

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Ahmed ZABANA de RELIZANE
Faculté des Sciences de la Nature et de la vie
Département des Sciences Biologiques



MEMOIRE

En vue de l'obtention du diplôme de MASTER en :

Microbiologie & contrôle de qualité

Intitulé

ÉTUDE DE L'ACTIVITÉ ANTIMICROBIENNE DE QUELQUES SOUCHES DE
BACTÉRIES LACTIQUES AUTOCHTONES

Présenté par :

Mlle : Fergane Maroua

Mlle : Fekir Ikram

Mr : Benhamamouche Mohamed

Devant les membres de jury :

Président : Mme BELKHDIM Lila Maître de conférence (B) (U. Relizane)

Encadreur : Mme HARMOUCHE Amaria Maître assistant (A) (U. Relizane)

Examineur : Mme BENAICHETA Nora Maître de conférence (A) (U. Relizane)

Année universitaire : 2024/2025

Remerciements

Nous tenons tout d'abord à remercier le bon dieu le tout puissant de nous avoir aidé à réaliser ce travail.

Nous voudrions dans un premier temps exprimer nos vifs remerciements et nos profondes gratitudes à notre encadrante M^{me} Harmouche A. pour son encadrement et ses qualités scientifiques et pédagogiques, qui nous ont poussés à mieux structurer nos idées, sa gentillesse et sa disponibilité. Merci pour tous ce que vous avez fait pour la réussite de ce travail.

Nous adressons nos sincères remerciements à M^{me} Belkhdim L., présidente de notre jury de soutenance, et M^{me} Benaicheta N., notre examinatrice, pour nous avoir fait l'honneur de juger ce travail de mémoire.

Nous tenons à remercier tous les enseignants du cursus universitaire qui ont contribué à notre formation.

Nous exprimons notre profonde reconnaissance à tous les ingénieurs du laboratoire de la faculté SNV de l'université de Relizane pour leur aide précieuse.

Et en dernier, un grand merci à toute personne qui a contribué de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail.

Dédicace

Avec une immense reconnaissance que je dédie ce modeste travail :

À la source de la tendresse de patience et de générosité, la flamme de mon cœur ma mère "Malika", qui m'a appris que la patience est le Secret du succès, qui a veillé pour notre confort et sacrifié beaucoup pour notre réussite,

À la lumière de mes jours, la source de mes efforts mon père "Houcine",

Je vous dois tout, puisse dieu vous préserver et vous accorder, santé et bonheur.

À mes chers frères "Ahmed " et "Mehdi" pour leurs encouragements et pour leurs aides dans les moments difficiles.

À la mémoire de mes très chers grands-parents "Tazeghat " et "Djazia" Allah yerhamhoume Inch'Allah, et ma grande mère "Halima".

À tous les membres de ma famille sans exception.

Surtout à notre chère encadrante "M^{me} Harmouche".

À mes chères amies "Torkia", "ines", "ahlem", "hanane", qui n'ont pas cessé de m'encourager.

À mes collègues "Ikram "et "Mohamed ".

Maroua

Dédicace

*A ma mère, pour son amour, pour l'énergie et pour les sacrifices qu'elle dispensé pour
Nous.*

*A mon père, auprès duquel j'ai toujours trouvé de la quiétude, de la compréhension et
surtout du soutien et de l'accompagnement tout au long de mes études,
Trouve à travers ce modeste travail, la récompense de ton affection et de tes sacrifices, que
le DIEU le tout puissant t'accepte dans son paradis éternel. « Amen ».*

*A mes très chers frères et sœurs **Yacine, Nour el houda et Malika**
Que DIEU vous protège.*

*A mon fiancé **khaled** pour son énorme soutien.*

A tous les membres de ma famille.

*A mon encadrante **M^{me} Harmouche** qui mérite tout mon respect.*

*A tous mes amis, surtout **Ahlem et Ines**.*

*A mes collègues **Loubna et Mohamed**.*

Ikram

Dédicace

*Je dédie ce travail à ma chère mère **Nawel** et à mon cher père **Ahmed** pour leur soutien, leur amour et leurs encouragements tout au long de mes études.*

À ma grande sœur et à mon petit frère. Et au reste de ma famille, proche et lointaine.

Et enfin, à mes amis que je rencontre tous les jours.

Mohamed

Liste des abréviations.....	i
Liste des tableaux.....	ii
Liste des figures.....	iii
1. Introduction.....	1
2. Synthèse bibliographique.....	3
2.1. Les bactéries lactiques.....	3
2.1.1. Historique et Généralités.....	3
2.1.2. Les Caractéristiques classiques.....	3
2.1.2.1. Caractères morphologiques.....	4
2.1.2.2. Caractères physiologiques et biochimiques.....	5
2.1.3. Besoins nutritionnels.....	5
2.1.3.1. Exigences en acides aminés.....	5
2.1.3.2. Exigences en vitamines.....	5
2.1.3.3. Exigence en bases azotées.....	6
2.1.4. Origine et habitat.....	6
2.1.5. Classification et caractéristiques des principaux genres des.....	6
2.1.5.1. Taxonomie des bactéries lactiques.....	6
2.1.5.2. Principaux genres des bactéries lactiques.....	8
2.1.5.2.1. Le genre <i>Lactococcus</i>	9
2.1.5.2.2. Les genre <i>Streptococcus</i>	10
2.1.5.2.3. Le genre <i>Lactobacillus</i>	10
2.1.5.2.4. Les genres <i>Enterococcus</i> et <i>Vagococcus</i>	11
2.1.5.2.5. Les genres <i>Leuconostoc</i> , <i>Oenococcus</i> et <i>Weissella</i>	12
2.1.5.2.6. Les genres <i>Pediococcus</i> , <i>Tetragenococcus</i> et <i>Aerococcus</i>	12
2.1.5.2.7. Le genre <i>Carnobacterium</i>	13
2.1.5.2.8. Le genre <i>Bifidobacterium</i>	13
2.1.6. Métabolisme des bactéries lactiques.....	14
2.1.6.1. Métabolisme des carbohydrates.....	14
2.1.6.2. Métabolisme protéolytique.....	16
2.1.6.3. Métabolisme lipolytique.....	17
2.1.6.4. Métabolisme du citrate.....	17
2.1.7. Intérêts et domaines d'utilisation des bactéries lactiques.....	19

2.1.7.1. Domaine alimentaire.....	19
2.1.7.2. Domaine thérapeutique.....	19
2.1.7.3. Domaine cosmétique.....	20
2.1.7.4. Domaine Industriel.....	20
2.2. L'activité antimicrobienne des bactéries lactiques.....	20
2.2.1. Les interactions entre les microorganismes.....	20
2.2.1.1. Interactions positives.....	20
2.2.1.2. Interactions négatives.....	21
2.2.2. Les propriétés inhibitrices des bactéries lactiques.....	21
2.2.2.1. La compétition nutritionnelle et pour l'espace.....	21
2.2.2.2. La production de métabolites antimicrobiens.....	22
2.2.2.2.1. Les métabolites antimicrobiens non peptidiques.....	22
2.2.2.2.2. Les métabolites antimicrobiens peptidiques.....	24
3. Matériel et méthodes.....	27
3.1. Le lieu de travail.....	27
3.2. La confirmation de la pureté des souches identifiées et de leur appartenance au groupe lactique.....	27
3.2.1. La revivification des souches.....	28
3.2.2. L'examen macroscopique.....	28
3.2.3. L'examen microscopique.....	28
3.2.4. La recherche de la catalase.....	29
3.3. L'isolement de souches lactiques autochtones.....	29
3.3.1. La préparation des dilutions décimales.....	29
3.3.2. L'isolement.....	30
3.3.3. La purification.....	31
3.3.4. La pré-identification des souches.....	32
3.3.4.1. L'étude macroscopique.....	32
3.3.4.2. L'étude microscopique.....	32
3.3.4.3. La recherche de la catalase.....	32
3.3.4.4. Le test Mannitol-mobilité.....	32
3.3.4.5. La croissance à différentes températures.....	33
3.3.4.6. La croissance à différents pH.....	34
3.3.4.7. La croissance à différentes concentrations en NaCl.....	34

3.3.4.8. La recherche du type fermentaire.....	35
3.4. La mise en évidence de l'activité antimicrobienne.....	36
3.4.1. La préparation des cultures bactériennes.....	36
3.4.2. La méthode des disques.....	37
3.5. La conservation des souches.....	37
3.5.1. La conservation à court terme.....	37
3.5.2. La conservation à long terme.....	38
4. Résultats et discussion.....	39
4.1. Les résultats de la confirmation de la pureté des souches identifiées et de leur appartenance au groupe lactiques.....	39
4.1.1. L'examen macroscopique.....	39
4.1.2. L'examen microscopique.....	39
4.1.3. La recherche de la catalase.....	40
4.2. Les résultats de l'isolement et la pré-identification des souches autochtones.....	40
4.2.1. L'étude macroscopique.....	41
4.2.2. L'étude microscopique.....	42
4.2.3. La recherche de la catalase.....	43
4.2.4. Le test Mannitol-mobilité.....	43
4.2.5. La croissance à différentes températures.....	43
4.2.6. La croissance à différents pH.....	45
4.2.7. La croissance à différentes concentrations en NaCl.....	46
4.2.8. La recherche du type fermentaire.....	47
4.3. Mise en évidence de l'activité antimicrobienne.....	50
5. Conclusion et perspectives.....	54
6. Références bibliographiques.....	56
7. Annexe.....	69

Liste des abréviations

GRAS : Generally Recognized as Safe
FAO : L'Organisation des Nations pour l'alimentation et l'agriculture
SNV : Sciences de la Nature et de la Vie
LB: *Lactobacillus*
BL : bactéries lactiques
ADN : Acide DésoxyriboNucléique
EPS : Exopolysaccharide
CG: CytosineGuanine
% : pour Cent
CO₂: Dioxyde de carbone
LDH : Lactate déshydrogénase
O₂ : Oxygène
OMS : l'organisation Mondiale de la Santé
PH : Potentiel d'hydrogène
TA : AcidToleranceResponse
C₄H₆O₂ : Le Diacétyl
EDTA : Ethylene Diamine Tetraacetic Acid
PCR : Polymerase Chain Reaction
RAPD : Random Amplified Polymorphic DNA
NAD⁺ : Nicotinamide Adénine Dinucléotide
H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène
NaCl : Chlorure de sodium
H₂O : monoxyde de dihydrogène
EDD : Environnement et Développement Durable
M17 : Milieu de Terzaghi et Sandine
MH : Mueller-Hinton
MRS: Milieu de Man Rogosa and Sharpe
GN : Gélose Nutritive
C° : Degré Celsius
G : Gramme
h : Heure
ml : Millilitre
mm : Millimètre
µl : Microlitre
µm : Micromètre
min : Minute

Liste des tableaux

Tableau 1: Principaux genres de bactéries lactiques.....	9
Tableau 2: Souches lactiques identifiées.....	27
Tableau 3: Les codes des isolats.....	41
Tableau 4: Le résultat de la croissance à différentes températures.....	44
Tableau 5: Les résultats de la croissance à différents pH.....	45
Tableau 6: Résultats de la croissance en présence de différentes concentrations en NaCl.....	46
Tableau 7: Récapitulatif des résultats des tests de pré-identification réalisés.....	48
Tableau 8: Pré-identification des souches lactiques isolées.....	49
Tableau 9: Les diamètres des zones d'inhibition (en mm) des bactéries lactiques étudiées.....	51

Liste des figures

Figure 1: (a) la forme cocci et (b) la forme bacille des bactéries lactiques observées au Microscope électronique à transmission.....	4
Figure 2: Arbre phylogénique des bactéries lactiques.....	8
Figure 3: <i>Lactococcus lactis</i> au microscope électronique.....	9
Figure 4: <i>Streptococcus thermophilus</i> au microscope électronique.....	10
Figure 5: <i>Lactobacillus acidophilus</i>	11
Figure 6: <i>Enterococcus faecalis</i> au microscope électronique.....	12
Figure 7: <i>Carnobacterium</i>	13
Figure 8: <i>Bifidobacterium sp.</i>	14
Figure 9: La fermentation du lactose chez les bactéries lactiques: voies homo et hétérofermentaire.....	15
Figure 10: Système protéolytique des bactéries lactiques.....	16
Figure 11: Principales voies de la lipolyse.....	17
Figure 12: Le métabolisme du citrate chez les bactéries lactiques.....	18
Figure 13: La revivification des souches identifiées dans le bouillon MRS.....	28
Figure 14: L'échantillon du lait de chèvre.....	29
Figure 15: La série de dilutions décimales de l'échantillon de lait de chèvre.....	30
Figure 16: Isolement de bactéries lactiques autochtones.....	31
Figure 17: La purification des isolats.....	31
Figure 18: Le test Mannitol-mobilité.....	33
Figure 19: Exemple de test de croissance à 25°C.....	33
Figure 20: Exemple de préparation de bouillon MRS à différents pH.....	34
Figure 21: Exemple de test de sensibilité des isolats à 10 % de NaCl.....	35
Figure 22: Le test du type fermentaire.....	35
Figure 23: Les pré-cultures bactériennes lactiques.....	36
Figure 24: Les pré-cultures des souches pathogènes.....	37
Figure 25: Les résultats d'étude macroscopique des souches identifiées.....	39
Figure 26: Des exemples d'étude microscopique pour deux des souches identifiées.....	40
Figure 27: Un exemple de résultat négatif de la recherche de catalase.....	40
Figure 28: Le résultat d'isolement des souches sur milieu M17.....	41
Figure 30: Des exemples d'étude microscopique pour deux des souches pré-identifiées.....	42
Figure 31: Les résultats du test Mannitol-mobilité.....	43

Figure 32: La croissance de l'ensemble des bactéries à 25°C.....	44
Figure 33: Résultat de croissance à pH 9.....	45
Figure 34: Résultats de la croissance des souches à 3% et 10% de NaCl.....	46
Figure 35: Résultat de la recherche du type fermentaire.....	47
Figure 36: Exemple de résultat de l'activité antimicrobienne de l'ensemble des souches étudiées vis-à-vis la bactérie <i>Staphylococcus aureus</i>	50

Introduction

Les infections alimentaires sont à la base de plus de 9000 morts chaque année dans le monde malgré l'évolution des moyens technologiques modernes de transformation des aliments. Les chercheurs et les industriels de l'agroalimentaire sont de plus en plus contraints à réduire l'emploi des traitements physiques (hautes pressions, rayons ionisants, pasteurisation, stérilisation, congélation, réfrigération,...) et chimiques (nitrites, sulfites,...) en utilisant des bactéries comme un outil de prévention (**Ren et al., 2018**).

La découverte de la relation symbiotique entre l'Homme et les bactéries a conduit à une nouvelle façon de voir les bactéries comme potentiellement bénéfiques, plutôt que pathogènes (**Tripathi et Giri, 2014**). Au milieu du XIXème siècle, un intérêt pour les microorganismes a eu lieu avec la découverte des « bactéries lactiques ». En 1857, Louis Pasteur a montré que le processus de fermentation est provoqué par des microorganismes, peu après l'isolement réussi d'une bactérie lactique est survenu. En 1887, Joseph Lister a isolé la souche *Bacterium lactis* à partir du lait fermenté (**Preedy, 2010**).

Le lait et les produits laitiers contiennent de nombreux nutriments essentiels et sont caractérisés par une microflore lactique riche et diversifiée. Les bactéries lactiques sont parmi les bactéries les plus utilisées dans les fermentations alimentaires grâce à la production d'une large gamme de métabolites (**Mokoena, 2017 ; Ruiz et al., 2019**).

Les bactéries lactiques sont utilisées depuis plusieurs siècles comme des agents protecteurs, ils se caractérisent par la synthèse de différents métabolites ayant des rôles dans la préservation des aliments, la prévention d'empoisonnement, l'augmentation de la valeur nutritive et l'amélioration de la qualité organoleptique des aliments et dans la santé (**Ajao et al., 2021**).

La bio-conservation par les bactéries lactiques est due à leurs capacités à produire plusieurs métabolites antimicrobiens, tels que les acides organiques (acide lactique, acide acétique...), le peroxyde d'hydrogène, l'éthanol, le diacétyle, la reutéline, le dioxyde de carbone et les bactériocines (**Hammi, 2016**). Ces substances antimicrobiennes ont la capacité de cibler sélectivement les bactéries pathogènes ou altérantes, sans pour autant inhiber les bactéries indispensables.

Ces substances bioactives présentent également une grande tolérance aux variations de pH et aux traitements thermiques. Tous ces critères suggèrent que les bactériocines peuvent être un substituant idéal des conservateurs chimiques (**Ababsa, 2012**). Ces dernières, font depuis quelques décennies, l'objet d'innombrables études notamment dans l'objectif d'applications alimentaires.

C'est dans ce contexte que s'inscrit notre travail qui a été réalisé au niveau du laboratoire de la faculté SNV de l'université de Rélizane et qui a pour objectif la mise en évidence de l'activité antimicrobienne chez quelques bactéries déjà identifiés et des bactéries autochtones isolés à partir d'un produit naturel.

Synthèse bibliographique

2.1. Les bactéries lactiques :

2.1.1. Historique et Généralités :

Avant le vingtième siècle, le terme bactéries lactiques (Lactic acid bacteria) a été utilisé pour signifier les organismes du lait acidifié. Significativement, la première culture pure de ces bactéries était celle de *Bacterium lactis* (probablement *Lactococcus lactis*), obtenu par Lister en 1873 (**Boumehira, 2010**). Les bactéries lactiques forment un groupe de bactéries phylogénétiquement très hétérogène qui ont pour principal trait commun la capacité de produire de l'acide lactique comme produit final de fermentation des sucres (**Mahi, 2010**).

Les bactéries lactiques sont largement répandues dans la nature et sont fréquemment isolées d'environnements riches en matières organiques telles que les végétaux en décomposition mais on retrouve également des représentants de ce groupe dans les tractus gastro-intestinaux et urogénitaux des mammifères (**Saad, 2010**). Depuis des millénaires, elles sont utilisées dans l'alimentation humaine. Celles qui sont utilisées dans l'alimentation sont considérées comme non pathogènes et se voient attribuer le qualificatif anglo-saxon d'organismes GRAS (Generally Regarded As Safe). Cependant, quelques membres du genre *Streptococcus* et *Enterococcus* ainsi que d'autres bactéries lactiques sont considérées comme pathogènes opportunistes (**Mechai, 2009**).

Actuellement, dans l'industrie agroalimentaire, les bactéries lactiques occupent une place importante parmi les auxiliaires de fabrication. Si elles sont surtout connues pour le rôle qu'elles jouent dans le secteur laitier (**Dortu et Thonart, 2009 ; Moraes et al., 2010**), elles sont utilisées également dans le saumurage des légumes, les salaisons des viandes et des poissons, en boulangerie et dans la fabrication du vin (**Dortu et Thonart, 2009 ; Moraes et al., 2010**). Toutes ces applications nécessitent une étape de fermentation au cours de l'élaboration des produits finis. En tant que microorganismes d'intérêt industriel, les bactéries lactiques viennent immédiatement après la levure *Saccharomyces cerevisiae* (**Saad, 2010**).

2.1.2. Les Caractéristiques classiques :

Comme toutes les bactéries, les bactéries lactiques (LB) sont des micro-organismes vivants et unicellulaires (procaryotes) présentant des critères morphologiques, physiologiques et biochimiques variés (**Drouault et Corthier, 2001 ; Drider et Prévost, 2006**).

2.1.2.1. Caractères morphologiques :

La première définition de bactéries lactiques, basée sur la capacité des bactéries de fermenter et de coaguler le lait, englobait les bactéries coliformes et lactiques.

En 1901, Beijerinck observe que les lactobacilles sont des bactéries à Gram positif, ce qui séparera définitivement les bactéries lactiques (à Gram positif) des bactéries coliformes (Mechai, 2009). Les bactéries lactiques sont donc des bactéries à Gram positif, non pigmentées, immobiles et non sporulantes. (HO *et al.*, 2007). Elles forment un groupe hétérogène composé de coques et de bacilles ou bâtonnets (figure 1) (Badis *et al.*, 2005 ; Khalisanni, 2011).

- Les coques (Cocci) sont des sphères plus au moins ovoïdes de 0,5 à 1,5 μ m de diamètre dont la division peut engendrer les paires, des tétrades, des tétrades, des chaînettes ou des amas. Ce sont des bactéries non sporulées et immobiles.
- Les bacilles sont des bactéries en forme de bâtonnets qui peuvent avoir différents aspect. A côté de bâtonnets droits classique, on peut trouver des coccobacilles ou de longues chaînes de bacilles. Le bâtonnet peut s'incurver dans certains cas ou s'allonger en filaments. Ils sont de 0,5 à 0,2 μ m de diamètres et 1,5 à environ 10 μ m de long (Hermier *et al.*, 1997).

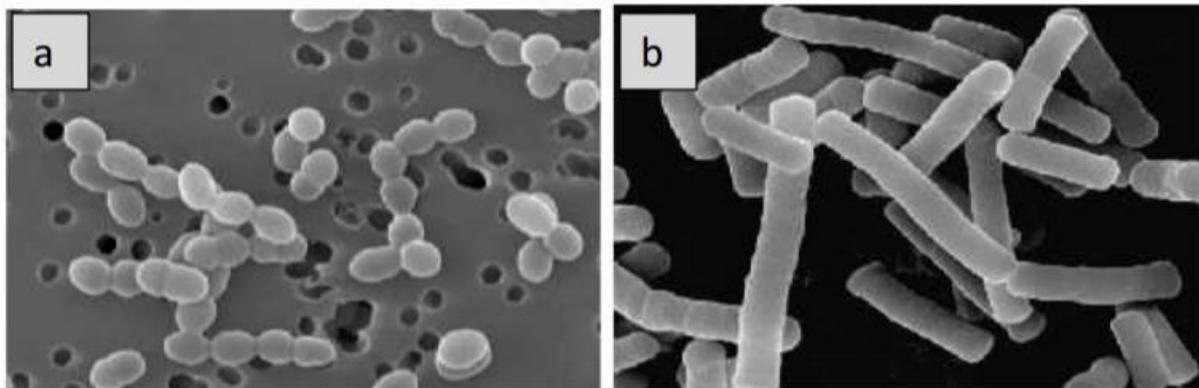


Figure 1 : (a) la forme cocci et (b) la forme bacille des bactéries lactiques observées au Microscope électronique à transmission (Makhloufi, 2011).

