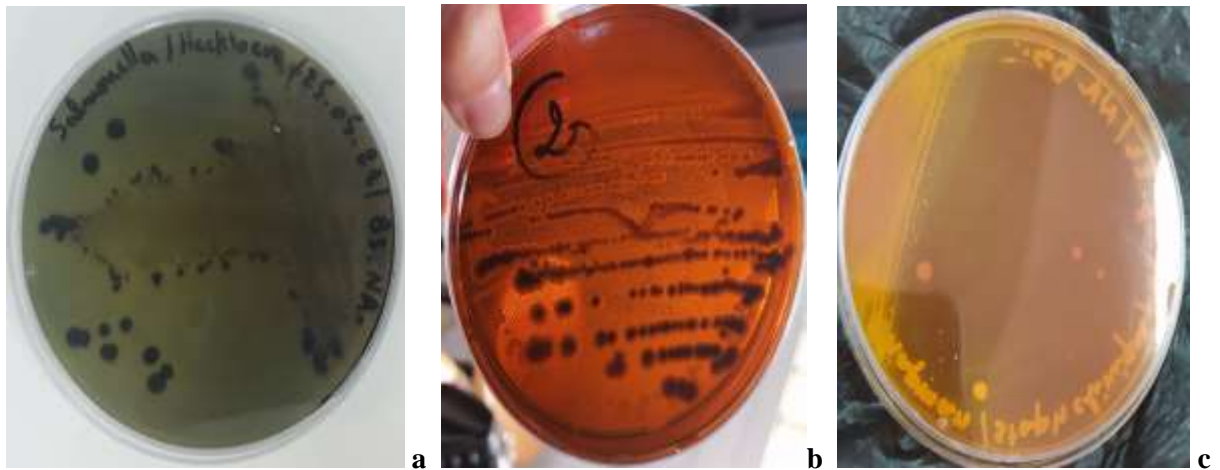
Composants	Quantité (g/l)
Peptone de viande	10
Extrait de viande	3
Extrait de levure	3
Chlorure de Sodium	5
Agar	18
pH final	7,2

NB:

- ✓ Pour avoir la gélose nutritive, on ajoute 15 g/l d'agar .
- ✓ Pour avoir une gélose nutritive molle : on ajoute 7,5 g/l d'agar.

**Tableau IV:** La composition de la gélose et bouillon MRS.

Composants	Quantité (g/l)
Peptone de caséine	10
Extrait de viande	8
Extrait de levure	4
Glucose	20
Phosphate di-potassique	2
Di-ammonium citrate	2
Acétate de Sodium	5
Sulfate de Magnésium	0,2
Sulfate de Manganèse	0.04
Tween 80	1 ml
Agar	20
pH final	6,5

