

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



Réf : ...../UAMOB/F.SNV.ST/DEP.BIO/2018

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

Domaine : SNV      Filière : Sciences Biologiques  
Spécialité : Biochimie appliquée

Présenté par :

*DRIBINE Asma & KHELLAL Yasmina*

*Thème*

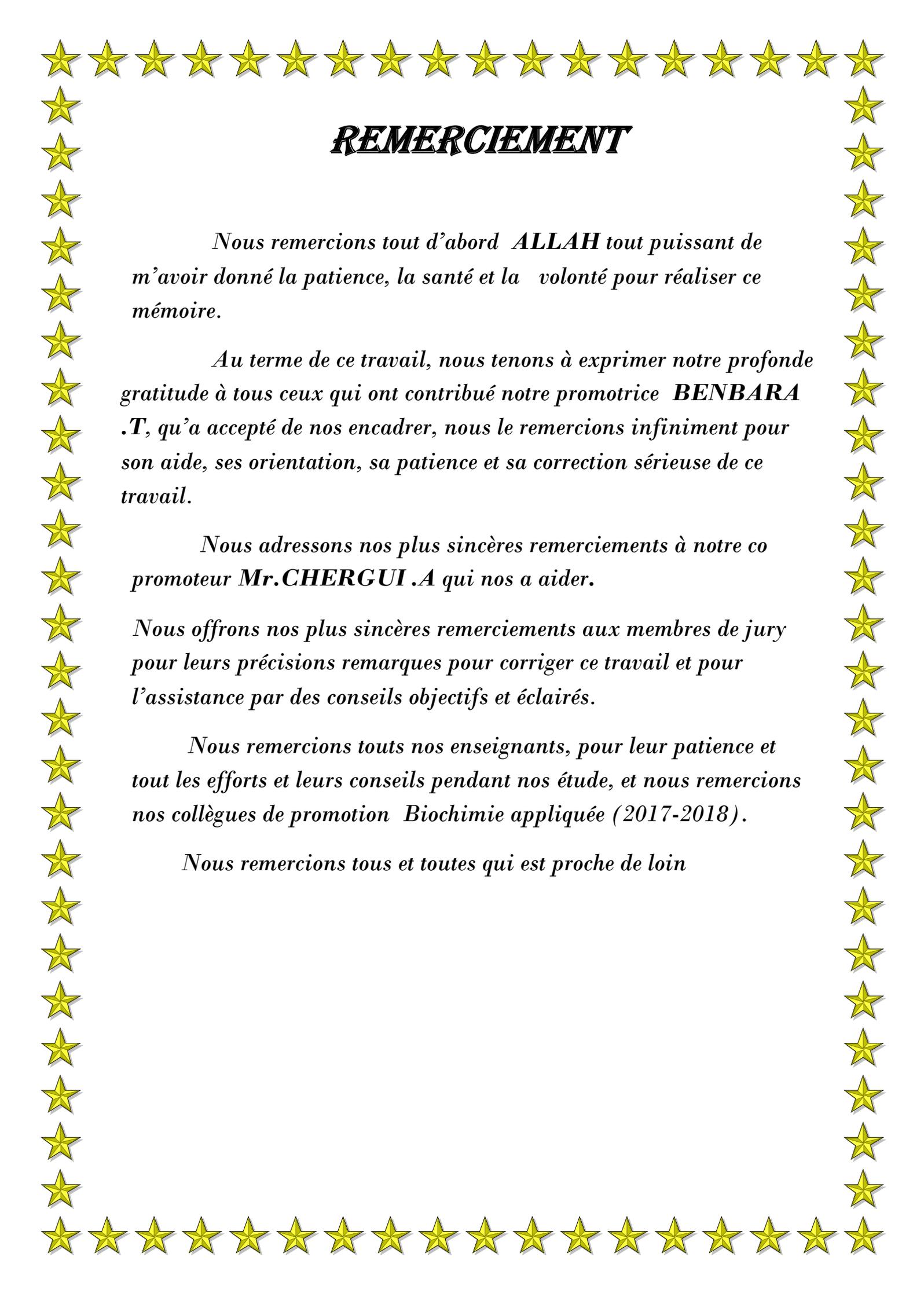
**Evaluation de l'activité antibactérienne de *quelques souches*  
*de bactéries lactiques***

Soutenu le : 30/06 / 2018

Devant le jury composé de :

<i>Nom et Prénom</i>	<i>Grade</i>		
Mr. ARAB Amar	MAA	Univ. de Bouira	Président
Mme. BENBARA Tassadit	MAA	Univ. de Bouira	Promoteur
Mme DJOUAHRA Djamila	MAA	Univ. de Bouira	Examineur
Mr. CHERGUI Achour	MAA	Univ. de Bouira	Co-Promoteur

Année Universitaire : 2017/2018



# ***REMERCIEMENT***

*Nous remercions tout d'abord **ALLAH** tout puissant de m'avoir donné la patience, la santé et la volonté pour réaliser ce mémoire.*

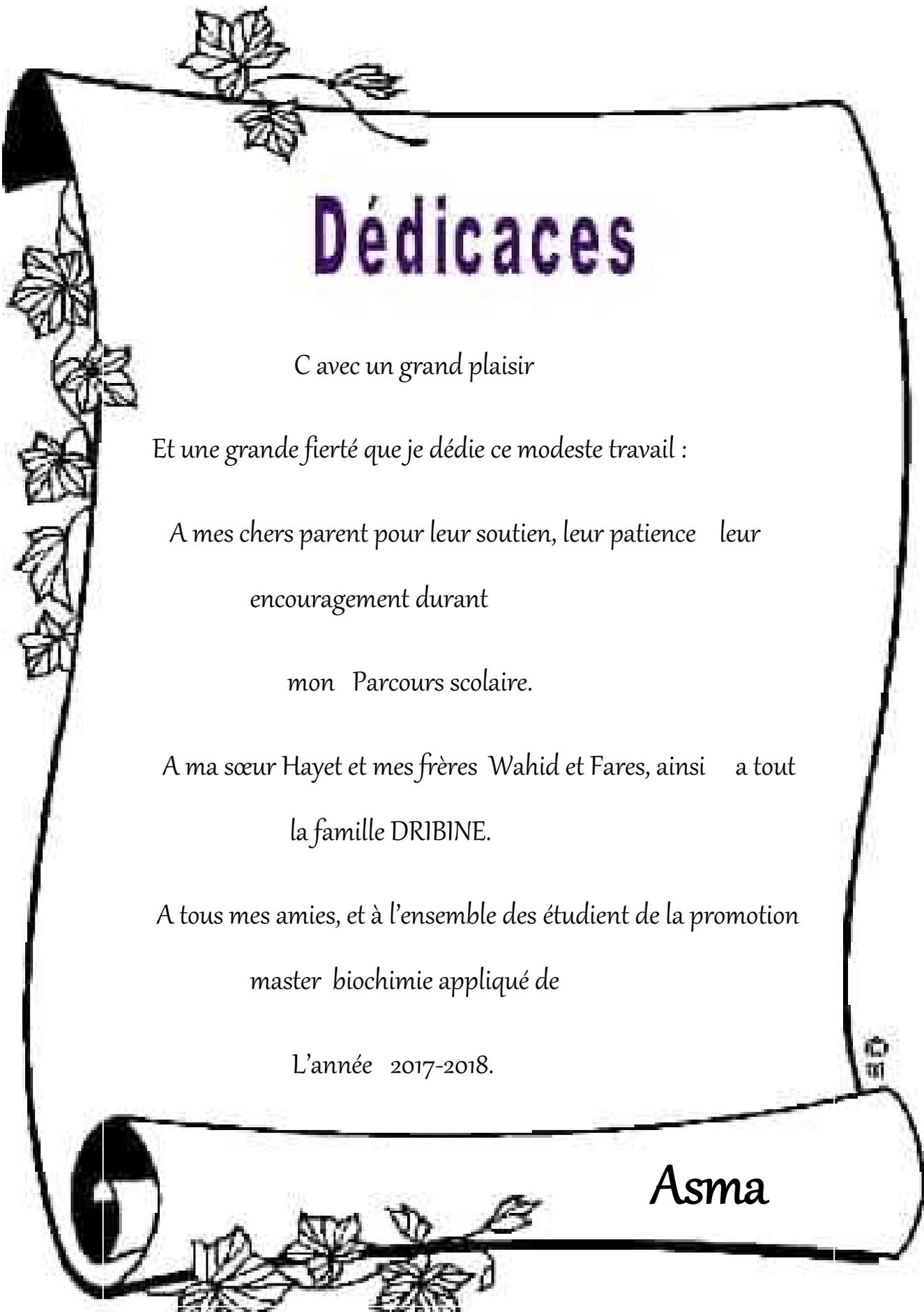
*Au terme de ce travail, nous tenons à exprimer notre profonde gratitude à tous ceux qui ont contribué notre promotrice **BENBARA .T.**, qu'a accepté de nos encadrer, nous le remercions infiniment pour son aide, ses orientation, sa patience et sa correction sérieuse de ce travail.*

*Nous adressons nos plus sincères remerciements à notre co promoteur **Mr.CHERGUI .A** qui nos a aider.*

*Nous offrons nos plus sincères remerciements aux membres de jury pour leurs précisions remarques pour corriger ce travail et pour l'assistance par des conseils objectifs et éclairés.*

*Nous remercions tous nos enseignants, pour leur patience et tout les efforts et leurs conseils pendant nos étude, et nous remercions nos collègues de promotion **Biochimie appliquée (2017-2018)**.*

*Nous remercions tous et toutes qui est proche de loin*



# Dédicaces

C avec un grand plaisir

Et une grande fierté que je dédie ce modeste travail :

A mes chers parent pour leur soutien, leur patience leur  
encouragement durant

mon Parcours scolaire.

A ma sœur Hayet et mes frères Wahid et Fares, ainsi à tout  
la famille DRIBINE.

A tous mes amies, et à l'ensemble des étudiant de la promotion  
master biochimie appliqué de

L'année 2017-2018.

Asma

## Dédicace

*Avec l'aide de Dieu, j'ai pu réaliser ce modeste travail que je dédie À :*

*Mes chers parents, pour leurs dévouements,  
Leurs amours, leurs sacrifices et leurs encouragements  
jusqu'au bout, que Dieu leur accorde une longue vie et encore  
une fois*

*Merci !!*

*À la source de la tendresse de patience et de générosité,  
Ma mère "saidi nadia".*

*À mon père "hacène," qui m'a appris que la patience est  
Le Secret du succès.*

*Ma seule sœur : Nadjet A qui je souhaite un avenir radieux  
plein de réussite*

*Mon très cher frère : Fares*

*Mon ange gardien et mon fidèle compagnant dans les  
moments les plus Délicats de cette vie mystérieuse*

*Mes petits frères : Riadh , Halim*

*Mon fiancée : HILLAL qui m'a soutenue tout au long de ce  
projet*

*A ma belle famille*

*Toute ma grande famille*

*À la mémoire de mes grands parents maternels et paternels.*

*A toutes mes camarades et mes très chères amies:*

*Yasmine, loula, hefsa*

*A mon binôme : ASMA*

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

*Et*

*Tous ceux qui, par un mot, m'ont donné la force de continuer*

*.....*

*Yasmine*

## *Listes des figures*

FIGURE	TITRE	PAGES
01	la forme cocci, et la forme bacille des bactéries lactique observé au Microscope électronique a transmission.	3
02	Principales voies cataboliques du glucose chez les bactéries lactiques.	4
03	Micro photographie obtenues par coloration à l'acétate d'uranyle de <i>Lactobacillus plantarum</i> observé par MET.	5
04	<i>Leuconostoc lactis</i> observé MET (x 100).	6
05	<i>Streptococcus thermophilus</i> .	7
06	<i>Enterococcus Faecium Probiotics</i> .	7
07	Morphologie en microscope électronique de <i>Lactococcus lactis</i> subsp <i>lactis</i> x100.	8
08	Mise en évidence du pouvoir antibactérienne par la méthode directe.	20
09	Aspect macroscopique de quelque colonie de souches lactiques isolées sur gélose MRS.	21
10	Photo de trouble à gauche et tube témoin à droit des bactéries lactiques dans Bouillon MRS	22
11	Aspect et mode d'association de quelques souches lactiques après coloration de Gram, (a) forme cocci en amas et (b) forme diplocoque	22
12	Résultats de test de la catalase pour identifier les bactéries lactiques	23
13	Colonies d' <i>E. féacalis</i> sur GN.	24
14	Coloration de Gram d' <i>E.féacalis</i> Observé par Microscope optique GX 100.	24
15	Colonies d' <i>E.coli</i> sur EMB.	24
16	Coloration de Gram d' <i>E.coli</i> observé Par Microscope optique GX 100.	24
17	Colonies de <i>S. aureus</i> sur Chapman	25
18	Coloration de Gram de <i>S. aureus</i> .	25
19	Colonies de <i>salmonella</i> sur Hektoen.	26
20	Coloration de Gram de <i>salmonella</i> .	26
21	Aspect d' <i>Enterobacter</i> sur GN.	26
22	Observation des <i>Enterobacter</i> Sous Microscope optique GX100	26
23	Interaction entre les souches lactiques et <i>Staphylococcus aureus</i>	27
24	Les zones d'inhibition de quelques souches lactique vis-à-vis <i>Staphylococcus aureus</i> .	29
25	L'interaction des souches lactiques avec <i>Enterococcus feacalis</i>	29
26	Les zones d'inhibition de quelques souches lactiques envers <i>Enterococcus feacalis</i>	30
27	L'effet antagoniste des bactéries lactiques envers <i>Enterobacter</i>	31

28	Les zones d'inhibition de quelques souches lactique envers <i>Enterobacter</i> .	32
29	L'effet antagoniste des bactéries lactiques envers <i>Salmonella</i>	32
30	Les zones d'inhibition de quelques souches lactiques envers <i>Salmonella</i>	33
31	L'effet antagoniste des bactéries lactiques envers <i>Esherichia coli</i>	34
32	zones d'inhibition de quelques souches lactiques envers <i>Esherichia coli</i> .	35
33	L'effet antagoniste des souches lactiques envers les Gram positif et Gram négatif.	35

### *Liste des figures en annexe*

Annexe	Titre
Annexe	Photos de matériels utilisés
Annexe	Les souches lactiques sur milieu G.MRS
Annexe	Résultats de coloration de Gram
Annexe	Photos des zones d'inhibition

### *Liste des tableaux*

Tableau	Titre	Page
Tableau I	Les différents genres de bactéries lactiques et leurs principales caractéristiques	8
Tableau II	Les produits chimique et milieux utilisé lors de cette expérience	15
Tableau III	Liste de l'appareillage utilisé lors de l'expérimentation	15
Tableau IV	L'origine et les codes des souches lactiques sélectionner et étudier.	16
Tableau V	Les souches de référence et leurs provenances.	16
Tableau VI	Résultats de l'étude morphologique et biochimique des souches de bactéries lactiques.	23

### *Liste des tableaux en annexe*

Annexe	Titre
Annexe I	Composition des milieux de culture
Annexe III	Coloration de gram
Annexe V	Activité antibactérienne des souches lactiques envers les souches pathogènes



## Liste des abréviations

**ADN** : Acide DésoxyriboNucléique

**ARN** : Acide Ribonucléique

**BL**: Bactérie lactique

**BN** :Bouillon nutritif

**CO2**: Dioxyde de carbone

**°C**: Degré celsius

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

**g** : gramme

**G+C** : Guanine + Cytosine

**GN**: gélose nutritif

**H2O2** : L'eau oxygénée

**Lb** : *Lactobacillus*

**ml** : millilitre

**MRS**: Man Rogosa Sharpe

**NaOH** : Hydroxyde de sodium

**pH**: potentiel Hydrogène

***S.aureus*** : *Staphylococcus aureus*

**T°**: Température

**µl**: Microlitre

# SOMMAIRE

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste d'abréviation

Introduction.....1

## *Partie bibliographique*

### **Chapitre I : Bactéries lactiques**

1- Historique des bactéries lactiques.....	2
2-Définition et caractéristiques des bactéries lactiques.....	2
3- Identification des bactéries lactiques .....	3
3.1- Caractères morphologiques.....	3
3.2-Caractères physiologiques et biochimiques .....	3
3.3- Caractères immunologiques .....	4
4-Taxonomie et classification des bactéries lactiques.....	5
4.1- . Le genre <i>Lactobacillus</i> .....	5
4.2- . Le genre <i>Leuconostoc</i> .....	6
4.3-Le genre <i>Streptococcus</i> .....	6
4.4- Le genre <i>Enterococcus</i> .....	7
4.5- Le genre <i>Lactococcus</i> .....	8
5-Intérêts technologique des bactéries lactiques .....	9
5.1-Activité acidifiante .....	9
5.2-Activité protéolytique.....	9

5.3- Activité aromatisant .....	9
5.4- Activité antibactérienne .....	10

## ***Chapitre II : Activité antibactérienne***

### ***Des bactéries lactiques***

1. Phénomène d'antagonisme .....	11
2. Production de métabolites inhibiteurs .....	11
2.1. Production de peroxyde d'hydrogène (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ) .....	11
2.2. Dioxyde de carbone (CO <sub>2</sub> ) .....	11
2.3. Diacétyle .....	12
2.4. Bactériocine .....	12
2.4.1. Classification des bactériocines .....	12
2.4.2. Le mécanisme d'action de bactériocine.....	13

### ***Partie expérimentale***

#### ***Chapitre I: Matériels et méthodes***

1. Produits et matériels .....	15
2. l'origine des bactéries lactique utilisées .....	16
2.1. Bactéries lactique.....	16
2.2. Les souches pathogènes .....	16
3. Identification des souches utilisées .....	17
3.1. Test macroscopique.....	17
3.2. Test microscopique .....	17
3.3. Caractères biochimiques .....	18
4. Mise en évidence de l'effet antagoniste.....	18

4.1. Préparation de la culture de 18 h des souches lactiques .....	18
4.2. Préparation de la culture de 18h des souches pathogènes.....	18
4.3. Réalisation du test de spot .....	18

## ***Chapitre II : Résultats et discussion***

1. Résultats de l'identification .....	21
1.1. Résultats d'identification des souches lactiques .....	21
1.1.1. Etude morphologique .....	21
1.2. Résultats d'identification des souches pathogènes.....	24
1.2.1. <i>Enterococcus faecalis</i> .....	24
1.2.2. <i>Escherichia coli</i> .....	24
1.2.3. <i>Staphylococcus aureus</i> .....	25
1.2.4. <i>Salmonella</i> .....	25
1.2.5. <i>Enterobacter</i> .....	26
2. Activité antibactérienne .....	27
2.1. L'Activité antibactérienne vis-à-vis <i>Staphylococcus aureus</i> .....	27
2.2. L'activité antibactériennes vis -à -vis <i>Enterococcus féacalis</i> .....	29
2.3. L'activité antibactérienne vis-à-vis <i>Enterobacter</i> .....	31
2.4. L'activité antibactérienne vis-à-vis <i>Salmonella</i> .....	32
2.5. L'activité antibactérienne vis-à-vis <i>Escherichia coli</i> .....	34
3. Evaluation de l'activité antibactérienne envers les Gram-négatif et Gram.....	
Positif .....	35
<b>Conclusion et perspective.</b> .....	37

Références bibliographiques.

Annexe



# Introduction

---

Les bactéries lactiques constituent un groupe hétérogène de bactéries bénéfiques (*Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Streptococcus*....) (Lettat, 2011). Elles sont considérées comme une flore intestinale normale d'Homme et d'animal et elles ont toujours montré un effet bénéfique sur la santé en agissant sur l'équilibre de la flore intestinale (Midassirou *et al.*, 2012).

Ces microorganismes ubiquitaires sont susceptibles d'être retrouvés dans tous types d'habitat. Elles accompagnent l'activité humaine au quotidien, en temps que bactéries de la flore commensale, de la flore intestinale ou de la flore alimentaire.

