

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE  
UNIVERSITE AKLI MOHAND OULHADJ – BOUIRA  
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET DES SCIENCES DE  
LA TERRE



DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

Réf : ...../UAMOB/F.SNV.ST/DEP.BIO/2022

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME MASTER

Domaine : SNV      Filière : Sciences biologiques

Spécialité : Microbiologie appliquée

Présenté par :

LARBI Yacine & ADNANE Khelaf

*Thème*

**Isolement des bactéries lactiques à partir des produits alimentaires**

Soutenu le: 06/07/2022

Devant le jury composé de :

<i>Nom et Prénom</i>	<i>Grade</i>		
<i>Mr NOURI</i>	<i>MAA</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Président</i>
<i>Mm BENBARA T</i>	<i>MAA</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Promotrice</i>
<i>Mm MEDBOUA C</i>	<i>MCB</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Examinatrice</i>

Année Universitaire : 2021/2022

## **Remercîment**

*Nous rendons avant tout grâce à Dieu, le tout puissant pour nous avoir données la force, le courage, la volanté, la curiosité et le plus important la patience pour que nous puissions faire ce modeste travail.*

*Nous tenons aussi à remercié Monsieur **NOURI** de l'université de Bouira de nous avoir fait l'honneur d'accepter de présider ce jury et d'avoir mis a notre disposition tout les moyennes nécessaire pour mener bien notre travail.*

*Nous adressons nos plus sincère remerciement avec reconnaissance à Madame **BenbaraTassadit**, enseignante à l'université de Bouira de nous avoir accordée sa confiance et de nous avoir permis de réaliser cette étude. A travers ses qualités professionnelles en tant qu'encadreuse, elle nous a transmis de précieuses connaissances et informations ainsi qu'une rigueur scientifique qui nous serons très utiles dans notre vie professionnelle.*

*Nos plus s'incères remercîment vont aussi à Madame **MEDBOUA.C** pour l'honneur qu'elle nous à fait en acceptant d'examiner notre travail.*

*Toutes nous sincères remerciements pour les techniciennes de laboratoire de microbiologie pour leur service.*

*Nous tenons à remerciée nos camarades de Master Microbiologie et toutes les personnes qui ont de pré ou de lois contribué à accomplir ce travail.*

## *Dédicaces*

*Avec l'expression de ma reconnaissance, je dédie ce modeste travail à ceux qui, quels que soient les termes, je n'arriverais jamais à leur exprimer mon amour sincère.*

*A mon chère père, mon pilier, mon soutien inconditionnée, qui doit ma vie, ma réussite, à qui je dois le plus grand et profond respect.*

*A ma chère mère, à la femme qui a souffert sans me souffrir et qui a toujours cru en moi. Que Dieu tout puissant te donne bonheur, santé et te protège de tout mal.*

*A ma chère sœur **LYNDA** qui ma encourager tout ou long de mes études. Que Dieu te protège et offre la chance et le bonheur.*

*A mon adorable petite sœur **TINHINANE** qui sait toujours comment procurer la joie et le bonheur pour toute la famille.*

*A mes chères frères **YIDIR** et **FARDJELLAH** à qui je réserve toujours une place dans mon cœur et mes pensées.*

*A tous mes amies (es) que j'ai connu : **Tarík, Ahmed, Abdéslam, Ali, Nassima (Sara) et Tiziri.** Merci pour vôtres amours et vôtres encouragement.*

*Sans oublies mon binôme **Khelaf** pour son soutien moral, sa patience et sa compréhension tout ou long de ce projet de fin d'étude.*

*Yacine*

## ***Dédicace***

*Je dédier ce modeste travaille aux :*

*Personnes les plus chères à mes yeux, mes parent pour leur soutiens  
tout au long de mon parcours éducatif, que Dieu les protèges.*

*A Mon chère frère **Rayen**, mes grands parents et ceux qui ont partagés  
avec moi tous les moments d'émotion lors de la réalisation de ce  
travaille.*

*A toutes ma famille et meilleures amis*

*A ma chère copine **Salsabîle** pour leur aide et supports dans les  
moments difficiles.*

*Sans oublies mon binôme **Yacîne** pour son soutien moral, sa patience et  
sa compréhension tout ou long de ce projet de fin d'étude.*

*Khelaf*

## Sommaire

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des tableaux en annexes

Introduction.....	1
Chapitre I: Généralités sur les bactéries lactiques.....	2
1. Définition des bactéries lactiques.....	3
2. Historique.....	3
3. Classification.....	4
4. Habitat.....	6
5. Caractères morphologique et biochimique.....	7
6. Différents genres de bactéries lactiques.....	8
6.1. Genre <i>Lactobacillus</i> .....	8
6.2. Genre <i>Lactococcus</i> .....	10
6.3. Genre <i>Streptococcus</i> .....	10
6.4. Genre <i>Enterococcus</i> .....	11
6.5. Genre <i>Aerococcus</i> .....	11
6.7. Genre <i>Leuconostoc</i> .....	12
7. Caractères cultureux et exigence nutritionnelle.....	12
Chapitre II: Lait et produits laitiers.....	13
1. Généralités sur le lait.....	14
2. Microflore du lait.....	14
2-1 Flore originelle.....	14
2-2 Flore de contamination.....	14
3. Les produits laitiers.....	15
3.1 L'ben.....	15
3.1.1 La composition chimique.....	15

3.1.2	Microflore de L'ben .....	15
3.2	Dhan .....	16
3.2.1	Composition chimique .....	16
3.2.2	Microflore de Dhan.....	16
3.3	Jben.....	16
3.3.1	Composition chimique .....	17
3.3.2	Microflore du fromage blanc.....	17
3.4	Yaourt.....	17
3.4.1	Composition des différents types de yaourt .....	18
Chapitre III: Matériels et Méthodes.....		19
1.	Matériel.....	20
2.	Méthodes.....	20
2.1.	Origine des échantillons.....	20
2.2.	Echantillonnage.....	20
2.3.	Isolement des bactéries lactiques .....	21
2.4.	Purification et conservation des souches isolées .....	22
2.5.	Pré-identification des isolats .....	22
2.6.	Activité antibactérienne .....	23
Chapitre IV: Résultats et Discussion.....		26
1.	Isolement et purification des souches lactiques .....	27
2.	Identification des bactéries lactiques .....	27
2.1.	Les bactéries lactiques dans un milieu liquide.....	27
2.3.	Test microscopique .....	28
2.4.	Test biochimique.....	29
3.	Résultats de l'activité antibactérienne .....	29
3.1.	Activité antibactérienne des souches isolées du lait .....	29
3.2.	Activité antibactérienne des souches isolées du yaourt .....	30
3.3.	Activité antibactérienne des souches isolées du fromage .....	32

Conclusion.....	38
BIBLIOGRAPHIE .....	40.
Annexes	
Résumes	

## Liste des abréviations

ADN : Acide DésoxyriboNucléique

ARNr : Acide RiboNucléique ribosomale

Aw : Activité de l'eau

BAL : Bactéries lactiques

C : souche de Camembert

CO<sub>2</sub> : Dioxyde de carbone

F : souche de Fromage

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> : peroxyde d'hydrogène

MRS: De Man, Rogosa, Sharpe

S : souche de lait

TIA : Toxi-infection Alimentaire

UFC : Unité Formant Colonie

Y : souche de yaourt

GNM : Gélose Nutritive Molle



## Liste des figures

<b>Figure 01 :</b> Ilya Ilitch Metchnikov immunologiste franco-russe, biologiste, lauréat du Prix Nobel (1845-1916).....	03
<b>Figure 02 :</b> Arbre phylogénétique des bactéries lactiques avec les différents genres.....	05
<b>Figure 03 :</b> <i>Lactobacillus bulgaricus</i> au microscope électronique.....	09
<b>Figure 04:</b> Des micrographies montrant la différence morphologique des cellules de lactobacilles.....	09
<b>Figure 05 :</b> <i>Lactococcus lactis</i> subsp <i>lactis</i> sous forme de cellule ovoïde par paire et en chaînette selon la souche.....	10
<b>Figure 06:</b> Morphologie cellulaire de <i>Streptococcus thermophilus</i> observée par microscopie électronique.....	11
<b>Figure 07 :</b> Différents produits alimentaires utilisés lors de la manipulation.....	21
<b>Figure 08 :</b> Ensemencement de différentes denrées alimentaires dans le bouillon MRS.....	21
<b>Figure 09 :</b> Préparation des cultures des souches pathogènes.....	24
<b>Figure 10 :</b> Les étapes de réalisations des spots.....	24
<b>Figure 11 :</b> Schéma explicatif des étapes des spots.....	25
<b>Figure 12:</b> Aspect des colonies isolées à partir de différentes denrées laitières.....	27
<b>Figure 13 :</b> Aspect des cultures microbien sur bouillon MRS.....	27
<b>Figure 14 :</b> Aspect des colonies des différents isolats sur gélose MRS .....	28
<b>Figure 15 :</b> Aspect microscopique des bactéries lactiques .....	28
<b>Figure 16 :</b> Résultats d'activité antimicrobienne des souches de bactérie lactique isolées du lait cru de chèvre vis-à-vis de <i>Staphylococcus aureus</i> .....	29
<b>Figure 17:</b> Résultats d'activité antimicrobienne des souches de bactéries lactique isolées du lait cru de chèvre contre <i>Salmonella sp</i> .....	30
<b>Figure 18 :</b> Effet antimicrobienne des souches lactiques isolées du lait cru sur les deux souches pathogènes <i>Staphylococcus aureus</i> et <i>Salmonella sp</i> .....	30
<b>Figure 19 :</b> Histogramme représente les zones d'inhibition des souches de yaourt contre <i>Staphylococcus aureus</i> .....	31
<b>Figure 20 :</b> Histogramme représentent les zones d'inhibition des souches de yaourt vis-à-vis <i>Salmonella</i> .....	31
<b>Figure 21 :</b> L'activité antimicrobienne des souches isolées du yaourt contre la souche <i>Staphylococcus aureus</i> et <i>Salmonella</i> .....	32

<b>Figure 22 :</b> Histogramme de l'effet antimicrobien du camembert et fromage contre la souche pathogène <i>Staphylococcus aureus</i> .....	32
<b>Figure 23 :</b> Histogramme de l'effet antimicrobien du camembert et fromage contre la souche pathogène <i>Salmonella sp</i> .....	33
<b>Figure 24 :</b> Activité antimicrobienne des souches lactiques isolées du camembert et de fromage contre <i>Staphylococcus aureus</i> .....	33

## **Liste des Tableaux**

<b>Tableau I</b> : Principaux genres des bactéries lactiques utilisés en biotechnologie.....	5
<b>Tableau II</b> : Milieux d'isolement de bactéries lactiques.....	7
<b>Tableau III</b> : Principaux genres de bactéries lactiques et le type métabolique.....	8
<b>Tableau IV</b> : Les divers caractéristiques de l'ben.....	15
<b>Tableau V</b> : Caractéristiques physico-chimiques du beurre frais traditionnel algérien.....	16
<b>Tableau VI</b> : Composition chimique du fromage.....	17
<b>Tableau VII</b> : Composition des différents types de yaourt.....	18
<b>Tableau VIII</b> : Matériel et différents milieux de culture utilisés.....	20

## **Liste des tableaux en annexe**

<b>Tableau I</b> : Composition de la gélose Hektoen
<b>Tableau II</b> : Les ingrédients du bouillon nutritif
<b>Tableau III</b> : Composons du milieu EMB
<b>Tableau IV</b> : Composition du milieu chapman
<b>Tableau V</b> : Composition du milieu MRS

# **Introduction**

# INTRODUCTION

---

Les bactéries lactiques appelées aussi les bactéries de l'acide lactique sont des micro-organismes utilisées avant la découverte du monde microbienne par les anciennes civilisations. De nos jours, ces micro-organismes sont employés dans la fabrication de différentes denrées alimentaires. Cette flore lactique est dite probiotique car elle a des effets bénéfiques sur la santé humaine (**Achemchem., 2014**).

Ces bactéries peuvent coloniser plusieurs niches écologiques à savoir : les aliments, tube digestif d'Homme et d'animaux, l'environnement...etc, grâce à leur souplesse physiologique (**Achemchem., 2014**).

Ces micro-organismes regroupent des espèces hétérogènes qui partagent un élément commun qui est la production de l'acide lactique comme produit principal de leur métabolisme fermentaire qui engendre la diminution du pH dans le milieu ce qui induit l'inhibition de la croissance des bactéries pathogènes. Ce sont des cellules procaryotes, hétérotrophes et chimio-organotrophes. Elles sont à Gram positive généralement immobiles, ne sporulent pas, avec un métabolisme anaérobie mais aéro-tolérante et qui sont dépourvues de nombreuses activités enzymatiques telles que la nitrate réductase, catalase et cytochrome oxydase (**Jerom J., 2004**).

Les bactéries lactiques peuvent contaminer les produits alimentaires par différents moyens soit par une contamination naturelle ou bien par l'addition sous forme de souche sélectionnée. Et elles jouent un rôle important dans la conservation des aliments fermentés (**Achemchem., 2014**).

Ces bactéries bénéfiques possèdent un effet antimicrobien par la production d'un grand nombre d'agents inhibiteurs comme l'acide organique, peroxyde d'hydrogène et d'autres substances dites bactériocines (**Rodgers S., 2001**).

Dans ce contexte, notre travail a pour objectif d'isoler des bactéries lactiques de différents denrées alimentaires et l'évaluation de l'activité antimicrobienne vis-à-vis de certaines souches pathogènes.

Notre manuscrit est structuré en 03 parties différentes : la première partie est la synthèse bibliographique qui donne une vue globale sur les bactéries lactiques (définition, historique, habitat,...etc) et des détails sur le lait et ses dérivés. Dans la seconde partie, nous exposons le matériel et méthodes où nous avons pu isoler les bactéries lactiques de différents produits laitiers et les évaluer. Leur activité antimicrobienne vis-à-vis des souches pathogènes. Et pour finir, la troisième partie est consacrée à l'interprétation des résultats obtenus lors de notre manipulation et les discuter.

