

DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par

BEN MANSOUR Samra

BELARBI Fatiha

Pour l'obtention du diplôme de

**MASTER EN SCIENCES BIOLOGIQUES**

**Spécialité : Microbiologie Fondamentale**

THÈME

**Etude de l'activité antibactérienne des bactéries  
lactiques  
vis-à-vis des bactéries pathogènes.**

Soutenu le 30/06/2025

DEVANT LE JURY COMPOSÉ DE :

Président	M Menad Najet	M.C.A	U. Mostaganem
Encadrant	Mr CHERIGUENE Abderrahim	Professeur	U. Mostaganem
Co-Encadrant	M Chougrani Fadéla	Professeur	U. Mostaganem
Examineur	M Bouabsa Foufa	M.C.B	U. Mostaganem

Année universitaire 2024/2025

# *Remerciement*

Je remercie avant tout ALLAH tout puissant, de m'avoir guidé tout au long de ma vie, dans toutes les années d'étude et m'avoir donné la croyance, la volonté, la patience et le courage pour terminer ce travail.

Tout d'abord, je tiens à remercier l'encadreur **Mr Cheriguene Abderrahim**, professeur à l'université Abdelhamid Ibn Badis Mostaganem, pour l'honneur qu'il m'a fait en dirigeant ce travail, de m'avoir permis de travailler sur un projet des plus intéressants. Je tiens à lui exprimer ma reconnaissance pour sa grande disponibilité, ses conseils et pour son écoute attentive tout au long de l'élaboration de ce modeste travail.

Je remercie aussi mon co-encadreur **M Chougrani Fadela** professeur à l'université Abdelhamid Ibn Badis Mostaganem pour son encadrement rigoureux et par ses conseils.

Je remercie **M Menad Najet**, M.C.A à l'université de Mostaganem, pour l'honneur qu'elle nous a fait en acceptant de présider le jury.

Je remercie également **M Bouabsa Foufa**, MAA à l'université de Mostaganem d'avoir accepté d'examiner ce travail.

J'adresse aussi mes remerciements à tous les ingénieurs du laboratoire de microbiologie de département de science de la nature et de la vie pour leurs aides.

Enfin, je tiens à remercier mes parents pour leurs aides et leurs encouragements durant toute la période de réalisation de ce travail.

# *Dédicace*

*Je dédie ce travail à :*

À ma chère maman, ma **Louisa** :

Ce mémoire est bien plus qu'un travail académique, c'est l'accomplissement de ton rêve. Depuis toujours, tu as cru en moi, même dans les moments les plus difficiles. Ta force, tes sacrifices et ton amour inconditionnel m'ont porté jusqu'ici.

Aujourd'hui, à travers ce diplôme, je réalise ton rêve et le mien. Ce parcours, je te le dédie, avec toute ma reconnaissance et mon amour.

Merci maman, ce succès est aussi le tien.

*Je dédie ce modeste travail :*

À mes très chers parents **Nouria** et **Ziane** pour leurs patiences et pour tous sacrifices qu'ils ont consentis pour mon éducation.

À mes chères sœurs **Asma**, **Imen**, **Khadidja**, mon seul frère **Mohamed Yacine** pour leurs encouragements et pour leurs aides dans les moments difficiles.

## Sommaire

### Liste des abréviations

### Liste des tableaux

### Liste des figures

### Résumé

### Abstract

### ملخص

### Introduction.....1

## Partie bibliographique

### Chapitre I: Les bactéries lactiques

I. Les bactéries lactiques .....	3
I.1.Définition .....	3
I.2. Caractéristiques morphologiques et biochimiques.....	3
I.3. Principales voies fermentaires des bactéries lactiques .....	4
I.3.1. Voie homo-fermentaire ou EMP .....	4
I.3.2. Voie hétéro-fermentaire ou voie des pentoses phosphate .....	5
I.4. Classification .....	7
I.5. Les différents genres des bactéries lactiques .....	8
I.5.1. <i>Streptocoques</i> et autres coques lactiques.....	8
I.5.1.1. <i>Streptococcus</i> .....	8
I.5.1.2. <i>Lactococcus</i> .....	9
I.5.1.3. <i>Enterococcus</i> .....	9
I.5.2. <i>Pediococcus</i> et <i>Tetragenococcus</i> .....	10
I.5.2.1. <i>Pediococcus</i> .....	10
I.5.2.2. <i>Tetragenococcus</i> .....	10
I.5.3. <i>Leuconostoc</i> et <i>Weissella</i> .....	11
I.5.3.1. <i>Leuconostoc</i> .....	11
I.5.3.2. <i>Weissella</i> .....	11
I.5.4. <i>Lactobacilles</i> .....	11
I.6.Les facteurs antimicrobiens des bactéries lactiques.....	13
I.6.1.Acides organiques .....	13
I.6.2.Peroxyde d'hydrogène .....	14
I.6.3. Diacétyle.....	14
I.6.4.Dioxyde de carbone .....	14
I.6.5.Bactériocines.....	15
I.7. Importance des bactéries lactiques.....	15
I.7.1. Dans le domaine thérapeutique .....	15
I.7.2. Dans l'industrie alimentaire .....	16

### Chapitre II : Les bactéries pathogènes

II. Les bactéries pathogènes.....	17
II.1.Définition .....	17
II.2.Classification des bactéries pathogènes.....	17
II.2.1.Bactéries pathogènes spécifiques (BPS).....	17
II.2.2.Bactéries pathogènes opportunistes (BPO) .....	18
II.3.Principales bactéries pathogènes plus fréquentes .....	18
II.3.1. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	18
II.3.2. <i>Staphylococcus aureus</i> .....	20
II.3.3. <i>Klebsiella pneumoniae</i> .....	21

## Partie expérimentale

### Chapitre III : Matériels et Méthodes

III. Matériels et méthodes.....	22
• Lieu et objectif d'étude.....	22
III.1. Matériels.....	22
III.1.1. Matériels biologiques.....	22
III.1.2. Echantillon.....	22
III.2. Méthodes .....	22
III.2.1. Isolement des cultures des bactéries lactiques.....	22
III.2.2. Identification des souches lactiques .....	23
III.2.2.1. Tests morphologiques .....	23
a. L'aspect macroscopique.....	23
b. L'aspect microscopique .....	23
III.2.2.2. Tests physiologiques et biochimiques.....	24
III.2.3. Etude de l'activité antibactérienne des souches lactiques .....	26
III.2.3.1. Préparation de la pré-culture bactérienne .....	26
III.2.3.2. Préparation de pré-culture de la bactérie (pathogène) .....	26
III.2.3.3. Méthode de double couche .....	26
III.2.4. La détermination des profils de sensibilité aux antibiotiques.....	26
III.2.5. Conservation des souches.....	27
III.2.5.1. Conservation à courte durée des souches.....	27
III.2.5.2. Conservation à longue durée des souches .....	27

### Chapitre IV: Résultats et discussion

IV.1. Isolement .....	28
IV.2. Identification des souches lactiques .....	28
IV.2.1. Etude morphologique .....	28
IV.2.2. Tests physiologiques et biochimiques.....	29
IV.3. Aspects macroscopiques des souches pathogènes .....	32
IV.4. Etude de l'activité antibactérienne des souches lactiques .....	33
IV.4.1. Préparation de la pré-culture bactérienne .....	33
IV.4.2. Préparation de pré-culture de la bactérie (pathogène) .....	33
IV.4.3. Méthode de double couche .....	34
IV.5. La détermination des profils de sensibilité aux antibiotiques.....	36

<b>Conclusion</b> .....	38
-------------------------	----

### Références bibliographiques

### Annexes

## Liste des abréviations

**ATCC:** American Type Culture Collection

**BPO :** Bactéries pathogènes opportunistes

**BPS :** Bactéries pathogènes spécifiques

**CG :** Cytosine et guanine

**EMP:** Embden-Meyerhof-Parnas

**ISO :** Organisation internationale de normalisation

**IVU :** Infections des voies urinaires

**LAB :** Bactérie lactique

**RAM :** Résistance aux antimicrobiens

## Liste des tableaux

<b>Tableau 01:</b> Quelques principales bactéries pathogènes spécifiques facultatives.....	12
<b>Tableau 02:</b> Quelques principales bactéries pathogènes spécifique obligatoires.....	13
<b>Tableau 03:</b> Flores commensales normales humaines.....	13
<b>Tableau 04:</b> Les souches pathogènes.....	16
<b>Tableau 05:</b> Les différents antibiotiques.....	20
<b>Tableau 06:</b> Aspect macroscopiques des souches lactiques.....	21
<b>Tableau 07 :</b> Caractéristiques des souches lactiques.....	
<b>Tableau 08:</b> Les diamètres des zones d'inhibitions des souches lactiques vis-à-vis des souches pathogènes.....	25
<b>Tableau 09:</b> Profil antibiorésistance des souches lactiques.....	28

## Liste des figures

<b>Figure 01:</b> La fermentation du lactose chez les bactéries lactiques : voies Homo et Hétéro-fermentaire.....	4
<b>Figure 02:</b> Arbre phylogénique des bactéries lactiques.....	5
<b>Figure 03:</b> <i>Streptococcus thermophilus</i> au microscope électronique.....	6
<b>Figure 04:</b> <i>Lactococcus lactis</i> , au microscope électronique.....	6
<b>Figure 05:</b> <i>Enterococcus faecalis</i> au microscope électronique.....	7
<b>Figure 06:</b> <i>Lactobacillus acidophilus</i> .....	9
<b>Figure 07:</b> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	14
<b>Figure 08:</b> Image MEB de <i>Staphylococcus aureus</i> .....	15
<b>Figure 09:</b> <i>Klebsiella pneumoniae</i> observée au microscope électrique.....	15
<b>Figure 10:</b> Résultat d'isolement des bactéries lactiques à partir du yaourt.....	21
<b>Figure 11:</b> Aspect macroscopiques des souches lactiques.....	21
<b>Figure 12:</b> Observation microscopique des souches lactiques après coloration de gram G : 10x100.....	22
<b>Figure 13:</b> Résultat de test catalase.....	22
<b>Figure 14:</b> Résultat du test oxydase.....	23
<b>Figure 15:</b> Résultat du test de croissance en milieu hyper salé.....	23
<b>Figure 16:</b> Résultat du test de croissance à différentes températures.....	23
<b>Figure 17:</b> Résultat du test du type fermentaire.....	24
<b>Figure 18:</b> Observation macroscopique des souches pathogènes: <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC27853, <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923.....	24
<b>Figure 19:</b> Résultat de préparation de la pré-culture bactérienne.....	25
<b>Figure 20:</b> Résultat de préparation de pré-culture de la bactérie pathogène.....	25
<b>Figure 21:</b> Résultat de l'effet antagoniste par la méthode de double couche.....	26
<b>Figure 22:</b> Histogramme représente résultat de diamètres de zones d'inhibitions des bactéries lactiques vis-à-vis des souches pathogènes.....	27
<b>Figure 23:</b> Résultat de la détermination des profils de sensibilité aux antibiotiques.....	28

## Résumé

Les bactéries lactiques, largement présentes dans les aliments fermentés comme le yaourt, choucroute, fromage et dans le microbiote intestinal, sont de plus en plus étudiées pour leurs effets bénéfiques sur la santé. L'un de leurs rôles les plus intéressants est leur capacité à combattre les bactéries pathogènes par la particularité de synthétiser des substances inhibitrices.

Notre étude a portée en premier: l'isolement des souches lactiques à partir d'un yaourt nature et l'identification des 08 souches isolées et purifiées de la part de F. Attoura à partir du lben (de vache). Suivi par une observation macro et microscopique, des tests physiologiques et biochimiques.

Ensuite, l'étude de l'activité antimicrobienne des souches lactiques vis à vis des bactéries pathogènes: *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853, *Staphylococcus aureus* ATCC25923, a été réalisée selon la méthode de double couche.

