



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



Université Abbès Laghrour Khenchela
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Moléculaire et Cellulaire

MEMOIRE

Présenté pour l'obtention du diplôme de **MASTER ACADEMIQUE**

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences biologiques

Option : Microbiologie appliquée

Thème

*Isolement des souches de bactéries
lactiques et étude de leur activité
antibactérienne*

Présenté par

HAMEL Feyrouz, BOUTERAA Kamar, DJAGHROURI Fattouma.

Devant

Jury de soutenance

Présidente : Dr. NAILI Oumaima

MCA. Univ. Abbès Laghrour - Khenchela-

Encadreur : Dr. HANOUN Saida

MCB. Univ. Abbès Laghrour - Khenchela-

Examinatrice : Dr. BENREDJEM Lamia

MCB. Univ. Abbès Laghrour -Khenchela-

Année universitaire : 2022-2023



Remerciements

Avant tout, nous remercions «Allah» le tout puissant, de nous avoir donné le courage, la force, la santé et de nous avoir permis de finaliser ce travail dans de meilleures conditions.

Nous tenons à remercier en premier lieu:

Dr NAÏLI Oumátma pour avoir bien voulu nous faire l'honneur de présider ce travail;

Dr BENREDJEM Lamía pour avoir accepté d'examiner ce travail.

Nous tenons également à exprimer notre profonde gratitude à notre Promotrice:

Dr HANOUN Saída, pour la qualité de son encadrement; nous la remercions infiniment de nous avoir été d'une grande efficacité, par sa disponibilité à tout moment, ses conseils constructifs, ses orientations et ses encouragements durant toute la période de réalisation de ce travail.

Nous adressons aussi nos vifs remerciements à tous nos enseignants qui ont contribué à notre formation tout au long de ces Cinq années.

Notre gratitude et nos remerciements vont également à tous ceux qui ont participé directement ou indirectement à la réalisation de ce travail. Enfin, on adresse nos plus sincères remerciements à nos proches et à nos amis qui nous ont toujours soutenu et encouragé au cours de la réalisation de ce mémoire.





Dédicace

Aux personnes qui m'ont tout donné en retour; aux personnes qui m'ont aidé, encouragé et soutenu dans mes moments les plus difficiles et à qui je suis très reconnaissante.

A la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon cœur, ma vie et mon bonheur ; Maman que j'adore.

A Mon très cher Père. Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours pour toi, et rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon bien être, mon éducation le long de ces années.

Que Dieu ait pitié de toi, mon père

A ma très chère sœur Kanza merci pour ton soutien indéfectible.

A mes frères Rafik et Hawasse

A mes très chères amies et a mon trinôme Kamar et Fattouma

FEYROUZ





Dédicace

Avant tous, c'est grâce à Dieu Allah qui m'a aidé et donné le courage et la volonté pour effectuer ce travail.

Je dédie ce modeste travail à :

Mon père, mon héros et le meilleur papa au monde et ma mère, mon inspiration et la meilleure maman au monde.

Ma chère sœur Amel, mon bras droit et la source de la joie, et aussi à mon petit frère qui m'ont aidé et donné le courage.

Cette petite famille qui est le monde pour moi.

Mon trinôme Feyrouz et Kamar

Je dédie aussi ce mémoire à tous mes collègues de promotion et à mes amis.

FATTOUMA





Dédicace

*A mon Père **Ahmed** et ma très chère Mère **Fadila** que nulle dédicace ne puisse exprimer mes sincères sentiments, pour leur patience illimitée, leur encouragement continu, leur aide, en témoignage de mon profond amour et respect pour leurs grands sacrifices, Que Dieu vous donne santé et longue vie.*

*Pour leur compréhension et leur aide précieuse dans les moments difficiles ; Mes frères **Anis** et **Mahdi**.*

*A Mon cher fiancé **Sofiane** et sa famille que Dieu les garde*

*A ma brillante sœur **Iman**, ma sœur bien-aimée **Nabila** et ma chère sœur **Youssra**.*