2.1.2.2. Caractères physiologiques et biochimiques :

Les bactéries lactiques convertissent le pyruvate en acide lactique pour régénérer le NAD⁺ utilisé dans la glycolyse (Mechai, 2009). A quelques exceptions près, elles partagent les caractéristiques suivantes : les bactéries lactiques sont hétérotrophes et chimio-organotrophes (Klein *et al.*, 1998; Badis, *et al.*, 2005). Elles tolèrent des pH acides, ne possèdent pas de catalase et possèdent un métabolisme anaérobie strict ou aérotoleérant (Hardie et Whiley, 1997). Pour les bactéries lactiques, la température optimale de croissance est variable selon les genres.

La plupart des bactéries lactiques sont équipées génétiquement pour avoir un métabolisme respiratoire, mais elles sont incapables de respirer si l'hème, n'est pas présent dans le milieu. L'hème est un cofacteur indispensable au cytochrome c-oxydase le dernier accepteur d'électrons de la chaîne respiratoire. De trop grandes teneurs en oxygène peuvent leur être néfastes en raison de l'absence de chaîne respiratoire (Kang, 1989 ; Lechardeur, 2011).

2.1.3. Besoins nutritionnels :

2.1.3.1. Exigences en acides aminés :

Les BL exigent la fourniture exogène d'acides aminés pour leur croissance, car elles sont incapables d'en effectuer la synthèse à partir d'une source azotée minérale simple. Ces besoins en acides aminés sont cependant variables d'une souche à une autre. D'une manière générale *Streptococcus thermophilus* est l'espèce la moins exigeante (6 acides aminés au maximum) alors que les lactobacilles sont auxotrophes pour un très grand nombre d'acides aminés (Kassas, 2017).

2.1.3.2. Exigences en vitamines :

Les exigences sont très variables, y compris au sein d'une même espèce. On distingue les vitamines dont le besoin est absolu, celles qui stimulent la croissance et celles ayant peu d'effet sur la croissance. Généralement, les exigences des BL portent souvent sur des vitamines du groupe B tel que la niacine, la riboflavine et l'acide panthothénique (Kassas, 2017).

2.1.3.3. Exigence en bases azotés :

Les bases azotées peuvent être stimulantes pour la croissance des BL. De telles exigences proviennent de l'absence d'enzymes impliquées dans le métabolisme des pyrimidines et des purines. Les streptocoques thermophiles présentent une exigence absolue pour les bases : adénine, guanine, uracile et xanthine tandis que les lactobacilles exigent la présence d'adénine, de cytidine, de désoxyguanosine, de guanine, de thymidine et d'uracile. En général, chez les lactobacilles, les exigences en bases azotées sont très variables selon les souches ; l'addition de ces composés peut même, chez certaines souches, entraîner des phénomènes d'inhibition de la croissance (**Kassas, 2017**).

2.1.4. Origine et habitat :

Les bactéries lactiques sont très fréquentes dans la nature (ubiquistes) et susceptibles d'être retrouvées dans tous types d'habitat en raison de leur bonne capacité d'adaptation (**Axelsson, 2004 ; Belyagoubi, 2014**). Elles peuvent se retrouver à l'état libre dans l'environnement (sol, eau, eaux usées, fumier,...), ou vivent et en symbiose entre elles en association avec un hôte, tel que l'Homme, l'animal, l'écosystème bactérien : le tractus gastro-intestinal ou génital des mammifères (**Makhloufi, 2012 ; Gálvez et al., 2011**).

Par exemple, dans l'environnement, les bactéries lactiques sont souvent retrouvées dans le lait et ses dérivés (lait fermenté, fromages,...) (**Makhloufi, 2012**). Le tractus gastro-intestinal des mammifères est colonisé par des bactéries lactiques telles que les genres *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, et *Weisseilla*. Par ailleurs, l'appareil génital chez la femme est principalement colonisé par des bactéries lactiques, telles que *Lactobacillus*, auxquelles il apporte des nutriments comme le glycogène. En acidifiant le milieu, ces bactéries apportent une protection contre des pathogènes responsables d'infections vaginales comme *Trichomonas vaginalis* pathogène responsable de la trichomonas vaginale (**Bjorkroth et Holzapfel, 2006, Ruiz et al., 2009**) et *Candida albicans* à l'origine de la vulvo-vaginite (**Makhloufi, 2012**).

2.1.5. Classification et caractéristiques des principaux genres des bactéries lactiques :

2.1.5.1. Taxonomie des bactéries lactiques :

Historiquement, le groupe des BL comportait les genres *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* et *Streptococcus*, mais les principaux genres importants en technologie agro-

alimentaire incluent également *Aerococcus*, *Carnobacterium*, *Lactococcus*, *Oenococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus*, *Weissella* et *Bifidobacterium* (Stiles et Holzappel, 1997; Klein *et al.*, 1998; Axelsson, 2004).

La taxonomie bactérienne moderne basée sur les caractéristiques phénotypiques et génotypiques a eu comme conséquence la reclassification de beaucoup d'espèces de BL.

Les BL possède un %GC au-dessous de 50%, cependant certaines espèces de *Lactobacillus* ont des valeurs pouvant atteindre 55% (Axelsson, 2004). Le pourcentage (GC%) de leur ADN donne une composition assez proche pour le genre *Lactococcus* (34,46%), *Leuconostoc* (36.43%), *Pediococcus* (34.42%) alors que le genre *Lactobacillus* est caractérisée par une grande hétérogénéité (32.53 %) (Novel, 1993).

Excepté les bifidobactéries (*Bifidobacterium*, avec une teneur en G/C de 67%), tous les genres mentionnés ci-dessus appartiennent au phylum. Néanmoins, ces derniers sont également considérés comme BL, en raison des propriétés physiologiques et biochimiques semblables et du partage de certaines niches écologiques communes telles que la région gastro-intestinale (Schleifer et Ludwig, 1995).

Les méthodes taxonomiques modernes appliquées aux BL incluent la caractérisation phénotypique et l'analyse génotypique. Les méthodes phénotypiques employées sont l'analyse de la composition de la paroi (particulièrement pour les bifidobactéries), l'empreinte digitale de protéines par l'analyse de toutes les protéines cytoplasmiques solubles et la mobilité électrophorétique de certaines enzymes (Kunene *et al.*, 2000).

L'identification des bactéries lactiques au niveau moléculaire est basée sur l'analyse d'homologie d'ADN comme méthode de référence. Des sondes d'acide nucléique ont été développées pour plusieurs espèces de lactobacilles (Drake *et al.*, 1996 ; Tilsala-Timisjarvi et Alatossava, 1997).

La classification est également possible avec des méthodes génotypiques (RAPD-PCR, ribotyping) ou d'autres techniques semblables. Ces techniques d'identification permettent d'établir de véritables arbres phylogénique entre les bactéries et aussi de reconnaître l'évolution des espèces et leur phylogénie au cours du temps (Schleifer *et al.*, 1991 ; Bolotin *et al.*, 2001). La figure 2 représente l'arbre phylogénique des bactéries lactiques.

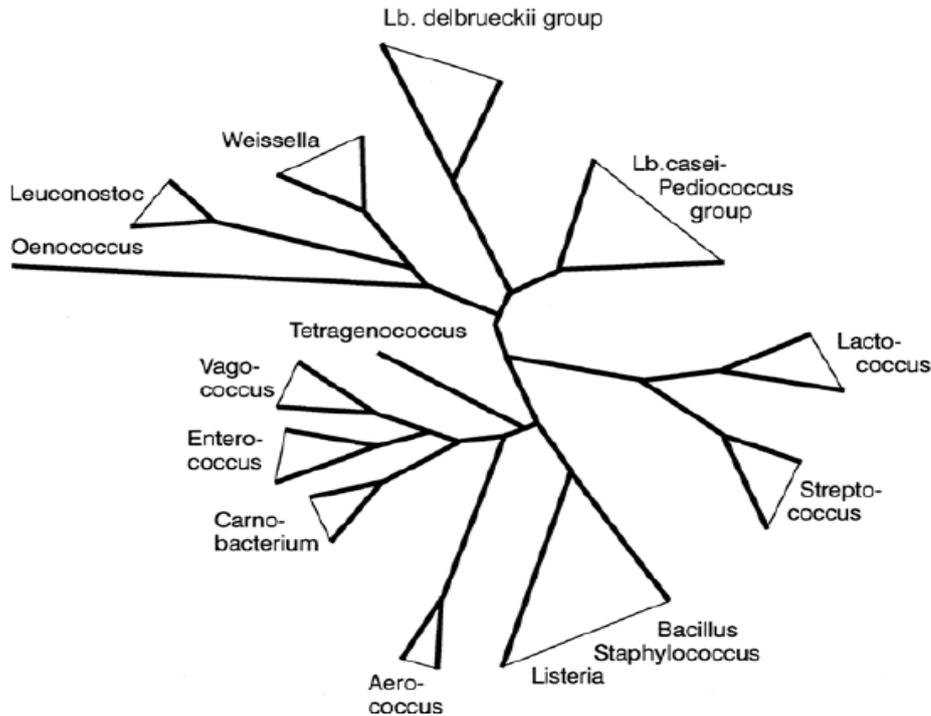


Figure 2 : arbre phylogénique des bactéries lactiques (Axelsson, 2004).

2.1.5.2. Principaux genres des bactéries lactiques :

Selon la dernière édition de Bergey's manual of systematic bacteriology (2009), les bactéries lactiques sont classées dans le phylum des *Firmicutes*, la Classe des *Bacilli* et l'ordre des *Lactobacillales* renfermant trente-cinq genres répartis sur six familles. Parmi ces genres, seulement treize sont utilisés dans la biotechnologie alimentaire, il s'agit de : *Aerococcus*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Vagococcus*, *Tetragenococcus*, *Weissella* (Drider et Privost, 2009) et *Bifidobacterium* (Leveau et Bouix, 1993).

Le tableau 1 présente les principaux genres de bactéries lactiques et les caractéristiques physiologiques qui forment la base de la classification et de l'identification.

Tableau 1 : Principaux genres de bactéries lactiques (Schleifer *et al.*, 1995 ; Dicks *et al.*, 1995).

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

2.1.5.2.1. Le genre *Lactococcus* :

Les *Lactococcus* sont des bactéries lactiques en forme cocci (figure 3) associées en paires ou en chaînettes de longueur variable, mésophile avec un optimum de croissance à 30°C. Leur métabolisme est anaérobie facultatif et elles sont capable de se multiplier en aérobie en présence d'hème. La surface de *Lactococcus* est recouverte d'une couche de polysaccharide lié de manière covalente au peptidoglycane de la paroi cellulaire, la structure de ce polysaccharide de paroi varie entre les souches. Les *Lactococcus* sont présentes dans la sphère uro-génitale de la femme, chez les végétaux céréales, pomme de terre, pois, haricots,... etc., et se retrouvent surtout en grandes quantités dans le lait cru ; elles sont utilisées comme levain dans les fermentations lactières (Teuber, 2015; Yu *et al.*, 2017).

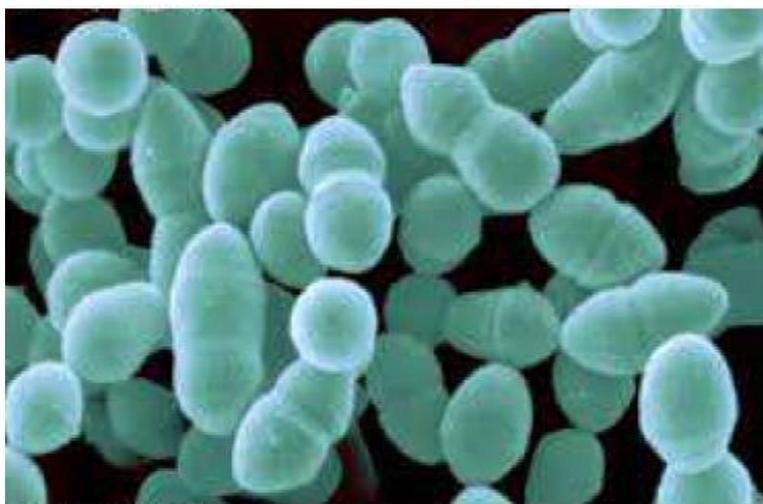


Figure 3 : *Lactococcus lactis* au microscope électronique (Corrieu et Luquet, 2008).

2.1.5.2.2. Les genre *Streptococcus* :

La famille de *Streptococcaceae* ou famille des Streptocoques est une grande famille de bactéries. Ce sont des cocci gram positive, en chaînettes ; il existe différents types: grandes, petites et même des fois des diplocoques. Elles sont anaérobies aérotolestants ce qui signifie que leur croissance est favorisée par une atmosphère enrichie en CO₂, leur catalase est négative. Elles ont des propriétés atmosphériques proches des Staphylocoques. On les retrouve de manière assez importante dans le tube digestif. La famille des Streptocoques comprend deux genres: le genre *Streptococcus* (figure 4) avec les Streptocoques *sensu* et les Pneumocoques et Le genre *Enterococcus* (Patel et Gupta, 2018 ; Park *et al.*, 2019).

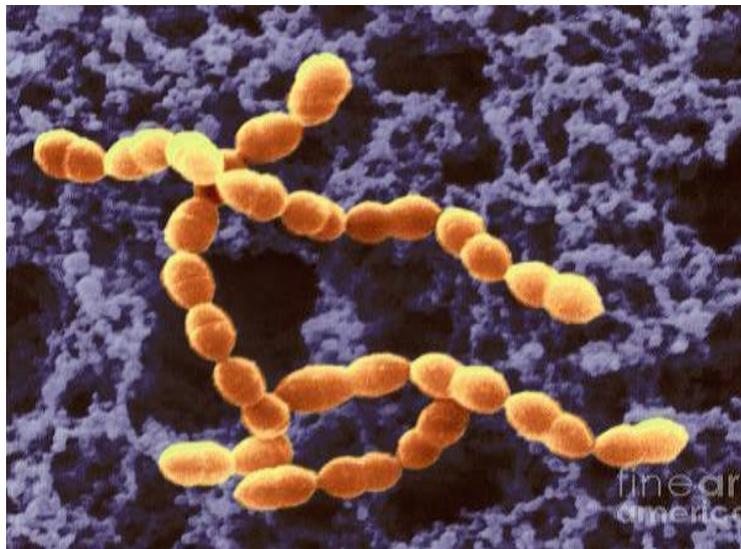


Figure 4 : *Streptococcus thermophilus* au microscope électronique (Furet *et al.*, 2004).

2.1.5.2.3. Le genre *Lactobacillus* :

Le genre *Lactobacillus* (figure 5) appartient au phylum des *Firmicutes*, la classe des *Bacilli* et l'ordre *Lactobacillales*, il présente le genre plus grand et le plus hétérogène très répandu dans les environnements végétaux, animaux et humains (dans la flore buccale, l'iléon et le côlon, et sont également dominants dans la flore vaginale). Se sont des bacilles regroupés en chaînettes, anaérobies facultatifs à gram positif non sporulés, sans catalase, gélatinase et nitrate réductase négative. Ils sont dépourvus de cytochrome, leur type respiratoires est anaérobies ou micro-aérophile (Sherid *et al.*, 2016 ; Menad, 2017).

Les *Lactobacillus* se développent rapidement à température comprise entre 40 et 50°C, le pH optimal de croissance est compris entre 5,5 et 6,2. Leurs pourcentages GC sont de 36 à 55%

(Guiraud, 2003 ; Kouakou et Thonart, 2011; Debeyer, 2020). Ils ont des besoins nutritionnels complexes (les glucides, les acides aminés, les peptides, les esters d'acides gras, les sels, les dérivés d'acides nucléiques et vitamines). Ces bactéries sont employées depuis longtemps pour la fermentation et la conservation de matières premières végétales alimentaires (Hammes et Vogel, 2012 ; Belhamra, 2017).

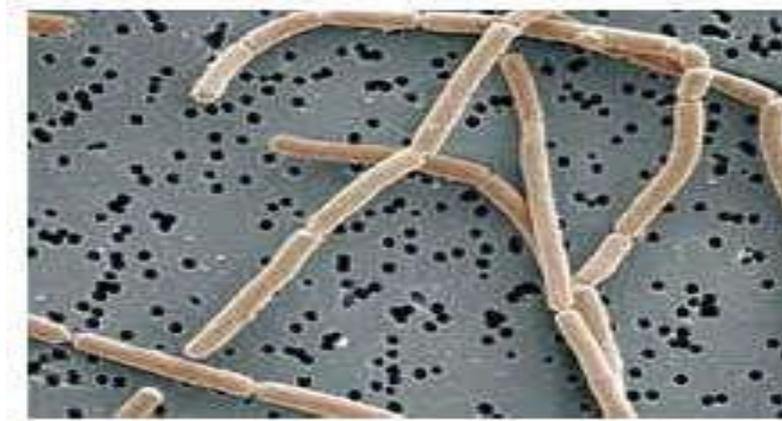


Figure 5 : *Lactobacillus acidophilus* (Maghnia, 2011).

2.1.5.2.4. Les genres *Enterococcus* et *Vagococcus* :

Les *Enterococcus* représentent le groupe des Entérocoques, généralement groupés isolés, en paires, en chainettes ou en amas, leur morphologie peut varier selon les conditions de culture, anaérobies facultatives, non sporulé de forme ovoïde, ubiquitaire, gram-positives. Ils ont été isolés du sol, des eaux de surface et de l'eau de mer, en association avec des plantes, dans les produits alimentaires fermentés, une partie du microbiote intestinal des vertébrés et des invertébrés, et agent responsable des maladies humaines. Ils sont composés de Streptocoques fécaux, *Enterococcus faecalis* (figure 6) et *Enterococcus faecium*. Ils se caractérisent par leur tolérance à 6,5% de NaCl, au pH 9,6 et par la croissance à 10°C et 45°C. De plus, les *Enterococcus* sont très résistantes au séchage (Hanchi *et al.*, 2018 ; Gracia et Rice, 2019).

Il est à noter que certaines espèces des genres *Streptococcus* et *Lactococcus* isolées de poisson et d'eau douce, sont classées dans le nouveau genre *Vagococcus* (Federighi, 2005).



Figure 6 : *Enterococcus faecalis* au microscope électronique (Wallace *et al.*, 2003).

2.1.5.2.5. Les genres *Leuconostoc*, *Oenococcus* et *Weissella* :

Les bactéries du genre *Leuconostoc* sont des bactéries lactiques mésophiles et hétérofermentaires. Ce sont des cocci ovoïdes ou sphériques, à Gram positif, catalase négative et anaérobies facultatives (Savado *et Traore*, 2011).

Le genre *Weissella* est constitué de coccobacilles ou de coques ovoïdes, se présentant de manière isolés ou regroupés en deux ou en courte chaînes, non sporulés, immobiles, catalase négative (Mechai, 2009).

L'espèce *Leuconostoc oenosa* été renommée *Oenococcus oeni* et certains lactobacilles hétérofermentaires ont été regroupés avec *Leuconostoc paramesenteroides* dans le nouveau genre *Weissella* (Federighi, 2005).

2.1.5.2.6. Les genres *Pediococcus*, *Tetragenococcus* et *Aerococcus* :

Les *Pediococcus* sont des germes microaérophiles, à besoins nutritifs complexes, de nombreuses espèces sont acidophiles et osmophiles, leur fermentation homolactique donne parfois de l'acide lactique racémique mais fréquemment la forme L prédomine. Ils sont des saprophytes et contaminent les produits végétaux. Ils sont parfois utilisés comme levains lactiques pour les charcuteries (Guiraud *et Rosec*, 2004).

Les genres *Tetragenococcus* et *Aerococcus* sont issus du genre *Pediococcus* dont ils forment des lignées phylogénétiques distinctes (Collins *et al.*, 1990; Matamoros, 2008).

Le genre *Aerococcus* regroupe des espèces de forme ovoïde (1-2 μ m de diamètre), α -hémolytiques, non-gazogènes, arginine(-), pouvant croître à une concentration de 6.5% de NaCl (Benguella, 2015).

2.1.5.2.7. Le genre *Carnobacterium* :

Les *Carnobacterium* (figure 7) sont décrits comme des alcalophiles, catalase négative, oxydase négative, psychrophiles, anaérobies facultatives (Corrieu et Luquet, 2008).

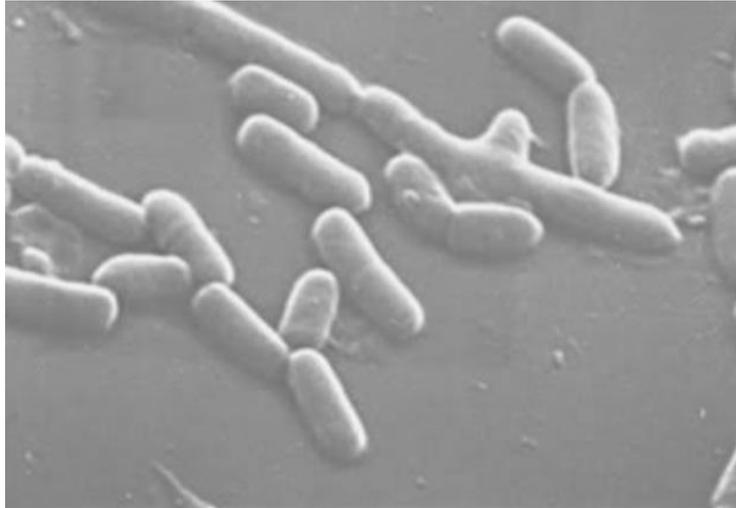


Figure 7 : *Carnobacterium* (Corrieu et Luquet, 2008).