La détermination de la réaction des souches lactiques face à divers antibiotiques, nous avons examiné leurs résistances en utilisant la méthode de diffusion sur un milieu MRS solide avec des disques d'antibiotiques.

Les résultats de notre étude porté des interactions inhibitrices nous a permet d'indiquer que ces souches lactiques sont satisfaisants pour une utilisation médicale à l'égard de bactéries pathogènes, ainsi pour la bioconservation des aliments car elles possèdent un bon pouvoir antimicrobien contre les bactéries pathogènes.

**Mots clés:** bactérie lactique, bactérie pathogène, substances inhibitrices, activité antimicrobienne, lben.

## **Abstract**

Lactic acid bacteria, widely present in fermented foods such as yogurt, sauerkraut, cheese and in the intestinal microbiota, are increasingly being studied for their beneficial effects on health.

One of their most interesting roles is their ability to fight pathogenic bacteria through the unique ability to synthesize inhibitory substances.

Our study initially focused on: the isolation of lactic strains from natural yogurt and the identification of the 08 strains isolated and purified by F. Attoura from lben (cow), through physiological, biochemical tests, and macro and microscopic observation. Next, the antimicrobial activity of the lactic acid strains against pathogenic bacteria: *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853, *Staphylococcus aureus* ATCC25923, was studied using the double-layer method.

To determine the response of lactic acid strains to various antibiotics, we examined their resistance using the diffusion method on solid MRS with antibiotic disks.

The results of our study of inhibitory interactions allowed us to indicate that these lactic acid strains are suitable for medical use against pathogenic bacteria, as well as for food biopreservation, as they possess good antimicrobial activity against pathogenic bacteria.

**Keywords:** Lactic acid bacteria, pathogenic bacteria, inhibitory substances, antimicrobial activity, lben.

## ملخص :

تُدرس بكتيريا حمض اللاكتيك، المنتشرة بكثرة في الأطعمة المخمرة مثل الزبادي، المخلل، الجبن، وفي ميكروبات الأمعاء، بشكل متزايد لتأثيراتها المفيدة على الصحة. ومن أبرز أدوارها قدرتها على مكافحة البكتيريا المسببة للأمراض من خلال قدرتها الفريدة على تخليق مواد مثبطة.

ركزت دراستنا في البداية على: عزل سلالات الياغورت الطبيعي وتحديد سلالات 08 المعزولة والمنقاة بواسطة

(ف. عطورة) من اللبن (البقرة) من خلال الاختبارات الفيزيولوجية والكيميائية الحيوية والملاحظة العينية والمجهريّة.

بعد ذلك، دُرست الفعالية المضادة للميكروبات لسلالات حمض اللاكتيك ضد البكتيريا المسببة للأمراض:

*Staphylococcus aureus* ATCC25923 ، *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853

باستخدام طريقة الطبقة المزدوجة .

لتحديد استجابة سلالات حمض اللاكتيك لمختلف المضادات الحيوية، فحصنا مقاومتها باستخدام طريقة الانتشار

على وسط MRS صلب مع أقراص المضادات الحيوية.

وقد أتاحت لنا نتائج دراستنا للتفاعلات المثبطة الإشارة إلى أن سلالات حمض اللاكتيك هذه مناسبة للاستخدام

الطبي ضد البكتيريا المسببة للأمراض، وكذلك للحفاظ الحيوي للأغذية، لما تتمتع به من نشاط مضاد للميكروبات جيد

ضد البكتيريا المسببة للأمراض.

**الكلمات المفتاحية:** بكتيريا حمض اللاكتيك، البكتيريا المسببة للأمراض، المواد المثبطة، النشاط المضاد للميكروبات، لبن.

# **Introduction**

## Introduction

Aujourd'hui, la résistance croissante des bactéries pathogènes aux antibiotiques pose un grave problème de santé publique à l'échelle mondiale; ce phénomène, qui touche à la fois le domaine médical et l'agroalimentaire, compromet l'efficacité des traitements et la sécurité des aliments. **(FAO/WHO, 2006)**

Face à cette menace, les chercheurs se tournent vers des alternatives plus naturelles, durables et respectueuses de l'environnement pour lutter contre ces micro-organismes.

Parmi les solutions proposées, on trouve les bactéries lactiques, qui sont connues non seulement pour leur rôle dans la fermentation, mais aussi pour leur capacité à produire des substances antimicrobiennes et à inhiber la croissance de nombreuses bactéries pathogènes. **(Ouwehand *et al.*, 2002)**

Les bactéries lactiques sont des micro-organismes largement répandus dans la nature, particulièrement dans les environnements riches en matières organiques comme les produits laitiers fermentés, les végétaux ou encore le tube digestif des humains et des animaux. Ces bactéries sont reconnues pour leur capacité à produire de l'acide lactique comme métabolite principal, ce qui contribue à l'acidification des milieux et à la conservation des aliments. **(Giraffa *et al.*, 2010)**

Mais leur potentiel ne s'arrête pas là, les bactéries lactiques synthétisent divers composés antimicrobiens tels que les acides organiques, le peroxyde d'hydrogène, le diacétyl, les bactériocines et d'autres peptides inhibiteurs, qui leur confèrent un pouvoir antagoniste contre de nombreuses bactéries pathogènes. **(Bernbom *et al.*, 2012)**

Ce mémoire se propose d'étudier l'activité antimicrobienne des bactéries lactiques vis-à-vis de certaines bactéries pathogènes comme *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus*, et de mieux comprendre les mécanismes d'action de ces bactéries bénéfiques.

## INTRODUCTION

Cette étude pourrait ouvrir la voie à de nouvelles applications, notamment en industrie agroalimentaire, pour améliorer la sécurité des aliments, ou en santé humaine, comme alternative aux antibiotiques. **(Ouwehand *et al.*, 2002; Bernbom *et al.*, 2012)**

Notre manuscrit est structuré en une synthèse bibliographique articulée autour de quatre chapitres :

Le premier chapitre présente le groupe des bactéries lactiques et leurs caractéristiques, les voies métaboliques, et la classification.

Le deuxième chapitre présente le groupe des bactéries pathogènes et leurs classifications.

Le troisième chapitre présente le matériel et méthodes, qui est présenté comme suit :

-L'isolement et l'identification des bactéries lactiques , Suivi par une observation macro et microscopique, des tests physiologiques et biochimiques .

-L'étude de l'activité antimicrobienne des souches lactiques vis à vis des bactéries pathogènes.

-La détermination des profils de sensibilité aux antibiotiques. Le quatrième chapitre présente les résultats et discussions.

En fin, une conclusion générale récapitulant les principaux résultats de notre étude.

# **Partie bibliographique**

**Chapitre I :**  
**Les bactéries lactiques**

### Chapitre I: Les bactéries lactiques

#### I. Les bactéries lactiques

##### I.1. Définition

Le terme de bactéries lactiques est intimement associé aux bactéries impliquées dans la fermentation des aliments pour l'homme et l'animal. La première culture pure était de *Bacterium lactis* – probablement des *Lactococcus lactis*, obtenue par Lister en **1873**.

Historiquement, les genres *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* et *Streptococcus* ont été les premiers à être décrits (Axelsson, 2004).

##### I.2. Caractéristiques morphologiques et biochimiques

Le groupe des bactéries lactiques a été défini par Orla-Jensen (1919) et réunit plusieurs genres caractérisés par leur capacité à fermenter les glucides en produisant de l'acide lactique.

Ce sont des coques ou bâtonnets Gram positif, généralement immobiles et non sporulés.

Il existe d'autres bactéries produisant de l'acide lactique mais qui ne sont pas considérées comme faisant partie du groupe des bactéries lactiques. C'est le cas, par exemple, de *Bacillus* et *Sporolactobacillus* qui sont des bactéries Gram (+) sporulées (Axelsson, 2004).

Les bactéries lactiques ne possèdent ni nitrate réductase, ni catalase, ni cytochrome oxydase mais elles peuvent survivre en présence d'oxygène. L'absence de catalase est une caractéristique, mais certaines espèces acquièrent cette activité sur des milieux riches en hème (Larpent *et al.*, 1997).

### I.3. Principales voies fermentaires des bactéries lactiques

Toute croissance nécessite la production d'énergie et les bactéries lactiques ne font pas exception à la règle.

Hétérotrophes, elles tirent leur énergie de la fermentation de substrats carbonés. Les carbohydrates fermentés en acide lactique par les bactéries lactiques peuvent être des monosaccharides tels que des hexoses (glucose, galactose), des pentoses (xylose, ribose, arabinose), hexitols et pentitols (mannitol, sorbitol, xylitol) ou des disaccarides (lactose, saccharose, cellobiose, tréhalose). La fermentation des sucres s'effectue essentiellement en trois étapes:

- le transport du sucre à travers la membrane cellulaire;
- le catabolisme intracellulaire du sucre;
- formation et expulsion extracellulaire des métabolites terminaux.

Selon les genres ou espèces, les bactéries lactiques utilisent principalement l'une des deux voies majeures du métabolisme des sucres. Il s'agit des voies homo-fermentaire (Embden-Meyerhof-Parnas,EMP) et hétéro-fermentaire (voie des pentoses-phosphate) (**Atlanet *al.*, 2008**).

#### I.3.1. Voie homo-fermentaire ou EMP

Les bactéries lactiques homo-fermentaires possèdent l'enzyme aldolase et sont capables de fermenter le glucose plus directement en acide lactique que les hétéro-fermentaire.

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-MeyerhofParnas en pyruvate, ce dernier est converti en acide lactique par le lactate déshydrogénase.

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 CO<sub>2</sub> en plus de l'acide lactique (Kowalczyk *et al.*, 2015).

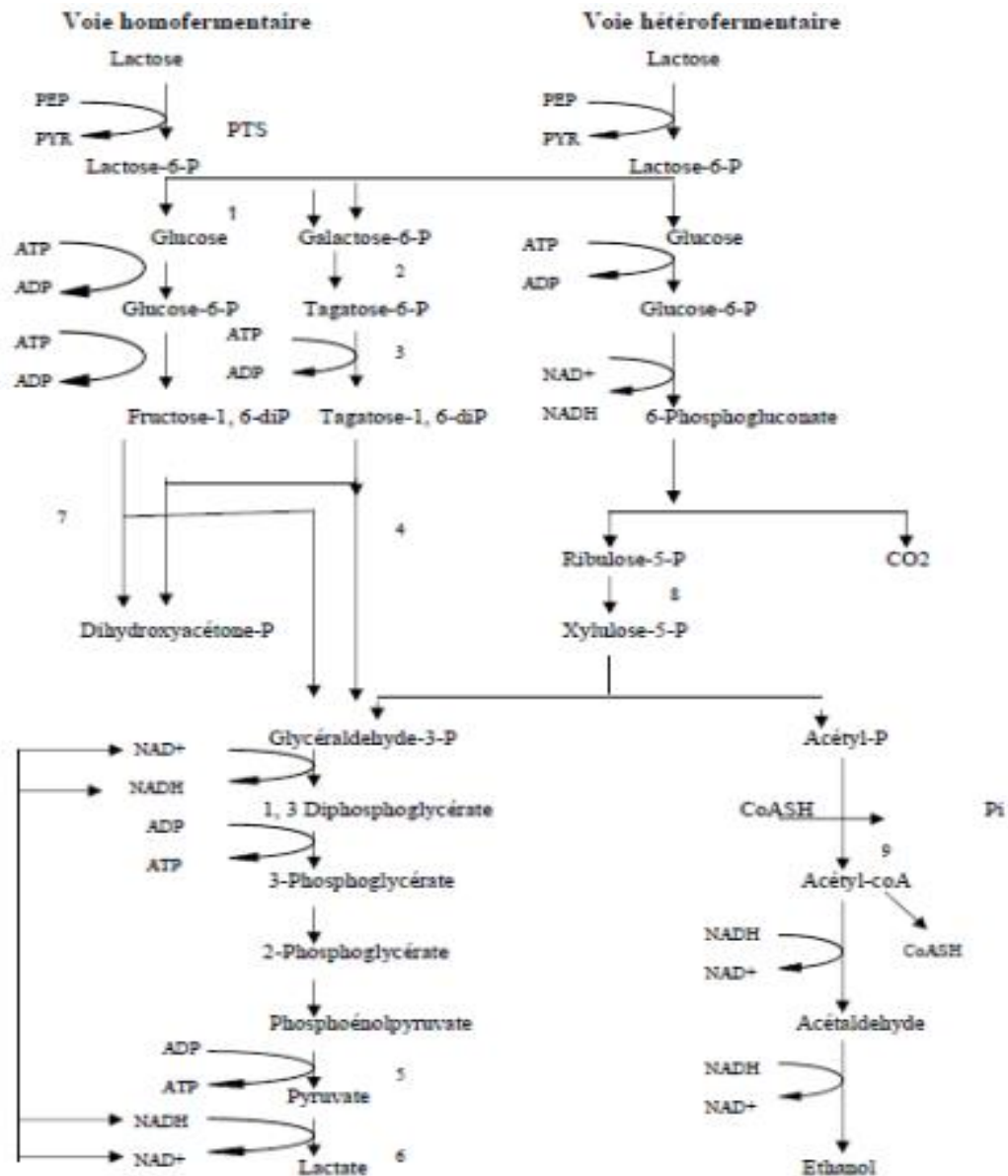
### I.3.2. Voie hétéro-fermentaire ou voie des pentoses phosphate

Les bactéries lactiques hétéro-fermentaires (figure 01) 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 CO<sub>2</sub> (Mozziet Vignolo, 2010; Jagadeesh, 2015 ;Kowalczyk *et al.*, 2015).