**Synthèse bibliographique**

**Chapitre I**

**Généralités sur les bactéries  
lactiques**

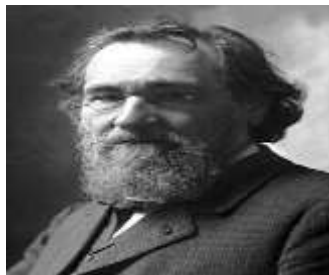
## 1. Définition des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques sont des microorganismes unicellulaires procaryotes, hétérotrophes, et chimioorganotrophes. Ce sont des bactéries à Gram positif regroupant des espèces hétérogènes mais qui partagent un élément commun qui est la production de l'acide lactique par fermentation des sucres. Ces bactéries peuvent être sous plusieurs formes : coques, bacilles, et coccobacille (Klein *et al.*, 1998; Badis *et al.*, 2005). Elles sont immobiles et ne produisent pas de spore. Les bactéries lactiques supportent des pH acides et elles ont un métabolisme aérobie facultatif et sont dépourvues de catalase. Une grande quantité en oxygène (O<sub>2</sub>) peut leur être néfaste à cause de l'absence de la chaîne respiratoire (Latreche., 2016).

## 2. Historique

Les bactéries lactiques sont des microorganismes apparus sur terre il y a environ 3 milliards d'années. Elles sont très anciennes et elles existent avant les cyanobactéries donc avant l'apparition de l'O<sub>2</sub> dans l'atmosphère ce qui explique leur caractère anaérobie. Ils ont été isolés pour la première fois en 1904 à partir du lait par Metchnikoff (Quiberoniet *al.*, 2001).

Metchnikoff (figure 01) a également partagé son point de vue sur le fait que le yaourt bulgare pourrait arrêter le vieillissement de l'intestin dû aux bactéries purifiantes. Le lauréat du prix Nobel a déclaré que *Bacillus bulgaricus*, trouvé dans du lait caillé bulgare et consommé en grande quantité par la population rurale, remplirait parfaitement cette fonction. Il y avait des raisons de croire que la longévité remarquable de nombreux bulgares était due à la consommation de yaourt (Daoudi *et al.*, 2018).



**Figure 01 :** Ilya Ilich Metchnikov immunologiste franco-russe, biologiste, lauréat du Prix Nobel (1845 – 1916) (El-idrissi., 2020).

### 3. Classification

La taxonomie des bactéries lactiques est décrite pour la première fois par Oral-Jensen au début du 21<sup>ème</sup> siècle (1919) (**Lahtinemet al., 2012**). La classification des bactéries lactiques est basée sur plusieurs caractères tel que : la morphologie, la croissance à différentes températures, le mode de fermentation des sucres, la capacité de croissance à différentes concentrations en sel, la tolérance aux pH acides et alcalins, la configuration de l'acide lactique, l'hydrolyse de l'arginine et la formation d'acétoïne. En plus de ces caractères, on distingue aussi l'importance et les outils moléculaires qui ont joué un grand rôle dans l'augmentation du nombre de genres des bactéries lactiques à partir des quatre initialement reconnues par Oral-Jensen : *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* et *Streptococcus* (**Lahtinemet al., 2012**).

Autre fois l'ancien genre *Streptococcus* était divisé en 03 groupes : *Enterococcus*, *Lactococcus* et *Streptococcus*. Mais aujourd'hui, un nouveau genre de bactéries lactiques qui est *Vagococcus* est apparu ressemblant aux *Lactococcus* qui partage un élément commun qui est la mobilité. Tandis que les autres genres comme *Lactobacillus*, *Leuconostoc* et *Pediococcus* ont gardé leur caractéristique (**Salminen et al., 2004**).

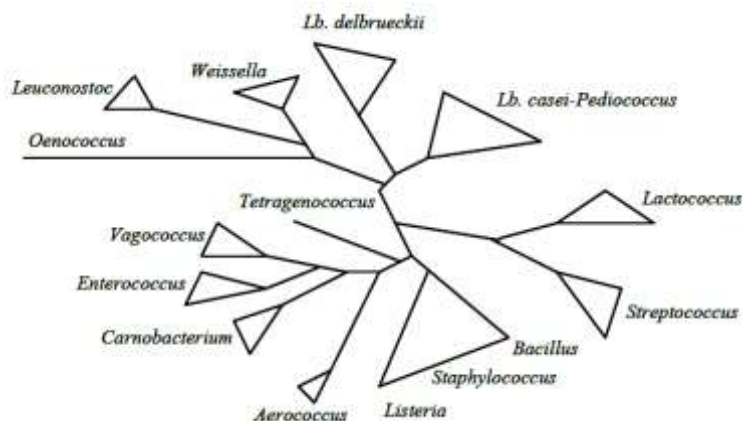
D'après la dernière édition de *Bergey's manual of systematic bacteriology* 2009, les bactéries lactiques sont classées dans le phylum des Firmicutes, la Classe des *Bacilli* et l'ordre des *Lactobacillales* renfermant trente cinq genres répartis sur six familles. Parmi ces genres, seulement quelques uns sont utilisés dans la biotechnologie alimentaire, à savoir *Aerococcus*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Vagococcus*, *Tetragenococcus*, *Weissella*. (Figure 02) (**Dridier et Privost., 2009**).



**Tableau I :** Principaux genres des bactéries lactiques utilisés en biotechnologie (**Lahtinemet al., 2012**).

Famille	Genre	Caractéristiques								
		Forme	CO <sub>2</sub> partir du glucose	10° C	45° C	6,5 % Nacl	18 % Nacl	pH 4,4	p H 9,6	Configuration
<i>Aerococcaceae</i>	<i>Aerococcus</i>	cocci	-	+	+	+	-	-	+	L
<i>Carnobacteriaceae</i>	<i>Carnobacterium</i>	ovoïde	-	+	-	ND	-	ND	-	L
<i>Enterococcaceae</i>	<i>Enterococcus</i>	cocci	-	+	+	+	-	+	+	L
	<i>Tetragenococcus</i>	cocci		+	-	+	+	V	+	L
	<i>Vagococcus</i>	cocci		+	-	-	-		-	L
<i>Lactobacillaceae</i>	<i>Lactobacillus</i>	ovoïde	V	V	V	V	-	V	-	D. L. DL
	<i>Pediococcus</i>	cocci	V	V	V	V	-	+	-	L. DL
<i>Leuconostocaceae</i>	<i>Leuconostoc</i>	cocci	+	+	-	V	-	V	-	D
	<i>Oenococcus</i>		+		-	V	-	V	-	D
				+						
	<i>Weissella</i>		+	+	-	V	-	V	-	D. DL
<i>Streptococcaceae</i>	<i>Lactococcus</i>	cocci	-		-	-	-	V	-	L
				+						
	<i>Streptococcus</i>		-	-	V	-	-	-	-	L

V : variable, ND : Non Déterminer.



**Figure 02 :** Arbre phylogénétique des bactéries lactiques avec les différents genres (**Axelsson et al., 2004**).

#### **4. Habitat**

Les bactéries lactiques sont des microorganismes ubiquistes et omniprésents dans des différentes niches écologiques, que se soit dans le lait, les produits laitiers, les végétaux, viande, poisson et ils peuvent même se trouver à l'intérieure de n'importe quelle organismes vivant (humaine et animale). Leurs vaste habitat leurs permet de se diversifier (**Koning et Frohlich., 2009**).

Chez les êtres humains, certaines parties de leurs corps peuvent être colonisés par ces bactéries lactiques qui jouent un rôle de protection contre les bactéries pathogènes (**Björkroth et Holzappel., 2006**).

**Tableau II : Milieux d'isolement de bactéries lactiques (Hassaine., 2013)**

Bactéries lactiques	Habitat où milieu d'isolement
<b><i>Lactobacillus</i></b>	
<i>Lb. delbrueckii</i> subsp. <i>delbrueckii</i>	Végétaux
<i>Lb. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>	Yaourt, Fromage
<i>Lb. delbrueckii</i> subsp. <i>lactis</i>	Lait, Fromage
<i>Lb. acidophilus</i>	Bouche, tractus intestinal
<i>Lb. gasseri</i>	Bouche, tractus intestinal
<i>Lb. casei</i> subsp. <i>casei</i>	Rumen
<i>Lb. sake</i>	Végétaux, produits carnés
<i>Lb. kefir</i>	Kefir
<i>Lb. sanfransisco</i>	Pain
<b><i>Lactococcus</i></b>	
<i>Lc. raffinolactis</i>	Lait caillé
<i>Lc. garviae</i>	Lait de mammite
<i>Lc. lactis</i> subsp. <i>lactis</i>	Lait cru, lait fermentés et végétaux
<b><i>Leuconostoc</i></b>	
<i>Ln. Oenos</i>	Lait, produit laitiers, fruits légume, végétaux en fermentation (choucroute), produits de panification, solution visqueuse de sucre. Vin (absent dans le lait)
<b><i>Pediococcus</i></b>	
<i>Pc. Pentasacens, Pc. Acidilactici</i>	Végétaux, boissons alcoolisé, matière végétale, lait et produit laitiers.
<i>Pc. Halophilus</i>	Produits de pêche, anchois salé.
<b><i>Streptococcus thermophilus</i></b>	Lait et produits laitiers.

## 5. Caractères morphologique et biochimique

Les bactéries lactiques ont été définies par **Oral-Jensen** en (1919), regroupant plusieurs genres qui se caractérisent par leur capacité de transformer ou de fermenter les sucres en acide lactique.

Les bactéries lactiques font partie du groupe des Firmicutes (bactéries à Gram positif), non sporulant et généralement immobile et qui peuvent prendre plusieurs formes (coque, bacille et coccobacille). Actuellement, ils existent plusieurs bactéries qui produisent de l'acide lactique, mais ils ne sont pas considéré comme des bactéries lactiques, tels que *Bacillus* et *Sporolactobacillus* qui sont des bactéries Gram positif, sporulées (**Axelsson., 2004**).

Les bactéries lactiques sont anaérobies (en absence d'O<sub>2</sub>), mais aéro-tolérante (petite quantité d'O<sub>2</sub>), elle ne possède ni catalase, ni nitrate-réductase, ni cytochrome-oxydase (**Ouadghiri et al., 2005**). Elles sont classées dans les bactéries à faible pourcentage en GC (leurs GC varient entre 35 à 54%). Aussi, elles sont chimio-organotrophe c'est-à-dire elles utilisent des substances hydrocarboné comme les sucres, acides organique, alcool comme source d'énergie.

Les bactéries lactiques possèdent deux types de métabolisme fermentaire :

- 1)- Fermentation homolactique si l'acide lactique est le seul produit finale de la fermentation.
- 2)- Fermentation hétéro lactique si il y'a d'autres produits tels que l'acide acétique, éthanol, CO<sub>2</sub>,...etc. Elles sont résistante à alcool comme éthanol (10-15%) et CO<sub>2</sub> et elles peuvent survivent dans un environnement à faible activité d'eau (**Salveti et al., 2013**).

**Tableau III** : Principaux genres de bactéries lactiques et le type métabolique (**Matamoros., 2008**).

Genre	Forme de la cellule	Type de fermentation	Configuration de l'acide lactique	Espèce type
<i>Aerococcus</i>	Coques	Homofermentaire		<i>Ac. viridans</i>
<i>Carnobacterium</i>	Bacilles	Hétérofermentaire	L(+)	<i>Cb. divergens</i>
<i>Enterococcus</i>	Coques	Homofermentaire	L(+)	<i>Ec. faecalis</i>
<i>Lactobacillus</i>	Bacilles	Homo ou hétéro-fermentaire	D(-), L(+) ou D/L	<i>Lb. delbrueckii</i>
<i>Lactococcus</i>	Coques	Homofermentaire	L(+)	<i>Lc. lactis</i>
<i>Leuconostoc</i>	Coques	Hétérofermentaire	D(-)	<i>Ln. mesenteroides</i>
<i>Oenococcus</i>	Coques	Hétérofermentaire	D(-)	<i>Oe. oeni</i>
<i>Pediococcus</i>	Coques	Homofermentaire	D/L ou L(+)	<i>Pc. damnosus</i>
<i>Streptococcus</i>	Coques	Homofermentaire	L(+)	<i>Sc. salivarius</i>
<i>Tetragenococcus</i>	Coques	Homofermentaire	L(+)	<i>Tc. halophilus</i>
<i>Vagococcus</i>	Coques ovoïdes	Homofermentaire	L(+)	<i>Vc. fluvialis</i>
<i>Weissella</i>	Petits bacilles	Hétérofermentaire	D/L ou D(-)	<i>We. viridescens</i>

## 6. Différents genres de bactéries lactiques

Les genres *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc* et *Streptococcus* ont été fut les premiers genres à être décrit, mais il existe d'autres tels que *Aerococcus*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactococcus*, *Oenococcus*, *Tetracoccus*, *Vagococcus* et enfin *Weissella*. (**Boullouf., 2007; Brahim., 2015**).

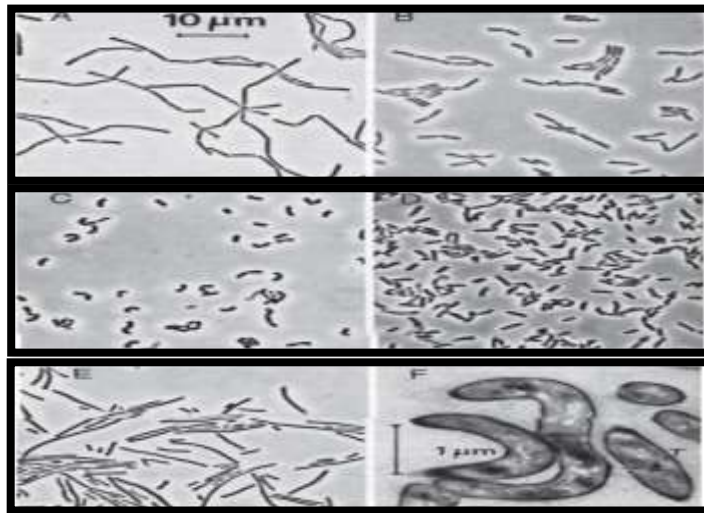
### 6.1 . Genre *Lactobacillus*

Ce genre a été décrit pour la première en l'an 1896 par **Beijerinck** et l'espèce types était *Lactobacillus delbrueckii*, qui est considéré comme le plus grand et le plus diversifié de la famille des *Lacobacillaceae* et comprennent plusieurs espèces enverront 158 espèces. (**Zhang et Cai., 2014**).