Les bactéries lactiques sont connues pour avoir diverses fonctions bénéfiques telles que l'activité anti-tumorale, réduction du cholestérol sérique, stimulation du système immunitaire, amélioration de la résistance contre les agents pathogènes et la prévention de la diarrhée du voyageur (Lee *et al.*, 2008). L'un des effets favorables des bactéries lactiques c'est la production de métabolites aux propriétés antimicrobiennes telles que les acides organiques, le dioxyde de carbone et le diacétyle. Elles jouent un important rôle hygiénique en abaissant le pH et en sécrétant une variété de composés inhibiteurs qui empêchent le développement de bactéries indésirables (Cenatiempo *et al.*, 1996; Zarour *et al.*, 2013)

Ainsi de nombreux genres ont un grand intérêt biotechnologique et sont largement utilisées dans des procédés d'élaboration de produits alimentaires destinés à l'Homme ou l'animal (Gérald *et al.*, 2001).

A l'heure actuelle, les bactéries lactiques sont recherchées pour leurs qualités nutritionnelle et thérapeutique dans des préparations appelées probiotiques. Ces derniers sont utilisés comme alternative aux antibiotiques qui induisent chaque année des échecs thérapeutiques chez l'Homme et l'animal à cause de phénomène d'antibiorésistance qui s'accroît rapidement.

Le présent travail a pour objectif l'étude de l'activité antibactérienne de certaines souches de bactéries lactiques vis-à-vis des souches pathogènes (*Escherichia coli*, *Salmonella*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus* et *Enterobacter*). Ces souches ont été isolées de poulet de chair, purifiées et identifiées par des tests morphologiques.

# Introduction

---

Ce travail comprend deux parties : une partie théorique qui résume des généralités sur les bactéries lactiques et leur activité antibactérienne sera détaillée dans le 2<sup>ème</sup> chapitre. La 2<sup>ème</sup> partie se consacra aux tests réalisés et leurs résultats obtenus avec sa discussion.

## 1. Historique des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques ont été retrouvées dans des sédiments datant de 2,75 milliards d'années bien avant l'apparition d'oxygène dans l'atmosphère, ce qui pourrait expliquer leur caractère anaérobie. De plus, des études sur la phylogénie bactérienne mentionnent leur apparition avant celle des cyanobactéries (**Belyagoubi, 2014**)

De nos jours les bactéries lactiques représentent le deuxième plus grand marché de production de biomasse, après les levures. Principalement utilisées dans l'industrie alimentaire, pour la production et la fermentation des aliments et aussi dans l'industrie chimique pour la production d'acide lactique et bio polymères et acquièrent, depuis quelque années, un rôle croissant en santé humaine et animale (**Brahimi, 2015**)

## 2. Définition et caractéristiques des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques sont un grand groupe des micro-organismes non pathogènes de catégorie alimentaire regroupant un ensemble d'espèces hétérogènes (**Labioui et Elmoualdi, 2005**). Ces bactéries sont mésophiles avec une croissance de 10 °C à 40 °C et un optimum entre 25 et 35 °C, mais certaines sont capables de se développer à 5 °C ou 45 °C, elles supportent des pH de 4 à 8 (exceptionnellement de pH 3.2 à 9.6), il s'agit d'un groupe de bactéries à Gram-positif sous forme cocci ou bâtonnet (**José Luis et al., 2006; Ratisbonne-Zafimahova, 2009**). Ces bactéries exigeantes ne possèdent pas de cycle de Krebs, ni de cytochromes, ni porphyrines (composants de la chaîne respiratoire) ni catalase, ni nitrate-réductase et leur croissance requiert des acides aminés, des bases azotées et des vitamines. (**Abid, 2015 ; Adeyemo et al., 2017**).

Elles ont en commun la capacité de fermenter les sucres en acide lactique. Certaines sont dites homofermentaires alors que d'autres sont dites hétérofermentaires (**Helmut et Jürgen, 2009**).

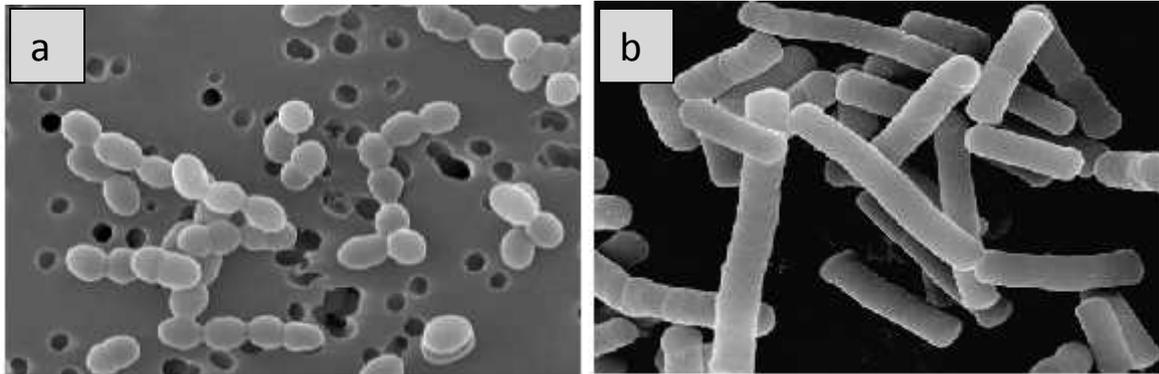
Les principaux genres qui constituent le groupe des bactéries lactiques sont : *Lactobacillus*, *Carnobacterium*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Lactococcus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc* et le genre *Bifidobacterium* est actuellement considéré comme un genre de bactéries lactiques (**Guetarni, 2007**).

Les bactéries lactiques sont ubiquistes et on les trouve dans différentes niches écologiques comme le lait et les produits laitiers, les végétaux (plantes et fruits), les muqueuses et tube digestif humain et animal (**Drouault et Corthier, 2001**).

## 3. Identification des bactéries lactiques

### 3.1. Caractères morphologiques

Les bactéries lactiques sont des cellules procaryotes, immobiles, non sporulés et hétérotrophes (Yann, 2003 ; HO, 2008). Elles forment un groupe hétérogène composé de coques et de bacilles ou bâtonnets (figure 1) (Badis, 2005 ; Khalisanni, 2011)



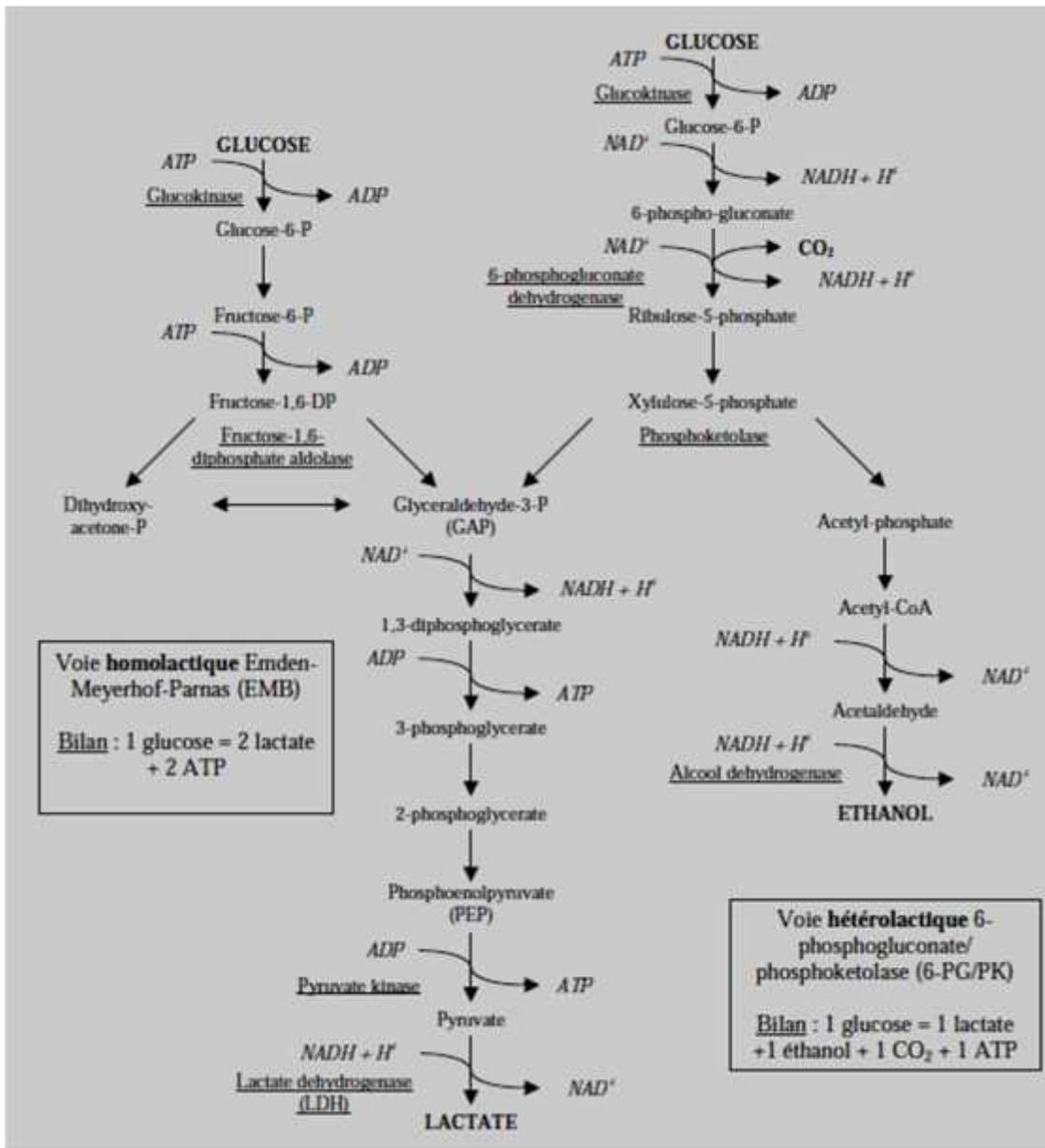
**Figure 1 :** (a) la forme cocci, (b) la forme bacille des bactéries lactiques observé au Microscope électronique à transmission (Makhloufi, 2011)

### 3.2. Caractères physiologiques et biochimiques

Les bactéries lactiques sont chimiotropes et ont un métabolisme fermentaire strictement saccharolytiques, c'est à dire elles trouvent l'énergie nécessaire à partir d'une réaction de l'oxydation des sucres (Khalisanni, 2011; Meziani, 2011).

La conversion des sucres en acide lactique utilise deux voies:

- La voie homofermentaire ou glycolyse qui donne deux molécules de lactate par molécules de glucose (Figure 2).
- La voie hétérofermentaire ou voie des pentoses phosphates donnant un lactate, un acétate et une molécule de CO<sub>2</sub> par molécule de glucose (Figure 2) (Savado, 2004)



**Figure 02 :** Principales voies cataboliques du glucose chez les bactéries lactiques. (Matamoros, 2008)

### 3.3. Caractères immunologiques

Les bactéries lactiques peuvent être sensibles à leurs propres substances de défense comme la bactériocine, elles se prémunissent à l'aide d'une protéine qualifiée «d'immunité».

C'est une lipoprotéine d'immunité codée par le gène LanI : Cette protéine s'attache à la surface externe de la membrane et interagit avec la bactériocine afin d'empêcher son insertion dans la membrane et ainsi former des pores. La structure de ces protéines est très variable (Dortu, 2008; Mameche, 2008)

## 4. Taxonomie et classification des bactéries lactiques

L'élaboration de la taxonomie est basée sur un large ensemble de critères regroupant les caractéristiques écologiques, phénotypiques, biochimiques et génétiques, le mode de fermentation du glucose, la croissance à différentes températures, l'isomère de l'acide lactique produit et la fermentation des différents hydrates de carbone (**tableau 01**) (**Zergoug, 2017**),

### 4.1. Le genre *Lactobacillus*

Au sein des bactéries lactiques, les lactobacilles forment un ensemble très disparate. Ce sont des bactéries à gram positif communément trouvés dans divers milieux, elles peuvent se présenter sous forme de bâtonnets longs et fins, ou très courts, ou incurvés ou même ovoïdes (**Figure 03**) (**Patrick, 2004**).

La multiplicité des niches écologiques des lactobacilles se reflète dans la diversité et de l'hétérogène phylogénie du genre. Le genre comprend plus d'une centaine d'espèces différentes (**Lahtinen et al, 2012**)

Les lactobacilles ont été utilisés comme mesure préventive dans la lutte contre l'intolérance au lactose et inhiber la croissance des micro-organismes pathogènes nuisibles à l'aide d'une réduction du pH de l'intestin. Certaines souches sont capables de produire des bactériocines et d'autres produits métaboliques comme le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ), le dioxyde de carbone ( $CO_2$ ) et de diacetyl (**Elfahri, 2012**)

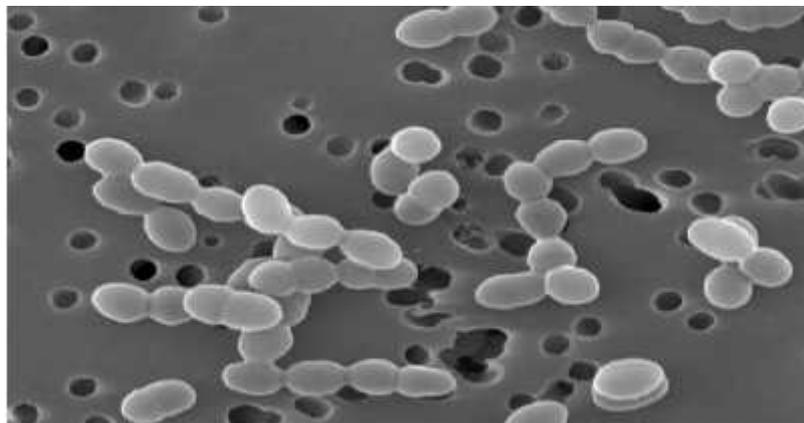


**Figure 03:** *Lactobacillus plantarum* observé par microscope électronique à transmission (**Aznar1 et Zúñiga1, 2011**)

## 4.2. Le genre *Leuconostoc*

Les *leuconostoc* sont des microorganismes procaryotes, mésophile, saprophytes, asporulés, habituellement non mobiles, dépourvus d'oxydase et de catalase, à Gram positif. Sont définis pour la 1<sup>ère</sup> fois par Vantieghem (1878), appartenant à la famille des *Leuconostocaceae*, anaérobie facultatif avec une forme ovoïde (**figure 04**), associées en paires ou en chaînes courtes, elles colonisent des écosystèmes très variés tel que les végétaux et les animaux (**Hannachi, 2008**)

Leur température optimale de croissance se situe entre 25 °C et 30 °C. Les leuconostoc sont caractérisées par un métabolisme hétérofermentaire, ils produisent de l'acide lactique, du CO<sub>2</sub> et de l'éthanol (**HO, 2008**)



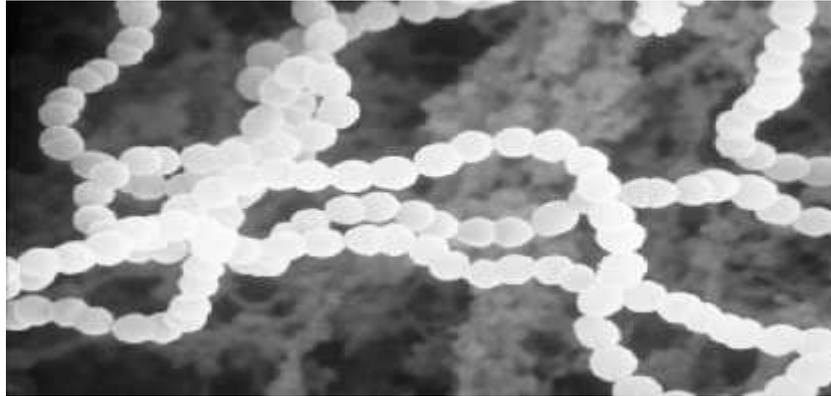
**Figure 04** : *Leuconostoc lactis* observé microscope électronique à transmission (x 10000).

(**Bendimerad, 2013**)

## 4.3. Le genre *Streptococcus*

Des microorganismes appartenant à la famille de *Streptococcaceae*, ils ont une forme ovoïde, sphérique ou quelque fois allongées en fuseaux en paires ou en chainettes de moins de 2µm de diamètre (**figure 05**). Ce sont des bactéries à Gram positif, catalase négative, anaérobie facultative, sont toujours ou presque immobiles ils se distinguent par leur capacité de croître à 45°C.

Les streptocoques sont nutritionnellement fastidieux avec une demande de variabilité nutritionnelle (**Diallo 2010 ; Rabah, 2010**)



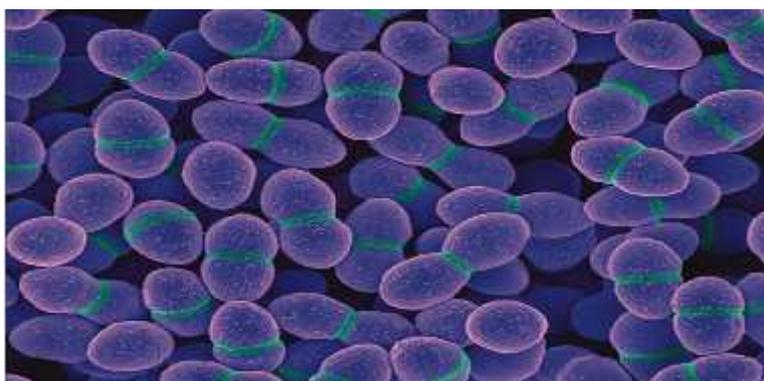
**Figure 05 :** *Streptococcus thermophilus* (Franck Le Guerhier, 2013)

#### 4.4. Le genre *Enterococcus*

Le genre *Enterococcus* appartient à la famille des *Enterococcaceae*, il comporte actuellement 40 espèces. Ce sont des bactéries à Gram positif, aéro-anaérobies, généralement catalase négative, non sporulées qui se présentent sous forme de coques isolés ou arrangés en paires ou en chaînettes (**figure 06**), homofermentaires, et cultivant avec un optimum thermique de 35 °C, à pH 9, 6

Les espèces *E. faecalis*, *E. faecium* et *E. durans* sont de médiocres agents acidifiants et protéolytiques du lait, *E. faecalis* présentant les plus fortes activités.

Certaines souches d'*Enterococcus faecium* possèdent un effet favorable sur la croissance des animaux par compétition avec les germes pathogènes (**Fisher et Phillips, 2009; Silva et al., 2012; Bendimerad, 2013; Isnard, 2017**)



**Figure 06 :** *Enterococcus Faecium*

(<https://www.indiamart.com/proddetail/enterococcus-faecium-probiotics-8411604530.html>)

## 4.5. Le genre *Lactococcus*

Les lactocoques sont des cocci en paires ou en chaînes, de longueur variable de 0,5 à 1 µm de diamètre, à Gram positif (Lazreg, 2017). Ce sont des bactéries aéro-anaérobie facultatifs, immobiles, mésophiles, homofermentaires, ne produisant que de l'acide lactique L(+). Seul *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* biovar. *diacetylactis* produit le diacétyle. Leur température optimale de croissance est proche de 30°C, capables de se développer à 10°C, mais pas à 45°C (figure 07).

En technologie laitière, les lactocoques jouent un rôle d'agent acidifiant « bioconservateur » (Tchamba, 2007).