**Figure01:** La fermentation du lactose chez les bactéries lactiques : voies Homo et Hétéro-fermentaire (Bekhouche, 2006).

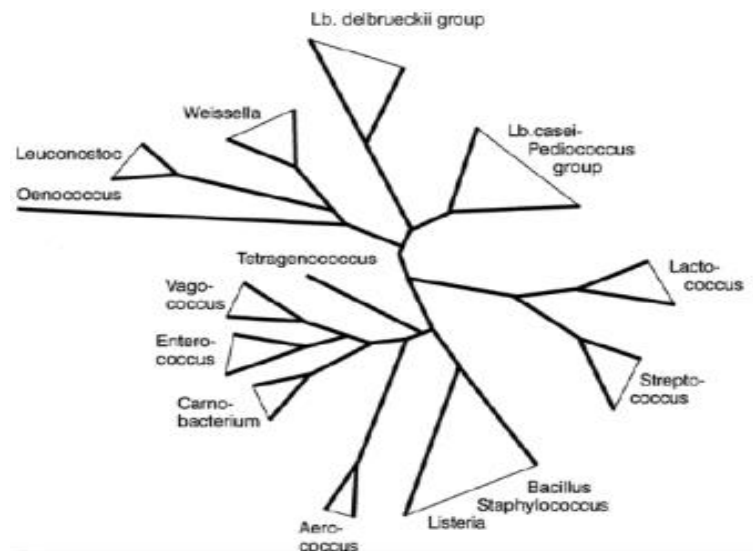
1 : phospho-β-galactosidase ; 2 : tagatose-6-phosphate Isomérase ; 3 : tagatose-6-phosphate Kinase ; 4 : tagatose-1,6-diphosphate aldolase ; 5 : pyruvate Kinase ; 6 : lactate déshydrogénase ; 7 : fructose-1, 6-diphosphate aldolase ; 8 : pentose-5-phosphate céto-lase ; 9 : éthanol déshydrogénase.

#### I.4. Classification

Les bactéries lactiques sont classées dans le Phylum : *Firmicute*, la Classe : *Bacilli* et sont divisées en quatre familles (Madigan et Martinko, 2007) :

- ❖ *Lactobacillaceae*
- ❖ *Enterococcaceae*
- ❖ *Leuconostocaceae*
- ❖ *Streptococcaceae*

Ces familles regroupent les principaux genres de bactéries lactiques en fonction de leur parenté phylogénétique. Il s'agit des genres : *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Oenococcus*, *Tetragenococcus*, *Carnobacterium*, *Vagococcus*, *Aerococcus* (figure 02) (Federighi, 2005).



**Figure 02:** Arbre phylogénétique des bactéries lactiques (Axelsson, 2004) .

### 1.5. Les différents genres des bactéries lactiques

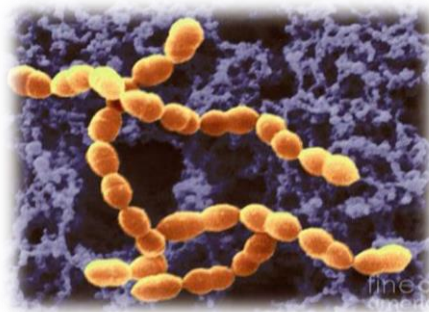
#### 1.5.1. *Streptocoques* et autres coques lactiques

Les genres *Enterococcus*, *Lactococcus*, *Streptococcus* et *Vagococcus* étaient précédemment inclus dans un seul genre : *Streptococcus*. Ce sont des coques en paire ou en chaîne, Gram +, catalase (-), non sporulés, immobiles et anaérobies facultatifs.

##### 1.5.1.1. *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, petite et même des fois des diplocoques (figure 03) car les *Streptococcus pneumoniae* immobile, elles sont anaérobies préférentiel aérotolérantes ce qui signifie que sa croissance est favorisée par une atmosphère enrichie en CO<sub>2</sub>, 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 de Streptocoque comprend deux genres: le genre *Streptococcus* avec les Streptocoques sensu, les Pneumocoques et le genre Entérocoques (**Patel et Gupta, 2018 ; Park et al., 2019**).

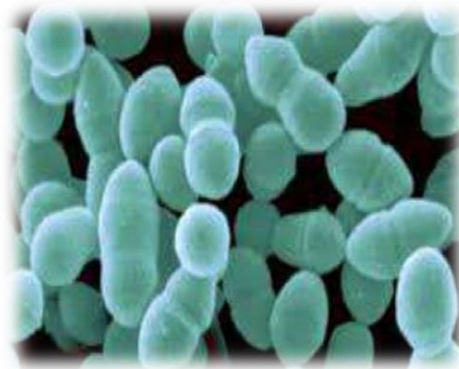


**Figure 03:** *Streptococcus thermophilus* au microscope électronique (**Furet et al., 2004**).

### 1.5.1.2. *Lactococcus*

*Lactococcus* est une bactérie lactique faible en CG, en forme d'ovoïdes associés en paires ou en chaînettes de longueur variable, mésophile avec un optimum de croissance à 30°C (figure 04).

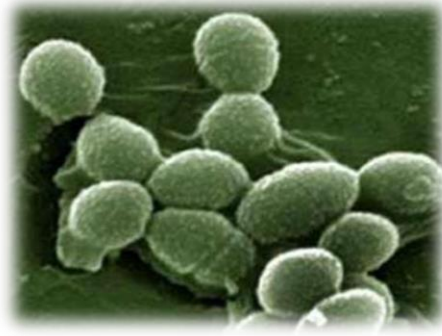
Son métabolisme est anaérobie facultatif et elle est capable de se multiplier en aérobie. La surface de *Lactococcus* est recouverte d'une couche de polysaccharide lié de manière covalente au peptidoglycane de la paroi cellulaire, la structure de ce polysaccharide de paroi varie entre les souches. Les *Lactococcus* présentent dans la sphère uro-génitale de la femme, chez les végétaux céréales, pomme de terre, pois, haricots,... etc., retrouve surtout en grandes quantités dans le lait cru des bovins largement utilisée comme levain dans les fermentations laitières (Teuber, 2015; Yu *et al.*, 2017).



**Figure 04:** *Lactococcus lactis*, au microscope électronique (Corrieu et Luquet, 2008).

### 1.5.1.3. *Enterococcus*

Ce genre contient des cellules ovoïdes isolées homo-fermentaires en paires ou en courtes chaînes (figure 05). Quelques espèces sont mobiles grâce à des petits flagelles et d'autres possèdent des pseudo-catalases. Les *Enterocoques* caractérisent par une tolérance à 6,5% de Na Cl au pH=9,5, et par une croissance à 10°C et 45°C avec une température optimale de 35 à 37°C (Foulquie *et al.*, 2006).



**Figure 05:** *Enterococcus faecalis* au microscope électronique (Wallace *et al.*, 2003).

### 1.5.2. *Pediococcus* et *Tetragenococcus*

#### 1.5.2.1. *Pediococcus*

Les *Pediococcus* sont des coques homo-fermentaires, des germes micro-aérophiles, 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).

#### 1.5.2.2. *Tetragenococcus*

Le genre *Tetragenococcus* est issu du genre *Pediococcus* dont il forme des lignées phylogénétiques distinctes (Collins *et al.*, 1990; Matamoros, 2008).

*Tetragenococcus* sont immobiles, sphériques ou ovoïdes avec un diamètre de 0.5-1.0  $\mu\text{m}$  formant des tétrades, ou en paires, homo-fermentaires. Ils sont incapables d'hydrolyser l'arginine, leur température optimale de croissance se situe entre 25°C et 35°C et ne peuvent pas croître à 10°C et à 45°C (Benguella, 2015).

### 1.5.3. *Leuconostoc* et *Weissella*

#### 1.5.3.1. *Leuconostoc*

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

#### 1.5.3.2. *Weissella*

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**).

### 1.5.4. *Lactobacilles*

Les lactobacilles sont des bactéries lactiques ubiquitaires qui colonisent beaucoup d'habitats. Ce sont des bactéries Gram+ sporulées, immobiles, en forme bacille isolé ou groupées en paires ou en chaînette (figure 06). Elles forment des colonies de petites tailles, lisses, brillantes non pigmentées et souvent opaques. Ce sont des anaérobies facultatifs ayant un pH optimum de croissance de 5,5 avec une température optimale de croissance comprise entre 30 et 40°C (**Hammes et al., 2009**).

Les lactobacilles ont un métabolisme énergétique saccharolytique où le lactate est l'acide organique majoritaire (**De vuyst et al., 1994**). Les *Lactobacillus* sont très exigeantes en matière nutritive (**Euzéby, 1997**).

Les bactéries appartenant au genre *Lactobacillus* se distinguent des autres bactéries à Gram positif par le fait qu'elles sont anaérobies ou microaérophiles, immobiles, dépourvus de catalase et d'oxydase. Très polymorphes, leur morphologie microscopique varie d'une espèce à l'autre, de coccobacilles aux bacilles fins et allongés.

## Chapitre I: Les bactéries lactiques

Leur métabolisme énergétique est fermentaire. Le principal produit final de la dégradation des sucres est l'acide lactique auquel peut s'ajouter l'acide acétique, l'éthanol et le CO<sub>2</sub> pour les espèces hétéro-fermentaires (**Freney et al., 2000**).

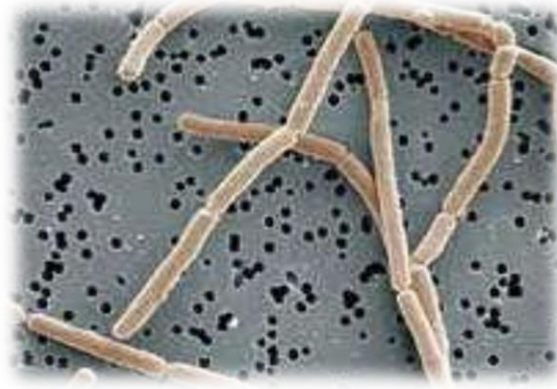
Le genre *Lactobacillus* est divisé en trois groupes basé sur les capacités de fermentation de l'espèce (**Kandler et Weiss, 1986**).