*Aux bourgeons familiaux qui ont planté un sourit dans nos cœurs;
Ritadj, Saleh, Asile, Abouda, Zinou, Siradje, Cilia.*

*A toute ma famille et surtout **Mani Zohra** que Dieu prolonge sa vie ; et mes oncles **Ibrahim** et **Madjid**, leurs femmes et leurs enfants et ma gentille tante **Akila**.*

*A mon trinôme **Feyrouze** et **Fattouma**, et a tout mes collègues de la promotion en particulier **Belkis** et ma très chère amie **Ahlem**.*

A tous mes professeurs de départements de Biologie et dans tous les cycles de ma scolarité.

KAMAR



Résumé

L'objectif de ce travail consiste à isoler et d'étudier les caractères morphologiques, physiologiques et biochimiques des souches lactiques isolées de certains végétaux fermentés et d'évaluer leur activité antibactérienne vis-à-vis de certaines souches pathogènes. Pour cela, neuf isolats de bactéries lactiques (7 lactobacilles et 2 coques) ont été obtenus à partir de cinq échantillons de légumes lactofermenté (l'artichaut, le chou-fleur, la carotte, le chou et navet). La caractérisation des isolats a été réalisée par les différents tests phénotypiques préliminaires, physiologiques et biochimiques. Les résultats de l'activité antibactérienne vis-à-vis de 5 souches pathogènes indicatrices (*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 4352 et *Bacillus cereus* ATCC11778) qui a été évaluée par la méthode de diffusion des puits, ont montré un pouvoir antagoniste à l'égard de toutes les souches testées avec une moyenne de diamètre des zones d'inhibition différente d'une souche à l'autre. De ce fait, les bactéries lactiques peuvent constituer une bonne alternative aux produits chimiques à appliquer dans la conservation des aliments.

Mots clés : végétaux fermentés, bactéries lactiques, activité antibactérienne, bactéries pathogènes.

الملخص

الهدف من هذا العمل هو عزل ودراسة الخصائص المورفولوجية والفسولوجية والكيميائية الحيوية لسلاسل حمض اللبن المعزولة من بعض الخضروات المخمرة وتقييم نشاطها المضاد للبكتيريا ضد بعض السلالات المسببة للأمراض. لهذا الغرض، تم الحصول على تسع عزلات من بكتيريا حمض اللاكتيك (7 عصويات و 2 كرويات) من خمس عينات من الخضروات المخمرة ببكتيريا حمض اللبن (خرشوف، قرنبيط، جزر، ملفوف، لفت). تمت دراسة خصائص العزلات من خلال العديد من الاختبارات الأولية (صبغة جرام واختبار الكاتالاز)، الفسيولوجية والكيميائية الحيوية. نتائج النشاط المضاد للبكتيريا ضد السلالات المسببة للأمراض الخمسة (*Pseudomonas aeruginosa* ، *Escherichia coli* ATCC 25922 ، *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ATCC 27853 ، *Bacillus cereus* ATCC11778، *Klebsiella pneumoniae* ATCC 4352) والتي تم تقييمها بواسطة طريقة الانتشار في الآبار. أظهرت ان البكتيريا لديها نشاط مضاد فيما يتعلق بجميع السلالات المختبرة بمتوسط قطر مناطق التثبيط المختلفة من سلالة إلى أخرى. بالتالي يمكن للعزلات المتحصل عليها أن تكون بديلاً جيداً للمنتجات الكيميائية التي يتم استخدامها في حفظ الاغذية.

الكلمات المفتاحية: الخضروات المخمرة، بكتيريا حمض اللبن، النشاط المضاد للبكتيريا، البكتيريا المسببة للأمراض.