**Figure 07** : Morphologie en microscope électronique de *Lactococcus lactis* subsp *lactis* x1000 (Menad, 2017)

**Tableau 01** : Les différents genres de bactéries lactiques et leurs principales caractéristique (Berguiga ; khemis, 2014)

Genre	Morphologie	Fermentation	Caractéristiques	Habitats
<i>Lactobacillus</i>	Bacilles	Homofermentaire Hétérofermentaires	Thermophiles Mésophiles	Homme, carnés Produits laitiers, végétaux ....
<i>Streptococcus</i>	Coques	Homofermentaires	Thermophiles	Produit laitiers
<i>Enterococcus</i>	Coques	Homofermentaires	Mésophiles croissance à 45 °C Thermorésistante	l'intestin de l'homme et des animaux, produit laitiers.
<i>Leuconostoc</i>	Coques	Hétérofermentaires	Mésophiles	Produit végétaux

## 5. Intérêts technologiques des bactéries lactiques

### 5.1. Activité acidifiante

La fonction acidifiante constitue la propriété métabolique la plus recherchée des bactéries lactiques utilisées dans les industries alimentaires. Elle se manifeste par l'hydrolyse de lactose grâce à la bêta-galactosidase pour produire le glucose et le galactose. Généralement le glucose provenant de cette hydrolyse sera fermenté pour produire des composés acides, du gaz carbonique ou de l'alcool. Cette production de composés acides va entraîner une baisse de pH. Cette dernière peut induire des odeurs et des goûts particuliers. De plus, l'acidification limite les risques de développement de flore pathogène au cours de la croissance. **(Dib, 2015 ; Boullouf, 2016)**

### 5.2. Activité protéolytique

Les bactéries lactiques possèdent des protéinases et des peptidases nécessaires à la dégradation des protéines du lait en peptides et acides aminés, ceux-ci peuvent alors être transformés en alcools et en acides, Cette activité protéolytique intervient de ce fait dans les caractéristiques du produit final,

Technologiquement, l'activité protéolytique constitue un caractère très important qui fait des bactéries lactique les seuls agents microbiens d'affinage de la majorité des fromages **(Mahi, 2010)**, De nombreuses protéases sont synthétisées par les bactéries lactiques qui peuvent êtres des aminopeptidases, dipeptidases ou tripeptidases, situées au niveau de la membrane plasmique ou dans le cytoplasme **(Bennama, 2012)**

### 5.3. Activité aromatisant

La production de composés aromatiques est liée à l'activité microbienne, plusieurs espèces de bactéries lactiques sont capables de synthétiser, à partir du citrate notamment, divers composés tels que le diacétyle , l'acétoine , l'acétate , principaux composés responsables de l'arome des produits laitiers fermentés.

Le diacétyle est le principal composé qui participe à l'arome de très nombreux produits laitiers qui est issu du métabolisme du citrate par différentes espèces de bactéries lactiques.

D'autres travaux ont montrés la capacité de certaines bactéries lactiques à convertir les acides aminés en molécules aromatiques **(Hammi, 2016 ; Belkheir, 2017)**.

## 5.4. Activité antibactérienne

Les propriétés antimicrobiennes des bactéries lactiques peuvent être associées à de nombreux éléments. Elles résultent de l'effet combiné de différents facteurs biologiques provenant de leurs activités métaboliques (**Hadj Abderrahman, 2015**)

Parmi ces substances qui ont un effet antibactérien :

- Les acides organiques : (acide lactique, acétique et propionique) exercent par leur nature la diminution du pH qui a un important effet antimicrobien. En effet, l'acide acétique possède une forte activité antibactérienne et un large spectre d'inhibition vis-à-vis des bactéries, des levures et des moisissures.
- Le dioxyde de carbone : joue aussi un double rôle antimicrobien : par sa propre activité antibactérienne et par la création de conditions d'anaérobiose.
- Le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) : provoque parfois une auto inhibition des bactéries qui le produisent mais aussi inhibe la croissance d'autres microorganismes qui se trouve dans le milieu.
- Les bactériocines : sont des substances de nature protéique produites par certaines bactéries lactiques, exercent une action antibactérienne contre des souches distinctes des souches productrices et contre certains pathogènes, jouant ainsi un rôle primordial dans la bioconservation des aliments (**Ammar et Irid, 2009**).

### 1. Phénomène d'antagonisme

Le phénomène d'antagonisme est considéré comme des interactions néfastes entre les microorganismes, on parlera alors de phénomène d'inhibitions (**Djidel, 2007 ; Tabak et Bensoltane, 2012**)

L'effet antagoniste des bactéries lactiques est principalement lié à la compétition pour les sources nutritionnelles, cet effet se traduit par la production de différentes substances de bas poids moléculaire tel que le diacétyl, dioxyde de Carbone, le peroxyde d'hydrogène, des bactériocines, etc....; et les différents acides organiques qui limitent la croissance de certains germes pathogènes (**Kermanshahi et Qamsari, 2015**)

### 2. Production de métabolites inhibiteurs

Les propriétés antimicrobiennes des bactéries lactiques peuvent être associées à de nombreux éléments, elles résultent de l'effet combiné de différents facteurs biologiques provenant de leurs activités métaboliques (**Smaoui, 2010**)

#### 2.1. Production de peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)

Le peroxyde d'hydrogène est reconnu depuis longtemps comme un agent majeur de l'activité antimicrobienne des bactéries lactiques en particulier celles des lactobacilles. La production de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> peut avoir lieu selon plusieurs modes, mettant en jeu des oxydases et probablement une super oxyde-dismutase (**Maizaini, 2001**)

Il est prouvé que le H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> peut s'accumuler et devenir inhibiteur pour quelques microorganismes. Cette accumulation résulte d'un déséquilibre entre les moyens de synthèse et de dégradation. Le peroxyde d'hydrogène peut aussi activer le système lactoperoxydase avec la formation de l'hypothiocyanate et d'autres antimicrobien. L'ion hypothiocyanate est un très puissant antimicrobien qui agit aussi bien sur les bactéries Gram positive que sur les bactéries Gram négative (**Maghnia, 2011**)

#### 2.2. Dioxyde de carbone (CO<sub>2</sub>)

Le CO<sub>2</sub> est principalement formé pendant la fermentation des hexoses suivant la voie hétérofermentaire. Le mécanisme précis de son action antimicrobienne est toujours inconnu. Cependant, le CO<sub>2</sub> peut jouer un rôle en créant une atmosphère anaérobie qui empêche les décarboxylations enzymatiques et l'accumulation du CO<sub>2</sub> dans la bicouche lipidique de la

membrane peut causer un dysfonctionnement dans la perméabilité (**Ouradi et arouche, 2007; Leonard, 2013**)

### 2.3. Diacétyl

Le diacétyl est un produit du métabolisme du citrate, c'est un inhibiteur actif contre de nombreux microorganismes, bactéries ou moisissures. Son action inhibitrice est accrue en milieux acides. Il est synthétisé par différents genres de bactéries lactiques, les concentrations nécessaires à l'obtention d'une inhibition sont de l'ordre de 100 ppm.

Le diacétyl inhibe la croissance bactérienne en interférant probablement avec les mécanismes gouvernant l'utilisation de l'arginine (**Baliarda, 2003 ; Dortu, 2008 ; Belarbi, 2011**).

### 2.4. Bactériocine

Les bactéries lactiques produisent des bactériocines avec des spectres d'inhibition plutôt larges (**Gálvez *et al.*, 2007**)

Les bactériocines produites par ces bactéries sont communément appelées peptides antimicrobiens qui présentent habituellement un degré élevé de spécificité sur la cible (**Woraprayote *et al.*, 2016**). Ce sont des peptides synthétisés par voie ribosomiale ou des protéines de faible poids moléculaire, ayant une activité inhibitrice dirigée contre les bactéries proches de la souche productrice. Dans tous les cas, la cellule productrice est immunisée vis-à-vis de l'action de sa propre bactériocine (**Dortu et Thonart, 2009**). L'activité antimicrobienne des bactériocines a un effet soit bactéricide, provoquant la mort de la bactérie cible, soit bactériostatique inhibant la croissance bactérienne sur d'autres espèces et genres. Mais l'activité est généralement limitée aux autres Gram-positifs; les bactériocines les plus étudiées sont celles produites par les bactéries lactiques connues pour leur rôle dans la bonne conservation des aliments.

La biosynthèse des bactériocines implique le plus souvent des groupes de gènes ou clusters comportant une ou plusieurs unités de transcription. Il existe une appellation génotypique spécifique pour chaque bactériocine, par exemple *nis* pour le cluster de gènes impliqué dans la biosynthèse de la nisine et *mrs* pour celui impliqué dans la biosynthèse de la mersacidine (**Corr, 2007 ; Makhloufi, 2011**)

#### 2.4.1. Classification des bactériocines

Les bactériocines produites par les bactéries lactiques sont réparties en quatre classes sur la base de leur poids moléculaire, thermostabilité, sensibilité enzymatique, présence d'acides

aminés post-traductionnellement modifiés et mode d'action. Cela est proposé par Klaenhammer (1993) (Madi, 2010).

➤ **Classe I : Les lantibiotiques**

Peptides de taille inférieure à 5 kDa, stables à la chaleur et qui contiennent des acides aminés inhabituels soufrés formés post-traductionnellement, comme la lanthionine, la -méthyl lanthionine, la déhydrobutyrine et la déhydroalanine.

➤ **Classe II : Les peptides non modifié**

Se sont des Peptides de taille inférieure à 10 kDa, thermostable, ne contenant pas d'acides aminés modifiés.

➤ **Classe III : Les protéines de haut poids moléculaire**

Protéines de taille supérieure à 30 kDa et thermolabiles. La structure et le mode d'action de ces bactériocines diffère complètement des autres bactériocines produites par les bactéries lactiques. Cette classe ne contient que quatre bactériocines : l'helvecine J produite par *Lactobacillus helveticus A*, l'enterolysine A produite par *Enterococcus faecium*, la zoocine A produite par *Streptococcus milleri*.

➤ **Classe IV : Les peptides cycliques**

Les bactériocines de cette classe sont des peptides cycliques synthétisés par voie ribosomale. Cette appellation est lié au fait que ces peptides sont modifié poste-traductionnellement. Actuellement, peu de bactériocines ont été identifiées dans cette classe. L'une des plus étudiées est l'entérocyne AS-48 produite par *Enterococcus faecalis*. Cette dernière est une bactériocine qui a une stabilité plutôt élevée due à sa forme cyclique.

(O'Sullivan *et al.*, 2002; Dortu et Thonart, 2009; Dib, 2015)

### 2.4.2. Mécanisme d'action des bactériocines

Le mode d'action le plus connu et le plus répandu chez les bactériocines des bactéries lactiques implique une action visant de barrière de la membrane (Izquierdo, 2009).

Les bactériocines sont cationiques interagissent avec les molécules anioniques de la surface de la cellule cible (Bastos *et al.*, 2015), ils vont s'adsorber sur la membrane cytoplasmique et la perméabiliser par formation des pores conduisant à la mort de cellule cible ainsi la perméabilité membranaire provoquant un déséquilibre ionique et une fuite de phosphate inorganique et d'autre part une perte de force proton motrice qui implique la dissipation totale de potentiel transmembranaire et de gradient de pH. Cette force proton motrice joue un rôle

centrale dans la synthèse ATP, le transport actif et la mobilité bactérienne (**Hammi, 2016**). Ces bactériocines montrent une forte activité spécifique contre les bactéries à Gram-positif dans les plages de concentrations nanomolaires (**Yoneyama *et al.*, 2009**).

Les bactériocines produites par les bactéries lactiques sont généralement actives à faible concentration contre des bactéries phylogénétiquement proches.

Les études portant sur des bactériocines sont toujours en cours afin de mieux comprendre leur structure et leurs modes d'actions pour élargir leurs applications (**makhloufi, 2011**).

### Lieu de travail

Ce travail a été réalisé au laboratoire de microbiologie générale de la Faculté de Science de la Nature et de la Vie, université Akli Mohand ou lhadj, Bouira, sous la direction et l'orientation du Mme Ben bara.T et Mr Chergui .A durant la période allant du mois de mars au mois d'avril 2018.

### 1. Produits et matériels

Plusieurs produits et milieux de culture ont été utilisés au cours de cette étude expérimentale, il s'agit des milieux et réactifs suivantes : **(voir la composition des milieux de culture annexe 1)**

**Tableau II :** Les produits chimique et milieux utilisé lors de cette expérience

Produit chimique	Milieux de culture
-Agar 15 g/l (ingrédient).	-Bouillon MRS (PH=6,7).
-Chlorure d'hydrogène (Hcl).	-Bouillon nutritif (PH=7,2).
-Chlorure de sodium (sel) 100 g/l.	-Gélose MRS (PH =6,7).
-Ethanol (C <sub>2</sub> H <sub>6</sub> O).	-Gélose nutritif (PH=7,2).
-Extrait de viande (ingrédient) 136 g/l.	-Mannitol Mobilité.
-Fushine (colorant).	
-Hydroxyde de sodium (MM 40 g/mole).	
-l'eau oxygéné (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ).	
-Lugol (l'eau iodée).	
-Peptone 300 g/l.	
-Violet de gentiane (colorant).	

Pour la réalisation des déférentes parties expérimentales, on s'est servi du matériel indiqué et énuméré ci-dessous: (voire annexe 2)

**Tableau III** : Liste de l'appareillage utilisé lors de l'expérimentation.

Appareille	Marque
-Agitateurs	Lab Tech( LMS003).
-Autoclave	wiseclave (WAC-80).
-Bain marin	Nuve (210.NB20).
-Balance	OHAUS ( SE402F).
-Incubateur	Lab Tech (LDO-08DN).
-Microscope optique	OPTIKA.
-pH mètre	METTLER TOLEDO(SNR: B615331415).
-Réfrigérateur	Maxi power (HR 345 w 01).

## 2. Origine des bactéries utilisées

### ➤ Bactéries lactiques

Les vingt sept (27) souches de bactéries lactiques ont été utilisées lors de cette étude dans le but de sélectionner celles qui ont une activité antibactérienne pour éventuel utilisation comme probiotique pour le poulet de chair. Ainsi, ces souches ont été isolées à partir de la matière fécale de poulet de chair de différents âges de certains poulaillers de Bouira.

Ces souches sont notées par des codes selon le tableau en dessous (**Tableau 03**)

**Tableau IV**: L'origine et les codes des souches lactiques sélectionner et étudier

Origine	Code des souches bactériennes	La série
<b>Matière fécale de poulet du chair</b>	A1BL1, A1BL2, A2BL1, A2BL2, A2BL3, A2BL4, A2BL5, A3BL1, A3BL3.	<b>Série 01</b>
	A5BL1, A5BL2, A5BL3, A5BL4, A6BL1, A6BL2, A6BL3, A6BL4, A7BL1.	<b>Série 02</b>
	A4BL1, A4BL2, A4BL3, A4BL4, A4BL5, A8BL1, A8BL2, A8BL3, A8BL4.	<b>Série 03</b>

## 2.2. Les souches pathogènes

Les bactéries pathogènes utilisées dans cette étude sont : *E.coli*, *Salmonella*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus feacals*, *Enterobacter*. Ces souches sont connues par leurs pouvoirs pathogènes pour l'Homme et l'animal. Ce sont des souches de référence de l'institut Pasteur d'Alger (**Tableau 04**)

**Tableau V** : Les souches de référence et leurs provenances.

Souches de référence	Origine
<i>Escherichia coli</i> (ATTC 25923)	Institut pasteur d'Alger
<i>Salmonella</i> (ATTC 43972)	
<i>Staphylococcus aureus</i> (FRI 137)	
<i>Enterococcus feacalis</i> (ATCC 49452)	
<i>Enterobacter</i> (ATCC 49452)	

### ➤ Revivification des souches

Les souches de bactéries lactiques ont été revivifiées par repiquage successif dans de bouillon MRS et incubation à 37 ° C pendant 24 h. Par la suite, ensemencée par des stries dans des boîtes Pétri contenant la gélose MRS (pH 6,5). Les cultures sont incubées à une période de 48 heures à 37°C. Ainsi, ces bactéries lactiques ont été identifiées par l'aspect des colonies sur gélose MRS, la coloration de Gram et la réaction de catalase.

Pour les souches pathogènes, la revivification a été faite dans de bouillon nutritif puis une incubation à 37°C pendant 24heures. Après incubation, les cultures sont ensemencées dans des boîtes Petrie contenant de la gélose nutritive et l'incubation se fait pendant 24 h à une température de 37 ° C.

Ces souches pathogènes ont été identifiées par l'aspect des colonies sur gélose, coloration de Gram et la réaction de catalase.

## 3. Identification des souches utilisées

L'identification des bactéries lactiques et des souches pathogènes est établie en se basant sur l'étude de leurs caractères morphologiques (examens macroscopique et microscopique) et la réaction de catalase.

### 3.1. Test macroscopique

Ce test se manifeste par l'observation à l'œil nu sur gélose adaptée pour chaque souche et noter la couleur; la taille et l'aspect des colonies (**Bey, 2009**). L'observation macroscopique est faite après 24 heures d'incubation à 37°C sur gélose MRS pour les bactéries lactiques et gélose EMB pour *E.coli*, Chapman pour *S.aureus* et Hektoen pour *Salmonella*.

### 3.2. Test microscopique

L'aspect microscopique consiste à observer la forme, taille, le mode d'association et le type de Gram des cellules après coloration de Gram. Cette dernière est une coloration classique en microbiologie, elle permet de différencier sur la base de la composition de la paroi cellulaire entre les bactéries à Gram positif de celles à Gram négatif (**Benbou, 2012**).

La coloration est effectuée pour chaque colonie isolée et l'observation des cellules est réalisée à Grossissement 100 en utilisant l'huile à émersion (**Voir annexe 2**).

### 3.3. Caractères biochimiques

Chez les bactéries douées d'un métabolisme oxydatif, le système respiratoire compte parmi d'autres enzymes une catalase, celle-ci décompose l'eau oxygénée selon la réaction suivante :



La méthode de recherche de la catalase consiste à mettre en contact une colonie de la bactérie à tester en présence d'une goutte d'eau oxygénée. Un dégagement gazeux abondant (dû à un dégagement de dioxygène) sous forme de mousse traduit la décomposition de l'eau oxygénée sous l'action de l'enzyme à tester (**Belyagoubi, 2014; Kassas, 2017**).

## 4. Mise en évidence de l'effet antagoniste

La recherche d'éventuelle production de substances inhibitrices par les bactéries isolées à l'égard des souches pathogènes est réalisée par un test d'antagonisme direct qui est le test de spots de **Schillinger et Lucke (1989)**.

#### 4.1. Préparation de la culture de 18 h des souches lactiques

A partir d'une culture jeune sur des boîtes de gélose MRS, nous avons prélevé quelques colonies avec la pipette Pasteur que nous avons suspendues dans un tube à essai contenant 05 ml de bouillon MRS (pH 6.5), puis incubé à 37°C pendant 18 heures.

#### 4.2. Préparation de la culture de 18h des souches pathogènes

A partir des boîtes de gélose nutritive contenant des colonies de souches pathogènes jeunes (souches de référence), on prend deux colonies par boîtes avec la pipette Pasteur et on la met dans un tube à essai contenant 05 ml de bouillon nutritif (pH 7) (chaque souche pathogène pour un tube de bouillon nutritif en total 5 tubes plus un tube témoin), puis on incube ces tubes à 37°C pendant 18 heures.

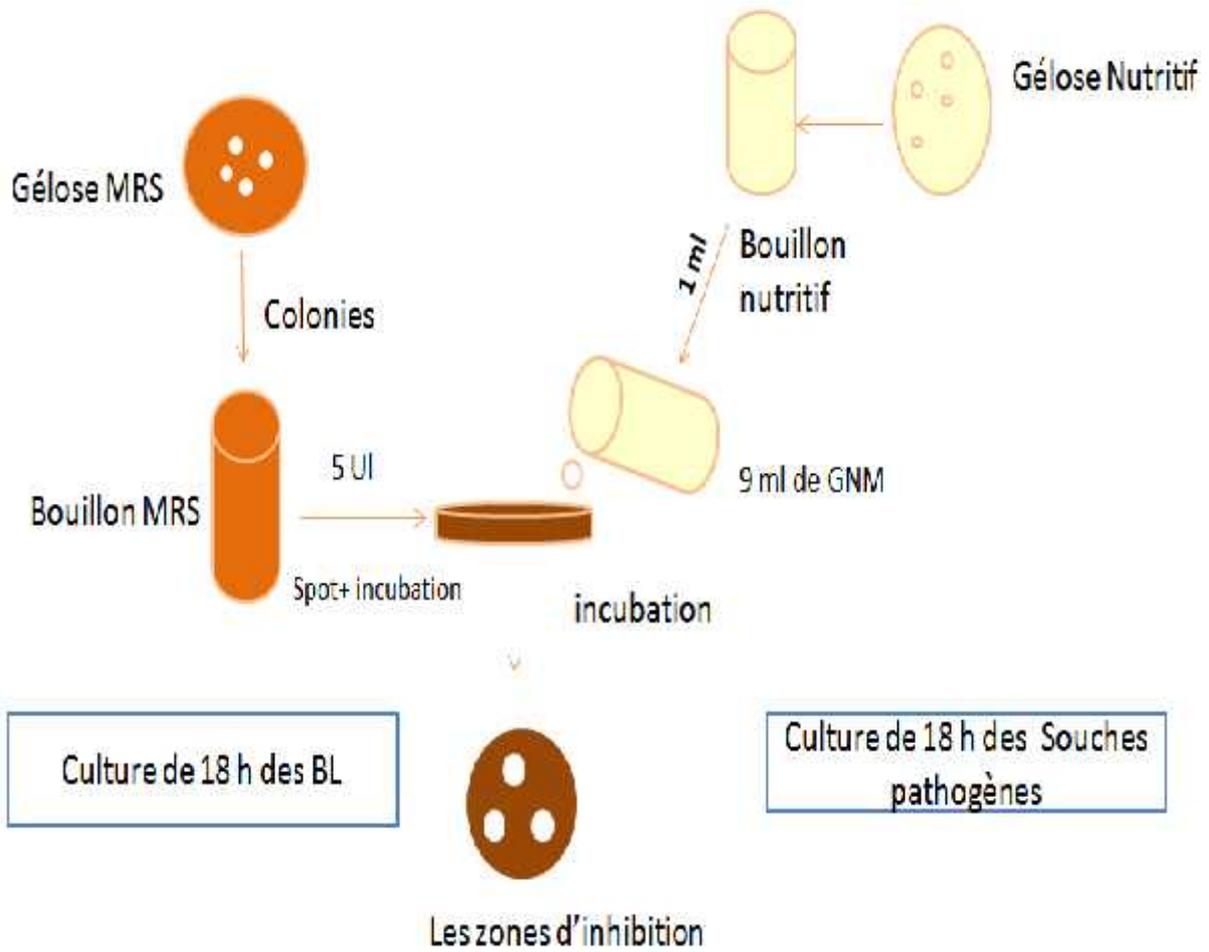
#### 4.3. Réalisation du test de spot

Ce test d'antagonisme est réalisé dans le but de révéler la production ou non de produits antibactériens par les souches de bactéries lactiques; par contre pour connaître la nature exacte de la substance un autre test peut être réalisé qui est le test des puits.