2.1.5.2.8. Le genre *Bifidobacterium* :

Les bactéries de ce genre (figure 8) sont des bacilles à gram positif, anaérobies stricts, à haut pourcentage en CG, non sporulés, de forme irrégulière, comportant souvent des ramifications. Ces bactéries glucidolytiques dégradent les hexoses par une voie particulière : la voie du fructose-6-phosphate. Actuellement, 47 espèces sont décrites. L'habitat principal de ce genre est le tube digestif de l'Homme et des animaux, et il appartient au phylum des *Actinobacteria*, un des trois phyla dominants dans le microbiote de l'Homme. Son établissement est précoce chez les nouveau-nées et les oligosaccharides du lait maternel favorisent son implantation très dominante chez le nouveau-né allaité. Ce genre a un très faible pouvoir pathogène, excepté *Bifidobacterium dentium* qui a été associé à des pathologies dentaires (Butel *et al.*, 2014).

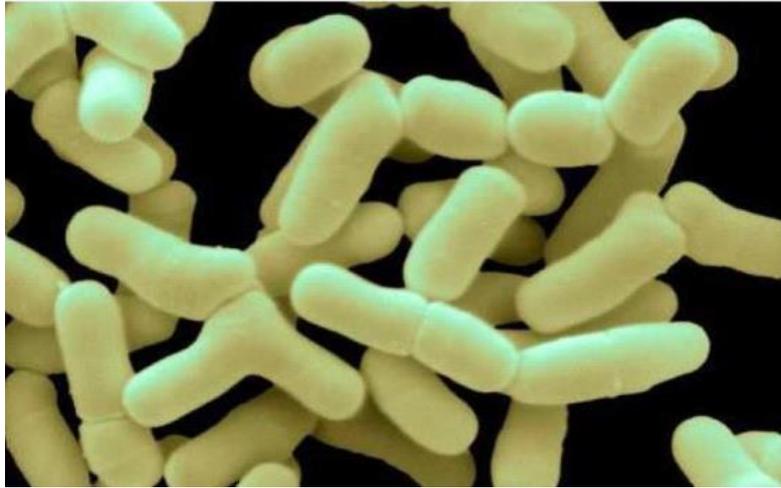


Figure 8 : *Bifidobacterium sp.* (Wallace *et al.*, 2003).

2.1.6. Métabolisme des bactéries lactiques :

La croissance nécessite la production d'énergie, les bactéries lactiques ne font pas exception à la règle, parce qu'elles ne possèdent pas un système respiratoire fonctionnel, elles doivent obtenir leur énergie par phosphorylation au niveau de substrat (Atlan, 2008).

2.1.6.1. Métabolisme des carbohydrates :

Toutes les bactéries lactiques possèdent un métabolisme fermentaire, leur permettant en utilisant des sucres fermentescibles, de produire principalement de l'acide lactique mais aussi d'autres acides organiques (acide acétique, acide formique). Bien que les bactéries lactiques constituent un certain nombre de genres divers, elles sont regroupées en tant que homofermentaires ou hétérofermentaires (figure 9) en fonction du produit final de leur fermentation (Alaoui *et al.*, 2016) :

- **Les bactéries lactiques homofermentaires :** possèdent l'enzyme aldolase et sont capables de fermenter le glucose plus directement en acide lactique que les hétérofermentaires. Les espèces des genres *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Enterococcus*, et certaines de *Lactobacillus* dans les conditions standard de croissance, fermentent les sucres par la voie d'Embden-Meyerhof- Parnas en pyruvate, ce dernier est converti en acide lactique par le lactate déshydrogénase (LDH). Dans certaines conditions de croissance (limitation de carbone, excès du carbone des sucres lentement métabolisé), le métabolisme homolactique peut se transformer en métabolisme mixte

caractérisé par la production d'acétate, formate, éthanol et /ou du CO₂ en plus de l'acide lactique (Kowalczyk *et al.*, 2015).

- **Les bactéries lactiques hétérofermentaires** : produisent de l'acide lactique comme principal produit en plus de dioxyde de carbone, de l'acide acétique et de l'éthanol à partir de la fermentation du glucose. Les *Leuconostoc*, *Oenococcus*, et certaines espèces de *Lactobacillus* fermentent les sucres généralement par la voie de phosphocétolase. Les pentoses sont fermentés en pyruvate et acétylcholine qui sont convertis ultérieurement en lactate et acétate respectivement. Les hexoses peuvent être convertis en lactate, éthanol et CO₂ (Mozzi et Vignolo, 2010 ; Jagadeesh, 2015 ; Kowalczyk *et al.*, 2015).

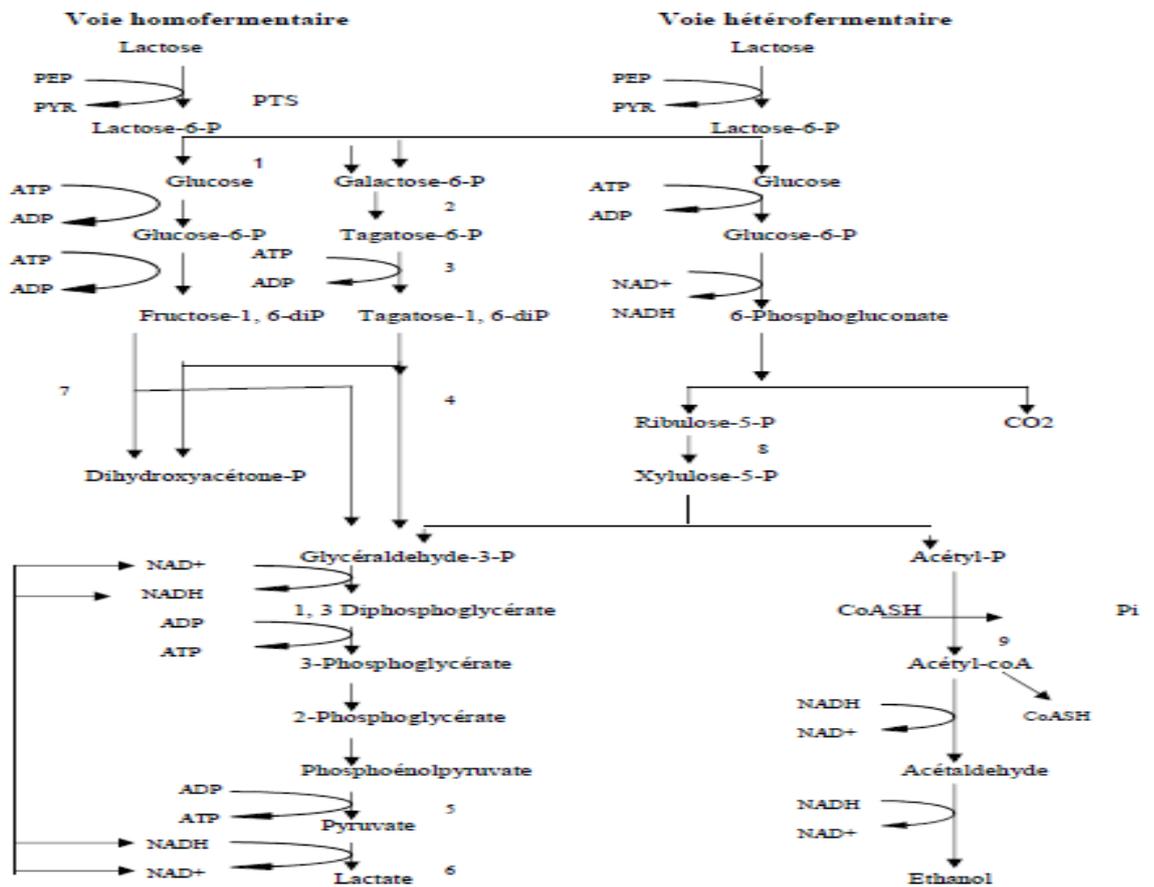


Figure 9 : la fermentation du lactose chez les bactéries lactiques : voies homo et hétérofermentaire (Bekhouche, 2006).

1 : phospho-β-galactosidase ; 2 : tagatose-6-phosphate Isomérase ; 3 : tagatose-6-phosphate Kinase ; 4 : tagatose-1,6-diphosphate aldolase ; 5 : pyruvate Kinase ; 6 : lactatedéshydrogénase ; 7 : fructose-1,6-diphosphate aldolase ; 8 : pentose-5-phosphate céto-lase ; 9 : éthanol déshydrogénase.

La conséquence pratique, pour le produit alimentaire siège d'une fermentation lactique, est que les bactéries lactiques jouent un rôle fondamental dans l'inhibition des flores nuisibles à la technologie ou dans celle des flores pathogènes. Deux facteurs principaux, parfois difficilement dissociables, doivent être pris en compte : le pH et les acides (lactique et acétique produits) (Avagodo, 2004). Ainsi, une bonne acidification lactique entraîne une inhibition de la croissance d'*Escherichia coli*, des *Pseudomonas*, des *Salmonella*, des *Clostridia* ou de *Listeria monocytogenes*. Par comparaison, l'acide acétique est beaucoup plus toxique que l'acide lactique. En milieu faiblement tamponné, les deux acides agissent en synergie : l'acide lactique contribue à diminuer le pH du milieu, augmentant ainsi la toxicité de l'acide acétique vis à vis des autres bactéries (Avagodo, 2004).

2.1.6.2. Métabolisme protéolytique :

L'incapacité des bactéries lactiques à synthétiser les acides aminés, nécessaires à la synthèse protéique, nécessite un fonctionnement actif de leur système protéolytique (figure 10) dans les environnements où les protéines constituent la principale source d'azote. Le système protéolytique est composé de protéases associées à la paroi cellulaire, qui catalyse l'hydrolyse de protéines en peptides contenant de 7 à 16 résidus aminés. Ces peptides sont ensuite dégradés par des endopeptidases ou exopeptidases en unités transportables d'acides aminés et de petits peptides (Maghnia, 2011). Certaines souches de *Lactococcus Lactis* sont capables de synthétiser la plupart des acides aminés dont elles ont besoin (Leonard, 2013).

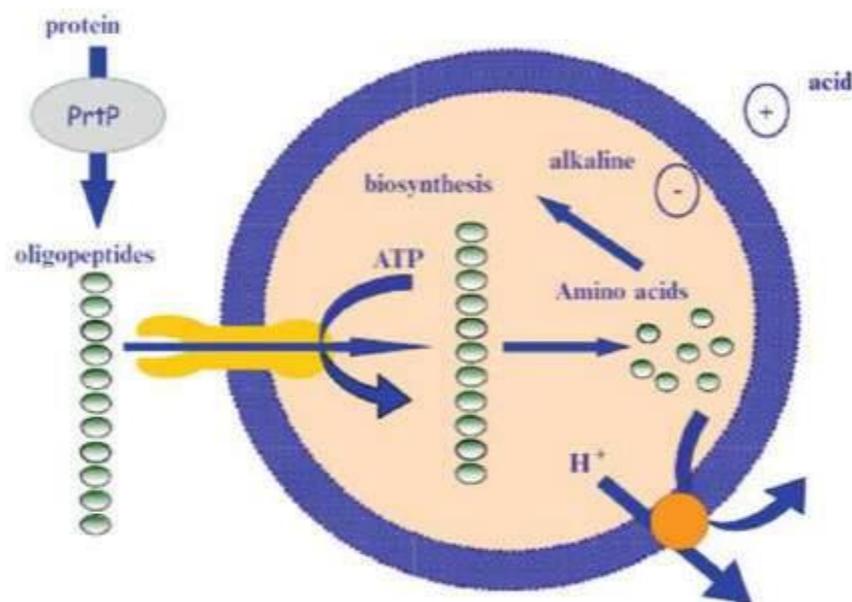


Figure 10 : système protéolytique des bactéries lactiques (Boullouf, 2016).

2.1.6.3. Métabolisme lipolytique :

Les bactéries lactiques sont connues comme faiblement lipolytiques comparées à d'autres bactéries. Les bactéries appartenant au genre *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc* et *Pediococcus* sont lipolytiques tandis que les Lactocoques ont une activité estérasique. Les activités lipasique et estérasique sont maximales pendant la phase exponentielle de croissance, les lipases bactériennes catalysent la production des acides gras à longues chaînes à partir des mono et diglycérides, alors que les estérases permettent la libération des acides gras volatils, dont la concentration augmente pendant l'affinage. Ils sont également des précurseurs pour la formation de méthylcétones, alcools, lactones et esters ; la figure suivante présente les différentes voies conduisant à la formation de ces composés (Dellali, 2012).

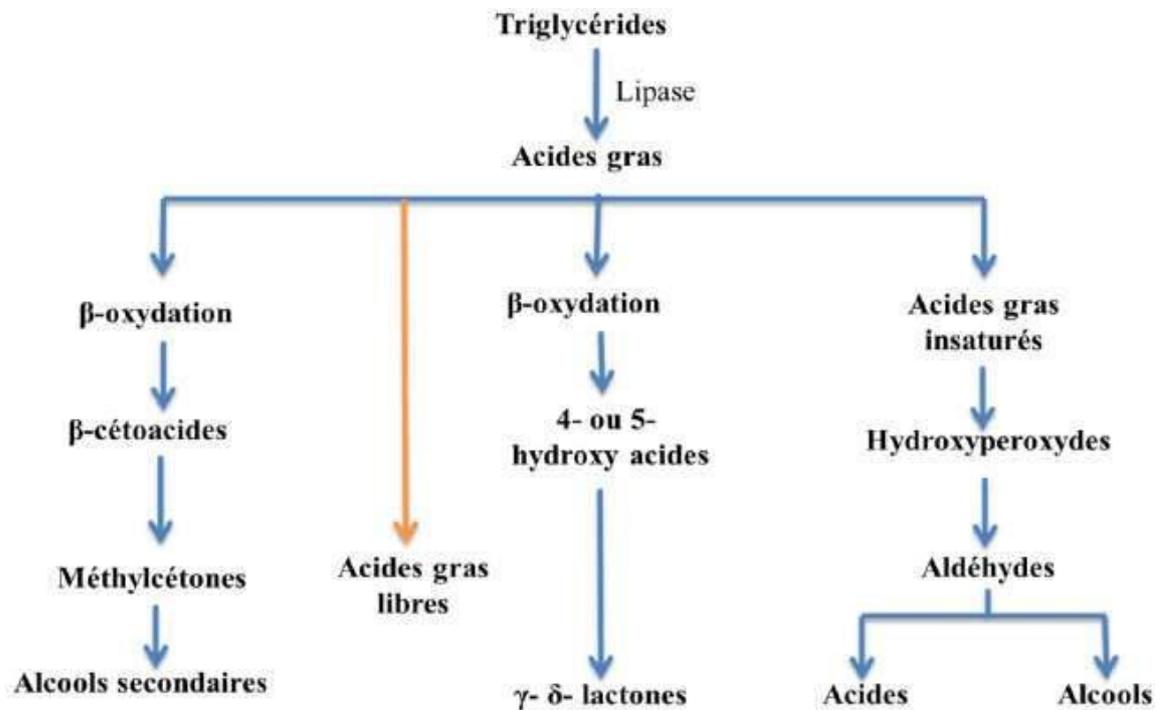


Figure 11 : principales voies de la lipolyse (Boullouf, 2016).

2.1.6.4. Métabolisme du citrate :

Le citrate est un intermédiaire central du cycle des acides tricarboxyliques. Il joue un rôle important dans le métabolisme énergétique des cellules vivantes et également un précurseur pour la synthèse des acides aminés. L'acide citrique est utilisé par nombreuses espèces des genres *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Enterococcus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc* et *Lactobacillus*. Le citrate ne peut être dégradé qu'en présence d'un substrat fermentescible et

d'une source d'azote, il est transporté à l'intérieur des cellules par une citrate-perméase, où il est scindé en acétate (en majeure partie excrété) et en oxaloacétate par le complexe enzymatique citrate lyase. L'oxaloacétate est ensuite converti en pyruvate et en CO₂ par une oxaloacétate décarboxylase. Des transformations successives du pyruvate aboutissent à la formation de composés aromatisants et le produit fini est le 2,3-butylen-glycol (2,3-butanediol) (figure 12) (Bekhouche, 2006; Drider et Prevost, 2009).

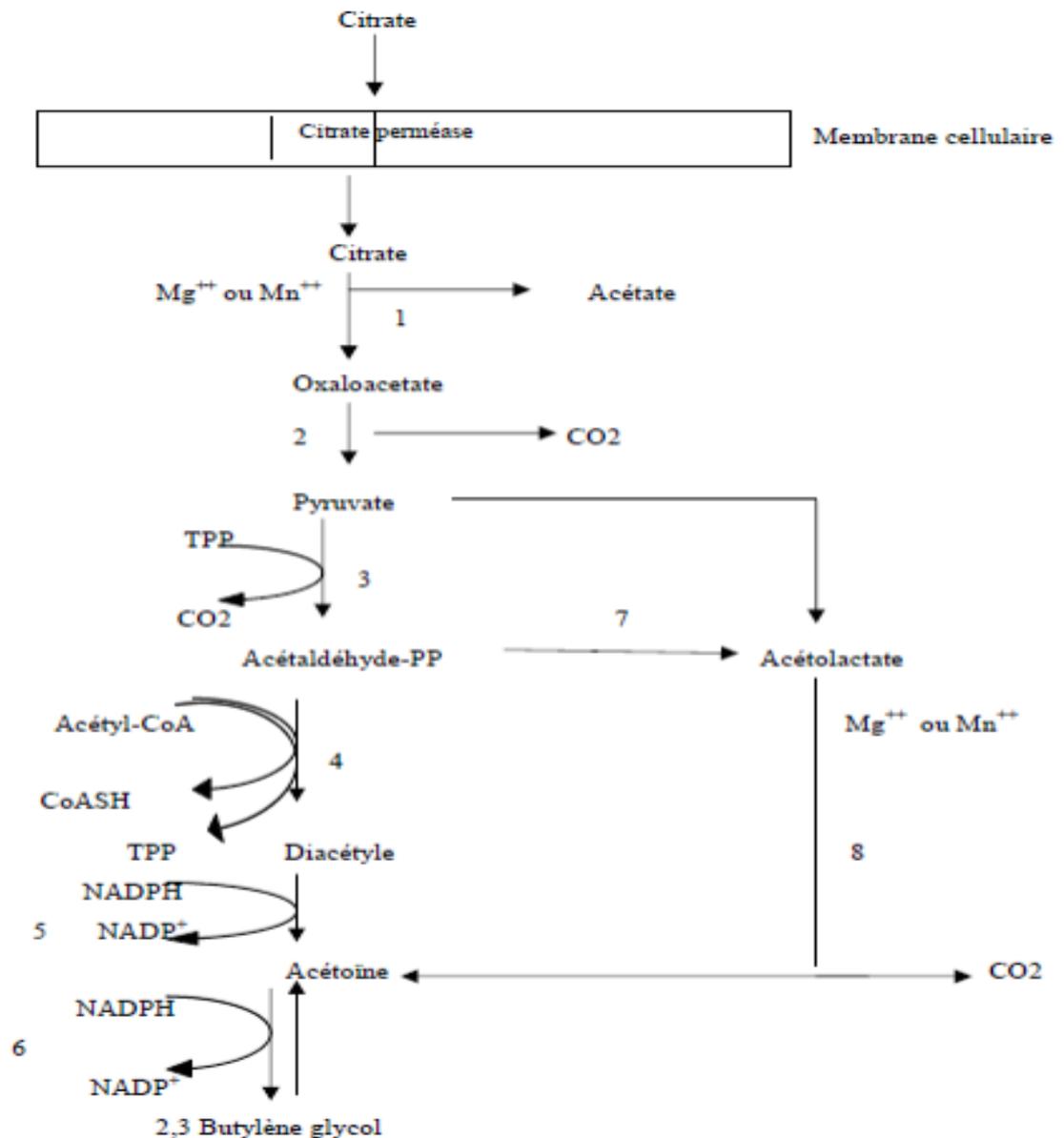


Figure 12 : le métabolisme du citrate chez les bactéries lactiques (Bekhouche, 2006).

TPP : thiamine pyrophosphate; 1 : citrate lyase (citritase); 2 : oxaloacétate décarboxylase; 3 : pyruvate décarboxylase; 4 : diacétyle synthétase; 5 : diacétyle réductase; 6 : acétoïne réductase; 7 : acétolactate synthétase; 8 : acétolactate décarboxylase.

2.1.7. Intérêts et domaines d'utilisation des bactéries lactiques :

Les bactéries lactiques sont utilisées dans plusieurs technologies pour répondre aux besoins de l'industrie alimentaire, cosmétique, et pharmaceutique (**Bouzaid *et al.*, 2016**).

2.1.7.1. Domaine alimentaire :

Depuis longtemps, les bactéries lactiques sont utilisées de façon consciente ou non pour leurs activités technologiques. Elles sont consommées dans les produits alimentaires fermentés (produits dérivés du lait, de la viande et du poisson, le vin, la bière, le pain, les produits végétaux,...), parce qu'elle se caractérisent par une sécurité hygiénique, une stabilité de stockage et des propriétés sensorielles attrayantes (**Mami *et al.*, 2010 ; Al-tawaha et Meng, 2018**). De plus, les EPS produits par les BL contribuent à la qualité du lait fermenté, en particulier à sa texture, saveur et viscosité. Ces molécules peuvent maintenir une certaine onctuosité du lait fermenté et un bon goût tout en réduisant l'utilisation des additifs alimentaires. L'effet conservateur des bactéries lactiques est souvent dû à la capacité à produire des composés inhibiteurs, y compris le peroxyde d'hydrogène, l'éthanol, les acides organiques (acide lactique et acétique), le dioxyde de carbone, les bactériocines ou les substances analogues aux antibiotiques (**Chun-lei *et al.*, 2014 ; Ngozi, 2017 ; Reuben *et al.*, 2020**).

