

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE UNIVERSITÉ AKLI MOHAND OULHADJ – BOUIRA
FACULTÉ DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET DES
SCIENCES DE LA TERRE DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE



Réf :/UAMOB/F.SNV.ST/DEP.BIO/2024

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES
EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME
MASTER

Domaine : SNV **Filière** : Sciences Biologiques

Spécialité : Biotechnologie microbienne

▪ **Présenté par :**

GUEALIA Amel & BELAREF Yamina

Thème

**Isolement des bactéries lactiques à partir de
viande et leurs dérivés**

Soutenu le: 27/06 /2024

Devant le jury composé de

<i>Nom et Prénom</i>	<i>Grade</i>		
<i>Dr AKKOUCHE S</i>	<i>MCA</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Président</i>
<i>Dr BENBARA T</i>	<i>MCB</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Promotrice</i>
<i>Dr DJENADI K</i>	<i>MCB</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Examineur</i>

Année Universitaire : 2023/2024

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



Dédicace

Je dédie fruits de ce modeste travail à :

ma chère mère et mon cher père qui m'ont beaucoup

soutenu et m'encourager jusqu'à bout, et que Dieu les accorde une longue vie.

Mon très cher frère Mohamed et ma très chère sœur Sihem

Ma binôme Yamina et sa famille

Tous mes camarades

Toute ma famille

Enfin, je le dédie à ma promotion, à tous mes proches et amis qui m'ont

*Toujours soutenues et encouragées au cours de la réalisation de ce
mémoire.*

Amel

Dédicacé

Je voudrais dédier cet humble travail à

Ma mère, qui a été ma lumière et mon inspiration,

Mon cher père, qui est toujours présent dans mon cœur,

Mes frères Youssef, Ahmed et Akram.

*Je voudrais également adresser mes meilleurs vœux de bonheur, de santé et
de réussite à mes chers amis et à ma famille, en particulier à ma binôme*

Amel, et à toute sa famille

*Enfin, je tiens à dédier toutes les personnes qui ont contribué
directement ou indirectement à la réalisation de ce mémoire*

Yamina



Remerciement

Au début et avant tout, nos remerciements et louanges à Dieu le tout puissant, de nous avoir donné le courage et la santé pour finaliser ce travail

Nous remercions notre promoteur Mme Benbara professeur à la faculté des sciences de la Nature et de la vie de l'université de Bouira., pour ses encouragements, ses conseils, sa disponibilité et surtout pour sa patience durant la correction de ce mémoire

Nous Tiens également à remercions sincèrement les membres du jury Mme Djenadi et Mme Akkouche professeurs de l'Université de Bouira qui ont accepté d'évaluer notre travail.

A tous ceux qui ont contribué d'une manière ou d'une autre et qui nous ont soutenus pendant nos études universitaires et nous ont encouragés à poursuivre notre travail.

Nos études universitaires et qui nous ont encouragés à persévérer et à aller de l'avant

Liste des abréviations

% : pourcentage
< : inférieur
°C : Degré Celsius
ATP : Adénosine triphosphate
Aw : activité d'eau
C : Cachir
CO2 : dioxyde de Carbone
<i>E.coli</i> : <i>Escherichia coli</i>
EMB : Eosin Méthylène Blue
g : gramme
h : heure
LAB : bactéries lactiques
Lb : bactéries lactiques
Mg : merguez
mg : milligramme
min : minute
ml : millilitre
mm : millimètre
MRS : Man Rogosa et Sharpe
NaCl : chlorure de sodium
O2 : oxygène.
P : paté.
PH : Potentiel d'Hydrogène.
<i>S.aureus</i> : <i>Staphylococcus aureus</i>
VB : viande blanche
VR : viande rouge
VS : viande séchée
µm : micromètre

Liste des figures

Figure 1: <i>Lactobacillus sakei</i> observées sous un microscope électronique à balayage.....	5
Figure 2: <i>Lactococcus lactis subsp.lactis</i> au microscope électronique	5
Figure 3: Micrographie électronique à balayage d' <i>E. faecium</i>	6
Figure 4: <i>Pseudomonas aeruginosa</i> sous microscope	11
Figure 5: Les cellules d' <i>Escherichia coli</i>	11
Figure 6: Les cellules de <i>Clostridium botulinum</i> sous microscope électronique	12
Figure 7: Les cellules de <i>Clostridium perfringens</i> sous microscope électronique	12
Figure 8: Les cellules de <i>Staphylococcus aureus</i> observer sous microscope électronique.....	13
Figure 9: Les cellules de <i>Salmonella</i> sous microscope électronique.....	14
Figure 10: Les cellules de <i>Yersina Enterolitica</i> sous microscope électronique	14
Figure 11: <i>Campylobacter</i> sous microscope électronique	15
Figure 12: Le broyage des viandes rouges et viandes blanches	22
Figure 13: L'échantillon dans le bouillon MRS	22
Figure 14: Le bouillions contenant le pati et le cachair	23
Figure 15: La solidification de la gélose MRS	23
Figure 16: Le bouillon MRS contenant des souches bactériennes.....	24
Figure 17: L'aspect d'une souche d' <i>E.coli</i> sur la gélose EMB	24
Figure 18: L'aspect d'une souche <i>S.aureus</i> sur la gélose Chapman	25
Figure 19: test de spot.	28
Figure 20: L'aspect macroscopique des isolats lactiques dans le bouillon MRS	29
Figure 21: Aspect des colonies des souches lactiques sur gélose MRS	30
Figure 22: Observation sous microscope optique des bactéries lactiques	30
Figure 23: Résultat de test de catalase.....	31
Figure 24: Résultats de l'activité antimicrobienne des souches lactiques isolées vis-à-vis des souches de <i>S.aureus</i>	33
Figure 25: Diamètres de zones d'inhibition obtenues par la méthode de spot contre <i>S.aureus</i>	34
Figure 26: Résultats de l'activité antimicrobienne de souches de bactéries lactiques contre <i>E.coli</i>	35
Figure 27: Résultats de l'activité antimicrobienne des souches lactiques vis-à-vis d' <i>E.coli</i>	36

Liste des tableaux

Tableau I: Principaux genres de bactéries lactiques (Amensag, 2019)	3
Tableau II: Métabolites antimicrobiens produits par les bactéries lactiques (Bouzaid, 2016). 7	7
Tableau III: Composition globale de la viande (Ziani, 2016).	9
Tableau IV: Les viandes et le produit crané utilisé dans notre étude	20
Tableau V: Le matériel utilisé	21
Tableau VI: Résultats d'isolement des souches de bactéries lactiques	29
Tableau VII: Résultats de la coloration de Gram et de test catalase des souches lactiques isolées.	31
Tableau VIII: les souches lactiques qui a les mêmes diamètres des zones d'inhibition vis-à-vis <i>S.aureus</i>	34
Tableau IX: les souches lactiques qui a le même diamètre des zones d'inhibition vis-à-vis <i>Escherichia coli</i>	36

Table des matières

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction 1

Chapitre I : Les bactéries lactiques

1. Définition et caractéristiques générales.....	3
2. Taxonomie.....	3
2.1. Le genre <i>Lactobacillus</i>	4
2.2. Le genre <i>Lactococcus</i>	5
2.3. Le genre <i>Enterococcus</i>	6
3. Activité antimicrobienne des bactéries lactiques.....	6

Chapitre II : les viandes et ces dérivés

1 Généralités.....	8
1.1. Définition.....	8
1.2. Qualité de la viande.....	8
1.2.1. Qualité nutritionnelle.....	8
1.2.2. Qualité sanitaire.....	8
1.2.3. Qualité organoleptique.....	9
1.2.4. Qualité technologique.....	9
2. Composition chimique de la viande.....	9
2.1. Protéines.....	9
2.2. Matière Grasse.....	9
2.3. Sels Minéraux.....	10
2.4. Les vitamines.....	10
3. Les microorganismes de la viande.....	10

3.1.	<i>Pseudomonas</i>	10
3.2.	<i>Escherichia coli</i>	11
3.3.	<i>Clostridium botulinium</i>	12
3.4.	<i>Clostridium perfringens</i>	12
3.5.	<i>Staphylococcus aureus</i>	13
3.6.	<i>Salmonella</i>	13
3.7.	<i>Yersinia enterocolitica</i>	14
3.8.	<i>Campylobacter</i>	14
4.	Les altérations microbiennes	15
4.1.	Changements à faible température (< à 10 °C) ou détérioration de la surface.....	15
4.2.	Des changements à température intermédiaire (10 à 25 °C)	16
4.3.	Altérations à haute température (25 à 40 °C) ou une putréfaction intense	16
5.	Les techniques de conservation des viandes	16
5.1.	Méthodes chimiques	17
5.1.1.	Le salage	17
5.1.2.	Addition de substances chimiques.....	17
5.1.3.	Addition des épices, herbes médicinales, leurs extraits ou des huiles essentielles	
	17	
5.2.	Méthode biologique	17
5.2.1.	Bio préservation	17
5.3.	Méthodes physiques.....	17
5.3.1.	Le séchage	17
5.3.2.	Le Fumage	18
5.3.3.	Conservation par le froid.....	18
5.3.4.	Conservation par la chaleur.....	18
5.3.5.	La méthode de haute pression (pascalisation)	18
5.3.6.	L'irradiation ionisante (ionisation).....	18
5.3.7.	Chauffage à haute fréquence	19

Chapitre III : Matériel et méthode

1	Présentation du lieu de travail	21
2.	Matériels	21
2.1.	Produits alimentaires	21
2.2	Les souches pathogènes	21
2.3.	Matériel de laboratoire.....	21
3.	Méthodes	21
3.1	Echantillonnage.....	21
3.2	Préparation des échantillons.....	22
3.3	Isolement des bactéries lactiques à partir des produits alimentaires.....	22
3.3.1	Enrichissement	22
3.3.2	Isolement sur gélose	23
3.4	Purification des isolats de bactéries lactiques	23
3.5	Revivéferication des bactéries pathogènes.....	24
3.5.1.	<i>Escherichia coli</i>	24
3.5.2	<i>Staphylococcus aureus</i>	24
3.6	Identification des isolats de bactéries lactiques et des bactéries pathogènes.....	25
3.6.1	Examen macroscopique	25
3.6.2.	Examen microscopique	25
3.6.3.	Coloration Gram	26
3.6.4	Tests biochimiques	26
3.7	L'activité antimicrobienne des souches de bactérie lactiques.....	26
3.7.1.	Préparation des cultures des 18 heures des bactéries lactiques.....	27
3.7.2	Préparation des cultures des 18 heures des souches pathogènes	27
3.8.	Réalisation de test de spot.....	27

Chapitre IV : Résultats et discussion

1.	Isolement et purification des souches de bactéries lactiques	29
2.	Identification.....	29
2.1.	Aspect macroscopique	29

2.1.1.	Sur milieu liquide	29
2.1.2.	Sur milieu solide	30
2.2.	L'aspect microscopique	30
2.3.	Test de catalase	31
3.	Activité antibactérienne	32
3.1.	<i>Staphylococcus aureus</i>	33
3.2.	<i>Escherichia coli</i>	35
Conclusion	38
Perspectives		
Références bibliographiques		
Annexe		
Résumé		



Introduction

Introduction

Les bactéries sont présentes dans les différentes parties de l'animal dont le muscle, qui est naturellement stérile, mais lors de la dépouille et de l'éviscération des animaux, puis lors des différentes étapes de préparation des carcasses et de la viande, il peut se contaminer par plusieurs types de bactéries. À long terme, cette contamination peut entraîner la détérioration du produit ou des infections toxiques. Cependant, il est préférable de prévenir ou au moins de limiter la présence de bactéries pathogènes ou d'altération, cependant, il existe une autre dont la présence peut présenter un intérêt comme *Lactobacillus sakei*, qui est fréquemment présente sur la viande fraîche, devient la flore principale de la viande conservée sous vide et à basse température (Zagorec, Chaillou et Champomier-Verges, 2006).

Dés les années 1970, le conditionnement sous vide a été développé pour prolonger la durée de conservation des muscles et des viandes tout en améliorant leurs qualités organoleptiques. Du point de vue microbien, la conservation efficace des produits bovins sous vide est marquée par l'expansion de la flore lactique, qui devient rapidement majoritaire (Bièche Terrier et al., 2019).

Les populations très importantes consomment quotidiennement et en grande quantité les bactéries lactiques utilisées dans l'alimentation (Drouault et Corthier, 2001).

Ces bactéries lactiques, utilisées dans la biopréservation des aliments, ont des mécanismes antimicrobiens spécifiques, tels que la synthèse d'acides organiques, de peroxyde d'hydrogène, d'anhydride carbonique, de diacétyle, ainsi que la production d'antimicrobiens à large spectre tels que la reutéline et la production de bactériocines. Les substances antimicrobiennes produites par les bactéries lactiques ont la capacité de prévenir la prolifération des bactéries pathogènes (Mami et Kihal, 2019).

Les bactériocines sont efficaces contre des bactéries qui sont proches de la souche productrice sur le plan taxonomique. Cependant, des recherches récentes ont démontré que certaines bactériocines produites par les bactéries lactiques du genre *Lactobacillus* et *Enterococcus* ont un spectre d'activité beaucoup plus vaste, comprenant des bactéries à Gram positif et à Gram négatif (*Campylobacter jejuni*, *Yersinia sp*, *Salmonella sp*, *Escherichia coli* O157:H7, *Shigella dysenteriae*, *Staphylococcus aureus* et *Listeria sp*) (Al Kassa et al., 2015).