A partir des pré-cultures de souches lactiques sélectionnées obtenues après 18 heures d'incubation à 37°C, 5 µl ont étéensemencées sous forme de spots sur gélose MRS sécher devant bec bunsen à moitié ouverte de façon à obtenir trois spots par boîte de même taille et identiques. Ces boîtes sont laissées séchées près de bec bunsen pendant 30minute. L'incubation se fait en anaérobiose à 37°C durant 24 heures.

Après incubation, les boîtes ont été ensuite recouvertes par 10 ml de gélose nutritive molle (0.75% d'agar) inoculée par 1 ml d'une pré-culture de 18 h de chaque souche pathogène (*E.coli*, *Salmonella*, *S.aureus*, *E.fecalis*, *Enterobacter*).

Après 24 h d'incubation à 37°C des souches inhibitrices (souches lactiques) et indicatrices (souches pathogènes), les boîtes ont été examinées en vue de détecter les zones d'inhibition autour des spots et le diamètre de zone d'inhibition est mesuré.



**Figure 08 :** Mise en évidence du pouvoir antibactérienne par la méthode directe.

## 1. Résultats de l'identification

### 1.1. Résultats d'identification des souches lactiques

#### 1.1.1. Etude morphologique

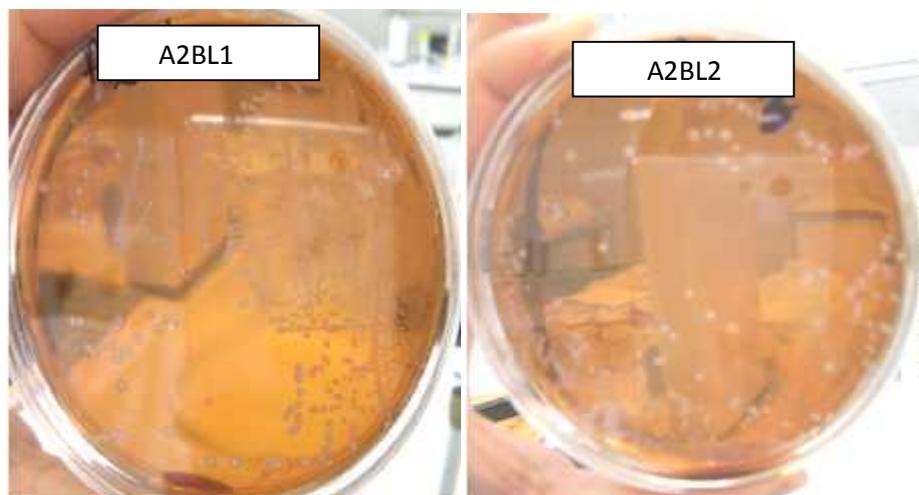
Les bactéries lactiques isolées sur leurs milieux spécifiques ont subi des observations macroscopiques et microscopiques avec quelques tests biochimiques pour confirmer le genre.

##### ➤ L'aspect macroscopique des bactéries lactiques sur milieu solide

Les cultures obtenues sur les boîtes de Petri sont observées à l'œil nu pour caractériser la forme, la taille, l'aspect ainsi que la couleur des colonies.

Ces colonies sont apparues de petite taille, de forme circulaire ou lenticulaire, avec une couleur blanchâtre et d'un pourtour régulier ou irrégulier.

La figure 09 montre l'aspect macroscopique des colonies de bactéries lactiques cultivées sur gélose MRS.



**Figure 09:** Aspect macroscopique de quelques colonies de souches lactiques isolées sur gélose MRS.

##### ➤ Les bactéries lactiques sur milieu liquide

La croissance des bactéries apparaît sous forme de trouble homogène fumeux dans le milieu MRS liquide, ce trouble est concentré au fond du tube à la recherche des conditions anaérobiques de ces bactéries (**Figure 10**)



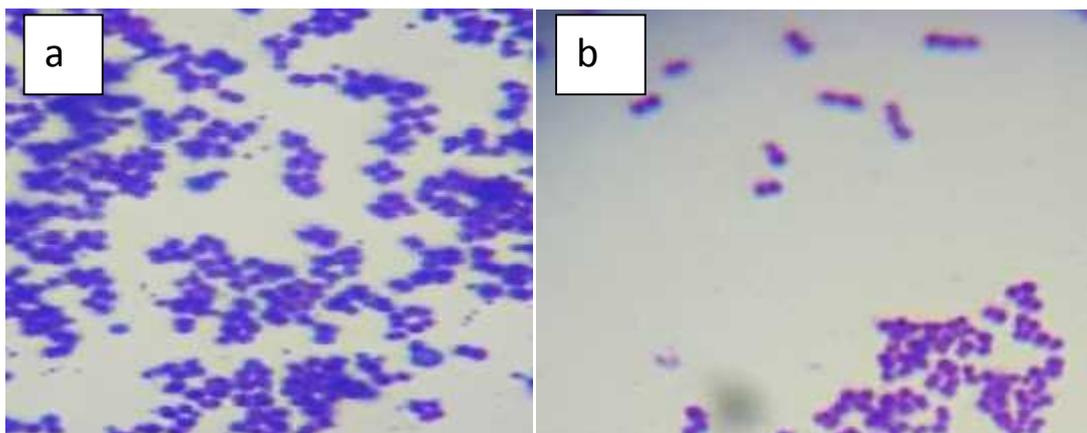
**Figure 10** : Photo de trouble à gauche et tube témoin à droite des bactéries lactiques dans Bouillon MRS

### Identification microscopique

Les 27 isolats ont été retenus pour réaliser une coloration de Gram. L'observation microscopique a révélé que les colonies isolés et purifiés sont à Gram positif, apparaissant sous formes cocci avec différents modes d'associations (chainette, tétrades, diplocoque,....).

La figure (11) montre l'aspect microscopique après la coloration de Gram de souches de bactéries lactiques (grossissement X100).

D'après la comparaison de nos résultats de ce test et celle de **Wouters *et al.*, 2002** les résultats ont montrés que, parmi les cocci isolées, la majorité appartenait au genres *Enterococcus* sp et *Lactococcus* sp ainsi *Pediococcus*.



**Figure 11**: aspect et mode d'association de quelques souches lactiques après coloration de Gram, (a) forme cocci en amas et (b) forme diplocoque

### Réaction de catalase

Dans le test de catalase on a révélé l'absence de dégagement de gaz (O<sub>2</sub>) ce qui nous confirme que ces isolats lactiques étaient catalase négatif. Les résultats pour ce test sont montrés dans la **figure 12**.



**Figure 12:** Résultats de test de la catalase pour identifier les bactéries lactiques

Les résultats biochimiques viennent confirmer l'appartenance de ces souches aux bactéries lactiques. Les différents caractères physiologiques et biochimiques de 27 souches de bactéries lactiques testées sont réunis dans le tableau suivant.

**Tableau VI :** Résultats de l'étude morphologique et biochimique des souches de bactéries lactiques.

Souches	Gram	Forme	Catalase
A1BL1	+	Cocci	-
A1BL2	+	Cocci	-
A2BL2	+	Cocci	-
A2BL1	+	Cocci	-
A2BL3	+	Cocci	-
A2BL4	+	Cocci	-
A2BL5	+	Cocci	-
A3BL1	+	Cocci	-
A3BL3	+	Cocci	-
A5BL1	+	Cocci	-
A5BL2	+	Cocci	-
A5BL3	+	Cocci	-
A5BL4	+	Cocci	-
A6BL4	+	Cocci	-
A7BL1	+	Cocci	-
A6BL1	+	Cocci	-
A6BL2	+	Cocci	-
A6BL3	+	Cocci	-
A4BL1	+	Cocci	-
A4BL2	+	Cocci	-
A8BL2	+	Cocci	-
A8BL4	+	Cocci	-

A8BL1	+	Cocci	-
A4BL3	+	Cocci	-
A4BL4	+	Cocci	-
A8BL3	+	Cocci	-
A4BL5	+	Cocci	-

## 1.2. Résultats d'identification des souches pathogènes

### 1.2.1. *Enterococcus faecalis*

Les colonies sur gélose nutritive blanches, lisses et sphériques (**figure 13**). La coloration de Gram montre des cellules roses donc à Gram-positif, ovales, disposées en paires ou en chaînes courtes (**figure 14**)



**Figure 13:** colonies d'*E. faecalis* sur GN **Figure 14:** coloration de Gram d'*E. faecalis*

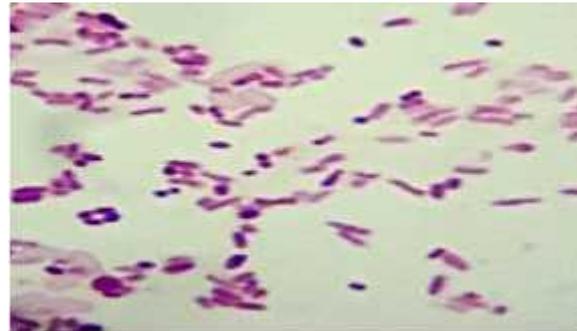
Observé par Microscope optique GX 100

### 1.2.2. *Escherichia coli*

Une bactérie du genre *Escherichia* est un bacille à coloration de Gram négative, aérobic-anaérobie facultatif, possédant une nitrate réductase et une catalase, dépourvue d'oxydase et non halophile. *E. coli* est une bactérie mobile avec une structure flagellaire péritriche et non-sporulée. Elle est capable de fermenter le lactose et de produire de l'indole et possède différentes enzymes telles que la lysine décarboxylase, l'ornithine décarboxylase (**Balière, 2016**)



**Figure 15:** Colonies d'*E.coli* sur EMB.



**Figure 16 :** *E.coli* observé sous microscope optique GX 100.

L'observation macroscopique sur gélose EMB montre des colonies vertes à éclat métallique ce qui indique que ce sont des souches d'*E.coli* (**figure 15**)

L'observation microscopique indique la présence des cellules rose, sous forme bâtonnet et dispersées (**figure 16**)

### 1.2.3. *Staphylococcus aureus*

*S. aureus* est une bactérie de type cocci à Gram positif, non capsulée, très résistante dans le milieu extérieur et peu exigeante en culture. La plupart des souches de *S. aureus* élaborent un pigment qui donne une couleur jaune-orangé aux colonies, d'où le nom de staphylocoque doré (**Davido, 2010**).

Les résultats d'identification macroscopique sur gélose Chapman montre des petites colonies dorées (**figure 17**) et la coloration de Gram, les staphylocoques apparaissent sous forme de cocci à Gram positif en amas (**figure 18**)



**Figure 17 :** Colonies de *S. aureus* Chapman



**Figure 18:** *S. aureus* observée sous microscope

### 1.2.4. *Salmonella*

*Salmonella* est une entérobactérie de la famille d'*Enterobacteriaceae*. Ses sont des bacilles de 2 à 3 mm de long Gram négatif non sporulant (**figure19 ; 20**). Ce sont des bactéries mésophiles, peu exigeantes d'un point de vue nutritionnel. Leur développement est optimal

pour des températures proches de la température corporelle des animaux à sang chaud, 35 à 37°C, et un pH de 6,5 à 7,5, font des bactéries extrêmement résistantes aux conditions environnementales même difficiles (congélation) et ce qui explique leur caractère ubiquiste.

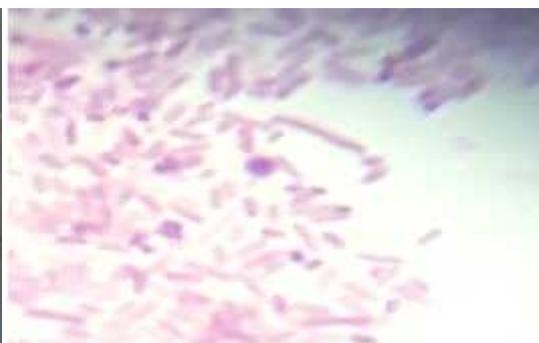


**Figure 19** :Colonies de *salmonella* sur Hektoen **Figure 20**: Coloration de Gram de *salmonella*

### 1.2.5. *Enterobacter*

Les espèces du genre d'*Enterobacter* sont des bacilles droits à Gram négatif, ils se présentent de manière isolée, groupée, ou en courtes chainettes ; mobiles par des flagelles péritriches et ils sont asporogènes comme toutes les entérobactéries. Elles se développent en aéro-anaérobie aux températures mésophiles d'incubation (de 30°C à 37°C) et forment après 18 à 24 heures des colonies rondes, de 2 à 3 mm de diamètre, légèrement irisées ou mates, sèches ou mucoïdes et avec des contours irréguliers (Khennouchi, 2015).

La coloration de Gram montre des bacilles à couleur rose ce qui signifie que ce sont des bactéries à Gram négatif (**figure 22**).



**Figure 21**: Aspect d'*Enterobacter* sur GN **Figure 22** : Observation des *Enterobacter* Sous Microscope optique GX100

## 2. Activité antibactérienne

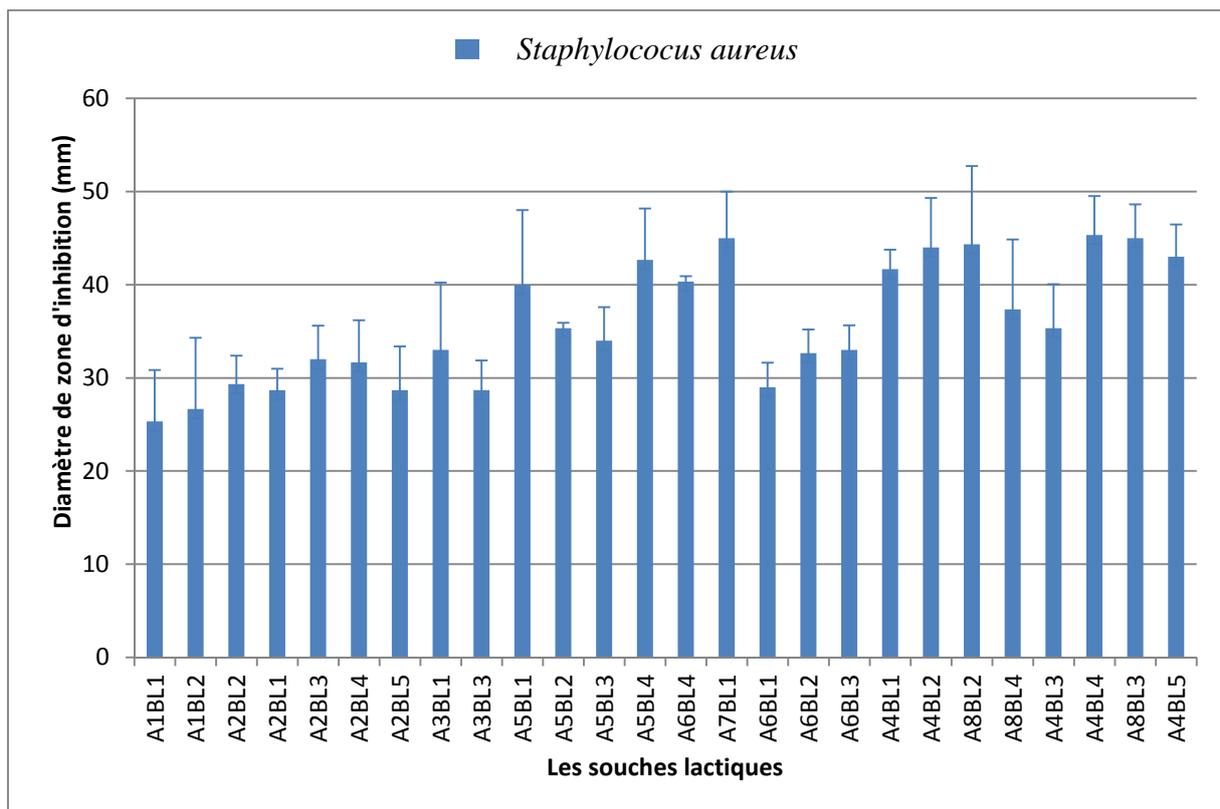
L'évaluation du pouvoir antagoniste de 27 isolats lactiques a été étudié vis-à-vis quatre souches cibles, indicatrices, à savoir *Staphylococcus aureus* (FRI 137), *Enterococcus faecalis*(ATCC 49452) , *Escherichia coli* (ATCC 25922), *salmonella* (ATTC 43972) et *Enterobacter* (ATCC 4952) par la méthode directe (méthode de spot).

L'inhibition se traduit par la formation d'une zone claire autour des souches lactiques déposées (spot) avec des bordures bien distincte.

Les résultats des interactions ont montré que toutes les souches isolées possèdent un effet inhibiteur contre les cinq (5) souches pathogènes utilisées mais avec un effet plus ou moins déferents.

Les diamètres des zones d'inhibition (Zi) apparaissant autour de ces spots ont été mesurés ainsi leur moyennes et écart-types ont été calculé.

### 2.1. L'Activité antibactérienne vis-à-vis *Staphylococcus aureus*



**Figure 23:** Interaction entre les souches lactiques et *Staphylococcus aureus*

D'après les résultats de test d'antagonisme on observe que toutes les souches lactiques ont une activité antibactérienne important envers *Staphylococcus aureus*, dont l'intervalle des diamètres des zones d'inhibition entre 25 et 45 mm.

On remarque que les dix souches lactiques suivantes (A7BL1, A4BL4, A8BL3, A8BL2, A4BL5, A4BL2, A4BL1, A5BL4, A5BL1, A6BL4) montrent l'activité la plus importante avec un diamètre des zones d'inhibition se situe entre 40 et 45 mm. Ainsi, la souche A4BL4 montre l'activité la plus marquante de 45.33mm.

Les souches lactiques testées sont active vis-à-vis de cette souche pathogène *S. aureus* qui est une bactérie à Gram positif et qui peut survivre pendant une longue période sur tout type de surface et tous type d'habitat. Les mains sont probablement le vecteur principal de transmission du *S. aureus* (**Davido, 2010**).

Elle peut causer de nombreuses maladies chez l'Homme: infections de la peau et des tissus mous, endocardites, infection du système nerveux central, infections pulmonaires, muscles et squelette, tractus génito-urinaire (**Robert, 2013**).

Nos résultats sont très intéressants par rapport à celles trouvé par **Benmammar (2017)** qui a trouvé des zones d'inhibition entre 12 et 16 mm de diamètre.

