

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 DES SCIENCES BIOLOGIQUES



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



# Mémoire

EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME MASTER

Spécialité : Microbiologie appliquée

## *Thème*

*Isolement et criblage des bactéries lactiques à partir des  
produits alimentaires divers*

Présenté par :

*MEKKAOUI Ilhem*

*AROUS Amani*

*Encadreur : BEN BARA*

*Président : Mm BOUTELDJA*

*Examineur : Mr REMINI*

*Année Universitaire : 2023/2024*

## ***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 pour ses encouragements, ses conseils, sa disponibilité et surtout pour sa patience durant la correction de ce mémoire*

*Nous remercions également les membres de jury d'avoir accepté d'être présents à cette soutenance*

*Un remerciement s'adresse à Dr REMININ qui a accepté d'examiner et d'évaluer ce travail*

*Et Dr BOUTELDJA d'avoir accepté de présider cette soutenance et de donner plus remarques pour avoir un mémoire de bonne qualité*

## *Dédicace*

*À mes chers parents, en témoignage de ma gratitude pour leur patience, leurs sacrifices et leur soutien tout au long de mes études. Une vie entière ne suffirait pas pour exprimer toute ma profonde gratitude envers vous. Que Dieu vous bénisse et vous protège.*

*Merci infiniment, Papa et Maman, je vous aime énormément.*

*A mon merveilleux grand père Amar*

*Votre sagesse, votre gentillesse et votre amour inconditionnel ont été une source d'inspiration tout au long de ma vie. Même si vous nous avez quittés, votre influence et vos enseignements continuent de guider chacun de mes pas. Ce travail est dédié à votre mémoire, en hommage à tout ce que vous avez fait pour moi.*

*Que votre âme repose en paix. Vous me manquez profondément.*

*A mes chères sœurs : Roaia, Radia, Wissal et Sara*

*Votre soutien, vos encouragements et votre amour inconditionnel ont été des piliers tout au long de mon parcours.*

*A mes oncles et toutes ma famille, je vous aime beaucoup*

*A mes très chères amies : Chaima et Ilhem.*

*A tous mes collègues et mes camarades.*

*A tous ceux que je porte dans mon cœur.*

*Amani*

## *Dédicace*

*Je dédie ce modeste travail à :*

*Ma chère mère et pour À l'âme pure de mon père.*

*Pour tout leur soutien et leurs amours et encouragements et leur prière tout ou long de mes études*

*A mes chères sœurs : Karima, Fatiha, Samira, Imane, Asma et Amina pour leur encouragements et leur aide dans mes moments difficiles ...*

*Pour mes chères amies : Mahdia, Amani, Chaïma, et Moussa...*

*Et mon cher binôme et meilleur ami Qui m'a bien aidé tout ce temps de réalisation de ce travail*

*Ilhem*

.

*Liste des abréviations*

*Liste des figures*

*Liste des tableaux*

**Introduction.....01**

**Chapitre I: Rôles et intérêts des bactéries lactiques dans l'industrie alimentaire**

1. Généralités sur les bactéries lactiques .....	02
1.1. Définition .....	02
1.2. Historique.....	02
1.3. Taxonomie.....	03
1.4. Habitat.....	04
1.5. Caractères morphologiques et structuraux .....	4
2. Les produits alimentaires obtenus par fermentation lactique .....	5
2.1. Les produits laitiers .....	5
2.2. Les produits carnés.....	5
2.3. Les produits de la pêche.....	5
2.4. Les produits végétaux .....	5
3. Rôles des bactéries lactiques dans les produits alimentaires .....	6
3.1. Amélioration de la qualité organoleptique des aliments .....	6
3.2. Effets probiotiques et bénéfiques sur la santé .....	6

**Chapitre II: La conservation des aliments**

1. La conservation .....	8
2. Les techniques de conservation des aliments .....	8
2.1. La conservation par chaleur .....	8
2.2. La conservation par froid .....	8
2.3. La conservation par additifs alimentaires .....	8
2.4. La fermentation .....	8
3. La bioconservation.....	8
3.1. Définition .....	8
3.2. Techniques de bioconservation .....	9

3.3. Utilisation des bactériocines produits par les bactéries lactiques dans la bioconservation des aliments .....	10
3.4. Exemples de produits alimentaires conservés par bioconservation .....	10

### **Chapitre III: Matériel et Méthodes**

1. Matériel.....	15
2.Méthode.....	15
2.1. Echantillonnage.....	15
2.2. Caractéristiques des échantillons .....	16
2.3. Isolement des bactéries lactiques .....	17
2.3.1. Préparation des produits alimentaires .....	17
2.3.3. Isolement des bactéries lactiques .....	17
2.3.4. La purification des souches.....	17
2.4. Identification des isolats.....	17
2.4.1. Examen macroscopique.....	18
2.4.2. Examen microscopique.....	18
2.4.3. Étude biochimique .....	18
2.5. Étude de l'activité antibactérienne des souches lactiques .....	19

### **Chapitre IV: Résultats et discussion**

1. Résultats d'isolement et d'identification des souches lactiques .....	22
1.1. Résultats d'isolement.....	
1.2. Résultats d'identification .....	22
1.2.1 Étude macroscopique .....	22
1.2.2 Étude microscopique .....	23
1.2.3. Etude biochimique .....	23
2. Résultats de l'activité antibactérienne.....	25
3. Discussion .....	28

### **Conclusion.....43**

Références bibliographiques

Annexes

Résumé

## *Liste des abréviations*

**BMRS** : bouillon MRS

**Cor**: cornichon

***E. coli***: *Escherichia coli*

**EMB**: Eosin Methylene Blue.

**GMRS**: gélose MRS

**LB** : Bactéries lactiques

**MRS** : MAN, Regosa et Sharp

**ONI** : olive noire industriel

**ONT** : olive noire traditionnel.

**OVI** : olive vertes industriel

**OVT** : olive vertes traditionnel

**pH** : potentiel hydrogène.

**Staph** : *Staphylococcus aureus*.

## *Liste des figures*

<b>Figure 1</b> : Ilya Ilitch Metchnikov immunologiste franco-russe, biologiste, lauréat du Prix Nobel (1845 - 1916).....	3
<b>Figure 2</b> : Arbre phylogénétique des principaux genres de bactéries lactiques .....	4
<b>Figure 3</b> : L'aspect macroscopique des colonies des bactéries lactiques sur gélose MRS .....	22
<b>Figure 4</b> : L'aspect microscopique des souches lactiques après coloration de Gram .....	23
<b>Figure 5</b> : Résultats de test catalase .....	23
<b>Figure 6</b> : Résultats de test de spot contre <i>E. coli</i> .....	26
<b>Figure 7</b> : Résultat de test de spot contre <i>Staphylococcus aureus</i> .....	26
<b>Figure 8</b> : Diamètres de zones d'inhibition des souches lactiques contre <i>E. coli</i> .....	27
<b>Figure 9</b> : Diamètres de zones d'inhibition des souches lactiques contre <i>S.aureu</i> .....	28



## *Liste des tableaux*

<b>Tableau I</b> : Matériels et produits utilisés .....	15
<b>Tableau II</b> : Tableau représentant les dates et lieux de prélèvement des aliments .....	16
<b>Tableau III</b> : Les souches indicatrices du test d'antagonisme .....	32
<b>Tableau IV</b> : Les caractères morphologiques et biochimiques des souches lactiques .....	24



# *Introduction*

# Introduction

Les aliments fournissent un environnement propice à la cohabitation de plusieurs types de bactéries. Certaines de ces microorganismes entraînent simplement des altérations des produits alimentaires, tandis que d'autres, comme *Listeria*, peuvent causer des maladies chez les consommateurs. Par conséquent, il est crucial de les éliminer. Bien que les antibiotiques aient été largement utilisés depuis des décennies pour lutter contre ces microorganismes néfastes, leur utilisation présente le risque majeur de favoriser l'émergence de la multirésistance chez ces derniers **(Benmouna, 2012)**.

La présence des bactéries lactiques dans différents écosystèmes joue un rôle essentiel dans la production d'aliments fermentés, en garantissant le bon déroulement des processus de fermentation ainsi que leurs qualités organoleptiques. De plus, elles contribuent à la conservation naturelle des aliments, en réduisant ou éliminant la nécessité d'ajouter des conservateurs chimiques, en les remplaçant par des substances naturelles **(O'Sulvan, 2003)**.

La bioconservation des aliments est attribuable aux propriétés antagonistes des bactéries lactiques, qui synthétisent des substances inhibitrices telles que les acides organiques (acide lactique et acide acétique), le peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) et les bactériocines **(Deegan et al., 2006)**.

Ces dernières années, l'intérêt de l'utilisation des bactériocines et des bactéries lactiques productrices de substances inhibitrices à des fins de bioconservation alimentaire a suscité un grand nombre de recherches **(Schillinger et Lucke, 1989; Budde et al., 2003; Jacobsen et al., 2003; Vermeiren et al., 2004; Guessas, 2007)**. La technique de bioconservation se présente comme une alternative à l'usage de conservateurs chimiques et de traitements thermiques. Elle favorise la préservation naturelle des aliments tout en maintenant intactes leurs qualités sensorielles et nutritionnelles, souvent altérées par l'action des produits chimiques ou de la chaleur, ce qui suggère que les bactériocines pourraient être une solution de remplacement adéquate aux conservateurs chimiques **(Gálvez et al., 2007; Settanni et Corsetti, 2008 ; Dortu et Thonart, 2009)**.

## 1. Généralités sur les bactéries lactiques

### 1.1. Définition

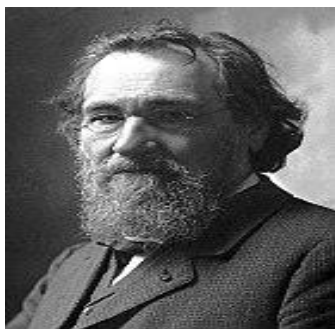
Le groupe des bactéries lactiques, initialement caractérisé par Orla Jensen en 1919, englobe une diversité de microorganismes qui produisent principalement de l'acide lactique lors de leur métabolisme. Elles sont présentes dans une variété de produits alimentaires tels que les produits laitiers, les viandes, les végétaux et les céréales, et font partie intégrante de la flore intestinale et vaginale tant chez les humains que chez les animaux. Ces bactéries jouent un rôle crucial dans de nombreuses fermentations spontanées de produits alimentaires (**Pfeiler et Klaenhammer, 2007**).

### 1.2. Historique

Les bactéries lactiques sont parmi les micro-organismes les plus anciens, leurs ancêtres remontant jusqu'à trois milliards d'années, bien avant l'apparition des Cyanobactéries. Depuis plus de 4000 ans, elles sont utilisées dans la fermentation des aliments, bien que leur utilisation se soit développée sans une compréhension scientifique approfondie, dans le but de produire des aliments offrant une meilleure conservation et une qualité supérieure (**Boudersa et al., 2017**).

Ce n'est qu'en 1857, grâce aux travaux de Pasteur sur la fermentation, qu'un lien a été établi entre la fermentation lactique et les bactéries. La première culture bactérienne pure a été obtenue et décrite par Joseph Lister en 1873, et il s'agissait d'une culture de *Lactococcus lactis*. En 1904, Metchnikoff isola le "bacille bulgare" (*Lactobacillus delbrueckii sp. bulgaricus*) présent dans le yaourt (**Mechai, 2009**).

Au début du XX<sup>ème</sup> siècle, Elie Metchnikoff a observé que la longévité et la bonne santé des paysans bulgares étaient associées à leur consommation de produits laitiers fermentés. Il a émis l'hypothèse que certains micro-organismes pourraient avoir des effets bénéfiques sur la santé humaine (**Daoudi et al., 2018**).



**Figure 1 :** Ilya Ilitch Metchnikov immunologiste franco-russe, biologiste, lauréat du Prix Nobel (1845 - 1916)

Ces dernières années, les bactéries lactiques occupent la deuxième place en termes de marché de production de biomasse, juste après les levures. Leur utilisation est principalement observée dans l'industrie alimentaire, où elles interviennent dans la production et la fermentation des aliments, ainsi que dans l'industrie chimique pour la synthèse d'acide lactique et de biopolymères. Au cours des dernières années, elles ont également gagné en importance dans les domaines de la santé humaine et animale (**Brahimi, 2015**).