Notre travail consiste à isoler des souches de bactéries lactiques de divers produits alimentaires à base de viande, de les purifier, les identifier et tester leur activité

Introduction

antimicrobienne vis-à-vis de deux souches pathogènes, l'une à Gram positif (*S.aureus*) et l'autre à Gram négatif (*E.coli*). Ainsi, ce travail est divisé en deux parties, une première qui représente une synthèse bibliographique sur les bactéries lactiques et les viandes. La deuxième partie résume les différents tests réalisés ainsi que leurs résultats et une discussion. Ce travail est terminé par une conclusion qui donne l'ensemble des résultats pertinents de la partie pratique.

Chapitre I : Les bactéries lactiques

1. Définition et caractéristiques générales

Les bactéries lactiques forment un ensemble diversifié de micro-organismes qui génèrent principalement de l'acide lactique en tant que produit métabolique principal. Elles se retrouvent dans divers aliments tels que les produits laitiers, la viande, les végétaux et les céréales. Elle fait partie de la flore intestinale de l'Homme et des animaux. Ces bactéries jouent un rôle crucial dans de nombreuses fermentations alimentaires spontanées (**Dortu et Thonart, 2009**).

Les bactéries lactiques se composent de diverses bactéries, caractérisées par un métabolisme strictement fermentatif. Ce métabolisme peut se diviser en trois types : homofermentaire, où plus de 90 % des produits de fermentation sont de l'acide lactique ; hétérofermentaire facultatif, engendrant la production d'acide lactique seul ou en combinaison avec de l'acide acétique ; ou hétérofermentaire strict, donnant lieu à la production d'acide lactique, d'acide acétique, d'éthanol et de CO₂ (**Saidi, 2020**).

Les bactéries lactiques sont des micro-organismes présentant une morphologie de bacilles ou de coques Gram positif. Elles sont non mobiles, non sporulées et peuvent être aéro-anaérobies facultatives ou anaérobies strictes (**Léonard, 2013**).

2. Taxonomie

Les bactéries lactiques se divisent en plusieurs genres dont les plus rencontrés et les plus utilisés en industrie agro-alimentaire sont : *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Pediococcus* et *Leuconostoc*.

Tableau I: Principaux genres de bactéries lactiques (**Amensag, 2019**)

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. dammosus</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>

2.1. Le genre *Lactobacillus*

Les lactobacilles sont naturellement présents dans l'environnement et sont peu souvent pathogènes. Ils adoptent une morphologie de cellules allongées, généralement sous forme de bâtonnets ou de coccobacilles, qui peuvent être isolés ou regroupés en chaînettes de tailles diverses (**Rossi, Amadoro et Colavita, 2019**). Ils ne forment pas de spores et peuvent être immobiles ou mobiles grâce à des flagelles péritriches. De plus, ce sont des organismes anaérobies facultatifs (**Privat et Thonart, 2011**).

Les lactobacilles se divisent en trois groupes :

- Le groupe I comprend les lactobacilles homoférentaires stricts, qui fermentent exclusivement les hexoses via la voie d'Embden-Meyerhof pour produire principalement du lactate. Ce groupe inclut notamment *Lb. acidophilus*, *Lb. farciminis*, *Lb. johnsonii*, *Lb. amylovorus*, *Lb. paralimentarius*, *Lb. delbrueckii subsp. delbrueckii*, *Lb. delbrueckii subsp. lactis*, *Lb. delbrueckii subsp. bulgaricus* (**Pot et Tsakalidou, 2009; Privat et Thonart, 2011**).
- Le groupe II est constitué des lactobacilles homo-hétérofermentaires facultatifs, qui fermentent à la fois les hexoses et les pentoses en lactate et en acétate par la voie d'Embden-Meyerhof. Ce groupe comprend *Lb. alimentarius*, *Lb. casei*, *Lb. curvatus*, *Lb. plantarum*, *Lb. graminis*, *Lb. paracasei*, *Lb. paraplantarum*, *Lb. pentosus*, *Lb. sakei* (**Privat et Thonart, 2011 ; Mikelsaar, Sepp, Štšepetova, Songisepp et Mändar, 2016**).
- Le groupe III comprend les lactobacilles hétéro-fermentaires stricts qui fermentent les hexoses en lactate, acétate (ou éthanol) et CO₂. Ces lactobacilles ont une capacité acidifiante faible et produisent des composés aromatiques. Les membres de ce groupe comprennent *Lb. brevis*, *Lb. buchneri*, *Lb. fermentum*, *Lb. hilgardii*, *Lb. fructivorans*, *Lb. panis*, *Lb. pontis*, *Lb. reuteri*, *Lb. hammesii*, *Lb. sanfranciscensis*, *Lb. spicheri*, *Lb. kimchii* et *Lb. frumenti* (**Coeuret, Dubernet, Bernardeau, Gueguen et Vernoux, 2003; Privat et Thonart, 2011**).

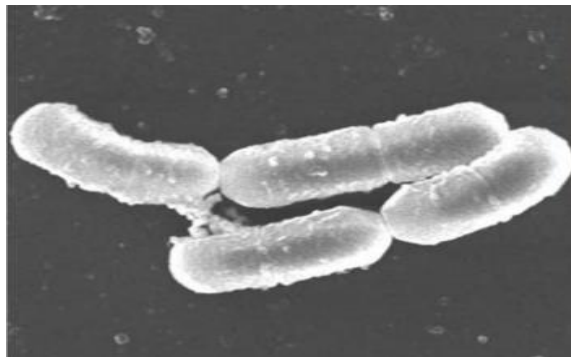


Figure 1: *Lactobacillus sakei* observées sous un microscope électronique à balayage (Zagorec, Chaillou, Champomier-Verges, 2006)

2.2. Le genre *Lactococcus*

Les *lactocoques* sont sous forme cocci, en diplocoques ou en chaînettes, non mobiles, à Gram positif, anaérobies mais tolérants à l'air, et catalase négative. Ces bactéries se développent dans un environnement contenant 4 % de NaCl et à une température optimale située entre 20 et 30 °C. Les *lactocoques* dépendent des glucides, en particulier du lactose et du glucose, comme source de carbone et d'énergie pour la production d'ATP (Mofredj, Bahloul, Chanut, 2007).

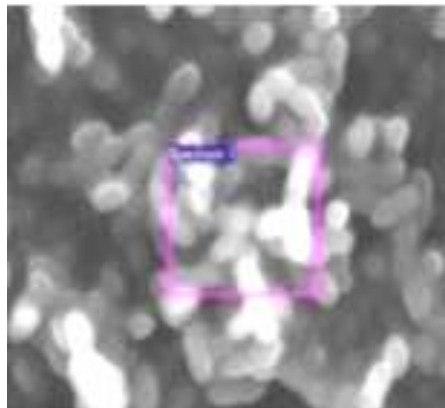


Figure 2: *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* au microscope électronique (Sheng et al., 2016)

2.3. Le genre *Enterococcus*

Les *entérocoques* sont des cocci ovoïdes Gram positif, disposés en courtes chaînettes de 2 à 4 cellules. Sous microscopie électronique, ils ne peuvent être distingués des deux genres bactériens voisins, les *streptocoques* et les *lactocoques* (Bouvet et Cowry, 1994; Růžicková, Vítězová et Kushkevych, 2020).

Les *entérocoques* font partie d'un genre étroitement lié aux *streptocoques* et partagent avec certains d'entre eux l'antigène du groupe D. Actuellement, le genre *Enterococcus* compte quatorze espèces distinctes, dont *Enterococcus faecalis* et *Enterococcus faecium* représentent plus de 90 % (Bouvet et Cowry, 1994).

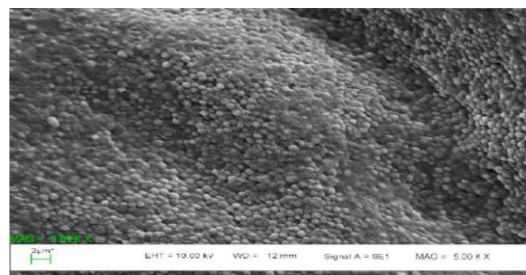


Figure 3: Micrographie électronique à balayage d'*E. faecium* (Golnari, Behbahani et Mohabatkar, 2024).

3. Activité antimicrobienne des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques, utilisées traditionnellement comme ferments pour améliorer les caractéristiques sensorielles des aliments, peuvent également agir comme agents de conservation alimentaire. Leur activité antimicrobienne résulte de divers facteurs, notamment la compétition pour les ressources nutritionnelles et l'espace, ainsi que la production de métabolites dotés de propriétés antimicrobiennes. Ces métabolites incluent des acides organiques (l'acide lactique), le peroxyde d'hydrogène, le dioxyde de carbone, le diacétyle (2,3-butanedione), la réutérine et les bactériocines (Bouzaid, 2016).

Tableau II: Métabolites antimicrobiens produits par les bactéries lactiques (Bouzaid, 2016).

Composés antimicrobiens	Souches productrices	Spectre antimicrobien
Acide lactique	Toutes les bactéries lactiques	Levures Bactéries à Gram +/-
Acide acétique	Bactéries lactiques hétérofermentaires	Levures Bactéries à Gram +/-
Diacétyle	<i>Lactococcus</i> , <i>Leuconostoc</i> , <i>Lactobacillus</i> , <i>Pediococcus</i>	Levures Bactéries à Gram +/-
Peroxyde d'hydrogène	Toutes les bactéries lactiques	Levures Bactéries à Gram +/-
Dioxyde de carbone	Bactéries lactiques hétérofermentaires	La plupart des groupes taxonomiques de microorganismes
Reutérine	<i>Lactobacillus reuteri</i>	Champignons, Protozoaires Bactéries à Gram +/-

Chapitre II : Viande et leurs dérives

1 Généralités

1.1. Définition

La viande est constituée de tous les tissus musculaires des animaux de boucherie. Cela inclut également les organes internes, les carcasses, les tissus adipeux et les muscles. De plus, le gras et d'autres produits de l'abattage sont utilisés dans la fabrication des produits carnés (**Ratsimba, 2017**)

Il existe plusieurs types de viandes :

- Viandes rouges : bœuf, cheval, canard (magret) et mouton.
- Viandes blanches : certaines volailles, lapin.
- Viandes noires : gibier.
- Viandes de brousse : La "viande de brousse" désigne la viande d'animaux sauvages.
- Viandes de boucherie : bœuf, veau, agneau, cheval (**Benabdelmoumene, 2016 ; Duchène, Pascal, et Prigent, 2010**).

Les viandes transformées, également connues sous le nom de produits carnés transformés, sont des viandes qui ont été soumises à un processus visant à améliorer leur saveur ou à prolonger leur durée de conservation, et qui ont été mélangées à des ingrédients tels que le sel. Il existe une grande variété de produits carnés transformés et les méthodes utilisées pour les fabriquer incluent la salaison (ajout de sel et d'autres additifs), le séchage, le fumage et la cuisson. Parmi les exemples de viandes transformées, on trouve les pâtés, les viandes en conserve..., les préparations et les sauces à base de viande (**Chamlal, 2022**).

1.2. Qualité de la viande

1.2.1. Qualité nutritionnelle

La consommation de viande est essentielle pour bénéficier d'une alimentation équilibrée, car elle fournit une multitude de nutriments indispensables. En effet, la viande est une excellente source de protéines, de minéraux tels que le fer, ainsi que de vitamines, notamment celles du groupe B (**Aouidi, 2012 ; Dognon, et al, 2018**).

1.2.2. Qualité sanitaire

La viande est un aliment nutritif qui offre un environnement propice à la croissance de microorganismes, dont certains peuvent être pathogènes ou produire des substances toxiques. Il est donc essentiel de surveiller de près la présence de ces germes pathogènes (**Salmi-Boukhari, 2011; Aouidi, 2012**).

1.2.3. Qualité organoleptique

Il s'agit de la teinte, du goût, de la texture et de la jutosité. La teinte est, dans l'ordre, le premier critère d'évaluation de la viande par le consommateur (Ciobion, 2008 ; Salmi-Boukhari, 2011; Aouidi, 2012).

1.2.4. Qualité technologique

Les caractéristiques technologiques démontrent la capacité de la viande à être conservée et transformée (Monin, 1991; Salmi-Boukhari, 2011; Aouidi, 2012).

2. Composition chimique de la viande

La viande est un aliment essentiel qui fournit de nombreux nutriments nécessaires à une alimentation équilibrée. Elle est une excellente source de protéines et d'acides aminés indispensables. En moyenne, la viande crue contient environ 70% d'eau et 30% de matières sèches (Ziani, 2016).

Tableau III: Composition globale de la viande (Ziani, 2016).

Composition globale	Pourcentages
Eau	70 – 80 %
Protéines	15 – 20 %
Substances azotées non protéiques	1%
Lipides	3 %
Glycogène	1%
Sels minéraux	1%

2.1. Protéines

Les protéines sont essentielles dans notre alimentation car elles fournissent des acides aminés, de l'azote et de l'énergie. Les viandes sont particulièrement riches en ces nutriments et les protéines qu'elles contiennent répondent parfaitement aux besoins de l'Homme en termes d'acides aminés et de vitamines (Ziani, 2016).