Abstract

The aims of this work were to isolate, to study the morphological, physiological and biochemical characteristics of lactic strains isolated from fermented vegetables and to evaluate their antimicrobial activity against pathogenic bacteria. For this purpose, nine isolates of lactic acid bacteria (7 lactobacilli and 2 cocci) were obtained from five samples of fermented vegetables (artichoke, cauliflower, carrot, cabbage and turnip). The characterization of the isolates was carried out using various preliminary phenotypic, physiological and biochemical tests. The results of the antibacterial activity against 5 indicator pathogenic strains (*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 4352 and *Bacillus cereus* ATCC11778) which were retained by the diffusion method wells, showed an antagonistic effect against all the strains tested with the average diameter of the zones of inhibition which is different from one strain to another. Therefore, lactic acid bacteria are a good alternative to chemical products to be applied in food preservation.

Keywords: fermented vegetables, lactic acid bacteria, antimicrobial activity, pathogenic bacteria.

LISTE DES FIGURES

Figure 01:	Arbre phylogénétique schématique non raciné des bactéries lactiques et des genres apparentés.....	4
Figure 02:	Rôle industriel des bactéries lactiques dans la fabrication des yaourts.....	6
Figure 03:	Rôle des bactéries lactiques dans la fabrication des fromages.....	6
Figure 04:	Fermentation homolactique et fermentation hétérolactique.....	13
Figure 05:	Classification universelle des bactériocines.....	16
Figure 06:	Schéma montrant les principaux mécanismes d'action des bactériocines produites par les bactéries à Gram positives.....	18
Figure 07:	Etapes de fabrication de la choucroute.....	23
Figure 08:	Schéma représentant les étapes d'isolement et de caractérisation des bactéries lactiques.....	24
Figure 09:	Les étapes de la recherche de l'activité antimicrobienne.....	30
Figure 10:	Moyenne de diamètre des zones d'inhibition des isolats de BL vis-à-vis d' <i>E.coli</i>	38
Figure 11:	Moyenne de diamètre des zones d'inhibition des isolats de BL vis-à-vis de <i>S.aureus</i>	39
Figure 12:	Moyenne de diamètre des zones d'inhibition des isolats de BL vis-à-vis de <i>Bacillus cereus</i>	40
Figure 13:	Moyenne de diamètre des zones d'inhibition des isolats de BL vis-à-vis <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	41
Figure 14:	Moyenne de diamètre des zones d'inhibition des isolats de BL vis-à-vis <i>K.pneumoniae</i>	42

LISTE DES PHOTOGRAPHIES

Photographie 01:	Légumes contenant un faible taux d'humidité.....	22
Photographie 02	Légumes contenant un fort taux d'humidité.....	22
Photographie 03:	Observation microscopique après coloration de Gram au grossissement x100.....	31
Photographie 04:	La croissance à différentes températures.....	34
Photographie 05:	La croissance à différentes concentrations de NaCl.....	35
Photographie 06:	La croissance à un milieu hyperalcalin.....	35
Photographie 07:	la croissance bactérienne après un traitement thermique pendant 30 minutes à 63,5°C.....	36
Photographie 08:	L'activité antibactérienne des isolats vis-à-vis d ' <i>E.coli</i>	39
Photographie 09:	L'activité antibactérienne des isolats vis-à-vis de <i>S.aureus</i>	40
Photographie 10:	L'activité antibactérienne des isolats vis-à-vis de <i>Bacillus cereus</i>	41
Photographie 11:	L'activité antibactérienne des isolats vis-à-vis de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	42
Photographie 12:	L'activité antibactérienne des isolats vis-à-vis de <i>K.pneumoniae</i>	43

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I:	Bactéries lactiques isolées à partir de légumes.....	8
Tableau II:	métabolites antimicrobiens de faible masse molaire sécrétés par les bactéries lactiques autres que les bactériocines.....	10
Tableau III:	Mécanismes d'action du dioxyde de carbone et de peroxyde d'hydrogène produits par les BL.....	11
Tableau IV:	Classification des bactériocines.....	16
Tableau V:	Caractéristiques morphologiques des BL isolées à partir d'échantillons.....	32
Tableau VI:	Caractéristiques biochimiques et physiologiques des BL isolées à partir d'échantillons.....	37
Tableau VII:	Résultats de l'antagonisme des isolats vis-à-vis des bactéries pathogènes moyennes de diamètres des zones d'inhibition en mm.....	44