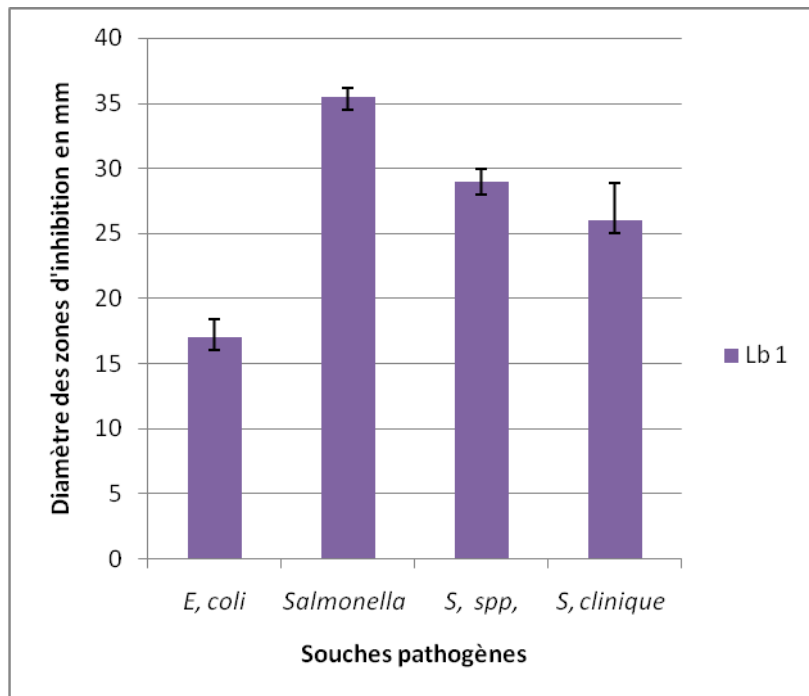


**Figure 16:** Aspect macroscopique des bactéries pathogènes sur gélose appropriées.

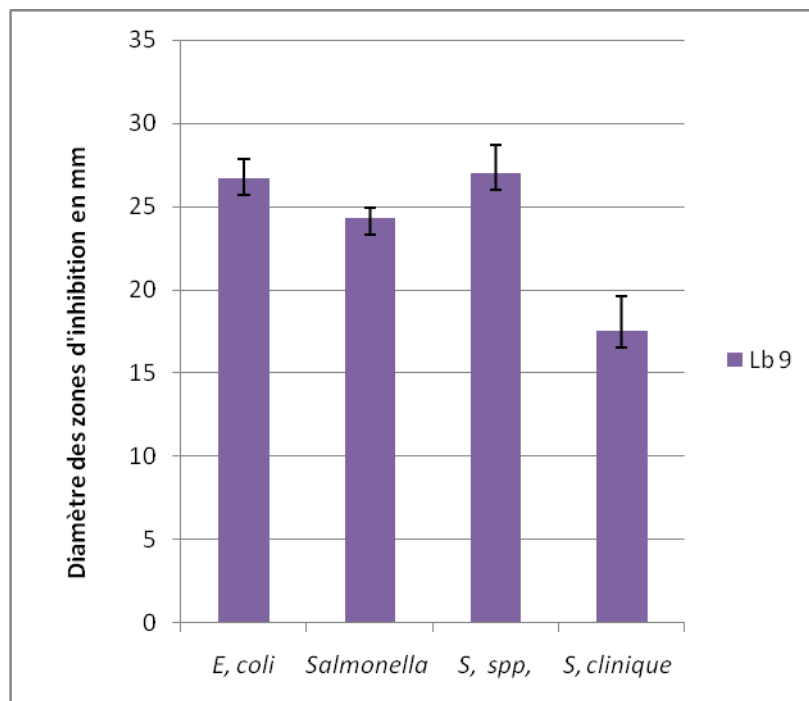
( **a.** *Salmonella* sur Hektoen, **b.** *E. coli* sur EMB, **c.** *S. clinique* sur Chapman) .



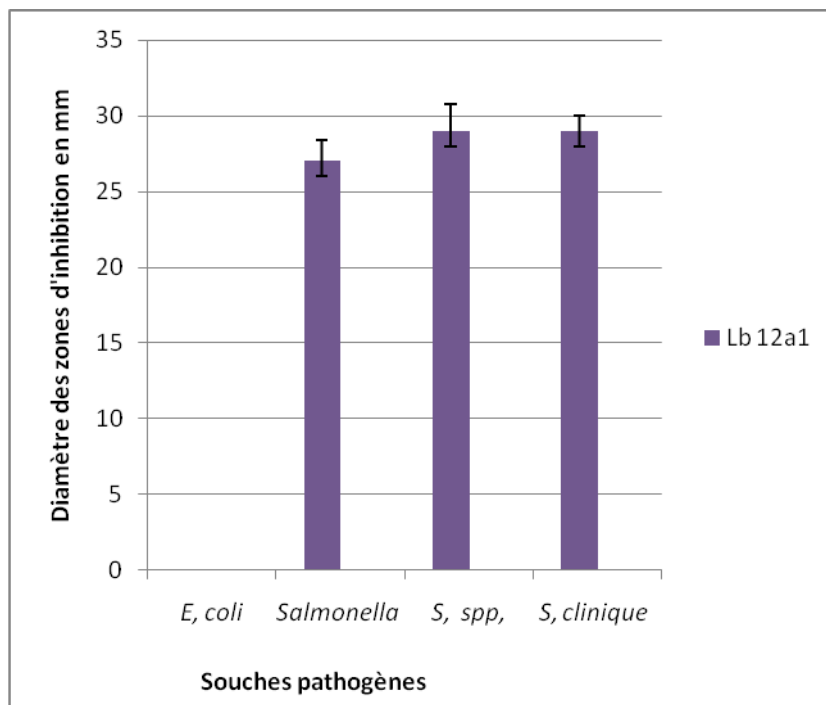
**Figure 17:** Aspect des spots des isolats lactiques sur gélose MRS.