Un genre hétérogène, immobile, à catalase négative et la plus part d'entre elles sont utilisées comme agent de fermentation dans l'industrie et aussi en tant que contaminant. On peut les trouver sous différentes formes coccobacille, fins et incurvés,...etc (figure 03 et 04) (**Dworkin et al., 2006**).



**Figure 03 :** *Lactobacillus bulgaricus* au microscope électronique (Menad., 2018)



**Figure 04 :** Des micrographies montrant la différence morphologique des cellules de lactobacilles (DeVos *et al.*, 2009): **A:** *Lactobacillus gasseri*; **B:** *Lactobacillus agilis*; **C:** *Lactobacillus curvartus*; **D:** *Lactobacillus mineur*; **E:** *Lactobacillus fermentum* et **F:** forme de l'involution de lactobacilles dans une lame mince d'un grain de kéfir.

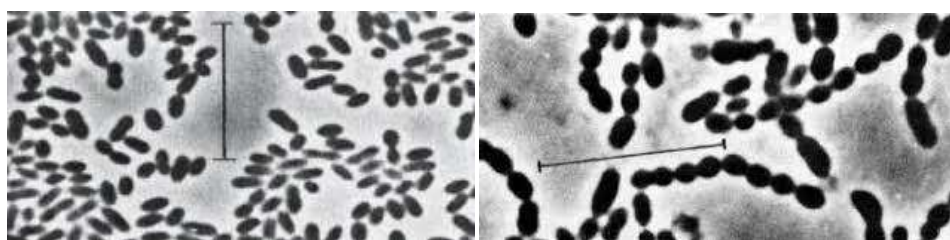
Les lactobacilles peuvent être classés en trois sous-groupes :

- **Homofermentaire strict:** qui regroupe des espèces comme *Lb acidophiles*, *Lb helveticus* appartenant au sous-genre de *Thermobacterium* qui produisent de l'acide lactique à partir de la fermentation des hexoses par voie de glycolyse.
- **Hétérofermentaires facultative :** regroupe des espèces de sous-genre de *Streptobacterium*. En ferment des hexoses en acide organique qui est l'acide lactique par voie de glycolyse et même de fermenté les pentoses en acide lactique et en acide acétique par l'intervention d'une enzyme spécifique appelée la phosphocétalase. Au cours de ce processus de fermentation, il y'auras lieu la production du CO<sub>2</sub>.
- **Hétérofermentaires strict (obligatoire) :** regroupée sous-genre de *Betabacterium* qui

sont capable de fermenter les hexoses en acide lactique, acétique et CO<sub>2</sub>. Aussi peuvent fermentée les pentoses en acide lactique et acétique par voie glycéraldéhyde-3-phosphate/pyruvate, kinase/lactate déshydrogénase (Salminen *et al.*, 2004 ; Bekhouche., 2006 ; Zhang et Cai., 2014).

## 6.2. Genre *Lactococcus*

*Lactococcus* est l'un des genres de bactéries lactiques qui possèdent les mêmes caractères : immobile, anaérobie facultatif, catalase négative qui sont cultivé dans le milieu M17 avec un pH neutre. Ce genre peut se présenter sous forme coque en paire ou en chaînes (figure 05) (Pilet *et al.*, 2005). Il est très exigeant sur le plan nutritionnel (Salminen *et al.*, 2004).



**Figure 05 :** *Lactococcus lactis* subsp *lactis* sous forme de cellule ovoïde regroupée par paire et en chaînette selon la souche (Teuber et Geis., 2006).

Elles sont homofermentaires en produisant que de l'acide lactique L(+). Elles cessent de croître à un pH acide environ 4,5 et elle ne peut pas croître dans un milieu alcalin ou en présence de NaCl (6.5%), à l'exception d'une seule espèce qui est *Lactococcus garvieae* (Teuber et Geis., 2006 ; Alomar., 2007).

Ils existent certaines espèces qui sont capables de produire des exo polysaccharides et des bactériocines, et de se croître à certain pourcentage (3%) en bleu de méthylène et d'hydrolyser l'arginine (Tamime., 2002).

## 6.3. Genre *Streptococcus*

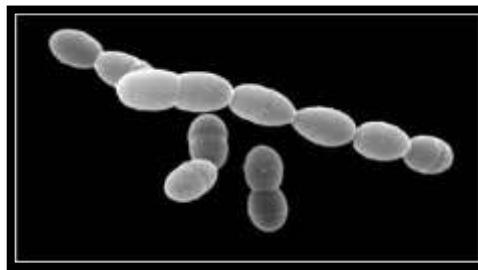
Les streptocoques regroupent un vaste ensemble de bactéries ubiquitaires et comprend de nombreuses espèces. En raison de leurs nombres, on distingue les espèces pathogènes (pyogènes), orales (*S. salivarius*, *S. bovis*) et autres streptocoques (Scheilfer., 1987).

Ce genre est omniprésent dans la nature, on peut même les trouver dans le tube digestif de l'Homme et d'animaux en partageant les caractères suivants : anaérobie facultatif, chimio-organotrophe, catalase négative, homofermentaire et leurs température est située entre 25 et 45°C (Boudersa *et al.*, 2017).



*Streptococcus thermophilus* (figure 06) est la plus utilisée dans le domaine de technologie alimentaire qui a été classée à part dans le groupe des « autres streptocoques » mais en utilisant les techniques moléculaires, elle a été transférée au groupe des streptocoques oraux à cause de leur similitude en patrimoine génétique avec *Streptococcus salivarius*. Cette espèce est connue par son caractère non pathogène, la résistance à la température, se différencie par son habitat et elle se distingue de la plus part des autres streptocoques grâce au nombre limite des hydrates de carbone (Haddie., 1986 ; Stiles et Holzafel., 1997 ; Pilet *et al.*, 2005).

*S.thermophilus* est très utilisée tant que levain dans la fabrication de certains produits laitiers fermentés comme le yaourt, fromage,...etc. (Hols *et al.*, 2005 ; Delorme., 2008).



**Figure 06:** Morphologie cellulaire de *Streptococcus thermophilus* observée sous microscope électronique (Durso et Hutkins., 2003).

#### 6.4. Genre *Enterococcus*

Est un genre qui a la même morphologie que les lactocoques et qui regroupent les streptocoques fécaux. Il est hétérofermentaire et certaines espèces sont mobiles grâce à la présence de flagelle et d'autre possédant des pseudo-catalase. Leurs cellules sont sous forme ovoïde en paire ou en courtes chaînes. Le genre *Enterococcus* se caractérise par sa tolérance à 6.5% NaCl et au pH= 9,6. La température optimale de croissance est de 35°C à 37°C dans le milieu MRS (Tamime., 2002 ; Devriese *et al.*, 2006 ; Ho *et al.*, 2007 ; Rakhis *et al.*, 2016).

#### 6.5. Genre *Aerococcus*

En l'an 1953, la première espèce de genre *Aerococcus* a été découverte par **Williams et ses collaborateurs**, et le seul élément qui a permis de différencier les espèces d'*Aerococcus* des espèces de *Pediococcus* était les tests morphologiques et physiologiques. Ils existent cinq espèces appartenant à ce genre : *Ae.christensenii*, *Ae. sanguinicola*, *Ae. urinae*, *Ae. cocus*, *Ae.urinaeequi* et *Ae.urinachominis*. Ce genre est de forme ovoïde, immobile, anaérobie facultatif, catalase négative, oxydase négative, homofermentaire, et leurs divisions se déroulent sur deux plans formant ainsi des tétrades (Collins et Faslen., 2009).

### 6.6. Genre *Pediococcus*

Les espèces appartenant au genre *Pediococcus* sont mésophiles, homofermentaires et ne produisent pas de CO<sub>2</sub> au cours de la fermentation du glucose et souvent incapables d'utiliser le lactose et qui nécessite la présence de plusieurs facteurs de croissances pour leur développement. Leurs pH compris entre 5 à 7,5 et leurs températures optimale varier de 25°C à 35°C et ils ne sont pas en mesure de réduire le nitrate (**Holzappel et al., 2009 ; Lahtinem et al., 2012**).

### 6.7. Genre *Leuconostoc*

Regroupe les coques lenticulaires, mésophiles, aux caractères hétérofermentaires avec la production d'acides lactiques et CO<sub>2</sub> (**Pilet et al., 1998 ; Ho et al., 2007**).

Ce genre a été décrit par **Van Teighen en 1878**. Au départ, ces bactéries sont apparues sous forme de chaîne, non pigmenté. Trois espèces ont été reclassé en 1984 en sous classe et d'autres sont rajoutée (**Zarour., 2010 ; Zhang et Cai., 2014**). Certains espèces de *Leuconostoc* ont été utilisé en association avec *Lactococcus* pour produit d'autres substances aromatiques comme le di acétyle, l'acétoïne (**Hadef., 2012**).

## 7. Caractères cultureux et exigence nutritionnelle

L'ensemble des bactéries lactiques se multiplient dans une gamme de température comprise entre 15°C et 42°C, sauf l'espèce dite « *Streptococcus thermophilus* » qui dépasse les 42°C et atteindre 55°C (**Tailliez., 2004**).

Les bactéries lactiques se développent au mieux dans les milieux acide où le pH est compris entre 4 et 6, mais leurs développement s'arrêt à pH inférieure à 4. Tant-dis que le milieu le plus adapté à leur culture est **Man, Rogosa et Sharpe (MRS)**, où leurs colonies sont en générale petites, incolores, blanchâtres ou jaunâtres, lisses ou rugueuses, arrondies ou lenticulaires (**De vos et al., 2009**).

Ces bactéries se caractérisent par leurs exigences nutritionnelles nombreuses en plusieurs substances organiques telles que les vitamines (B5, B3 et B12) et en base azotée et en cation. De plus, les ions de Mg<sup>2+</sup>, Mn<sup>2+</sup> et Fe<sup>2+</sup> sont nécessaire pour leur croissance et sont considérés comme des activateurs d'un grand nombre de réaction enzymatiques et aussi comme stabilisateur de la structure des acides nucléiques (**De Man et al., 1960 ; De Vos et al., 2009**).





**Chapitre II**  
**Lait et produits laitiers**

## 1. Généralités sur le lait

Le lait cru est un produit de la traite d'une femelle laitière (Brebis, chèvre, vache), qui est bien nourris et non surmenée. Ce produit doit être recueilli proprement et ne doit pas contenir de colostrum (**Bourgeois et al., 1996 ; Mahaut et al., 2000**).

Cet aliment est de couleur blanche plus ou moins jaunâtre de saveur légèrement sucrée et d'odeur peu marqué, mais caractéristique. Sa composition varie d'une espèce à une autre, tel que le lait des ruminants qui est caséineux alors que celui des carnivores est albumineux. Cette composition dépend également de l'alimentation, l'âge, ou l'état sanitaire de l'animal.

Les principaux composants du lait sont représentés par les différentes variables :

- La densité : 1,028 à 1,036
- Point de congélation : -0,51 à -0,55°C
- Point d'ébullition : 100,5°C
- pH : 6,5 à 6,7
- acidité : 15 à 18° dornic (**Louaileche., 1998**).

## 2. Microflore du lait

Le lait est un aliment de choix de faite qu'il est riche en éléments nutritifs ; dans un litre de lait qui pèse 1000g, on trouve 880g d'eau et 120g de matière sèche (Protéine, vitamine, sel minéraux, matière grasse, sucre, calcium). Cette richesse en éléments nutritifs offre des conditions favorables à la croissance des divers microorganismes. Le lait peut contenir une flore originelle et une flore de contamination (**Larpen., 1996**).

### 2-1 Flore originelle

Lorsque le lait est prélevé dans des conditions normales à partir d'un animal sain, il peut contenir des micro-organismes saprophytes (moins de  $10^3$  germes/ml). Le lait a un mécanisme de défense naturel contre les bactéries appelées : Lacténin mais d'une action de courte durée d'environ 1h. Il est envisageable que cet aliment soit contaminé par d'autres micro-organismes pathogènes comme des streptocoques pyogènes, des corybactéries pyogènes et des staphylocoques. Il peut s'agir aussi de germes d'infections générales qui peuvent passer dans le lait en absence d'anomalies du pis et quelques virus (**Guiraud., 2003**).

### 2-2 Flore de contamination

Le lait peut être contaminé par différents sources :

- Personnelle (non désinfection des mains, éternuement).
- Environnement de la traite (citerne de transport, milieu de stockage, matériel de la traite).
- Animale malade (contamination des mamelles, antibiotique).

- Flore de l'air (dont *Pseudomonas*, bactéries sporulées).
- Fèces et téguments de l'animal (coliforme, entérocoque, *Clostridium*, entérobactéries pathogènes (*Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia*).
- Sol (*Streptomyces*, *Listeria*, bactéries sporulées et spore fongique) (**Guiraud., 2003**).

### 3. Les produits laitiers

#### 3.1 L'ben

Est un babeurre obtenu à partir de lait cru de vache ou de chèvre qui est fermentée spontanément. Pour la fabrication de cet aliment, le lait cru est laissé à une température ambiante jusqu'à sa coagulation spontanée (24h à 72h). Le lait caillé obtenu est appelée : Rayeb. Ce dernier peut être consommée tel qu'il est ou soumis à l'écémage pour avoir du L'ben et du beurre frais (**Benkerroum et Tamime., 2004**).