En revanche, **Heikkila et al., (2003)** ont trouvé un effet antagoniste des bactéries isolé à partir de lait maternel plus faible dont les diamètre des zones d'inhibition entre 1 et 2 mm. De même, **Belhamra (2017)** a trouvé que *Staphylococcus aureus* est la plus sensible à l'action des bactéries lactiques avec un diamètre varient entre 30,5 à 43,5mm.

Ces inhibitions peuvent être dues à une variété des substances inhibitrices produites par les bactéries lactiques.

D'après **Leonard(2013)**, l'effet bactéricide des souches lactiques peut être attribué à divers facteurs comme la compétition nutritionnelle et pour l'espace ainsi la production d'un ensemble de métabolites possédant des propriétés antimicrobiennes. Ces métabolites sont des acides organiques (principalement l'acide lactique), le peroxyde d'hydrogène, le dioxyde de carbone, le diacétyle la reutérine et les bactériocines.

Le métabolite antibactérien que produisent tout les bactéries lactiques est l'acide lactiques ce métabolites modifie le pH de milieu et peut avoir une influence sur les bactéries pathogènes tel que *Staphylococcus aureus*.

Selon **Jagoda suskovi et al., (2010)**, l'acide lactique provoque une détérioration par acidification, ainsi son effet inhibiteur dues principalement à sa forme, qui diffuse à travers la membrane cellulaire vers le cytosol et le rendre plus alcaline et interfère avec les fonctions

métaboliques essentielles. L'effet toxique de l'acide lactique comprend la réduction de pH intracellulaire et dissipation du potentiel membranaire.

COMA *et al.*, (2001) ; Charlier *et al.*, (2009) montrent que le potentiel antagoniste des bactéries lactiques peut également attribué à la production de bactériocines qui sont actives contre *S. aureus*. La bactériocine caractérisée et les plus fréquemment utilisée pour lutter contre *Staphylococcus* est la Nisin (un lantibiotique, produit par certaines souches de *L. lactis*) est un peptide antimicrobien efficace contre les bactéries Gram positives et de la pédiocine (un non-lantibiotique, produit par certaines souches de *Pediococcus acidilactici*).

Les résultats d'inhibition de *Staphylococcus aureus* sont illustrés dans la figure ci-dessous



Figure 24 : Les zones d'inhibition de quelques souches lactique vis-à-vis *Staphylococcus aureus*.

2.2. L'activité antibactériennes vis -à -vis *Enterococcus fécalis*

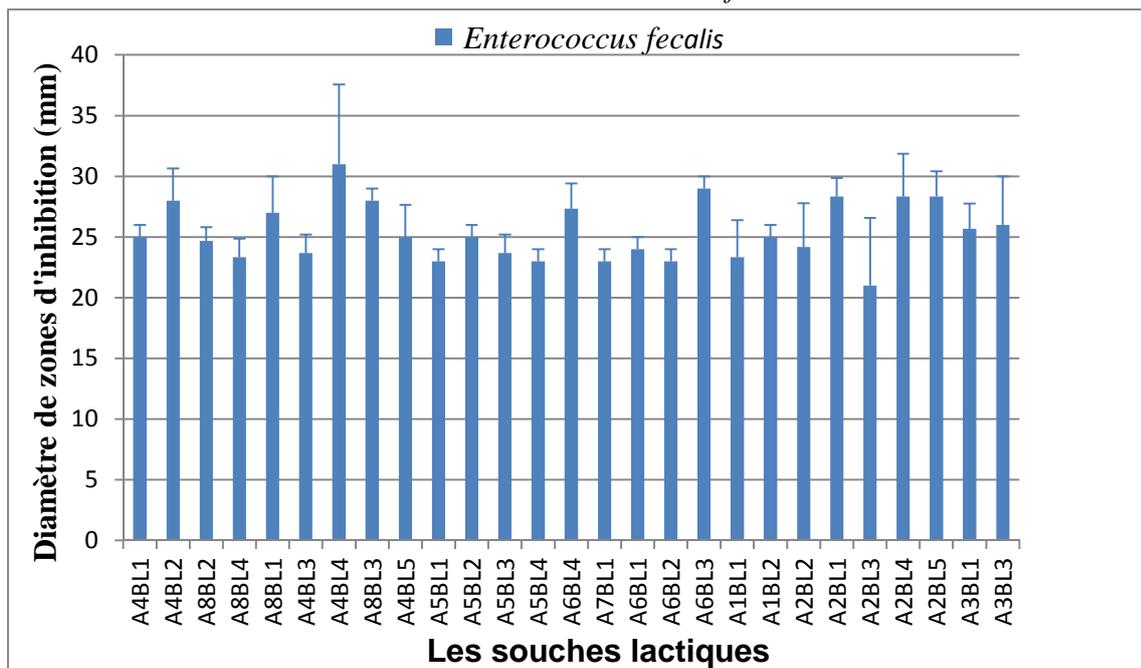


Figure 25 : L'interaction des souches lactiques avec *Enterococcus fecalis*

D'après les résultats de la mesure des diamètres des zones d'inhibition, on a remarqué que les souches lactiques sont actives vis-à-vis *Enterococcus faecalis*, dont on a observé que 15 souches lactiques (A4BL4, A4BL1, A4BL5, A4BL2, A8BL1, A8BL3, A5BL2, A6BL4, A6BL3, A1BL2, A2BL1, A2BL4, A2BL5, A3BL1, A3BL3) possèdent une grande activité inhibitrice à l'égard de la souche *Enterococcus faecalis* avec un diamètre des zones d'inhibition se situe entre à 25 et 31mm avec une meilleure activité démontré par la A4BL4 qui a donné 31mm de diamètre de zone d'inhibition.

*Enterococcus faecalis* est un organisme commensal humain connu comme agent pathogène opportunistes chez les patients immunodéprimés et pas pathogène pour les humains en bonne santé (Elmarghani , 2013).

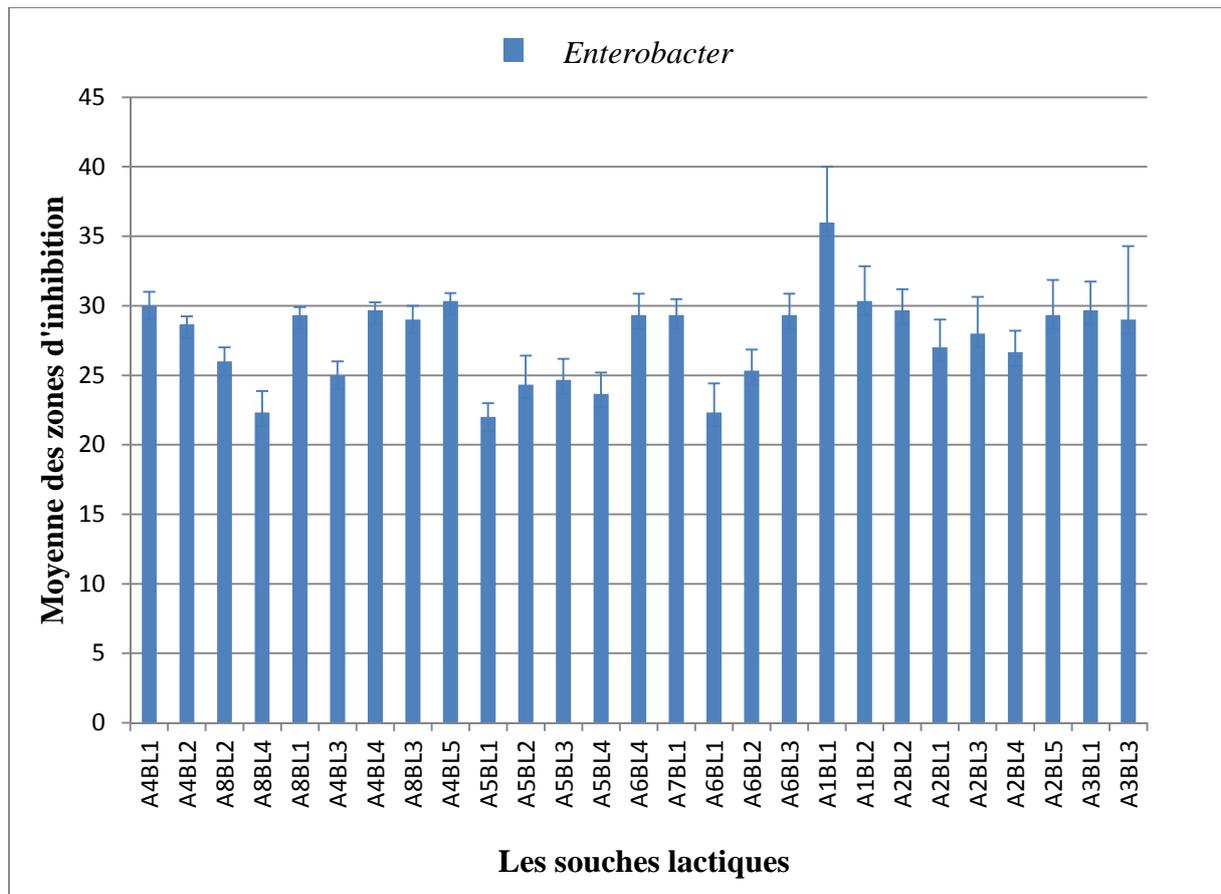
L'infection par cette bactérie se fait suite à une altération du microbiote intestinal induite par les antibiotiques. Il profitant du système immunitaire modifié de l'hôte et provoque une infection nosocomiale. Son mode de vie pathogène favorisé par l'expression de facteurs de virulence qui est une protéine riche en leucine entérocoque A (ElrA), elle est capable d'empêcher la détection et la migration des macrophages vers *E. faecalis* (Nunez *et al.*,2018).

Les travaux de Taale *et al.*, (2016) ont montré que les bactériocines produites par les bactéries Gram positif sont les plus nombreuses et les plus diversifiées. Elles ne sont pas actives sur la souche productrice mais sur des souches phylogénétiquement proches.

En revanche, les travaux de Labioui (2005), montre que les diamètres de zones d'inhibition générés par les souches lactiques sur les bactéries à Gram positif due probablement à la sécrétion des métabolites protéique de type bactériocine car les Gram positif sont généralement plus sensible à l'effet des bactériocines des bactéries lactiques.



**Figure 26** : les zones d'inhibition de quelques souches lactiques envers *Enterococcus faecalis*

2.3. L'activité antibactérienne vis-à-vis *Enterobacter*

**Figure 27:** l'effet antagoniste des bactéries lactiques envers *Enterobacter*

L'analyse de l'histogramme et la comparaison entre les zones d'inhibition produites par les différentes souches lactiques indiquent que la souche d'*Enterobacter* est inhibée les souches lactiques étudiées. Cependant, les souches (A4BL1, A4BL5, A1BL1, A2BL2) sont avérées les plus antagonistes à l'égard de cette souche cible avec des diamètres de zone d'inhibition dans l'intervalle de 29.6 à 36 mm. La souche A1BL1 est considérée la plus active avec 36mm de diamètre.

Les bactéries de ce genre sont des bactéries retrouvées dans l'environnement et dans le tube digestif de l'homme et des animaux. Elles sont responsables essentiellement d'infections nosocomiales surtout chez les patients présentant une immunodépression: infection urinaire, pneumopathie, bactériémies, le plus souvent associées à des infections sur cathéters et des infections chirurgicales. Elles deviennent actuellement des pathogènes majeurs dans cette situation (Belabbes, 2009).

Les propriétés inhibitrices des bactéries lactiques liées à différents mécanismes comme la compétition nutritionnelle et la production de métabolites qu'elles produisent naturellement lors de la fermentation (Mechai, 2009).

Ainsi, les bactéries lactiques sont dépourvues de catalase intervenant dans la décomposition du peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène. selon Belabbes,(2009), l'accumulation de l' $H_2O_2$  qui se produit inhibe certains microorganismes.

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



Figure 28 : Les zones d'inhibition de quelques souches lactique envers *Enterobacter*.

#### 2.4. L'activité antibactérienne vis-à-vis *Salmonella*

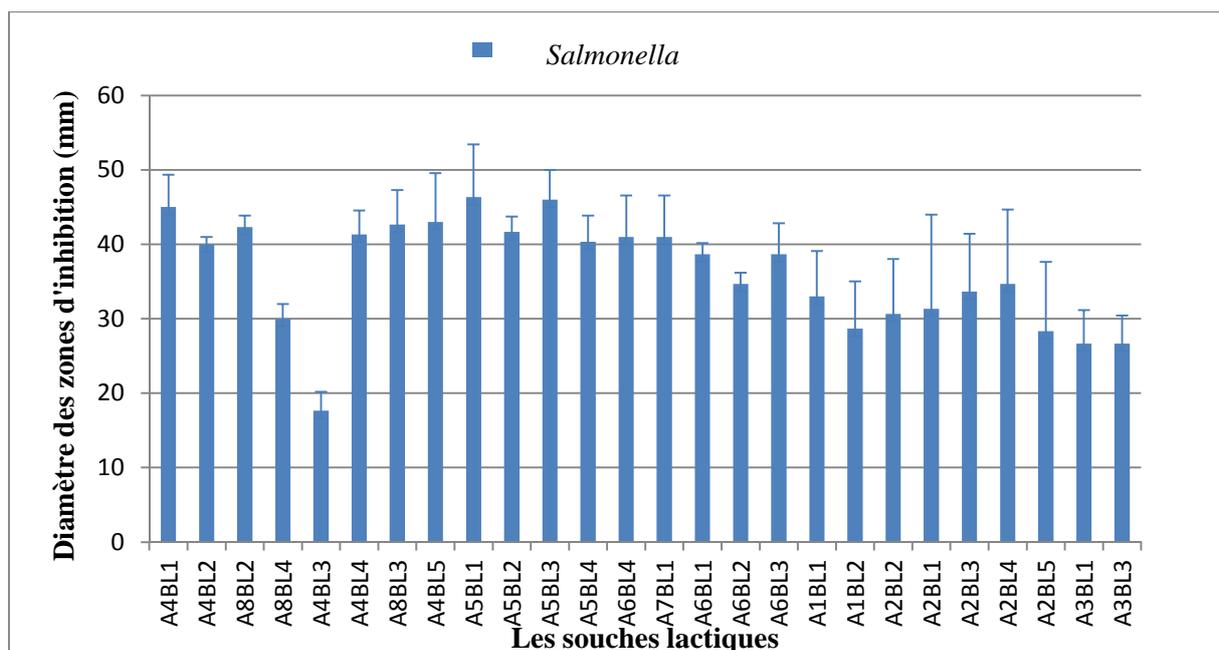


Figure 29 : L'effet antagoniste des bactéries lactiques envers *Salmonella*

Concernant *Salmonella*, les diamètres des zones d'inhibition varient entre 25 et 46 mm pour la majorité des souches, on a enregistré un diamètre le plus important par la souche A5BL1 avec une zone d'inhibition de 46,33mm de diamètre.

La transmission de *Salmonella* se fait majoritairement par la voie oro-fécale après ingestion d'aliments contaminés. Une fois ingérées, les salmonelles vont gagner l'intestin, la colonisation intestinale par *Salmonella* intervient majoritairement au niveau de l'ileum (Boukoucha, 2014).

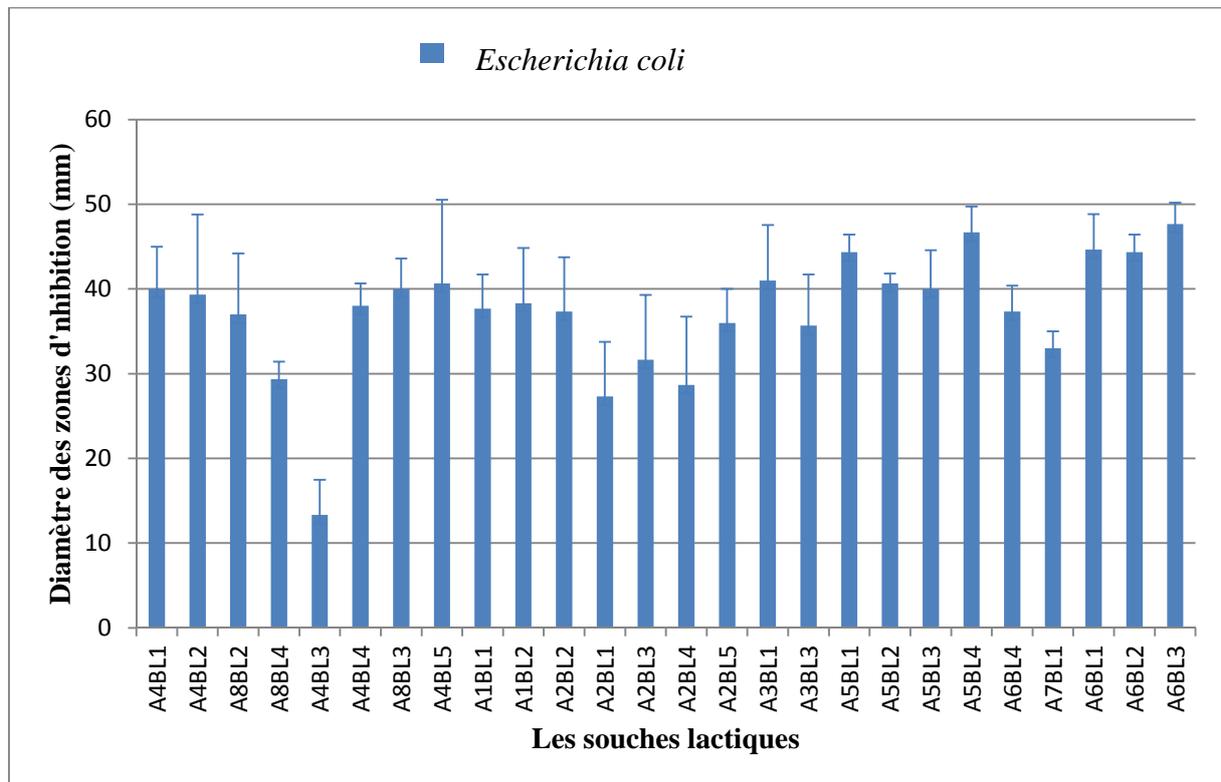
Le mécanisme d'action des probiotiques concerne l'inhibition de la croissance des bactéries pathogènes grâce à des composés antimicrobiens. Tels que la diminution du pH qui provoque la perméabilisations de la membrane externe des bactéries Gram-négatif facilitant ainsi la pénétration d'autres substances antimicrobiennes telles que les bactériocines (Bey, 2009)

D'après Dib *et al.*, (2012), la croissance des salmonelles est inhibée avec une zone d'inhibition de 20 mm de diamètre. Leur activité reste toutefois supérieure à celle des probiotiques lactiques commerciaux comme *L. acidophilus* et *L. rhamnosus* qui ont montré un diamètre d'inhibition de 11 et de 8 mm respectivement.

Les souches de *Salmonella* sont des espèces qui peuvent induire des dommages en termes de santé humaine et animal. Cette souche peut provoquer la maladie de salmonellose des volailles et induit des pertes économiques importante. Ainsi, ces souches lactiques qui ont inhibées cette espèce peuvent être utilisées comme additif alimentaire (probiotique) pour les volailles et plus exactement au poulet de chair et par cela éviter l'utilisation des antibiotiques en aviculture qui sont à l'origine d'augmentation de phénomène de la résistance.



Figure 30 : Les zones d'inhibition de quelques souches lactiques envers *Salmonella*

2.5. L'activité antibactérienne vis-à-vis *Escherichia coli*

**Figure 31** : L'effet antagoniste des bactéries lactiques envers *Escherichia coli*

La figure 31 indique que les diamètres des zones d'inhibition sont importants pour la majorité des souches dont on remarque un diamètre plus élevé pour ces deux souches A6BL3, A5BL4, de l'ordre de 47.6 et 46.6 mm respectivement.

*E.coli* est une bactérie pathogène qui se distingue des souches commensales par l'acquisition de propriétés de virulence à l'égard de l'hôte. Ces propriétés de virulence leur permettent d'affranchir les mécanismes de défense de l'hôte afin de s'établir dans de nouvelles niches écologiques et d'exprimer leur pathogénicité. Selon les facteurs de virulence acquis et leur tropisme tissulaire, ces souches pathogènes peuvent être à l'origine d'infection du tractus digestif, de l'arbre respiratoire et du tractus urinaire, mais également de méningites et de septicémies (Sylvie Miquel, 2012). Chez l'animal, cette espèce provoque la maladie de colibacillose qui a des effets néfastes sur l'élevage et l'aviculture précisément.