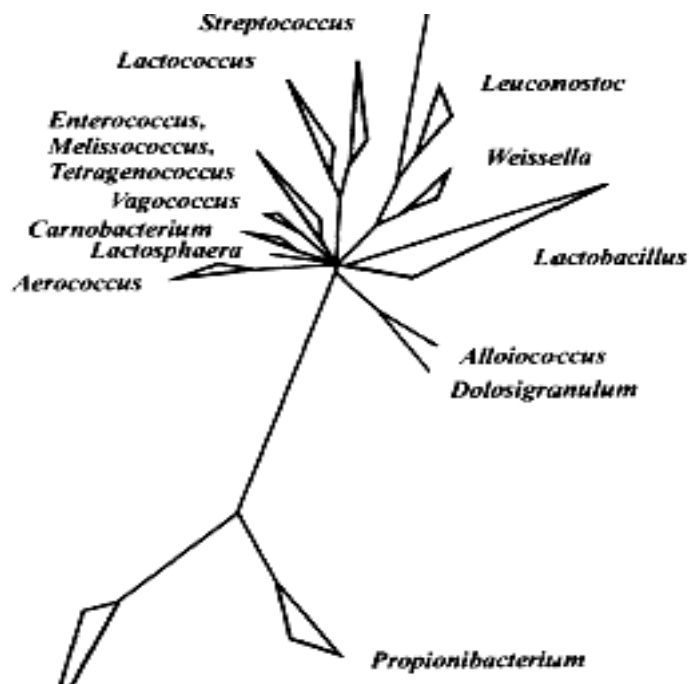
### 1.3. Taxonomie

Depuis la première description du *Bacterium lactis* (maintenant connu sous le nom de *Lactococcus lactis*), la taxonomie des bactéries lactiques est en constante évolution. Au cours de la dernière décennie, le nombre de nouvelles espèces a considérablement augmenté. Les ajustements taxonomiques ont abouti à la fusion de plusieurs espèces en une seule, ou à l'identification d'une espèce comme un nouveau genre (**Pot, 2008**).

La classification des bactéries lactiques peut être effectuée selon des critères phylogénétiques en utilisant des méthodes moléculaires. Cependant, pour l'identification préliminaire des microorganismes, la caractérisation phénotypique/biochimique classique reste pratique. Des caractéristiques phénotypiques telles que la capacité à fermenter les glucides, à tolérer différentes concentrations de bile, à produire des polysaccharides extracellulaires, à nécessiter certains facteurs de croissance, à produire de l'acétoïne et à synthétiser certaines enzymes sont utilisées pour identifier les espèces au sein des genres (**Vandamme, 1996 ; Stiles et Holzopfel, 1997 ; Ho et al., 2007**).

La morphologie est largement reconnue comme la caractéristique fondamentale pour décrire et classifier les genres des bactéries lactiques. En conséquence, ces bactéries sont souvent séparées de manière arbitraire en deux groupes principaux : les bacilles, comprenant des genres tels que

*Lactobacillus* et *Carnobacterium*, et les coques, englobant tous les autres genres (Collins et al., 1993 ; Ho et al., 2007). Ce groupe diversifié de bactéries lactiques comprend plusieurs genres, notamment *Aerococcus*, *Atopobium*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus* et *Weissella* (Stiles et Holzapfel, 1997 ; Pot, 2008).



**Figure 2** : Arbre phylogénétique des principaux genres de bactéries lactiques (Stiles et Holzapfel, 1997).

#### 1.4. Habitat des bactéries lactique

Les bactéries lactiques se retrouvent à l'état libre dans divers environnements ou en symbiose avec des hôtes tels que les humains ou les animaux, habitant des écosystèmes bactériens comme le tractus gastro-intestinal ou génital des mammifères (Klein et al., 1998). Leur présence ubiquiste s'étend à différentes niches écologiques, notamment le lait et les produits laitiers, les végétaux, la viande, le poisson, ainsi que les muqueuses des humains et des animaux (Douault et Corthier, 2000).

#### 1.5. Caractères morphologiques et structuraux

La morphologie des cellules microbiennes est souvent un trait distinctif de l'espèce et du genre bactérien, se présentant sous forme de coques ou de bâtonnets (Prevost, 2009). La mobilité est une caractéristique rare chez les bactéries lactiques, qui sont généralement immobiles, sauf dans certains cas où elles possèdent des flagelles péritriches (Renouf, 2006).

## 1.6. Caractères physiologiques

Elles englobent divers aspects tels que la quantité et le type d'acide lactique produit, les plages de température de croissance minimale, optimale et maximale, la tolérance à l'oxygène et au chlorure de sodium, la production de gaz et d'arômes, la capacité de produire de l'ammoniac à partir de l'arginine, la capacité d'hydrolyser l'esculine ou de résister aux sels biliaires, ainsi que différentes valeurs de pH (Luquet et De Roissard, 1994).

## 2. Les produits alimentaires obtenus par fermentation lactique

### 2.1. Les produits laitiers

Les bactéries lactiques sont utilisées dans la fabrication de plusieurs types de produits laitiers fermentés tels que le yaourt, fromages et laits fermentés.

La coagulation de laits se fait par des enzymes coagulantes et des bactéries lactiques (*Lactococcus*, *Streptococcus* et *Lactobacillus*) qui ont comme rôle essentiel l'abaissement de pH de lait par production d'acide lactique. Ces bactéries interviennent aussi dans la texture par production des exopolysaccharides et dans la saveur par production des substances aromatiques (Desmazeaud, 1996).

### 2.2. Les produits carnés

Les saucisses fermentées semi séchées sont fermentées rapidement à des températures entre 21°C à 46°C et à un pH inférieur à 5.3. Par contre les saucissons secs subissent une fermentation lente à des températures basses de 11 à 23°C (phase d'étuvage) avant d'être séchée plusieurs semaines dans des chambres froides (Desmazeaud, 1996).

### 2.3. Les produits de la pêche

Ces produits sont obtenus par des pratiques ancestrales empiriques le plus souvent en Asie, dans ce cas les bactéries lactiques n'interviennent pas seules mais associées à d'autres fermentations, voir à des réactions chimiques. Dans les pays scandinaves, le hareng (un type de poisson) est mélangé avec 15 à 17 % de sel, de sucres et des épices et on obtient les gaffelbitar ou titbits où *Pediococcus shalophilus* est la plus dominante (Desmazeaud, 1996).

### 2.4. Les produits végétaux

La fermentation lactique se fait pour la conservation des végétaux, sous l'action des bactéries lactiques qui produisent de l'acide lactique et ainsi inhibent les fermentations indésirables. Cette opération est fusionnée avec un salage ou saumurage dans des conditions anaérobies. En Europe, le chou est fermenté en choucroute, le pickle aux États-Unis, le kimchi en Corée, le miso au Japon et le gari en Afrique.



La fermentation lactique de certaines légumes (choux, les betteraves, les carottes, les olives, les tomates et les haricots verts ...) peut être effectuée par des moyens simples sans bénéficier d'une structure industrielle (**Desmazeaud, 1996**).

### **3. Rôles des bactéries lactiques dans les produits alimentaires**

#### **3.1. Amélioration de la qualité organoleptique des aliments**

##### **➤ Formation de l'arôme et de saveur**

Plusieurs composés aromatiques volatils peuvent se trouver dans les aliments, les boissons amylacées comme l'acétoïne et ses dérivés ainsi de 1-propanol, acétate d'isoamyle, acétate d'éthyle, 3-méthyl-1-butanol, acétoïne (**Halm et al., 1993**)

Les composés volatils identifiés dans les pâtes de maïs proviennent de l'action des bactéries lactiques et donnent à ces aliments quelques caractéristiques organoleptiques.

La transformation des sucres en acide organique par la fermentation lactique a été identifiée comme étant les acides lactiques, acétique, propionique et butyrique. La concentration importante de ces acides, dans l'aliment, vont élaborer le goût acide et piquant. Le goût piquant dans la bière peut être dû à l'acide lactique produit par les bactéries lactiques présent au cours de la fermentation (**Desmazeaud, 1996**).

#### **3.2. Effets probiotiques et bénéfiques sur la santé**

##### **➤ Les effets directs de bactéries lactiques sur la santé**

Plusieurs études sont publiées sur l'effet potentiel de bactéries lactiques sur la santé humaine et leurs effets bénéfiques, comme *Lb acidophilus*, *Lb rhamnosus*, *Lb faecium*. Ces effets sont divers tels que l'amélioration de la digestion du lactose et le traitement des troubles diarrhéiques, la diminution du cholestérol, et la réduction de la formation de tumeurs. Les bactéries lactiques qui sont caractérisées par ces critères sont appelées probiotiques c'est-à-dire qu'exercent des effets bénéfiques sur la santé après leur ingestion (**Sophie et al., 2001**).

# *Chapitre II*

*La conservation des aliments*

## **1. La conservation**

Ce sont les méthodes à suivre pour prolonger la durée de vie des aliments que ce soit par chaleur, froid ou par l'ajout des agents chimiques ou biologique (micro-organismes) (**Adrian, 1994**).

### **2. Les techniques de conservation des aliments**

D'après le degré de risque, on distingue plusieurs catégories d'aliments comme les aliments emballés, les aliments périssables comme les fruits et les légumes, et des aliments potentiellement dangereux comme les produits laitiers, les œufs et les produits carnés ... ainsi les produits à risque élevé qui sont les aliments retirés de leur emballage et utilisés en partie.

Le principe des techniques de conservation utilisées consiste à transférer une masse ou transférer de l'énergie pour augmenter la durée de préservation et de conservation des aliments.

#### **2.1. La conservation par chaleur**

C'est la méthode de conservation la plus utilisée et qui permet une longue durée de conservation. Elle consiste à inhiber la totalité des micro-organismes ou leurs enzymes ou quelques micro-organismes qui sont pathogènes (**Dabija, 2009**).

#### **2.2. La conservation par froid**

Cette technique consiste à ralentir l'activité cellulaire et enzymatique, elle augmente la durée de préservation de l'aliment frais et les végétaux et limite l'altération de ce dernier (**Dabija, 2009**).

#### **2.3. La conservation par additifs alimentaires**

C'est une méthode de conservation chimique qui consiste à utiliser des additifs chimiques pour augmenter la durée de vie de cet aliment (**Dabija, 2009**).

#### **2.4. La fermentation**

Elle permet de conserver les aliments en améliorant leur qualité nutritionnelle et organoleptiques (**Ciumac, 2006**).

## **3. La bioconservation**

### **3.1. Définition**

La bioconservation implique l'incorporation de bactéries spécifiquement choisies pour leur capacité à prévenir la croissance de micro-organismes indésirables dans un produit, tout en préservant ses caractéristiques organoleptiques et sanitaires (**Aymerich et al., 2019; Siedler et al., 2019**). Les bactéries lactiques sont des candidats idéaux pour cette méthode, car elles sont souvent capables de produire une variété de composés inhibiteurs tels que des acides

organiques, du peroxyde d'hydrogène, du diacétyl, des bactériocines et de la reutéline. De plus, elles bénéficient souvent du statut GRAS (Generally Recognized As Safe) et sont associées à l'amélioration de la santé par la consommation de produits laitiers (Ouidir et al., 2019). Depuis des siècles, de nombreux produits traditionnels tels que les fromages, les saucissons secs ou la choucroute ont tiré profit de cette méthode. Dans ce processus, le pouvoir conservateur des bactéries lactiques repose principalement sur leur compétitivité, qui leur permet de se développer et de prévaloir aux dépens des autres espèces (Cadavez et al., 2019).

### 3.2. Techniques de bioconservation

Il existe différentes voies permettant la bio-préservation : les bactéries lactiques sont couramment employées dans la préservation alimentaire à travers la fermentation, une technique traditionnelle utilisée dans la production de divers aliments tels que saucissons, fromages et produits végétaux (Garry, 2008). Une alternative pour la bioconservation des aliments réside dans l'exploitation des composés issus du métabolisme des microorganismes, tels que les acides organiques et les bactériocines. Ces substances permettent également de contrôler la croissance des bactéries indésirables (Garry, 2008).

L'usage des huiles essentielles dérivées de plantes a été étudié. Dans ce cadre, une recherche a employé des extraits naturels renfermant des huiles essentielles de végétaux pour préserver les sardines contre *S. aureus* (Garry, 2008).

L'utilisation des bactéries lactiques dans la bioconservation est bien établie. Ces bactéries sont largement reconnues comme étant sûres et jouent un rôle crucial dans la fermentation et la préservation des aliments, que ce soit en tant que microflore naturelle ou en tant que cultures ajoutées dans des conditions réglementées. En plus de leurs contributions technologiques, l'incorporation de ces souches bactériennes dans les produits améliore significativement leur qualité, en termes de saveur, de texture, et de sécurité alimentaire, en prolongeant leur durée de vie et en inhibant la croissance de la flore altérante compétitive et des bactéries pathogènes (O'sullivan et al., 2002).

Ces propriétés de conservation sont attribuées aux capacités inhibitrices des bactéries lactiques. Elles comprennent une compétition pour les nutriments disponibles, des modifications physico-chimiques du milieu, telles que l'acidification et la production de métabolites antimicrobiens, la synthèse de divers composés antimicrobiens tels que les acides organiques (notamment l'acide lactique), le peroxyde d'hydrogène, le dioxyde de carbone, le diacétyl, l'acétaldéhyde et les bactériocines (Ray et Daeschel, 1994 ; Ringo et Gatesoupe, 1998 ; O'sullivan et al., 2002).