2.1.7.2. Domaine thérapeutique :

L'action des bactéries lactiques sur la santé se classe dans le cadre des probiotiques. En 2001, un comité d'experts de l'Organisation des Nations pour l'alimentation et l'agriculture (FAO) et l'organisation Mondiale de la Santé (OMS) définissait les probiotiques comme des micro-organismes vivants qui lorsqu'ils sont consommés en quantité suffisante dans l'alimentation apportent des effets bénéfiques à la santé du consommateur (**Boumediene, 2013 ; Yan et Min, 2014 ; Shehata *et al.*, 2016**) . Parmi les avantages exercés par les probiotiques sur la santé de l'hôte: la réduction de l'intolérance au lactose, des allergies, du cholestérol, la pression artérielle et la prévention du cancer du côlon,...etc. Tous ces effets bénéfiques se font spécialement grâce au contact direct entre les cellules, à la sécrétion de diverses molécules et/ou à l'alimentation microbienne croisée (**Gómez *et al.*, 2016 ; Mokoena, 2017**).

2.1.7.3. Domaine cosmétique :

La capacité de rétention d'eau de l'acide lactique le rend approprié à l'usage comme produit hydratant dans les formulations cosmétiques. Le lactate d'éthyle est un ingrédient actif dans plusieurs préparations anti-acné. L'occurrence naturelle de l'acide lactique dans le corps humain fait qu'il est très utile comme substance active dans les produits cosmétiques (**Wee *et al.*, 2006**).

2.1.7.4. Domaine Industriel :

L'acide lactique est utilisé dans divers procédés industriels, comme agent de détartrage, dissolvant, nettoyeur, mouillant,... etc. En raison de l'augmentation des quantités de déchets plastiques dans le monde entier, des efforts considérables de recherches et de développement ont été consacrés afin de substituer les thermoplastiques conventionnels par des matériaux biodégradables, à une seule utilisation (**Reddy *et al.*, 2008**).

2.2. L'activité antimicrobienne des bactéries lactiques :

2.2.1. Les interactions entre les microorganismes :

L'évolution des conditions physico-chimiques et la disponibilité en nutriments sont des éléments importants pour le développement des microorganismes. Ils peuvent ainsi générer des phénomènes d'interactions. Ces interactions peuvent s'établir entre différentes populations (moisissures, bactéries) et au sein même d'une population regroupant différentes espèces ainsi qu'entre différentes souches d'une même espèce. Les interactions sont classées selon une approche phénoménologique basée sur leurs effets positifs ou négatifs et ou une approche mécanistique c'est-à-dire directe (contact physique entre les bactéries) ou indirecte (substance produite ou consommée par un des microorganismes) (**Tahlaiti, 2019**).

2.2.1.1. Interactions positives :

Quand on parle d'interactions positives, on différencie le commensalisme où l'un des partenaires est stimulé par la production d'une substance essentielle ou par la destruction d'un facteur inhibiteur, du mutualisme où, dans ce cas, l'interaction est bénéfique aux deux partenaires (**Cholet, 2006**).

2.2.1.2. Interactions négatives :

Il existe divers mécanismes d'inhibition des microorganismes entre eux. Si l'inhibition intervient par la production de substances inhibitrices et si un seul des deux microorganismes est inhibé par l'autre, ils convient de parler d'amensalisme. En revanche, si les mécanismes d'inhibition sont réciproques, il s'agit alors d'un phénomène de compétition. Cette compétition peut s'exercer vis-à-vis de l'espace disponible (inhibition de contact) et/ou de la disponibilité en substrats. L'antagonisme désigne une lutte réciproque des deux populations par la production de molécules inhibitrice, généralement spécifiques (**Cholet, 2006 ; Monnet et al., 2008**).

2.2.2. Les propriétés inhibitrices des bactéries lactiques :

Les bactéries lactiques, utilisées habituellement en tant que ferments pour développer certaines caractéristiques organoleptiques, peuvent également avoir un rôle comme agent de préservation des aliments (**Ammor et al., 2006**).

Il est intéressant de noter que ces phénomènes d'inhibition causés par les bactéries lactiques peuvent également s'exercer contre de nombreux organismes étrangers à savoir les staphylocoques, les clostridies, les streptocoques non lactiques et les bactéries coliformes (**Julliard et al., 1987**). Le pouvoir antimicrobien des bactéries lactiques peut être attribué à divers facteurs : (**Ammor et al., 2006**).

2.2.2.1. La compétition nutritionnelle et pour l'espace :

Lorsque plusieurs souches sont mises en culture dans un même milieu, elles entrent nécessairement en compétition, si elles utilisent le même substrat. C'est ce qui se passe avec les bactéries lactiques utilisant le lactose (**Julliard et al., 1987**).

Du fait de leurs importantes exigences nutritionnelles, les bactéries lactiques envahissent complètement le milieu. Elles limitent alors la multiplication des autres colonisateurs (**Castellano et al., 2008**). De plus, les cellules d'une même espèce possèdent des systèmes de communication (**Gram et al., 2002**). Lorsqu'une certaine densité cellulaire est atteinte (système de «Quorum Sensing»), des signaux sont envoyés d'une cellule à l'autre pour réguler l'expression de certains gènes et orienter le métabolisme (**Leonard, 2013**).

2.2.2.2. La production de métabolites antimicrobiens :

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, synthétisent des molécules à actions bactéricides et ou bactériostatiques tels que l'acide lactique, des acides organiques, le diacétyle, le dioxyde de carbone,...(Chentouf, 2015 ; Bouzaid *et al.*, 2016).

2.2.2.2.1. Les métabolites antimicrobiens non peptidiques :

- **Les acides organiques :**

Les acides organiques sont produits par les bactéries lactiques lors du processus de fermentation. Les principaux acides produits sont : l'acide lactique, l'acide acétique et propionique. Ces derniers permettent d'inhiber la croissance des levures et d'autres bactéries qui ne peuvent se développer à pH acide.

L'effet inhibiteur de ces acides organiques est principalement provoqué par les molécules non dissociées qui diffusent à travers les couches lipidiques des membranes des microorganismes provoquant ainsi un abaissement du pH dans le cytoplasme qui a pour conséquence la déstabilisation des cellules (Zhitnitsky *et al.*, 2014). Par contre, les bactéries lactiques possèdent un système de Tolérance à l'Acide (TA) (AcidToleranceResponse) qui leur permet de survivre et de continuer à faire fonctionner leur métabolisme (Van de Guchte *et al.*, 2002).

Certaines bactéries lactiques hétérofermentaires dites propioniques sont capables de convertir le lactate en propionate et acétate accompagné d'une production de CO₂. Même si cette production d'acide propionique est à l'état de traces, l'effet inhibiteur a été démontré surtout contre la croissance des champignons et moisissures (Leonard, 2013).

- **Le peroxyde d'hydrogène :**

Le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) présente un effet antimicrobien qui peut être expliqué par la production de radicaux libres tels que le groupement superoxyde et le groupement hydroxyle capables d'endommager l'ADN bactérien. En outre, le pouvoir inhibiteur du peroxyde d'hydrogène pourrait être dû à des réactions d'oxydation des groupes sulfhydryles provoquant une modification de la conformation des protéines et donc la perte de fonction des enzymes.

De plus, il peut engendrer la peroxydation des lipides membranaires, augmentant ainsi la perméabilité de la membrane du microorganisme cible (Nair *et al.*, 2017).

La production et l'accumulation du peroxyde d'hydrogène crée un environnement toxique pour les cellules non équipées de système de protection capable de dégrader ce composé, son accumulation est inhibitrice vis-à-vis des souches qui génèrent du peroxyde mais aussi vis-à-vis d'autres microorganismes (De Roissart et Luquet, 1994).

- **Le dioxyde de carbone :**

Le dioxyde de carbone (CO₂) est principalement formé pendant la fermentation des hexoses suivant la voie hétérofermentaire. Le pouvoir antimicrobien du dioxyde de carbone produit par les bactéries lactiques s'explique par la création d'une atmosphère anaérobie qui inhibe la croissance de certains microorganismes aérobies tels que la flore d'altération psychrophiles à Gram négatif. De plus, l'accumulation du dioxyde de carbone dans la membrane lipidique de la cellule cible pourrait modifier sa perméabilité (Leonard, 2013).

- **La reutéline :**

La reutéline (ou 3-hydroxypropionaldéhyde) est une substance antimicrobienne qui est produite comme métabolite intermédiaire pendant la fermentation anaérobie du glycérol par certaines espèces de *Lactobacillus*. La fermentation du glycérol se déroule en deux étapes. Le glycérol sera tout d'abord déshydraté par une glycérol déshydratase pour former de la reutéline qui sera ensuite réduite en 1,3-propanediol par une oxydoréductase. Cette deuxième étape est inhibée en l'absence de glucose. La reutéline s'accumule alors dans le microorganisme producteur. À haute concentration, elle est excrétée dans le milieu. Sa toxicité contre la cellule productrice limite sa production, certaines espèces comme *Lactobacillus reuteri* sont plus résistantes (Langa *et al.*, 2014).

- **Le diacétyle :**

Le diacétyle (C₄H₆O₂) est un produit du métabolisme de citrate qui est responsable de l'arôme "beurre" de produits laitiers et qui inhibe la croissance bactérienne en interférant probablement avec les mécanismes gouvernant l'utilisation de l'arginine. Il est rarement présent dans l'aliment en quantité suffisante pour y exercer une activité antimicrobienne importante (Heita, 2014).

2.2.2.2. Les métabolites antimicrobiens peptidiques :

Les métabolites antimicrobiens peptidiques produits par les bactéries, y compris les bactéries lactiques sont connus sous le nom de bactériocines. Il s'agit de composés protéiniques produits par diverses bactéries Gram positives et Gram négatives (**Sidhu et Nehra, 2017**) avec un mode d'action bactéricide ou bactériostatique contre des espèces étroitement apparentées (**Jaya Chitra et Siva Kumar, 2018**). Ils sont produits et secrétés à l'extérieur de la cellule productrice. Leur spectre d'activité peut être plus ou moins large, quelquefois limité aux espèces proches phylogénétiquement des bactéries productrices (**Bouzaid et al., 2016**).

Les bactériocines sont synthétisées par voie ribosomique par les bactéries, avec une longueur inférieure à 10 acides aminés ou jusqu'à 688 résidus, qui inhibent ou tuent les micro-organismes phylogénétiquement apparentés et/ou non apparentés qui partagent la même niche microbienne (**Pacheco-Canoa et al., 2014**). Leur synthèse est codée par des gènes qui peuvent être portés par des chromosomes ou des plasmides (**Bharti et al., 2015**).

La formation de bactériocines est une caractéristique héréditaire des organismes, consistant en ce que toutes les souches ont la capacité de synthétiser une ou plusieurs substances bactériocinogènes strictement définies et spécifiques (**Alexander et al., 2017**). Selon **Cotter et al. (2005)**, entre 30 et 99% des procaryotes produisent au moins une bactériocine (**barbosa et al., 2015**). A titre d'exemple, la production de deux bactériocines synergiques a été rapportée pour plusieurs espèces d'*Enterococcus* : les entérocinines L50A et L50B, les entérocinines 1071A et 1071B (**Batdorj et al., 2005**) et certaines souches de *Lactobacillus plantarum* sont capables de produire plus d'un peptide avec un effet antibactérien synergique (**Barbosa et al., 2015**).

Cette capacité antimicrobienne fournit à la bactérie hôte non seulement un avantage compétitif, mais plus significativement, la possibilité d'une communication spécifique à l'espèce grâce à la détection du quorum conduisant à la mise en place d'un microbiote potentiellement stable (**Pacheco-Canoa et al., 2014**).

Le mécanisme antimicrobien général des bactériocines est basé sur la perturbation de la membrane cellulaire via la formation de pores ou un « effet détergent », comme dans le cas de la nisine (**Mora-Villalobos et al., 2020**). Elles peuvent inhiber les micro-organismes qui sont étroitement liés à la souche productrice, cette dernière produit une protéine d'immunité pour se protéger des effets délétères de la bactériocine qu'elle produit (**Boumediene, 2013**). A

l'exception de la nisine qui est un inhibiteur d'un large éventail d'agents pathogènes d'origine alimentaire et de nombreux autres micro-organismes de détérioration à Gram positif, l'effet peut être bactéricide ou bactériostatique en fonction de l'état physiologique de la bactérie cible ou de la concentration en bactériocine (**Hassan, 2020**).

Les bactériocines produites par les bactéries lactiques sont intrinsèquement tolérantes aux fortes contraintes thermiques et sont connues pour leur activité sur une large gamme de pH. Ces peptides antimicrobiens sont également incolores, inodores et insipides, ce qui augmente encore leur utilité potentielle (**Perez et al., 2014**). Les bactériocines de faible poids moléculaire sont très thermostables, à l'opposé de celles qui sont à poids moléculaire élevé qui sont très sensibles aux traitements thermiques (**Mameche, 2008**) et sont généralement stables dans les milieux acides et neutres, par contre elles perdent leur stabilité en milieu basique. Leur activité peut être affectée par la présence de surfactants chimiques, tels que l'EDTA, et présente un effet de synergie lorsqu'elle est appliquée avec certains antibiotiques (**Todorov et al., 2018**). Elles sont sensibles aux enzymes protéolytiques (**Senbagam et al., 2013**).

Les bactériocines produites par les BL ont attiré trop d'attention en raison de leur utilisation sûre et naturelle en tant qu'inhibiteur contre micro-organismes pathogènes dans la production alimentaire (**Demir et Başbülbul, 2017**).

Leur utilisation dans le domaine alimentaire est devenue très intéressante grâce à leur potentiel d'assurer une sécurité microbienne et une bonne qualité du produit alimentaire. L'utilisation des bactériocines comme additifs naturels dans les aliments a suscité l'intérêt du consommateur qui cherche à minimiser l'utilisation des additifs chimiques artificiels dans les produits alimentaires. Plusieurs études ont montré l'efficacité de la nisine en tant qu'agent de conservation dans les aliments comme la truite fumée, les produits à base d'œufs liquides pasteurisés, les fromages et d'autres produits laitiers. En effet, la nisine est la plus étudiée des bactériocines et la seule utilisée commercialement dans les produits alimentaires (**Egan et al., 2016**).

En ce qui concerne le domaine thérapeutique, et comme on assiste à des nombres croissants d'infections causées par des bactéries résistantes aux antibiotiques, les travaux de recherche sont orientés ces dernières années vers les bactériocines qui, grâce à leur mode d'action différent des antibiotiques conventionnels, pourraient être considérées comme une alternative prometteuse aux antibiotiques (**Bemena et al., 2014 ; Chikindas et al., 2018**).

Dans le cas du traitement du cancer, certains chercheurs ont démontré que les bactériocines, ont une activité contre les cellules tumorales. À titre d'exemple, des recherches ont démontré in vitro que la nisine a montré des capacités de prévention de la croissance des cellules tumorales. Cette bactériocine et d'autres peptides antimicrobiens in vitro ont mis en évidence qu'ils pourraient avoir une application potentielle en tant que médicaments anticancéreux (**Chikindas *et al.*, 2018 ; Ibrahim, 2019**).

Matériel et méthodes

3.1. Le lieu de travail :

Notre travail, qui a été réalisé au niveau du laboratoire de microbiologie de la faculté des sciences de la nature et de la vie, de l'université Ahmed Zabana -Relizane- durant la période février-avril 2025, se divise en deux parties :

- L'isolement et la pré-identification de souches lactiques autochtones à partir d'un échantillon de lait de chèvre.
- L'étude du pouvoir antagoniste de ces bactéries ainsi que d'autres qui ont été auparavant identifiées, vis à vis de quelques bactéries pathogènes.

3.2. La confirmation de la pureté des souches identifiées et de leur appartenance au groupe lactique :

Sept souches lactiques, provenant de la collection du laboratoire EDD (environnement et développement durable) de l'université de Relizane-Ahmed Zabana, sont testées au cours de ce travail pour leur pouvoir antimicrobien (tableau 2).

Tableau 2 : souches lactiques identifiées

Souche	Identification	Origine	Référence
S1	<i>Enterococcus faecalis</i>	Lait de chamelle	(Chraa et Chami , 2019)
S2	<i>Lactococcus lactis</i>	Lait de chamelle	
S6	<i>Lactobacillus sp.</i>	Lait de chamelle	
S7	<i>Lactobacillus paracasei</i>	Lait humain	
S8	<i>Lactobacillus plantarum</i>	Lait de brebis	
S9	<i>Lactobacillus plantarum</i>	Lait de brebis	
S11	<i>Lactobacillus plantarum</i>	Lait de brebis	

3.2.1. La revivification des souches :

Les sept souches, qui ont été conservé dans le milieu lait + glycérol, sont ensemencées dans 5ml de milieu MRS liquide (figure 13) puis incubées à 37°C pendant 18 h. Le développement de ces bactéries se traduit par un trouble et une pastille blanche au fond du tube. Après croissance, elles sont ensemencées par stries d'épuisement sur milieu MRS solide et incubées à 37°C pendant 24h jusqu'à l'obtention de colonies homogènes de même forme, même taille et même couleur.



Figure 13 : la revivification des souches identifiées dans le bouillon MRS

3.2.2. L'examen macroscopique :

La morphologie des colonies et leur dimension sont étudiées à partir des cultures obtenues sur la gélose MRS. Elle consiste à étudier la forme, l'aspect, le contour, la surface et la couleur des colonies.

3.2.3. L'examen microscopique :

L'étude microscopique est effectuée après la coloration de Gram qui permet de définir la forme des cellules, leur taille et leur mode d'association.

3.2.4. La recherche de la catalase :

- **Le principe :**

La catalase est une enzyme qui catalyse la dégradation du peroxyde d'hydrogène, produit toxique du métabolisme aérobie de nombreuses bactéries, en H₂O et ½ O₂ (Guy *et al.*, 2006).

- **La technique :**

La présence de l'enzyme catalase est mise en évidence par le dépôt d'une colonie prélevée à partir des milieux de culture utilisés dans une goutte d'eau oxygénée. Le dégagement de gaz se traduit par la formation des bulles d'air sous l'action de l'enzyme à tester (Ahmed et Irene, 2007).

3.3. L'isolement de souches lactiques autochtones :

Le lait cru est largement utilisé comme support d'isolement et de sélection de souches lactiques à activité biologique. Au cours de ce travail, un échantillon de lait de chèvre (figure 14) est prélevé dans un flacon en verre et transporté au laboratoire où il est incubé à 37°C pendant 24 h avant d'être utilisé pour permettre sa coagulation.



Figure 14 : l'échantillon du lait de chèvre

3.3.1. La préparation des dilutions décimales :

La dilution est un processus qui consiste à réduire la concentration d'une substance dans une solution. Dans ce but, une série de dilutions décimales est réalisée en cascade jusqu'à la dilution 10⁻⁶ (figure 15).

Ces dilutions sont préparées en prélevant aseptiquement 1 ml de la solution mère (lait coagulé) et en la transférant dans un tube contenant 9 ml d'eau physiologique (dilution 10^{-2}), puis en prélevant 1 ml de cette dernière dilution et en la transférant, également, dans un deuxième tube contenant 9 ml d'eau physiologique (dilution 10^{-3}) et la même chose est faite pour toute les dilutions préparées.

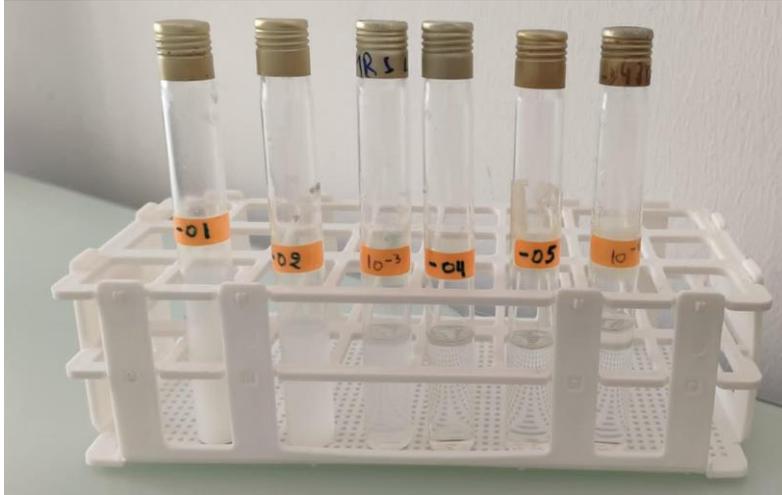


Figure 15 : la série de dilutions décimales de l'échantillon de lait de chèvre.

3.3.2. L'isolement :

Deux milieux sélectifs pour les bactéries lactiques MRS et M17 sont utilisés dans cette étape. Ils sont coulés et laissés solidifié sur boîtes de Pétri. A partir de chaque dilution homogénéisée par Vortex (10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} et 10^{-6}), 100 μ l sont prélevés à l'aide d'une micropipette puisensemencés par étalement en surface sur les milieux de culture préalablement coulés. Cette opération est réalisée en double, sur MRS et sur M17 (figure 16). Les boîtes sont ensuite incubées à 37°C pendant 24 à 48 h.



Figure 16 : isolement de bactéries lactiques autochtones

3.3.3. La purification :

Après isolement, huit colonies d'aspects morphologiques différents (taille, couleur, surface, profondeur,...), quatre ayant poussée sur MRS et quatre sur M17, sont repiquées par la méthode d'ensemencement par stries (figure 17) à l'aide d'une anse de platine sur des nouvelles boîtes de gélose MRS, puis incubées à 37°C pendant 24 à 48 h afin de s'assurer de la pureté des isolats. Cette étape est répétée successivement six fois afin de s'assurer de la pureté des isolats (obtention de colonies présentant les mêmes caractéristiques).