Nos résultats sont plus importants par rapport à ceux de Savadogo *et al.*, (2004), où ils ont reportés un diamètre pour *E. coli* de l'ordre de 20 mm.

Ainsi, important à celle de **Azhar *et al.*, (2015)**, qui à trouvé des zones d'inhibition plus réduit 0.81 à 2.5 par l'isolement de 128 souches lactiques à partir de centaines d'échantillons de saucisses collectés dans différents supermarchés.

**Ram Kumar Pundir *et al.*, (2013)** ont signalé que la souche d'*Escherichia coli* est sensible à toutes les souches lactiques isolées à partir d'échantillons alimentaires dont le diamètre est égale à 30mm.

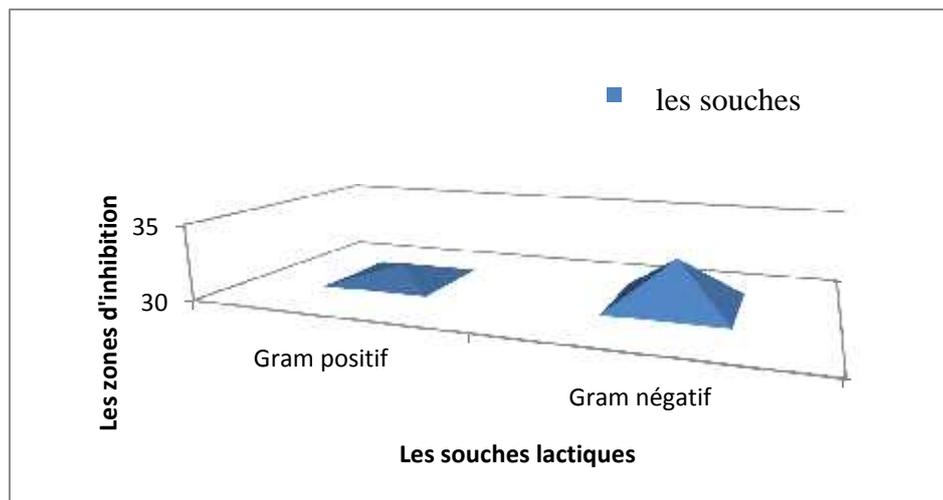
On peut dire que l'activité antagoniste trouvé peut être attribué à la production de substances antimicrobiennes ou des métabolites tels que les acides organiques, le peroxyde d'hydrogène, éthanol, diacétyl, acétaldéhyde, acétoïne, dioxyde de carbone, la reutérine, la reutéricycline et les bactériocines (**Parisa Shokryazdan *et al.*, 2014**)

**Huiying *et al.*, (2011)**, trouve que l'effet antimicrobien des bactéries lactiques envers *Escherichia coli* est dû aux deux types d'isomères d'acide lactique (Acide D-lactique et acide L-lactique).



**Figure 32** : zones d'inhibition de quelques souches lactiques envers *Escherichia coli*

### 3. Evaluation de l'activité antibactérienne envers les Gram-négatif et Gram Positif



**Figure 33 :** L'effet antagoniste des souches lactiques envers les Gram positif et Gram négatif.

L'ensemble des souches ne présentent pas le même spectre d'action vis-à-vis des bactéries pathogènes. Dont les souches pathogènes à Gram négatifs sont les plus sensibles à l'effet bactéricide des bactéries lactiques que les Gram positif.

Cet activité antimicrobienne ne se concorde pas avec les travaux des autres chercheurs dont **Dubois (1982); Hadeif (2012) ; Elmoualdi (2007)** qui ont trouvé que le spectre d'action des bactéries lactiques isolée de différents biotopes est plus important envers les Grams positif que les Grams négatif.

En règle générale, l'effet antibactérien des souches lactiques probablement due à la sécrétion de bactériocines qui ne sont pas parfois actives contre les bactéries à Gram négatif. Ceci est du à la différence dans la composition de l'enveloppe cellulaire des bactéries Gram positives et Gram négatives. Toutefois, certaines études ont suggéré qu'un changement des propriétés de perméabilité de la membrane externe suite à certaines conditions de stress rendrait les Gram négatives sensibles aux bactériocines (**Souid, 2013**).

D'autre part, **Patricia Castellano et al., 2017** ont montré que les bactériocines peuvent avoir une plus grande possibilité de cibler des souches pathogènes à Gram négatif si la membrane externe a été déstabilisée par la présence d'un autre obstacle. Tels que des traitements doux utilisant des acides organiques, des agents chélatants et des huiles essentielles.

## Conclusion

---

Les bactéries lactiques ont un intérêt primordial dans l'alimentation, il ya au moins quatre milles ans que l'homme sert de ces bactéries. Elles jouent un rôle important dans l'entretien et l'amélioration de la santé de l'homme. De nombreuses bactéries lactiques à activité antimicrobienne ont été mises en évidence en exploitant les potentialités inhibitrices naturelles par des tests d'interaction entre les bactéries pathogènes et les isolats de bactéries lactiques.

Le présent travail a été consacré à l'identification des souches lactiques isolées de matière fécale de poulet de chair par l'observation de ces souches par culture sur milieu liquide et solide. Ainsi, les isolats ont été soumis à différents tests biochimiques et microbiologiques. Par la suite, testé le pouvoir antagoniste de ces souches lactique envers les microorganismes pathogènes qui sont impliqués dans les toxi-infections ou les intoxications alimentaires appartiennent aux espèces suivantes : *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Enterococcus faecalis* et *Entrobacter*.

L'activité antibactérienne a été réalisée sur vingt sept souches lactiques vis-à-vis de cinq souches pathogènes par la méthode directe (test de spot).

Nous avons constaté que toutes les souches lactiques ont la capacité d'inhiber tout type de bactéries pathogènes quelque soit le type de Gram positif ou négatif. Mais cette activité est plus importante sur les Gram négatif que sur les Gram positif.

Cependant, l'identification microscopique de nos souches lactiques a révélé qu'elle sont toutes à Gram positif de type cocci et avec différents mode d'association (tétrade, amas, diplocoque)

Cette étude peut être poursuivie par l'identification moléculaire des souches lactiques, élargir le spectre d'activité contre d'autres souches pathogènes, connaître la nature exacte de la substance inhibitrice, testé in vivo l'effet de ces souches et fabriquer un additif alimentaire à base de ces souches lactiques pour une éventuelle utilisation dans l'alimentation des animaux.

## *Référence bibliographique*

### **A**

**ABDERRAHMAN, H. (2015).** Recherche des substances à activité antimicrobiennes produites par des souches bactériennes isolées à partir du lait bovin. Biologie, kasdi Merbah Ouargla. Master: 64.

**ABID, Z. (2015).** Étude de l'activité antimicrobienne des souches de bactéries lactiques isolées d'un produit laitier traditionnel Algérien «Jben», Abou Bekr Belkaid-Tlemcen. Master: 90.

**AHMAD, V., Khan, M. S., Jamal, Q. M. S., Alzohairy, M. A., Al Karaawi, M. A., Siddiqui, M. U. (2017).** Antimicrobial potential of bacteriocins: in therapy, agriculture and food preservation.. *Int J Antimicrob Agents*, 49(1), 1-11.

**AHRNE, L. A. (2000).** Lactic acid bacteria *Applied Microbial Systematics*, 367-388.

**ALAKOMI, H.L., Saarela, E. S., Mattila-sandholm, T. Latva-kala, K., Helander. I. M. (2000).** Lactic Acid Permeabilizes Gram-Negative Bacteria by Disrupting the Outer Membrane. *Applied and environmental microbiology* Hachee de dr.. *Rev. Microbiol. Ind. San et Environn*, 10, 1-12.

**ALEGRE, E. I. (2009).** Les protéines bactériennes en tant que biomarqueurs de l'activité probiotique Strasbourg. Doctorat: 215.

**ALLOUCHE, F. N., A. H., Larabac . A. (2010).** Etude de l'activité antimicrobienne des souches de lactobacilles thermophiles utilisées dans l'industrie laitière. *Nature & Technologie. Food Technol. Biotechnol.*, 48 (3), 296–307.

**AMMOR, S., Tauveron, G., Dufour, E., Chevallier, I. (2006).** Antibacterial activity of lactic acid bacteria against spoilage and pathogenic bacteria isolated from the same meat small-scale facility. *Food Control*, 17(6), 454-461.

**ANTOINE, J. M. (2011).** Les ferments lactiques et les laits fermentés: nature et effets. *Phytothérapie*, 9(2), 76-81.

**APPLEGATE, T. J., Klose, V., Steiner, T., Ganner, A., Schatzmayr, G. (2010).** Probiotics and phytonutrients for poultry: Myth or reality. *The Journal of Applied Poultry Research*, 19(2), 194-210.

**AZHAR. M ., HASAN .A., LUBNA. M.I. E. (2015).** Effect of lactic acid producing bacteria on some potential pathogens in sausage. *Assiut Vet. Med. J*, 61, 144.

## ***B***

**BAHRI, F. (2014).** Isolement et caractérisation des souches de lactobacilles a caractères probiotiques a partir de selles d'enfants, Constantine I. doctorat: 147.

**BALCAZAR, J. L., Blas, I., Ruiz-Zarzuola, I., Vendrell, D., Girones, O., Muzquiz, J. L. (2007).** Sequencing of variable regions of the 16S RNA gene for identification of lactic acid bacteria isolated from the intestinal microbiota of healthy salmonids. [Research Support. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis*, 30(2), 111-118.

**BALIARDA, A. (2003).** Évaluation de la réponse au stress chez les bactéries lactiques appartenant aux genres *pediococcus* et *tetragenococcus* approches physiologiques et génétiques, Bordeaux. Doctorat: 394.

**BALISH, E., Warner, T. (2002).** *Enterococcus faecalis* Induces Inflammatory Bowel Disease in Interleukin-10 Knockout Mice. *The American Journal of Pathology*, 160(6), 2253-2257.

**BELARABI, F. (2011).** Isolement et sélection des souches de bactéries lactique productrice des métabolites antibactériennes Oran. Magister: 129.

**BELHAMRA, Z. (2017).** Croissance et survie des probiotiques en présence des édulcorants et des additifs alimentaires. Biologie, Ferhat Abbas Sétif 1. Doctorat: 147

**BELKHEIR, K. (2017).** Caractérisation technologique de nouvelles souches de bactéries lactique isolées du lait de chamelle d'Algérie Réalisation de ferments lactiques. Génie microbiologique, Oran 1 Ahmed Ben Bella. Doctorat: 198..

**BELYAGOUBI, L. (2014).** Antibiotiques produits par des bactéries (actinomycètes et bactéries lactiques) issus de différents écosystèmes naturels algériens, Aboubakr Belkaïd-Tlemcen. Doctorat: 209.

**BELYAGOUBI, S. (2015),** Isolement et caractérisation biotechnologiques des bactères lactiques isolées à partir des margines d'olives (AMOREDJ) fermentés, in Biologie, Ahmed ben bella Oran .Doctorat :.203.

**BENABBOU, A. (2012).** Antibiorésistance des bactéries lactiques isolées de produits artisanaux algériens Oran. Magister: 121.

**BENGUELLA, N. (2015).** Recherche de bactériocines produites par les bactéries lactique isolées du lait de chamelle, Abou Becr Belkaid Tlemcen. Master: 58.

**BENNAMA, R. (2012).** *Streptococcus thermophilus* : isolement et recherche systématique de souche indigènes productrices d'exopolysaccharides, Oran. Doctorat: 153.

**BERNARDEAU, M., Guguen, M., Vernoux, J. P. (2006).** Beneficial lactobacilli in food and feed: long-term use, biodiversity and proposals for specific and realistic safety assessments. FEMS Microbiol Rev, 30(4), 487-513.

**BISWAS, S. R., Johnson, P. R., M. C ., RAY. B (1991).** Influence of Growth Conditions on the Production of a Bacteriocin, Pediocin AcH, by *Pediococcus acidilactici* Ht. Applied and environmental microbiology, 57, 1265-1267.

**BOUADJAIB, S. (2013).** Etude physico-chimique du produit laitier traditionnel du sud algérien "jben", recherche du pouvoir antimicrobienne des bactéries lactiques. Biologie, Abou Bekr Belkaid Tlemcen. Master: 110

**BOUCHARD, D. (2016).** Potentiel probiotique des bactéries lactiques de l'écosystème mammaire bovin contre les mammites à Bull. Soc. Pharm. Bordeaux, 147, 7-18.

**BOUKOUCHA, M. (2014).** Caractérisation phénotypique et moléculaire des salmonelles isolées à partir des aliments et d'origine humaine responsables de gastro-entérites, Doctorat en Sciences Alimentaires, Constantine 1. Doctorat: 201.

**BOULOUF, A. (2016).** Technologie Alimentaire, Etude du pouvoir technologique de quelques bactéries lactiques du fromage traditionnel « Bouhezza ». Technologie alimentaire, frères mentouri Constantine. Magister: 135.

**BOUZAIID.M, R. C. H. L., Hasib.A. (2016).** Activité Antimicrobienne Des Souches De Bactéries Lactiques Isolées De Viande Hachée. Rev. Microbiol. Ind. San et Environn, 10, 1-12.

**BRAHIMI, S. (2015).** Isolement et caractérisation biotechnologique des bactéries lactique isolées à partir des margines d'olives « AMORDJ » fermenté, Oran 1 Ahmed ben Bella. Magister: 203.

## C

**CARINE D, P. T. (2009).** Les bactériocines des bactéries lactiques : caractéristiques et intérêts pour la bioconservation des produits alimentaires. Biotechnol. Agron. Soc. Environ, 13(1), 143-154.

**CENATIEMPO, Y. J. B., Biet, F., Fremaux, C ., Hechard, Y., Robichon, D. (1996).** Bactériocines de bactéries lactiques : données récentes sur leur structure, leur mode d'action et leurs déterminants génétiques. Le Lait, INRA Editions, 76, pp.169-177.

**CHARLIER, C., Cretenet, M., Even, S., Le Loir, Y. (2009).** Interactions between *Staphylococcus aureus* and lactic acid bacteria: an old story with new perspectives. Int J Food Microbiol, 131(1), 30-39.

**CHARLIER, C., Even, S., Gautier, M., Le Loir, Y. (2008).** Acidification is not involved in the early inhibition of *Staphylococcus aureus* growth by *Lactococcus lactis* in milk. *International Dairy Journal*, 18(2), 197-203.

**CHARLOTTE, B. (2016).** Les *Escherichia coli* potentiellement pathogènes dans l'environnement littoral : cas des STEC et des EPEC, Bretagne occidentale - Brest. Doctorat: 180.

**CISSE, H., Savadogo, A., Taale, E., Tapsoba, F., Guira, F., Zongo, C., Traore, Y. (2017).** Influence des substrats carbonés et minéraux sur l'activité des substances BLIS (Bacteriocin-Like Inhibitory Substances) produites par des souches de *Bacillus* isolées à partir d'aliments fermentés au Burkina Faso. *Journal of Applied Biosciences*, 106(1), 10236.

**COMA.V., PARDON.I.S.P., DESCHAMPS.A., PICHAVANT.F.H. (2001).** Antimicrobial Edible Packaging Based on Cellulosic Ethers, Fatty Acids, and Nisin Incorporation To Inhibit *Listeria innocua* and *Staphylococcus aureus*. *Journal of Food Protection*, Vol. 64(4), 470–475.

**CORR, S. C., Li, Y., Riedel, C. U., O'Toole, P. W., Hill, C., Gahan, C. G. (2007).** Bacteriocin production as a mechanism for the antiinfective activity of *Lactobacillus salivarius* UCC118. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 104(18), 7617-7621.

**CORRIEU, G. Luquet. (2008).** Bactéries lactiques, de la génétique aux ferments. *Revue Francophone des Laboratoires* .17.

**CORSETTIA, A., Corsettia, P. L., Moreab, Baruzzib ., F. Tostic, N., Gobbettid, M. (2001).** Phenotypic and molecular identification and clustering of lactic acid bacteria and yeasts from wheat (species *Triticum durum* and *Triticum aestivum*) sourdoughs of Southern Italy. *International Journal of Food Microbiology*, 64, 95-104.

**COTELO1,Martín. Fraga., Giacaman. S ., Zunino.A., Carro .T, S. (2013).** Antimicrobial properties of lactic acid bacteria isolated from Uruguayan artisan cheese. *Food Science and Technology*, 33(4), 801-804.

## D

**DAMIEN, B. (2016).** Potentiel probiotique des bactéries de l'écosystème mammaire bovin contre les mammites à *Staphylococcus aureus*, Rennes 1 Doctorat: 327.

**DARABI, P., Goudarzvand, M., Mehrabani Natanzi, M., Khodaii, Z. (2014).** Antibacterial Activity of Probiotic Bacteria Isolated From Broiler Feces and Commercial Strains. International Journal of Enteric Pathogens, 2(3).1-6

**DAVID, J. (2009).** Attribution des cas de salmonelloses humaines aux différentes filières de production animale en France. Adaptabilité et robustesse du modèle bayésien d'attribution par typage microbiologique, Européenne de Bretagne. Doctorat: 277.

**DAVIDO, B. (2010).** Etude de la prise en charge ambulatoire des infections cutanées Communautaires à staphylocoque doré, Denis Diderot. Doctorat: 61.

**DIB, H. E. H., Mrad, S., Ayoub, S., Choueiry, R. J., Moussa, L., Bitar, G. (2012).** Identification et évaluation de l'effet probiotique des bactéries lactiques isolées dans des fromages caprins traditionnels. Lebanese Science Journal, 13, 43-58.

**DIB, W. (2015).** Caractéristique et rôle probiotique des bactéries lactiques isolées à partir du lait de chèvre : effet immunomodulateur chez la souris Balb/c, ORAN. Doctorat: 188.

**DJADOUNI, F. (2013).** Évolution de l'activité antimicrobienne des isolats de bactéries lactiques et détermination du spectre d'action de leurs biopeptides vis-à-vis des germes d'altération, Oran. Doctorat: 234

**DJIDEL, A. (2007).** Production d'acide lactique par *Lactobacillus casei subsp. rhamnosus* sur jus de datte : Cinétique et optimisation en cultures discontinues, semi-continues et continues, Institut National Polytechnique de lorraine. Doctorat: 246.

**DOLEYRES, Y. (2003).** Production En Continu De Ferments Lactiques Probiotiques Par La Technologie Des Cellules Immobilisées, Laval. Doctorat: 167.

**DOMINGOS-LOPES, M. F. P., Stanton, C., Ross, P. R., Dapkevicius, M. L. E., Silva, C. C. G. (2017).** Genetic diversity, safety and technological characterization of lactic acid bacteria isolated from artisanal Pico cheese. *Food Microbiol*, 63, 178-190.

**DORTU, C. (2008).** Isolement d'une bactérie lactique produisant de la sakacin G et utilisation sur des matrices alimentaires Wallonie-Europe. Doctorat: 155.

**DROUAULT, S. G. C. (2001).** Effets des bactéries lactiques ingérées avec des laits fermentés sur la santé. *Veterinary Research, BioMed Central*, 32 (2), 101-117.

**DUBOIS, G., Charbonneau,W. S., Gagnon, R. M. (1982).** Inhibition de quelques bactéries pathogènes et potentiellement pathogènes par streptococcus lactis, streptococcus thermophilus, lactobacillus acidophilus et lactobacillus helveticus. *Le Lait, INRA Editions*, 62, 681.

## ***E***

**EIKKILA, M. P., Saris, P. E. J. (2003).** Inhibition of *Staphylococcus aureus* by the commensal bacteria of human milk. *Journal of Applied Microbiology*, 95(3), 471-478.

**ELFAHRI, K. (2012).** Release of bioactive peptides from milk proteins by *lactobacillus speccies*, school of biomedical and health science. Doctorat: 133.

**ELMOUALDI.L ., H. L.,Boushama.L ., Benzakour.A ., Ouhsine.M., EL yachiouI.M. (2008).** Activité bactéricide d'une souche de *lactococcus lactis subsp. CREMORIS* Bull. Soc. Pharm. Bordeaux, 147, 7-18.