**Groupe I:** obligatoirement espèces homo-fermentatives, dégradent les hexoses presque complètement à l'acide lactique et ne fermentent pas les pentoses ou gluconate (**Kandler et Weiss, 1986**). Ce groupe est constitué d'environ 25 espèces, la plupart thermophiles (croissance à 45°C) dont *Lb. delbrueckii*, *Lb. acidophilus* et *Lb. helveticus*. La plupart des espèces sont présentes dans le lait et les produits laitiers (**Laurent et al., 1998**).

**Groupe II :** Les espèces du groupe II sont facultative hétéro-fermentaire et produisent de l'acide acétique, de l'éthanol et l'acide formique sous la limite de glucose, en plus à l'acide lactique. Les pentoses sont généralement fermentés (**Kandler et Weiss, 1986**).

Il est constitué d'une vingtaine d'espèces dont *Lb. casei*, *Lb. curvatus*, *Lb. sake* et *Lb. plantarum*, majoritairement mésophiles (**Laurent et al., 1998**).

**Groupe III :** contient les lactobacilles obligatoirement hétéro-fermentaires qui fermentent les hexoses à l'acide lactique, à l'acide acétique, éthanol et dioxyde de carbone. Les pentoses sont fermentés l'acide lactique et l'acide acétique (**Kandler et Weiss, 1986**). Ce groupe rassemble des espèces relativement hétérogènes, surtout mésophiles, comme *Lb. brevis*, *Lb. kefir* et *Lb. sanfransisco*, Outre leur présence dans les produits laitiers et carnés, certaines espèces se développent dans le tube digestif de l'homme, et participent à l'équilibre de la flore intestinale (**Laurent et al., 1998**).



**Figure 06:** *Lactobacillus acidophilus* (Maghnia, 2011).

### I.6. Les facteurs antimicrobiens des bactéries lactiques

Cela fait longtemps qu'on reconnaît aux bactéries lactiques la capacité de générer des composés antibactériens qui favorisent leur croissance dans différents écosystèmes.

L'activité antagoniste des bactéries lactiques est attribuée aux métabolites qu'elles sécrètent : acides organiques, peroxyde d'hydrogène, diacétyl, dioxyde de carbone, bactériocines (Leveau *et al.*, 1991).

#### I.6.1. 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.*, 2017).

### I.6.2. Peroxyde d'hydrogène

Le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) présente un effet antimicrobien qui peut être expliqué par la production de radicaux libres tels que le groupement superoxyde ( $O_2\bullet$ ) et le groupement hydroxyle ( $OH\bullet$ ) 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).

### I.6.3. Diacétyl

Le diacétyl est produit suite à la dégradation du citrate, il est synthétisé par différentes espèces de bactéries lactiques appartenant à plusieurs genres comme *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc* et *Pediococcus*.

Il présente des propriétés antimicrobiennes contre les levures, les bactéries Gram négatif et les bactéries Gram positif non lactiques. La concentration nécessaire à l'obtention d'une inhibition dépend essentiellement du microorganisme cible (DortuetThonart, 2009).

### I.6.4. Dioxyde de carbone

Le dioxyde de carbone ( $CO_2$ ) est principalement formé pendant la fermentation des hexoses suivant la voie hétéro-fermentaire. 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**).

### **I.6.5. Bactériocines**

Les bactériocines sont des protéines, ou complexes de protéines possédant une activité bactéricide dirigée contre des espèces proches de la souche productrice. Ce sont des peptides antimicrobiens de 20 à 60 acides aminés synthétisés selon la voie ribosomique impliquant des groupes de gènes ou clusters comportant une ou plusieurs unités de transcription, génotypiquement spécifique, par les bactéries de gram positif, négatif et les archées (**Sidhu et Nehra, 2019**).

Les bactéries lactiques sont capables de synthétiser des bactériocines actives non seulement contre d'autres bactéries lactiques, mais également contre d'autres bactéries Gram+, et selon certains, contre certaines bactéries Gram -, parmi lesquelles on rencontre des entérobactéries et des germes pathogènes (**Raimbault, 1995**).

## **I.7. Importance des bactéries lactiques**

### **I.7.1. Dans le domaine thérapeutique**

Étant des probiotiques, les bactéries lactiques apportent des bénéfices à l'hôte en conférant une balance de la microflore intestinale, et en jouant également un rôle important dans la maturation du système immunitaire (**Yateem et al., 2008**).

Différentes études ont démontré le rôle préventif aussi bien que curatif de ces bactéries sur plusieurs types de diarrhées (**Mkrtchyan et al., 2010**). D'autres ont cité leur capacité de diminuer les allergies liées aux aliments grâce à leur activité protéolytique (**El-Ghaish et al., 2011**).

Uehara *et al.* (2006) ont démontré la capacité des souches de *Lactobacillus crispatus*, utilisées sous forme de suppositoires pour empêcher la colonisation du vagin par les

bactéries pathogènes et de prévenir ainsi les rechutes chez les femmes qui souffrent d'inflammations fréquentes et répétées de la vessie.

### I.7.2. Dans l'industrie alimentaire

Les bactéries lactiques sont impliquées dans la fermentation et la bioconservation de différents aliments. Ainsi, les souches de *Lactobacillus bulgaricus*, *Sterptococcus thermophilus* sont utilisées pour la production du yaourt, des fromages et des laits fermentés (Yateem *et al.*, 2008).

Le vin, les poissons, les viandes, les charcuteries, le pain au levain entre autres sont aussi des produits de fermentation par des bactéries lactiques (Badis *et al.*, 2005).

L'utilisation de ces dernières a pour but l'amélioration des caractéristiques organoleptiques des produits fermentés et l'augmentation de leur durée de conservation sans l'utilisation de conservateurs chimiques grâce aux substances antimicrobiennes qu'elles sécrètent (Dortu et Thonart, 2009). Les souches utilisées en industrie alimentaire doivent répondre à certains critères : absence de pathogénicité ou activité toxique, capacité d'améliorer les caractéristiques organoleptiques, capacité de dominance, facilité de culture et de conservation, et maintenance des propriétés désirables durant le stockage (Marth et Steele, 2001).

**Chapitre II :**  
**Les bactéries pathogènes**

## Chapitre II : Les bactéries pathogènes

### II. Les bactéries pathogènes

#### II.1. Définition

Les bactéries pathogènes sont des bactéries qui ont la capacité de provoquer une maladie chez leur hôte (Homme, animal...) (Delarras, 2014).

Les bactéries pathogènes contaminent de nombreux produits alimentaires et peuvent constituer un grave danger pour leur qualité et leur conservation. Plusieurs espèces présentent un danger au point de vue sanitaire (Joseph, 2003).

Les bactéries pathogènes sont à l'origine de toxi-infection alimentaire (intoxication) et des maladies infectieuses d'origine alimentaire (Isaac, 2009).

#### II.2. Classification des bactéries pathogènes

##### II.2.1. Bactéries pathogènes spécifiques (BPS)

Ces bactéries provoquent des maladies cliniquement définies et physiologiquement spécifiques.

Elles se divisent en deux groupes :

##### ➤ 1<sup>er</sup> Groupe : Les bactéries pathogènes spécifiques facultatives

Ces BPS facultatives peuvent se développer dans la nature, sur la peau et les muqueuses de l'homme ou des animaux (tableau 01).

**Tableau 01:** Quelques principales bactéries pathogènes spécifiques facultatives (Delarras, 2014)

Bactéries pathogènes spécifiques facultatives	Maladies spécifiques humaines	Transmission et contamination pour l'homme
<i>Listeria monocytogenes</i>	Listériose humaine d'origine alimentaire et animale	Produits de charcuterie, fromages crus à pâte molle, poissons fumés....
<i>Salmonella typhi</i>	Fièvre typhoïde	Eaux, aliments contaminés
<i>Clostridium botulinum</i>	Botulisme animal et humain	Conserves ou semi-conserves mal préparées ou stérilisées (fruits et légumes, jambon de porc, poissons)

## Chapitre II : Les bactéries pathogènes

### ➤ 2<sup>ème</sup> Groupe : Les bactéries pathogènes spécifiques obligatoires

Ces BPS obligatoires incapable de se multiplier en dehors d'un foyer infectieux (tableau 02).

**Tableau 02:** Quelques principales bactéries pathogènes spécifique obligatoires  
(Delarras,2014)

Bactéries pathogènes spécifiques obligatoire	Maladies spécifiques	Transmission et contamination pour l'homme
<i>Brucella melitensis</i>	Brucellose humaine ou fièvre de malte (homme : hôte accidentel)	Consommation des aliments contaminés
<i>Mycobacterium tuberculosis</i> (bacille de Koch)	Tuberculose humaine	Contamination surtout aérienne par contact avec un malade
<i>Mycobacterium leprae</i> (bacille de Hansen)	Lèpre	Transmission directe ou indirecte par les malades (crachats, sécrétions nasales)

### II.2.2. Bactéries pathogènes opportunistes (BPO)

Ce sont des bactéries commensales, parfois saprophytes, dont la présence dans un organisme ne provoque pas habituellement une maladie, elle devient pathogène dans des conditions favorisantes telles que l'immunodépression (tableau 03).

**Tableau 03:** Flores commensales normales humaines (Delarras, 2014)

Flores	Bactéries principales
Cutanée	<i>Staphylococcus</i> , <i>Corynebacterium</i>
Rhino-buccale	<i>Staphylococcus</i> , <i>Streptococcus</i> , <i>Haemophilus</i> , <i>Neisseria</i> , <i>Enterobacteriaceae</i> et autres bactéries anaérobies non sporulées.
Intestinale	<i>Enterobacteriaceae</i> , <i>Staphylococcus</i> , <i>Streptococcus</i> , <i>Clostridium</i> , <i>Bacteriodes</i> et autres bactéries anaérobies Gram-
Génitale (vaginale)	<i>Streptococcus agalactiae</i> , <i>Lactobacillus acidophilus</i> (bacille de Doderlein)

### II.3. Principale bactérie pathogènes plus fréquente

#### II.3.1. *Pseudomonas aeruginosa*

*Pseudomonas aeruginosa* est une bactérie Gram (-) (figure 07), aérobie ubiquiste considérée comme pathogène opportuniste. Sa résistance supérieure aux autres bactéries

vis-à-vis de certains désinfectants peut conduire à sa présence lors d'infections en milieu hospitalier.

Elle conduit à des surinfections graves (**Prenom, 2001**). *P. aeruginosa* est capable d'infecter un large spectre d'hôte : humains, souris, plantes, insectes, nématodes, cette bactérie affecte particulièrement les personnes immunodéprimées, les grands brûlés et les patients en soins intensifs. A l'hôpital, elle est responsable de 16 % des infections pulmonaires, de 12% des infections du tractus urinaires, de 8% des infections touchant les grands brûlés et de 10% des infections du sang (bactériémie et/ou septicémie).

Cette bactérie est également une des causes majeures de mortalité et de morbidité chez les personnes atteintes de mucoviscidose. Ces patients développent une infection pulmonaire chronique qui conduit à une destruction des tissus pulmonaires par les toxines bactériennes.

*P. aeruginosa* colonise les poumons et s'installe rapidement sous forme de bio film, ce qui lui permet de résister aux défenses immunitaires de l'hôte et aux antibiotiques (**Rossignol,2007**).