2.2. Matière Grasse

La proportion de tissus maigres et gras est la principale source de variation des produits d'origine animale. La graisse d'un animal destinée à la consommation se trouve dans les tissus adipeux sous-cutanés, les tissus qui entourent les viscères et les lipides musculaires.

La viande a en moyenne une teneur en lipides de 7g/100g et une teneur en cholestérol d'environ 70 à 100 mg pour 100g (Salifou et al, 2013 ; Ziani, 2016).

2.3.Sels Minéraux

Les minéraux sont des éléments essentiels pour le bon fonctionnement de l'organisme. Ils jouent un rôle crucial dans le contrôle de l'hydratation, l'équilibre acido-basique, la structure cellulaire, ainsi que dans la composition des enzymes et des hormones. La viande est une source intéressante de zinc et de fer, avec un taux d'absorption du fer plus élevé que dans d'autres aliments (Salifou et al, 2013 ; Ziani, 2016).

2.4.Les vitamines

Les vitamines sont des composés chimiques essentiels à notre organisme, apportés par notre alimentation. Certaines vitamines, telles que les vitamines A, D, E et K, sont solubles dans les graisses, tandis que d'autres, comme les vitamines du groupe B et la vitamine C, sont solubles dans l'eau. La viande contient peu de vitamines liposolubles et de vitamine C, contrairement aux vitamines du groupe B, pour lesquelles la viande est considérée comme une source d'approvisionnement très importante (Cobos et Díaz, 2015; Ziani, 2016).

3. Les microorganismes de la viande

Les animaux vivants sont transformés en viande lors du processus de transformation. Une contamination microbienne de surface des carcasses est inévitable. La majorité des microorganismes présents dans les carcasses lors de l'abattage sont des agents pathogènes. Parmi ceux-ci, on peut mentionner : *Bacillus cerus*, *Campylobacter*, *Escherichia coli* O 157 : H7, *Listeria monocytogenes*, *Clostridium botulinium*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens*, *Salmonella spp* et *Yersina enterocolitica*. Les agents pathogènes présents dans la viande sont très préoccupants en ce qui concerne la sécurité alimentaire dans pratiquement tous les pays du monde (Salifou et al., 2013).

3.1.Pseudomonas

Pseudomonas est un genre de bacilles Gram négatif ; droits ou légèrement droits. Incurvés de 0.5 à 1 um de diamètre sur 1.5 à 5 um de longueur (Baleswaran, 2023). Ce sont des bactéries aérobies, oxydase positives, non sporulés et généralement mobiles grâce à une ciliature polaire.

Des pigments hydrosolubles fluorescents de couleur jaune-vert sont produits par certaines espèces et jouent le rôle de sidérophores. Ils peuvent se développer entre 4 et 43°C. Les espèces de *Pseudomonas* se trouvent partout et peuvent évoluer dans des habitats écologiques très variés. Plusieurs souches sont peu virulentes, mais elles sont des pathogènes opportunistes pour l'Homme et des agents d'altération de la viande (Salifou et al., 2013).



Figure 4: *Pseudomonas aeruginosa* sous microscope (Salifou et al., 2013)

3.2. *Escherichia coli*

La bactérie *Escherichia coli* fait partie des entérobactéries. Leurs cellules sont de court bâtonnets mobiles grâce à des flagelles péritriches, à Gram négatif, anaérobies facultatifs, ne sont pas sporulés, oxydase négative, et mesurent de 2 à 4 µm de long et un diamètre d'environ 0,6 µm (Bintsis, 2017). La température de croissance est de 44°C (adéquate à 40°C et extrême à 45,5°C). La majorité des espèces d'*E.coli* ne sont pas pathogènes pour l'Homme et l'animal. Cependant, il existe des souches qui peuvent causer des maladies chez l'Homme, comme *Escherichia coli* entéro-hémorragiques ou EHEC (Entero-Hemorrhagic *E. coli*), dont la plus célèbre est *E.coli* O157 :H7 (Salifou et al., 2013).



Figure 5: Les cellules d'*Escherichia coli* (Salifou et al., 2013)

3.3. *Clostridium botulinium*

Il s'agit d'un bacille Gram positif mesurant entre 4 et 6 μm de longueur avec des extrémités arrondies, flexibles (ciliature péritriche), strictement anaérobie et présente des spores (Marvaud, Raffestin et Popoff, 2002). Les souches de *C. botulinum* présentent une grande diversité en ce qui concerne leurs caractéristiques culturelles, biochimiques et génétiques. C'est d'une bactérie mésophile capable de s'étendre considérablement à une température de 15 °C.

Les spores sont résistantes pendant 20 minutes à 110 °C. Cette bactérie peut provoquer une intoxication alimentaire chez l'Homme et les animaux (Salifou et al., 2013).



Figure 6: Les cellules de *Clostridium botulinum* sous microscope électronique (Salifou et al., 2013)

3.4. *Clostridium perfringens*

Cette bactérie appartient au genre *Clostridium* du groupe II, de la famille *Bacillaceae*. C'est un bacille sporulé, tellurique, anaérobie strict, sulfitoréducteur, immobile avec une capsule polysaccharidique qui est facile à observer à l'état frais (Abdelrahim, 2019). Cette espèce est particulièrement thermophile, avec une température de croissance optimale de 40 à 45°C, mais elle peut se développer à des températures entre 15 et 50°C (Salifou et al., 2013).

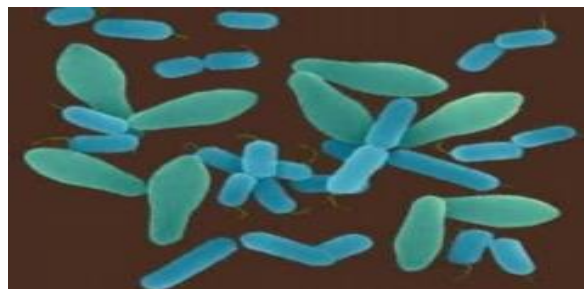


Figure 7: Les cellules de *Clostridium perfringens* sous microscope électronique (Salifou et al., 2013)

3.5. *Staphylococcus aureus*

La famille de *Micrococcaceae* comprend *Staphylococcus aureus* qui est une cocci avec une coloration à Gram positif. Les cellules sont disposées en grappe de 0.5 à 1 um de diamètre sans sporulation, une coagulase positive (**Haidara, 2010**). Cette espèce appartient aux bactéries aéroanaérobie facultatives mais une préférence pour le métabolisme aérobie.

Il s'agit d'un germe mésophile qui peut se multiplier entre 4 et 46°C, avec une croissance optimale à 37°C (**Salifou et al., 2013**).

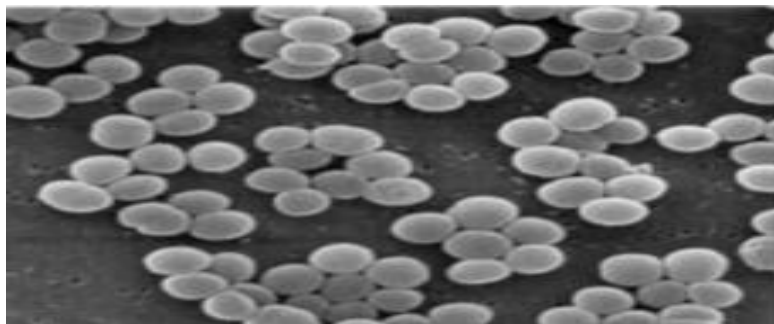


Figure 8: Les cellules de *Staphylococcus aureus* observer sous microscope électronique (**Salifou et al., 2013**)

3.6. *Salmonella*

Salmonella est un genre de bactéries de la famille d'*Enterobacteriaceae*. Il s'agit d'un genre de petits bacilles, Gram négatif, généralement mobiles par des cils péritrichés mais il peut y avoir des mutants immobiles et *S. gallinarum* est immobile (**Douhan, 2021**). Ces bactéries ont un diamètre de 0,7 à 1,5 µm, une longueur de 2 à 5 µm et sont aéro-anaérobies, oxydase négatives et nitrate réductase positives. Elles sont mésophiles et peuvent se développer entre 5,2 °C et 47 °C, avec une température optimale de 35 à 37 °C (**Salifou et al., 2013**).

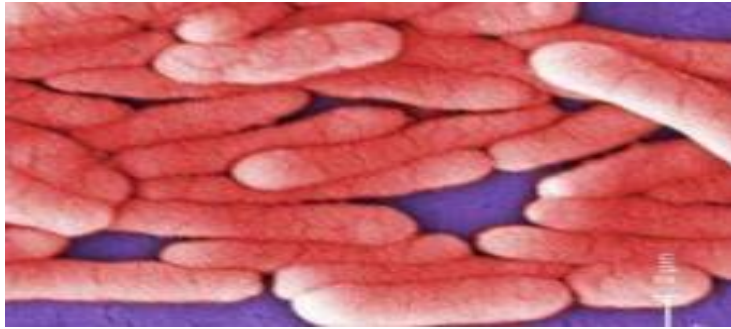


Figure 9: Les cellules de *Salmonella* sous microscope électronique (Salifou et al., 2013).

3.7. *Yersinia enterocolitica*

Yersinia est un genre de 11 espèces d'*Enterobacteriaceae*. Ce sont des bacilles sous la forme de coccobacilles, Gram négatif. Le glucose est fermenté avec un métabolisme qui peut être anaérobies. Elles se multiplient à une température de 37 °C (Ghafir et Daube, 2007).

Y. enterocolitica possède la capacité de se multiplier à des températures inférieures à 4 °C, ce qui en fait une espèce psychrotrophe, mais la température idéale pour la multiplication est de 28-30 °C. Les bactéries entéropathogènes de *Yersina* sont détruites par les températures de pasteurisation (Salifou et al., 2013).



Figure 10: Les cellules de *Yersina Enterolitica* sous microscope électronique (Salifou et al., 2013)

3.8. *Campylobacter*

Campylobacter est un genre de bacille fin à Gram négatif, incurvé, spirale, non sporulé, parfois en forme de S (avec un flagelle polaire, non entouré d'une gaine, situé à l'une des extrémités ou aux deux extrémités, lui donnant cette forme effilée), de 0,2 à 0,9 µm de diamètre et de 0,5 à 5 µm de long (Ghafir et Daube, 2007). *Campylobacter* possède un

métabolisme respiratoire et est très sensible aux micro-aérophiles. Il arrive que certaines souches se multiplient parfois dans des conditions d'aérobiose ou d'anaérobiose. Elles sont positives au test d'oxydase. Toutes les espèces de *Campylobacter* se reproduisent à une température de 37°C, mais les *campylobacter* thermophiles se développent davantage à une température de 42 °C et ne se reproduisent pas et ne se développent pas à des températures inférieures à 25 °C (Salifou et al., 2013).

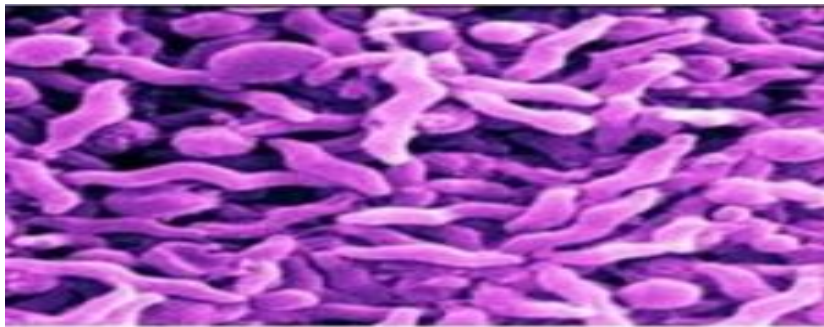


Figure 11: *Campylobacter* sous microscope électronique (Salifou et al., 2013)

4. Les altérations microbiennes

Différents types d'altérations peuvent se produire sur la viande en fonction de la température de conservation. Ceux-ci sont les variations à température basse, moyenne et élevée (Salifou et al., 2013).

4.1.Changements à faible température (< à 10 °C) ou détérioration de la surface

Il est possible d'observer différents types d'altérations sur les viandes conservées dans la chambre froide :

- En milieu sec, la prolifération des bactéries est accélérée. En revanche, on observe une croissance lente (de plus d'une semaine) de moisissures à la surface de la viande (*Aspergillus*, *Cladosporium*, *Thamnidium*, *Rotrichum*, *Penicillium*, *Mucor*) qui contribuent aux processus d'hydrolyse et d'oxydation des lipides (Salifou et al., 2013)
- En présence d'humidité, les viandes sont envahies en quelques jours par des bacilles Gram négatif. Il y a principalement des espèces telles que *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Alcaligenes*, *Flavobacterium* et *Enterobacteriaceae*.

La chair devient d'une couleur brune grisâtre, avec une odeur de putréfaction, qui se manifeste par la formation d'une couche visqueuse en surface due à la fusion de

cellules microbiennes (putréfaction superficielle), accompagnée d'une odeur désagréable.

Les agents pathogènes sont des bactéries psychotrophes principalement *Pseudomonas* et *Achromobacter* (Salifou et al., 2013).