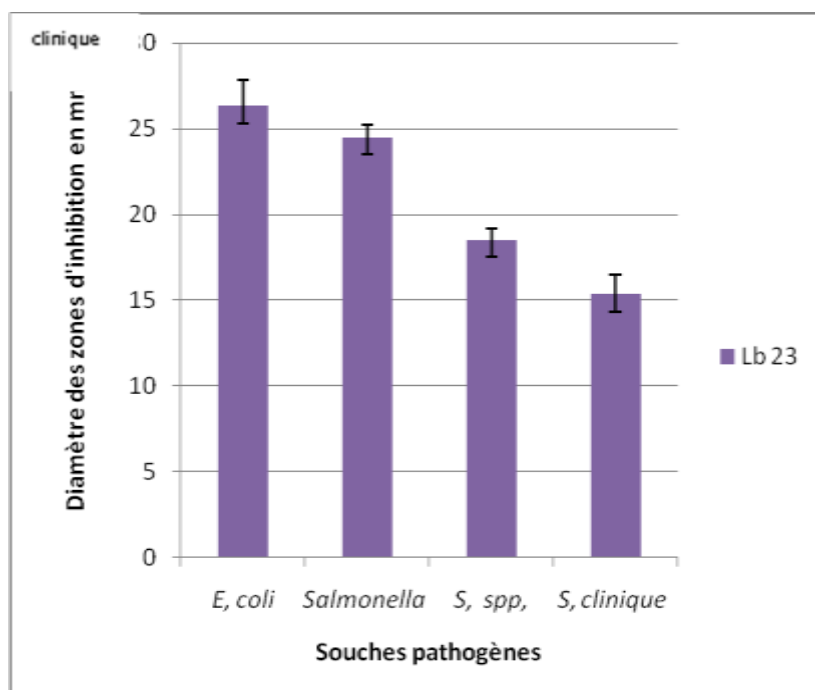
**Figure 18:** Spectre d'action de la souche Lb 1 envers les bactéries pathogènes.



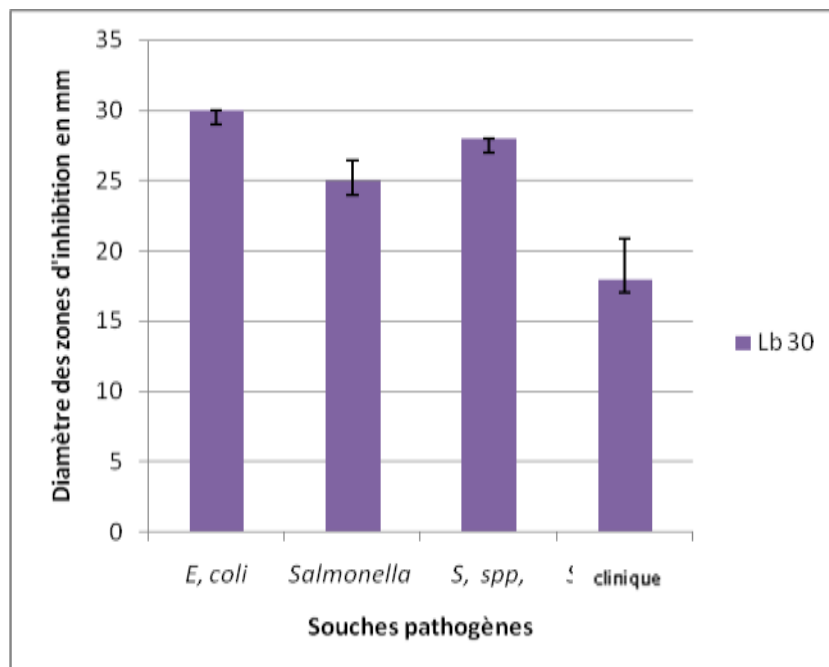
**Figure 19:** Spectre d'action de la souche Lb 9 envers les bactéries pathogènes.