##### 3.1.1 La composition chimique

La composition chimique de L'ben varie considérablement entre les différents localités, régions et exploitations, principalement en raison de la variation de la composition chimique du lait au cours de la lactation et de l'incohérence des étapes de fabrication adoptée (**Benkerroum et Tamime., 2004**). Ce produit est caractérisé par divers éléments qui sont mentionné sur le tableau suivant :

**Tableau IV:** Les divers caractéristiques de l'ben (**Benkerroum et Tamime., 2004**).

Elements	Valeur
Humidité	91,1
pH	4.2
Aciditétitrable	0.82
Chlorure de sodium	0.2
Lactose	2.7
Teneurs en matière grasse	8.9
Protéines brutes	2.6

##### 3.1.2 Microflore de L'ben

Le lait utilisé pour la production de l'ben contient une flore microbienne abondante et complexe. Il est fort probable que si les bactéries lactiques envahissent les autres micro-organismes qui se trouvent dans la matière première, surtout celles qui sont bénéfiques, le produit alors peut être considéré comme un produit sain pour la consommation humaine. Des études et de recherches ont montré que l'ben peut contenir des flores pathogènes tels que : les bactéries fécales (coliformes, *Escherichia coli*, streptocoque du groupes D) avec un nombre qui dépasse  $10^4$  UFC/ml et même des souches de *Staphylococcus aureus* à

coagulase positive à  $10^3$ UFC/ml et *Listeria monocytogenes* (**Benkerroum et Tamime., 2004**).

Les bactéries lactiques mésophiles étaient la principale microflore responsable de la fermentation et le développement de l'arôme dans l'ben. Les espèces *Lactococcus* et *Leuconostoc* prédominantes dans le produit et aussi *Lactobacillus* spp malgré son absence dans le lait cru mais récupéré en faible quantité dans le produit finale (**Benkerroum et Tamime., 2004**).

### 3.2 Dhan

C'est un beurre frais qui est obtenu après barattage du Rayeb qui présente une consistance molle grâce à la forte concentration en eau (**Benkerroum et Tamime., 2004**).

#### 3.2.1 Composition chimique

**Tableau V:** Caractéristiques physico-chimiques de beurre frais traditionnel algérien (**Lahsaoui., 2009**).

Caractères	Valeur
Humidité	14%
Nacl	1.5%
Lactose	1.2g/100g
Matière grasse	81g/100g
Protéine	3.2g/100g
Lipides insaponifiable	0.3g/100g
Indiced'acide	52mg KOH/g lipide
Indice peroxyde	3.7mg KOH/g lipide

#### 3.2.2 Microflore de Dhan

**Bettache et ses collaborateurs** ont montrée que les genres dominants de la microflore du Dhan sont : *Leuconostoc*, *Lactococcus*, *Lactobacillus* et d'autres groupes identifiés comprenaient des streptocoques pyogène et des entérocoques (**Bettache et al., 2012**).

### 3.3 Jben

Jben ou fromage blanc fabriquée à partir du lait cru de vache ou de chèvre ou des deux laits. Il est recueillie dans un récipient en terre et mis à fermenté spontanément à une température ambiante jusqu'à la coagulation. Le caillé obtenu est transféré dans un sac en mousseline pour être égoutter 2 à 3 jours. En suit, le fromage est vidé du sac salé en surface et conditionné.

La fabrication du fromage blanc au départ était considérée comme activité rural mais actuellement, elle est de plus en plus réalisée dans les villes. En conséquence, de réel changement on été introduits dans le protocole de fabrication, ces changements visent soit à

réduire le temps, soit à renforcer la sécurité, la qualité et la conservation du produit, par exemple l'ajout de la présure pour accélère la coagulation (**Benkerroum et Tamime., 2004**).

### 3.3.1 Composition chimique

**Tableau VI** : Composition chimique de fromage (**Benkerroum et Tamime., 2004**).

Caractères	Valeur
Humidité	62.5
pH	4.1
Aciditétitrable	1.04
Chlorure de sodium	0.5
Lactose	4.1
Teneur en matière grasse	16.5
Protéine	15.8

Le pH et l'acidité titrable sont les paramètres les moins variables dans le fromage. Cependant le plus variable est l'extrait sec car il dépend de la durée d'égouttage du caillé (**Benkerroum et Tamime., 2004**).

### 3.3.2 Microflore du fromage blanc

Le fromage, comme la plus part des produits laitiers, est dominé par les bactéries lactiques ( $10^8$  à  $10^9$  UFC/g), qui sont représenté principalement par *Lc. Lactis* spp. *lactis*, *Leu. Mesenteroides* subsp. *Lactis*, *Lb. Casei* subsp. *casei*. En plus des bactéries lactiques, il y'a la présence d'autres microorganismes en nombre relativement élevé, des levures et moisissures sont supérieure à  $10^6$  UFC/g, mais leurs présence ne soulèvent aucune inquiétude parce qu'ils peuvent contribuer à la saveur du produit et d'autres avantages (l'apparence visqueuse, la décoloration, couche de croissance en surface et une forte odeur d'alcool). Le fromage peu être responsable d'épidémie de toxi-infection alimentaire (TIA) parce qu'il peut contenir de coliforme et d'entérocoque et d'autres microorganismes pathogènes qui peuvent nuire à la santé publique comme *Salmonella* spp, *Yersinia enterocolitica* et *L. monocytogenes* à des fréquences de 10%, 4.1% et 18.1% respectivement (**Benkerroum et Tamime., 2004**).

### 3.4 Yaourt

Le yaourt est le plus connu des produits fermentés, obtenus à l'aide des bactéries lactiques, dont on trouve la présence des deux espèces thermophiles spécifiques « *Streptococcus thermophilus* » et « *Lactobacillus bulgaricus* » qui doivent êtreensemencé simultanément et être vivant dans le produit fini au moment de la vente au consommateur.

Les yaourts et d'autres laits fermentés sont dotés de fonctionnalités bénéfiques pour la santé humaine (**Bourlioux et al., 2011**).

### 3.4.1 Composition des différents types de yaourt

La composition du lait au cours de la fermentation subit un certain nombre de modification et certaines de ces modifications ont fait un produit de meilleur valeurs nutritionnelle et propriétés physiologiques intéressantes (**Fredot., 2005**)

**Tableau VII** : Composition des différents types de yaourt (**Fredot., 2005**).

Type de yaourt	Teneur moyenne pour 100 g de produit (en g sauf calcium en mg)			
	Protides	Lipides	Glucides	Calcium
Yaourt nature	4.1	1.1	4.8	170
Yaourt nature au lait entier	4.1	3.5	4.7	151
Yaourt nature maigre	4.5	0.3	4.9	150
Yaourt nature sucré	3.9	0.9	13.4	155
Yaourt maigre sucré	4	0.1	13.8	150
Yaourt aromatisé	4	1	14.5	150
Yaourt aromatisé maigre	4.3	0.1	7.1	160
Yaourt à boire nature sucré	2.9	1.2	12.8	110
Yaourt à boire aromatisé	2.9	1.4	13.3	107
Yaourt à boire pulpe de fruits	2.7	1.6	13.5	107

**Partie II : Partie pratique**

**Chapitre III**

**Matériel et Méthodes**

## 1. Matériel

Durant les différentes étapes de cette étude, plusieurs matériels, appareils, milieux de culture et réactif sont utilisés dans le but d'isoler et d'étudier l'activité antibactérienne des bactéries lactiques (tableau VIII).

**Tableau VIII:** Matériel et différents milieux de culture utilisés

Appareils	Milieux de culture	Réactifs	Divers
Balance	Bouillon MRS	Ethanol	Aluminium
Plaque chauffante	Gélose MRS	Eau de Javel	Flacon de 200ml
agitatrice Bain	Bouillon nutritif	Eau distillée	Boîtes de Petri
marie	Gélose nutritif		Pipette Pasteur
Autoclave	Gélose nutritif		Barreau
Etuve	moelle		magnétique
	Gélose Hecktoen		Earlein-Mayer
	Gélose EMB		Portoir
	Gélose Chapman		Micropipette
	Bouillon Chapman		Anse de platine
			Eprouvette
			Bec bunsen
			Tubes à essais

## 2. Méthodes

### 2.1. Origine des échantillons

Les échantillons de divers produits alimentaires (Lben, fromage, yaourt et camembert) sont tous issus de la matière première qu'est le lait de vache. Ces quatre produits sont récoltés dans la wilaya de Bouira à proximité de l'université, sauf le lait cru de chèvre d'origine de la commune d'Aghebalou situer au Nord East de la wilaya de Bouira.

### 2.2. Echantillonnage

Pour l'échantillonnage de lait cru, les mamelles sont nettoyées avec un produit moussant puis essuées en utilisant un papier absorbant. L'échantillon de lait est récolté dans un flacon en plastique de 250 ml, puis conservé à 4°C. En suite, transporté au laboratoire où il est analysé. Les produits alimentaires (figure 07) sont conservés dans des conditions favorables et ils ont été transportés rapidement au laboratoire afin de réaliser notre ensemencement.





Lait cru de chèvre

**Figure 07 :** Différents produits alimentaires utilisés lors de la manipulation.

### 2.3. Isolement des bactéries lactiques

Après avoir récoltés les différents produits alimentaires et afin de pouvoir isoler les bactéries lactiques, on a prélevé une quantité de chaque produit alimentaire et on le repique dans 5ml de bouillon MRS à raison de deux tubes pour un produit alimentaire (figure 08). L'incubation se fait à 37°C pendant 24h.

Après 24h d'incubation, on ensemence à l'aide d'une pipette Pasteur tous les tubes qui présentent un trouble en surface de gélose MRS en faisant des striées éloignées. Enfin, on incube les boîtes à 37°C pendant 72h.



**Figure 08 :** Ensemencement de différentes denrées alimentaires dans le bouillon MRS.

## 2.4. Purification et conservation des souches isolées

Après l'incubation, les colonies obtenus sur gélose MRS on été purifiées plusieurs fois en repiquant chaque type de colonie dans de bouillon MRS et ensuit isolé sur gélose

MRS, afin d'avoir des colonies bien séparé et de même aspect. Les souches pures obtenues sont conservées dans de bouillon MRS à 4°C, pendant quelques jours.

## 2.5. 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 (**Lopez-Diaz, 2000 ; Badis et al., 2004 ; Veljovic et al., 2007**).

### ➤ 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 cultureux des colonies à savoir : la forme, l'aspect, la taille, la couleur, l'opacité et le contour (**Harrigan et Mc Cane., 1976**).

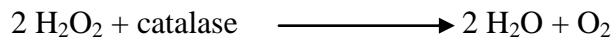
### ➤ Examen microscopique après coloration de Gram

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. 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 lugole 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 x100). L'apparence des bactéries violettes au microscope est définie comme Gram positive (**Harrigan et Mc Cane., 1976 ; Kanak et Yilmaz., 2020**).

➤ **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**).

## 2.6. 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.

➤ **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.

➤ **Préparation des cultures des 18 heures des souches pathogènes**

A partir des boites de gélose de 24 h contenant les souches pathogènes, nous avons prélevé une à deux colonies par boites 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.



**Figure 9 :** Préparation des cultures des souches pathogènes

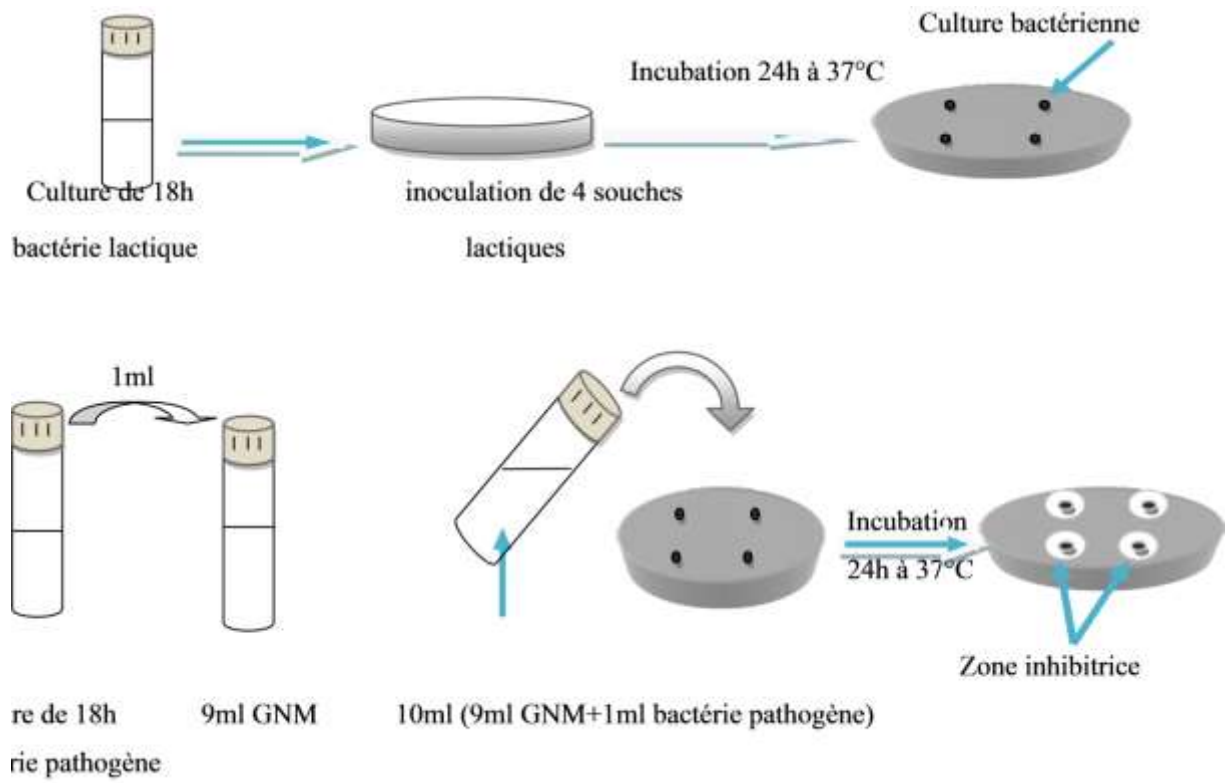
➤ **Réalisation du test de spot**

La solution fraîche des souches de bactéries lactiques des 18 h estensemencée par la méthode des spots en déposant 5 $\mu$ l 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 (GNM) 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 les figures 10 et 11.