4.2. Des changements à température intermédiaire (10 à 25 °C)

La lenteur du refroidissement des carcasses entraîne des modifications en surface et en profondeur. De nombreuses espèces se développent en surface, avec un taux élevé de germes anaérobies facultatifs, notamment des entérobactéries. *Pseudomonas* deviennent rapidement l'espèce dominante, entraînant l'apparition d'un poissage et d'une odeur désagréable (Salifou et al., 2013)

4.3. Altérations à haute température (25 à 40 °C) ou une putréfaction intense

Les températures ambiantes courantes dans les régions tropicales ou équatoriales sont de 25 à 40 °C. Une décomposition profonde se produit dans la masse musculaire interne des carcasses conservées à ces températures (sans refroidir l'abattage). La cause de cela réside dans la prolifération rapide des bactéries anaérobies putréfiantes issues du tractus intestinal des animaux. La viande prend une teinte verte et devient extrêmement odieuse suite à la multiplication d'espèces encore plus nombreuses. Les agents de ce type d'altération sont: *Clostridium histolyticum*, *Clostridium sporogenes*, *Clostridium oedematiens* (Salifou et al., 2013)

5. Les techniques de conservation des viandes

Les caractéristiques physicochimiques de la viande fraîche, telles que son pH et son activité d'eau (a_w), la rendent sensible et instable au fil du temps, ainsi sa durée de conservation est influencée par divers facteurs tels que la température, l'oxygène atmosphérique (O_2), les enzymes endogènes, l'humidité, la lumière et la présence initiale de micro-organismes. La préservation de la viande est un défi ancien qui s'est intensifié avec l'industrialisation des produits carnés. Il existe de nombreuses techniques de conservation des viandes et des produits carnés, qui peuvent être utilisées individuellement ou en combinaison. On peut les classer en procédés chimiques, biologiques et physiques (Aouidi, 2012; Rahman, Hashem, Azad, Choudhury et Bhuiyan, 2023).

5.1. Méthodes chimiques

5.1.1. Le salage

Cela implique l'ajout de sel à la viande ce qui aide à réduire l'activité de l'eau ainsi ralentit la croissance des microorganismes à la surface du produit et éloigne les insectes et autres parasites (Aouidi, 2012; Bamarni, 2023).

5.1.2. Addition de substances chimiques

Certains additifs chimiques ont des propriétés antimicrobiennes, cela permet de conserver la couleur rouge de la viande. Par exemple : les nitrites, les nitrates, les orthophosphates de sodium (Aouidi, 2012).

5.1.3. Addition des épices, herbes médicinales, leurs extraits ou des huiles essentielles

Ces ingrédients naturels ont des propriétés antimicrobiennes et antioxydantes, en plus de leur rôle dans la saveur des produits à base de viande. Ils sont également efficaces pour repousser les insectes. Par exemple, les huiles d'eugénol, de clou de girofle, d'origan et de thym, ainsi que le poivre, le piment, le gingembre et l'ail (Aouidi, 2012).

5.2. Méthode biologique

5.2.1. Bio préservation

C'est une méthode de conservation des viandes par fermentation lactique. Les bactéries responsables de ce processus sont les bactéries lactiques (*Lactobacilles*, *Leuconostoc*) ainsi que les bactéries du genre *Micrococcus*. La fermentation permet d'inhiber l'altération microbiologique et la croissance des bactéries pathogènes en réduisant le pH, le potentiel d'oxydoréduction, et en produisant des bactériocines, des acides organiques et du peroxyde d'hydrogène. De plus, cette méthode préserve la qualité organoleptique, la valeur nutritionnelle et la digestibilité du produit initial (Aouidi, 2012).

5.3. Méthodes physiques

5.3.1. Le séchage

Il s'agit de retirer l'eau présente dans les viandes fraîches en utilisant la combinaison de la température, de la ventilation et de l'humidité de l'air. Cette technique permet de réduire l'activité de l'eau dans le produit, ce qui inhibe le développement des microorganismes et des réactions enzymatiques. Toutefois, cette méthode entraîne des changements physiques, mécaniques et biochimiques qui provoquent la dénaturation des protéines, l'oxydation des

matières grasses et des réactions de brunissement non enzymatique (Aouidi, 2012; Bamarni, 2023).

5.3.2. Le Fumage

Il s'agit de soumettre la viande à l'action directe ou indirecte de la fumée provenant de la combustion de certains végétaux. Cette technique permet la conservation grâce aux composés volatils de la fumée, empêche l'infestation de la viande par les insectes, améliore la saveur et la couleur du produit final. Cependant, les viandes conservées par fumage sont souvent exposées à la contamination par des composés toxiques de la fumée tels que le 3-4 benzopyrène, entraînant la dégradation des acides aminés et des vitamines. Ces effets néfastes se traduisent par une altération des qualités hygiéniques et nutritionnelles des produits obtenus. De plus, le fumage provoque une dessiccation entraînant une perte de poids. La viande devient ainsi plus sèche et plus ferme (Aouidi, 2012).

5.3.3. Conservation par le froid

Il s'agit de réduire la température de conservation des viandes. Cela entraîne la solidification de l'eau présente dans la viande, ce qui réduit l'activité de l'eau. Par conséquent, le froid arrête ou ralentit l'activité cellulaire, les réactions enzymatiques et le développement des microorganismes (Aouidi, 2012).

5.3.4. Conservation par la chaleur

Il est question d'utiliser des températures élevées qui permettent la destruction ou l'inhibition complète des enzymes, des microorganismes et de leurs toxines (Aouidi, 2012).

5.3.5. La méthode de haute pression (pascalisation)

Il s'agit d'un procédé non thermique qui implique l'exposition de la viande à des pressions élevées. Cela permet d'améliorer la durée de conservation du produit en réduisant la quantité de microorganismes et l'activité de certaines enzymes (Aouidi, 2012 ; Rudy et al., 2020).

5.3.6. L'irradiation ionisante (ionisation)

Elle se base sur l'exposition de la viande aux rayonnements ionisants électromagnétiques. Cela permet de purifier et/ou de prolonger la durée de conservation du produit en réduisant ou en éliminant les microorganismes pathogènes et d'altération. Cette technique préserve les qualités organoleptiques du produit (Aouidi, 2012).

5.3.7. Chauffage à haute fréquence

L'utilisation d'une énergie non-ionisante à haute fréquence, comme les micro-ondes ou la radiofréquence, est envisagée pour le traitement de la viande. Cette technique est employée pour la cuisson, le séchage et la pasteurisation, permettant ainsi d'éliminer les microorganismes tout en préservant les qualités nutritionnelles et sensorielles du produit traité (Aouidi, 2012).



Chapitre III : Matériel et méthode

1. Présentation du lieu de travail :







Notre travail pratique a été réalisé au niveau des laboratoires de microbiologie de la faculté des sciences de la nature et de la vie, d'Université Akli Mohand Oulhadj de Bouira

2. Matériels

2.1 Produits alimentaires

Pour la réalisation de la partie expérimentale et plus exactement l'isolement des bactéries lactiques, on s'est servi des produits alimentaires suivants:

Tableau IV: Les viandes et le produit crané utilisé dans notre étude

Nom	Produit
<ul style="list-style-type: none">• Viande blanche (poulet)	
<ul style="list-style-type: none">• Viande rouge	
<ul style="list-style-type: none">• Cachir	
<ul style="list-style-type: none">• La viande séchée	
<ul style="list-style-type: none">• Merguez	
<ul style="list-style-type: none">• Le pâté	

2.2 Les souches pathogènes

➤ Les souches test utilisées dans cette étude sont les suivantes :

- ❖ *Escherichia coli*
- ❖ *Staphylococcus aureus*

2.3 Matériel de laboratoire

Tableau V: Le matériel utilisé

Appareillages	La verrerie	Milieux de culture et réactifs
<ul style="list-style-type: none"> • Bain marie • Autoclave • Réfrigérateur • Agitateur Vortex • Balance de précision • Plaques chauffantes agitatrice • Étuve • Microscope optique • micropipettes 	<ul style="list-style-type: none"> • Tube à essai • Bécher • Erlenmeyer • Flacon • Lames • Éprouvettes graduées • Pipette pasteurs • Broyeur • D'outre matériel : Boîtes de Pétri stérile, Spatule, Pincés, Ecouvillons stériles, Portoir pour tube à essais. Entonnoir 	<ul style="list-style-type: none"> • Milieu MRS (bouillon et gélose) • Milieu EMB • Milieu nutritif (bouillon) • Milieu Chapman (gélose et bouillon) • Gélose molle 1. Violet de gentiane. 2. Lugol 3. Fushine 4. Alcool 5. L'eau distillée. 6. L'eau oxygénée

3. Méthodes

3.1 Echantillonnage

Dans notre étude, les échantillons sont représentés par différent types de viandes (Viande rouge, viande blanche, cachir, Mergaz, viande sèche). Les prélèvements ont été faits directement après l'achat des morceaux de viande et ces divers dérivés au niveau d'une boucherie et un magasin d'alimentation de la ville de Bouira.

3.2 Préparation des échantillons

Après avoir prélevé et transporté les échantillons au laboratoire, tout le matériel utilisé est préparé dans une zone stérile de bec benzn. Par la suit, la viande est découpée aseptiquement en très petits morceaux. Un broyage a été effectué à l'aide d'un broyeur manuel pour obtenir des produits fines.



Figure 12: Le broyage des viandes rouges et viandes blanches

3.3 Isolement des bactéries lactiques à partir des produits alimentaires

3.3.1 Enrichissement

Mettre une petite quantité d'échantillons de chaque type de viande prélevée à l'aide d'une pince stérile dans un tube à essai stérile contenant du bouillon MRS. Ensuite, nous les mélangeons avec un vortex. L'incubation est faite pendant 24h à 37°C.



Figure 13: L'échantillon dans le bouillon MRS



Figure 14: Le bouillon contenant le pati et le cachair

3.3.2 Isolement sur gélose

Après enrichissement, les cultures obtenues dans bouillon MRS sont ensemencées sur gélose MRS en prenant une goutte de chaque tube avec une pipette Pasteur dans le but d'avoir des colonies de souches de bactéries lactiques. Les boîtes sont incubées à 37°C pendant 48 à 72 heures.



Figure 15: La solidification de la gélose MRS

3.4 Purification des isolats de bactéries lactiques

La méthode de purification implique de transférer à plusieurs reprises des échantillons sur des milieux gélosés et en bouillon MRS, suivie d'une incubation à 37°C pendant 24 à 48 heures, jusqu'à ce que des colonies présentant une taille, une forme et une couleur uniformes soient obtenues, indiquant ainsi la pureté des souches. Les isolats purifiés ont ensuite été distingués par des observations macroscopiques et microscopiques (coloration de Gram), ainsi que par des tests de catalase.



Figure 16: Le bouillon MRS contenant des souches bactériennes

3.5 Revivéferication des bactéries pathogènes

3.5.1 *Escherichia coli*

Nous préparons deux tubes à essai stériles remplis de bouillon nutritif. Ensuite, nous repiquons une petite quantité d'*Escherichia coli* dans chaque tube et les incubons à 37 °C pendant 24 heures. Après l'incubation, nous déposons des gouttes du bouillon nutritif sur de la gélose EMB à l'aide d'une pipette, puis plaçons les boîtes dans une étuve à 37 °C pendant 24 heures. Les colonies d'*Escherichia coli* apparaissent sous forme de colonies vertes avec un éclat métallique sur gélose EMB.



Figure 17: L'aspect d'une souche d'*E.coli* sur la gélose EMB

3.5.2 *Staphylococcus aureus*

Un volume d'une culture de la souche *Staphylococcus aureus* est repiqué dans de bouillon Chapman. Après avoir été mélangés, les tubes sont incubés à 37°C pendant 24 heures.

Une fois les tubes récupérés, les boîtes de Petri sont coulées et soigneusement séchées. Ensuite, une goutte de bouillon est prélevée à l'aide d'une pipette Pasteur à partir de tube, puis ensemencée sur des boîtes de gélose Chapman. Les boîtes sont ensuite incubées à 37°C dans une étuve pendant 24 heures. Les colonies de *Staphylococcus aureus* apparaissent sous forme de colonies jaunes avec un halo jaune sur la gélose Chapman.

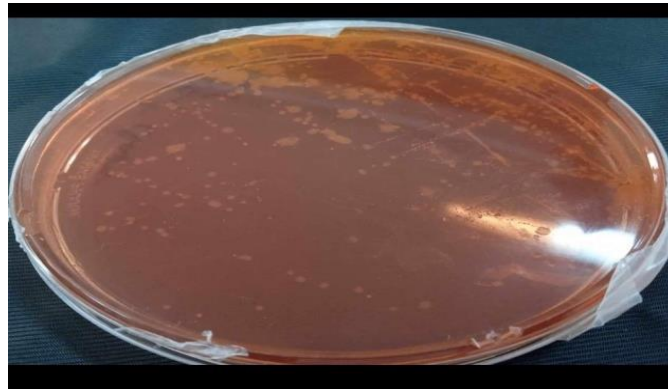


Figure 18: L'aspect d'une souche *S.aureus* sur la gélose Chapman

3.6 Identification des isolats de bactéries lactiques et des bactéries pathogènes

L'identification repose sur la détermination des caractères morphologiques et biochimiques

3.6.1 Examen macroscopique

L'examen à l'œil nu des colonies de diverses bactéries sur différents milieux facilite l'identification de certains genres bactériens. Cette procédure implique l'observation des caractéristiques telles que l'apparence, la taille et la couleur des colonies sur gélose, notamment : les colonies sur gélose MRS pour les bactéries lactiques, les colonies sur gélose Chapman pour *S.aureus*, et les colonies sur EMB pour *Escherichia coli*.