### 3.3. Utilisation des bactériocines produits par les bactéries lactiques dans la bioconservation des aliments

Trois approches sont couramment utilisées pour l'incorporation des bactériocines dans la biopréservation des aliments (Deegan et al., 2006) : elles peuvent être intégrées en tant qu'auxiliaires technologiques, cela signifie qu'une souche de bactérie lactique produisant des bactériocines est ensemencée dans l'aliment, permettant ainsi la production *in situ* de la bactériocine. Elles peuvent également être directement ajoutées au produit sous forme purifiée ou semi-purifiée en tant qu'additif. Une troisième approche, bien que rarement utilisée, consiste à incorporer les bactériocines sous forme d'ingrédient concentré non purifié, issu de la fermentation d'une souche productrice de bactériocine (Deegan et al., 2006).

### 3.4. Exemples de produits alimentaires conservés par bioconservation

#### ➤ Produits laitiers

Dans le domaine des produits laitiers, il est généralement reconnu que les bactéries lactiques exercent une action inhibitrice contre les pathogènes potentiellement toxigènes tels que *S. aureus* ou *B. cereus* (Gontijo et al., 2020). Cette inhibition se manifeste par la production de divers composés inhibiteurs tels que les bactériocines ou le peroxyde d'hydrogène, ainsi que par une action indirecte due à la croissance des bactéries lactiques, à l'acidification du milieu et à la compétition nutritionnelle qui en résultent (Rama et al., 2020). Des études récentes ont également démontré que les bactéries lactiques peuvent inhiber l'expression de la virulence des pathogènes dans les produits laitiers, affectant notamment l'expression de plusieurs gènes de virulence, comme les gènes d'entérotoxines de *S. aureus*, en présence de *L. lactis* (Okechukwu et al., 2021).

Les cultures bioprotectrices trouvent également d'autres applications dans les produits laitiers, telles que l'inhibition de la production de gaz par *Clostridium tyrobutyricum*, ce qui prévient le défaut de soufflage tardif des fromages, ainsi que l'inactivation des bactéries lactiques adventives non starters (NSLAB) pendant l'affinage du fromage, évitant ainsi les variations de saveur et la formation de fentes (Ben-Said et al., 2019).

#### ➤ Produits carnés

Les produits carnés destinés à une consommation crue ou peu cuite, ainsi que les plats cuisinés, sont susceptibles de présenter des risques importants de contamination, pouvant avoir

des conséquences sur la santé des consommateurs. En effet, dans le cas des aliments crus ou peu cuits, la cuisson ne parvient pas à éliminer les bactéries pathogènes, tandis que pour les produits cuisinés, bien que stérilisés par la cuisson initiale, toute contamination subséquente peut être dangereuse en l'absence de compétition microbiologique (Nediani et al., 2017).

Des observations ont montré que la flore naturelle de la viande, en particulier *L. sakei*, pouvait contribuer à inhiber le développement de bactéries pathogènes telles qu'*Escherichia coli* O157:H7 dans la viande hachée (Wen et al., 2021). Des expériences menées par Laszkiewicz et al. (2021) avec des souches produisant des bactériocines anti-*Listeria* ont démontré leur capacité à limiter la croissance de *Listeria* sur des produits carnés cuits.

L'utilisation de *L. sakei* comme culture protectrice pour les produits carnés semble être une piste prometteuse. Cette bactérie semble mieux résister que d'autres bactéries lactiques aux conditions de stress de conservation de la viande. En effet, *L. sakei* pourrait produire des molécules antagonistes telles que l'acide lactique, le peroxyde d'hydrogène et l'hypothiocyanate, qui pourraient constituer des armes efficaces contre les agents pathogènes (Martin et al., 2021). En outre, *Lactobacillus sakei*, qui produit la sakacine P, démontre sa capacité à proliférer sur la charcuterie de poulet emballée sous vide, contribuant ainsi à inhiber la croissance de *Listeria monocytogenes* (Perrier et al., 2020).

### ➤ Produits végétaux (fruits et légumes)

La fermentation lactique des fruits et légumes constitue la base des méthodes traditionnelles de préservation des végétaux, pratiquées depuis des siècles. De nos jours, cette technique est privilégiée pour produire des aliments à la fois savoureux et durablement conservés (Ashalu et Rial, 2020). Les bactéries lactiques jouent un rôle crucial en convertissant les sucres et autres nutriments principalement en acide lactique. Initialement, la population microbienne des matières végétales fraîches est dominée par des bactéries aérobies et des levures, les bactéries lactiques étant minoritaires. Sous des conditions acides, lorsque la teneur en sucre est élevée et la concentration en oxygène est faible, les substrats végétaux subissent une fermentation lactique spontanée (Szutowska, 2020).

En plus de la production d'acide lactique, les bactéries lactiques ont la capacité de générer du peroxyde d'hydrogène par l'oxydation de la flavine réduite en NADH. De plus, certaines souches produisant des bactériocines, telles que la plantaricine, sont ajoutées, contribuant ainsi à la conservation des produits fermentés en inactivant les bactéries responsables de l'altération. Le dioxyde de carbone produit par des lactobacilles hétérofermentaires offre un effet conservateur supplémentaire. La microflore présente lors des fermentations est composée

d'espèces lactiques telles que *L. plantarum*, *L. paracasei*, *L. brevis*, ainsi que des genres de *Leuconostoc*, *Pediococcus* et *Weissella* (Barbosa et al., 2017).

*Lactobacillus plantarum* a démontré une capacité à inhiber la croissance de *Listeria monocytogenes* dans les pommes tranchées et *Escherichia coli* O157:H7 dans les ananas frais coupés, tandis que *Lactobacillus fermentum* s'est révélé efficace uniquement contre *L. monocytogenes* (Bintsis, 2018).

#### ➤ Produits céréaliers

La fermentation céréalière représente l'un des procédés biotechnologiques les plus anciens. Les bactéries lactiques utilisées dans la fabrication du pain contribuent à modifier sa texture et sa saveur (Peles et al., 2021).

Ces bactéries lactiques produisent des acides lactiques et acétiques, abaissant ainsi le pH de la pâte. Elles génèrent également des substances antimicrobiennes telles que les acides organiques, le CO<sub>2</sub>, le peroxyde d'hydrogène, le diacétyle, les acides gras, l'acide phényllactique et la reutérine (Garnier et al., 2019). L'acide caproïque, produit par *Lactobacillus sanfranciscensis* CB1, en association avec un mélange d'acides acétique, formique, propionique, butyrique et n-valérique, joue un rôle essentiel dans l'inhibition de la croissance de *Fusarium*, *Penicillium*, *Aspergillus* et *Monilia* dans le pain (Sadiq et al., 2019 ; Nazareth et al., 2020).

Les bactériocines purifiées peuvent être incorporées directement dans l'alimentation animale, principalement composée de céréales (telles que des graines de maïs), en tant qu'additif anti-pathogène pour protéger le bétail contre les dommages causés par les microorganismes nocifs. L'utilisation de ces peptides antimicrobiens pourrait améliorer la qualité de vie en réduisant les problèmes d'antibiorésistance résultant de l'utilisation abusive et non contrôlée d'antibiotiques (Vieco-Saiz et al., 2019).

#### ➤ Produits de la mer

Le rôle des bactéries lactiques dans la préservation des produits de la mer est multifactoriel et dépend de divers éléments tels que les espèces de poissons, les conditions de traitement et de stockage, ainsi que les souches bactériennes et leur interaction (Maillet et al., 2020 ; Stupar et al., 2021).

L'acidification résultant de la production d'acide lactique, principal métabolite final de la fermentation des glucides, représente l'un des effets secondaires les plus bénéfiques de leur croissance, entraînant l'inhibition des microorganismes, y compris les agents pathogènes humains les plus répandus (Baptista et al., 2020).

Une synergie entre *Lb. casei* et *Lb. plantarum* a été observée pour renforcer l'inhibition de *Listeria innocua* dans le saumon fumé à froid sous vide. Les bactéries lactiques telles que *Lactobacillus delbrueckii*, isolées du fromage ricotta, ont démontré leur capacité à inhiber *Vibrio parahaemolyticus* dans les huîtres (Aymerich et al., 2019 ; Jiang et al., 2019).



# Partie pratique



Notre travail pratique a été réalisé au niveau des laboratoires de microbiologie de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, de l'Université Akli Mouhaned Oulhadj-Bouira

Les objectifs assignés de ce travail s'articule autour des points suivants :

- L'isolement et l'identification des bactéries lactiques à partir divers produits alimentaires
- L'étude de l'activité antimicrobienne de ces bactéries lactiques vis-à-vis de certaines bactéries pathogènes.

**1. Matériel**

**Tableau I** : Matériels et produits utilisés

Appareillage	Petit matériel	Matériel biologique	Milieux de cultures Et réactifs
Autoclave	Boîtes de Petri	Olive noire traditionnel	MRS (bouillon et gélose)
Plaque chauffante	Pipettes Pasteur	Olive noire industriel	Bleu de méthylène
Bain Marie	Tubes à essai	Olive vert traditionnel	Violet de gentiane
Réfrigérateur	Micropipette	Olive vert industriel	Lugol
Balance	Bicher	Cornichon	Alcool
Etuve	Lames	Les souches test :	Fuchsine
Bec benzène	Lance de platine	- <i>Escherichia coli</i>	Gélose molle
Microscope optique	Ver de montre	- <i>Staphylococcus aureus</i>	Gélose nutritive
Hotte	Spatule		Eau distillée
Réfrigérateur	Pince		Huile à immersions
	Flacons		L' eau oxygénée
	Mortier		

**2. Méthode**

**2.1. Echantillonnage**

Dans le but d'isoler des bactéries lactiques, des échantillons de différents produits alimentaires ont été utilisé pour faire des prélèvements. Les différents échantillons étudiés sont mentionnés dans le tableau II.

Tableau II : Les produits alimentaires utilisé pour l'échantillonnage

Produit alimentaire	Date de prélèvement	Lieu de prélèvement
L'olive noires industriel	22 février	Ain bessam
L'olive vertes industriel	22 février	Ain bessam
Les cornichons	22 février	Ain bessam
L'olive noires traditionnel	25 février	Ain bessam
L'olive noires traditionnel	28 février	Béjaïa
L'olive noires traditionnel	28 février	Ain bessam

## 2.2. Caractéristiques des échantillons

- **Les olives noires industrielles**

Les olives industrielles ont souvent des caractéristiques spécifiques en termes de taille(moyen), de couleur(noire), de goût(salés). Elles sont généralement traitées pour une conservation à long terme par des méthodes de saumure ou de pasteurisation.

- **Les olives verts industrielles**

Les olives vert industrielles sont caractérisés par leur textures croquant et leur couleur vert et saveur varié selon la variété d'olives.

- **Les olives noires traditionnelles**

Les olives noires traditionnelles, après la récolte, sont traités notamment par salaison c'est ce qui lui donne la couleur foncée.

Les olives noires ont une saveur caractéristiques amère et nuances selon la méthode de préparation.

- **Les olives vertes traditionnelles**

En fonction de la maturité d'olives au moment de la récolte, les olives vertes obtiennent leurs couleurs, entre le jaune et le vert et leur saveur est fruitée avec une légère amertume. Les olives vertes peuvent être dénoyautées ou avec noyau, et peuvent être conservées dans l'huile d'olive ou une saumure.

- **Les cornichons**

Sont des petits concombres qui sont marinés dans du vinaigre, d'eau, de sels et des épices. Ils sont caractérisés par leur saveur aigre douce et leur couleur vert.

**2.3. Isolement des bactéries lactiques****2.3.1. Préparation des produits alimentaires**

Les échantillons des produits alimentaires utilisés pour faire les prélèvements sont désinfectés avec de l'alcool dans le but d'éliminer toute la flore contaminant de la surface. Par la suite, les noyaux des olives sont éliminés et la croûte est mise dans un mortier pour réaliser de broyage dans le but de faciliter l'étape d'enrichissement.

**2.3.2. Enrichissement**

Après l'étape de broyage, la pâte obtenue est mise dans un tube à essai qui contient 5 ml de bouillon MRS pour faire l'enrichissement des bactéries lactiques. Pour chaque échantillon de produit alimentaire, cinq prélèvements ont été réalisés dans cinq tubes à essai contenant du bouillon MRS. Les tubes sont incubés à 37°C pendant 24 heures.

**2.3.3. Isolement**

Après les 24h de l'enrichissement des échantillons, une goutte a été prélevée à partir de bouillon d'enrichissement à l'aide d'une pipette Pasteur et versée dans une boîte Petri contenant le gélose MRS préalablement coulé et séché. L'ensemencement est réalisé par la méthode de stries éloignées devant le bec bésin. L'incubation se fait pendant 24h à 48h dans l'étuve à 37°C.

**2.3.4. La purification des souches**

La purification consiste à faire des repiquages successifs des souches obtenues dans le bouillon et gélose MRS pour obtenir des souches pures.

Le repiquage se fait par prendre des colonies bien distinctes et les mettre dans des tubes à essai stérile qui contiennent du bouillon MRS (en prendre que les colonies homogènes et bien développées). Les tubes qui contiennent le bouillon MRS ensemencés par les colonies bactériennes des souches obtenues sont incubés à l'étuve pendant 24h à 37°C.