LISTE DES ABREVIATIONS

ADN: Acide Désoxyribonucléique

ATP: Adénosine triphosphate

BL: Bactéries lactiques

CO₂: Dioxyde de carbone

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

E: *Enterococcus*

G+ C : Guanine+ Cytosine

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène

Ind: Indol

Lb: *Lactobacillus*

Lc: *Lactococcus*

Leuc : *Leuconostoc*

MRS : Man-Rogosa et Sharp

Nacl : Chlorure de sodium

NaOH: Hydroxyde de sodium

sp: Espèce non précisée

ssp: Sous espèce

Urè: Uréase

V.P: Voges-Proskauer

W: *Weissella*

µg: microgramme

TABLE DES MATIERES

Résumé

Liste des figures

Liste des photographiés

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction..... 01

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

1. Chapitre I : généralités sur les bactéries lactiques

1.1. Définition..... 03

1.2. Caractéristiques des bactéries lactiques..... 03

1.2.1. Caractères génétiques..... 03

1.2.2. Caractéristiques physiologiques et morphologiques..... 03

1.2.3. Caractéristiques biochimiques..... 03

1.3. Taxonomie et classification des bactéries lactiques..... 04

1.4. Application des bactéries lactiques..... 05

1.4.1. Application des bactéries lactiques dans le domaine alimentaire..... 05

1.4.2. Application des bactéries lactiques dans le domaine technologique..... 06

1.4.3. Applications agro-alimentaires des bactéries lactiques..... 07

1.5. Les bactéries lactiques des végétaux 07

2. Chapitre II : Activité antibactérienne des bactéries lactiques

2.1. Propriétés inhibitrices des bactéries lactiques..... 09

2.1.1.	Production des métabolites inhibiteurs.....	09
2.1.1.1.	Peroxyde d'hydrogène.....	10
2.1.1.2.	Dioxyde de carbone.....	10
2.1.1.3.	Diacétyle.....	11
2.1.1.4.	Acides organiques.....	12
2.1.1.5.	Bactériocine.....	13
2.1.1.5.1.	Définition.....	13
2.1.1.5.2.	Classification.....	14
	❖ Classe I : lantibiotiques.....	14
	❖ Bactériocines de classe II.....	14
	❖ Bactériocines de classe III.....	15
	❖ Bactériocines de classe IV.....	15
2.1.1.5.3.	Mode et mécanisme d'action.....	17
2.1.1.5.4.	Applications.....	18
2.1.1.5.5.	Facteurs influençant l'activité des bactériocines.....	19

PARTIE EXPERIMENTALE

1. Matériel et méthodes

1.1.	Echantillons.....	21
1.2.	Les souches pathogènes (indicatrices).....	21
1.3.	Préparation des végétaux lacto-fermentés.....	21
1.4.	Isolement et dénombrement des bactéries lactiques.....	23
1.5.	Purification et sélection des bactéries lactiques.....	26

1.6.	Conservation des bactéries lactiques.....	26
1.6.1.	Conservation à courte durée.....	26
1.6.2.	Conservation à longue durée.....	26
1.7.	Caractérisation des souches isolées.....	26
1.7.1.	Coloration de Gram.....	26
1.7.2.	Test de la catalase.....	27
1.7.3.	Test de croissance à différentes températures (15 et 37°C).....	27
1.7.4.	Test de croissance en présence de 2,5 ; 4 et 6,5 % de Na Cl.....	27
1.7.5.	Test de croissance à un milieu hyperalcalin.....	27
1.7.6.	Test de thermorésistance à 63,5°C pendant 30 minutes.....	28
1.7.7.	Culture sur milieu lait Sherman.....	28
1.7.8.	Urée-Indole.....	28
1.7.9.	Clark et Lubs.....	28
1.8.	La Recherche d'une activité antibactérienne.....	29
1.8.1.	Préparation de standard de turbidité Mc Farland.....	29
1.8.2.	Préparation des surnageants.....	29
1.8.3.	Diffusion en puits.....	29
 2. Résultats et discussion		
2.1.	Isolement des bactéries lactiques.....	31
2.1.1.	Caractères morphologiques et cultureux.....	31
2.1.2.	Caractères biochimiques et physiologiques.....	34
2.2.	Activité antibactérienne.....	38