## ***F***

**FATMA, Z. (2015).** La sélection des souches des bactéries lactiques protéolytiques isolées à partir d'un produit laitier fermenté artisanale a basse de lait de vache « j'ben ». Kasdi Merbah Ouargla. Master :78 .

**Fröhlich, H. K. a. J. (2009).** Lactic Acid Bacteria, Biology of Microorganisms on Grapes, in Must and in Wine Springer-Verlag Berlin Heidelberg.

## ***G***

**GAAMOUCHE, S. A. A., M.Bakkali., Laglaoui.A. (2014).** Antimicrobial activity of lactic acid bacteria and bacteriocins isolated from a traditional brine table olives against pathogenic bacteria. *Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci*, 3(11), 657-666.

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

**GEORGES .Corrieu., François-Marie .Luquet. (2008).** Bactéries lactiques, de la génétique aux ferments. Vol. 2008. *Revue Francophone des Laboratoires* (p. 17)

**GERALD BOUREL, S. H., Krantar K, Oraby M, Charles Diviès., Garmyn, D. (2001).** Métabolisme sucre-citrate chez *Leuconostoc mesenteroides*. *Physiologie, métabolisme*, 75-82.

**GERT. N, Wil. M .N. Konings., Arnold J.M. Driessen. (1999).** Bacteriocins: mechanism of membrane insertion and pore formation. *Antonie van Leeuwenhoek*, 76, 185-198.

**GUTERIANI , H. (2007).** Etude de l'effet des bactéries lactiques sur l'inhibition des bactéries impliquées dans la physiopathologie digestive in vitro. Hassiba ben bouali Chlef. Magister:120.

## ***H***

**HADEF, S. (2012).** Évaluation des aptitudes technologique et probiotiques des bactéries lactiques locales, Kasdi merbah-ouargla. Magister: 135.

**HAMI, K. (2011).** Antibacterial effects of probiotics isolated from yoghurts against some common bacterial pathogens. *African Journal of Microbiology Research*, 5(25).

**HAMMI, I. (2016).** Isolement et caractérisation de bactériocines produites par des souches de bactéries lactique isolées à partir de produits fermenté marocains et de différentes variétés de fromages français. Strasbourg et Sidi Mohamed Ben Abdallah. Doctorat: 149.

**HUGHES, E. R., winter, S. E. (2016).** *Enterococcus faecalis*: *E. coli*'s Siderophore-Inducing Sidekick. *Cell Host Microbe*, 20(4), 411-412.

## ***I***

**ISNARD, C. (2017).** « *Enterococcus spp*: entre pathogènes opportunistes et probiotiques », , université de Caen Normandie, 299p., Caen Normandie. Doctorat: 299.

## ***J***

**JAGODA .Suskovi., Jasna Beganovi., Lebo Pavunc. A., Habjani .K ., Mato. S. (2010).** Antimicrobial Activity – The Most Important Property of Probiotic and Starter Lactic Acid Bacteria *Food Technol. Biotechnol.*, 48 (3), 296–307.

## ***K***

**KASSAS, Z. (2017).** Croissance de souches de bactéries lactiques d'intérêts technologiques et/ou probiotiques sur MRS végétal modifié université de badji mokhtar – Annaba, 158 .

**KHALISANI , K. (2011).** An overview of lactic acid bacteria. *International Journal of Biosciences (IJB)*, 1, 1-13.

**KHENNOUCHI, N. C. (2016).** Evaluation de l'antibiorésistance du genre Enterobacter aux antibiotiques Badji mokhtar-annaba, Magister: 172.

**KHODJA, B. (2017).** Caractérisation phénotypique et moléculaire des souches de bactéries lactiques productrice de bactériocine, Djillali liabes de Sidi bel Abbes.Doctort :100.

**KLAENHAMMER, T. R. (1988 ).** Bacteriocins of lactic acid bacteria. *Biochimie*, 70, 337-349.

## ***L***

**LABIOUI, H ., L. E., EL yachioui.M , Ouhsine, M., (2005).** Sélection de souches de bactéries lactiques antibactériennes. *bull. soc. pharm. bordeaux*, 144, 237-250.

**LAIRINI, S., Bouslamti, N. B., Belhou, R ., Zerrouq,F., (2014).** Isolement des bactéries lactiques à partir des produits laitiers traditionnels Marocains et formulation d'un lait fermenté proche du Kéfir. *Afrique SCIENCE*, 10(4), 267-277.

**LAPLANTE, K. L., Mermel, L. A. (2009).** In vitro activities of telavancin and vancomycin against biofilm-producing *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, and *Enterococcus faecalis* strains. *Antimicrob Agents Chemother*, 53(7), 3166-3169.

**LAZREG, L. (2017).** Bactériocines d'entérocoques isolés de lait cru et beurre de l'ouest algérien, Oran. Doctorat: 193.

**LAZREG, L. (2017).** *Bactériocines d'entérocoques isolée du lait cru et beurre isolée de l'Ouest algérien*. Oran.Doctorat:193.

**LEE, H. M., Lee, Y. (2008).** A differential medium for lactic acid-producing bacteria in a mixed culture. *Lett Appl Microbiol*, 46(6), 676-681.

**LEONARD, L.(2013),** Évaluation du potentiel bioprotecteur de bactéries lactiques confinées dans une matrice polymérique in *Procédés Alimentaires et Microbiologiques*, Bourgogne UMR. Doctorat :318.

**LETTAT, A. (2011).** Efficacité et mode d'action des bactéries propioniques et/ou lactiques pour prévenir l'acidose latente chez le ruminant, Blaise pascal. Doctorat: 224.

**LU, H. J., Breidt, F., Jr., Perez-Diaz, I. M., Osborne, J. A. (2011).** Antimicrobial effects of weak acids on the survival of *Escherichia coli* O157:H7 under anaerobic conditions. *J Food Prot*, 74(6), 893-898.

## **M**

**M,Yamina, (2015).** Optimisations des conditions de fermentation et de préservation du lait cru de chamelle par les bactéries lactiques adaptées aux conditions de stress Doctorat, d'Oran.

**MADI, N. (2010).** Criblage de souches de bactéries lactiques douées d'activité antibactérienne envers *Staphylococcus aureus* multirésistant, A/ MIRA de Bejaia. Magister: 147.

**MAGHNIA, D. (2011).** Étude de potentiel technologique des bactéries lactique isolé des aliments fermentés traditionnels algériens, Oran. Magister: 126

**MAHI, M. (2010).** Étude technologique des bactéries lactique isolées à partir du lait de Brebis Oran. Magister: 107

**MAHMOUDI, F. M. H., Guessas. B ., Kihal,M. (2013).** Evaluation of in vitro antagonism and protection against enteropathogenic experimental challenge of different strains of Bifidobacterium. African Journal of Microbiology Research, 7(29), 3816-3823.

**MAIZAINI, A. (2001).** Essai de mise en évidence rôle de certaines bactéries lactique dans le contrôle des infections, école nationale supérieure agronomique El-Harrach Alger. Doctorat: 72.

**MAKHLOUFI, K. M. (2012).** Caractérisation d'une bactériocine produite par une bactérie lactique *leuconostoc pseudomesenteroides* isolée du boza, pierre et marie curie – paris. Doctorat: 229.

**MAMECHE-DOUMANDJI, A. (2008).** Purification et caractérisation de bactériocine produites par des bactéries lactiques autochones isolées, institut national agronomie. Doctorat: 111.

**MATAMOROS, S. (2008).** Caractérisation de bactéries lactiques psychrotrophes en vue de leur utilisation dans la biopréservation des aliments. Étude physiologique et moléculaire des mécanismes d'adaptation au froid, NANTES. Doctorat: 189.

**MATAMOROS, S., Pilet, M. F., Gigout, F., Prevost, H.,Leroi, F. (2009).** Selection and evaluation of sea food-borne psychrotrophic lactic acid bacteria as inhibitors of pathogenic and spoilage bacteria. Food Microbiol, 26(6), 638-644.

**MECHAI, A. (2009).** Isolement, caractérisation et purification de bactériocines produites par des bactéries lactiques autochtones: études physiologiques et biochimiques Badji Mokhtar, Annaba Doctorat: 99.

**MENAD, N. (2017).** Effet antagoniste des bactéries lactiques isolées à partir du lait de vache vis-à-vis de *Salmonella* sp, Abdelhamid Ibn Badis Mostaganem. Doctorat: 196.

**METLEF, S. (2008).** Effet antagoniste de *Lactococcus lactis* souches extrémophiles locales sur des espèces de la flore intestinale résidente Hassiba ben bouli chef. Magister: 161.

**METLEF, S., (2009).** Effet antagoniste de *Lactococcus lactis*, souches extrémophiles locales, sur des espèces de la flore intestinale résidente. Revue Nature et Technologie, 33 à 44.

**MIQUEL, S. (2012).** Facteurs de virulence de *Escherichia coli* adhérents et invasifs associés à la maladie de Crohn : caractérisation et régulation de leur expression, Blaise Pascal - Clermont-Ferrand II. Doctorat: 357.

**MUYANJA, C. M. B. K., Narvhus, J. A., Treimo, J., Langsrud, T. (2003).** Isolation, characterisation and identification of lactic acid bacteria from bushera: a Ugandan traditional fermented beverage. *Int J Food Microbiol*, 80(3), 201-210. doi: 10.1016/s0168-1605(02)00148-4.

## N

**NAHIDA, B. (2013).** Caractérisation phénotypique technologique et moléculaire d'isolats de bactéries lactiques de laits crus recueillis dans les régions de l'Ouest Algérien. Essai de fabrication de fromage frais type «Jben. » aboubekr belkaid tlemcen Algérie. Doctorat: 255.

## O

**O'SULLIVAN, L. A. b., R.P. Ross a, C. Hill b,c. (2002).** Potential of bacteriocin-producing lactic acid bacteria for improvements in food safety and quality. *Biochimie*, 84, 593–604.

**OURADI, T., Arouche, I. (2007).** Étude de l'effet antagoniste de *Lactobacillus acidophilus* à l'égard de *Staphylococcus aureus*, Abderrahmane Mira de Bejaia. Magister: 96.

## **R**

**RAHLI, F. (2015).** Valorisation du lait de chamelle par l'exploitation des potentialités technologiques des bactéries lactiques isolées localement. Oran.Doctorat:165.

**RAM KUMAR, P. (2013).** Probiotic potential of lactic acid bacteria isolated from food samples: an in vitro study. *Journal of Applied Pharmaceutical Science.* 3 (03). 85-93.

**RATISBONNE, Z. K. A. (2009).** Caractérisation de deux souches de *Lactobacillus sakei* utilisées dans la fermentation des produits carnés, Montpellier ii et Montpellier i. Master: 40.

**REBIHA, N. (2017).** L'effet antagoniste des bactéries lactiques isolées à partir des selles d'enfants, Khemis-Miliana. Master: 102.

**REIS, J. A., Paula, A. T., Casarotti, S. N., Penna, A. L. B. (2012).** Lactic Acid Bacteria Antimicrobial Compounds: Characteristics and Applications. *Food Engineering Reviews*, 4(2), 124-140.

**ROBERT D. (2013).** *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM) : généralités, antibiotiques actifs, résistances acquises, et implication en pathologie communautaire illustrée par l'exemple des infections acquises au cours de la pratique sportive Angers. Doctorat 127.

**ROFES, C. (2014).** Intérêts du microbiote intestinal et probiotique, Toulouse III Paul Sabatier. Doctorat: 79.

## **S**

**SANG, Y., Blecha, F. (2008).** Antimicrobial peptides and bacteriocins: alternatives to traditional antibiotics. [Research Support, U.S. Gov't, Non-P.H.S. *Anim Health Res Rev*, 9(2), 227-235.

**SAVADOGO, A. (2004).** Caractérisation biochimique et moléculaire des bactéries lactiques productrices d'exopolysaccharide isolée à partir d'échantillons de lait fermenté du Burkina Faso, Ouagadougou. Doctorat: 143.

**SHOKRYAZDAN, P., Sieo, C. C., Kalavathy, R., Liang, J. B., Alitheen, N. B., Faseleh Jahromi, M., Ho, Y. W. (2014).** Probiotic potential of Lactobacillus strains with antimicrobial activity against some human pathogenic strains. Biomed Res Int, 2014, 927268.

**SMAOUI, S. (2010).** Purification et Caractérisation de Biomolécules à partir de microorganismes nouvellement isolés et identifiés, Toulouse. Doctorat: 251.

**SOUID, W. (2011).** Effet des bactériocines (type NISINE) produites par une souche lactique isolée à partir du fromage camelin, sur une souche psychrotrophe, KASDI merbah-ouargla. Magister: 106

## ***T***

**TAALE, E. (2016).** Recherche de molécules bioactives d'origine microbienne : caractérisation biochimique et moléculaire des souches de bactéries isolées du Soumbala, du Bikalga et de certains yaourts consommés au Burkina Faso, productrices de bactériocines Ouaga I. Doctorat

**TAALE, E., Savadogo, A., Zongo, C., Tapsoba, F., Karou, S. D., Traore, A. S. (2016).** Les peptides antimicrobiens d'origine microbienne: cas des bactériocines. International Journal of Biological and Chemical Sciences, 10(1), 384.

**TABAK S, B. A. (2011).** 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, 71-78.

**TCHAMBA, C. N. (2007).** Caractérisation de la flore lactique des laits fermentés artisanaux au Sénégal : cas de la zone des Niayes Cheikh Anta Diop de Dakar. Doctorat: 109.

**TEDIE, D. (2010).** Typage et prévalence du gène emm codant pour la protéine M de *Streptococcus pyogenes* : étude Bgas2000 à Bamako au Mali, Bamako. Doctorat: 88.

**THU, H. T. N. (2008).** Étude de la flore lactique du nem chua, produit carné fermenté cru traditionnel du sud vietnam et maîtrise du processus de fermentation par ajout de souches lactiques sélectionnées spécifiques du produit bordeaux. Doctorat: 201.

## V

**VOGEL, W. P. H. A. (1995).** The Genera of Lactic Acid Bacteria. © Chapman & Hall, 2. Vol. 66, 2001–2005.

## W

**WORAPRAYOTE, W., Malila, Y., Sorapukdee, S., Swetwivathana, A., Benjakul, S., Visessanguan, W. (2016).** Bacteriocins from lactic acid bacteria and their applications in meat and meat products. *Meat Sci*, 120, 118-132.

## Y

**YONEYAMA, F., Imura, Y., Ohno, K., Zendo, T., Nakayama, J., Matsuzaki, K., Sonomoto, K. (2009).** Peptide-lipid huge toroidal pore, a new antimicrobial mechanism mediated by a lactococcal bacteriocin, lacticin Q. *Antimicrob Agents Chemother*, 53(8), 3211-3217.

## Z

**ZACHAROF, M. P., Lovitt, R. W. (2012).** Bacteriocins Produced by Lactic Acid Bacteria a Review Article. *APCBEE Procedia*, 2, 50-56.

**ZAROOUR, K. Z. B., Hadadji, M., Moussa-boudjemaa, B., Henni, J., Kihal, M. (2013).** Caractérisation microbiologique et technologique des espèces de *Leuconostoc mesenteroides* isolées du lait cru de chèvre et de chamelle. *Nature & Technologie*, 39 à 47.

**ZERGOUG, A. (2017).** Effet des probiotiques et bactériocines vis-à-vis des pathogènes responsables des infections Abdelhamid Benbadis - Mostaganem. Doctorat: 166.

# Annexes

## ANNEXE 1 : composition des milieux de culture :

### Bouillon nutritive 20 g/l

Ingrédients	masse
Peptone	10 g
Extrait de viande	5 g
Chlorure de sodium	5 g
L'eau distillé	1 l

PH=7.2, Autoclavage 1 heure à 121°C, à pression 200 kpa.

### Gélose nutritive molle

Ingrédients	masse
Peptone	10 g
Extrait de viande	5 g
Chlorure de sodium	5 g
Agar	7.5 g
L'eauidistillée	1 l

Autoclavage 1 heure à 121°C, et à pression 200 kpa.

### Gélose nutritive

Ingrédients	masse
Peptone	10 g
Extrait de viande	5 g
Chlorure de sodium	5 g
Agar	15 g
L'eau distillée	1 l

PH=7.5±0.2, Autoclavage 1 heure à 121°C.

## Gélose MRS 62 g / 1l

Ingrédient	masse
-Peptone	10 g
- Extrait de viande	10 g
- Extrait de Levure	5 g
-Glucose	20 g
-Phosphate dipotassique	2 g
-Acétate de sodium	5 g
-Tween 80 (polysorbate 80)	1 g
-Citrate d'ammonium	2 g
-Sulfate de magnésium	0.2 g
-Sulfate de manganèse	0.1 g
- Agar	15 g

PH  $6,5 \pm 0,2$ . Autoclavage à 120°C

## Bouillon MRS

27.5 g dans 500 ml

PH= $6.5 \pm 0.2$ , Autoclavage 1 heure à 121°C.

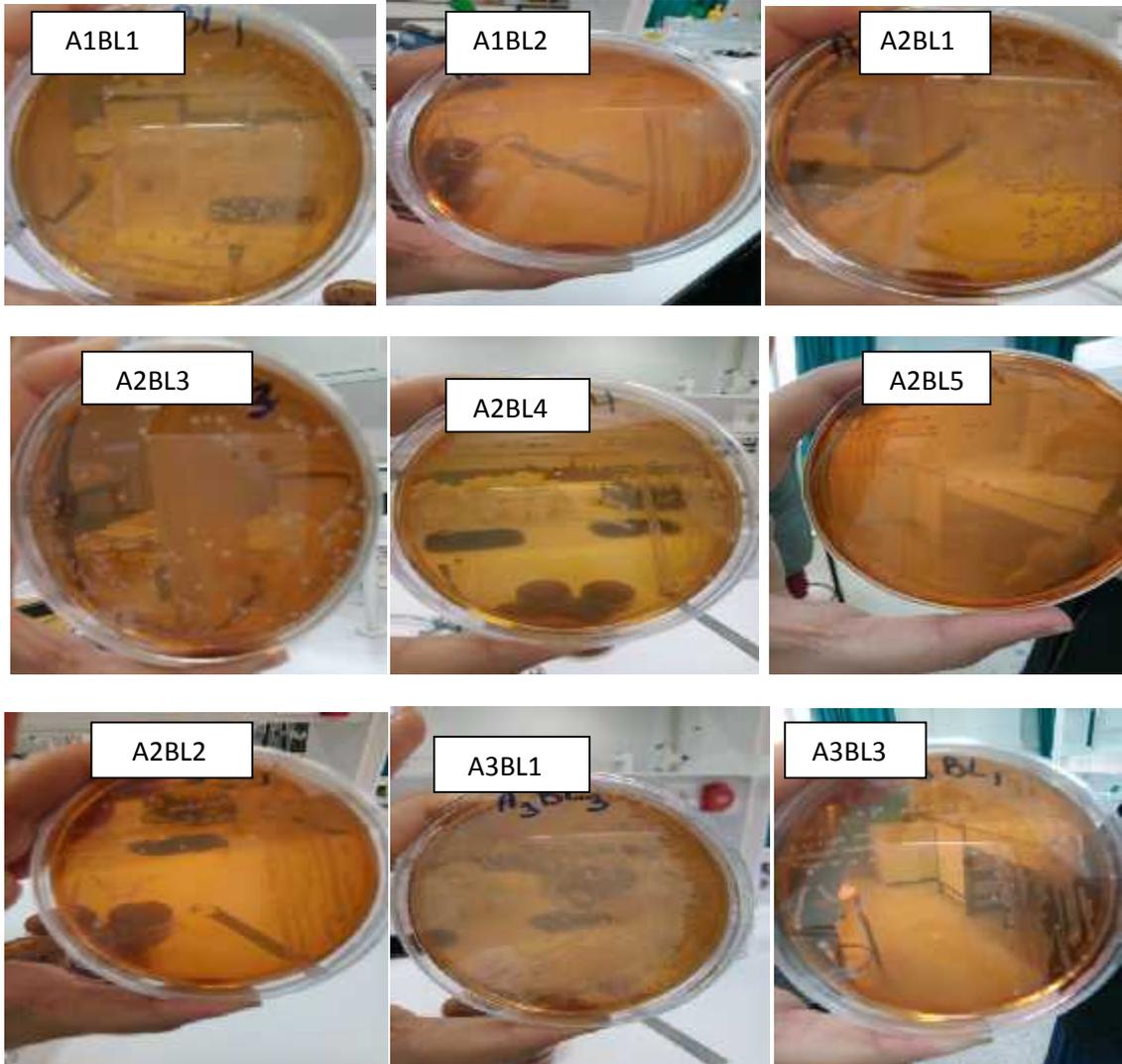
## ANNEXE 2 : photos de matériels utilisés



### **ANNEXE 3 : Coloration de Gram**

- Déposer une goutte d'eau physiologique stérile sur une lame bien propre ;
- Prélever un ose d'une colonie et mélanger avec la goutte d'eau physiologique, strier et fixer à la chaleur par passage rapide sur la flamme d'un bec benzène ;
- Ajouter le Violet de Gentiane pendant 1mn, jeté le colorant ;
- Ajouter le Lugol pendant 1mn ;
- Décolorer avec de l'alcool pendant 30 secondes ;
- Ajouter le deuxième colorant, la Fushine et laisser 1 mn puis laver à l'eau ;
- Sécher la lame et mettre une goutte d'huile à immersion puis passer à l'observation microscopique au grossissement X100.