Après les 24h, un ensemencement est réalisé dans des boîtes de Petri contenant la gélose MRS par des stries éloignées à l'aide d'une pipette Pasteur. Les boîtes sont incubées à 37°C pendant 48 heures

**2.5. Identification des isolats**

L'identification des bactéries lactiques repose sur l'examen de leurs caractéristiques morphologiques, à la fois macroscopiques et microscopiques, ainsi qu'un test biochimique.

**2.5.1. Examen macroscopique**

L'examen macroscopique permet de caractériser les colonies développées sur des milieux gélosés tels que MRS, en évaluant divers critères : taille, forme, consistance, contours, viscosité et couleur des colonies (**Guiraud, 2003**).

**2.5.2. Examen microscopique**

Les colonies cultivées sur les milieux gélosés MRS sont soumises à une coloration de Gram, ce qui permet d'observer la forme des cellules (cocci et bacilles), leur disposition, ainsi que leur réaction à la coloration de Gram (**Guiraud, 2003**).

- **Coloration de Gram**

La coloration de Gram, réalisée sur des frottis, permet de différencier deux types de bactéries : les bactéries à Gram négatif (G-) et les bactéries à Gram positif (G+). Ces différences sont dues à la composition de leur paroi cellulaire, en particulier à l'épaisseur du peptidoglycane et à la présence d'une membrane externe (**Larpent, 1990**).

Les bactéries lactiques, étant Gram positives, retiennent le violet de gentiane.

Selon **Larpent (1990)**, ce test se déroule comme suit :

- Préparer une suspension à partir d'une culture jeune, puis prélever une aliquote avec une anse de platine. Appliquer cette aliquote en mouvement circulaire au centre de la lame, laisser sécher et fixer par la chaleur avec un bec Bunsen.
- Ensuite, ajouter quelques gouttes de violet de gentiane sur le frottis fixé et laisser agir pendant 1 minute, rincer, puis appliquer du lugol pendant 1 minute.
- Verser ensuite de l'alcool goutte à goutte, laisser agir pendant 7 secondes, puis rincer à l'eau distillée. Enfin, recolorer avec de la fuchsine pendant 30 secondes à 1 minute, rincer délicatement à l'eau distillée, sécher et procéder à l'observation microscopique.

**2.4.3. Étude biochimique****Test de la catalase**

Lors de la respiration aérobie, certaines bactéries produisent du peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), une substance très toxique. Cependant, certaines bactéries peuvent le dégrader grâce aux enzymes qu'elles synthétisent, notamment la catalase. Cette enzyme décompose le peroxyde d'hydrogène selon la réaction suivante :  $2\text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow 2\text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$ .

Selon **Marchal et al., (1991)** et **Ahirwar et al., (2017)**, ce test permet de distinguer les bactéries lactiques (catalase négatives) des autres bactéries (catalase positives). Une réaction positive est

indiquée par un dégagement immédiat de bulles de gaz (O<sub>2</sub>). Le test se déroule selon les étapes suivantes :

- Déposer une goutte de peroxyde d'hydrogène sur une lame.
- À l'aide d'une anse de platine, ajouter une colonie isolée de la souche à tester et dissocier.
- Observer l'apparition de bulles.

### **2.5. Étude de l'activité antibactérienne des souches lactiques**

Les isolats lactiques obtenus de divers produits alimentaires (olives noires traditionnelles, olives noire industrielles, olives vert traditionnelles, olives vert industrielles et cornichon) ont été testés pour leurs pouvoir antagoniste vis-à-vis des souches bactériennes pathogènes à savoir : une bactérie à Gram positif (*S. aureus*) et une bactérie à Gram négatif (*E. coli*).

Ces deux souches pathogènes sont purifiées et conservées dans un bouillon nutritif, à une température de +4°C et dans l'obscurité. Avant de les utiliser pour les tests d'inhibition, elles sont activées en les transférant dans un bouillon nutritif, puis incubées pendant 16 à 18 heures à 37°C.

#### **2.5.1. Préparation de la préculture**

##### **➤ Culture de 18 heures des isolats lactiques**

La préculture consiste àensemencer trois à quatre colonies pures d'une souche lactique sélectionnée dans un tube à essai stérile contenant 5 ml de bouillon MRS. Les tubes ensemencés sont ensuite incubés à 37°C pendant 18 heures dans l'étuve, sans agitation.

##### **➤ Culture de 18 heures des souches pathogènes**

Les souches pathogènes utilisées dans ce test d'antagonismes sont une bactérie à Gram positif (*S. aureus*) et une bactérie à Gram négatif (*E. coli*). La culture de 18 heures de ces souches est réalisée en repiquant 1 à 2 colonies dans 5 ml de bouillon nutritif, par la suite, incubé à 37°C pendant 18 heures.

##### **➤ Test de spot**

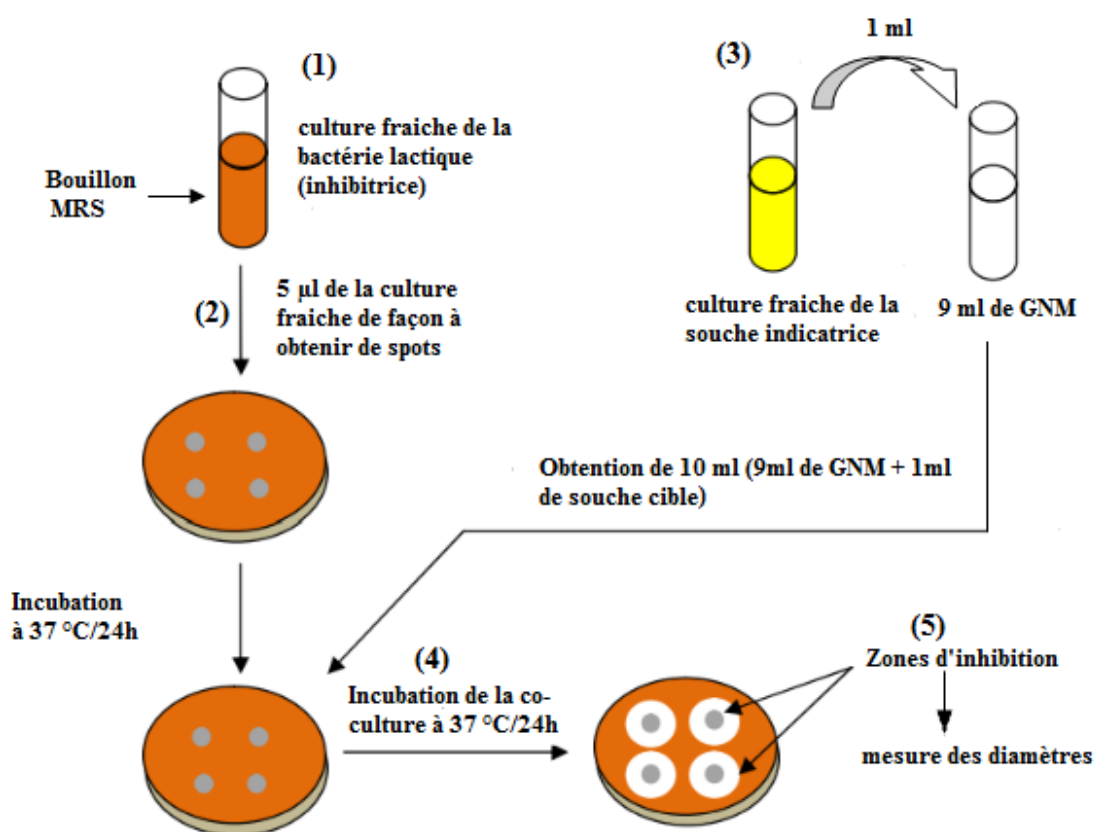
Aussi connue sous le nom de méthode de **Fleming et al. (1975)**, cette technique permet d'évaluer le pouvoir inhibiteur des bactéries lactiques on les ensemence en spot dans une gélose molle. Elle met en évidence les inhibitions causées par la production d'agents inhibiteurs ainsi

que par les effets du pH, du H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, de la compétition pour le substrat et de l'inhibition par contact cellulaire.

Après avoir rempli des boîtes de Pétri avec de la gélose MRS (solidifiée et séchée), 5 µl de la suspension bactérienne de la souche de bactérie lactique sont déposés en spots.

Les boîtes sont ensuite séchées près du bec Bunsen pendant 30 minutes, puis incubées à 37°C pendant 24 heures (Fernández et al., 2007). Après l'incubation, les spots sont recouverts de 9 ml de gélose molle en surfusion, ensemencée avec 1 ml d'une culture fraîche d'une suspension bactérienne des souches cibles, puis incubées à 37°C pendant 24 heures. À la fin de la période d'incubation, les diamètres des zones d'inhibition sont mesurés.

L'inhibition se manifeste par l'apparition de halos d'inhibition (≥2 mm) autour des souches productrices, indiquant ainsi leur effet antibactérien (Mami et al., 2008).



## *Résultats et discussion*





## 1. Isolement et d'identification des souches lactiques

### 1.1. Résultats d'isolement des bactéries lactiques

- En milieu liquide (bouillon MRS)

Dans le bouillon MRS, les repiquages réalisés montrent que la croissance des bactéries lactiques apparaît sous forme de trouble, et ses troubles sont concentrées au fond du tube.

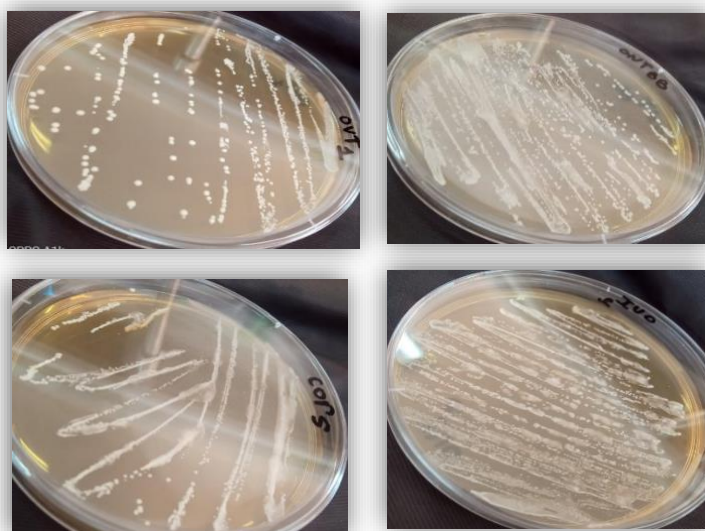
- Sur milieu solide

Après incubation des souches à 37°C pendant 48h, les colonies bactériennes qui sont obtenues sur gélose MRS sont des colonies pures blanches et de même taille environ 1-2mm de diamètre.

### 1.2. Résultats d'identification des bactéries lactiques

#### 1.2.1 Étude macroscopique

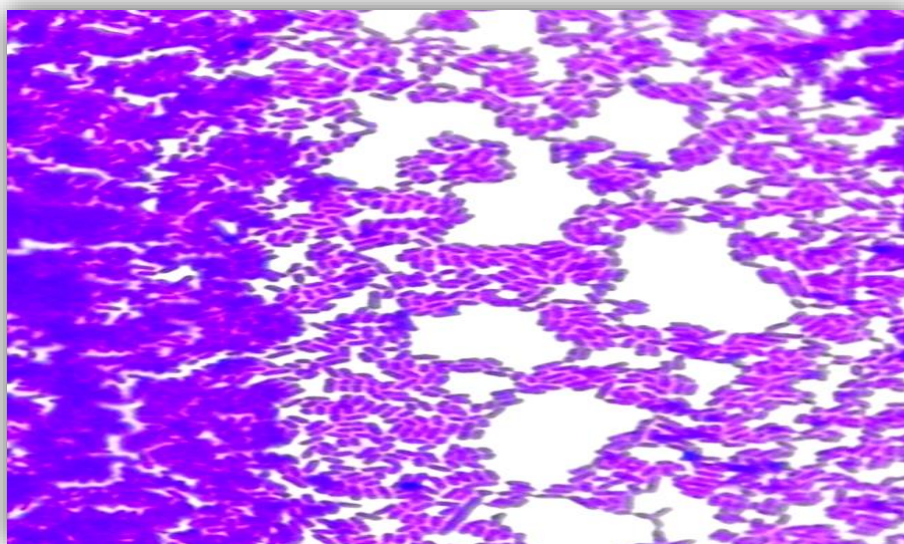
Dans le bouillon, les souches présentent un trouble homogène qui caractérise le groupe des bactéries lactiques. Les colonies des souches obtenues cultivées sur gélose MRS apparaissent sous forme de rondes de couleur blanchâtre à blanc crème et présentent un aspect lisse en surface et elles sont de petites tailles.



**Figure 3 :** L'aspect macroscopique des colonies des bactéries lactiques sur gélose MRS

### 1.2.2 Étude microscopique

Les observations microscopiques réalisées au grossissement de X100 avec l'utilisation de l'huile à immersion et après une coloration de Gram ont révélé que les colonies des souches cultivées sont constituées de cellules Gram positif, en forme de bacille.