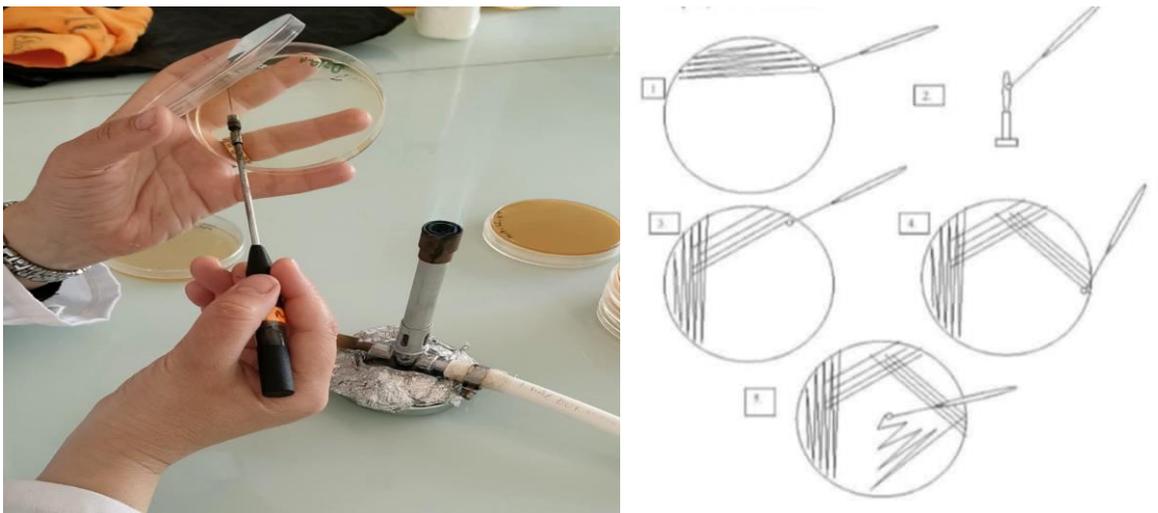


Figure 17 : la purification des isolats

3.3.4. La pré-identification des souches :

La pré-identification des bactéries lactiques est établie en se basant sur l'étude de leurs caractères morphologiques (examens macroscopique et microscopique), physiologiques et biochimiques : recherche de la catalase, test de la mobilité, croissance à différentes températures, croissance à différents pH, sensibilité à différentes concentrations en NaCl, production de gaz carbonique.

3.3.4.1. L'étude macroscopique :

L'examen macroscopique permet de décrire l'aspect des colonies obtenues sur milieux gélosés MRS et M17 en tenant compte des critères suivants : la taille, la forme, la consistance, le contour, la viscosité et la couleur des colonies.

3.3.4.2. L'étude microscopique :

Des frottis bactériens sont réalisés à partir des différents isolats et colorés par coloration de Gram pour confirmer leur pureté et appartenance au groupe lactique.

3.3.4.3. La recherche de la catalase :

Ce test est réalisé de la même manière citée dans le paragraphe 3.2.4 (page 29).

3.3.4.4. Le test Mannitol-mobilité :

- **Le principe :**

Ce test, réalisé sur milieu mannitol mobilité, permet de vérifier la mobilité des bactéries.

- **La technique :**

A l'aide d'une anse de platine, 10ml de milieu mannitol-mobilité sontensemencés par chacun des isolats par piqure centrale, en plus d'un témoin sans piqure. L'ensemble des tubes sont ensuite incubés à 37°C pendant 24heures (figure 18).

Si la bactérie est mobile, une présence de culture au niveau de la piqure avec sa diffusion au tour de la piqure est notée. Dans le cas contraire (bactérie immobile), la culture est observée tout au long de la piqure seulement.

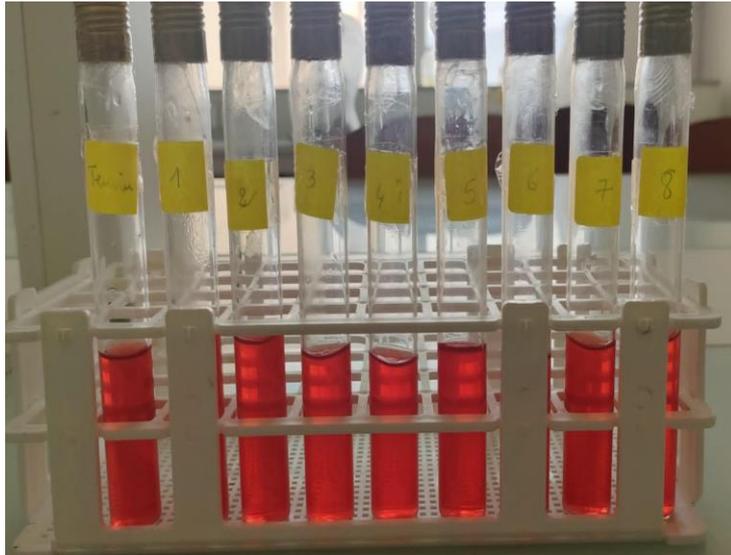


Figure 18 : le test Mannitol-mobilité

3.3.4.5. La croissance à différentes températures :

Ce test est réalisé pour différencier les souches psychrophiles, mésophiles et thermophiles. Après l'ensemencement des différents isolats dans des tubes contenant 5ml de bouillon MRS, l'incubation est effectuée pendant 24 heures à 72 heures à 25, 37 et 45°C et pendant 7 jours à 04°C. Des tubes de bouillon MRS neufs sont utilisés comme témoins pour les différentes températures (figure 19).

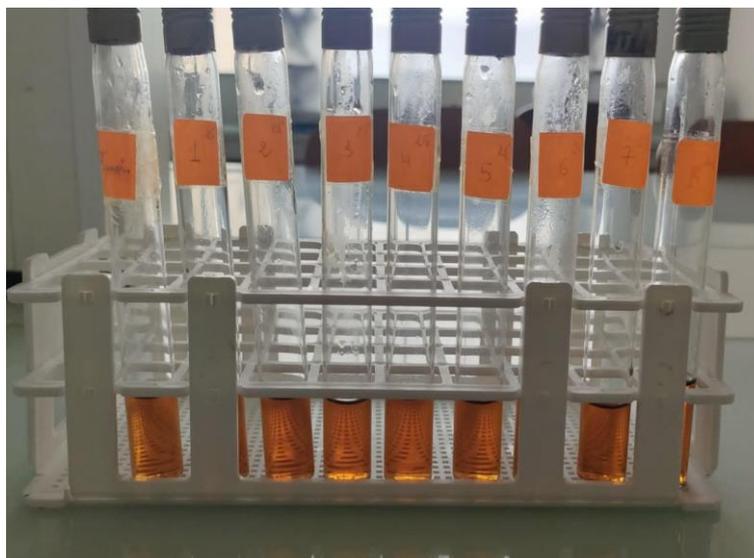


Figure 19 : exemple de test de croissance à 25°C

3.3.4.6. La croissance à différents pH :

Ce test est utilisé pour définir l'habilité des bactéries lactiques à croître dans des milieux alcalins et acides. Il est réalisé par un ensemencement des différents isolats dans 5ml de milieu MRS liquide ajusté à des pH différents : 3,9 ; 4,9 ; 6,4 et 9 (figure 20). Des tubes de bouillon MRS neufs ajustés aux mêmes pH sont utilisés comme témoins

La lecture des résultats consiste à observer la présence de trouble ou pas dans les tubes après 24h à 72h d'incubation à 37°C.



Figure 20 : exemple de préparation de bouillon MRS à différents pH

3.3.4.7. La croissance à différentes concentrations en NaCl :

La croissance à différentes concentrations de chlorure de sodium (NaCl) joue un rôle important dans l'identification des bactéries.

Les colonies des isolats à tester sont ensemencées dans des tubes de bouillon MRS (5ml) additionné de 3% ; 6,5% et 10% de NaCl (figure 21) puis incubés à 37°C pendant 24 à 72 heures. Des tubes de bouillon MRS neufs additionné des différentes concentrations en NaCl sont utilisés comme témoins

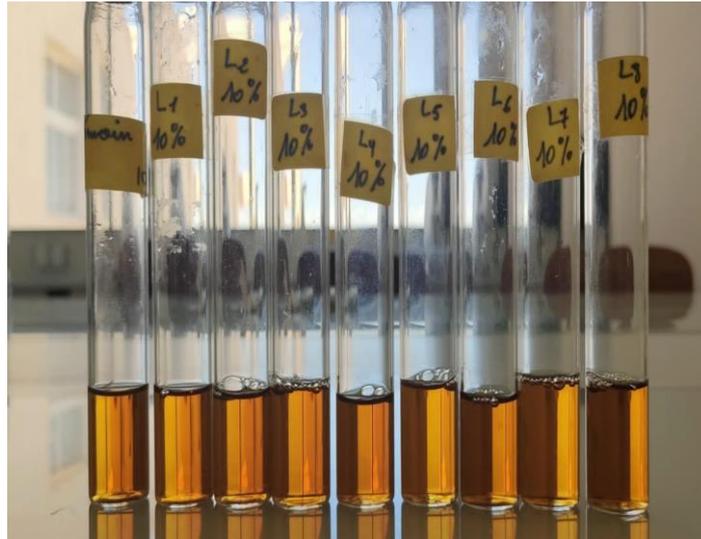


Figure 21 : exemple de test de sensibilité des isolats à 10 % de NaCl

3.3.4.8. La recherche du type fermentaire :

Ce test consiste à mettre en évidence la production de CO₂ qui est piégée dans une cloche de Durham. Il permet de différencier les isolats homolactiques des hétérolactiques.

L'ensemencement des souches s'effectue dans un milieu liquide MRS (10ml) contenant au préalable une cloche de Durham (figure 22). Après incubation à 37°C, les tubes sont observés dans un délai de 24 h jusqu' à 72 h.

La lecture des résultats consiste à observer s'il y a production de gaz recueilli dans la cloche de Durham qui indique que la souche est hétérofermentaire, dans le cas contraire elle est homofermentaire.

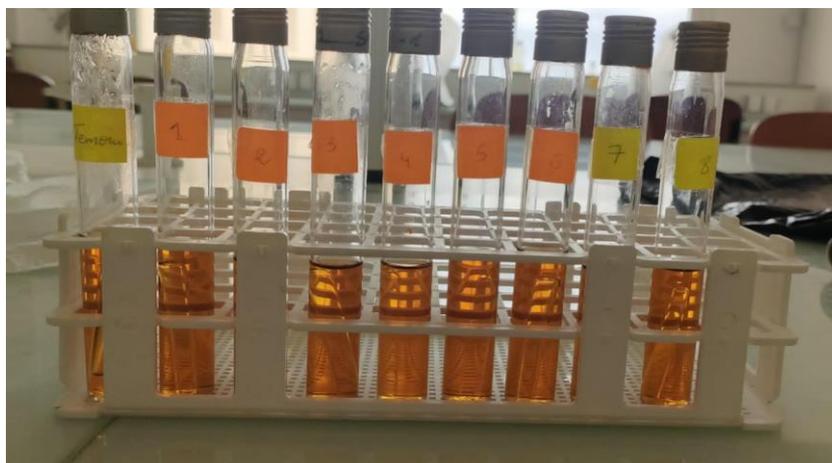


Figure 22 : le test du type fermentaire

3.4. La mise en évidence de l'activité antimicrobienne :

L'ensemble des souches identifiées lactiques S1, S2, S6, S7, S8, S9 et S11 et les souches autochtones isolées sont testées pour leur pouvoir antibactérien à partir des cultures jeunes en phase de croissance (phase exponentielle) contre cinq bactéries pathogènes de référence : *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Bacillus cereus* ATCC 10876 et *Bacillus subtilis* ATCC 11778.

Les bactéries pathogènes sont d'abord revivifiées par la même méthode citée dans le paragraphe 3.2.1 (page 28) sauf que le milieu utilisé est la gélose nutritive puis utilisées dans le test.

Le principe de la détection de l'activité antimicrobienne est basé sur la diffusion de l'agent antimicrobien dans des milieux de culture solides pour inhiber la croissance des micro-organismes indicateurs sensibles. La mise en évidence de l'activité antimicrobienne est effectuée sur quelques souches représentant des espèces d'intérêt (**Izquierdo Alegre, 2009**).

Pour mettre en évidence de nos souches lactiques, la méthode de détection directe (la méthode des disques) est utilisée.

3.4.1. La préparation des cultures bactériennes :

Pour réaliser le test d'antagonisme, il faut avoir des pré-cultures jeunes des souches cibles et des souches indicatrices. A partir des boîtes de Pétri de gélose MRS et gélose nutritive, chacune des souches lactiques (figure 23) et pathogènes (figure 24) estensemencée dans un tube à essai contenant 5 ml de bouillon MRS ou bouillon nutritif, selon le groupe bactérien. Les tubes sont ensuite incubés à 37°C pendant 18 heures.

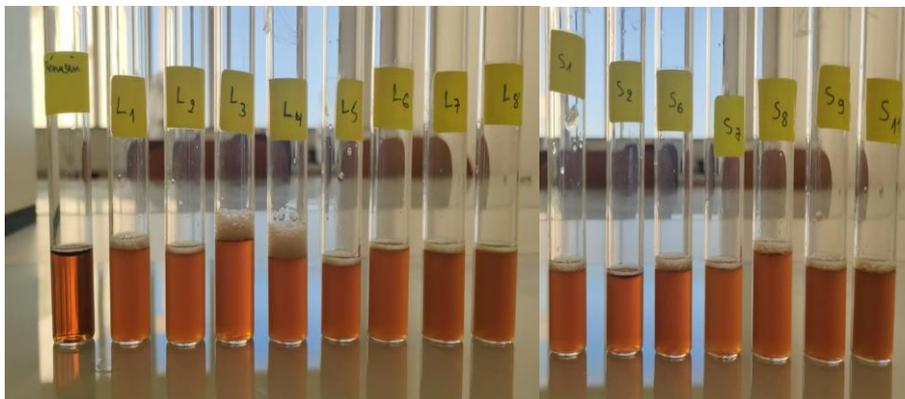


Figure 23 : les pré-cultures bactériennes lactiques

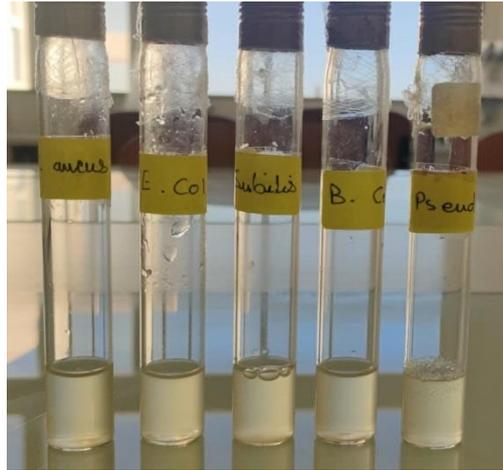


Figure 24 : les pré-cultures des souches pathogènes

3.4.2. La méthode des disques :

Le milieu Mueller-Hinton est coulé dans des boîtes de Pétri stériles et après sa solidification, les boîtes sont inoculées en surface par 100 µl de la suspension de la souche pathogène. Une fois les boîtes sont séchées à température ambiante, des disques de papier Wattman vierges et stériles sont imprégnés, chacun, avec l'une des pré-cultures des souches lactiques puis déposés avec un pince stérile sur le milieu Mueller-Hinton. L'incubation est ensuite faite à 37°C pendant 24h.

L'inhibition de la souche pathogène indicatrice se traduit par la formation de zones claires autour des disques. Le diamètre de la zone d'inhibition est calculé à partir des bordures de la zone comprenant le diamètre du disque (Shehata *et al.*, 2016).

3.5. La conservation des souches :

Pour affirmer la viabilité des bactéries sélectionnées, deux techniques de conservation sont employées :

3.5.1. La conservation à court terme :

La conservation à court terme des souches pures, indicatrices et pathogènes est effectuée sur milieux MRS (souches lactiques) et gélose nutritive (souches pathogènes) solides inclinés. Après croissance à la température optimale (37°C), les cultures sont maintenues à 4°C (Brahimi, 2015).

3.5.2. La conservation à long terme :

L'ensemble des souches lactiques identifiées et autochtones ainsi que les souches pathogènes sont conservés sur milieu MRS et GN, respectivement, additionnés de 20 % de glycérol, à -20°C (Chentouf, 2015).

Résultats et discussion

4.1. Les résultats de la confirmation de la pureté des souches identifiées et de leur appartenance au groupe lactique :

4.1.1. L'examen macroscopique :

La revivification des souches lactiques a été réalisée sur milieu MRS. L'observation macroscopique a indiqué la présence d'un trouble homogène avec une pastille blanche au fond du tube désignant la viabilité de la souche lactique. Sur milieu solide, l'ensemble des colonies étudiées révèle un aspect presque semblable ; elles sont lisses légèrement bombées, rondes avec contour régulier, opaques, de petite taille 0,5 - 2 mm et de couleur blanchâtre (figure 25).

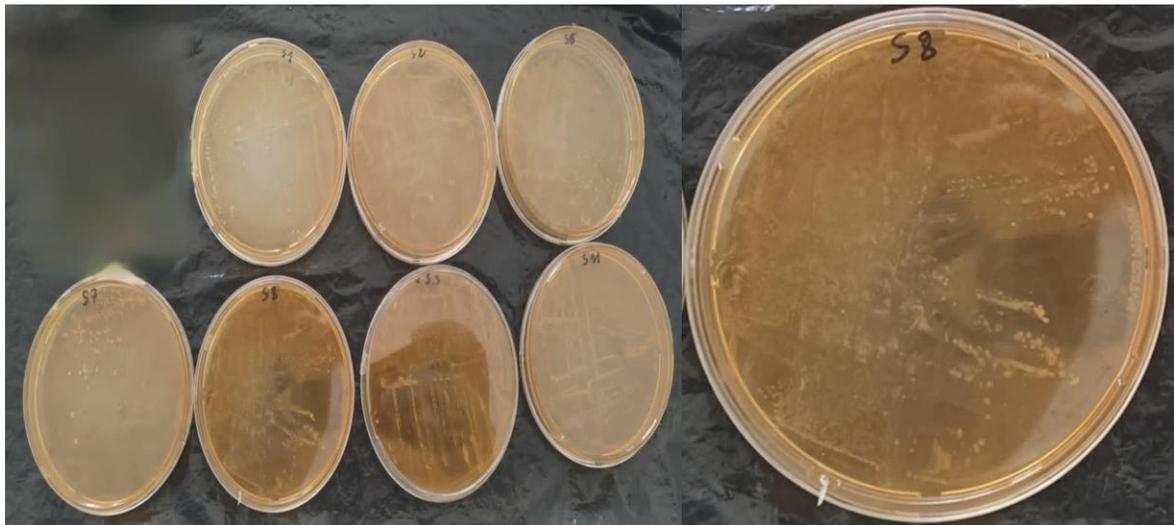


Figure 25 : les résultats d'étude macroscopique des souches identifiées

4.1.2. L'examen microscopique :

L'étude microscopique des bactéries lactiques, après coloration de Gram, nous a révélé qu'elles sont toutes à Gram positif. Ce test nous a permis de distinguer également la morphologie et le mode de regroupement des bactéries : les sept souches sont sous forme de coques ou coccobacilles, associées en paires, en courtes chaînettes ou isolées (figure 26).

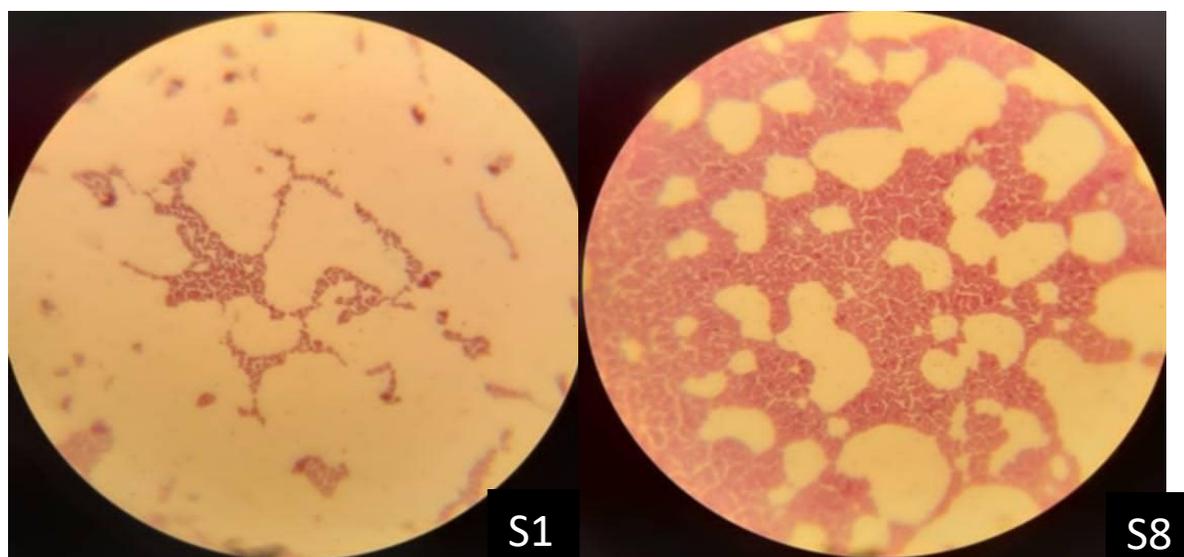


Figure 26 : des exemples d'étude microscopique pour deux des souches identifiées

4.1.3. La recherche de la catalase :

La confirmation de la pureté est complétée par la recherche de la catalase. Nous avons noté une absence de la formation des bulles d'air, ce qui confirme que nos souches sont catalase négatives. La figure suivante montre un exemple des résultats obtenus :



Figure 27 : un exemple de résultat négatif de la recherche de catalase

4.2. Les résultats de l'isolement et la pré-identification des souches autochtones :

Un total de huit souches de bactéries lactiques ont été isolés à partir de l'échantillon de lait de chèvre sur milieux sélectifs. Des cultures sur M17 à partir de la dilution 10^{-5} (figure 28) ont permis d'avoir 4 isolats, 4 autres ont été obtenus sur milieu MRS à partir de la dilution 10^{-3} . Ils sont désignés par un code constitué d'une lettre et d'un chiffre (tableau3).