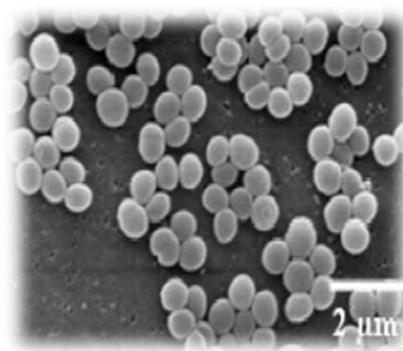


**Figure 07:** *Pseudomonas aeruginosa*

### II.3.2. *Staphylococcus aureus*

*S. aureus* est une cocci à Gram positif (figure 8), c'est une bactérie pyogène et toxigène, responsable de nombreuses infections communautaires et nosocomiales qui représente donc un problème de santé publique important. Elle provoque de nombreuses infections dues à la multiplication de la bactérie et des infections toxiques liées à la diffusion de toxines spécifiques. Typiquement elle se présente sous forme de coques sphériques de diamètre 1  $\mu\text{m}$ , et se trouve généralement dans les fosses nasales et sur la peau de personnes en bonne santé. Si elle pénètre dans le corps, elle peut causer des infections cutanées légères, telles que des furoncles ou des anthrax, ou des infections plus graves, comme des pneumonies ou des bactériémies (Mungkalasiri, 2009).

Les *Staphylococcus aureus* sont communément appelés staphylocoques dorés à cause des pigments caroténoïdes jaunes qu'ils produisent. Ils causent des infections chroniques graves. Ces infections peuvent aller de l'intoxication alimentaire sévère à la formation d'abcès disséminés sur tout le corps. Les staphylocoques peuvent donc causer des maladies dans presque tous les organes ou tissus du corps. Ils peuvent se répandre par les mains, le système respiratoire, la peau, etc. On trouve généralement les staphylococcies chez les personnes au système immunitaire affaibli (Mungkalasiri, 2009).



**Figure 08:** Image MEB de *Staphylococcus aureus* (Mungkalasiri, 2009).

### II.3.3. *Klebsiella pneumoniae*

Elles ont été décrites indépendamment en 1885. Ces bâtonnets à Gram négatif (figure 9) colonisent le tractus intestinal humain considéré comme le principal réservoir de ces pathogènes opportunistes multi-résistants.

Elles sont connues par leurs fréquences élevées et diversité des gènes de résistance aux antimicrobiens (RAM). Dans les conditions favorables, elle provoque des diverses maladies infectieuses, notamment des (IVU), des pneumonies et des abcès du foie (Agata, 2022).

Les caractéristiques phénotypiques de cette bactérie comprennent la motilité d'essaimage, la production d'uréase et d'hémolysine, et la synthèse de nombreux facteurs d'adhérence (Rebecca M et Michel B, 2018).



**Figure 09:** *Klebsiella pneumoniae* observée au microscope électronique (Thierry, 2019).

# **Partie expérimentale**

## **Chapitre III:**

### **Matériels et méthodes**

### Lieu et objectif d'étude :

Notre stage a été effectué au sein de laboratoire de microbiologie N°03 à l'université Abdelhamid ibn Badis – Mostaganem durant la période de deux mois (avril et mai), afin de :

- Isoler des bactéries lactiques à partir d'un yaourt nature et identifier des souches isolés et purifiées à partir de (Lben de vache);
- Etude de l'activité antagoniste des bactéries lactiques vis à vis des bactéries pathogènes.

### III.1.Matériel

#### III.1.1.Matériel biologique

- Bactéries lactiques : des souches lactiques (BH01, BH05, BH07, BH25, BH41, BH43, BH98, BH100) bien isolés et purifiés à partir d'un produit laitier lben (de vache) par la doctorante F.Attoura.
- Bactéries pathogènes (tableau 04):sont des souches de références.

**Tableau 04:**Les souches pathogènes.

Les souches	Code
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC27853
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC25923

#### III.1.2.Echantillon : Yaourt nature

### III.2. Méthodes

#### III.2.1.Isolement des cultures des bactéries lactiques

Tant que l'étape de l'isolement par rapport aux bactéries lactiques est essentielle, on a essayé d'isoler certaines souches lactiques à partir d'un yaourt nature, comme suit :  
préparation des dilutions décimales : 1 ml d'échantillon de yaourt est pesé aseptiquement dans 9 ml d'eau physiologique (NaCl à raison de 0.9%), des dilutions décimales sont

réalisées (jusqu'à  $10^{-4}$ ) et homogénéisées. 1 ml de chaque dilution est ensemencé en surface sur milieu de culture MRS.

L'incubation des boîtes de Pétri à 37°C en anaérobiose pendant 24-48 heures.

### III.2.2. Identification des souches lactiques

A ce stade on a utilisé les bactéries lactiques isolés et purifiés par la doctorante F.Attoura, afin de les identifier et tester leur pouvoir inhibiteur vis-à-vis des souches pathogènes.

#### III.2.2.1. Tests morphologiques

##### a. L'aspect macroscopique

Ce test permet d'observer à l'œil nu la morphologie des colonies sur des milieux solides, en déterminant des paramètres tels que la taille, la couleur et la forme des colonies (Badis *et al.*, 2005).

##### b. L'aspect microscopique

###### ❖ Coloration de Gram

Fixer de frottis.

Recouvrir le frottis de la solution de violet de gentiane. Laisser agir 1 minute.

Rejeter le colorant. Laver à l'eau.

Recouvrir la préparation de Lugol. Laisser agir 1 minute.

Rejeter le Lugol. Laver à l'eau.

Décolorer à l'alcool 95° pendant 10 secondes.

Rincer à l'eau courante.

Recouvrir la lame de la solution de Fuchsine diluée. Laisser agir pendant 30 secondes à 1 minute

Laver abondamment à l'eau, égouttée, sécher entre deux feuilles de papier buvard très propres.

Observer au microscope :

- Les bactéries Gram négatif sont roses.
- Les bactéries Gram positif ont de coloration violette.

### III.2.2.2. Tests physiologiques et biochimiques

#### ❖ Test catalase

Le test catalase sert à démontrer si la bactérie possède l'enzyme catalase qui dégrade l'eau oxygénée ( $H_2O_2$ ) en eau métabolique ( $H_2O$ ) et oxygène ( $O_2$ ). L'activité catalytique consiste à prélever une colonie sur gélose MRS ou M17 et dissociée dans une goutte d'eau oxygénée ( $H_2O_2$ ).

L'apparition de bulles révélant le dégagement d'oxygène (**Ahmed et Irene, 2007**).

#### ❖ Test oxydase

Ce test permet de mettre en évidence une enzyme : la phénylène diamine oxydase des bactéries. Cette enzyme est capable d'oxyder un réactif : le N diméthyl paraphénylène diamine (**Guillaume, 2004**).

Avec une pince on dépose un disque sur une lame stérile, puis on dépose une goutte à partir de la culture bactérienne en bouillon MRS sur le disque.

Le changement de couleur indique le résultat positif, si le disque prend une couleur violette l'oxydase est positive, si le disque reste incolore l'oxydase est négative.

### ❖ Croissance en milieu hyper salé

La croissance en présence de différentes concentrations de chlorure de sodium (NaCl) donne des renseignements précieux, pour l'identification.

Elle est testée par ensemencement du bouillon MRS supplémenté de 4% et 6,5% de NaCl et l'incubation à 37°C pendant 24 à 48 heures.

On note l'aptitude à croître sur ces milieux par l'apparition de trouble (**Leveau *et al.*, 1991**).

### ❖ Croissance à différentes températures

Ce test est important de point de vue taxonomique, car il permet de distinguer les bactéries lactiques mésophiles des bactéries lactiques thermotolérants, il a été réalisé après inoculation du bouillon MRS par des cultures fraîches, les cultures ont été incubés à différentes températures 15° et 45°C.

Le tube à 45°C est examiné au bout d'un délai de 24 à 48 heures et celui à 15°C après 7 jours (**Carr *et al.*, 2002**).

### ❖ Type fermentaire

L'objectif de ce test est d'identifier les bactéries homofermentaires ou hétérofermentaires. La technique repose sur la culture de souches lactiques pures dans un tube contenant du bouillon MRS avec une cloche de Durham, le tout étant incubé à 30°C pendant 24 heures. Si la bactérie est hétérofermentaire le CO<sub>2</sub> dégagé s'accumule dans la cloche (**Badis *et al.*, 2005**).

### III.2.3. Etude de l'activité antibactérienne des souches lactiques

#### III.2.3.1. Préparation de la pré-culture bactérienne

A partir des boîtes de purification des bactéries lactiques isolées, on prend avec l'anse une colonie de chaque boîte dans chaque tube contenant du MRS bouillon à pH 6,5. Incubation à 37°C pendant 24 h.

#### III.2.3.2. Préparation de pré-culture de la bactérie (pathogène)

Les souches pathogènes qui ont été conservées dans la gélose nutritive sont revivifiées sur le bouillon nutritif à 37°C pendant 18 à 24h.

#### III.2.3.3. Méthode de double couche : (méthode de FLEMING *et al.*, 1975)

Pour déterminer les zones d'inhibitions, les souches lactiques ont étéensemencées à la surface d'un milieu MRS solide en touchant le milieu avec l'anse contenant la souche, il faut laisser la culture sécher pendant 2 à 3 minutes puis incuber en anaérobiose à 37°C pendant 24h.

Après 24h d'incubation on recouvert les spots avec une couche de 7ml de gélose MH semi solide contenant 0.1ml d'une culture pathogène en milieu liquide de 18h.

La lecture s'effectue après 24h d'incubation à 37°C en aérobie. Les souches présentant une zone d'inhibition sont considérées comme productrices de substances antimicrobiennes.

La taille des zones d'inhibitions produites a été mesurée en mm.

#### III.2.4. La détermination des profils de sensibilité aux antibiotiques

Pour déterminer la réaction des souches lactiques face à divers antibiotiques, nous avons examiner leurs résistances en utilisant la méthode de diffusion sur un milieu MRS

solide avec les disques d'antibiotiques commerciaux.

Les souches lactiques sont étalées à la surface de milieu MRS solide, puis on a déposé à l'aide d'une pince stérile les disques d'antibiotiques (4 disques en boîte). Incubation en anaérobiose à 37°C pendant 24h.

La lecture des résultats consiste à mesurer les diamètres des zones d'inhibitions.

**Tableau 05:** Les différents antibiotiques

Les antibiotiques	Les symboles
Ampicilline	AM
Spiramycin	S
Amoxicilline	AMC
Lincomicine	L

### III.2.5. Conservation des souches

#### III.2.5.1. Conservation à courte durée des souches

Les isolats purifiés ont été ensemencés sur bouillon (MRS), incubés pendant 24 h à 37°C conservés à 4°C. Le renouvellement des cultures se fait toutes les quatre semaines (Saidi *et al.*, 2002).

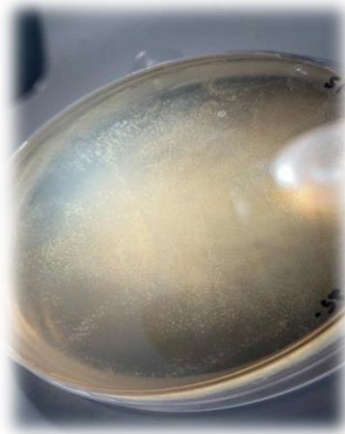
#### III.2.5.2. Conservation à longue durée des souches

A partir des cultures jeunes, préalablement purifiées sur milieu liquide, la culture jeune sera ajoutée à 30% de glycérol (agent cryoprotecteur) dans les Eppendorf e 1.5 ml, et conserver à -20°C

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

## I. Isolement

Après l'isolement à partir de yaourt, on a obtenu des souches pures, les colonies sont d'un aspect (couleur, taille et forme) typique et homogènes (figure 10).