Conclusion..... 49

Références bibliographiques

INTRODUCTION

Les bactéries lactiques est un groupe hétérogène qui présente un grand intérêt dans l'industrie car elles sont utilisées depuis longtemps dans une variété de fermentations alimentaires à savoir les produits laitiers (yaourt, beurre, fromage, kéfir, Koumis), la viande (salami, saucisses), les légumes (choucroute, cornichons, olives) et le vin. Elles jouent un rôle essentiel dans la conservation des aliments grâce à la production des acides organiques (lactique et acétique) qui contribuent à la saveur, la texture et à l'arôme et qui se traduisent par des caractéristiques organoleptiques uniques et peuvent contribuer aux propriétés nutritionnelles et sensorielles des produits fermentés (**Shareck et al., 2004; Melini et al., 2019; Wang et al., 2021**). De plus, elles sont utilisées dans le domaine médical pour produire des protéines médicalement intéressantes comme la toxine tétanique, l'insuline ou la leptine (**Li et Han, 2018**). La fermentation lactique des produits végétaux est pratiquée par l'homme, comme le prouve une longue histoire de produits traditionnels répandus dans le monde entier car elle constitue une source très riche en composés biologiquement actifs tels que les vitamines hydrosolubles les minéraux, les fibres alimentaires, les phytostérols, les composés phytochimiques et les minéraux qui ont des effets bénéfiques dans la prévention de certaines maladies et de certains types de cancer et appliquée comme méthode de conservation pour la production de produits finis et semi-finis, est considérée comme une technologie importante et elle est étudiée plus avant en raison de la quantité croissante de matières premières traitées de cette manière (**Gebbers, 2007; Rakin et al., 2007; Buruleanu et al., 2010; Castellone et al., 2021**). De plus, la fermentation confère des effets favorables aux légumes en améliorant les caractéristiques organoleptiques du produit final (goût, couleur, texture, etc.) et les composants anti nutritionnels, en prolongeant la durée de conservation et en augmentant la sécurité des produits finaux. Le processus de fermentation lactique consiste à la conversion des sucres, principalement du glucose, qui produit une acidification à des valeurs de pH inférieures à 4,6 unités. Cette acidification inhibe la croissance de micro-organismes parasites indésirables et pathogènes pouvant générer des risques pour la santé publique (**Bautista-Gallego et al., 2020**). Cette bio-préservation est due essentiellement aux composés antimicrobiens synthétisés par les bactéries lactiques tout au long de la durée de fermentation tels que les acides organiques (acétique, formique et propionique) et principalement l'acide lactique, l'acide acétique, l'éthanol, les composés aromatiques, les bactériocines, les exopolysaccharides et plusieurs d'autres enzymes (**Arrijoja-Bretón et al., 2020; Bellil et al., 2022**).

Dans cette optique, l'objectif de notre étude était d'isoler de nouvelles souches de bactéries lactiques à partir de différents végétaux lacto-fermentés et d'étudier leur activité antibactérienne vis-à-vis de certaines souches pathogènes (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* et *Bacillus cereus*).