**Figure 10:** Les démarches de réalisations des spots



**Figure 11** : Schéma explicatif des étapes des spots

## **Chapitre IV**

### **Résultats et Discussion**

## 1. Isolement et purification des souches lactiques

A partir de différents produits alimentaires (cinq produits alimentaires avec deux échantillons par produit alimentaire) récoltés de la région de Bouira, des isolats de bactéries lactiques ont été obtenus. Ces isolats ont été purifiés par plusieurs repiquages successifs sur bouillon et gélose MRS, en plus d'une incubation à 37°C pendant 24h. Une fois purifiée, les colonies isolées ont été identifiées par les caractéristiques morphologiques et biochimiques.



**A** : souche lactique du lait cru de chèvre

**B** : souche lactique du yaourt

**Figure 12** : Aspect des colonies isolées à partir de différentes denrées lactières.

## 2. Identification des bactéries lactiques

### 2.1. 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 11).



**Figure 13**: Aspect des cultures microbiennes sur bouillon MRS.

**a** : voile microbienne

**b** : précipité microbien



## 2.2. 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.

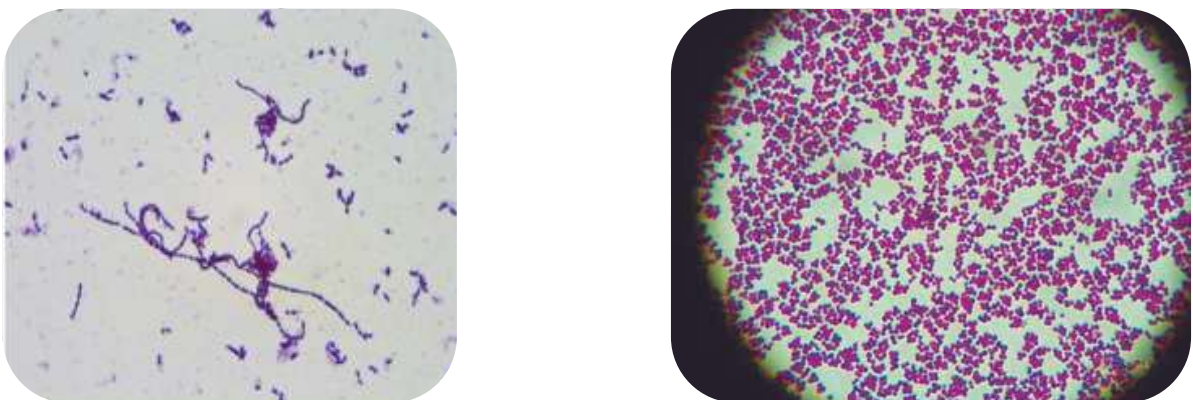
Les souches isolées ont un aspect macroscopique différents les un des autres. On remarque la présence des colonies lenticulaires et d'autres sont rondes, parfois bombées de taille variables de 1mm avec des surfaces lisses (figure 12).



**Figure 14 :** Aspect des colonies des différents isolats sur gélose MRS.

## 2.3. Test microscopique

Les bactéries lactiques sont des microorganismes à Gram positif. Les résultats que nous avons obtenu lors de notre observation montrent que les cellules examinées après coloration de Gram sont identiques au colorant de violet de gentiane donc des cellules violettes se qui veut dire que ce sont des bactéries à Gram positif. D'après **Savado** et **Traore** en **2011**, il y'a deux grand groupe de bactéries lactiques : celle qui sont sous forme cocci et celles qui sont sous forme de bacilles (figure 13).



**Figure 15 :** Aspect microscopique des bactéries lactiques (grossissement  $\times 100$ ).



## 2.4. Test biochimique

Ce test est à la base de l'identification des bactéries. Les souches qui ont été obtenus lors de notre manipulation ont été utilisées pour l'étude de la production de la catalase. Cette étude a révélé que les bactéries lactiques ne possèdent aucune enzyme de type catalase (pas de formation de bulle), donc elles sont dites catalase négative.

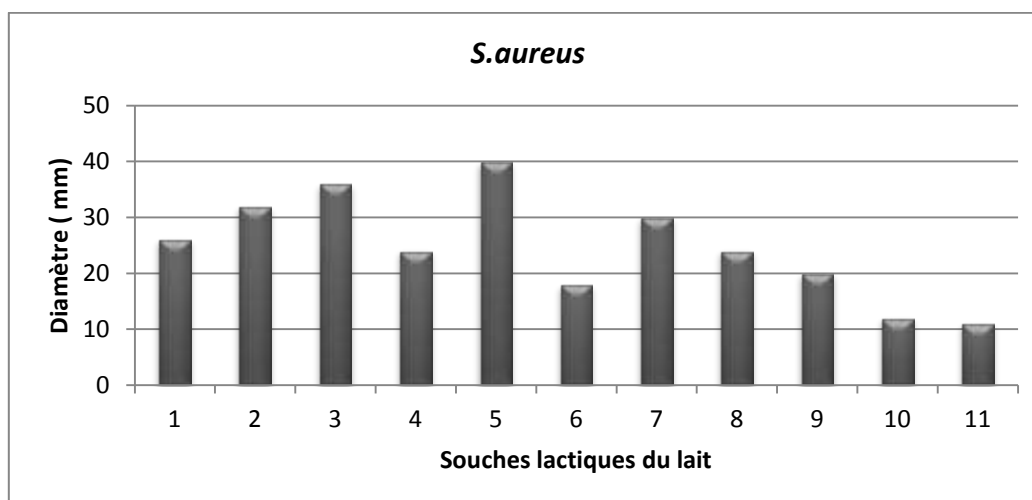
## 3. Résultats de l'activité antibactérienne

Dans cette partie nous sommes focalisée sur la mise en évidence de l'effet antagoniste des bactéries lactiques vis-à-vis des deux souches pathogènes à savoir : *Salmonella*, *Staphylococcus aureus*, 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. L'inhibition est notée positive lorsqu'elle est supérieure à 1 mm (Schillinger et Lucke., 1989). Toutes les souches présentaient un effet inhibiteur.

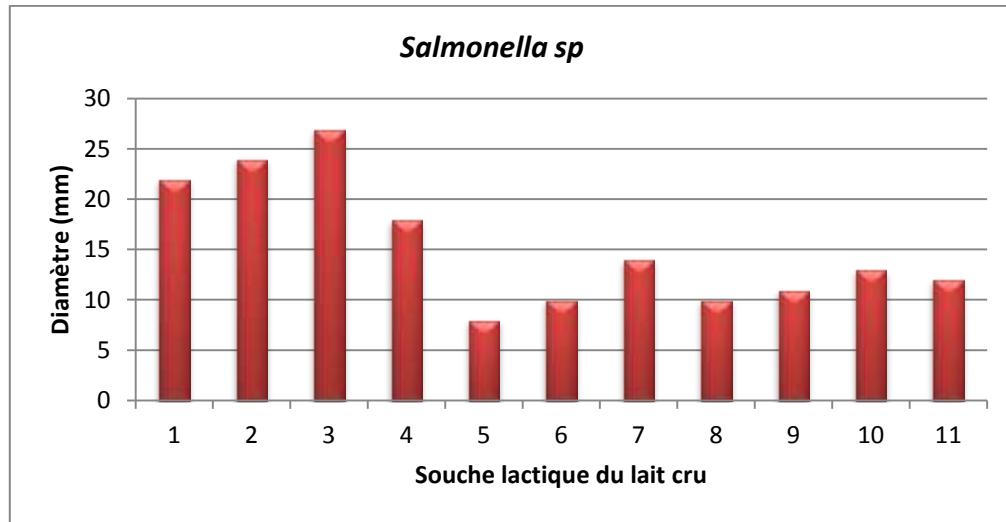
### 3.1. Activité antibactérienne des souches isolées du lait cru

Toutes les souches isolées de lait frais montrent une activité antibactérienne contre *S.aureus* avec des diamètres allant de 10 mm pour les souches 10 à 40 mm pour la souche 5 (figure 14).



**Figure 16 :** Résultats d'activité antibactérienne des souches de bactéries lactiques isolées du lait contre *Staphylococcus aureus*.

Les diverses souches obtenues à partir du lait montrent une bonne activité antibactérienne vis-à-vis de *Salmonella* avec des diamètres allant de 8 mm pour la souche 05 à 27 mm pour la souche 3 (figure 15).



**Figure 17 :** Résultats d'activité antibactérienne des souches de bactéries lactiques isolées du lait contre *Salmonella*.

Selon les résultats obtenus, on constate que la meilleure zone d'inhibition obtenue avec la souche S5 contre *Staphylococcus aureus* avec 40 mm de diamètre (figure 14), et la meilleure zone d'inhibition contre *Salmonella* est obtenue avec la souche S3 avec 27 mm de diamètre (figure 15). Donc on constate que les cellules bactériennes présentes dans le lait cru sécrètent des substances inhibant efficacement la croissance des bactéries pathogènes.

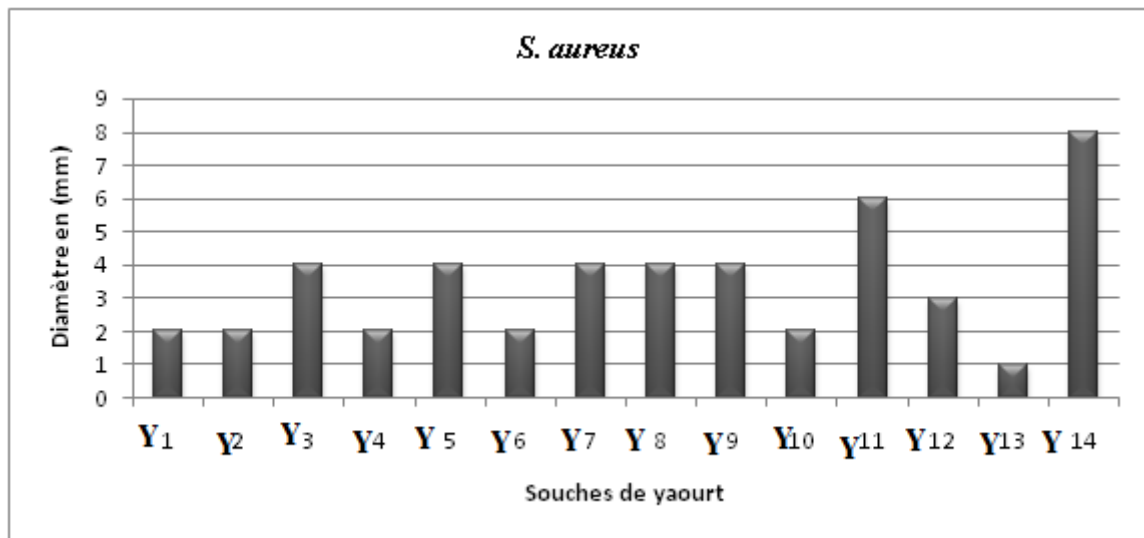


**Figure 18 :** Effet antimicrobien des souches lactiques isolées du lait sur les deux souches *Staphylococcus aureus* et *Salmonella*.

### 3.2. Activité antibactérienne des souches isolées du yaourt

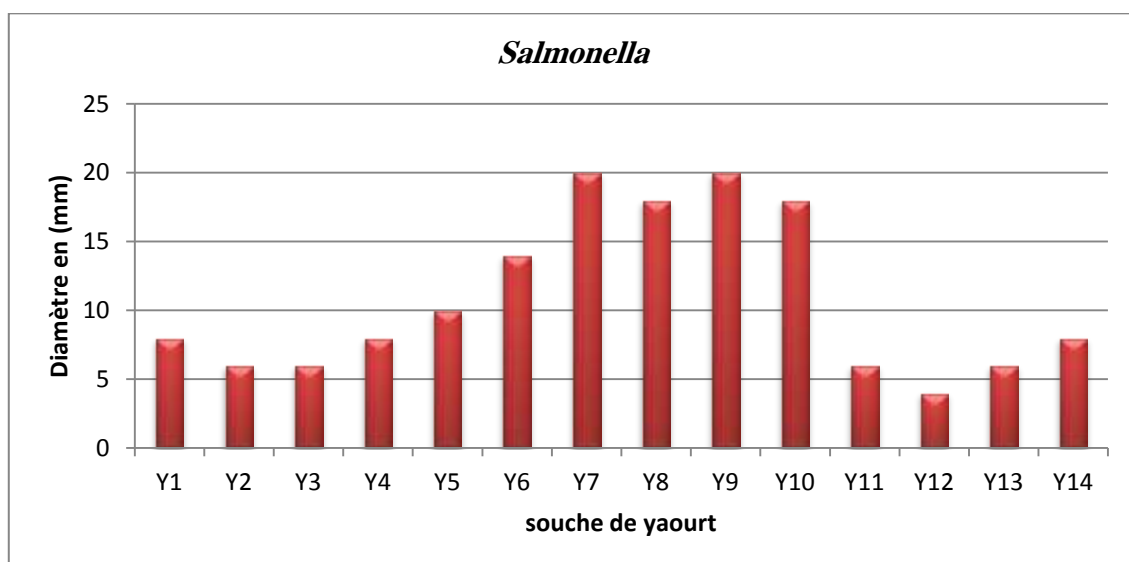
D'après les résultats obtenus, toutes les souches isolées du yaourt montrent une activité antibactérienne contre *S.aureus*. Cette activité est variable d'une souche à une autre avec des diamètres différents. On constate que la souche « Y14 » a une zone d'inhibition plus grande par

apport aux autres avec un diamètre égale à 8 mm, alors que la zone d'inhibition la plus petite est observés chez la souche « Y13 » avec un diamètre de 1 mm (figure 17).