Tableau3 : les codes des isolats

Milieu d'isolement	M17	MRS
Code des isolats	L1 L2 L3 L4	L5 L6 L7 L8

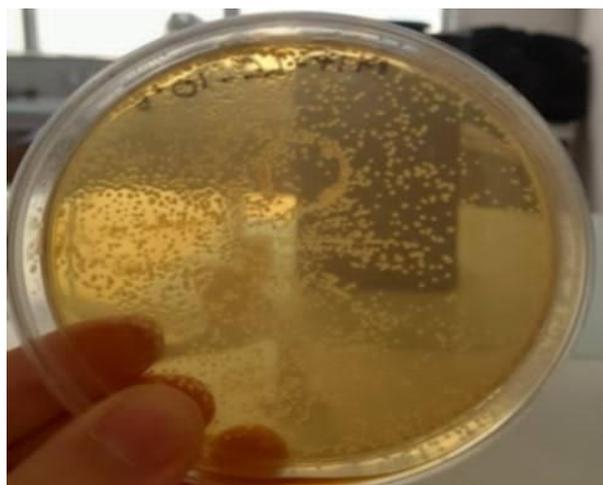


Figure 28 : le résultat d'isolement des souches sur milieu M17

4.2.1. L'étude macroscopique :

Les souches se sont apparues de petite taille, lisses, légèrement bombées, de forme circulaire ou lenticulaire, opaques, à pourtour régulier et de couleur blanchâtre (figure 29).

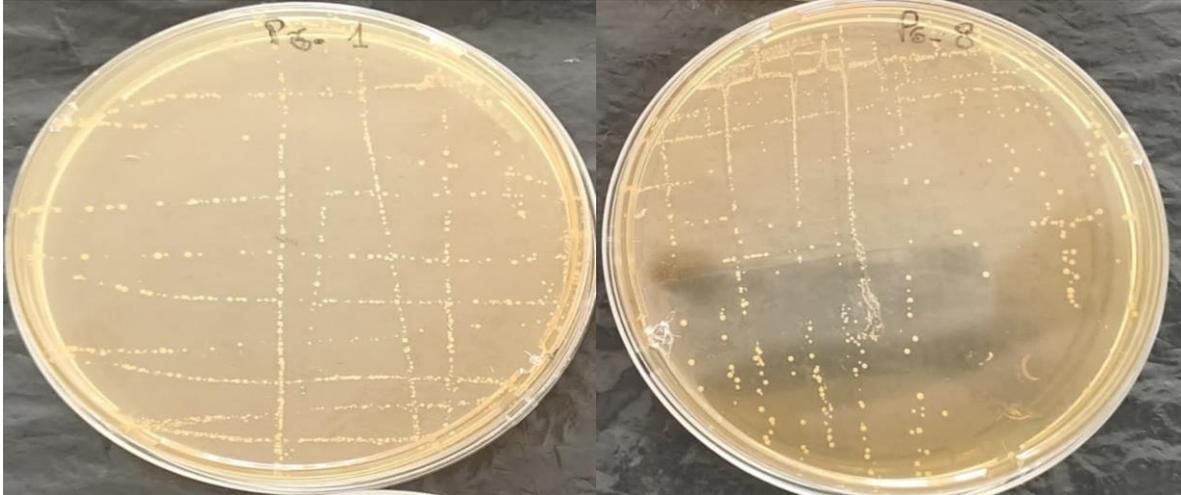


Figure 29 : des exemples d'étude macroscopique pour deux des souches isolées

4.2.2. L'étude microscopique :

Pour confirmer la pureté des souches, une coloration de Gram a été réalisée pour les huit isolats, où nous avons pu observer que les bactéries étaient à Gram positif apparaissant sous différentes formes avec différents modes d'associations. L'observation microscopique (figure 30) a montré que les cellules bactériennes ont une forme coccoïde ou coccobacillaire, isolées, en paires ou en chainettes.

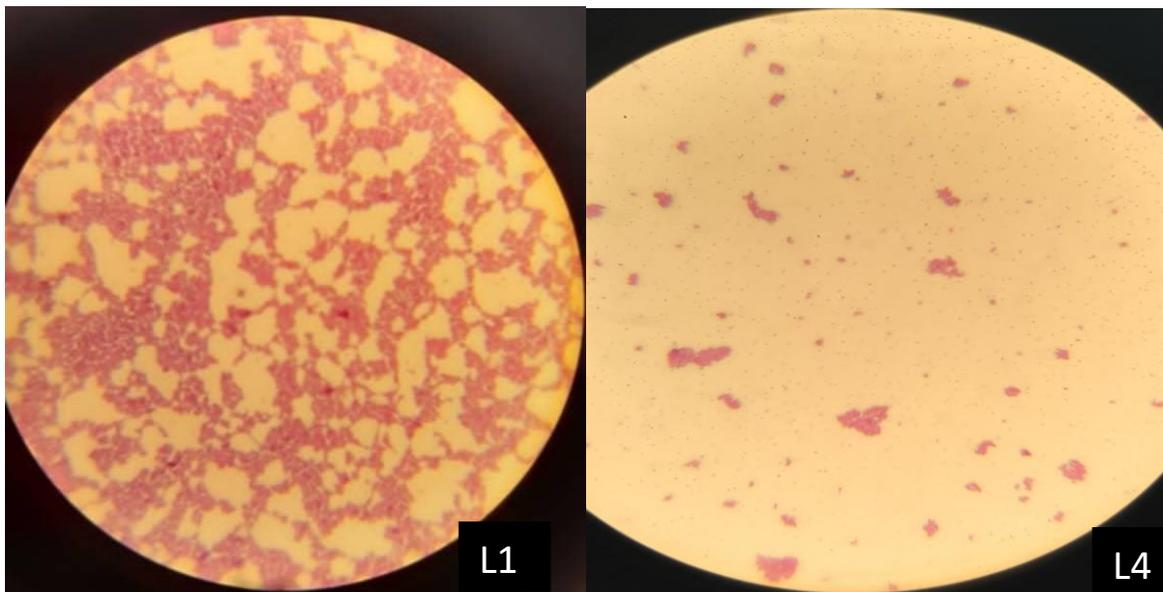


Figure 30 : des exemples d'étude microscopique pour deux des souches pré-identifiées

4.2.3. La recherche de la catalase :

Les résultats de ce test ont révélé que toutes les souches isolées sont catalase négatives.

4.2.4. Le test Mannitol-mobilité :

Après 24h d'incubation, une présence de culture a été notée au niveau de la pique sans aucune diffusion au tour, ce résultat nous confirme que tous les isolats sont immobiles (figure 31).

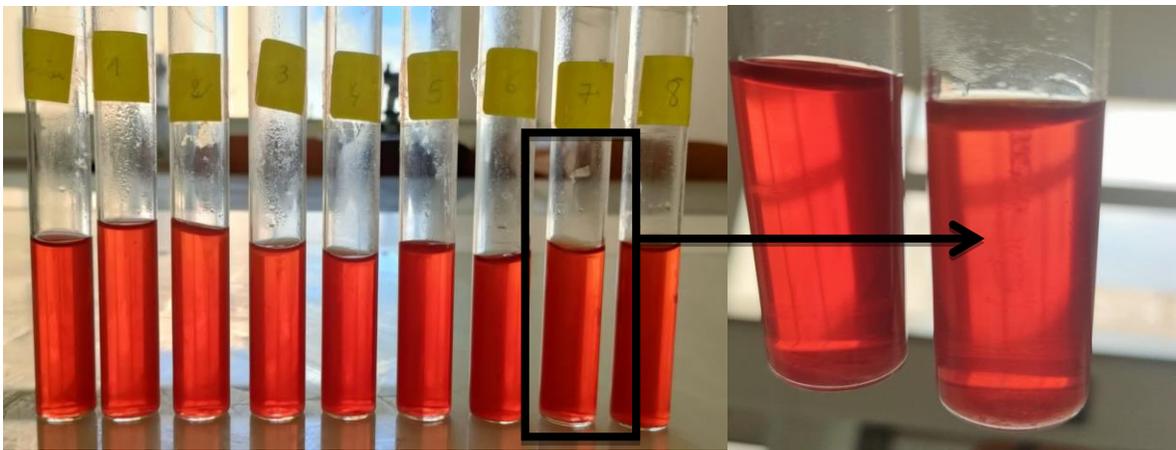


Figure 31: le résultat du test Mannitol- mobilité

4.2.5. La croissance à différentes températures :

Ce test a été réalisé dans le but de classer nos bactéries en 3 catégories : mésophiles qui poussent entre 25 et 37°C, psychrophiles qui peuvent survivre et se développer à 4°C et celles qui se développent à 45°C dites thermophiles. Le tableau 4 montre les résultats obtenus :

Tableau 4 : le résultat de la croissance à différentes températures

Souches \ T °C	L1	L2	L3	L4	L5	L6	L7	L8
4	+	+	-	+	+	-	+	-
25	+	+	+	+	+	+	+	+
37	+	+	+	+	+	+	+	+
45	-	-	-	-	-	-	-	-

- : absence de croissance ; + : présence de croissance

D'après les résultats observés, cinq souches ont bien poussé à 25°C (figure 32) et 37°C et n'ont pas poussé à 45°C donc sont de type mésophiles et psychrophiles (L1, L2, L4, L5 et L7). Cependant les souches L3, L6 et L8 n'ont pas pu survivre à 4°C après une semaine d'incubation, elles sont donc mésophiles. La figure suivante montre un exemple des résultats obtenus :

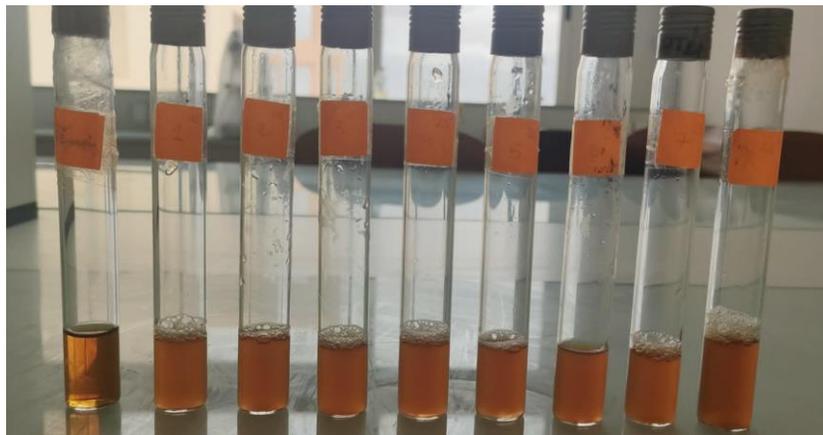


Figure 32 : la croissance de l'ensemble des bactéries à 25°C

4.2.6. La croissance à différents pH :

La croissance sur milieu MRS ajusté à différents pH se traduit par un trouble bactérien visible à l'œil nu, les résultats obtenus sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau 5 : le résultat de la croissance à différents pH

Souches pH	L1	L2	L3	L4	L5	L6	L7	L8
3,9	-	-	-	-	-	-	-	-
4,9	+	+	+	+	+	+	+	+
6,4	+	+	+	+	+	+	+	+
9	+	+	+	+	-	-	+/-	+

- : absence de croissance; + : présence de croissance ; +/- : faible croissance

L'ensemble des souches n'ont pas pu pousser à pH 3,9, par contre elles ont pu croître à pH 4,9 et 6,4. En ce qui concerne le pH 9 (figure 33) deux des souches n'ont pas pu pousser qui sont la L5 et la L6 et la L7 a montré une croissance faible.

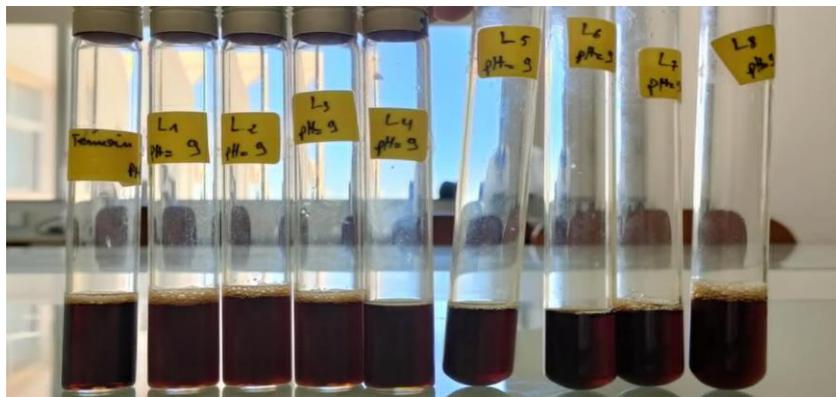


Figure 33 : résultat de croissance à pH 9

4.2.7. La croissance à différentes concentrations en NaCl :

Ce test permet de savoir si les bactéries ont la capacité de croître dans des milieux hypo et hyper-salés. Après incubation, la tolérance est marquée par un trouble dans les tubes.

La totalité des souches étudiées ont montré une tolérance au milieu à 3% de NaCl et une intolérance à celui à 10% (figure 34). Quant au milieu à 6,5%, seules les souches L2, L3, L5 et L6 ont pu y pousser. Le tableau suivant regroupe l'ensemble des résultats obtenus :

Tableau 6 : résultats de la croissance en présence de différentes concentrations en NaCl

Souches %NaCl	L1	L2	L3	L4	L5	L6	L7	L8
3	+	+	+	+	+	+	+	+
6,5	-	+	+/-	-	+	+/-	-	-
10	-	-	-	-	-	-	-	-

- : absence de croissance; + : présence de croissance ; +/- : faible croissance.

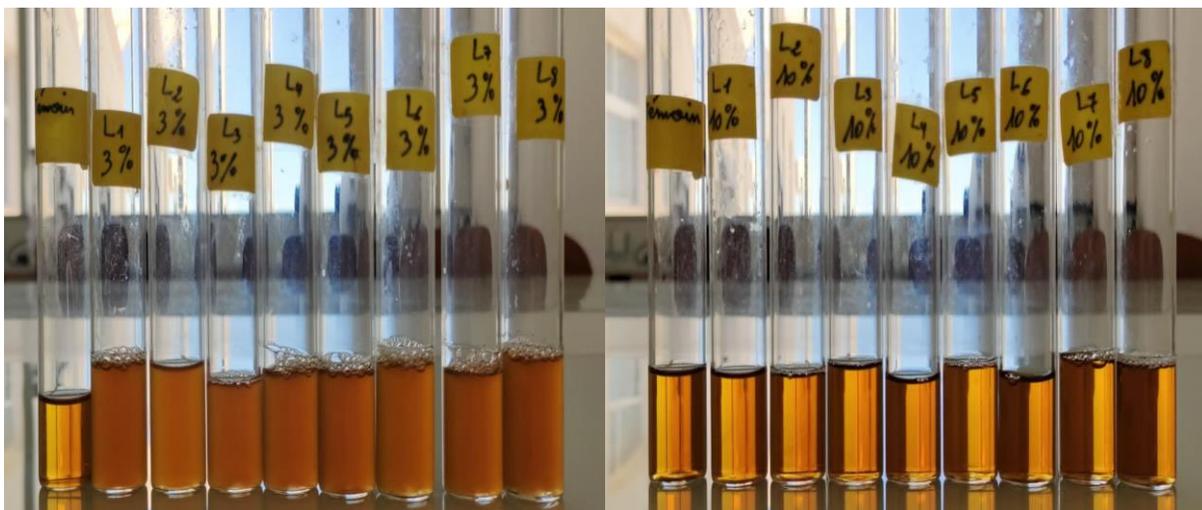


Figure 34 : résultats de la croissance des souches à 3% et 10% de NaCl

4.2.8. La recherche du type fermentaire :

Ce test consiste à distinguer les souches homofermentaire (pas de dégagement gazeux) de celles hétérofermentaire (avec dégagement gazeux) dans un milieu contenant comme seule source de carbone le glucose. Les résultats obtenus sont montrés dans la figure 35 :

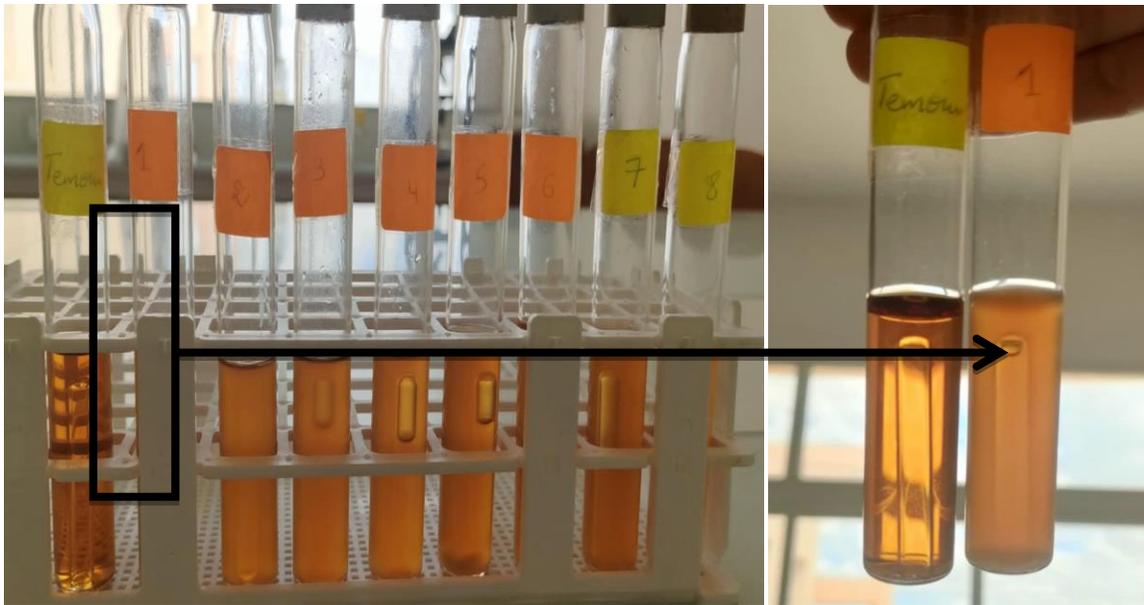


Figure 35 : résultat de de la recherche du type fermentaire

La présence de gaz dans la cloche de Durham indique un métabolisme hétérofermentaire. Ceci a été observé chez les souches L1, L3, L4, L5, L6, L7 et L8. Seule la souche L2 s'est montrée homofermentaire, aucune production de gaz dans la cloche n'a été enregistrée.

L'ensemble des résultats des tests réalisés est résumé dans le tableau suivant :

Tableau 7 : récapitulatif des résultats des tests de pré-identification réalisés

Souches Tests		L1	L2	L3	L4	L5	L6	L7	L8
Examen macroscopique		blanchâtres	blanchâtres	blanchâtres	blanchâtres	blanchâtres	blanchâtres	blanchâtres	blanchâtres
Examen microscopique		Gram + coques	Gram+ coques	Gram+ coccobacilles	Gram+ coques	Gram+ coques	Gram + coccobacilles	Gram+ coques	Gram + coccobacilles
Catalase		-	-	-	-	-	-	-	-
Mobilité		-	-	-	-	-	-	-	-
T°C	4	+	+	-	+	+	-	+	-
	25	+	+	+	+	+	+	+	+
	37	+	+	+	+	+	+	+	+
	45	-	-	-	-	-	-	-	-
pH	3,9	-	-	-	-	-	-	-	-
	4,9	+	+	+	+	+	+	+	+
	6,4	+	+	+	+	+	+	+	+
	9	+	+	+	+	-	-	+/-	+
%Na Cl	3	+	+	+	+	+	+	+	+
	6,5	-	+	+/-	-	+	+/-	-	-
	10	-	-	-	-	-	-	-	-
Type fermentaire		+	-	+	+	+	+	+	+

- : test négatif ; + : test positif ; +/- : faible croissance

En se basant sur ces résultats et en comparaison avec les données théoriques et des travaux antérieurs, nous pouvons initialement rattacher nos bactéries à trois genres :

- Le genre *Lactococcus* caractérisé par des cellules en cocci, psychrophiles et mésophiles, homofermentaires qui poussent à différents pH et différentes concentration en NaCl.
- Le genre *Lactobacillus* qui englobe, entre autres, des cellules coccobacillaire, mésophiles, hétérofermentaires qui peuvent résister à pH 9 et sensibles à 6,5% de NaCl.
- Le genre *Enterococcus* caractérisé par des cellules en cocci, psychrophiles et mésophiles, hétérofermentaires, qui tolèrent le pH 9 et sensibles à 6,5% de NaCl.

La pré-identification de nos souches est présentée dans le tableau suivant :

Tableau 8 : pré-identification des souches lactiques isolées

Souche	Pré-identifiée à
L1	<i>Enterococcus sp.</i>
L2	<i>Lactococcus sp.</i>
L3	<i>Lactobacillus sp.</i>
L4	<i>Enterococcus sp.</i>
L5	<i>Enterococcus sp.</i>
L6	<i>Lactobacillus sp.</i>
L7	<i>Enterococcus sp.</i>
L8	<i>Lactobacillus sp.</i>

4.3. Mise en évidence de l'activité anti-microbienne :

Les bactéries lactiques sont connues par la production de plusieurs types de composés antimicrobiens (Armas *et al.*, 2017 ; Reuben *et al.*, 2020). Cette activité est d'une grande importance pour une colonisation réussie des muqueuses intestinales. Les bactéries lactiques peuvent fonctionner comme des barrières microbiennes contre les pathogènes gastro-intestinaux par exclusion compétitive, modulation du système immunitaire de l'hôte et production de composés inhibiteurs (Al-Dhabi *et al.*, 2020; Barzegar *et al.*, 2021).