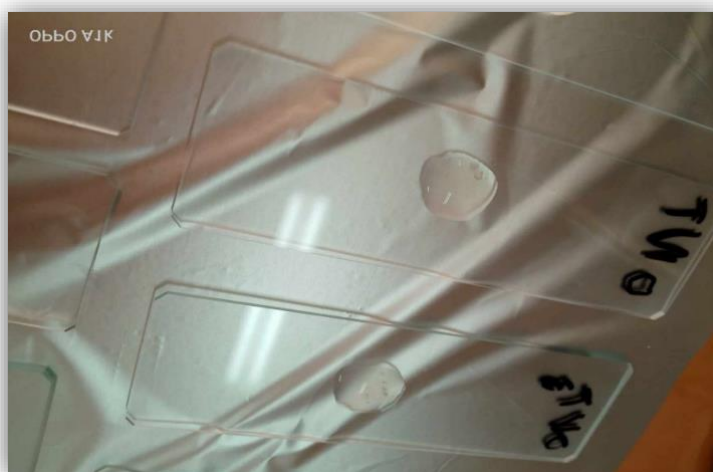


**Figure 4** : L'aspect microscopique des souches lactiques après coloration de Gram (G×100)

### 1.3. Etude biochimique

#### 1.3.1 Test de catalase

Aucune des souches isolées n'a montré d'effervescence lorsqu'une goutte de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> a été ajoutée, indiquant l'absence d'activité catalase chez ces bactéries.



**Figure 5** : Résultat de test catalase pour les souches lactiques isolées

Le tableau ci-dessous résume tous ces résultats.

**Tableau IV** : Les caractères morphologiques et biochimiques des souches lactiques

Souches lactique	Caractères macroscopiques			Caractères microscopique			Teste catalase
	Taille	Aspect	Couleur	Regroupement	Gram	Forme	
<b>ONT</b>	Petite	Ronde, bombée, lisses.	Blanchâtre	En chaînettes	+	Bacille	-
<b>ONT</b>	Petite	Ronde, bombée, lisses.	Blanchâtre	En chaînettes	+	Bacille	-
<b>ONT</b>	Petite	Ronde, bombée, lisses.	Blanchâtre	En chaînettes	+	Bacille	-
<b>ONT</b>	Petite	Ronde, bombée, lisses.	Blanchâtre	En chaînettes	+	Bacille	-
<b>ONT 1</b>	Petite	Ronde, bombée, lisses.	Blanchâtre	En chaînettes	+	Bacille	-
<b>ONT 3</b>	Petite	Ronde, bombée, lisses.	Blanchâtre	En chaînettes	+	Bacille	-
<b>ONT 4</b>	Petite	Ronde, bombée, lisses.	Blanchâtre	En chaînettes	+	Bacille	-
<b>ONT BB</b>	Petite	Ronde, bombée, lisses.	Blanchâtre	En chaînettes	+	Bacille	-
<b>ONT BB</b>	Petite	Ronde, bombée, lisses.	Blanchâtre	En chaînettes	+	Bacille	-
<b>OVT</b>	Petite	Ronde, bombée, lisses.	Blanchâtre	En chaînettes	+	Bacille	-
<b>OVT</b>	Petite	Ronde, bombée, lisse	Blanchâtre	En chaînettes	+	Bacille	-
<b>OVT 1</b>	Petite	Ronde, bombée, lisses.	Blanchâtre	En chaînettes	+	Bacille	-
<b>OVT 1</b>	Petite	Ronde, bombée, lisses.	Blanchâtre	En chaînettes	+	Bacille	-

<b>OVT 2</b>	Petite	Ronde, bombée, lisses.	Blanchâtre	En chaînettes	+	Bacille	-
<b>OVT 2</b>	Petite	Ronde, bombée, lisses.	Blanchâtre	En chaînettes	+	Bacille	-
<b>OVT 2</b>	Petite	Ronde, bombée, lisses.	Blanchâtre	En chaînettes	+	Bacille	-
<b>OVT 3</b>	Petite	Ronde, bombée, lisses.	Blanchâtre	En chaînettes	+	Bacille	-
<b>OVT 4</b>	Petite	Ronde, bombée, lisses.	Blanchâtre	En chaînettes	+	Bacille	-
<b>OVT 5</b>	Petite	Ronde, bombée, lisses.	Blanchâtre	En chaînettes	+	Bacille	-
<b>OVI</b>	Petite	Ronde, bombée, lisses.	Blanchâtre	En chaînettes	+	Bacille	-
<b>OVI 2</b>	Petite	Ronde, bombée, lisses.	Blanchâtre	En chaînettes	+	Bacille	-
<b>OVI 2</b>	Petite	Ronde, bombée, lisses.	Blanchâtre	En chaînettes	+	Bacille	-
<b>OVI 3</b>	Petite	Ronde, bombée, lisses.	Blanchâtre	En chaînettes	+	Bacille	-
<b>COR 5</b>	Petite	Ronde, bombée, lisses.	Blanchâtre	En chaînettes	+	Bacille	-

## 2. Résultats de l'activité antibactérienne

D'après les résultats obtenus par le test des spots, les 25 souches lactiques ont démontré une activité antibactérienne contre les deux souches indésirables, notamment *S. aureus* ATCC 6531 et *E. coli* ATCC8739. Les activités antibactériennes observées lors de ce test sont illustrées dans les figures 6 et 7.

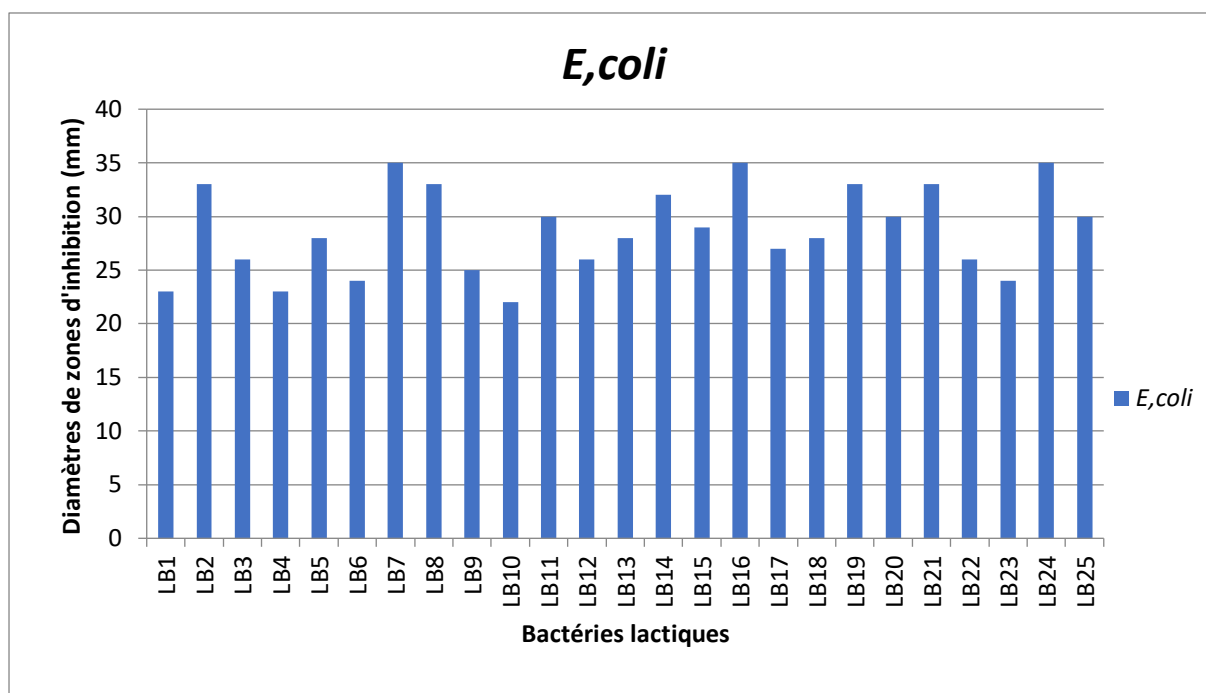


**Figure 6:** Résultat de test de spot contre *E. coli*



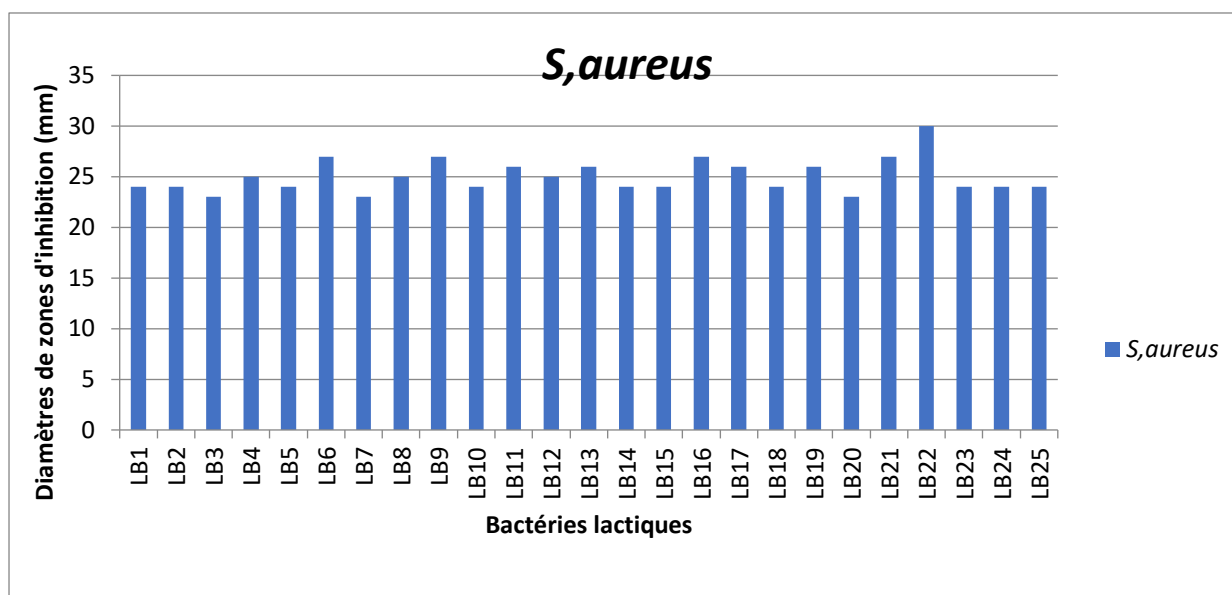
**Figure 7 :** Résultat de test de spot contre *Staphylococcus aureus*

Les résultats des diamètres de zones d'inhibition sont montrés dans les histogrammes suivants (figures 8 et 9).



**Figure 8** : Diamètres de zones d'inhibition des souches lactiques vis-à-vis d'*E. coli*

Les résultats de notre étude ont révélé une activité significative des souches de bactéries lactiques isolées contre *Escherichia coli*. Les zones d'inhibition mesurées varié de manière notable, avec des diamètres compris entre 23 mm et 35 mm. Les souches les plus prometteuses, telles que LB5, LB14, et LB24, ont montré des zones d'inhibition allant jusqu'à 35 mm. Ces résultats démontrent l'efficacité de nos souches isolées dans l'inhibition de la croissance d'*E. coli*. Cette activité inhibitrice est cruciale dans le contexte de la sécurité alimentaire, soulignant ainsi le potentiel des bactéries lactiques comme agents de bioconservation dans les produits alimentaires fermentés.



**Figure 9** : Diamètres de zones d'inhibition des souches lactiques vis-à-vis de *Staphylococcus aureus*.

Nos résultats ont démontré une activité significative des souches de bactéries lactiques contre *Staphylococcus*. Les mesures de zones d'inhibition ont révélé des valeurs allant de 24 mm à 40 mm. Parmi les souches évaluées, plusieurs ont présenté une capacité notable à inhiber la croissance de *Staphylococcus*. La souche la plus prometteuse est LB22 avec un diamètre de 40 mm. Ces résultats suggèrent que nos souches de bactéries lactiques pourraient être prometteuses pour la réduction de la croissance de *Staphylococcus*, ce qui pourrait avoir des implications importantes pour la sécurité alimentaire et la préservation des aliments fermentés.