**Figure 19 :** Histogramme représente les zones d'inhibition des souches de yaourt contre *Staphylococcus aureus*.

Selon les résultats que nous avons obtenus, toutes les souches isolées du yaourt montrent de zones d'inhibition plus importantes contre *Salmonella*. On remarque que les deux souches « Y7 et Y9 » sont les deux seules souches qui ont des zones d'inhibition les plus grandes vis-à-vis de *Salmonella* avec un diamètre de 20 mm. Tandis que la souche « Y12 » est la seule souche qui a une zone d'inhibition la plus petit, avec un diamètre de 4 mm (figure 18).



**Figure 20 :** Histogramme représente les zones d'inhibition des souches de yaourt vis-à-vis de *Salmonella*.

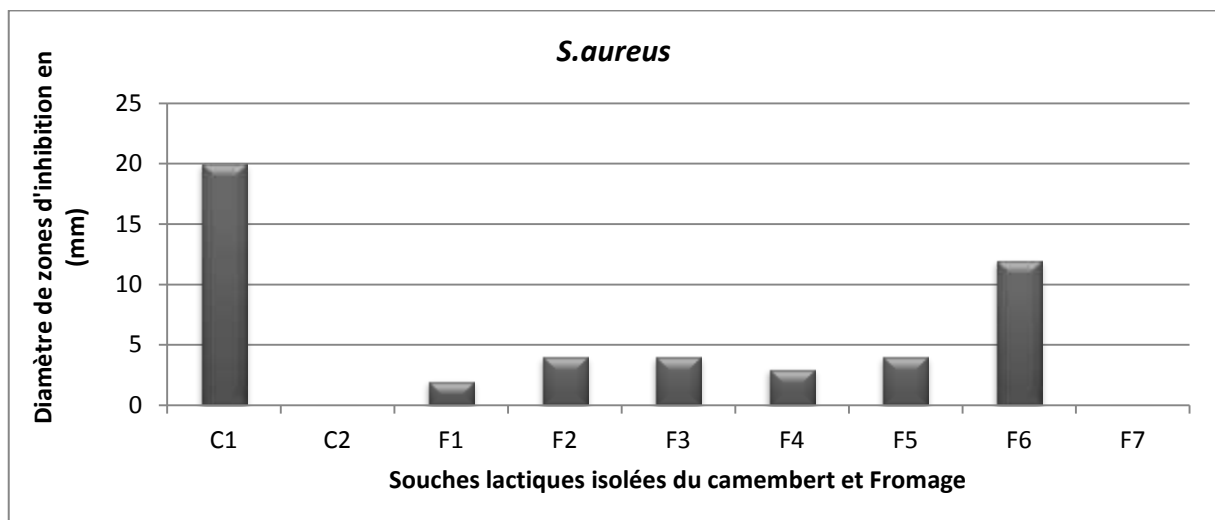


**Figure 21 :** L'activité antibactérienne des souches isolées du yaourt vis-à-vis de *Staphylococcus aureus* et *Salmonella*.

### 3.3. Activité antibactérienne des souches isolées du fromage et camembert

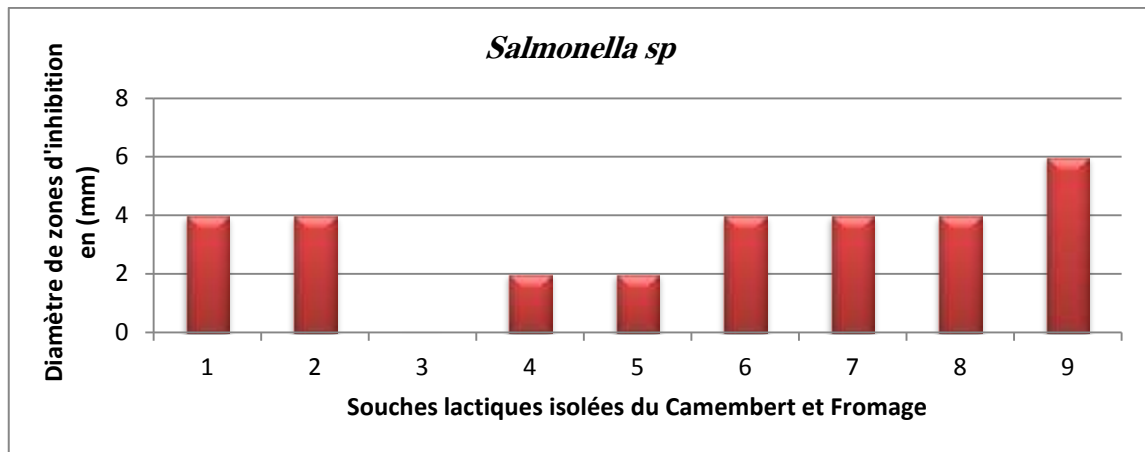
D'après les résultats trouvés on observe que la souche C1 a la meilleure zone d'inhibition contre la souche indicatrice *Staphylococcus* qui est égale à 20 mm, lors que la souche C2 ne présente aucune zone d'inhibition (figure 20).

D'après les résultats et l'histogramme tracé on distingue que la souche F6 a une grande zone d'inhibition égale à 12 mm contre la souche indicatrice *Staphylococcus*. Part contre, la zone d'inhibition la plus petite est observée chez la souche F7 avec diamètre de 0 mm (figure 20).



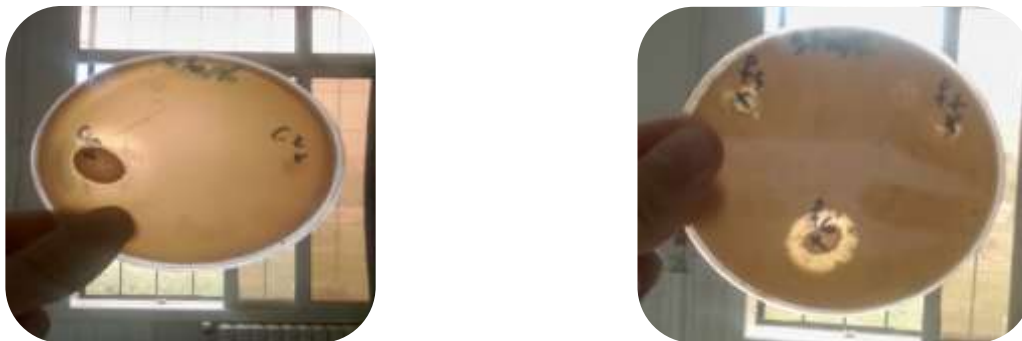
**Figure 22 :** L'effet antimicrobien du camembert et fromage contre la souche pathogène *S.aureus*.

Selon l'histogramme ci-dessous (figure 13), on constate que les deux souches (souche 1 et souche 2) isolées du produit alimentaire « Camembert » ont un effet antibactérienne contre la souche pathogène *Salmonella* avec une zone d'inhibition de 4 mm de diamètre. On observe aussi que F9 est la souche qui a une zone d'inhibition la plus grande égale à 6mm, alors que la souche F1 n'a aucune zone d'inhibition (figure 21).



**Figure 23 :** L'effet antimicrobien du camembert et fromage contre la souche pathogène *Salmonella sp*

Les deux histogrammes nous montrent et nous prouvent que la flore lactique qui est présente dans le Camembert a un effet antimicrobien positif contre les souches pathogènes *Staphylococcus* et *Salmonella* en produisant des substances qui permettent d'inhiber la flore pathogène soit par la production de l'acide lactique- acétique ou par la production des bactériocines.



**Figure 24 :** Activité antibactérienne des souches lactiques isolées du camembert et du fromage vis-à-vis de *Staphylococcus aureus*

La souche *Lac. Lactis* subsp. *cremoris* a une activité antibactérienne contre la souche indicatrice *Staphylococcus aureus* qui se manifeste avec une zone d'inhibition de 8mm. Tandis que, la souche *Lactococcus sp* à une zone d'inhibition plus petite de 2mm (Menad., 2017).

Plusieurs recherches ont été effectuées par plusieurs auteurs qui ont démontré que les espèces appartenant au groupe des bactéries lactiques produisent des bactériocines comme molécules bioactifs et leur quantités se change selon les espèces microbienne (Allouche et al., 2010).

Nos résultats sont en accords à ceux trouvés par l'étude réalisée par Miyamoto et al., 2000 sur l'activité antibactérienne des bactéries lactiques. 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 contre les bactéries pathogènes. Les résultats d'une autre étude 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**).

Les diamètres d'inhibition enregistrés par notre étude vis-à-vis de *S. aureus* sont convergents à ceux obtenus par **Allouche et al., 2010**, qui ont révélé une 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-Wysockiet al., 2010** ont aussi trouvé que des mélanges contenant différents ratios 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 de *Staphylococcus aureus*, alors que le diamètre de la zone d'inhibition de 13 mm mesuré pour *Lactobacillus plantarum*.

La molécule antimicrobienne des souches qui ont été isolées du lait cru de chèvre ont un pouvoir d'inhibition plus important sur les bactéries indicatrices par rapport aux autres souches isolées. Donc, il est très important de savoir la nature de la molécule responsable afin de les utiliser dans la conservation des différents produits alimentaires fermentés pour augmenter leur vie et d'améliorer leur qualités hygiéniques et inhiber la croissance des microorganismes responsables des toxi-infections alimentaire. Mais, ces molécules peuvent être influencées par plusieurs paramètres extrinsèque tel que la température, pH de leur croissance et la composition du milieu (**Naghmouchi et al., 2007**).

L'effet antagoniste des bactéries lactiques est dû 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 di acétyle (Siedler *et al.*, 2019).

Les bactéries lactiques sont des microorganismes qui jouent un rôle important dans la conservation des aliments. Cette flore lactique, possède deux mécanismes d'inhibition de la flore indésirable par les principaux métabolites :

- Par production d'acide organique (acide lactique et acétique) : l'acidification du milieu (l'abaissement du pH) empêche en effet la croissance et le développement des germes pathogènes en ciblant les macromolécules de surface des cellules cibles (flagelle, pili, parois, ...etc) (Metzner *et al.*, 2004).
- Par production des bactériocines : ces substances secrétées par les bactéries lactiques sont capables d'inhiber la flore indésirable et les bactéries à Gram positive pathogène comme *Staphylococcus aureus* et Gram négative comme *Salmonella* (Tantillo *et al.*, 2002). Ces molécules, en effet, forment des pores au niveau de la membrane de la cellule cible ce qui conduit à la dissipation de la force proton-motrice qui provoque en suite la mort cellulaire (McAuliffe *et al.*, 2001; Gravesen *et al.*, 2002 ; Bauer *et al.*, 2005). Récemment, une étude a démontré que les bactériocines peuvent être dégradées, puisqu'elles sont de nature protéique soit par la protéase des bactéries lactiques, ou par les enzymes du tractus digestif (Achemchem, 2014).

Toutefois et en basant sur des études récentes, Al Kassaa *et al.*, 2015 déduiraient que certains bactériocines produites par des bactéries lactiques appartenant aux genres *Lactobacillus* et *Enterococcus* ont un spectre d'activité plus large incluant des bactéries à Gram positif et à Gram négatif. 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 alternatives aux antibiotiques, ou en association avec les antibiotiques naturels (Al Kassaa *et al.*, 2015).

Selon Karska-Wysockiet *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 peuvent produire des composés antibactériens

réduisant le nombre de cellules de *Staphylococcus aureus* de plus de 5 log<sub>10</sub> UFC de population en 24 h à 37 °C (**Karska-Wysockiet 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 inhibé par les bactériocines.

D'après **Cleusix et al., 2007 ; Amara et Shibl, 2015 ; Mu et al., 2018 ; Mohammed et al., 2020**, la reutérine 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 di acétyle 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 typhimirium*, *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* est due à la diminution du pH provoqué par la libération des acides organiques produits par les bactéries lactiques.





**Conclusion**

## Conclusion

Les bactéries lactiques sont des micro-organismes qui ont un effet bénéfique sur l'organisme humain. Ces derniers sont utilisés dans plusieurs domaines (agroalimentaire, cosmétique, pharmaceutiques,...etc). Grâce à leur production des molécules bioactifs qui inhibe la croissance et le développement des micro-organismes pathogènes et aussi joue un rôle important dans l'amélioration de la flore intestinale et dans la fermentation et la conservation des aliments.

L'objectif de cette étude est d'isoler des souches de bactéries lactiques du genre *Lactobacillus* sur un milieu sélectif gélosé (gélose MRS) et bouillon MRS à partir de différents produits laitiers (Lait de chèvre, yaourt, lben, fromage et camembert). Donc, un total de cinq produits alimentaires a été pris en considération avec deux échantillons pour chaque produit alimentaire.

Les bactéries lactiques isolées ont été identifiées en se basent sur différents caractères (morphologique et biochimique).

La recherche de l'effet antibactérienne a été réalisée. Les molécules bioactives synthétisé par ces isolats lactiques contient un pouvoir inhibiteur sur les germes indésirables à Gram positive et négative tel que *Staphyococcus aureus* et *Salmonella*. Les résultats de la recherche de l'effet antibactérien montrent que les deux souches pathogènes ont été inhibées par des substances synthétisées par les bactéries lactiques soit des acides organiques tels que l'acide lactique soit par des bactériocines.

Mais d'autres molécules antimicrobiennes peuvent être sécréter comme le peroxyde d'hydrogène et dioxyde de carbone.

### Les perspectives

- Etudier l'activité antimicrobienne des bactéries lactiques vis-à-vis d'autres souches pathogènes.
- L'étude des propriétés probiotiques des bactéries lactiques isolées *in vitro* et *in vivo*
- Identification moléculaire des souches isolées.
- L'étude approfondie sur la nature des molécules inhibitrices et les purifier afin de les utilisées dans le domaine industrielle.