Pour tester l'effet antimicrobien de l'ensemble des souches lactiques, identifiées et pré-identifiées, vis-à-vis des bactéries pathogènes, la technique des disques sur milieu Mueller-Hinton a été appliquée. Cette méthode est la plus utilisée pour le dépistage de ce type d'activité. Le milieu Mueller Hinton est recommandé pour l'étude de la sensibilité des bactéries aux agents antimicrobiens par la méthode de diffusion ; l'activité inhibitrice se traduit par l'apparition des zones d'inhibition autour des disques (figure 36). Le tableau 9 résume l'ensemble des résultats obtenus :

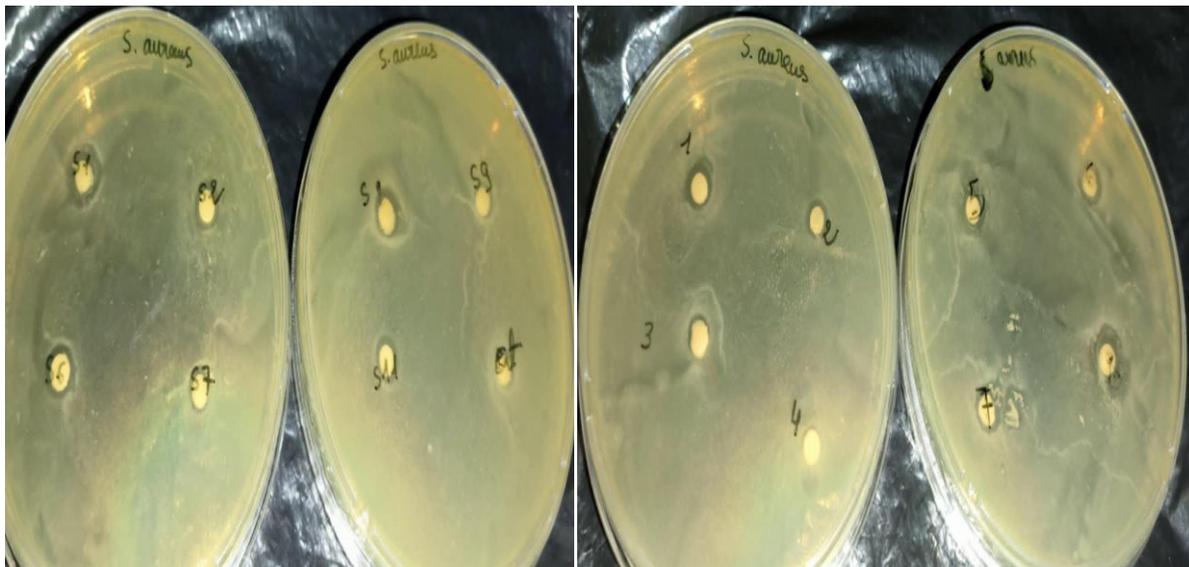


Figure 36 : exemple de résultat de l'activité antimicrobienne de l'ensemble des souches étudiées vis-à-vis la bactérie *Staphylococcus aureus*

Tableau 9 : les diamètres des zones d'inhibition (en mm) des bactéries lactiques étudiées

Diamètres des zones d'inhibition (mm) des bactéries lactiques					
Souches indicatrices Souches lactiques testées	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Bacillus subtilis</i>
L1	2	3	0	3	1
L2	2	2	1	0	2
L3	1	2	0	1	1
L4	1	1	0	0	1
L5	2	2	2	0	1
L6	2	3	1	3	2
L7	3	2	2	0	1
L8	3	1	2	0	2
S1	3	1	0	0	1
S2	3	0	2	2	2
S6	2	2	2	0	1
S7	1	2	1	0	2
S8	3	2	3	2	1
S9	2	3	2	0	1
S11	2	2	1	0	1

D'après **Schillinger et Lucke (2001)** qui rapportent que lorsque le diamètre d'inhibition est supérieur à 8 mm, la souche est hautement inhibitrice, et tenant en compte nos résultats, nous pouvons dire qu'à l'exception des souches L6 et S8 qui se sont montrées faiblement inhibitrice vis-à-vis de toutes les souches pathogènes, la majorité de nos souches étaient faiblement ou non inhibitrice vis-à-vis des différentes souches indicatrices.

Des résultats similaires aux nôtres ont été auparavant obtenus par **Heikkila et al. (2003)** chez des bactéries isolées à partir de lait maternel et dont le diamètre des zones d'inhibition était compris entre 1 et 2 mm. **Mekri (2016)** et **Djelloul (2021)** ont également constaté une faible activité antibactérienne chez des bactéries lactiques.

Cependant, différents auteurs ont rapporté une bonne activité inhibitrice des bactéries lactiques travaux : **Belhamra (2019)** a trouvé que des souches de *Lactobacillus* avaient une forte activité inhibitrice contre *Staphylococcus aureus*. **Nigamet et al., (2012)** et **Ravindran et al., (2016)** ont rapporté une bonne inhibition de quelques collections de bactéries lactiques à l'égard des souches pathogènes. De même, **Yerlikaya et al., (2021)** ont confirmé l'effet antagoniste des *Lactobacillus* et *Streptococcus* utilisés comme ferment dans l'industrie laitière.

Selon **Labiouiet et al., (2005)**, l'activité antibactérienne diffère d'une souche de bactérie lactique à l'autre. L'absence d'activité antibactérienne ne signifie pas forcément que la substance est absente ou pas assez active, mais cela peut être dû à une mauvaise diffusion de celle-ci, dans le milieu, car n'étant pas polaire ou bien constituée de composés non polaires. De plus, **Lezrag (2016)** a noté que la faible inhibition des bactéries à Gram négatif par les bactériocines des bactéries lactiques peut être due à leur résistance aux bactériocines ; en effet, la membrane cytoplasmique constitue une réelle barrière en les empêchant d'atteindre leurs cible et d'exercer leurs fonctions (**Stevence et al., 1992 ; Gao et al., 1999 ; Zhou et al., 2016**).

D'autre part, Les variations des zones d'inhibition peuvent être dues au fait qu'une souche de bactérie lactique peut produire plusieurs molécules antimicrobiennes (différents spectres d'action) dont la nature dépend de la composition du milieu de culture (**Alouane et Belkadi, 2019**).

De façon générale, l'activité antibactérienne des souches lactiques est probablement due à la production d'agents antibactériens. Ces métabolites peuvent être des acides organiques tel que l'acide lactique, le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), le dioxyde de carbone (CO_2), la reutérine (3-hydroxypropionaldéhyde), le diacétyle ($C_4H_6O_2$) et les bactériocines (**Chentouf, 2015 ; Bouzaid et al., 2016**).

En effet l'acide lactique par son pouvoir acidifiant du milieu inhibe plusieurs types de bactéries. A cela s'ajoute aussi l'effet du diacétyl connu également par son pouvoir d'inhibition. L' H_2O_2 libéré par les souches lactiques inhibe les bactéries qui ne possèdent pas des défenses contre le stress oxydatif. Plusieurs études ont montré l'activité inhibitrice des bactéries lactiques vis-à-vis des bactéries pathogènes suite à la libération de substances de nature protéique, les bactériocines (**Tabak et Bensoltane, 2011; Labioui *et al.*, 2005; Hajj Semaan *et al.*, 2010 ; Mami *et al.*, 2010**).

L'acide lactique est le métabolite principal de la fermentation des bactéries lactiques. A pH acide, une grande quantité d'acide lactique est sous la forme non dissociée, cette forme est toxique pour beaucoup de bactéries, champignon et levures (**Podolak *et al.*, 1996**).

Les acides lactique et acétique ont un effet inhibiteur sur les bactéries à Gram positif et à Gram négatif (**De Vuyst et Vandamme, 1994**). Le premier effet des acides organiques correspond à une diminution du pH, qui est préjudiciable à de nombreux micro-organismes. Le second effet est lié aux activités spécifiques des formes dissociées ou non dissociées des acides organiques (**Raibaud, 1994**).

Conclusion et perspectives

Depuis l'antiquité, les bactéries lactiques ont été utilisées pour la fabrication et la conservation d'aliments. La découverte de leur action sur le lait fut probablement accidentelle mais leur utilisation fut perpétuée sous forme de ferments et elle est en développement continu en raison des substances naturelles produites par ces bactéries, reconnues d'usage alimentaire, dirigées contre des germes pathogènes (Mami, 2013). Les bactéries lactiques peuvent donc être utilisées dans le domaine alimentaire grâce à leur capacité à produire des substances antimicrobiennes pour préserver les aliments et lutter contre la flore altérante.

Notre travail a été débuté par la revivification de sept souches lactiques identifiées (*Enterococcus faecalis* S1, *Lactococcus lactis* S2, *Lactobacillus sp.* S6, *Lactobacillus paracasei* S7 et trois souches de *Lactobacillus plantarum* codées respectivement S8, S9 et S11) provenant de la collection du laboratoire EDD, et la confirmation de leur pureté et leur appartenance au groupe lactique.

Ensuite, nous avons procédé à l'isolement de quelques bactéries lactiques autochtones à partir d'un échantillon de lait de chèvre sur milieux MRS et M17. Ces bactéries ont été pré-identifiées, après, par examens macroscopique et microscopique, recherche de catalase, test Mannitol-mobilité, croissance à différentes températures, à différents pH et à différentes concentrations en NaCl, et recherche du type fermentaire.

En dernier, l'ensemble des souches pré-identifiées et identifiées ont été testées pour leur capacité à produire des substances antimicrobiennes par la méthode de diffusion par des disques contre cinq bactéries pathogènes de références qui sont : *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Bacillus cereus* ATCC 10876 et *Bacillus subtilis* ATCC 11778.

Pour les bactéries identifiées, les résultats obtenus ont confirmé leur appartenance au groupe lactique.

Quant à la partie isolement, nous avons pu isoler huit souches présentant les caractéristiques morphologiques et physiologiques des bactéries lactiques : toutes les souches étaient Gram positives, catalase négatives, immobiles, mésophiles et quelques unes psychrophiles également. Pour la croissance aux différents pH testés, les souches variaient entre neutrophiles, faiblement acidophiles et alcalinophiles. Pour la tolérance aux différentes concentrations en NaCl, l'ensemble des souches ne résistaient pas à l'hyper salinité sauf quelques unes. Pour le type fermentaire, à l'exception de la souche L2 qui s'est révélée

homofermentaire, les sept souches restantes étaient hétérofermentaires. Ces résultats nous ont permis de pré-identifier nos souches à quatre *Enterococcus sp.* (L1, L4, L5, L7), trois *Lactobacillus sp.* (L3, L6, L8) et une *Lactococcus sp.* (L2).

En ce qui concerne les résultats de la mise en évidence de l'activité antimicrobienne, la majorité des souches identifiées et pré-identifiées ont présenté une faible activité antibactérienne et certaines en ont eue pas. Dans l'ensemble, les zones d'inhibition ne dépassaient pas 3 mm.

Par conséquent, il serait intéressant de compléter notre étude par modification des conditions de culture afin d'améliorer le pouvoir antimicrobien des souches faiblement inhibitrices, sélection de celles présentant les meilleures activités, et détermination de la nature de la substance responsable de l'activité antimicrobienne.

Références bibliographiques

Ababsa, A. (2012). Recherche de bactériocines produites par les bactéries lactiques du lait. Mémoire magister Génie microbiologique non publiée, Université de Setif, Setif.

Ahmed, F.M.A et Irene, K.P.T. (2007). Isolation of lactic acid bacteria from Malaysian foods and assessment of the isolates for industrial potential. *Bioresource Technology*. **98** : 1380-1385.

Ajao, O., Banwo, K., Ogunremi, O., et Sanni, A. (2021). Antimicrobial properties and probiotic potentials of lactic acid bacteria isolated from raw beef in Ibadan, Nigeria. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 2021, 770-773.

Al-Dhabi, N. A., Valan Arasu, M., Vijayaraghavan, P., Esmail, G. A., Duraipandiyam, V., Kim, Y. O., ... et Kim, H. J. (2020). Probiotic and antioxidant potential of *Lactobacillus reuteri* LR12 and *Lactobacillus lactis* 110 isolated from pineapple puree and quality analysis of pineapple-flavored goat milk yoghurt during storage. *Microorganisms*, 8(10), 1461.

Alexander, Y., Prosekov, O., Babich, S., & Milenteva, I. (2017). Development of recombinant peptide technology with antimicrobial properties of a broad action spectrum. *Science Evolution*, 2(2), 4-15.

Alouane, L., Belkadi, S. (2019). Etude de l'activité antibactérienne de certaines souches de bactéries lactiques vis-à-vis des bactéries pathogènes résistantes aux antibiotiques. Mémoire de Master : Biotechnologie microbienne. Bouira : Université Akil Mohand Oulhadj, 136 p.

Disponible sur : <http://dspace.univ-bouira.dz:8080/jspui/handle/123456789/5320>.

Consulté le : 13/05/2023.

Al-Tawaha, R., et Meng, C. (2018). Potential benefits of *Lactobacillus plantarum* as probiotic and its advantages in human health and industrial applications: A review. *Advances in Environmental Biology*, 12, 16-27.

Ammor, S., Tauveron, G., Dufour, E. et Cevallier I. (2006). Antibacterial activity of lactic acid bacteria against spoilage and pathogenic bacteria isolated from the same small-scale facility. *F Contr*, 17: 454-461.

Armas, F., Camperio, C., et Marianelli, C. (2017). In vitro assessment of the probiotic potential of *Lactococcus lactis* LMG 7930 against ruminant mastitis-causing pathogens. *PLoS One*, 12(1), e0169543.

- Avagodo, A. (2004).** Caractérisation biochimique et Moléculaire des bactéries Lactiques productrices d'exopolysaccharides isolées à partir d'échantillons de lait fermenté du Burkina faso. Thèse doctorat. Biochimie et Biotechnologie. Université Ouagadougou.
- Axelsson, L. (2004).** Lactic Acid Bacteria: Classification and Physiology. Dans: Salminen, S., Wright, A.V., Ouwehand, A. (dirs.), *Lactic Acid Bacteria: Microbiological and Functional Aspects* (3rdEd). Marcel Dekker, New York.
- Badis, A. N., Laouabdia-Sellami, D., Guetarni, M., Kihal. And Ouzrout, R. (2005).** Caractérisation phénotypique des bactéries lactiques isolées à partir de lait cru de chèvre de deux populations caprines locales «Arabia et Kabyle». *Sci. Technol* 23: 30-37.
- Barbosa, M., Todorov, S., Ivanova, I., belguesmia, Y., Choiset, Y., Rabesona, H., Chobert, J., Haertl, T., Franco, B. (2015).** *Characterization of a two-peptide plantaricin produced by Lactobacillus plantarum MBSa4 isolated from Brazilian salami. Food Control, 60, 103-112.*
- Barzegar, H., Alizadeh Behbahani, B., et Falah, F. (2021).** Safety, probiotic properties, Antimicrobial activity, and technological performance of *Lactobacillus* strains isolated from Iranian raw milk cheeses. *Food Science et Nutrition.*
- Batdorj, B., Dalgalarondo, M., Choiset, Y., Pedroche, J., Metro, F., Prevost, H., Chobert, M., & Haertle, T. (2005).** *Purification and characterization of two bacteriocins produced by lactic acid bacteria isolated from Mongolianairag. Journal of AppliedMicrobiology, 101(4), 837–848.*
- Bekhouche, F. (2006).** Bactéries lactiques du lait cru de vache et microorganismes pectinolytiques des olives noires et vertes (Thèse de doctorat, université de Mentouri Constantine).
- Belhamra, Z. (2017).** Croissance et survie des probiotiques en présence des édulcorants et des additifs alimentaires. Thèse de Doctorat : Microbiologie. Sétif : Université Ferhat Abbas de Sétif 1, 147 p.
- Belyagoubi, L. (2014).** Antibiotiques produits par des bactéries (actinomycètes et bactéries lactiques) issus de différents écosystèmes naturels Algériens (Thèse de doctorat, Université Aboubakr Belkaïd-Tlemcen).
- Benguella, N. (2015).** Recherche de bactériocines produites par les bactéries lactiques isolées du lait de chamelle, Mémoire de Master : Technologie des Industrie Agro-alimentaires, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et de l'Univers, Algérie, p17.

Bharti, V., mehta, A., Singh, S., Jain, N., Ahirwal, I., & Mehta, S. (2015). Bacteriocin: Anovel approach for preservation of food. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 7(9), 20-29.

Bolotin, A., Wincker, P., Mauger, S., Jaillon, O., Malarne, K., Weissenbach, J., Ehrlich, S. D., et Sorokin, A. (2001). The complete genome sequence of the lactic acid bacterium *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* IL1403. *Genome Res.* 11: 731-753.

Boullouf, A. (2016). Etude du pouvoir technologique de quelques bactéries.

Boumediene, K. (2013). Recherche des bactéries lactiques productrices des bactériocines et l'étude de leur effet sur des bactéries néfastes (Mémoire de Magister, Université Abou Bekr Belkaïd-Tlemcen).

Boumehira, A. Z. (2010). Identification et caractérisation technologique et fonctionnelle des souches *Lactobacillus plantarum* isolées du lait cru de chèvre et de chamelle. Mémoire de Magister en Microbiologie Fondamentale et Appliquée. Université d'Oran.

Bouzaid, M., Chatoui, R., Latrache, H., et Hasib, A. (2016). Activité antimicrobienne des souches de bactéries lactiques isolées de viande hachée de dromadaire et du lait cru de vache (Maroc). *Microbiologie industrielle sanitaire et environnementale*, 10(1), 1-12.

Brahimi, S. (2015). Isolement et caractérisation biotechnologique des bactéries lactiques isolées à partir des margines d'olives « AMOREDJ » fermentés. Mémoire de Magister, université d'Oran, Algérie.

Butel, M. J. (2014). Les probiotiques et leur place en médecine humaine. *Journal des Anti infectieux*, 16(2), 33-43.

Castellano, P., Belfiore, C., Fadda, S. et Vignolo, G. (2008). A review of bacteriocinogenic lactic acid bacteria used as bioprotective cultures in fresh meat produced in Argentina. *Meat Science*, 79: 483-499.

Chentouf, H. (2015). Effet des substances antimicrobiennes produites par *Leuconostoc mesenteroides* isolées à partir du lait cru de chamelle d'Algérie sur la croissance de *Listeria monocytogenes* dans les produits alimentaires. Thèse de doctorat, université d'Oran1-Ahmed Ben Bella, Algérie.

Chikindas, M., Weeks, R., Driderd, Chistyakov, V., & Dicks, L. (2018). *Functions and emerging applications of bacteriocins. Current Opinion in Biotechnology*, 49,23-28.

- Cholet, O. (2006).** Etude de l'écosystème fromager par une approche biochimique et moléculaire (Thèse de doctorat, Institut national agronomique Paris-Grignon).
- Chraa, S. et Chami, F. (2019).** Etude technologique de souches de bactéries lactiques isolées à partir de laits de différentes origines. Mémoire de Master, Université de Relizane –Ahmed Zabana.
- Chun-lei, Z., Jia-qi, L., Hai-tao, G., Jie, W., et Ri-hua, X. (2014).** Selection of exopolysaccharide-producing lactic acid bacteria isolates from Inner Mongolian traditional yoghurt. *Mljekarstvo: časopis za unaprjeđenje proizvodnje i prerade mlijeka*, 64(4), 254-260.
- Corrieu, G., et Luquet, F. M. (2008).** *Bactéries lactiques*. Tec et doc. *Chemical and pharmaceutical bulletin*, 44(12), 2263-2267.
- De Roissart, H. et Luquet, F. M. (1994).** Bactéries lactiques, I et II. Loriga, France.
- De vuyst, L; Vandamme, E. J. (1994).** A bacterial potential of lactic acid bacteria. Dans: Bacteriocin of lactic acid bacteria. End. Blacki Academic & Profitionel, Londre.
- Debeyer, C. (2020).** Les probiotiques dans la prise en charge d'affections gastro-intestinales et vaginales (Thèse de doctorat, Université de Lille).
- Demir, E., et Başbülbül, G. (2017).** *Screening of bacteriocin production in lactic acid bacteria isolated from fermented dairy products*. *Biotechnology Journal International*, 1-9.
- Dicks, L. M., DEelaglio, F. And Collins, M. D. (1995).** Proposal to reclassify *Leuconostoc oenos* as *Oenococcus oeni* [corrig.] gen. nov., comb.nov. *International Journal of Systematic Bacteriology* **45**, 395-397.
- Djelloul, D, S. (2021).** Isolement et identification des bactéries antagonistes vis-à-vis des Souches pathogènes multirésistantes (Thèse de doctorat, Université de Djilali liabes de Sidi Bel Abbes).
- Dortu, C. and Thonart, P. (2009).** Les bactériocines des bactéries lactiques : caractéristiques et *Biotechnol. Agron. Soc. Environ* 13: 143-154.
- Drake, M., Small, C. L., Spence, K. D., et Swanson, B. G. (1996).** Rapid detection and identification of *Lactobacillus* spp. in dairy products by using the polymerase chain reaction. *J. Food Protect.* 59: 1031-1036.

- Drider, D., Fimland, G., Héchard, Y., McMullen, L. M., et Prévost, H. (2006).** The continuing story of class IIa bacteriocins. *Microbiology and molecular biology reviews*, 70(2), 564-582.
- Drieder, J., Prévost, H. (2009).** Bactéries lactiques. Physiologie, Métabolisme, Génomique et Applications industrielles. Ed. Economica., Paris, 504p.
- Egan, K., Field, D., Rea, M. C., Ross, R. P., Hill, C., et Cotter, P. D. (2016).** *Bacteriocins: novel solutions to age old spore-related problems?. Frontiers in microbiology*, 7, 461.
- Federighi, M. (2005).** Bactériologie Alimentaire, Edition ECONMICA, 2eme édition, p 28.
- Fleming, H. P., Etchells, J. L., Costilow, R. N. (1975).** Microbial inhibition by an isolate of *Pediococcus* from cucumber brines. *Applied microbiology*, 30(6), 1040-1042.
- Furet, J. P., Quénéé, P., et Tailliez, P. (2004).** Molecular quantification of lactic acid bacteria in fermented milk products using real-time quantitative PCR. *International journal of food microbiology*, 97(2), 197-207.
- Gálvez, A., Abriouel, H., Ben Omar, N., et Lucas, R. (2011).** Food Applications and Regulation. Dans Drider, D., et Rebuffat, S. (dirs.), *Prokaryotic Antimicrobial Peptides: From Genes to Applications* (1rd Ed). Springer Verlag. Jaen, Spain.
- Garcia-Gutierrez, E., O'Connor, P. M., Colquhoun, I. J., Vior, N. M., Rodríguez, J. M., Mayer, M. J., ... et Narbad, A. (2020).** Production of multiple bacteriocins, including the novel bacteriocin gassericin M, by *Lactobacillus gasseri* LM19, a strain isolated from human milk. *Applied microbiology and biotechnology*, 104(9), 3869.
- Gómez, N. C., Ramiro, J. M., Quecan, B. X., et de Melo Franco, B. D. (2016).** Use of potential probiotic lactic acid bacteria (LAB) biofilms for the control of *Listeria monocytogenes*, *Salmonella Typhimurium*, and *Escherichia coli* O157: H7 biofilms formation. *Frontiers in microbiology*, 7, 863.
- Guiraud, J. P., Rosec, M. (2004).** Pratique des normes en microbiologie alimentaire, édition AFNOR, France, p 93, 129.
- Hammes, W. P., et Vogel R. F. (2012).** The genus *Lactobacillus*. Dans Holzappel, W. H .N., et Wood B J. (dirs.), *The Genera of Lactic Acid Bacteria*. Springer Science et Business Media.