### 3. Discussion

Notre étude a révélé que les olives vertes et noires, qu'elles soient traitées industriellement ou fermentées de manière traditionnelle, abritent des bactéries lactiques majoritairement Gram positives, catalase négatives et en forme de bacilles, caractéristiques du genre *Lactobacillus*. Ces résultats concordent avec les travaux précédents de **Panagou et al. (2003)** et **Garrido-Fernández et al. (1997)**, qui ont identifié *Lactobacillus plantarum* et *Lactobacillus pentosus* comme espèces prépondérantes dans les processus de fermentation des olives. **Hurtado et al. (2012)** ont également observé une plus grande diversité microbienne dans les fermentations traditionnelles. Comparativement, l'isolement de bactéries lactiques à partir de divers légumes et fruits fermentés a souvent conduit à des conclusions similaires. Par exemple, *Lactobacillus plantarum* et *Leuconostoc mesenteroides* sont fréquemment trouvés dans la choucroute

(Plengvidhya et al., 2007), tandis que des souches comme *Lactobacillus brevis* et *Leuconostoc kimchii* sont typiques du kimchi (Lee et al., 2005). Dans les cornichons fermentés, *Lactobacillus plantarum* et *Pediococcus pentosaceus* dominant souvent (Breidt et al., 2007), et des bactéries comme *Lactobacillus paracasei* et *Lactobacillus rhamnosus* ont été isolées à partir de jus de fruits fermentés (Kuo et al., 2014). Ces parallèles mettent en lumière l'importance des *Lactobacillus* dans la fermentation des aliments végétaux, que ce soit dans les olives ou d'autres produits. Les variations entre nos résultats et ceux des études antérieures peuvent être dues aux différences méthodologiques, aux conditions spécifiques de fermentation ou aux contextes géographiques distincts. Ainsi, notre recherche contribue à une meilleure compréhension des communautés microbiennes impliquées dans la fermentation des olives et renforce l'idée de leur rôle essentiel dans la qualité et la conservation des produits fermentés.

Nous avons identifié des bactéries lactiques isolées à partir d'olives vertes et noires fermentées, qu'elles soient traitées de manière industrielle ou traditionnelle. Ces bactéries ont montré une activité antimicrobienne notable, en particulier contre *E. coli*, avec des zones d'inhibition mesurant entre 23 mm et 35 mm, et les souches LB2, LB7, et LB17 affichant les valeurs maximales. Nous avons également observé des zones d'inhibition contre *Staphylococcus aureus* allant de 24 mm à 30 mm. Ces résultats divergent de ceux rapportés par Allouche et al. (2010), qui ont documenté des zones d'inhibition beaucoup plus larges pour *Lactobacillus plantarum* et *Lactobacillus pentosus* contre des bactéries Gram positives, notamment *S. aureus* (12 mm) et *B. subtilis* (22 mm). En revanche, leurs observations sur les souches Gram négatives comme *E. coli* 54127 (0 mm) et *E. coli* 105331 (19 mm) montrent des valeurs moindres comparées à nos résultats.

Mameche (2008) a noté une forte activité inhibitrice des lactobacilles contre des bactéries Gram négatives. Par exemple, *Lactobacillus acidophilus* a montré une zone d'inhibition de 18 mm contre *E. coli*, et *Lactobacillus casei* a produit une inhibition de 20 mm contre *Pseudomonas aeruginosa*. D'autres études corroborent la variabilité de l'efficacité antimicrobienne des bactéries lactiques selon les pathogènes ciblés et les conditions de fermentation. Mousavi et al. (2011) ont constaté que *Lactobacillus casei* inhibait *E. coli* avec une zone de 13 mm et *S. aureus* avec 15 mm, tandis que Gopal et al. (2008) ont trouvé que *Lactobacillus fermentum* inhibait *Pseudomonas aeruginosa* (16 mm) et *E. coli* (14 mm).

L'activité antibactérienne des souches lactiques semble être attribuable à la production de divers agents antibactériens. L'acide lactique, en acidifiant le milieu, inhibe de nombreux types de bactéries. En plus de cela, le diacétyle est également connu pour son pouvoir inhibiteur.



Le H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> libéré par les souches lactiques empêche la croissance des bactéries dépourvues de mécanismes de défense contre le stress oxydatif. Plusieurs études ont démontré que les bactéries lactiques possèdent une activité inhibitrice contre les bactéries pathogènes grâce à la libération de substances de nature protéique, telles que les bactériocines.

L'activité antibactérienne des souches de bactéries lactiques est largement documentée et attribuée à la production de divers agents antimicrobiens. L'un des principaux mécanismes par lesquels ces bactéries exercent leur effet inhibiteur est la production d'acide lactique, qui abaisse le pH de l'environnement, créant des conditions défavorables pour de nombreux types de bactéries pathogènes. Cette action de l'acide lactique a été bien étudiée et confirmée par de nombreux chercheurs, dont **Hammes et Hertel (2009)**, qui ont souligné l'importance de l'acidification du milieu dans l'inhibition des pathogènes. En outre, le diacétyl, un composé produit par certaines bactéries lactiques, est reconnu pour son pouvoir inhibiteur contre divers microorganismes, comme l'ont décrit **Caplice et Fitzgerald (1999)**.

Un autre mécanisme crucial de l'activité antibactérienne des bactéries lactiques est la libération de peroxyde d'hydrogène. Ce dernier exerce une activité antimicrobienne en créant un environnement oxydatif stressant pour les bactéries qui ne possèdent pas de systèmes de défense efficaces contre ce type de stress. Cet effet du peroxyde d'hydrogène a été mis en évidence par **De Vuyst et Vandamme (1994)**, qui ont démontré son rôle dans l'inhibition de la croissance des bactéries indésirables.

Les bactéries lactiques produisent également des substances de nature protéique, comme les bactériocines, qui sont des peptides ou des protéines capables d'inhiber ou de tuer d'autres bactéries. Les bactériocines sont particulièrement efficaces contre les bactéries Gram positives et jouent un rôle clé dans l'activité antimicrobienne des bactéries lactiques. En effet, **Parvez et al. (2006)** ont passé en revue le rôle des bactériocines dans la sécurité alimentaire et leur potentiel en tant qu'agents conservateurs naturels. De même, **Todorov (2009)** a discuté de la diversité des bactériocines produites par les bactéries lactiques et de leur efficacité contre une large gamme de pathogènes.

Ainsi, l'ensemble de ces mécanismes d'acidification par l'acide lactique, production de diacétyl, libération de peroxyde d'hydrogène, et synthèse de bactériocines contribue à l'activité antibactérienne des souches de bactéries lactiques, quelle que soit leur origine. Cette combinaison d'effets permet aux bactéries lactiques de jouer un rôle crucial dans la protection

des aliments fermentés contre les bactéries pathogènes et dans la promotion de la qualité microbiologique des produits.

## ***Conclusion***

Les bactéries lactiques sont des bactéries qui se trouvent essentiellement dans les environnements tels que les produits laitiers et les aliments fermentés et dans le microbiote intestinal, et jouent un rôle important dans la fermentation et la conservation des aliments grâce à leur capacité à produire des substances antimicrobiennes comme l'acide lactique et l'acide acétique et les bactériocines.

L'isolement des bactéries lactiques se fait à partir des aliments laitiers ou des fruits, ou légumes fermentés, ces isollements impliquent l'utilisation des milieux spécifiques et sélectifs comme MRS (MAN REGOSA ET SHARP) qui est utilisé comme un milieu spécial pour les bactéries lactiques.

Les légumes fermentés comme les olives noires et vertes et les cornichons sont des produits alimentaires algériens qui sont consommés par le consommateur algérien. Différents échantillons sont choisis pour l'isolement des bactéries lactiques, nous avons isolé 27 souches, les souches isolés sont des bacilles et coccobacilles, toutes les souches sont cultivées à 37°C et sont dépourvus de catalase.

Les bactéries lactiques sécrétant des composants qui inhibent la croissance des bactéries pathogènes comme *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*, ce qui permet d'utiliser dans l'industrie alimentaire dans la fermentation des aliments laitiers et des légumes fermentés.

Pour le teste de spot sur milieu MRS, les résultats sont positifs pour toutes les souches et la détection d'existence d'un effet inhibiteur des souches lactiques (LB 1, LB2 LB3...LB 25) vis-à-vis des souches pathogènes (*E. coli* et *Staphylococcus aureus*), par l'apparition des halos clair autour des spots indique la présence d'une activité antimicrobienne contre ses bactéries pathogènes.

En perspectives, cette étude nécessite d'être compléter par plusieurs tests, les plus importants sont les suivant :

- L'identification moléculaire des souches lactiques isolées et sélectionnées ;
- Testé ces souches lactiques contre d'autres souches pathogènes
- Identifié la nature exacte de la substance inhibitrice

## ***Conclusion***

# Références bibliographiques

## Références bibliographiques

### A

**Adams M.R et Hall C.J. 1988.** Growth inhibition of food borne pathogens by lactic and acetic acids and their mixtures. *Int J Food Sci Technol.* 23: 287-292.

**Adrian I., Potus I., Frangne P., 1994.** *La Science Alimentaire*, Paris, Technique et Documentation, Lavoisier, pp. 23-27.

AFNOR, France, p 93, 129.

**Ahirwar, SS, Gupta, MK, Gupta, G., Singh, V. 2017.** Dépistage, isolement et identification des espèces de lactobacilles des caries dentaires des enfants. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 6 (1), 497-503

**Allouche F. N., Hellal A., Laraba A. 2010.** Etude de l'activité antimicrobienne des souches de lactobacilles thermophiles utilisées dans l'industrie laitière. *Nature et Technologie*, (3) :13- 20.

**Allouche, S., Mohamed, A., Aïda, H., Fatiha, T. 2010.** Antibacterial activity of *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus pentosus* isolated from traditional Algerian fermented vegetables and against pathogenic bacteria. *African Journal of Biotechnology*, 9(49), 8546-8550. <https://doi.org/10.5897/AJB10.1137>

**Ashaolu, T. J., Reale, A. 2020.** A holistic review on Euro-Asian lactic acid bacteria fermented cereals and vegetables. *Microorganisms*, 8(8),1176.

**Axelsson L., 2004.** Classification and physiology. In: *Lactic acid bacteria: Microbiological and functional aspects* ((Salminen S., Wright A.V. et Ouwehand A.) 3e Ed., Marcel Dekker, Inc. New York. 1-66.

**Aymerich, T., Rodríguez, M., Garriga, M., Bover-Cid, S. 2019.** Assessment of the bioprotective potential of lactic acid bacteria against *Listeria monocytogenes* on vacuum-packed cold-smoked salmon stored at 8° C. *Food microbiology*, 83, 64-70

**Aymerich.T, Rodriguez.m, Garriga. M, Bover-cid. S. 2019.** Assessment of the bioprotective potential of lactic acid bacteria against *Listeria monocytogenes* on vacuum-packed cold-smoked salmon stored at 8 °C. 83: 64–70

### B

## ***Références bibliographiques***

**Baptista, R. C., Horita, C. N., Sant-Ana, A. S. 2020.** Natural products with preservative properties for enhancing the microbiological safety and extending the shelf-life of seafood. *Food research international*, 127, 108762.

**Barbosa, A. A. T., Mantovani, H. C., and Jain, S. 2017.** Bacteriocins from lactic acid bacteria and their potential in the preservation of fruit products. *Critical reviews in biotechnology*, 37(7), 852-864.

**Bassi, D., Gazzola, S., Sattin, E., Dal-Bello, F., Simionati, B., and Cocconcelli, P. S. 2020.** Lactic acid bacteria adjunct cultures exert a mitigation effect against spoilage microbiota in fresh cheese. *Microorganisms*, 8(8), 1199

**Ben Said, L., Gaudreau, H., Dallaire, L., Tessier, M., and Fliss, I. 2019.** Bioprotective culture: A new generation of food additives for the preservation of food quality and safety. *Industrial biotechnology*, 15(3), 138-147.

**Benmouna Z. 2012.** Bactériocines des bactéries lactiques : étude biochimique et génétique. Thèse de Magister en biotechnologie. Université d'Oran.

**Bintsis, T. 2018.** Lactic acid bacteria as starter cultures an update in their metabolism genetics. *Academic microbiology*, 4(4), 665.

**Boudersa, W., Nekkaa, R. 2017.** Étude de l'activité antibactérienne de bactéries lactiques isolées a 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.

**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.

**Budde, B. B., Hornbæk, T., Jacobsen, T., Barkholt, V., Koch, A. G. 2003.** *Leuconostoc carnosum* 4010 has the potential for use as a protective culture for vacuum-packed meats: culture isolation, bacteriocin identification, and meat application experiments. *International Journal of Food Microbiology*, 83, 171–184

## **C**

**Caplice, E., Fitzgerald, G. F. 1999.** Food fermentations: role of microorganisms in food production and preservation. *International Journal of Food Microbiology*, 50(1-2), 131-149. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(99\)00082-3](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(99)00082-3)

## ***Références bibliographiques***

**Ciumac, J. 2006.** Science et technologies des aliments. Editura Tehnica Info.

**Collins M.D., Samelis J., Metaxopoulos J., Wallbanks S., 1993.** Taxonomic studies of some *Leuconostoc* like organisms from fermented sausages, description of a new genus *Weissella* for the *Leuconostocpara mesenteroides* group of species. J. Appl. Bacteriol. (75) : 595-603.

### ***D***

**Dabija, D. 2009.** Les principales méthodes de conservation des aliments.

**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.

**De Vuyst, L., & Vandamme, E. J. 1994.** Antimicrobial potential of lactic acid bacteria. Fermented food beverages in nutrition, 9(1), 91-142.