**Références bibliographiques**

(A)

- Axelsson L., 2004.** Classification and physiology. In : Lactic acid bacteria : Microbiological and functional aspects (Salminen S., Wright A.V et Ouwehand A). 3ed. Marcel Dekker, Inc. New York. 1-66.
- Alomar J., 2007.** Etude de propriétés physiologiques de *Lactococcus lactis* et *Lactococcus garvieae* pour la maîtrise de *Staphylococcus aureus* en technologie fromagère. Thèse de doctorat. Institut National Polytechnique De LORRAINE.
- Achemchem F., 2014.** Bactériocine de bactéries lactique de lait et de fromage de chèvre. Deutschland : Press Académiques Francophones 24 p.
- Allouche F. N., Hellal A. et Laraba A., 2010.** Etude de l'activité antimicrobienne des souches de *Lactobacillus* thermophiles utilisées dans l'industrie laitière. *Revue Nature et Technologie*, 30, 13-20.
- 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.
- Al Kassaa I., Belguesmia Y., Chihib N. E., Hamze M., Bendali F., Nagmouchi K., Drider D., 2015.** Applications des bactériocines et bactéries lactiques dans le contrôle des pathogènes alimentaires, Chapitre 10.
- Amara A. A., Shibl A., 2015.** Role of probiotics in health improvement, infection control and disease treatment and management. *Saudi pharmaceutical journal*, 23(2), 107-114.

(B)

- Badis A., Laouabdia-Sellami N., Guetarni D., Kihal M. Et Ouzrout R., 2005.** Caractérisation phénotypique des bactéries lactiques isolées à partir de lait cru de chèvre de deux populations caprines locales « Arabia et Kabyle ». *Sciences & Technologie* N°23. Pp: 30-37.
- Bjorkroth J., Holzapfel W.H., 2006.** Genre *Leuconostoc*, *Oenococcus* and *Weissella* in: The Prokaryotes. Vol4. Springer, pp 267-319.
- Brahimi S., 2015.** Isolement et caractérisation biotechnologiques des bactéries lactiques isolées à partir des margines d'olives « AMOREDJ » Fermentés, thèse de doctorat. Université d'Oran1 Ahmed Ben Bella, Faculté de science, département de biologie, 203p.
- Boullouf A., 2017.** Etude du pouvoir technologique de quelques bactéries lactiques du fromage traditionnel Bouhezza, thèse de Magister. Université des frères Mentouri Constantine, institut de la nutrition, de l'alimentation et des technologies agro-alimentaires, 135p.

**Bekhouche F., 2006.** Bactéries lactiques du lait cru de vache et microorganismes pectinolytiques des olives noires et vertes : 1. Isolement et identification biochimique. 2. Evaluation et optimisation de la production d'enzyme polygalacturonase, thèse de doctorat. Université de Mentouri Constantine, institut de la nutrition de l'alimentation et des technologies agro-alimentaires, 149p.

**Boudersa W., Nekkaa R., 2017.** Étude de l'activité antibactérienne de bactéries lactiques isolées à partir d'un produit laitier fermenté : le yaourt brassé, Thèse de doctorat. Université des Frères Mentouri Constantine Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, 84p.

**Bourgeois C.M., et Larpent J.P., 1996.** Microbiologie Alimentaire, vol. 2, Aliments fermentés et fermentation alimentaire 2eme édition, *Technique documentation*.

**Bettache G., Adjoudj F., Hadadji M., et Kihal M., 2012.** Isolation and Identification of Lactic Acid Bacteria from Dhan, a Traditional Butter and Their Major Technological Traits. *World Applied Sciences Journal* 17 (4): 480-488.

**Benkerroum et Tamime., 2004.** Technology transfer of some Moroccan traditional dairy products (lben, jben and smen) to small industrial scale, *Food Microbiology*, Volume 21, Pages: 399-413.

**Bourlioux P., Braesco V et al., 2011.** "Yaourts et autres laits fermentés." *Cahiers de Nutrition et de Diététique* 46(6): 305-314.

**Bauer R., Dicks L.M.T., 2005.** Mode of action of lipid II targeting lantibiotics. *Int. J. Food Microbiol.*, 101 : 201- 216.

(C)

**Chapman GH., 1945.** The Significance of Sodium Chloride in Studies of Staphylococc. *J Bacteriol*; 50 (2): 201–203.

**Collins M.D., Falsen E., 2009.** Genus *Aerococcus*. *Berge's Manual of Systematic Bacteriology : The firmicutes*. Second Edition. Volume Three. Springer.

**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)

**De Man J. C., Rogosa M., Sharpe M. E., 1960.** A medium for the cultivation of lactobacilli. *J. appl. Bacteriol*, 23, 130-135.

- Dorner W., 1926.** Un procédé simple pour la coloration des spores. Avec une planche en couleurs. *Le lait*, 6 (51), 8-12.
- Daoudi H., Khelef C., 2018.** Contribution à l'étude de l'activité antimicrobienne des bactéries lactiques isolées à partir du lait cru, thèse de doctorat. Université Echahid Hamma Lakhdar -El Oued, 104p.
- Drider D., Prevost H., 2009.** Bactéries lactiques. Physiologie, Métabolisme, Génomique et Applications industrielles. Édité par Economica. Paris.
- DeVos P., Garrity G.M., Jones D., Krieg N., Ludwig W., Rainey F.A., Schleifer K.H., Whiteman W.B., 2009.** Berge's Manual of Systematic Bacteriology : The firmicutes. Second Edition. Volume Three .Springer.
- Dworkin I., Gibson G., 2006.** Epidermal growth factor receptor and transforming growth factor-beta signaling contributes to variation for wing shape in *Drosophila melanogaster*. *Genetics* 173: 1417–1431.
- Delorme C., 2008.** Safety assessment of dairy microorganisms: *Streptococcus thermophilus*. *International Journal of Food Microbiology*126: 274–277.
- Durso L., Hutkins R., 2003.** Starter cultures. University of Nebraska, Lincoln, NE, USA. Elsevier Science Ltd. pp: 5583-5593.
- Devriese L., Baele M., Butaye P., 2006.** The genus *Enterococcus*: Taxonomy. The Prokaryotes: a Handbook on the Biology of Bacteria. New York: Springer. vol. 4.163-174.
- 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.
- 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.

(E)

- El-Idrissi., 2020.** Probiotique et pathologie digestive. Thèse de doctorat. Université Mohammed V de Rabat. Faculté de Médecine et de Pharmacie- Rabat, 167p.

- Eaton A.D., Clesceri L.S., Greenberg A.E., 1995.** Standard methods for the examination of water and wastewater, 19th ed. American Public Health Association, Washington.

(F)

**Fredot E. 2005.** Connaissance des aliments. Edition techniques et documentation, Lavoisier, Paris. p 14, 36.

(G)

**Guiraud J.P., 2003.** Microbiologie alimentaire. Edition. Dunod., Paris. pp. 315-320.

**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.

**Glorieux C., Calderon P B., 2017.** La catalase, une enzyme remarquable : cibler la plus ancienne enzyme antioxydante pour trouver une nouvelle approche de traitement du cancer **BiolChem** , 398 (10) , p. 1095 – 1108.

(H)

**Ho T.N.T., Tuan N., Deschamps A., Caubet R., 2007.** Isolation and identification of lactic acid bacteria (LAB) of the Nem Chua fermented meat product of Vietnam. *Int. Workshop on Food Safe tyand Processing Technology*.134-142.

**Hassaine O., 2013.** Caractéristiques d'intérêts technologiques de souches de bactéries lactiques isolées de lait camelin du sud algérien, thèse de doctorat. Université d'Oran Esenia, 180p

**Haydersah J., 2010.** Étude de la fermentation lactique de plantes amylacées tropica les Potentiel des bactéries lactiques amylolytiques. Thèse de doctorat .Université des Antilles et de la Guyane

**Haddie J.M., 1986.** Other streptococci. *Bergey's manual of systematic bacteriology* (SneathP.H.A., Mair N.S.,SharpeM.E., Holt J.G.W.et BaltimoreW.).1: 1070.

**Hols P., Hancy F., Fontaine L., Grossiord B., Prozzi D., Leblond-Bourget N., Decaris B., Blotin A., Delorme C., Dusko Ehrlich S., Guedon E., Monnet V., Renault P., Kleerebezem M., 2005.** New insights in the molecular biology and physiology of *Streptococcus thermophilus* revealed by comparative genomics. *FEMS Microbiology Reviews*. 29:435-463.

**Ho T.N.T., Tuan N., Deschamps A., Caubet R., 2007.** Isolation and identification of lactic acid bacteria (LAB) of the Nem Chua fermented meat product of Vietnam. *Int. Workshop on Food Safety and Processing Technology*.134-142.

**Holzappel W.H., Franz C.M., Ludwig W., Dicks L.M.T., 2009.** Genus *Pediococcus*. *Berge's Manual of Systematic Bacteriology: The firmicutes*. Second Edition. Volume Three. Springer.

**Hadef S., 2012.** Evaluation des aptitudes technologiques et pro biotiques des bactéries lactiques locales. Mémoire de Magister. Université Kasdi Merbah Ouargla.

**Halder D., Mandal M., Chatterjee S. S., Pal N. K., Mandal S., 2017.** Indigenous probiotics *Lactobacillus* isolates presenting antibiotic like activity against human pathogenic bacteria. *Biomedicines*, 5(2), 31.

(J)

**Jerom J. Perry., James Staley., Stephen lory., 2004.** Microbiologie, cours et questions de revision, DUNOD, Paris, P: 473-474.

(K)

**Klein G., Pack A., Bonaparte C., Reuter G., 1998.** «Taxonomy and physiology of probiotics lactic acid bacteria. » *Int J Food Microbiol*41:103–125.

**König H., FröhlichJ., 2009.** Lactic Acid Bacteria, Biology of Microorganisms on Grapes,in Must and in wine. Springer-Verlag Berlin Heidelberg.

**Kings S. et al., 1968.** A new plating medium for the isolation of enteric pathogens. II. Comparison of hektoen enteric agar with SS and EMB agar. *Appl. Microbiol.* 16: p.577-578.

**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.

(L)

**Latreche B. 2016.** Caractérisation des bactéries lactiques isolées du beurre cru, évaluation de leurs aptitudes technologiques et leur utilisation dans la fabrication de la crème sure. Thèse de magister, Université Des Frères Mentouri Constantine, Institut De La Nutrition, De L'alimentation Et Des Technologies Agro-alimentaires, 150p.

**Lahtinen S., Ouwehand A.C, Salminen S., Wright A.V. 2012.** Lactic Acid Bacteria Microbiological and functional aspects fourth edition Taylor et Francis Group Boca raton London New York.

**Larpent J-P., 1996.** Laits et produits laitiers non fermentés, in microbiologie alimentaire : Aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments. Bourgeois C.M., Mesclé J-F., Zucca J. Tome1, *Tec & Doc*, Lavoisier, pp : 272-294.

**Louaileche H., 1998.** Lait et laits fermentes. Edition Centre Universitaire Abderrahmane MIRA-BEJAIA, Institut des Sciences de la Nature. pp. 3-6.

**Lahsaoui S., 2009.** Etude du procédé de fabrication d'un produit laitier traditionnel algérien (Kilila). Thèse de doctorat d'état, Département d'Agronomie, Université de Batna. Algérie.

**Levine M., 1918.** Differentiation of *B. coli* and *B. aerogenes* on a simplified eosin - methylene blue agar. *J Infect Dis*; 23(1):43-47.



**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.

(M)

**Menad N., 2018.** Effet antagoniste des bactéries lactiques isolées à partir du lait de vache vis à vis de *Salmonella* sp. Thèse de doctorat. Université Abdelhamid Ibn Badis Mostaganem, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie ,196p.

**Matamoros S., 2008.** Caractérisation de bactéries lactiques psychrotrophes en vue de leur utilisation dans la bio préservation des aliments. Étude physiologique et moléculaire des mécanismes d'adaptation au froid. Thèse de Doctorat en Microbiologie. Université de Nantes. 189 p.

**Metzner M., Germer J., Hengge R., 2004.** Multiple stress signal integration in the regulation of the complex sigma S-dependent csi D-ygaF-gab DTP operon in *Escherichia coli*. *Mol. Microbiol.*, **51**, 799-811.

**Mahaut M., Jeantet R., Brulé G., Schuck P., 2000.** Les produits industriels laitiers. Editions Tec et Doc.

**Mu Q., Tavella V. J., Luo X.M., 2018.** Role of *Lactobacillus reuteri* in human health and diseases. *Frontiers in microbiology*, 9, 757.

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

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

**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.

(N)

**Naghmouchi K., Kheadr E., Lacroix C., Fliss I., 2007.** Class I/class IIA bacteriocin cross resistance phenomeneon in *L. monocytogenes*. *Food Microbiol.*, 24, 718-727.

**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.

(O)

**Ouadghiri M., Amar M., Vancanneyt M., Swings J., 2005.** Biodiversity of lactic acid bacteria in Moroccan soft white cheese (Jben). *FEMS Microbiol Lett*, 251(2): 267–271.

(P)

**Penaud S., 2006.** Analyse de la séquence génomique de l'adaptation à l'acidité de bactérie lactique. *Delbrueckii* ssp. *Bulgaricus* ATCC 11842. Thèse de doctorat. Institut National Agronomique de Paris- Grignon.

**Pilet M.F., Magras C. Et Federigh M., 2005.** Bactéries lactiques. *In* : bactériologie alimentaire (Federighi M.).<sup>2<sup>e</sup></sup> Ed., *Economica*. Paris. 219-240.

**Pilet M.F., Magras C. et Federighi M., 1998.** Bactéries lactiques *In* : Manuel de bactériologie alimentaire (Sutra L., Federighi M., Jouve J.L.). *Polytechnica*. Paris. 235-260.

(Q)

**Quiberoni A., Rezaiki L., El Karoui M., Biswas I., Tailliez P., Gruss A., 2001.** Distinctive features of homologous recombination in an 'old' microorganism, *Lactococcus lactis*. *Res Microbiol*, 152(2): 131–139.

(R)

**Rakhis S., Ladjal H., 2016.** Etude de quelques propriétés probiotiques de quelques souches de *Lactobacillus* isolées de lait chamelle et de chèvre, mémoire de master. Université Abd El Hamid Ibn Badis Mostaganem, faculté de science de la nature et de vie, 74p.