Il s'agit d'étudier la forme, l'aspect, le contour, la surface, la couleur des colonies dans le milieu gélose MRS (Tabak et Bensoltane, 2012).

3.6.2 Examen microscopique

Un frottis bactérien est réalisé à partir des colonies suspectes en cultures pures, puis fixé et coloré selon la méthode de Gram (Tabak et Bensoltane, 2012).

3.6.3 Coloration Gram

La méthode de coloration de Gram est largement utilisée pour l'analyse et la classification des bactéries en fonction de leur paroi cellulaire. Les bactéries sont colorées en violet grâce à un colorant basique tel que le violet de gentiane, puis traitées avec une solution de lugol avant d'être exposées à l'alcool. Le violet de gentiane se fixe sur les composants cytoplasmiques des bactéries, leur donnant ainsi une coloration violette, La coloration de base en bactériologie est essentielle pour différencier les bactéries en Gram positif et en Gram négatif (**Makhloufi, 2011**)

Les étapes:

- Une culture a été prélevée sur une boîte et étalée sur une lame de verre
- la lame a été séchée à l'air libre, fixée à la flamme.
- Après fixation, la lame a été colorée avec du violet de gentiane pendant 1 minute avant d'être rincée à l'eau distillée
- elle a été recouverte de lugol pendant 1 minute et rincée à l'eau distillée.
- Une fois la lame rincée, elle a été décolorée à l'éthanol pendant environ 10 secondes puis rincée à l'eau distillée
- Elle a été colorée à la fuchsine (safranine) pendant 1 minute, rincée à nouveau à l'eau distillée et séchée.

Les lames ont été observées sous microscope optique (objectif 100/ grossissement $\times 1000$)

3.6.4 Tests biochimiques

L'étude des caractères biochimiques repose principalement sur la recherche d'oxydase, de catalase, ect (**Tabak et Bensoltane, 2012**).

Test de catalase : pour détecter cette enzyme, une fraction de la colonie suspecte est mélangée à une goutte d'eau oxygénée sur une lame stérile. La production de bulles de gaz signale la présence de la catalase (**Tabak et Bensoltane, 2012**).

3.7 L'activité antimicrobienne des souches de bactérie lactiques

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

3.7.1 Préparation des cultures des 18 heures des bactéries lactiques

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

3.7.2 Préparation des cultures des 18 heures des souches pathogènes

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

3.8 Réalisation de test de spot

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

Après l'incubation, les spots sont recouverts par 10 ml de la gélose nutritif molle contenant 1 ml de la culture de 18h d'une souche indicatrice et homogénéisé délicatement afin d'éviter le décollement des spots. Après l'incubation à 37 °C pendant 24h, les zones d'inhibition ont été mesurées. L'apparition d'une zone transparente autour du spot témoigne de l'effet antagoniste des bactéries lactiques (**Fleming *et al.*, 1975**). La méthode est schématisée dans la figure 19

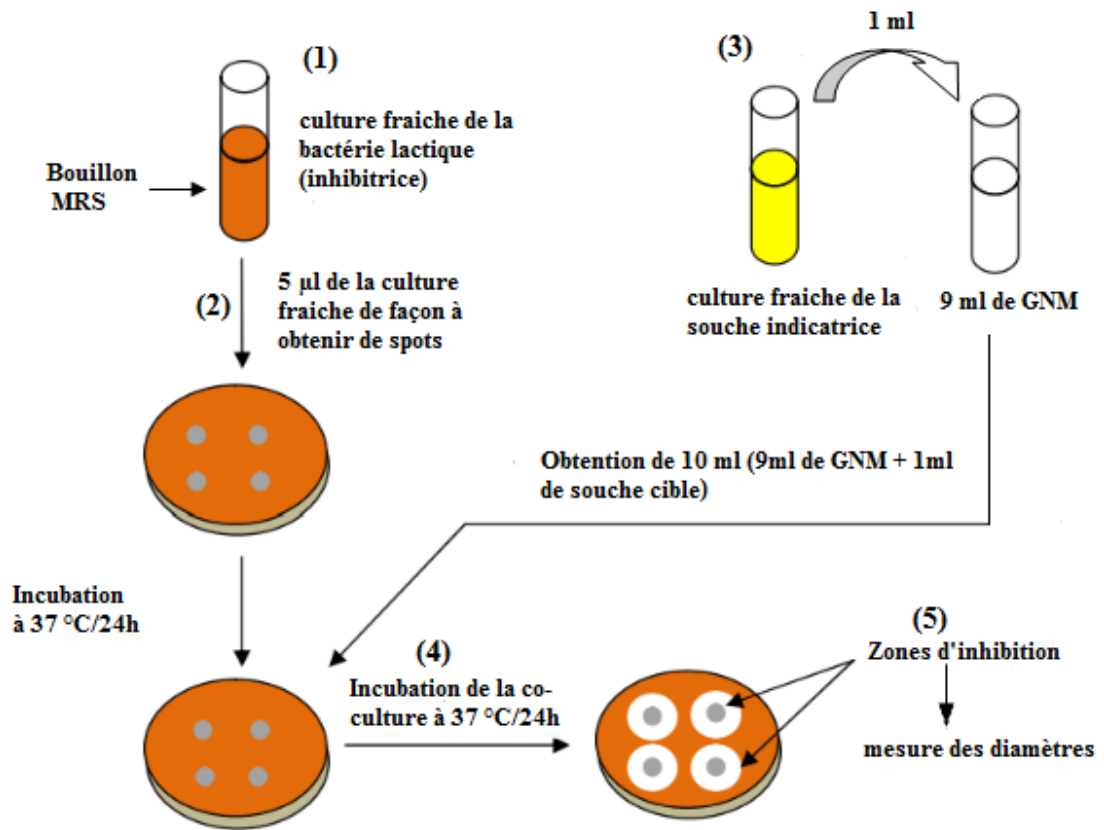


Figure 19: test de spot.

Chapitre IV : Résultats et discussion

1. Isolement et purification des souches de bactéries lactiques

A partir des 6 échantillons de viande et ces dérivés, des souches de bactéries lactiques ont été isolées sur gélose MRS.

La purification des souches isolées a été réalisée par plusieurs repiquages successifs sur bouillon et gélose MRS, un total de 45 souches pures a été obtenu (tableau I).

Tableau VI: Résultats d'isolement des souches de bactéries lactiques

souche	Echantillon	souche	Echantillon	souche	Echantillon	souche	Echantillon
LB1a	C1	LB12a	VB2	LB23a	P3	LB4b	VR3
LB2a	C1	LB13a	VB3	LB24a	P4	LB5b	VR4
LB3a	C2	LB 14a	VB4	LB25a	P5	LB6b	VR5
LB4a	C3	LB15a	VB5	LB26a	VS1	LB7b	C'1
LB5a	C4	LB16a	Mg1	LB27a	VS2	LB8b	C2
LB6a	C5	LB17a	Mg2	LB28a	VS3	LB9b	C1
LB7a	VR1	LB18a	Mg3	LB29a	VS4	LB10b	C5
LB8a	VR2	LB19a	Mg4	LB30a	VS5	LB11b	VB1
LB9a	VR3	LB20a	Mg5	LB1b	P4	LB12b	VB2
LB10a	VR5	LB21a	P1	LB2b	P2	LB13b	VB 3
LB11a	VB1a	LB22a	P2	LB 3b	P1	LB14b	VB4
						LB15b	VB5

Légende : LB : code de souche, a : 1er échantillon, b : 2ème échantillon, VR : viande rouge, VB : viande blanche, C : Cacher, P : pâté, Mg : merguez, VS : Viande sachée

2. Identification

2.1. Aspect macroscopique

2.1.1. Sur milieu liquide

On peut observer une turbidité uniforme et trouble homogène dans le bouillon MRS, ce qui indique une multiplication des bactéries lactiques (figure 20)

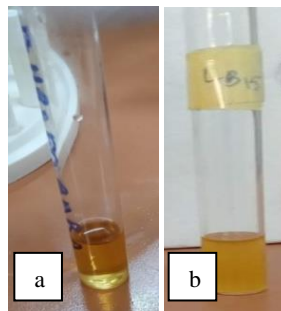


Figure 20: L'aspect macroscopique des isolats lactiques dans le bouillon MRS

a : Tube témoin. b : Tube ensemencée

2.1.2. Sur milieu solide

L'observation macroscopique des bactéries lactiques sur gélose MRS montre l'apparition de petites colonies formées avec une surface lisse. Les colonies présentent une coloration blanchâtre ou transparente, brillante, elles sont lenticulaires et bombée (figure 21).

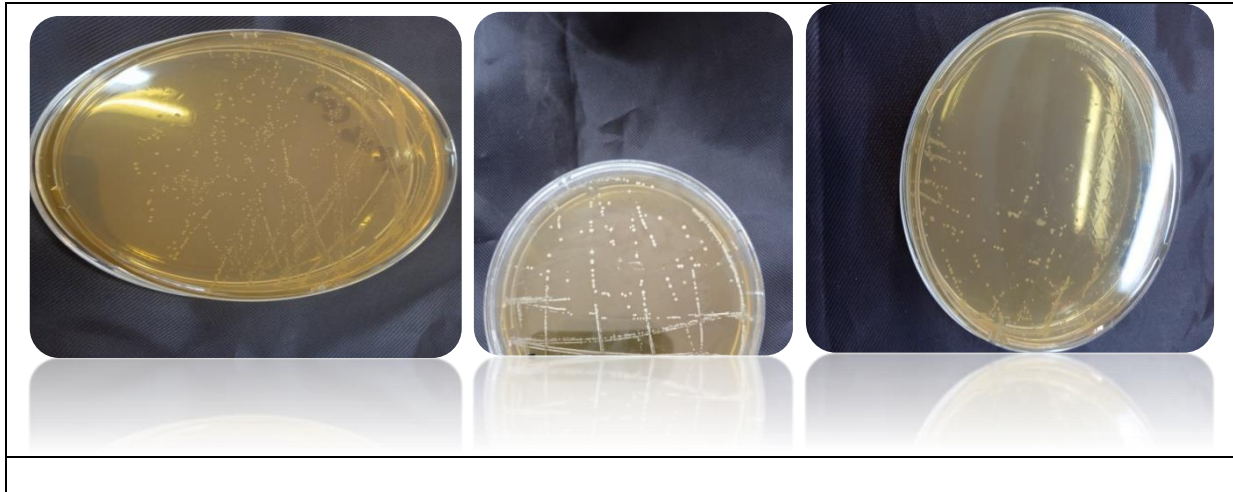


Figure 21:Aspect des colonies des souches lactiques sur gélose MRS

2.2. L'aspect microscopique

L'analyse microscopique repose sur la coloration de Gram, qui a confirmé que les bactéries étudiées sont de type Gram positif et se présentent sous une forme spécifique couque, bâtonnet avec différent mode d'associations (figure 22 et Tableau VII).

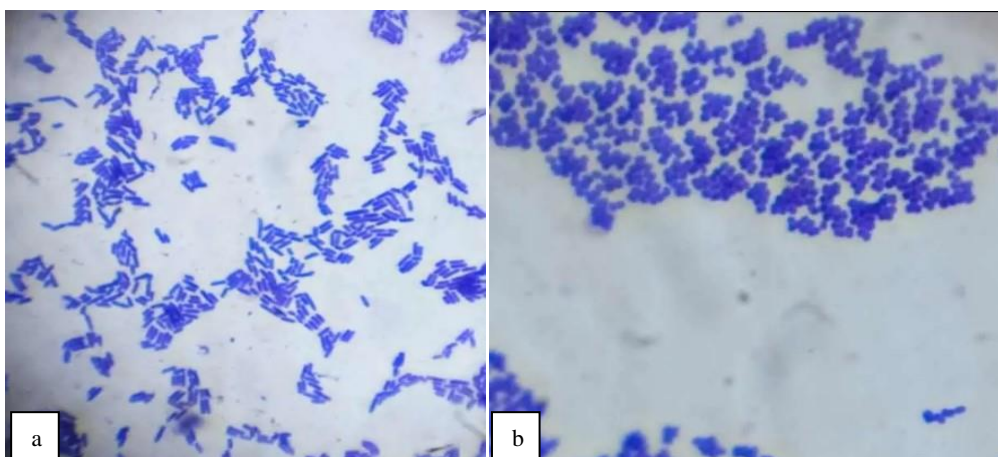


Figure 22: Observation sous microscope optique des bactéries lactiques

Forme bacille (a) et forme de cocci (b).

2.3. Test de catalase

Toutes les souches isolées et purifiées ont une catalase négative car il n'y a pas de production de gaz. Elles ne possèdent pas d'activité catalasique. Les résultats obtenus confirment la pureté et l'appartenance des souches au groupe lactique (figure 23 et tableau VII)



Figure 23: Résultat de test de catalase (résultats négatif).

Tableau VII: Résultats de la coloration de Gram et de test catalase des souches lactiques isolées.