**Deegan L.H., Cotter P.D., Hill C., Ross P. 2006.** Bacteriocins: Biological tools for biopreservation and shelf-life extension. Int Dairy J. 16:1058-1071.

**Deegan, L.H., Cotter, P.D., Hill, C., Ross, P. 2006.** Bacteriocins: biological tools for bio-preservation and shelf-life extension. Int. Dairy J. 16: 1058-1071

**Desmazeaud, M. 1996.** Les bactéries lactiques dans l'alimentation humaine : utilisation et innocuité. Cahiers Agricultures, 5(5), 331–343 (1).

**Dortu C et Thonart P. 2009.** Les bactériocines des bactéries lactiques : caractéristiques et intérêts pour la bioconservation des produits alimentaires. Biotechnol. Agron. Soc. Environ. 13: 143-154.

**Douault. S et Corthier. G, 2000.** Effets des bactéries lactiques ingérées avec les laits fermentés sur la santé. INRA, EDP Sciences. Pp : 102-104.

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

### ***E***

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

### ***F***



## ***Références bibliographiques***

**Feng, T., and Wang, J. 2020.** Oxidative stress tolerance and antioxidant capacity of lactic acid bacteria as probiotic a systematic review. *Gut Microbes*, 12(1), 1801944.

**Fleming, HP., Eтчells, J. L., Costilow, RN. 1975.** Microbial inhibition by an isolate of *Pediococcus* from cucumber Brines. *Appl Microbiol*, 30(6): 1040-1042.

### **G**

**Galvez, A., Abriouel, H., Lopez, R.L., Ben Oma, N. 2007.** Bacteriocin based strategies for food biopreservation. *Int. J. Food Microbiol.* 120(1-2), 51-70

**Galvez. A; Abriouel. H; Lucas López. R; Ben Omaret. N. 2007.** Bacteriocin-based strategies for food biopreservation. *Int J Food Microbiol.*120: 51-70

**Garnier,L., Mounier,J ., Lê.S. ., Pawtowski,A ., pinon,N ., Camier,B ., Valence, F. 2019.**For dairy products Development of antifungal ingredients from in vitro screening to pilot scale application. *Food Microbiology*, 81, 97-107

**Garrido-Fernández, A., Fernández-Díez, M. J., Adams, M. R. 1997.** Table Olives: Production and Processing. Chapman & Hall, London. ISBN: 978-0412722104

**Garry P., Christieans S., Cartier P. 2008.** Procédés de biopréservation. 12E JSMTV

**Gontijo, M. T. P., Desousa Silva, J., Vidigal, P. M. P., Martin, J. G. P. 2020.** Phylogenetic distribution of the bacteriocin repertoire of lactic acid bacteria species associated with artisanal cheese. *Food Research International*, 128, 108-783.

**Gopal, R., Nair, A. B., Thomas, C., & Lakshmi, B. S. 2008.** Antimicrobial activity of lactic acid bacteria isolated from a rare South Indian food source. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 105(4), 443-447. <https://doi.org/10.1263/jbb.105.443>

**Guessas B., Hadadji M., Saidi N. Kihal M. 2006** Inhibition of *Staphylococcus aureus* Growth by Lactic Acid Bacteria in Milk. *Dirasat, Agricultural Sci.* 32: 3, 304-312.

**Guiraud JP ., Rosec M. 2004.** Pratique des normes en microbiologie alimentaire, édition

### **H**

**Halm M., Lillie A., Sorensen A.K., Jakobsen M.1993.** Microbiological and aromatic characteristics of fermented maize doughs for kenkey production in Ghana. *Int. J. Food Microbiol*, 19, 135-143.

## ***Références bibliographiques***

**Hamed, H. A., Moustafa, Y.A., and Abdel-Aziz, S. M. 2011.** *In vivo* efficacy of lactic acid bacteria in biological control against *Fusarium oxysporum* for protection of tomato plant. Life Science Journal, 8(4), 462-468.

**Hammes, W. P., & Hertel, C. 2009.** The genera *Lactobacillus* and *Carnobacterium*. In Ecology of Lactic Acid Bacteria. The Prokaryotes: Vol. 4 (pp. 163-196). Springer. [https://doi.org/10.1007/978-3-642-30123-0\\_11](https://doi.org/10.1007/978-3-642-30123-0_11)

**HO T.N.T., N. 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.

**Hurtado, A., Reguant, C., Bordons, A., Rozès, N. 2012.** Lactic acid bacteria from fermented table olives. Food Microbiology, 31(1), 1-8.

### ***J***

**Jacobsen, T., Budde, B. B., et Koch, A. G. 2003.** Application of *Leuconostoc carnosum* for biopreservation of cooked meat products. Journal of applied microbiology, 95, 242–249

**Jiang, Y., Chu, Y., Xie, G., Li, F., Wang, L., Huang, J., and Yao, L. 2019.** Antimicrobial resistance, virulence and genetic relationship of *Vibrio parahaemolyticus* in seafood from coasts of Bohai Sea and Yellow Sea, China. International journal of food microbiology, 290, 116-124.

### ***K***

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

### ***L***

**Labioui H., Laaroussi E.M., El yachioui M., Ouhssine M. 2005.** Sélection de souche des bactéries lactiques antibactérienne, Bull. Soc Pharm, Bordeaux, France. N°144 237-250.

**Larpent J.P., 1997.** Microbiologie alimentaire. Tec & doc, Lavoisier. Paris. 10-72. Larpent, J. P. (1990). Les fermentations alimentaires. In-Microbiologie alimentaire, Technique & Documentation, Lavoisier, Apria, 02:3-17.

**Laszkiewicz, B., Szymański, P., and Kolożyn-Krajewska, D. 2021.** The effect of selected lactic acid bacterial strains on the technological and microbiological quality of mechanically separated poultry meat cured with a reduced amount of sodium nitrite. Poultry Science, 100(1), 263-272.

## Références bibliographiques

### M

**Maillet, A., Denojean, P., Bouju-Albert, A., Scaon, E., Leuillet, S., Dousset, X., and Prévost, H. 2021.** Characterization of bacterial communities of cold-smoked salmon during storage. *Foods*, 10(2), 362.

**Mameche, M. 2008.** Inhibitory effects of lactic acid bacteria on the growth of pathogenic bacteria in traditional fermented products. *Journal of Microbial Biotechnology*, 5(3), 150-158.

**Mami A., Kihal M., Hamedi A.R., Henni J.E., Kerfouf A. 2010.** Antibacterial activity of *Lactobacillus plantarum* isolated from algerian raw goat's milk against *Staphylococcus aureus*, les technologies de laboratoire, 2010, volume 5, N° 21.

**Mami, A., Henni, J. E., Kihal, M. 2008.** Antimicrobial activity of *Lactobacillus* species isolated from Algerian raw goat's milk against *Staphylococcus aureus*. *World J. Dairy & Sci* .3:39-49

**Mao, B., and Yan, S. 2019.** Lactic acid bacteria and fermented fruits and vegetables. In Wei, Chen. In *Lactic acid bacteria*, 181-209. Springer, Singapore.

**Marchal, N., Bourdon, J.L. et Richard, CL. 1991.** Les milieux de culture pour l'isolement et l'identification biochimique des bactéries 3ème Ed., Doin éditeurs, Paris

**Martín, I., Rodríguez, A., Sánchez-Montero, L., Padilla, P., and Cordoba, J. J. 2021.** Effect of the Dry-Cured Fermented Sausage “Salchichón” Processing with a Selected *Lactobacillus sakei* in *Listeria monocytogenes* and Microbial Population. *Foods*, 10(4), 856.

**Matevosyan, L., Bazukyan, I., and Trchounian, A. 2019.** Comparative analysis of the effect of ca and mg ions on antibacterial activity of lactic acid bacteria isolates and their associations depending on cultivation conditions. *Applied Microbiology and Biotechnology Express*, 9(32), 1-11

**Mechai, A. 2009.** Isolement, caractérisation et purification de bactériocines produites par des bactéries lactiques autochtones : études physiologiques et biochimiques, thèse de doctorat. Université Badji Mokhtar- Annaba, 99p.

**Mousavi, M. A. E., Salim, A., Aghajani, M., Sefidgar, S. A., & Mohammadi, F. 2011.** The antimicrobial activity of *Lactobacillus* species isolated from Koozeh cheese. *Journal of Microbiology*, 6(2), 119-126.

## ***Références bibliographiques***

### ***N***

**Najman, K., and Sadowska, A. 2021.** Effect of Red Cabbage Sprouts Treating with Organic Acids on the Content of Polyphenols, Antioxidant Properties and Color Parameters. *Applied Sciences*, 11(11), 4890.

**Nazareth, T. D. M., Luz, C., Torrijos, R., Quiles, J. M., Luciano, F. B., Mañes, J., Meca, G. 2020.** Potential application of lactic acid bacteria to reduce aflatoxin B1 and fumonisin B1 occurrence on corn kernels and corn ears. *Toxins*, 12(1), 21.

**Nediani, M. T., García, L., Saavedra, L., Martínez, S., Lopez-Alzogaray, S., Fadda, S. 2017.** Adding value to goat meat: biochemical and technological characterization of autochthonous lactic acid bacteria to achieve high-quality fermented sausages. *Microorganisms*, 5(2), 26.

### ***O***

**O’Sullivan, L; Ross, R.P., Hill, C. 2002.** Potential of bacteriocin producing lactic acid bacteria for improvements in food safety and quality. *Biochimie*. 84: 593-604.

**Okechukwu, E., Dike-Ndudim, J. N., Ndubueze, C. W., Iwuji-Aguzie, C. C. 2021.** Antibacterial activity of *Lactobacillus* species isolated from raw goat milk against *Staphylococcus aureus*. *World Journal of Biology Pharmacy and Health Sciences*, 6(2), 65-72.

**Ouiddir, M., Bettache, G., Salas, M. L., Pawtowski, A., Donot, C., Brahimi, S., Mounier, J. 2019.** Selection of Algerian lactic acid bacteria for use as antifungal bioprotective cultures and application in dairy and bakery products. *Food Microbiology*, 82, 160-170.

**Ouiddir, M., Bettache, G., Salas, M. L., Pawtowski, A., Donot, C., Brahimi, S., Mounier, J., 2019.** Selection of Algerian lactic acid bacteria for use as antifungal bioprotective cultures and application in dairy and bakery products. *Food Microbiology*, 82, 160-170

### ***P***

**Panagou, E. Z., Schillinger, U., Franz, C. M., Nychas, G. J. 2003.** Microbiological and biochemical profile of cv. Conservolea green olives processed by the Spanish method. *Food Microbiology*, 20(4), 411-419.

**Parvez, S., Malik, K. A., Kang, S. A., & Kim, H. Y. (2006).** Probiotics and their fermented food products are beneficial for health. *Journal of Applied Microbiology*, 100(6), 1171-1185. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2006.02963.x>

## ***Références bibliographiques***

**Peles, F., Sipos, P., Kovács, S., Gyori, Z., Pócsi, I., Pusztahelyi, T. (2021).** Biological Control and Mitigation of Aflatoxin Contamination in Commodities. *Toxins*, 13(2), 104.

**Perrier-Cornet, J. M., and Simonin, H. 2020.** Présentation du projet B Lac HP (2015-2019). *Viandes & Produits Carnés*, 1.

**Pfeiler E.A., Klaenhammer T.R. 2009.** The genomics of lactic acid bacteria. *Trends Microbiol.* 15(12): 546-53.

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

**Pot B., 2008.** The taxonomy of lactic acid bacteria. In : Bactéries lactiques de la génétique aux ferments (Corrieu G. et Luquet F.M.). Tec & Doc, Lavoisier. Paris.1- 106.

### ***R***

**Rama, G. R., Kuhn, D., Beux, S., Maciel, M. J., and De-Souza, C. F. V. 2020.** Cheese whey and ricotta whey for the growth and encapsulation of endogenous lactic acid bacteria. *Food and Bioprocess Technology*, 13(2), 308-322.

**Ray, B., Daeschel, M. 1994.** Bacteriocins of starter culture bacteria. In M. Dillon & G. Board (Eds.), *Natural antibacterial Systems and food preservation* (pp. 133). Oxon UK: CAB International

**Ricci, A., Marrella, M., Hadj Saadoun, J., Bernini, V., Godani, F., Dameno, F., Lazzi, C. 2020.** Development of Lactic Acid-Fermented Tomato Products. *Microorganisms*, 8(8), 1192.

**Ringo, E., Gatesoupc, F.J. 1998.** Lactic acid bacteria in fish: A review. *Aquaculture*. 160: 177-203.

### ***S***

**Sadiq, F. A., Yan, B., Tian, F., Zhao, J., Zhang, H., and Chen, W. 2019.** Lactic acid bacteria as antifungal and anti-mycotoxigenic agents. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 18(5), 1403-1436.

**Saidi N. 2007.** La microflore lactique du lait cru de chèvre local : études, microbiologique, biochimique et génétique des bactéries lactiques d'intérêt bio-préservateur., Thèse de Doctorat. Université d'Oran. 216 pp.