**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.

**Rodgers S., 2001.** Preserving non-fermented refrigerated foods with microbiol cultures : a review. *Trends food Sci. Technol.*, 12,276-284.

(S)

**Streit F., 2008.** Influence des conditions de récolte et de concentration sur l'état physiologique et la cryotolérance de *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *Bulgaricus* CF2. Thèse de doctorat. L'institut des sciences et industries de vivant et de l'environnement (Agro Paris Tech).

**Salminen S, Gorbach S., Lee Y.K., Benno Y., 2004.** Human studies on probiotics: What is scientifically proven today? *In*: Lactic acid bacteria: microbiological and functional aspects (salminen S., wright A.V. et Ouwehand A.C). 3 ed ., Marcel Dekker, INC .NY. 515-530.

**Salveti E., Fondi M., Fani R., Torriani S., Felis G.E., 2013.** Evolution of lactic acid bacteria in the order *Lactobacillales* as depicted by analysis of glycolysis and pentose phosphate pathways. *Syst Appl Microbiol*, 36(5): 291–305.

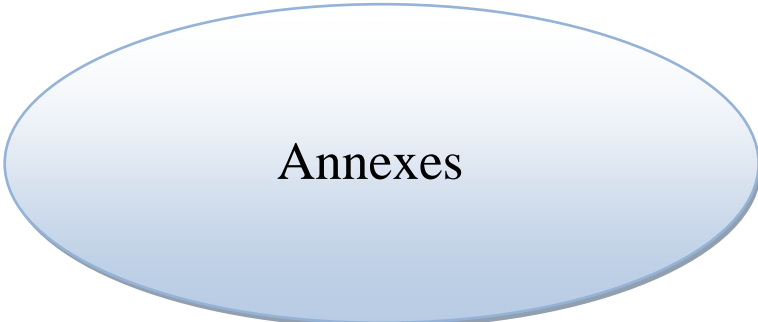
- Schleifer K.H., 1987.** Recent changes in the taxonomy of lactic acid bacteria. *FEMS Microbiol. Letters.* 46: 201-203.
- Stiles M.E., Holzapfel W.H., 1997.** Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy. *Int. J. Food Microbiol.* 36 : 1-29.
- Siedler S., Balti R., Neves A. R.2019.** Bio protective mechanisms of lactic acid bacteria against fungal spoilage of food. *Current opinion in biotechnology*, 56, 138-146.
- 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.

(T)

- Tailliez P., 2004.** Les lactobacilles : propriétés, habitats, rôle physiologique et intérêt en santé humaine. Actualités microbiologiques. pp. 35-41.
- Teuber M., Geis A., 2006.** The genus *Lactococcus*. Chapter 1.2.7. The Prokaryotes. Vol 4. Springer, pp 4:205-207.
- Tamime A.Y., 2002.** Microbiology of starter cultures. In : Dairy microbiology handbook (Robinson R.K.). 3<sup>eme</sup> Ed., John Wiley and Sons, Inc., New York. 261-366
- Tantillo M.G., Di P. A., Novello L., 2002.** Bacteriocin producing *Lactobacillus sake* as starter culture in dry sausages. *New Microbiol.*, 25, 45-49.
- 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.

(Z)

- Zhang H. et Cai Y., 2014.** Lactic Acid Bacteria Fundamentals and Practice. Springer Dordrecht Heidelberg New York. London P:535.
- Zarour K., 2010.** Contribution à l'étude microbiologique et technologique des espèces de *Leuconostoc mesenteroides* isolées de différents écosystèmes. Mémoire de Magister. Université D'Oran Es-Senia.
- 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*.



Annexes

# ANNEXES

## ANNXE 01

### 1. Préparation de milieu de culture

#### 1.1 Milieu Hektoen

##### 1.1.1 Composition chimique du milieu

**Tableau I :** Composition de la gélose Hektoen (**Kings *et al.*, 1968**).

Ingrédients	Quantité
Protéose-Peptone	12,0 g
Extrait de levure	3,0 g
Désoxycholate de sodium	9,0 g
Lactose	12,0 g
Saccharose	12,0 g
Salicine	2,0 g
Bleu de bromothymol	65 mg
Fuchsine acide	100 mg
Thiosulfate de sodium	5,0 g
Citrate ferrique ammoniacal	1,5 g
Chlorure de sodium	5,0 g
Agar	15,0 g
pH	7,5

##### 1.1.2. Préparation du milieu

Suspendre les composants, poudre déshydratée dans l'eau (72,66g/l d'eau purifiée/distillée). Puis le milieu est bouilli pendant quelques secondes jusqu'à la dissolution complète des ingrédients. Ne pas autoclaves ou surchauffer (**Kings *et al.*, 1968**).

### 1.2. Bouillon nutritif

#### 1.2.1. Composition chimique du milieu

**Tableau II :** Les ingrédients du bouillon nutritif (**Eaton, Clesceri, et Greenberg., 1995**).

Bouillon nutritif	
Ingrédients	gramme/litre
Peptones	5 g
Extrait de bœuf	1 g
Extrait de levure	2g
Chlorure de sodium	5g
pH	6.8 ± 0.2 à 25°C

## ANNEXES

---

### 1.2.2. Préparation du milieu

On ajoute 13 à 15g de poudre nutritif dans 1000ml d'eau distillée. Puis, on mélange pour dissoudre complètement à l'aide de l'agitateur. Enfin, on stérilise à l'autoclave à 121°C pendant 15mn (**Eaton, Clesceri, et Greenberg., 1995**)

### 1.3. Gélose nutritif

#### 1.3.1. Préparation du milieu

Pour on faire de la gélose nutritif on prend les mêmes composons du bouillon nutritif et on ajoute seulement 7,5g d'agar.

### 1.4. Gélose nutritif molle

#### 1.4.1. Préparation du milieu

Pour faire de la gélose nutritif molle on prend les mêmes composons du bouillon nutritif (7,5g) et on ajoute 3,75g d'agar

### 1.5. Milieu EMB (Eosine Bleu de Méthylène)

#### 1.5.1. Les composons du milieu EMB

**Tableau III** : Composons du milieu EMB

Ingrédients	Gramme en litre
Peptone	10
Lactose	10
Eosine	0.4
Bleu de méthylène	0.065
pH	6.8
Hydrogénophosphate de potassium	2
Agar	15

### 1.5.2. Préparation du milieu

Suspendre la poudre déshydraté dans l'eau distillée 36g/l. on pèse 18g pour 500ml d'eau distillée. En suite, en chauffe et en agit constamment pendant au moins 1mn. Enfin, on stérilise à l'autoclave à 121°C pendant 15mn.

### 1.6. Milieu chapman

#### 1.6.1 Composons du milieu

## ANNEXES

**Tableau IV :** Composition du milieu chapman

Ingrédients	gramme/litre
Peptone	10 g
Extrait de viande de bœuf	1 g
Chlorure de sodium	75g
Mannitol	10g
Rouge de phénol	0,025g
Gélose	15g
pH	7,4

### 1.6.2. Préparation du milieu

On prend 111g de milieu déshydraté dans un 1L d'eau distillée stérile. En suite, Mélange jusqu'à obtention d'une suspension homogène. Puis, on le met sur une plaque chauffante et le chauffer lentement en agitant fréquemment, puis porter à ébullition jusqu'à dissolution complète. Enfin, stériliser à l'aide de l'autoclave à 121° C pendant 15 minutes.

## 1.7. Milieu MRS (De Man, Rogosa et Sharpe)

### 1.7.1. Composition du milieu

**Tableau V :** Composition du milieu

Ingrédients	gramme/litre
Peptone	10,00
Extrait de viande	10,00
Extrait de levure	5,00
Glucose	20,00
Polysorbate 80	1,00
Citrate d'ammonium	2,00
Acétate de sodium	5,00
Sulfate de magnésium	0,10
Sulfate de manganèse	0,05
Phosphate di sodique	2,00

Avec l'agar égal à 15g à un pH de 6.5

### 1.7.2. Méthode de préparation du milieu

Pour 1L de gélose MRS on doit suspendre 68.2g, donc pour 500ml on divise la quantité en deux donc on pèse 34.1g/500ml. On le mélange bien avec l'eau distillée jusqu'à l'homogénéisation total. Puis, on le chauffe en même temps il agit à l'aide de la plaque chauffante. Et à la fin, on le stérilise grâce a l'autoclave pendant 15mn.

# ANNEXES

---

## ANNEXE 02

### 1. Etapes de coloration de Gram

#### 1.1. Préparation d'un frottis

1. Prendre une lame et mètre une goutte d'eau
2. Prélever une colonie isolée et l'étaler sur lame (toute la surface)
3. Fixer les colonies à l'aide du bec bunsen jusqu'à l'obtention d'un aspect blanchâtre
4. Pour faire la coloration on a besoin de quatre solutions :
  - 4.1. Cristal violet : 1mn (colore les Gram<sup>+</sup> et Gram<sup>-</sup>)
  - 4.2. L'iode ou lugole : 1mn (intensification de la coloration donnée par cristal violet)
  - 4.3. L'alcool-acétone : 10s (décoloration des parois chez G<sup>-</sup>)
  - 4.4. Safranine ou Fushine : 1mn (donne une coloration rouge pour G<sup>-</sup>)
5. A l'aide d'un papier absorbant on sèche la lame pour éliminer l'excès d'eau.
6. Observation microscopique à grossissement X 40 pour savoir leurs mobilité et leur forme et mode d'association.

### 2. Etapes de test de la catalase

1. Avoir une lame stérile
2. Mètre une goutte de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> sur la lame
3. Prélevé une colonie isolé et la déposer sur la goutte de l'eau oxygénée

### 3. Photos des milieux de culture



Gélose nutritif



Gélose nutritif molle



Gélose EMB



## ANNEXES

---



Gélose Hecktoen



Gélose Chapman



Gélose MRS



Bouillon MRS



Bouillon nutritif



Bouillon Chapman



Résumé

## Résumé

Les bactéries lactiques sont réputées par leur propriété technologique et antibactérienne qui leur permette une utilisation dans le domaine agro-alimentaire l'origine des produits utilisés dans notre étude. Elles ont été isolées à partir des différentes denrées alimentaires (lait, fromage, camembert, yaourts) de la région de Bouira. Ces dernières ont été purifiées et identifiées par des tests phénotypiques (aspect des colonies, coloration de Gram) et biochimiques (la catalase). Après notre recherche on a observée que la flore lactique contiennent principalement des *Lactobacilles* puisque elles sont été isolées sur milieu MRS (gélose et bouillon). Par la suite, les souches appartenant aux différents genres de bactéries lactiques ont testés pour leur activité antibactérienne vis-à-vis des souches pathogènes. Les souches de bactéries lactiques montrent de bonne activité antibactérienne vis-à-vis des souches pathogènes testées : *Staphylococcus aureus* et *salmonella* avec la zones d'inhibition la plus importante de 40 mm contre *Staphylococcus* et un diamètre de 27 mm contre *Salmonella* dans le lait cru de chèvre. Dans le yaourt le meilleur zone d'inhibition et de 8 mm vis-à-vis *Staphylococcus aureus* et deux diamètres de 20 mm contre *Salmonella*.

**Mots clés :** Bactéries lactiques. Antimicrobienne. Lait cru. Yaourt. Camembert. Fromage.

## Abstract

Lactic acid bacteria are renowned for their technological and antibacterial property which allows them to be used in the food industry, the origin of the products used in our study. They were isolated from various foodstuffs (milk, cheese, camembert, yoghurts) from the Bouira region. The latter were purified and identified by phenotypic (appearance of colonies, Gram staining) and biochemical (catalase) tests. After our research, we observed that the lactic flora mainly contains Lactobacilli since they were isolated on MRS medium (agar and broth). Subsequently, strains belonging to different genera of lactic acid bacteria were tested for their antibacterial activity against pathogenic strains. The strains of lactic acid bacteria show good antibacterial activity against the pathogenic strains tested: *Staphylococcus aureus* and *salmonella* with the largest zone of inhibition of 40 mm against *Staphylococcus* and a diameter of 27 mm against *Salmonella* in raw milk Goat. In yogurt the best zone of inhibition is 8 mm against *Staphylococcus aureus* and two diameters of 20 mm against *Salmonella*.

**Keywords:** Lactic acid bacteria. Antimicrobial. Raw milk. Yogurt. Camembert. Cheese.

## ملخص

. تشتهر بكتيريا حمض اللاكتيك بخصائصها التكنولوجية والمضادة للبكتيريا التي تسمح باستخدامها في صناعة الأغذية ، وهي أصل المنتجات المستخدمة في دراستنا. تم عزلهم عن مختلف المواد الغذائية (الحليب والجبن واللبن الزبادي) من منطقة البويرة. تم تنقية الأخير وتحديدته من خلال اختبارات النمط الظاهري (ظهور المستعمرات ، تلوين غرام) والكيمياء الحيوية (الكاتالاز). بعد بحثنا أجار ومرق). بعد ذلك ، تم ( MRS ، لاحظنا أن النباتات اللبنية تحتوي بشكل أساسي على العصيات اللبنية حيث تم عزلها على وسط اختبار سلالات تنتمي إلى أجناس مختلفة من بكتيريا حمض اللاكتيك من أجل نشاطها المضاد للبكتيريا ضد السلالات المسببة للأمراض. تُظهر سلالات بكتيريا حمض اللاكتيك نشاطاً مضاداً للبكتيريا جيداً ضد السلالات الممرضة المختبرة: المكورات العنقودية الذهبية والسالمونيلا مع أكبر منطقة تثبيط 40 مم ضد المكورات العنقودية وقطر 27 مم ضد السالمونيلا في حليب الماعز الخام. أفضل منطقة للتثبيط في الزبادي هي 8 مم ضد المكورات العنقودية الذهبية وقطران 20 مم ضد السالمونيلا.

**الكلمات المفتاحية:** بكتيريا حمض اللاكتيك. مضادات الميكروبات. الحليب الخام. زبادي. جبن الكميير. جبنه