La souche	Coloration de Gram	La fourme	Catalase
LB1	+	couque	-
LB2	+	couque	-
LB3	+	couque	-
LB4	+	Couque	-
LB5	+	Couque	-
LB6	+	Couque	-
LB7	+	Couque	-
LB8	+	couque	-
LB9	+	couque	-
LB10	+	Couque	-
LB11	+	Bâtonnet	-
LB12	+	couque	-
LB13	+	Couque	-
LB14	+	Couque	-
LB15	+	couque	-
LB16	+	Couque	-
LB17	+	Couque	-
LB18	+	couque	-
LB19	+	Couque	-
LB20	+	Couque	-
LB21	+	couque	-
LB22	+	Couque	-
LB23	+	Couque	-
LB24	+	Couque	-
LB25	+	Couque	-
LB26	+	Couque	-

LB27	+	couque	-
LB28	+	couque	-
LB29	+	Couque	-
LB30	+	Couque	-
LB1	+	Bâtonnet	-
LB2	+	Bâtonnet	-
LB3	+	Bâtonnet	-
LB4	+	Bâtonnet	-
LB5	+	Bâtonnet	-
LB6	+	couque	-
LB7	+	Bâtonnet	-
LB8	+	Bâtonnet	-
LB9	+	Bâtonnet	-
LB10	+	Bâtonnet	-
LB11	+	Bâtonnet	-
LB12	+	Bâtonnet	-
LB13	+	Bâtonnet	-
LB14	+	Bâtonnet	-
LB15	+	Bâtonnet	-

Légende : + : Gram positive ; - : catalase négative

Les résultats obtenus par notre étude sont presque les mêmes que ceux obtenus Par **Djelloul-Daouadji, (2021)** à savoir que les colonies obtenues sur milieu de culture solide apparaissent comme de petites colonies, de forme lenticulaire, de couleur blanche ou laiteuse, avec une surface lisse, circulaire régulière,...etc. La croissance en milieu de culture liquide MRS est caractérisée par un trouble et l'apparition des amas blanc au fond du tube.

Les travaux réalisés par **Toka, et al., (2018)** ont rapporté que les bactéries lactiques ont une réaction négative au test de la catalase. Les cellules sont des bacilles Gram+ (BG+) et des cocci Gram+ (CG+). Les résultats indiquent que les souches examinées n'ont pas formé de spores qui correspondent aux résultats obtenus par **Mokoena, (2017) et Soltani et al., (2022)**.

3. Activité antibactérienne

Les bactéries lactiques ont la capacité intéressante de ralentir et d'empêcher l'activité et la croissance des bactéries pathogènes en produisant des facteurs inhibiteurs. L'effet inhibiteur des colonies isolées a été évalué sur la croissance de *Staphylococcus aureus* et d'*Escherichia coli* (**Dib et al., 2012**).

L'étude de l'activité antibactérienne *in vitro* en utilisant la méthode de spot (appelée aussi méthode directe) est réalisée à fin de connaître l'effet antagoniste de 45 isolats de bactéries lactiques contre des bactéries pathogènes (*Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*). La présence de cette activité est indiquée par l'apparition d'une zone transparente entourant clairement les souches lactiques utilisées.

3.1. *Staphylococcus aureus*

Les bactéries lactiques ont montré des résultats prometteurs lorsqu'on les a testés contre des bactéries pathogènes, en créant une zone d'inhibition remarquable contre *Staphylococcus aureus* (figure 24)

Les résultats obtenus démontrent l'efficacité de toutes les souches contre la bactérie pathogène, *Staphylococcus aureus* par la présence des zones claires au tour des souches lactiques (Figure 24).



Figure 24: Résultats de l'activité antimicrobienne des souches lactiques isolées vis-à-vis des souches de *S.aureus*

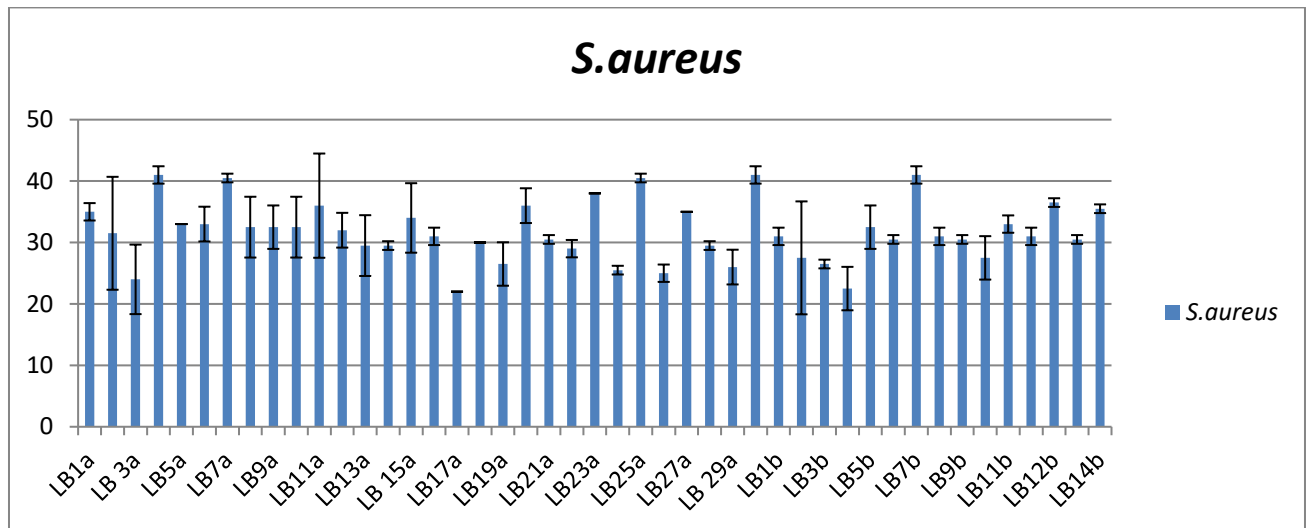


Figure 25: Diamètres de zones d'inhibition obtenues par la méthode de spot contre *S.aureus*

Les diamètres des zones d'inhibition diffèrent selon les souches et qui varient entre 20mm et 41mm. Une zone d'inhibition maximale était de 41mm observée contre *Staphylococcus aureus* par les souches LB4a, LB30a, LB7b. Un diamètre minimum égal à 20 mm par la souche LB29a.

Les souches LB4a, LB30a, LB7b apparaît les plus performantes avec les meilleures zones d'inhibition contre la souche indicatrice *Staphylococcus aureus*.

On remarque qu'il ya des souches qui présentent les mêmes diamètres des zones d'inhibition (tableau VIII)

Tableau VIII: les souches lactiques qui a les mêmes diamètres des zones d'inhibition vis-à-vis *S.aureus*

Les souches	Les diamètres des zones d'inhibition
LB2b, LB2 b	27,5
LB13a, LB14a, LB28a	29,5
LB21a, LB6b, LB9b, LB13b	30,5
LB16a, LB1b, LB8b	31
LB8a, LB9a, LB10a, LB5b	32,5
LB5a, LB6a, LB11b	33
LB15a, LB15b	34
LB27a, LB1a	35
LB11a, LB20a	36
LB4a, LB30a, LB 7b	41

les souches lactiques qui a les mêmes diamètres des zones d'inhibition vis-à-vis *S.aureus*

Les résultats des tests d'antagonisme montrent que toutes les souches lactiques présentent une activité antibactérienne contre *Staphylococcus aureus*, avec des diamètres d'inhibition compris entre 20 et 41 mm. Les souches lactiques **Lb7a, Lb11a, Lb20a, Lb23a, Lb25a, Lb4a, Lb30a et Lb7b, Lb12b** ont montré une activité significative, avec un spectre d'inhibition compris entre 36 et 41 mm. Il a été démontré qu'il est efficace contre la souche pathogène *S. aureus*. Nos résultats sont très intéressants par rapport à celles démontrés par **Adeniyi, Adetoye, et Ayeni, (2015)** qui ont obtenus des zones d'inhibition avec des diamètres compris entre 7 et 10 mm. En revanche, ceux trouvé par **Train, (2024)**, les résultats obtenus ont révélé une inhibition de la croissance de *Staphylococcus aureus*, avec des zones d'inhibition mesurant entre 11,64 et 22,32 mm de diamètre. Nos résultats présentent une concordance partielle avec ceux de **Selman, Mahdi, El Rofaei et Mutwali (2021)** dans le contexte de l'activité contre *Staphylococcus aureus*, avec des zones d'inhibition observées variant entre 20 et 34 mm.. Nos résultats sont encore supérieurs à ceux de **Awaisheh et Salam, (2009)** où des niveaux d'inhibition légèrement inférieurs ont été observés contre *S. aureus* avec des zones d'inhibition comprises entre 27-30 mm.

3.2. *Escherichia coli*

Les souches de bactéries lactiques et leurs métabolites ont la capacité d'inhiber différents micro-organismes d'altération ainsi que des agents pathogènes tels que *Escherichia coli* (**Hernández-Aquino, et al., 2019**).

Les résultats obtenus démontrent l'efficacité de toutes les souches contre la bactérie pathogène *Escherichia coli* par la présence des zones claires au tour des souches lactiques (Figure 26).



Figure 26: Résultats de l'activité antimicrobienne de souches de bactéries lactiques contre *E.coli*

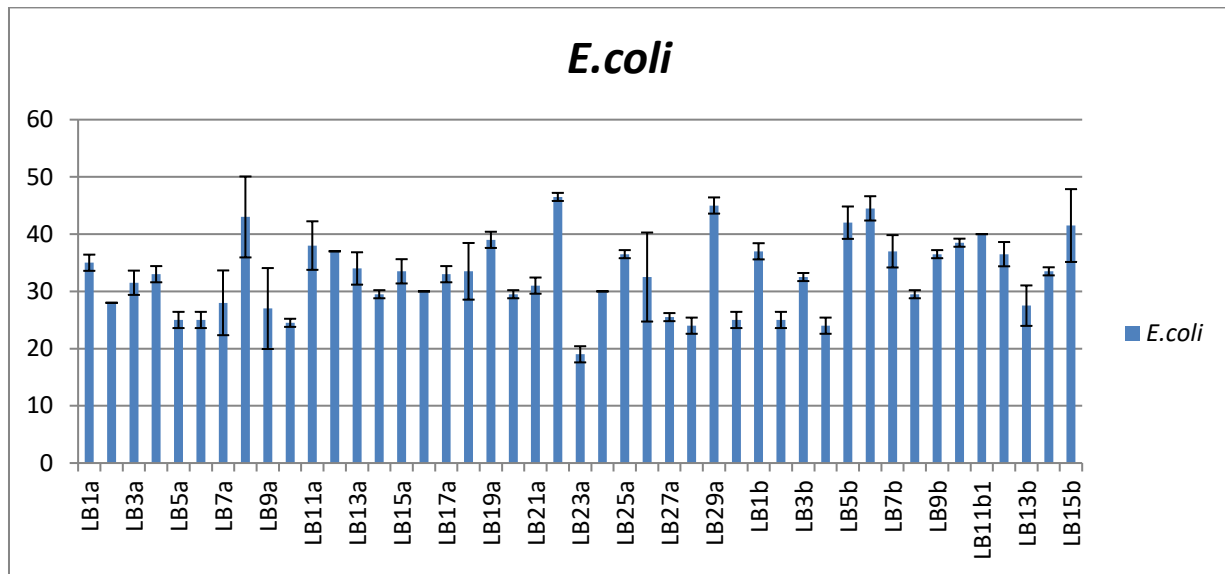


Figure 27: Résultats de l’activité antimicrobienne des souches lactiques vis-à-vis d’*E.coli*

Les diamètres des zones d’inhibition diffèrent selon les souches et qui varient entre 19mm et 46,5mm. Une zone d’inhibition maximale était de 46,5mm observée contre, *Escherichia coli* par la souche LB22a Un diamètre minimum égal à 19mm par la souche LB23a), ainsi LB22a a un pouvoir d’inhibition important sur la souche indicatrice *Escherichia coli*, mais on remarque qu’il ya des souches qui montrent les mêmes diamètres des zones d’inhibition ; ce qui est indiqué dans le tableau IV.

Tableau IX: les souches lactiques qui a le même diamètre des zones d’inhibition vis-à-vis *Escherichia coli*.

Les souches	Les diamètres des zones d’inhibition
LB5a, LB6a, LB30a	25
LB2a, LB7a	28
LB14a, LB20a, LB8b	29,5
LB16a, LB24a	30
LB26a, LB3b	32,5
LB17a, LB4a	33
LB15a, LB18a, LB14b	33,5
LB25a, LB9b, LB12b	36,5
LB12a, LB1b, LB7b	37

Les résultats des tests d’antagonisme révèlent une activité antibactérienne de toutes les souches lactiques contre *E. coli*, avec des diamètres d’inhibition variant de 19 à 46,5 mm.

Les souches **Lb8a**, **Lb22a**, **Lb29a**, **Lb5b**, **Lb6b**, **Lb11b** et **Lb15b** ont particulièrement démontré une activité significative, avec des zones d'inhibition allant jusqu'à 40-46.5 mm. Ces résultats démontrent une efficacité notable contre la souche pathogène *E. coli*. **Rahmeh et al., (2019)**, ont obtenus des zones d'inhibition comprises entre 11 et 35 mm. En comparaison avec les résultats de **Halder, Mandal, Chatterjee, Pal et Mandal., (2017)**, qui ont montré des zones d'inhibition de 12,5 à 28,25 mm, Nos résultats sont presque identiques à ceux obtenus par **Barache Belguesmia, Ladjouzi, Bendali, et Drider, (2020)** contre *Escherichia coli* avec des diamètres de 25 à 43 mm., Nos résultats restent supérieurs à ceux de **Tejero-Sariñen, Barlow, Costabile, Gibson, et Rowland, (2012)** avec des diamètres d'inhibition entre 11-17 mm et plus

Les bactéries lactiques isolées à partir de viande et leur dérivés peuvent sécréter des substances inhibitrices qui peut inhiber la croissance des bactéries pathogènes tels que *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*.