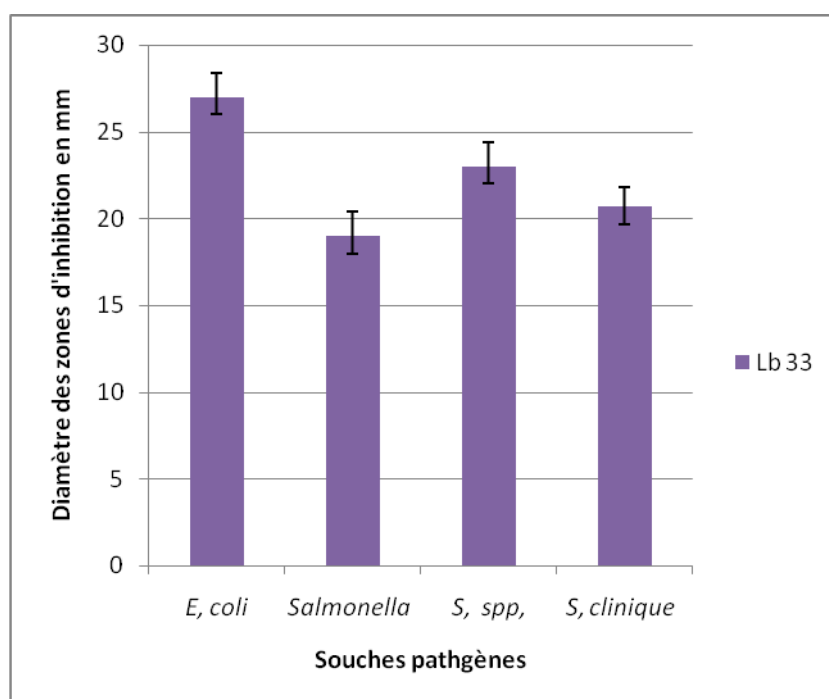
**Figure 20:** Spectre d'action de la souche Lb 12a1 envers les bactéries pathogènes.



**Figure 21:** Spectre d'action de la souche Lb 23 envers les bactéries pathogènes.



**Figure 22:** Spectre d'action de la souche Lb 30 envers les bactéries pathogènes.



**Figure 22:** Spectre d'action de la souche Lb 33 envers les bactéries pathogènes.

## Résumé

Les bactéries lactiques sont considérées comme des habitants naturels de système digestif de poulet et sont dotés d'une activité antibactérienne bactéricide et bactériostatique. C'est dans ce contexte nous avons lancé une étude sur l'activité antibactérienne de huit bactéries lactiques contre quatre souches pathogènes de poulets de chair à savoir *Salmonella*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus spp*, *Staphylococcus* clinique. D'abord, nous avons réalisé une identification des genres en se basant sur certains caractères morphologiques et biochimiques. Par la suite, nous avons réalisé un test de spots qui repose sur l'interaction entre des souches lactiques et des souches indicatrices. Les résultats obtenus montre que les huit souches étudiées possèdent une activité inhibitrice vis –à-vis des quatre souches pathogènes mais avec un effet plus ou moins déferents. Lb 1 et Lb 30 présente la plus grande zone d'inhibition avec 30 mm de mesure envers *Salmonella* et *E. coli* respectivement. Lb 15 possède l'activité inhibitrice la plus importante, par ailleurs Lb 22 a l'effet antagoniste le plus faible.

**Mots clés:** Souches lactiques, activité antibactérienne, bactéries pathogènes, zone d'inhibition.

## Abstract

Lactic acid bacteria are considered natural inhabitants of the chicken digestive system and have bactericidal and bacteriostatic antibacterial activity. In this context, we initiated a study on the antibacterial activity of eight lactic acid bacteria against four pathogenic strains of broilers, namely *Salmonella*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus spp*, Clinical *Staphylococcus*. First, we identified the genera on the basis of certain morphological and biochemical characteristics. Then, we performed a spot test based on the interaction between lactic strains and indicator strains. The results obtained show that the eight strains studied have an inhibitory activity towards the four pathogenic strains but with a more or less deferential effect. Lb 1 and Lb 30 present the greatest zone of inhibition with 30 mm of measurement towards *Salmonella* and *E. coli* respectively. Lb 15 has the highest inhibitory activity, on the other hand Lb 22 has the lowest antagonistic effect.

**Key words:** Lactic acid strains, antibacterial activity, pathogenic bacteria, inhibition zone.