## ***Références bibliographiques***

**Schillinger U. and Luke F. K. 1989.** Antibacterial activity of *Lactobacillus sake* isolated from meat. Appl. Environ. Microbiol., 55, 1901-1906.

**Settanni, L., Moschetti, G. 2010.** Non-starter lactic acid bacteria used to improve cheese quality and provide health benefits. Food microbiology, 27, 691–697.

**Stiles M.E., Holzapfel W.H. 1997.** Review article Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy. Int. J. Food Microbiol. 36 :1-29.

**Stupar, J., Holøymoen, I. G., Hoel, S., Lerfall, J., Rustad, T., Jakobsen, A. N. 2021.** Diversity and Antimicrobial Activity towards *Listeria spp.* and *Escherichia coli* among lactic acid bacteria isolated from Ready-to-Eat Seafood. Foods, 10(2), 271.

**Szutowska, J. 2020.** Functional properties of lactic acid bacteria in fermented fruit and vegetable juices a systematic literature review. European Food Research and Technology, 246(3), 357-372.

## ***T***

**Tabak S., Bensoltane A. 2012.** 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. 123

**Todorov, S. D. (2009).** Bacteriocins from *Lactobacillus plantarum*-production, genetic organization and mode of action. Brazilian Journal of Microbiology, 40(2), 209-221. <https://doi.org/10.1590/S1517-838220090002000>

**Tumbariski, Y., Lante, A., and Krastanov, A. 2018.** Immobilization of bacteriocins from lactic acid bacteria and possibilities for application in food biopreservation. Open Biotechnological Journal, 12, 25-32.

## ***V***

**Vandamme P., Pot B., Gillis M., Devos P., Kersters K., Swings J., 1996.** Polyphasic taxonomy, a consensus approach to bacterial systematic. Microbiol. Rev. 60: 407.

**Vermeiren L., Devlieghere F., Debever J. 2004.** Evaluation of meat born lactic bacteria as protective culture for the biopreservation of cooked meat product. Int. J. Food Microbiol., 96(2), 149-164.

## ***Références bibliographiques***

**Vieco-Saiz, N., Belguesmia, Y., Raspoet, R., Auclair, E., Gancel, F., Kempf, I., Drider, D. 2019.** Benefits and inputs from lactic acid bacteria and their bacteriocins as alternatives to antibiotic growth promoters during food-animal production. *Frontiers in Microbiology*, 10, 57.

### **W**

**Wen, R., Sun, F., Li, X. A., Chen, Q., Kong, B. 2021.** The potential correlations between the fungal communities and volatile compounds of traditional dry sausages from north east China. *Food Microbiology*, 98, 103787.

### **y**

**Yao, A. A., Egounlety, M., Kouame, L. P., Thonart, P. J. A. M. V. 2009.** Les bactéries lactiques dans les aliments ou boissons amylacés et fermentés de l'Afrique de l'Ouest: leur utilisation actuelle. *Ann. Méd. Vét*, 153, 54-65.

## *Références bibliographiques*



# Annexes

## *Annexes*

### **Annexes 1 : composition des milieux d'isolement**

#### ▪ **Milieu MRS (gélose)**

Peptone.....	10g
Extrait de viande.....	8g
Extrait de levure.....	4g
Acétate de sodium.....	5g
Phosphate bipotassique.....	2g
Citrate d'ammonium.....	2 g
Sulfate de magnésium, 7H <sub>2</sub> O.....	2 g
Sulfate de manganèse, 4H <sub>2</sub> O.....	0.05 g
Glucose.....	20 g
Tween 80.....	1ml
Agar (dans le cas de la gélose) .....	15 g
Eau distillée.....	1000 ml
PH 6,8	

Autoclavage 20 min à 120 °C

#### ▪ **Bouillon MRS de Man Rogosa et sharpe**

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..... 50 g  
Eau distillée .....1000 ml

PH=6.5

Autoclavage 120°C pendant 20 min

- **Milieu nutritif**

Extrait de viande .....1g  
Peptone .....15g  
Chlorure de sodium .....5g  
Agar (gélose) .....15g

PH=7,2

Autoclaver à 121 °C/10mn

- **Milieu de Chapman**

Extrait de viande (bovin ou porcin) ..... 1g  
Peptone de caséine et de viande (bovin et porcin) .....10g  
Chlorure de sodium.....75g  
Mannitol .....10g  
Agar.....15g  
Rouge de phénol.....0,025g

PH=7,6

## **Annexe 2 : Colorants de la coloration de Gram**

- **Fushine**

Fushine basique .....1g

Alcool éthylique a 90% .....10ml

Phénol..... 5g

Eau distillée..... 100ml

▪ **Lugol**

Iode..... 1g

Iodure de potassium..... 2g

Eau distillée..... 300ml

▪ **Violet de gentiane**

Violet de gentiane..... 1g

Ethanol a 90%..... 10ml

Phénol..... 2g

Eau distillée..... 100ml

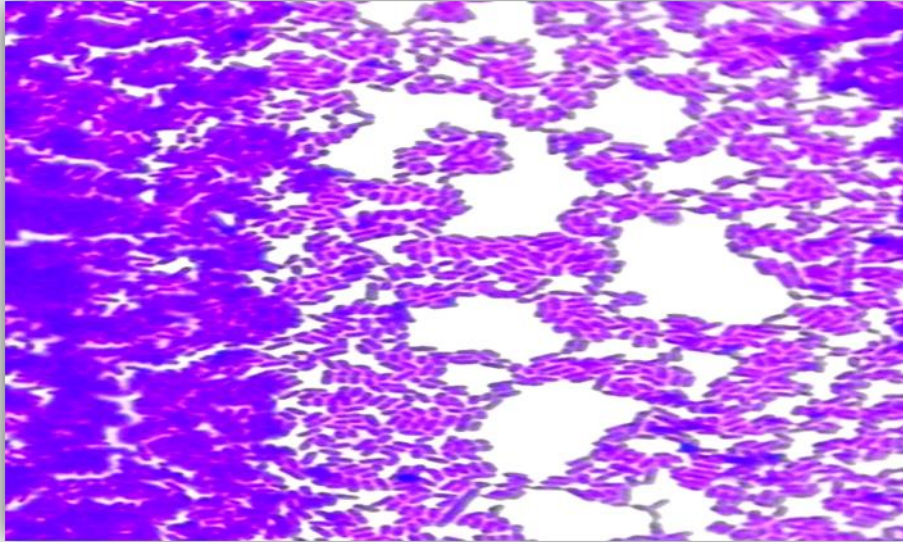
### Annexe 3

**Photo de l'aspect macroscopique des colonies des bactéries lactiques sur gélose MRS**



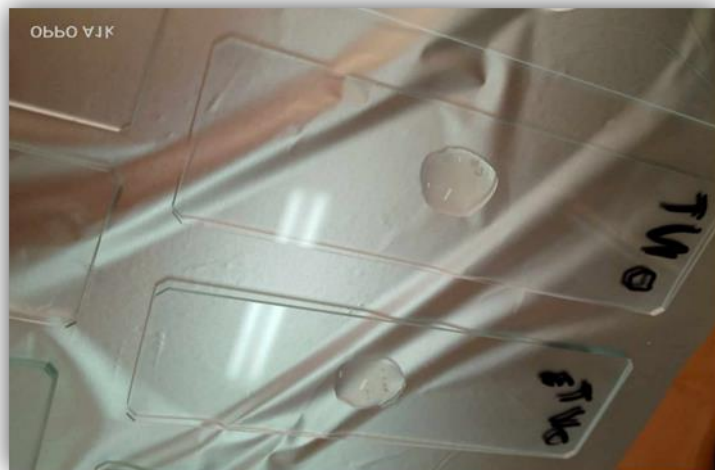
## **Annexe 4**

**Photo d'Observation Microscopique d'une bactérie lactique après coloration de Gram**



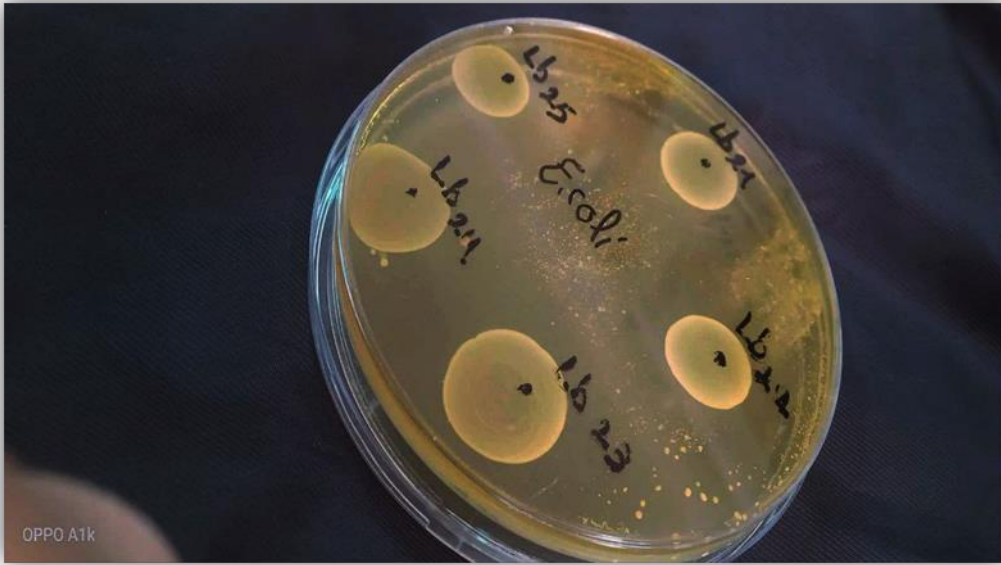
## **Annexe 5**

**Photo de résultat négatif de test catalase pour les souches lactiques isolées**



## **Annexe 6**

**Photos de résultats de l'activité antibactérienne des bactéries lactiques**



Résultat de test de spot contre *E. coli*



Résultat de test de spot contre *Staphylococcus aureus*

## Résumé

Les bactéries lactiques sont des bactéries qui jouent un rôle important et bénéfique pour la santé humaine par les améliorations de la flore digestif et par l'inhibition de développement des micro-organismes pathogènes, les bactéries lactiques sont très utilisées dans l'industrie alimentaire pour leur effet de conservation d'aliments et leur amélioration de qualité organoleptiques de ce dernier grâce à leur rôle de fermentation lactiques.

Dans cette étude on a basé sur la méthode d'isolement des bactéries lactiques à partir des produits alimentaires divers (l'olives noires et vertes préparées par méthodes industrielle et traditionnel, et des cornichons), et l'identification de ses souches isolées, cette identification que ce soit macroscopique (la forme et la couleur des colonies isolé), ou microscopique (par la coloration de Gram), ou physiologiques (teste de catalase) et l'étude de pouvoir antagoniste des souches de bactéries lactiques précédemment isolé vis-à-vis des souches bactériennes pathogènes : *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, par la méthode de spots.

**Mot clé :** Bactéries lactiques, activité antibactérienne, *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, souches pathogènes.

## ملخص

بكتيريا حمض اللاكتيك هي بكتيريا تلعب دوراً مهماً ومفيداً لصحة الإنسان من خلال تحسين النباتات الهضمية وتنشيط تطور الكائنات الحية الدقيقة المسببة للأمراض. تستخدم بكتيريا حمض اللاكتيك على نطاق واسع في صناعة الأغذية لتأثيرها في حفظ الأطعمة وتحسين الجودة الحسية وذلك بفضل دورها في عملية التخمير اللبني اعتمدنا في هذه الدراسة على طريقة عزل بكتيريا حمض اللاكتيك من المنتجات الغذائية المختلفة (الزيتون الأسود والأخضر المحضر بالطرق الصناعية والتقليدية، والمخللات)، وتحديد سلالاتها المعزولة، هذا التحديد سواء كان مجهرياً (الشكل) لون المستعمرات المعزولة، أو مجهرية (بصبغة جرام)، أو فسيولوجية (اختبار الكاتلاز) ودراسة القوة التضادية لسلالات اللبنة المعزولة سابقاً ضد السلالات البكتيرية المسببة للأمراض: الإشريكية القولونية، المكورات العنقودية الذهبية، باستخدام الطرق الموضعية.

## Abstract

Lactic acid bacteria are bacteria that play an important and beneficial role for human health by improving the digestive flora and inhibiting the development of pathogenic microorganisms. Lactic acid bacteria are widely used in the food industry for their effect of preserving foods and their improvement in organoleptic quality thanks to their role in lactic fermentation.

In this study we based on the method of isolation of lactic acid bacteria from various food products (black and green olives prepared by industrial and traditional methods, and gherkins), and the identification of the isolated strains, this identification whether macroscopic (the shape and color of isolated colonies), or microscopic (by Gram staining), or physiological (catalase test) and the study of the antagonistic power of previously isolated strains against pathogenic bacterial strains: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, using spot methods.

**Key words:** Lactic acid bacteria, antibacterial activities, *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, pathogenic strains