Synthèse
Bibliographique

Généralités sur les bactéries lactiques

1. Chapitre 01 : généralités sur les bactéries lactiques

1.1. Définition

Les bactéries lactiques (BL) est un groupe hétérogène d'organismes procaryotes qui utilisent les glucides pendant la fermentation pour produire de l'acide lactique comme l'un des principaux produits de fermentation (Miranda et al., 2021). Elles sont des bactéries à Gram-positif, de forme sphérique ou des bacilles, non sporulées, non respiratoires, mais tolérantes à l'oxygène. La plupart des BL sont non mobiles, peuvent se développer à des concentrations élevées de sel et à un pH bas (Ayivi et al., 2020 ; Miranda et al., 2021). Elles sont largement distribuées dans les habitats riches en nutriments associés à la nourriture, aux plantes, au sol, aux animaux et aux hôtes humain (De Filippis et al., 2020).

1.2. Caractéristiques des bactéries lactiques

1.2.1. Caractères génétiques

Leurs génomes contiennent un chromosome dans la gamme de taille de 1,8 à 3,4 Mbp. Les plasmides sont courants chez *Lactococcus lactis* (la plupart des souches portent 4 à 7 plasmides différents), certains lactobacilles et pédiocoques, mais ils ne sont pas fréquemment présents chez *S. thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii subsp bulgaricus* ou les lactobacilles intestinaux (Davidson et al., 1996).

1.2.2. Caractéristiques physiologiques et morphologiques

Elles ont une morphologie et physiologie très hétérogènes, leurs cellules sont soit des arachides : *Streptococcus* ; *Lactococcus* ; *Enterococcus* ; *Leuconostoc* ; *Pediococcus*, ou des bacilles : *Lactobacillus* (Leveau et al., 1993). Elles sont des microorganismes immobiles, non sporulés, ne possèdent pas de catalase (certaines possèdent une pseudo-catalase) (Diop et al., 2010).

1.2.3. Caractéristiques biochimiques

Leur type respiratoire est micro aérophile ou anaérobie facultatif, elles sont en mesure de fermentation en anaérobiose comme en aérobie en produisant de l'acide lactique car elles sont exemptes de cytochrome, elles possèdent des caractéristiques technologiques dont les gènes se trouvent sur les plasmides et devenir instable en raison de la perte du dernier, elles

sont aussi tolérantes à l'acidité, réduction négative du nitrate, catalase négative et oxydase négative (Eck et Gillis, 1997).

1.3. Taxonomie et classification des bactéries lactiques

Orla-Jensen a établi la première classification des bactéries lactiques en 1919. Cette classification est fondée sur les caractéristiques observables telles que les propriétés morphologiques, biochimiques et physiologiques. D'autres critères tels que la composition en G+C de l'ADN, la composition en acides gras de la membrane cellulaire et la mobilité électrophorétique du lactate déshydrogénase peuvent également être étudiés pour identifier les espèces lactiques. Récemment, l'approche moléculaire de la taxonomie, en particulier l'hybridation ADN-ADN et le séquençage du gène de l'ARNr 16S, ont permis d'affiner cette classification. Elles peuvent également être classées à l'aide de marqueurs de classification chimique tels que la composition en acides gras et la composition de la paroi cellulaire (König et Fröhlich, 2017). Les bactéries lactiques contiennent les genres suivants: *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Enterococcus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc*, *Streptococcus*, *Aerococcus*, *Carnobacterium*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus*, *Oenococcus* et *Weissella* (figure 01).