**Figure 10:** Résultat d'isolement des bactéries lactiques à partir du yaourt.

## II. Identification des souches lactiques

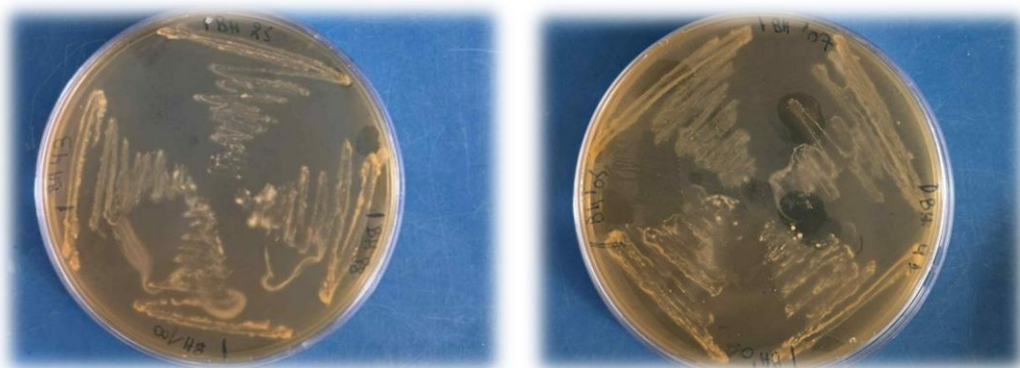
### II.1. Etude morphologique

#### a. Critères macroscopiques :

Toutes les souches (figure 11) sont identiques (tableau 06).

**Tableau 06:** Aspect macroscopique des souches lactiques

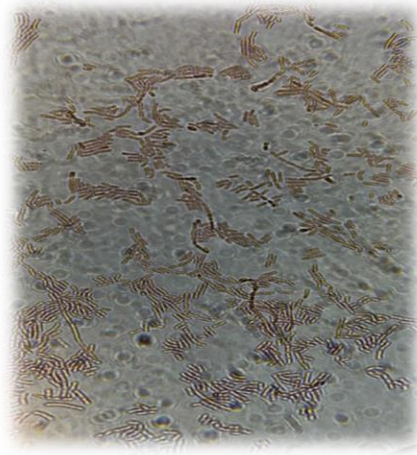
Critère	Forme	Couleur	Taille	Texture	Aspect de la bordure
Souche	Bombé	Blanche	Petite à moyenne	Lisse	Régulier



**Figure 11:** Aspect macroscopiques des souches lactiques.

### b. Critères microscopiques

L'observation microscopique a montré que toutes les souches lactiques sont à Gram positif (+), se présentent sous forme des bacilles, ces bacilles sont disposées en paires ou en chaînettes plus ou moins longues (figure 12).



**Figure 12:** Observation microscopique des souches lactiques après coloration de gram G : 10x100.

### II.2. Tests physiologiques et biochimiques

#### ❖ Test catalase

Toutes les souches lactiques sont de catalase négative à cause de l'absence de dégagement gazeux ( $O_2$ ) (figure 13).

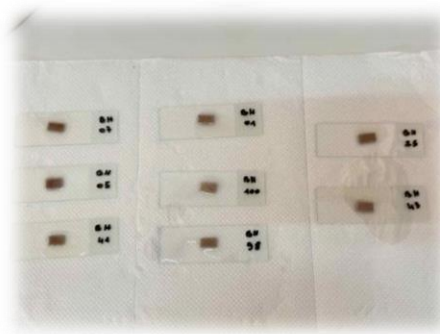
Les bactéries lactiques sont généralement catalase négatives parce qu'elles ne possèdent pas l'enzyme catalase, qui est responsable de la détoxification du peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ). Cette absence d'enzyme est liée à leur mode de vie anaérobie ou à leur tolérance à des conditions anaérobies.



**Figure 13:** Résultat du test catalase

❖ **Test oxydase**

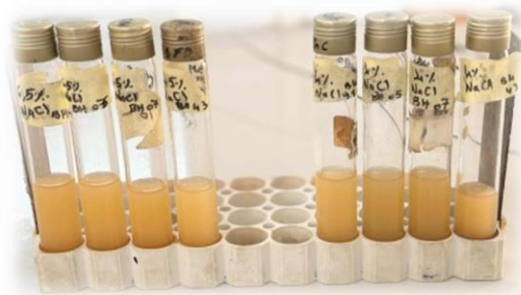
Toutes les souches lactiques sont d'oxydase négative. Les souches lactiques testées restent incolores lors du test oxydase, indiquant l'absence de l'enzyme oxydase (figure 14).



**Figure 14:** Résultat de test oxydase.

❖ **Croissance en milieu hyper salé**

Toutes les souches peuvent se développer dans le bouillon MRS à des concentrations de NaCl (4% et 6.5%) (figure 15).



**Figure15:**Résultat du test de croissance en milieu hyper salé.

### ❖ Croissance à différentes températures

Toutes les souches poussent à 15°C et ne poussent pas à 45°C, ce qui confirme qu'on a des souches mésophiles (figure 16).



**Figure 16:** Résultat du test de croissance à différentes températures.

### ❖ Type fermentaire

Toutes les souches sont homo-fermentaire en raison de l'absence de gaz ( $\text{CO}_2$ ), ces bactéries, en effectuant la fermentation lactique, transforment le sucre en acide lactique sans produire de gaz carbonique ( $\text{CO}_2$ ) comme sous-produit (figure 17).



**Figure 17 :** Résultat de test de type fermentaire.

**Tableau 07 :** Caractéristiques des souches lactiques.

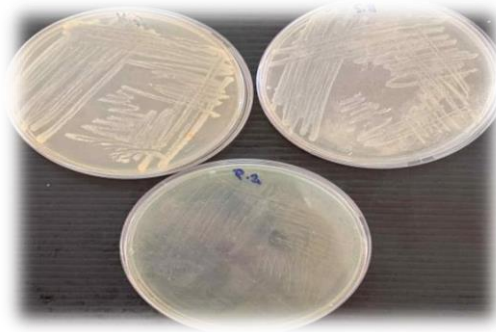
Bactérie	Forme	Gram	Catalase	Oxydase	Tolérance à NaCl 4%	Tolérance à NaCl 6.5%	Croissance à 45°C	Croissance à 15°C	Type fermentaire	Sensibilité aux antibiotiques
BH01	Bacille	+	-	-	+	+	-	+	Homo-fermentaire	Résistante pour tous les antibiotiques
BH05	Bacille	+	-	-	+	+	-	+	Homo-fermentaire	Résistante pour tous les antibiotiques
BH07	Bacille	+	-	-	+	+	-	+	Homo-fermentaire	Résistante pour Am, Amc et L. Sensible pour S.
BH25	Bacille	+	-	-	+	+	-	+	Homo-fermentaire	Résistante pour Am, Amc et L. Sensible pour S.
BH41	Bacille	+	-	-	+	+	-	+	Homo-fermentaire	Résistante pour Am, Amc. Sensible pour S et L.
BH43	Bacille	+	-	-	+	+	-	+	Homo-fermentaire	Résistante pour Am, Amc. Sensible pour S et L.
BH98	Bacille	+	-	-	+	+	-	+	Homo-fermentaire	Résistante pour Am, Amc. Sensible pour S et L.
BH100	Bacille	+	-	-	+	+	-	+	Homo-fermentaire	Résistante pour Am, Amc. Sensible pour S et L.

D'après les tests réalisés, nos résultats confirment qu'on a obtenu des souches de forme bacille, gram positive, homo-fermentaire, de catalase et oxydase négative, elles sont tolérantes à NaCl 4% et 6.5%, capable de se croître à 15 °C, et non en 45 °C cela signifie qu'elles sont mésophiles, la sensibilité aux antibiotiques diffère selon chaque antibiotique. Tous ces résultats signifient que nos souches sont de genre *Lactobacillus*.

### III. Aspects macroscopique des souches pathogènes

-*Pseudomonas aeruginosa* sur milieu de culture peuvent être décrites comme: lisses, bombées, et de taille moyenne à large, avec des bords irréguliers.

-*Staphylococcus aureus* se présente sous forme de colonies rondes, lisses, et brillantes, souvent de couleur jaune doré.

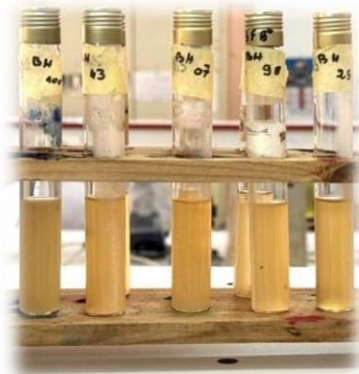


**Figure 18:** Observation macroscopique des souches pathogènes *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853, *Staphylococcus aureus* ATCC25923.

#### IV. Étude de l'activité antibactérienne des souches lactiques

##### IV.1. Préparation de la pré-culture bactérienne

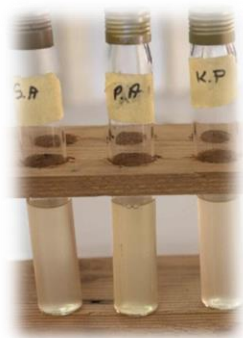
Les tubes troubles indiquent que toutes les souches lactiques se croître en milieu MRS liquide à pH 6.5 (figure 19).



**Figure 19:** Résultat de préparation de la pré-culture bactérienne.

##### IV.2. Préparation de pré-culture de la bactérie (pathogène)

Les bactéries pathogènes *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853, *Staphylococcus aureus* ATCC25923 donnent un trouble sur milieu liquide BN, se qui correspond à la croissance de ces bactéries (figure 20).



**Figure 20:** Résultat de préparation de pré-culture de la bactérie pathogène.

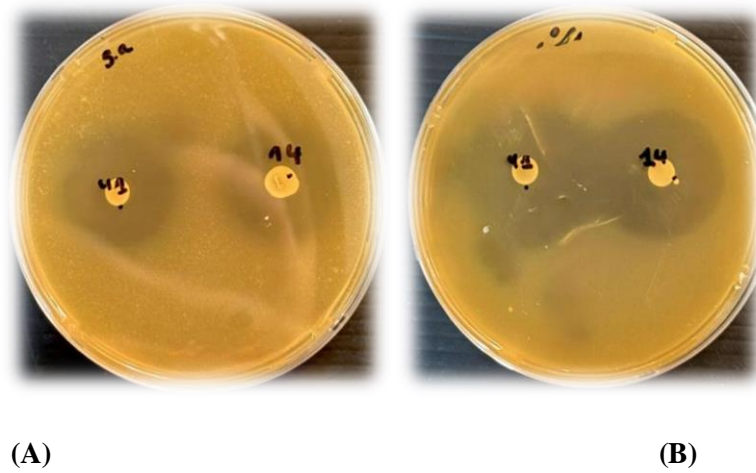
### IV.4.3.Méthode de double couche

La méthode par diffusion sur milieu MRS solide (Fleming *et al.*, 1975) est utilisée pour la détection des inhibitions, les résultats obtenus ont révélés la présence des zones d'inhibitions claires autour des souches avec des bordures bien distinctes et des diamètres différents (entre 12mm et 20mm) (figure 21; tableau 07).

D'après ces résultats, toutes les souches montrent un grand pouvoir inhibiteur envers les souches pathogènes *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853 et *Staphylococcus aureus* ATCC25923, mais chaque souche de *Lactobacillus* ne présente pas le même spectre d'inhibition contre *P.aeruginosa* et *S. aureus* (tableau 07) 15mm pour *S. aureus* et 18mm pour *P.aeruginosa* .

Nos résultats sont similaires à celui de (Belaidouni.N, 2017) qui a trouvé quel'effet inhibiteur contre *Pseudomonas aeruginosa* est plus important que contre la souche pathogène *staphylococcus aureus* et que les bactéries appartenant à l'espèce *Pseudomonas aeruginosa* sont plus sensibles à l'effet inhibiteur des souches lactiques.

Ce qui confirme que nos souches lactiques ont la capacité de produire substance antibactérienne (acide organique, peroxyde d'hydrogène, bactériocine..) inhibiteurs de micro-organismes indésirables (pathogènes).