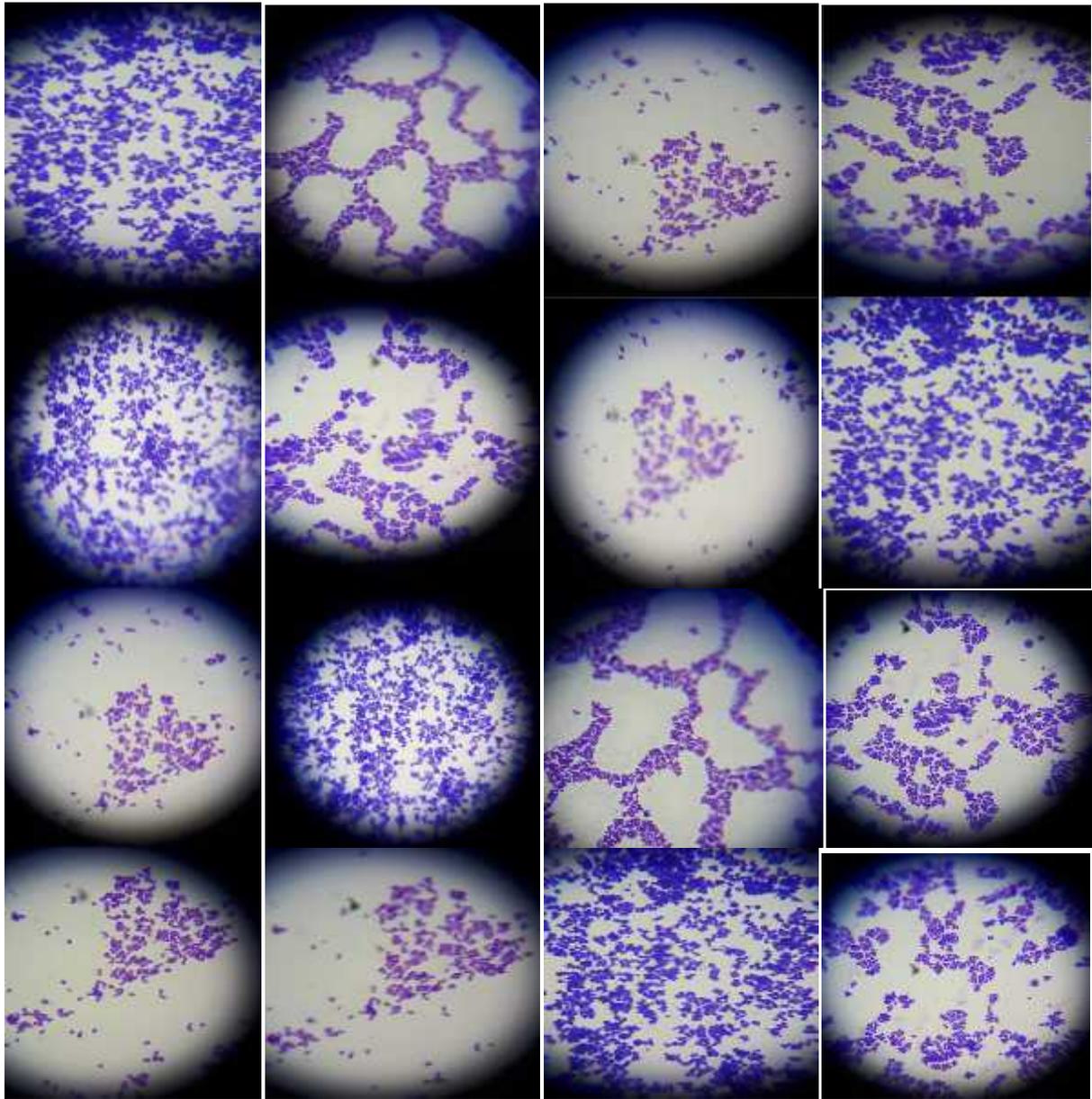
## ANNEXE 4 : les souches des bactéries lactiques



**ANNEXE 05 : Activité antimicrobienne des bactéries lactiques étudiées évaluée vis-à-vis de différentes souches pathogènes.**

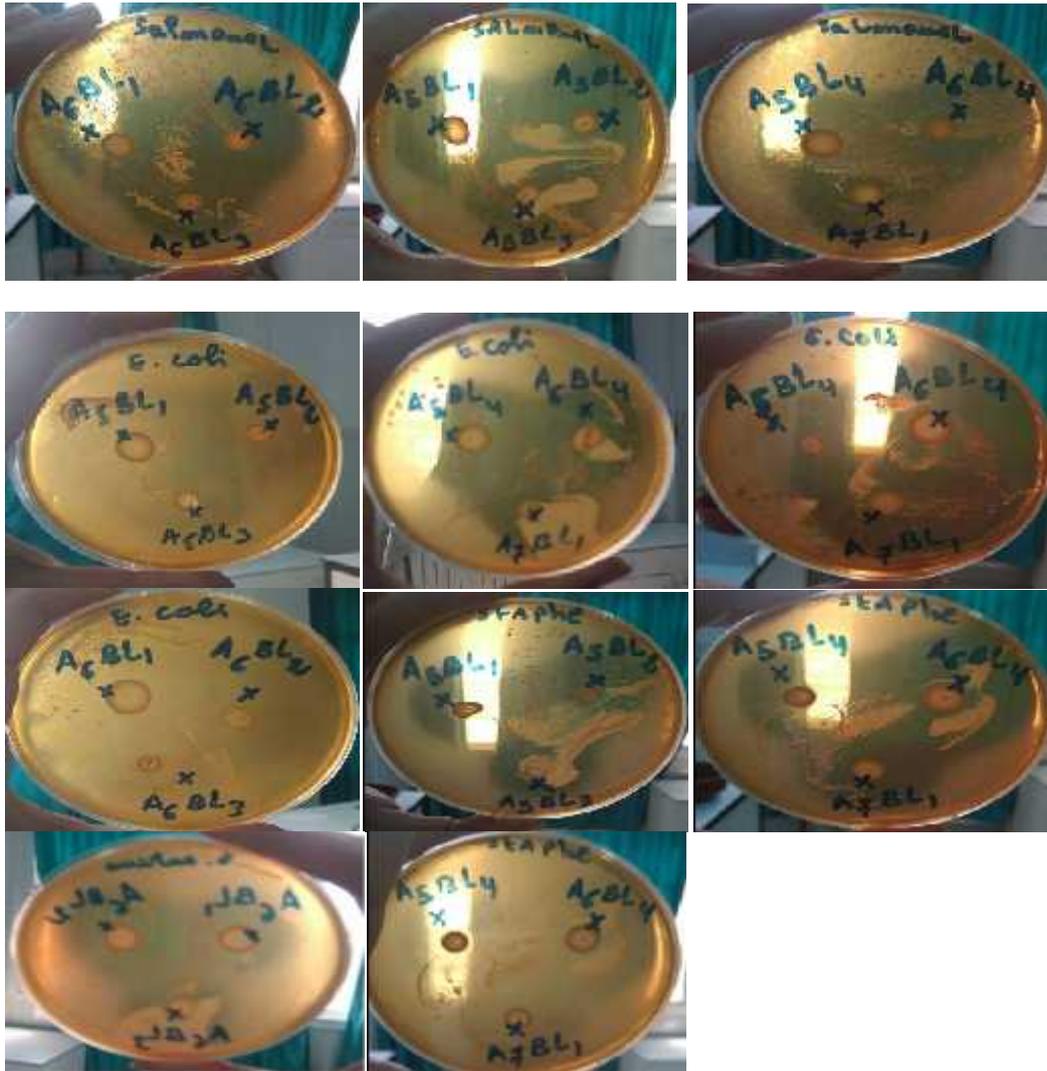
Souche	Les zones d'inhibition en mm				
	<i>S.aureus</i>	<i>Salmonella</i>	<i>E.coli</i>	<i>Feacalis</i>	<i>Enterobacter</i>
A1BL1	23.8 ± 6.2	33 ± 6.0	37.7 ± 4.	23,3±3,05	30 ± 1
A1BL2	25.1 ± 8.5	28.6 ± 6.3	38.3 ± 6.5	25,0 ± 1,0	28.6 ± 0.57
A2BL1	29.3 ± 3.0	30.6 ± 7.3	37.3 ± 6.4	24,1 ±3,6	26 ± 1
A2BL2	26.6 ± 5.7	31.3 ±12.6	29.0 ± 7.9	28,3 ±1,5	22.3 ± 1.52
A2BL3	29.5 ± 7.8	33.6 ± 7.7	31.6 ± 7.6	21,0 ±5,5	29.3 0.57
A2BL4	29.5 ± 7.8	34.6 ± 10	28.6 ± 8.0	28,3±3,51	25 ± 1
A2BL5	26.3 ±7.0	28.3 ± 9.2	36.0 ± 4.0	28,3±2,08	29.6± 0.57
A3BL1	30.3 ±9.4	26.0 ± 5.4	41.0 ± 6.5	25,6±2,08	29 ± 1
A3BL3	27.1 ±5.7	25.3 ± 5.4	35.6 ± 6.0	26 ± 4,0	30.3 ± 0.57
A5BL1	40.0 ± 8.0	46.3 ± 7.0	44.3 ± 2.0	23 ± 1	22 ±1
A5BL2	35.3 ± 0.5	41.6 ± 2.0	40.6 ± 1.1	25 ± 1	24.3 ±2.08
A5BL3	34.0 ± 3.6	46.0 ± 4.0	40 ± 4.5	23,6±1,5	24.6 ± 1.5
A5BL4	42.6 ± 5.5	40.3 ± 3.5	46.6 ± 3.0	23 ± 1	23.6 ± 1.5
A6BL4	40.3 ± 0.5	41.0 ± 5.5	37.3 ± 3.0	27,3 ± 2	29.3 ±1.5
A7BL1	45.0 ± 5.0	41.0 ± 5.5	33,0 ± 2,0	23,0 ± 1	29.3 ±1.1
A6BL1	29.0 ± 2.6	38.6 ± 1.5	44.6 ± 4.1	24,0 ± 1	22.3 ± 2.08
A6BL2	32.6 ± 2.5	34.6 ± 1.5	44.3 ± 2.0	23,0 ± 1	25.3 ± 1.5
A6BL3	33.0 ± 2.6	38.6 ± 4.1	47.6 ± 2.5	29,0 ± 1	29.3 ± 1.5
A4BL1	41 ,6 ± 2,0	45,0 ± 4,3	40,0 ± 5	25 ± 1	36 ± 4
A4BL2	44,0 ± 5,2	40,0 ± 1,0	39,3 ± 9,4	28 ± 2,6	30.3 ± 2.5
A8BL2	44,3 ± 8 ,2	42,3 ± 1,5	37,0 ± 7,2	24,6 ± 1,1	29.6 ± 1.5
A8BL4	37,3 ± 7,5	30,0 ± 2,0	29,3 ± 2,0	23,3 ± 1,5	27 ± 2
A8BL1	20,6 ± 4,04	28,6 ± 2	11,3 ± 1,5	27 ± 3	28 ± 2.6
A4BL3	35,3 ± 4,7	17,6 ± 2,5	13,3 ± 4,1	23,6 ± 1,5	26.6 ± 1.5
A4BL4	45,3 ± 4,1	41,3 ± 3,2	38,0 ± 2,6	31,0 ± 6,5	29.3 ± 2.5
A8BL3	45,0 ± 3,6	42,6 ± 4,6	40,0 ± 3,6	28 ,0 ± 1	29.6 ± 2.8
A4BL5	43,0 ± 3,4	43,0 ± 6,5	40,6 ± 9,8	25,0 ± 2,6	29 ± 5.2

**ANNEXE 6: Résultats de coloration de Gram**

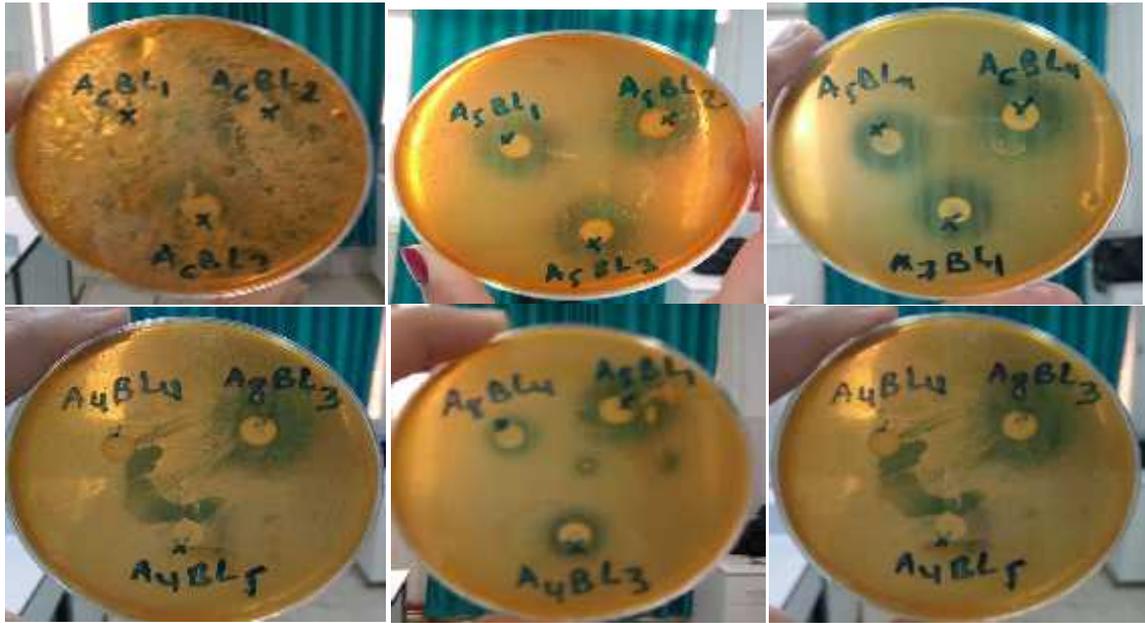


**ANNEXE 7 : Photo des zones d'inhibition**

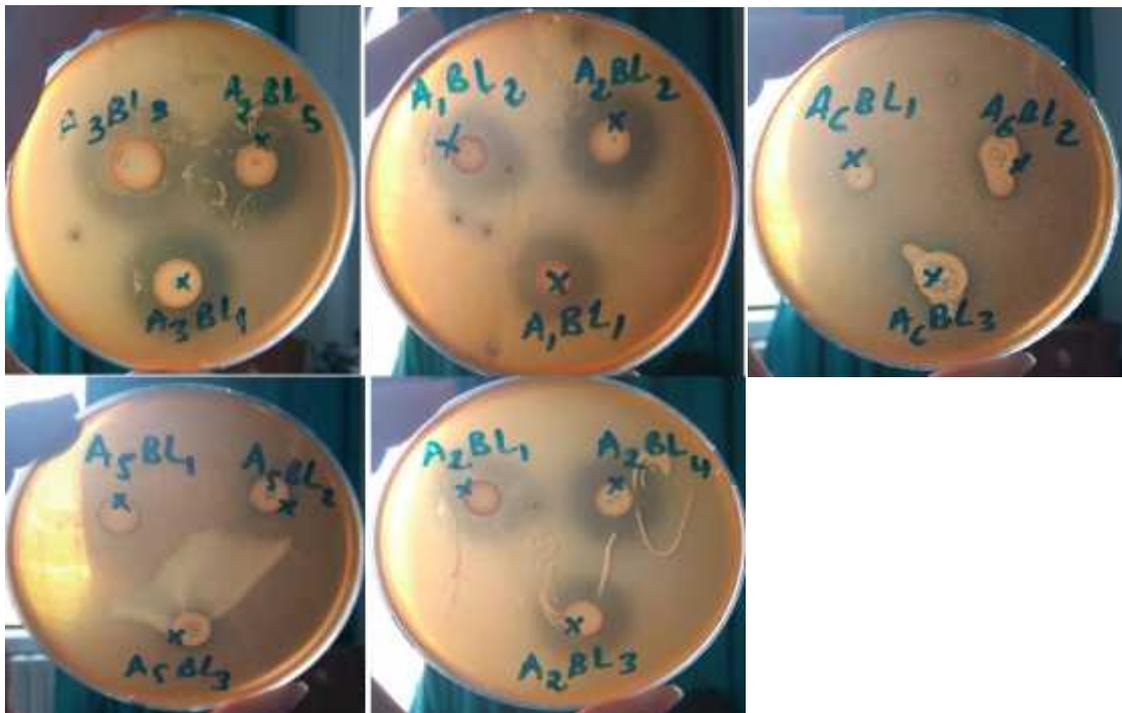
***Salmonelle, Esherichia coli, Staphilococcus aureus***



*Enterobacter*



*Enterococcus Faecalis*



## Résumé

Notre étude a été consacrée dans un premier temps à l'identification des genres de bactéries lactiques utilisées en se basant sur certaines caractéristiques morphologiques et biochimiques. Les résultats d'identification permettent de classer ces souches lactiques en trois genres : *Pediococcus*, *Lactococcus* et *Enterococcus*.

Les résultats de test d'antagonisme envers des souches pathogènes montrent que toutes les souches sont actives sur toutes les souches cibles avec des diamètres variables selon la souche lactique et la souche cible.

Le criblage des souches de bactéries lactiques nous a permis de sélectionner les souches les plus actives avec des diamètres de zones d'inhibition très importants allant jusqu'à 46,66 mm. Un effet antagoniste plus important a été observé sur les Grams négatifs.

Mots clé : les bactéries lactiques, antagonisme , souches pathogènes .

## Abstract

Our study was initially devoted to the identification of the types of lactic acid bacteria used based on certain morphological and biochemical characteristics. The identification results make it possible to classify these lactic acid strains in three genera: *Pediococcus*, *Lactococcus* and *Enterococcus*.

The antagonism test results against pathogenic strains show that all the strains are active on all the target strains with diameters that vary according to the lactic strain and the target strain.

Screening of the lactic acid bacteria strains allowed us to select the most active strains with very large diameters of inhibition zones up to 46.66 mm. A greater antagonistic effect was observed on the negative Grams.

Key words: lactic acid bacteria, antagonism, pathogenic strains.

في بداية البحث تخصيص لتحديد والبيوكيميائية. توصلنا من خلال تحليل بكتريا اللاكتيك التوصيف تصنيف سلاطات حمض اللاكتيك رفولوجية لائحة أجناس هي

*Pediococcus, lactococcus et Enterococcus*

اضهرت ن جميع السلاطات نشطة على جميع السلاطات المستهدفة. تختلف حسب السلالة اللاكتيكية والسلالة المستهدفة.

يسمح فحص سلاطات بكتريا حمض اللاكتيك بتحديد الأنواع الأكثر نشاطا بأقطار كبيرة جدا من مناطق التنشيط حتى 46.66 . وجود تأثير عدائي أكبر على غرام

.الكلمات المفتاحية: بكتيريا حمض اللاكتيك ، العداء ، السلاطات المسببة للأمراض