- Hammi, I. (2016).** Isolement et caractérisation de bactériocines produites par des souches de bactéries lactiques isolées à partir de produits fermentés marocaines et de différentes variétés de fromage français. Thèse doctorat chimie analytique non publiée, Université de Strasbourg, Strasbourg.
- Hanchi, H., Mottawea, W., Sebei, K., et Hammami, R. (2018).** The genus *Enterococcus*: between probiotic potential and safety concerns—an update. *Frontiers in microbiology*, 9, 1791.
- Hardie, J. M. et Whiley, R. A. (1997).** Classification and overview of the genera *Streptococcus* and *Enterococcus*. *J Appl Microbiol Symposium Supplement* 83: 1-11.
- Heikkilä, 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.
- Heita, L. (2014).** Antimicrobial activity profile of traditional fermented milk starter cultures from North-Eastern Namibia (Thèse de doctorat, Université de Namibia).
- Hermier, J., Lenoir, J. et Weber, F. (1997).** Rôle des bactéries lactiques dans la production des facteurs anti microbien, les groupes microbien d'intérêt laitier.
- Ho, T. N. T., Tuan, N., Deschamps, A. et Caubet, R. (2007).** Isolation and identification of lactic acid bacteria (LAB) of the Nem Chua fermented meat product of Vietnam. *Int.*
- Holzappel, W. H., Geizen, R., et Schillinger, U. (1995).** Biological preservation of foods with reference to protective cultures, bacteriocins and food grade enzyme. *Int. J. Food Microbiol.* 24: 343-362.
- Ibrahim, O. O. (2019).** *Classification of antimicrobial peptides bacteriocins, and the nature of some bacteriocins with potential applications in food safety and bio-pharmaceuticals. EC Microbiology*, 15, 591-608.
- Izquierdo Alegre, E. (2009).** Les protéines bactériennes en tant que biomarqueurs de l'activité probiotique. Thèse de doctorat, université Strasbourg, France.
- Jagadeesh, K. S. (2015).** Lactic acid bacteria as a source of functional ingredients. *South Indian Journal of Biological Sciences*, 1(2), 70-71.
- Jaya Chitra, J., & Siva Kumar, K. (2018).** Antimicrobial activity of bacteriocin from lactic acid bacteria against food borne bacterial pathogens. *International Journal of Current Research in Life Sciences*, 7(4), 1528-1532.

Julliard, V., Spinnler, H. E., Desmazeaud, J., Boquien, C. V. (1987). Phénomènes de coopération et d'inhibition entre les bactéries lactiques utilisées en industrie laitière. *Lait*, 67(2) : 149-172.

Kang, K. H., Shin, H. J., Park, Y. H. and Lee, T. S. (1989). Studies on the antibacterial substances produced by lactic acid bacteria: purification and some properties of antibacterial substance Bifilong produced by *B. longum*. *Korean Dairy Sci* 1: 204-216.

Kassas, Z. (2017). Croissance de souches de bactéries lactiques d'intérêts technologiques et/ou probiotiques sur MRS végétal modifié. These de Doctorat En Microbiologie. Université Badji Mokhtar Annaba.

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

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

Kowalczyk, M., Mayo, B., Fernández, M., et Aleksandrak P.T. (2015). Updates on Metabolism in Lactic Acid Bacteria in Light of Omic Technologies. Dans Mozzi F., Raya R.R., et Vignolo G.M. (dirs.), *Biotechnology of lactic acid bacteria: Novel applications* (2ndEd). Wiley-Blackwell.

Kunene, N. F., Geornaras, I., vonHoly, A., et Hastings, J. W. (2000). Characterization and determination of origin of lactic acid bacteria from a sorghum-based fermented weaning food by analysis of soluble protein and amplified fragment length polymorphism fingerprinting. *Appl. Environ. Microbiol.* 66 (3): 1084-1092.

Labioui. H., Elmoualdi. L., El Yachioui. M., Ouhssine. (2005). Selection de souches de bacteries lactique Antibacterienne. *Bull. Soc. Pharm, Bordeaux*.144, 237-250.

Langa, S., Martín-Cabrejas, I., Montiel, R., Landete, J. M., Medina, M., et Arqués, J. L. (2014). Combined antimicrobial activity of reuterin and diacetyl against foodborne pathogens. *Journal of dairy science*, 97(10), 6116-6121.

Lavoisier, Paris France, p9, 10, 25, 51.

Lechardeur, D. (2011). Using heme as an energy boost for lactic acid bacteria. *Curr Opin Biotechnol* 22: 143-9.

- Léonard, L. (2013).** Evaluation du potentiel bioprotecteur de bactéries lactiques confinées dans une matrice polymérique, Thèse : Sciences de l'Alimentation, Université de Bourgogne, France, p8-10, 13-15, 17-18.
- Leveau, J. Y., Bouix, M., De Roissart, H. (1991).** La flore lactique In Techniques d'analyse et de contrôle dans les industries agroalimentaire. Bourgois C.M, Leveau J.Y.Edition : Techniques et documentations, Lavoisier. Paris.pp 152-186.
- Maghnia, D. (2011).** Etude de potentiel technologique des bactéries lactiques isolées des aliments fermentés traditionnels algériens (Thèse de doctorat, Université d'Oran1-Ahmed Ben Bella).
- Mahi, M. (2010).** Etude Technologique Des Bactéries Lactiques isolées à Partir Du Lait De Brebis. Mémoire de Magister. Microbiologie Alimentaire. Université d'Oran.
- Makhloufi, K. M. (2011).** Caractérisation d'une bactériocine produite par une bactérie lactique *Leuconostoc pseudomesenteroides* isolée du boza. Thèse de doctorat de l'université pierre et marie curie. Spécialité : microbiologie, biochimie (école doctorale iviv) Mc Auliffe et al (2001). In Bacteriocins: biological tools for bio preservation and shelf-life extension. International. Dairy .Journal. 2006.
- Makhloufi, K. M. (2012).** Caractérisation d'une bactériocine produite par une bactérie lactique *Leuconostoc pseudomesenteroides* isolée du boza. Thèse de doctorat en Microbiologie et Biochimie. France.
- Mameche, A. (2008).** Purification et caractérisation de bactériocines produites par des bactéries lactiques autochtones isolées. Thèse doctorat science alimentaires non publiée, Université d'Alger, Alger.
- Mami, A., Hamedi, A. R., Henni, J., Kerfouf, A., et Kihal, M. (2010).** Activité Anti Bactérienne de *Lactobacillus plantarum* isolée du lait cru de chèvre d'Algérie vis à vis de *Staphylococcus aureus*. les technologies de laboratoire, 5(21) ,26-33.
- 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, Thèse : Biotechnologies agroalimentaires, sciences de l'aliment, Faculté des sciences et techniques, Université de Nantes, France, p 189.

Mechai, A. B. (2009). Isolement, caractérisation et purification de bactériocines produites par des bactéries lactiques autochtones : études physiologiques et biochimiques. Thèse doctorat Biochimie. Université Badji-Mokhtar- Annaba. 2009.

Mekri, M. (2016). Effet de synergie des bactériocines issues des bactéries lactiques et *pseudolactiques* et des huiles essentielles contre les germes pathogènes. Thèse de doctorat : Micro-organismes producteurs de métabolites secondaires et enzymes. Sidi Bel Abbes : Université Djillali abbes de Sidi Bel Abbes, 205p.

Menad, N. (2017). Effet antagoniste des bactéries lactiques isolées à partir du lait de vache vis-à-vis de *Salmonella sp* (Thèse de doctorat, Université de Abdelhamid Ibn Badis Mostaganem).

Mokena, A. M. (2017). Lactic Acid Bacteria and Their Bacteriocins: Classification, Biosynthesis and Applications against Uropathogens: A Mini-Review. *Molecules*, 22(8), 1255.

Monnet, V., Latrille, E., Béal, C., et Corrieu, G. (2008). Croissance et propriétés fonctionnelles des bactéries lactiques. Dans Corrieu G., et Luquet F.M. (dirs.), *Bactéries lactiques de la génétique aux ferments* Tec et Doc, Lavoisier. Paris.

Moraes, M. P., Perin, L. M., Ortolani, M. B. T., Yamazi, A.K., Viçosa, G. N. and Nero, L. A. (2010). Protocols for the isolation and detection of lactic acid bacteria with bacteriocinogenic." *Food Sci.Technol* 43: 1320-1324.

Mozzi, F., et Vignolo, G. M. (2010). *Biotechnology of lactic acid bacteria: novel applications* (1stEd). John Wiley et Sons.

Nair, M. S., Amalaradjou, M. A., et Venkitanarayanan, K. (2017). Antivirulence properties of probiotics in combating microbial pathogenesis. *Advances in applied microbiology*, 98, 1-29.

Ngozi, I. (2017). Comparative Application of Different Strategies of Bacteriocins Produced by *Carnobacterium maltaromaticum* MMF-32 for Inhibition of *Listeria monocytogenes* ATCC 19114 in Cold-Smoked Haddock. *American Scientific Research Journal for Engineering, Technology, and Sciences*, 38(2), 311-340.

Pacheco-Canoa, R., Fuente-Salcidoc, N., Salcedo-Hernández, R., León-Galvána, M., Bideshid, D., Hernández-Guzmána, G., & Barboza-Corona, E. (2014). *Characterization, N-terminal sequencing*

and classification of Tolworthcin 524: A bacteriocin produced by *Bacillus thuringiensis* subsp. *tolworthi*. *Microbiological Research*, 169, 948–953.

Park, S. N., Lim, Y. K., Shin, J. H., Chang, Y. H., Shin, Y., Paek, J., ... et Kook, J. K. (2019). *Streptococcus gwangjuense* sp. nov., isolated from human pericoronitis. *Current microbiology*, 76(7), 799-803.

Patel, S., et Gupta, R. S. (2018). Robust demarcation of fourteen different species groups within the genus *Streptococcus* based on genome-based phylogenies and molecular signatures. *Infection, Genetics and Evolution*, 66, 130-151.

Perez, R., Zendo, T., & Sonomoto, K. (2014). Novel bacteriocins from lactic acid bacteria (LAB): Various structures and applications. *Microbial Cell Factories*, 13(1), 1-13.

Preedy, V. R. (2010). *Bioactive foods in promoting health: Probiotics and prebiotics* (1stEd). Academic Press.

Ravindran, L., Manjunath, N., Darshan, R. P., et Manuel, S. G. (2016). In vitro study analysis Of antimicrobial properties of lactic acid bacteria against pathogens. *Journal of Biotechnology Innovation*, 5(2), 262-269.

Reddy, G., Altaf, M. D., Naveena, B. J., Venkateshwar, M., et Kumar, E. V. (2008). Amylolytic bacterial lactic acid fermentation—a review. *Biotechnology advances*, 26(1), 22- 34.

Ren, D., Zhu, J., Gong, S., Liu, H., et Yu, H. (2018). Antimicrobial characteristics of lactic acid bacteria isolated from homemade fermented foods. *Bio Med research international*, 2018.

Reuben, R. C., Roy, P. C., Sarkar, S. L., Alam, A. R. U., et Jahid, I. K. (2020). Characterization and evaluation of lactic acid bacteria from indigenous raw milk for potential probiotic properties. *Journal of dairy science*, 103(2), 1223-123.

Ruiz, F. O., Gerbaldo, G., Asurmendi, P., Pascual, L. M., Giordano, W., et Barberis, I. L. (2009). Antimicrobial activity, inhibition of urogenital pathogens, and synergistic interactions between *Lactobacillus* strains. *Current Microbiol.* 59: 497-501.

- Saad, N. (2010).** Caractérisation d'entités moléculaires de surface impliquées dans la relation de la bactérie probiotique *Lactobacillus plantarum* 299v avec l'hôte : approche in vitro. Thèse Doctorat. Biologie et santé. Université Limoge.
- Savadogo, A., Traore, AS. (2011).** La flore microbienne et les propriétés fonctionnelles des yaourts et laits fermentés, *Int. J. Biol. Chem. Sci.* 5(5): 2057-2075.
- Schillinger, U., Kaya, M., et Lücke, F-K. (1991).** Behaviour of *Listeria monocytogenes* in meat and its control by a bacteriocin-producing strain of *Lactobacillus sake*. *J. Appl. Bacteriol.* 70: 473-478.
- Schillinger, U., Lucke F. K. (1989).** Antibacterial activity of *Lactobacillus sake* isolated from meat. *Appl. environnement Microbiologie.* 55:1901- 1906.
- Schleifer, K. H., Ehrmann, M., Beimfohr, C., Brockmann, E., Ludwig, W. And Amann, R. (1995).** Application of molecular methods for the classification and identification of lactic acid bacteria. *International Dairy Journal* 5, 1081- 1094.
- Senbagam, D., Gurusamy, R., & Senthilkumar, B. (2013).** *Physical chemical and biological characterization of a new bacteriocin produced by Bacillus cereus NS02. Asian Pacific Journal of Tropical Medicine, 934-941.*
- Shehata, M. G., El Sohaimy, S. A., El-Sahn, M. A. et Youssef, M. M. (2016).** Screening of isolated potential probiotic lactic acid bacteria for cholesterol lowering property and bile salt hydrolase activity. *Annals of Agricultural Sciences.* 61(1) : 65-75.
- Sherid, M., Samo, S., Sulaiman, S., Husein, H., Sifuentes, H., et Sridhar, S. (2016).** Liver abscess and bacteremia caused by *lactobacillus*: role of probiotics? Case report and review of the literature. *BMC gastroenterology, 16(1), 1-6.*
- Sidhu, P., & Nehra, N. (2017).** Bacteriocin-nanoconjugates as emerging compounds for enhancing antimicrobial activity of bacteriocins. *Journal of King Saud University – Science, 3, 1-10.*
- Stiles, M. E., et Holzapfel, W. H. (1997).** Review article: Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy. *Int. J. Food Microbiol.* 36: 1-29.

Tabak, S., & Bensoltane, 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*, 06, 71 – 79.

Tahlaiti, H. (2019). Étude des propriétés technologiques et inhibitrices de bactéries lactiques isolées à partir de blé fermenté (Thèse de doctorat, Université de Mostaganem-Abdelhamid Ibn Badis).

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

Tilsala-Timisjarvi, A., et Alatossava, T. (1997). Development of oligonucleotide primers from the 16S-23S rRNA intergenic sequences for identifying different dairy and probiotic lactic acid bacteria by PCR. *Int. J. Food Microbiol.* 35: 49-56.

TODOROV, S., DE PAULA, O., CAMARGO, A., LOPES, D., & NERO, L. (2018). *Combined effect of bacteriocin produced by Lactobacillus plantarum ST8SH and vancomycin, propolis or EDTA for controlling biofilm development by Listeria monocytogenes.* *R evista Argentina De Microbiología*, 50(1), 48-55.

Wallace, T. D., Bradley, S., Buckley, N. D., et Green-Johnson, J. M. (2003). Interactions of lactic acid bacteria with human intestinal epithelial cells: effects on cytokine production. *Journal of Food Protection*, 66(3), 466-472.

Wee, Y. J., Yun, J. S., Kim, D., et Ryu, H. W. (2006). Batch and repeated batch production of L (+)-lactic acid by *Enterococcus faecalis* RKY1 using wood hydrolyzate and corn steep liquor. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 33(6), 431.

Yan Yan, H., & Min Tze, L. (2014). Use of extracellular extracts of lactic acid bacteria and bifidobacteria for the inhibition of dermatological pathogen *Staphylococcus aureus*. *DERMATOLOGICA SINICA*, 32, 141-147.

Yerlikaya, O., Saygili, D., et Akpınar, A. (2021). Evaluation of antimicrobial activity and Antibiotic susceptibility profiles of *Lactobacillus delbrueckii subsp. Bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* strains isolated from commercial yoghurt starter cultures. *Food Science and Technology*, 41, 418-425.

Yu, J., Song, Y., Ren, Y., Qing, Y., Liu, W., et Sun, Z. (2017). Genome-level comparisons provide insight into the phylogeny and metabolic diversity of species within the genus *Lactococcus*. *BMC microbiology*, 17(1), 1-10.

Zhitnitsky, D., Rose, J., et Lewinson, O. (2014). The highly synergistic, broad spectrum, antibacterial activity of organic acids and transition metals. *Scientific reports*, 7(1), 1-13.

Annexes

Annexes : milieux de culture utilisés

➤ **Milieu Man, Rogosa et Sharpe (MRS) (Bouillon et gélose)**

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

pH = 6,8.

Autoclavage 20 min à 120 °C.

➤ **Gélose M17**

Tryptone.....	2,5 g
Peptone pepsique de viande	2,5 g
Peptone papainique de soja	5 g
Extrait autolytique de levure.....	2,5 g
Extrait de viande	5 g
Lactose	5 g
Glycérophosphate de sodium	19 g
Sulfate de magnésium	0,25 g
Acide ascorbique	0,5g
Agar	15g Eau
distillée.....	1000ml

pH = 7,1.

Autoclavage 20 min à 120 °C.

➤ **Milieu Mannitol-mobilité**

Peptone tripsique de viande.....	10 g/l
Mannitol.....	7.5 g/l
Nitrate de potassium.....	1 g/l
Rouge de phénol.....	0.04 g/l
Agar	4 g
Eau distillée	1000 ml

pH7.6

Autoclavage à 120°C pendant 20 min.

➤ **Milieu nutritif (Bouillon et gélose)**

Extrait de viande	1g
Peptone	15g
Chlorure de sodium	5g
Agar (dans le cas de la gélose)	15g

pH=7,2.

Autoclavage à 121 °C / 20 min.

➤ **Gélose Mueller Hinton (MH)**

Peptone.....	17.5 g
Extrait de viande.....	2 g
Amidon.....	1.5 g
Calcium.....	20 mg
Magnésium.....	10 mg
Agar.....	15 g
Eau distillé.....	1000 mL

pH = 7.4+-0.2. Autoclave à 120 °C / 20 minutes.

Résumé

Au cours de cette étude, nous avons essayé de mettre en évidence l'activité antimicrobienne de sept souches lactiques identifiées provenant du laboratoire EDD de l'université de Relizane et huit souches lactiques que nous avons isolé, à partir de lait de chèvre, et pré-identifié par différents tests morphologiques et physiologiques. L'ensemble des bactéries étaient testé contre cinq souches pathogènes référencées par la méthode de diffusion par disques.

Les huit souches isolées étaient pré-identifiées à quatre *Enterococcus sp.* (L1, L4, L5, L7), trois *Lactobacillus sp.* (L3, L6, L8) et une *Lactococcus sp.* (L2).

Les résultats de la mise en évidence de l'activité antimicrobienne ont révélé que la plupart des souches testées étaient faiblement inhibitrices vis à vis des différentes souches indicatrices, avec des diamètres de zones d'inhibition variant entre 0 et 3 mm.

Mots clés : activité antimicrobienne, souches lactiques, souches pathogènes, zone d'inhibition.

Abstrat

In this study, we attempted to demonstrate the antimicrobial activity of seven lactic acid strains identified from the EDD laboratory at the University of Relizane and eight lactic acid strains that we isolated from goat milk and pre-identified using various morphological and physiological tests. All bacteria were tested against five pathogenic strains referenced using the disc diffusion method.

The eight isolated strains were pre-identified as four *Enterococcus sp.* (L1, L4, L5, L7), three *Lactobacillus sp.* (L3, L6, L8), and one *Lactococcus sp.* (L2).

The results of the antimicrobial activity testing revealed that most of the strains tested were weakly inhibitory against the various indicator strains, with inhibition zone diameters ranging from 0 to 3 mm.

Key words : antimicrobial activity, lactic strains, pathogenic strains, inhibition zone.

ملخص

في هذه الدراسة، حاولنا إثبات النشاط المضاد للميكروبات لسبع سلالات من حمض اللاكتيك، تم تحديدها من مختبر EDD بجامعة غليزان، وثمانية سلالات من حمض اللاكتيك عزلناها من حليب الماعز، وحددنا هويتها مسبقاً باستخدام اختبارات مورفولوجية وفسولوجية مختلفة. اختبرت جميع البكتيريا ضد خمس سلالات ممرضة مُشار إليها بطريقة انتشار القرص.

تم تحديد السلالات الثمانية المعزولة مسبقاً على أنها أربع سلالات من نوع *Enterococcus sp.* (L1, L4, L5, L7)، وثلاث سلالات من نوع (L3)، *Lactobacillus sp.* (L6, L8) وسلالة واحدة من نوع *Lactococcus sp.* (L2).

أظهرت نتائج إثبات النشاط المضاد للميكروبات أن معظم السلالات المختبرة كانت ضعيفة التثبيط ضد سلالات المؤشرات المختلفة، حيث تراوحت أقطار مناطق التثبيط بين 0 و3 مم.

الكلمات المفتاحية : النشاط المضاد للميكروبات، السلالات اللبنية، السلالات المسببة للأمراض، منطقة التثبيط.