Les bactéries lactiques ont la capacité de produire divers composés, tels que les bactériocines. Les mécanismes antimicrobiens spécifiques des bactéries lactiques utilisés dans la biopréservation des aliments comprennent la production d'acides organiques, de peroxyde d'hydrogène, d'anhydride carbonique, de diacétyle, ainsi que d'antimicrobiens à large spectre comme la production de bactériocines. Ces composés antimicrobiens produits par les bactéries lactiques peuvent inhiber la croissance des bactéries pathogènes (**Soomro, Masud, Sammi et Rathore, 2007; Bouzaid et al., 2016**).

Les souches les plus performantes ont été choisies parmi 45 souches initiales de bactéries lactiques, en se basant sur le spectre d'activité anti-pathogène. Les souches **LB4a**, **LB30a**, **LB7b** ont démontré leur antagonisme le plus efficace contre *S. aureus*, avec des zones d'inhibition de 41 mm et un spectre d'activité antibactérienne le plus étendu. De plus, **Lb22a** a démontré une activité antibactérienne exceptionnelle contre *E. coli*, avec une zone d'inhibition la plus étendue de 46,5 mm.

A decorative scroll-like frame with a thick black border. The frame has a vertical bar on the left side and a small circular flourish at the top right corner. The word "Conclusion" is written in a bold, black, serif font inside the frame.

Conclusion

Conclusion

Les bactéries lactiques jouent un rôle crucial en produisant principalement de l'acide lactique lors de leurs activités métaboliques et jouent un rôle essentiel et varié dans les secteurs de l'agriculture, de l'alimentation et de la médecine. Ces bactéries acides produisent également naturellement des bactériocines, qui contribuent à la préservation des aliments en agissant comme un système de défense antagoniste, inhibiteur et antimicrobien contre les agents pathogènes et les micro-organismes responsables de la détérioration(**Ayivi et al., 2020**).

L'objectif de notre étude était d'isoler les bactéries lactiques à partir de différents types de viandes rouges et blanches ainsi que de leurs dérivés. Au total, quarante-cinq(45) souches de bactéries lactiques ont été obtenues à partir de la viande et de ses dérivés sur milieu MRS, chacune étant désignée par un code composé de deux lettres et d'un chiffre. L'isolement des bactéries lactiques sur le milieu MRS a permis d'observer des caractéristiques macroscopiques, morphologiques et biochimiques des colonies, telles que des colonies lenticulaires blanches, parfois bombées et de taille variable. De nombreux isolats bactériens présentaient des formes cocciques et bacillaires Gram positif.

En ce qui concerne l'activité antibactérienne, les souches ont été testées contre *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*.

Les interactions entre nos souches lactiques et les bactéries pathogènes ont produit des résultats positifs, avec presque toutes les souches observées présentant des zones d'inhibition significatives dans leur activité antimicrobienne. Nous avons utilisé la méthode directe (méthode de spot) qui a révélé des zones d'inhibition distinctes, atteignant un diamètre allant de 19 à 46.5 mm contre *Escherichia coli*, et de 22 à 41 mm contre *Staphylococcus aureus*.

En conclusion, nous soulignons l'importance des bactéries lactiques présentes dans les viandes et les produits carnés pour la santé humaine et intérêt dans la préservation des viandes.

Perspectives

Diverses méthodes sont utilisées pour isoler les bactéries lactiques des viandes et de leurs dérivés, notamment la PCR spécifique pour identifier les espèces bactériennes, la spectrométrie de masse pour une identification précise, la fermentation du glucose, la croissance en température et la production de diacétyle pour caractériser ces bactéries

En association avec d'autres techniques, comme le dénombrement des colonies, la détection des pathogènes et le test de pH, ces méthodes permettent d'évaluer de manière exhaustive la sécurité et la qualité microbiologique des produits carnés

Références bibliographiques

Abdelrahim, A. M. (2019). Caractéristiques toxiques et diversité génétique des souches de *Clostridium perfringens* impliquées dans des toxi-infections alimentaires collectives en Ile-de-France. Thèse de doctorat : Sciences de la vie et de la santé. Université Paris Est et l'école doctorale Abies. 23p

Adeniyi, BA, Adetoye, A. et Ayeni, FA (2015). Activités antibactériennes des bactéries lactiques isolées des excréments de vache contre d'éventuels pathogènes entériques. *Sciences de la santé africaines* , 15 (3), 888-895

Al Kassaa, I. , Belguesmia, Y., Chhib, N. E., Hamze, M., Bendali, F., Nagmouchi, K., ... et Drider, D. (2015). Applications des bacteriocines et bactéries lactiques dans le contrôle des pathogènes alimentaires. *Sécurité sanitaire des aliments : épidémiologie et moyens de lutte contre les principaux contaminants zoonotiques des aliments.*, 183-199

Amensag, K. (2019). Les bactéries lactiques isolées d'aliments traditionnels marocains : production de bactériocines et applications potentielles contre des pathogènes multirésistants aux antibiotiques. Thèse de doctorat : chimie analytique. Université de Sidi Mohamed ben Abdallah. 20p

Aouidi, F. (2012). Étude et valorisation des feuilles d'olivier *Olea Europaeadans*. L'industrie ,Agro-Alimentaire, Thèse de doctorat : Génie Biologique, Institut National des Sciences Appliquées et de Technologie. 36-42p

Awaisheh, SS et Ibrahim, SA (2009). Dépistage de l'activité antibactérienne des bactéries lactiques contre différents agents pathogènes présents dans les produits carnés emballés sous vide. *Pathogènes et maladies d'origine alimentaire* , 6 (9), 1125-1132

Ayivi, R. D. (2020). Lactic acid bacteria : Food safety and human health applications. *Dairy*, 1(3), 202-232

B

Badis, A., Laouabdia-Sellami, N., Guetarni, D., Kihal, M., Ouzrout, R. (2005). Caractérisation phynotypique des bactéries lactiques isolee A partir de lait cru de chevre de deux». Sciences & Technologie. , Biotechnologies, 23, 30-37

Baleswaran, A. (2023). Compréhension et reproduction de l'accident lié à Pseudomonas fluorescens en fabrication fromagère : application à la technologie lactique-mixte caprine.Thèse de doctorat : Infectiologie, Physiopathologie, Toxicologie, Génétique et Nutrition.Université de Toulouse. 48 p

Bamarni, S. S. I. (2023) .How to Preserve Meat for a long time ? 2(6), 1-2

Benabdelmoumene ,Dj. (2016). Qualité nutritionnelles et organoleptique des viandes et des œufs de volaille locales. Influence du sexe et des génotypes. Thèse de doctorat : sciences Alimentaires. Université Abdel Hamid Ibn badis. 6p.

Barache, N., Belguesmia, Y., Ladjouzi, R., Bendali, F. et Drider, D. (2020). Des groupes de souches de Lactobacillus d'origine végétale sont associés à des fonctions bénéfiques : données expérimentales et interprétations statistiques. Aliments , 9 (8), 985

Bièche-Terrier, C. Fleury, M., Bré, J. M., Malayrat, C., Tribot-Laspiere, P., et Desmasures, N (2019). Viandes sous vide : les indicateurs microbiologiques actuels sont-ils fiables ?. Viandes et produits carnés,35, 1_9

Bintsis, T. (2017).Foodbornepathogens. AIMS Journal Microbiology, 3(3), 529–563

Bouvet, A., Couvry, G. (1994). Identification des entérocoques en microbiologie clinique. Médecine et maladies infectieuses, 24, 132-140

Bouzaid, M. (2016). Contribution à l'utilisation des bactéries lactiques dans la bio-conservation des aliments. Thèse de doctorat : Industries agricoles et alimentaires. Université de Béni Mellal Sultan Moulay Slimane. P 22-23 .

Bouzaid, M., Chatoui, R., Latrache, H., et Hasib, A. (2016). Activité antimicrobienne des souches de bactéries lactiques isolées de viande hachée de dromadaire et du lait cru de vache (Maroc). Microbiol. Ind. San et Environn, 10(1), 1-12.

C

Chamlal, N. (2022). Etude et évaluation génotoxique des viandes transformées .Thèse de doctorat : Biochimie Appliquée. Université 8 Mai 1945 Guelma. 5p

Cobos, A., et Díaz, O. (2015). Chemical composition of meat and meat products. Handbook of food chemistry, 1, 471-510.

Coeuret, V., Dubernet, S., Bernardeau, M., Gueguen, M. et Vernoux, JP (2003). Isolement, caractérisation et identification des lactobacilles en se concentrant principalement sur les fromages et autres produits laitiers. Le Lait , 83 (4), 269-306

Coibion, L. (2008). Acquisition des qualités organoleptiques de la viande bovine : adaptation à la demande du consommateur. Thèse de doctorat : Docteur vétérinaire.Université Paul-Sabatier de Toulous.19 p.

D

Daabouz, A. (2010). Caracterisations physico_ chimique et microbiologique de la viande hachée du dromadaire issue des régions de Casablanca,rabat et sale.les technologies de laboratoire,5(18),1-7

Djelloul Daouadji, S. (2021). Isolement et identification des bactéries antagonistes vis-à-vis des souches pathogènes multirésistantesThèse de doctorat : Sciences Biologiques. Université Djilali liabes 46_47p

Dib, H., Hajj Semaan, E., Mrad, R., Ayoub, J., Choueiry, L., Moussa, H., et 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

Dognon, S. R. , Salifou, C. F. A., Dognon, J., Dahouda, M., Scippo, M. L., et Youssao, A. K. I.(2018). Production, importation et qualité des viandes consommées au Bénin. *Journal of Applied Biosciences*, 124, 12476-12487

Dortu, C., Thonart, P. (2009). Les bactériocines des bactéries lactiques : caractéristiques et intérêts pour la bioconservation des produits alimentaires. *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*, 13(1).143-154

Douhan, H. (2021). Les infections à entérobactéries ; épidémiologie et diagnostic bactériologique. Thèse de doctorat : pharmacie. Université Mohammed V-Rabat.39p

Drouault, S.et Corthier, G. (2001). Effets des bactéries lactiques ingérées avec des laits fermentés sur la santé. *Veterinaryresearch*, 32(2), 101-117.

Duchène, C., Pascal, G., Prigent, S. (2010). Les viandes aujourd'hui : principales caractéristiques nutritionnelles. *Cahiers De Nutrition Et De Diététique*, 45(1), 44–54.

G

Ghafir, Y. Daube, G. (2007). Le point sur les méthodes de surveillance de la contamination microbienne des denrées alimentaires d'origine animale. 151,79_100.

Golnari, M., Behbahani, M. et Mohabatkar, H. (2024). Étude comparative de survie de *Bacillus coagulans* et *Enterococcus faecium* microencapsulés dans des nanoparticules de chitosane-alginate dans des conditions gastro-intestinales simulées. *Journal LWT – Food Science and Technology* 197,1-9

H

Halder, D., Mandal, M., Chatterjee, SS, Pal, NK et Mandal, S. (2017). Isolats de *Lactobacillus* probiotiques indigènes présentant une activité semblable à celle d'un antibiotique contre les bactéries pathogènes humaines. *Biomédicaments* , 5 (2), 31.

Haidara, W. (2010). Pneumopathie nécrosante à *Staphylococcus aureus* producteur de leucocidine de Panton et Valentine d'origine communautaire à propos d'un cas clinique. Thèse de doctorat : Pharmacie. Université Mohammed V_Rabat 16_17p

Hernández-Aquino, S., Miranda-Romero, L. A., Fujikawa, H., Maldonado-Simán, E. D. J., et Alarcon-Zuniga, B. (2019). Antibacterial activity of lactic acid bacteria to improve shelf life of raw meat. *Biocontrol Science*, 24(4), 185-192

I

Irène Ratsimba, A. (2017). Evaluation et Reingenierie des Procédés de Fabrication T.9p

L

Léonard, L. (2013). Evaluation du potentiel bioprotecteur de bactéries lactiques confinées dans une matrice polymérique. Thèse de doctorat : Sciences de l'Alimentation. Université de Bourgogne. P8

M

Madi, N. et Boushaba, R. (2017). Identification de souches potentielles de bactéries lactiques bioconservatrices isolées du lait de vache algérien et démonstration de l'antagonisme contre *S. aureus* dans le fromage. *Recherche en science et technologie alimentaires*, 23 (5), 679-688.

Makhloufi, K. M. (2011). Caractérisation d'une bactériocine produite par une bactérie lactique *Leuconostoc pseudomesenteroides* isolée du boza . Thèse de doctorat : Microbiologie , Biochimie Université Pierre et Marie Curie-Paris VI).91-92p

Mami, A. et Kihal, M. (2019). Activité anti-bactérienne de *Lactobacillus plantarum* : Le bio-contrôle des bactéries d'altération alimentaire par les bactéries lactiques du genre lactobacillus. Éditions universitaires européennes. 1_77

Mami, A., RizkHamedi, A., Henni, J. E., Kerfouf, A., Kihal, M. (2010). Activité Anti-Bactérienne de *Lactobacillus plantarum* isolée du lait cru de chèvre d'Algérie vis-à-vis de *Staphylococcus aureus*. Les technologies de laboratoire, 5(21),26_33

Marvaud, J. C., Raffestin, S. et Popoff, M. R. (2002). Le botulisme : agent, mode d'action des neurotoxines botuliques, formes d'acquisition, traitement et prévention. Comptes Rendus. Biologies, 325(8), 863–878

Mikelsaar, M., Sepp, E., Štšepetova, J., Songisepp, E. et Mändar, R. (2016). Biodiversité des bactéries lactiques intestinales dans la population saine. Progrès en microbiologie, maladies infectieuses et santé publique . 4 , 1-64.