**Figure 21:** Résultat de l'effet antagoniste par la méthode de double couche.

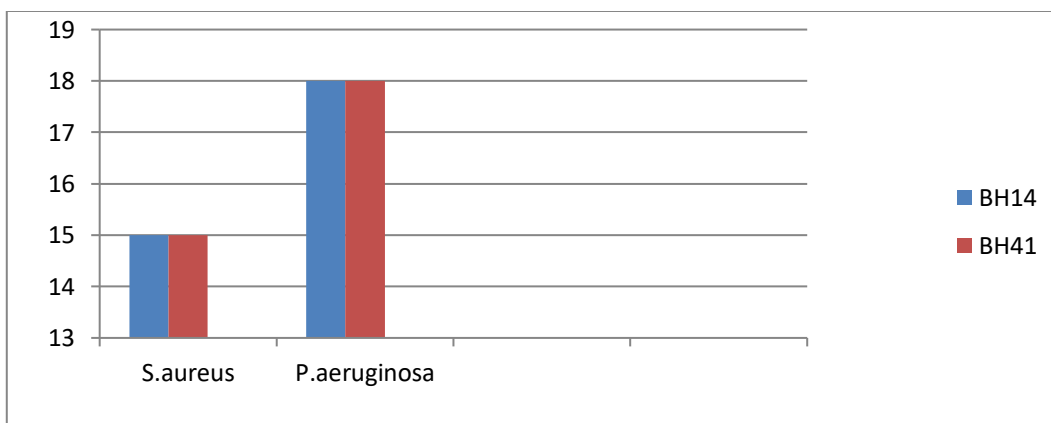
(A) : *Staphylococcus aureus*

(B) : *Pseudomonas aeruginosa*

**Tableau 08:** Les diamètres des zones d'inhibitions des souches lactiques vis-à-vis des souches pathogènes.

Souches lactiques / Souches pathogènes	BH 14	BH41
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923	15mm	18mm
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC27853	15mm	18mm

Diamètre de la zone (mm)



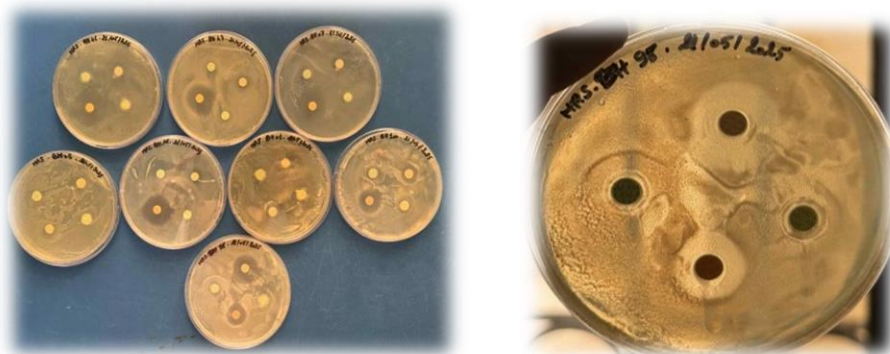
**Figure 22:** Histogramme représente résultat de diamètres de zones d'inhibitions bactéries lactiques vis-à-vis des souches pathogènes.

**IV.5. La détermination des profils de sensibilité aux antibiotiques**

Les souches présentant une zone d'inhibition sont considérées comme sensibles (S  $\geq$ 21 mm), et celles qui ne représentent pas sont résistantes (R  $\leq$ 15mm).

Le (tableau 08) ainsi que la (figure 23) montrent les résultats de la résistance et de la sensibilité des souches lactiques face aux antibiotiques.

- Souche BH01 : Résistante pour tous les antibiotiques.
- Souche BH05 : Résistante pour tous les antibiotiques.
- Souche BH07 : Résistante pour Ampiciline, Amoxiciline et Lincomicine, Sensible pour Spiramycin .
- Souche BH25 : Résistante pour Ampiciline, Amoxiciline et Lincomicine, Sensible pour Spiramycin.
- Souche BH41 : Résistante pour Ampiciline, Amoxiciline et sensible pour spiramycin et Lincomicine.
- Souche BH43 : Résistante pour Ampiciline, Amoxiciline et sensible pour spiramycin et Lincomicine.
- Souche BH98 : Résistante pour Ampiciline, Amoxiciline et sensible pour spiramycin et Lincomicine.
- Souche BH100 : Résistante pour Ampiciline, Amoxiciline et sensible pour spiramycin et Lincomicine.



**Figure 23:** Résultat de la détermination des profils de sensibilité aux antibiotiques.

**Tableau 09:** Tableau de profil antibiorésistance des souches lactiques.

Souche lactique / Anti-biotiques	BH01	BH05	BH07	BH25	BH41	BH43	BH98	BH100
Ampicilline	R	R	R	R	R	R	R	R
Spiramycin	R	R	S	S	S	S	S	S
Amoxicilline	R	R	R	R	R	R	R	R
Lincomicine	R	R	R	R	S	S	S	S

-R : Résistante -S : Sensible.

Dans notre étude, nous nous sommes intéressés à l'étude de la détermination de l'activité antimicrobienne de nos deux souches lactiques vis-à-vis des souches pathogènes à Gram + *Staphylococcus aureus* et à Gram-, *Pseudomonas aeruginosa* par la méthode directe de Fleming (1975) qui permet de détecter tous les types d'interactions.

Mais d'abord, on a procédé à une identification des souches lactiques par différents examens et tests physiologiques et observation macroscopique et microscopique par coloration de gram, les résultats obtenus indiquent que toutes les souches testées sont des bacilles, Gram positifs, homofermentaire, catalase (-), oxydase(-), mésophiles et tolérantes à 4% et 6.5% de NaCl. Les résultats de l'identification phénotypique des bacilles sur milieu MRS appartenant probablement au genre *Lactobacillus* respectivement sont similaires à ceux rapportés par (Mechai, 2009) et (Bergey's manual, 1994).

Nous avons étudié l'antibiogramme de nos souches qui ont donné des zones d'inhibitions différentes par rapport à chaque antibiotique spiramycine, ampiciline, amoxiciline, lincomycine. Nos résultats sont similaires à ceux trouvés par la thèse de (Bouchibane . 2023) qui a signalé que les souches lactiques ont une résistance aux certains antibiotiques avec des zones d'inhibitions variées.

Nous avons essayé de montrer que les bactéries lactiques qui sont utilisées, elles produisent une activité antimicrobienne contre les souches indicatrices testées, selon « Méthodes de double couche » on a obtenu de bons résultats donc nos souches lactiques présentent un effet antibactérien très apparent traduit par l'apparition des halos clairs autour des bactéries lactiques ensemencées dans le milieu MRS solide et que le taux élevé d'inhibition c'est un diamètre 1.8 cm. ce résultat est similaire à celui de (Bellal, 2018).

La souche *Pseudomonas aeruginosa*, s'est révélée la plus sensible à l'effet inhibiteur des bactéries lactiques, similaire à celui de (Belaidouni, 2017).

# **Conclusion**

### Conclusion

Les bactéries lactiques sont des micro-organismes qui ont un effet bénéfique sur la santé en inhibant le développement d'autres micro-organismes indésirables ou pathogènes. Elles ont un rôle important dans l'amélioration de la digestion et le maintien de l'équilibre de la flore intestinale, ainsi elles sont très utilisées en industrie agroalimentaire grâce à leur rôle dans la fermentation et la conservation des aliments par production de plusieurs facteurs inhibiteurs.

Le but principal de cette étude est de mettre en évidence l'activité antagoniste des bactéries lactiques, isolées par (F.Attoura) à partir d'un produit laitier (Lben) vis-à-vis des souches pathogènes *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853 et *Staphylococcus aureus* ATCC25923.

Mais d'abord, on a procédé à une identification des ses souches isolées par différents tests physiologiques et biochimiques, les résultats obtenus indiquent que toutes les souches testées sont des souches lactiques de genre Lactobacilles de Gram positifs, homo-fermentaire, catalase négatif, oxydase négatif.

D'après la méthode de double couche, on a confirmé que les bactéries lactiques qui sont isolées qu'elles produisent une activité antimicrobienne vis à vis les bactéries pathogènes, traduit par l'apparition des zones d'inhibitions claires autour des bactéries lactiques ensemencée dans le milieu MRS solide.

Cette activité est probablement due à la synthèse de substances inhibitrices tels que les acides organiques principalement l'acide lactique, le peroxyde d'hydrogène, le diacétyl et à l'excrétion de bactériocines, connues par leur pouvoir bactéricide ou bactériostatique contre de nombreuses bactéries pathogènes.

## **CONCLUSION**

Pour conclure, notre étude a bien confirmé que les souches lactiques de genre Lactobacille qui sont isolées à partir de lben (de vache) par (F.Attoura) sont capables de l'utiliser pour résoudre le problème de la résistance croissante des bactéries pathogènes à la fois dans le domaine médical ainsi dans l'agroalimentaire, compromet l'efficacité des traitements et la sécurité des aliments.

# **Références bibliographiques**

## Références bibliographiques

- AHMAD F. M. A., IRENE K.P.TAN., 2007. Isolation of lactic acid bacteria from Malaysian foods and assessment of the isolates for industrial potential. *Bioresource Technology.*, 98:1380-1385. Carr, F. J., Chill, D. et Maida, N., 2002: The lactic acid bacteria: a literature survey, *Crit. Rev. Microbiol.*, 28: 281-370 .
- Agata P., 2022 -*Proteus mirabilis* and *Klebsiella pneumoniae* as pathogens capable of causing co-infections and showing similarities in their virulence factors, *Front Cell Infect Microbiol* ; 20(12) sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre Département de biologie, 44p.
- Atlan D., Béal C., Champonier-Vergès M.C., Chapot-Chartier M.P., Chouayekh H., Coccagn Bousquet M., Deghorain M., Gadu P., Gilbert C., Goffin P., Guédon E., Guillouard I., Guzzo J., Juillard V., Ladero V., Lindley N., Lortal S., Loubière P., Maguin E., Monnet C., Monnet V., Rul F., Tourdot-Maréchal R. et Yvon M., 2008. Métabolisme et ingénierie métabolique. In : *Bactéries lactiques de la génétique aux ferments* (Corrieu G. et Luquet F.M.). Tec & Doc, Lavoisier. Paris. 271-447.
- Axelsson Lars, 2004. *Lactic Acid Bacteria: Classification and Physiology In Lactic Acid Bacteria Microbiological and Functional Aspects.* Salminen S., Wright A.v., Ouwehand A. 3e Ed., Marcel Dekker, pp: 1-66.
- BADIS, A., GUETARNI, D., KIHAL, M. et OUZROUT, R., 2005. Caractérisation phénotypique des Bactéries lactiques isolées à partir de lait de chèvre de deux populations locales "Arabia et Kabyle". *Scien & Tech*, 23, PP 30-37.
- 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).
- 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.
- Belaidouni, N. (2017). Interactions des bactéries lactiques vis-à-vis à des bactéries pathogènes, Mémoire de Master , Université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem.
- Bernbom, N., et al. (2012). Antimicrobial and antifungal activity of lactic acid bacteria from processed seafood against foodborne pathogens and spoilage

microorganisms. *International Journal of Food Microbiology*, 160(3), 246-251.

<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2012.10.002>

- Bouchibane ,M., 2023 - « identification des bactéries lactiques isolées des produits laitiers artisanaux : Aptitudes technologiques et essais de fabrication d'un lait fermenté » ,thèse » de doctorat , Université Mostaganem .,200p
- Bellal,i. (2018), L'activité antimicrobienne des bactéries lactiques isolées à partir du lait de chamelle vis-à-vis les souches pathogènes , mémoire de master, université abdelhamid Ibn badis
- Carr, F. J., Chill, D. et Maida, N., 2002: The lactic acid bacteria: a literature survey. *Crit. Rev.Microbiol*, 28: 281-370
- Corrieu, G., et Luquet, F. M. (2008). Bactéries lactiques. Tec et doc. *Chemical and pharmaceutical bulletin* ,44(12) ,2263-2267.
- DE VUYST L. ET VANDAMME E. J. (1994). A bacterial potential of lactic acid bacteria. Dans: *Bacteriocin of lactic acid bacteria*. Ed. Blacki Academic & Profitionel, Londre.
- DELARRAS C,2014. *Pratique en microbiologie de laboratoire : Recherche de bactéries et de levures-moisissures*. 1ère édition. LAVOISIER paris. France. Editions. LAVOISIER p23-28
- Dortu, C. et Thonart, P. (2009). Les bactériocines des bactéries lactiques : caractéristiques et intérêt pour la bioconservation des produits alimentaires. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.*, 13: 143-154.
- EUZÉBY, J.P., (1997). List of Bacterial Names with Standing in Nomenclature. *International Journal of Systematic Bacteriology* 7: 590-592 HAMMES W.P. ET HERTEL C. (2009). Genus I. *Lactobacillus*. Dans: *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*
- FRENEY, J., RENAUD, F., HANSEN, W., BOLLET, C., 2000. *Précis de Bactériologie clinique*. Ed. Eska (Paris), 1692 p.
- Foulquié-Moreno M.R., Sarantinopoulos P., Tsakalidou E. and De Vuyst L., 2006 - The role and application of enterococci in food and health. *International Journal of Food Microbiology*, 106: 1-24.

- Furet, J. P., Quénéée, 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.
- Federighi M. (2005). *Bactériologie Alimentaire*, Edition ECONMICA, 2eme édition, p 28
- FAO/WHO. (2006). *Probiotics in food: Health and nutritional properties and guidelines for evaluation*. FAO Food and Nutrition Paper 85.
- Giraffa, G., Chanishvili, N., & Widyastuti, Y. (2010). Importance of lactobacilli in food and feed biotechnology. *Research in Microbiology*, 161(6), 480-487.  
<https://doi.org/10.1016/j.resmic.2010.03.001>
- Guiraud JP ., Rosec M. (2004). *Pratique des normes en microbiologie alimentaire*, édition AFNOR, France, p 93, 129.
- Guillaume P.Y.(2004).*La microbiologie : les tests enzymatiques, antibiotiques et immunologiques*, (en ligne).Lyon, France. Disponible sur :  
[http://www2.ac-lyon.fr/enseigne/biotech/microbio/tests\\_microbiologie2.htm](http://www2.ac-lyon.fr/enseigne/biotech/microbio/tests_microbiologie2.htm).
- Isaac Budjulobo., 2009 *Analyse bactériologie des saucissons vendus dans les alimentations de la ville de Kisangani*.
- Joseph- Pierre Guiraud, 2003.*microorganisme intervenant dans l'industrie alimentaire, micobiologie alimentaires application à l'étude des principaux groupes microbiens*. l Fds 91-294.
- Jagadeesh, K. S. (2015). Lactic acid bacteria as a source of functional ingredients. *South Indian Journal of Biological Sciences*, 1(2), 70-71.
- Kandler et N. Weis ; (1986): *Reguiar-non spring-Gram positive rods-in : bergey's manual of systematic bacteriology 2 : 1208-1260*
- 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.
- Laurent, S. (1998). *Manuel de bactériologie alimentaire*. Poly technica Paris. 307 pages
- Larpent J.P. *Microbiologie alimentaire*. Lavoisier – Tec & Doc. Paris. 1997, 1072.

- 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., BouixMrielle, De Roissart H., 1991. La flore lactique In Techniques d'analyse et de contrôle dans les industries agroalimentaire. Bourgeois C.M., Leveau J- Y. Tec & Doc, Lavoisier, pp: 152-186.
- Mkrtchyan, H., Gibbons, S., Heidelberger, S., Zloh, M., Limaki, H.K. (2010). purification, characterization and identification of acidocin LCHV, an antimicrobial peptide produced by *Lactobacillus acidophilus* n.v. Er 317/402 strain narine. *Int.J. Antimicrobial Agents.*, 35: 255-260.
- Mozzi, F., et Vignolo, G. M. (2010). *Biotechnology of lactic acid bacteria: novel applications (1stEd)*. John Wiley et Sons.
- Mungkalasiri ,J.,( 2009) : Élaboration par dli-mocvd de dépôts nano composites tio2-m (m= ag, Cu) et propriétés antibactériennes de ces surfaces solides. Doctorat de l'université de Toulouse .p :14.
- Madigan M ., Martinko J. (2007). *Biologie des microorganismes*, édition Pearson Education, France, 11édition, p1019.
- Mechai A. (2009). Isolement, caractérisation et purification de bactériocines produites par des bactéries lactiques autochtones: études physiologiques et biochimiques, Thèse : Faculté des sciences, Université Badji-Mokhtar- Annaba, Algérie, p 05, 12, 13, 92-95
- 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).
- 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.
- 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.

- Ouwehand, A. C., Salminen, S., & Isolauri, E. (2002). Probiotics: An overview of beneficial effects. *Antonie van Leeuwenhoek*, 82(1-4), 279-289.  
<https://doi.org/10.1023/A:1020620607611>
- 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.
- 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.
- Prenom ,P., (2001) : Antibioresistance des souches bactériennes d'origine esquine : étude bibliographique et exemple de l'hôpital vétérinaire de st-hyacinthe .Université de Toulouse.p:73.
- Rebecca M., Michel B., (2018) – Colonisation , infection et genome accessoire de *Klebsiella pneumonia* , *Front Cell Infect Microbiol*, 22;8:4.
- Rossignol, G., (2007) : Contribution à l'étude de facteurs de virulence d'une souche hospitalière de *Pseudomonas fluorescens* : Activité hémolytique et variation phénotypique.Thèse pour l'obtention du grade de docteur de l'université de Rouen .p :4-7.
- Raimbault M. (1995). Importance des bactéries lactiques dans les fermentations du manioc, *Transformation Alimentaire du Manioc*. T. Agbor Egbe, A. Brauman, D. Griffon, S. Trèche (éd) O 1995, éditions ORSTOM.
- Sidhu, P. K., et Nehra, K. (2019). Bacteriocin-nanoconjugates as emerging compounds for enhancing antimicrobial activity of bacteriocins. *Journal of King Saud UniversityScience*, 31(4), 758-767.
- 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.
- Thierry L ., (2019) – *Klebsiella pneumoniae* , la bactérie qui résiste à tout.
- Teuber, M. (2015). *Lactococcus*. *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria*, 1-21.
- **Uehara, S., Monden, K., Nomoto, K., Seno, Y., Kariyama, R., Kumon, H. (2006).**A pilot study UMR de Génie et Microbiologie des Procédés Alimentaires INRA, INA.16. Université PARIS V.

- 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.
- 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.
- Yateem, A., Balba, M. T., Al-Surrayai, T., Al-Mutairi, B., Al-Daher, R. (2008). Isolation of lactic acid bacteria with probiotic potential from camel milk. *Int. J. Dairy Sci.*, 3: 194-199.
- Zhitnitsky, D., Rose, J., et Lewinson, O. (2017). The highly synergistic, broad spectrum, antibacterial activity of organic acids and transition metals. *Scientific reports*, 7(1), 1-13.

# **Annexes**

**Annexe :** Composition des milieux de cultures (Formule en g/l d'eau distillée)

**Milieu MRS (de Man Rogosa et Sharpe, 1960)**

- Extrait de levure..... 5g
  - Extrait de viande..... 5g
  - Peptone..... 10 g
  - Acétate de sodium..... 5g
  - Citrate de sodium .....2g
  - Glucose .....20g
  - KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> .....2g
  - MgSO<sub>4</sub> .....0.1g
  - MnSO<sub>4</sub> ..... 0.05 g
  - Agar .....12g
  - Tween80 .....1 ml
  - Eau distillée .....1000 ml
- pH=6.5 Autoclavage : 121°C pendant 15 minutes..

**Bouillon MRS (de Man Rogosa et Sharpe, 1960) ( Milieu MRS solide sans Agar ).**

**Milieu Mueller-Hinton semi solide (Mueller et Hinton, 1941)**

- Infusion de viande de boeuf .....3000 cm<sup>3</sup>
  - Peptone de caséine .....17,5 g
  - Amidon de maïs .....1,5 g
  - Agar-agar .....8,5 g
- pH 7.4 Autoclavage 121°C pendant 15 minutes

**Bouillon nutritif**

- Extrait de viande .....1 g
  - Extrait de levure .....2 g
  - Peptone .....5 g
  - Chlorure de sodium .....5 g
  - Eau distillée .....1000 ml
- pH 6,8 Autoclavage 121 °C pendant 15 minutes

**Eau physiologique**

- NaCl .....9g
  - Eau distillé.....1000ml
- pH 7,4 Autoclavage 121 °C pendant 15 minutes.

**Kit de coloration de gram**

- Violet de gentiane
- Lugol
- Fuschine
- Alcool

**Appareillages**

Incubateur, autoclave, plaque chauffante agitante, bain marie, microscope optique, micropipettes, pipettes pasteur, anse de platine, pince, pH mètre, vortex, balance électrique.

**Produits chimiques**

Kit de coloration de gram, NaCl, NaOH, l'eau oxygéné.

**Milieux de culture**

Gélose MRS à pH 6.5, bouillon MRS à pH 6.5, bouillon nutritif à pH 6.8, MH semi solide à pH 7.4.

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة عبد الحميد بن باديس-مستغانم-  
كلية علوم الطبيعة والحياة

تصريح شرفي خاص بالالتزام بقواعد النزاهة العلمية  
لإنجاز البحث

أنا الممضي أدناه،  
الطالب(ة): بلعربي فتيحة رقم التسجيل الجامعي: 202037029742  
الحامل لبطاقة التعريف الوطنية رقم: 118098629 والصادرة بتاريخ: 2020.07.07  
عن مستغانم  
المسجل ب كلية علوم الطبيعة والحياة / قسم : البيولوجيا  
شعبة : Sciences biologiques / التخصص: Microbiologie fondamentale  
والمكلف بإنجاز مذكرة ماستر بعنوان:  
Etude de l'activité antibactérienne des bactéries l'actique vis-à-vis des  
bactéries pathogènes

أصرح بشرفي أنني ألتزم بمراعاة المعايير العلمية والمنهجية ومعايير الأخلاقيات  
العلمية والنزاهة الأكاديمية المطلوبة في إنجاز البحث ، وأتحمل المسؤولية الشخصية  
عن كل المحتوى المتضمن في البحث المذكور أعلاه .

التاريخ: 2025.06.03

إمضاء المعني



\* ملحق القرار الوزاري رقم 933 المؤرخ في 28 جويلية 2016 الذي يحدد القواعد المتعلقة بالوقاية من السرقة العلمية ومكافحتها.

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة عبد الحميد بن باديس-مستغانم-  
كلية علوم الطبيعة والحياة

تصريح شرفي خاص بالالتزام بقواعد النزاهة العلمية  
لإنجاز البحث

أنا الممضي أدناه،

الطالب(ة): بن منصور سمرة رقم التسجيل الجامعي: 202037028391  
الحامل لبطاقة التعريف الوطنية رقم: 413440894 والصادرة بتاريخ: 2024.11.16  
عن مستغانم

المسجل ب كلية علوم الطبيعة والحياة / قسم : البيولوجيا

شعبة : Sciences biologiques / التخصص: Microbiologie fondamentale  
والمكلف بإنجاز مذكرة ماستر بعنوان:

Etude de l'activité antibactérienne des bactéries l'actique vis-à-vis des  
bactéries pathogènes

أصرح بشرفي أنني ألتزم بمراعاة المعايير العلمية والمنهجية ومعايير الأخلاقيات  
العلمية والنزاهة الأكاديمية المطلوبة في إنجاز البحث ، وأتحمل المسؤولية الشخصية  
عن كل المحتوى المتضمن في البحث المذكور أعلاه .

التاريخ: 2025.06.03

إمضاء المعني

\* ملحق القرار الوزاري رقم 933 المؤرخ في 28 جويلية 2016 الذي يحدد القواعد المتطقة بالوقاية من السرقة العلمية ومكافحتها.