Mofredj, A, Bahloul, H, Chanut, C, (2007). *Lactococcus lactis* : un pathogène opportuniste. *Lactococcus lactis* : an opportunistic bacterium, (37), 200.

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

Monin, G. (1991). Facteurs biologiques des qualités de la viande bovine. Productions Animales, 4(2), 151-160.

O

Ouramdane ,R. Zouaouia,C, Labbaci,F.Z,Bennabou,A,Djebaili,K.(2022). Étude des caractéristiques et de l'activité antimicrobienne des bactéries isolées du lait de chèvre. Journal académique égyptien des sciences biologiques. C, Physiologie et Biologie Moléculaire, 14 (2), 481_489

P

Privat, K., Thonart, P. (2011). Action des cultures protectrices : cas des germes lactiques sur la flore alimentaire indésirable. *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*, 15(2),339_348

Pot, B.et Tsakalidou, E. (2009). Taxonomy and metabolism of *Lactobacillus*. *Lactobacillus molecular biology: From genomics to probiotics*, 1, 1-56

R

Rahman, M. M., Hashem, M. A., Azad, M. A. K., Choudhury, M. S. H., et Bhuiyan, M. K. J. (2023). Techniques of meat preservation-A review. *Meat Research*, 3(3),1-12

Rahmeh, R., (2019).Distribution et activité antimicrobienne des bactéries lactiques du lait cru de chamelle. *Nouveaux microbes et nouvelles infections*, 30, 100560.

Rossi, F., Amadoro, C. et Colavita, G. (2019). Membres du complexe du genre *Lactobacillus* (LGC) en tant qu'agents pathogènes opportunistes : une revue. *Microorganismes* , 7 (5), 126

Rudy, M., Kucharyk, S., Duma-Kocan, P., Stanisławczyk, R. et Gil, M. (2020). Méthodes non conventionnelles de conservation des produits carnés et leur impact sur la santé et l'environnement. *Durabilité* , 12 (15), 5948.

Růžičková, M., Vítězová, M. et Kushkevych, I. (2020). La caractérisation du genre *Enterococcus* : mécanismes de résistance et maladies inflammatoires de l'intestin. *Médecine ouverte* , 15 (1), 211-224

S

Sadi, F., Bouras, AD, Ghomari, FN, Hallouz, F. et Noui, A. (2017). Caractérisation phénotypique, moléculaire et technologique des souches autochtones de lactobacilles isolées du lait de vache et de chèvre des populations algériennes. *Journal des sciences fondamentales et appliquées*, 9 (1), 339-353.

Saidi, Y. (2020). Biodiversité de la microflore lactique du lait cru de dromadaire et évaluation de ses caractères technologiques. Thèse de doctorat : Microbiologie appliquée. Université d'Oran 1 Ahmed Ben Bella. 23p

Salifou, C. F. A., I, Youssao, A. K. I., Ahounou, G. S., Tougan, P. U., Farougou, S., Mensah, G. A., et Clinquart, A. (2013). Critères d'appréciation et facteurs de variation des caractéristiques de la carcasse et de qualité de la viande bovine. In Annales de médecine vétérinaire. 157(1), 27-42.

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

Salmi-Boukhari, B. (2011). Intégration de données pour la qualité de la viande chez le porc : Méta-analyse et analyse multidimensionnelle. Thèse de doctorat : Sciences du vivant. L'Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement (Agro Paris Tech).35, 36,40p

Selman, HM, Mahdi, AA, El Rofaei, NA et Mutwali, EM (2021). Activité antibactérienne des bactéries lactiques productrices de bactériocines isolées de certains produits carnés transformés contre des souches bactériennes indicatrices sélectionnées. Journal mondial de recherche et de revues avancées, 12 (2), 640-645.

Sheng, y. Yang, X., Zhang, B., et Huang, K .(2016). Cadmium tolerant characteristic of a newly isolated *Lactococcus Lactis Subsp.Lactis*. journal of Environmental Toxicology and Pharmacology, 48,183-190

Soltani, N., Abbasi, S., Baghaeifar, S., Taheri, E., Jadid, MFS, Emami, P. et Aslanshirzadeh, F. (2022). Activité antibactérienne et antibiofilm du sécrétome des souches de *Lactobacillus* et extraction contre *Escherichia coli* isolée d'une infection des voies urinaires. Rapports sur la biotechnologie , 36 ,2-5

Soomro, AH, Masud, T., Sammi, S. et Rathore, HA (2007). Comparaison de différentes méthodes de détection de l'activité antimicrobienne de *Lactobacillus spp.* Journal pakistanais de zoologie , 39 (4), 265_286,

T

Tabak.S et Bensoltane. A. (2018). « L'activité antagoniste des bactéries lactiques (*Streptococcus thermophilus*, *Bifidobacterium bifidum* et *Lactobacillus bulgaricus*) vis-à-vis de la souche *Helicobacter pylori* responsable des maladies gastroduodénales. » Nature & technologie 6,71-79

Tejero-Sariñena, S., Barlow, J., Costabile, A., Gibson, GR et Rowland, I. (2012). Évaluation in vitro de l'activité antimicrobienne d'une gamme de probiotiques contre des agents pathogènes : preuves des effets des acides organiques. Anaérobie , 18 (5), 530-538

Tian, C. (2024). Isolement et identification des bactéries lactiques dérivées du poulet : propriétés probiotiques in vitro et effets antagonistes contre *Salmonella pullorum*, *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*. Microorganismes, 12 (4), 795

Toka, M. D., Bouatenin, J. P. K. M., Kouamé, A. K., et Djè, M. K. (2018). Dynamique des Bactéries Lactiques des ferments traditionnels de manioc (*Manihotesculenta*, Crantz) destinés à la production de l'attiékéAdjoukrou, Ahizi et Ebrié, en Côte d'Ivoire. Journal of Applied Biosciences, 125, 12531-12541

Z

Zagorec, M., Chaillou, S., Champomier-Verges, M. C., Le Coq, A. M. (2006). Du génome de *Lactobacillus sakei* à la bioconservation des produits carnés. La revue française de la recherche en viandes et produits carnés, 25(3), 1-3

Ziani, k. (2016). Etude des caractéristiques des carcasses et de la qualité microbiologique et physicochimique des viandes ovines de la race<<Hama>>. Thèse de doctorat : Sciences biologiques. Université de Djillali liabes. 59 -61p

Annexes

Annexe1 : Les milieux cultures et les compositions

Bouillon nutritif

Peptone	15g
Yeast extract.....	5g
NaCl	5g
Eau distillé.....	1000ml

Gélose MRS

Extrait de levure	5g/L
Extrait de viande	10g/L
Peptone	10g/L
Acétate de sodium	5g/L
Citrate de sodium	2g/L
Glucose	20g/L
KH ₂ PO ₄	2g/L
MgSO ₄	0,2g/L
MnSO ₄	0,05g/L
Agar	15g/L
Tween80.....	1ml/L
Eau distillée	1000ml

Bouillon MRS (Man, Rogosa, Shrpe)

Peptone	10 g
Extrait de viande	10 g
Extrait de levure	5 g
Glucose.....	20 g
Tween 80	1 ml
Phosphate dipotassique.....	2 g
Acétate de sodium	5 g
Citrate triammonique.....	2 g
Sulfate de magnésium	200 g
Sulfate de manganèse	50g
Eau distillée	1000 ml

Chapman

Extrait de viande de bœuf.....	1,01 g/L
--------------------------------	----------

Peptone.....10,0 g/L
 Mannitol.....10,0 g/L
 Chlorure de sodium.....75,0 g/L
 Rouge de phénol.....0,025 g/L
 Agar.....15,0g/L

Gélose EMB

Peptone de gélatine10g
 Lactose5g
 Saccharose5g
 Phosphate bipotassique2g
 Eosine0,4g
 Bleu de méthylène..... 0.006g
 Eau distillée1000ml



Annexe 2 : Matériels utilisés

Milieux de culture



- Milieu MRS (bouillon + gélose).
- Chapman
- EMB
- Bouillon nutritif.

Produits chimiques

- Eau distillée.
- Huile d'immersion.
- L'eau d'oxygène

Produit de coloration de Gram

- Violet de gentiane.
- Lugol's iodine.
- Alcool 95°.
- Fuchsine.

Appareillage

- Etuve
- Bain marie

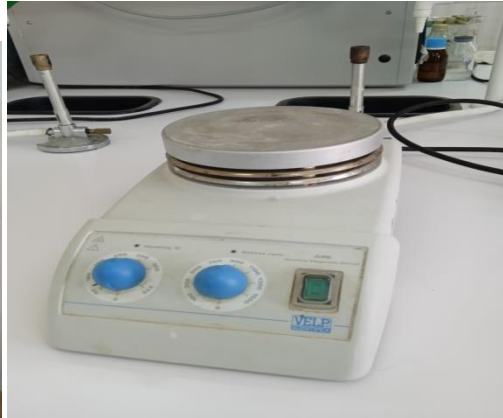
- Réfrigérateur
- Autoclave
- Vortex
- Balance
- Microscope optique
- Agitateur muni d'une plaque chauffante

Autres matériels

- Bec-benzène.
- Biotés de Pétri.
- Tubes à essai.
- Lames.
- Anse de platine.
- Pipettes Pasteur.
- Portoirs.
- Flacons stériles.
- Papier para film

Annexe 3 : Quelques photos des matériels utilisés





Annexe 4 : Coloration de Gram

Procédure :

- Une culture a été prélevée sur une boîte et étalée sur une lame de verre
- La lame a été séchée à l'air libre, fixée à la flamme.
- Après fixation, la lame a été colorée avec du Violet de Gentiane pendant 1 minute avant d'être rincée à l'eau distillée
- Elle a été recouverte de lugol pendant 1 minute et rincée à l'eau distillée.
- Une fois la lame rincée, elle a été décolorée à l'éthanol pendant environ 10 secondes puis rincée à l'eau distillée
- Elle a été colorée à la Fuchsine (safranine) pendant 1 minute, rincée à nouveau à l'eau distillée et séchée.
- Les lames ont été observées au microscope (objectif 100/ grossissement $\times 1000$).

Résumé

La viande et les produits carnés sont de riches sources de protéines, de minéraux, de vitamines et de graisses, ce qui les rend très nutritifs. Les bactéries lactiques, telles que les bactéries lactiques, sont abondantes dans la viande et sont utilisées depuis l'Antiquité pour conserver les aliments. Ces bactéries Gram-positives se présentent sous forme de nodules ou d'organites. Il a une activité antibactérienne contre les bactéries pathogènes telles qu'*Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*. Notre étude vise à isoler 45 souches des bactéries lactiques dans viandes rouges et blanches et de leurs dérivés. Les souches pathogènes ont été analysées et il a été constaté qu'elles contiennent toutes de l'acide lactique, qui possède des propriétés inhibitrices contre les souches pathogènes.

Mots clés : viande, produits carnés, bactéries lactiques, bactéries pathogènes, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, activité antibactérienne

Summary

Meat and meat products are rich sources of protein, minerals, vitamins and fats, making them very nutritious. Lactic acid bacteria, such as lactic acid bacteria, are abundant in meat and have been used since ancient times to preserve food. These Gram-positive bacteria appear in the form of nodules or organelles. It has antibacterial activity against pathogenic bacteria such as *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. Our study aims to isolate 45 strains of lactic acid bacteria from red and white meats and their derivatives. The pathogenic strains were analyzed and it was found that they all contain lactic acid, which has inhibitory properties against pathogenic strains.

Key words: Meat, meat products, lactic acid bacteria, pathogenic bacteria, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, antibacterial activity.

المخلص

تعتبر اللحوم ومنتجاتها مصادر غنية بالبروتين والمعادن والفيتامينات والدهون، مما يجعلها مغذية للغاية. وتتواجد بكتيريا حمض اللاكتيك، مثل بكتيريا حمض اللاكتيك، بكثرة في اللحوم، وقد استخدمت منذ القدم لحفظ المواد الغذائية. تظهر هذه البكتيريا إيجابية الجرام على شكل عقيدات أو عضيات. له نشاط مضاد للجراثيم ضد البكتيريا المسببة للأمراض مثل الإشريكية القولونية والمكورات العنقودية الذهبية. تهدف دراستنا إلى عزل 45 سلالة من بكتيريا حمض اللاكتيك من اللحوم الحمراء والبيضاء ومشتقاتهما. وتم تحليل السلالات المسببة للأمراض وتبين أنها تحتوي جميعها على حامض اللاكتيك الذي له خصائص مثبتة ضد السلالات المسببة للأمراض

الكلمات الرئيسية

اللحوم , منتجات اللحوم بكتيريا حمض اللاكتيك, البكتيريا المسببة للأمراض المكورات العنقودية الذهبية الاشرائية القولونية ,النشاط المضاد للبكتيريا