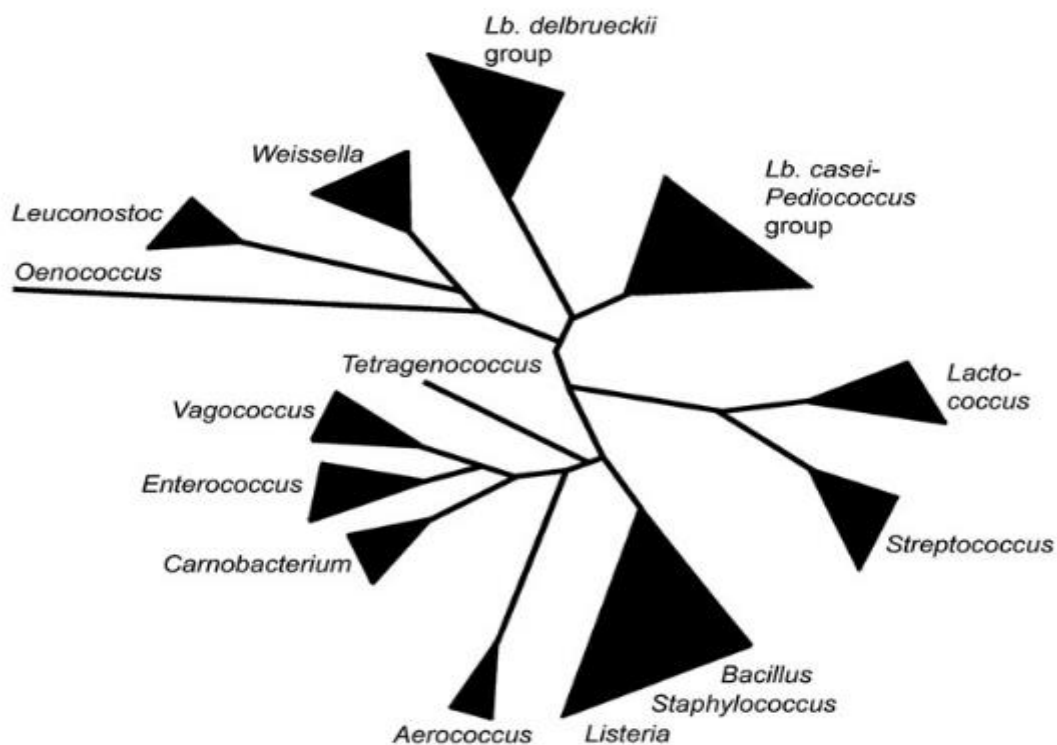


Figure 01: Arbre phylogénétique schématisé non raciné des bactéries lactiques et des genres apparentés (König et al., 2009).

1.4. Application des bactéries lactiques

Selon (Li et Han, 2018) le groupe des BL comprend environ 20 genres différents, ceux qui sont importants pour les applications techniques dans l'industrie alimentaire comprennent *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus* et *Pediococcus*. Les BL jouent un rôle essentiel dans la conservation des aliments et contribuent à leurs propriétés nutritionnelles, sensorielles et sanitaires.

1.4.1. Application des bactéries lactiques dans le domaine alimentaire

Les bactéries lactiques sont utilisées empiriquement depuis des siècles dans la fabrication de nombreux aliments fermentés comme les produits laitiers (yaourts et fromages) (**figure 02 et figure 03**), par exemple la fabrication du fromage est basée sur l'application des bactéries lactiques qui participent à l'acidification rapide du lait par la production de l'acide lactique avec la diminution conséquente du pH, affectant ainsi un certain nombre d'aspects du processus de la fabrication du fromage et finalement la composition et la qualité du fromage, ces bactéries interviennent également dans la fabrication des salaisons, du vin et des ensilages (**Dridier et Hervé, 2009 ; Dortu et Thonart, 2009**).

Les souches utilisées dans l'industrie alimentaire doivent répondre à un certain nombre d'exigences, notamment l'absence de pathogénicité ou d'activité toxique, la capacité à améliorer les caractéristiques organoleptiques, la dominance, la facilité de culture et de conservation et le maintien des propriétés souhaitables pendant le stockage (**Marth et Steele., 2001**). Selon **Bangar et al. (2021)**, ces bactéries produisent également un certain nombre d'enzymes industrielles essentielles, notamment la glycosylase, les peptidases, les amylases et les vitamines comme le folate, la B12, la K2, la riboflavine et la thiamine.

L'application des bactéries lactiques tout en contrôlant simultanément les variables qui influencent la croissance fongique peut aider à réduire la détérioration des aliments car elles sont fréquemment utilisées en conjonction avec de la levure pour fermenter des produits céréaliers comme la pâte (**Bangar et al., 2021**).

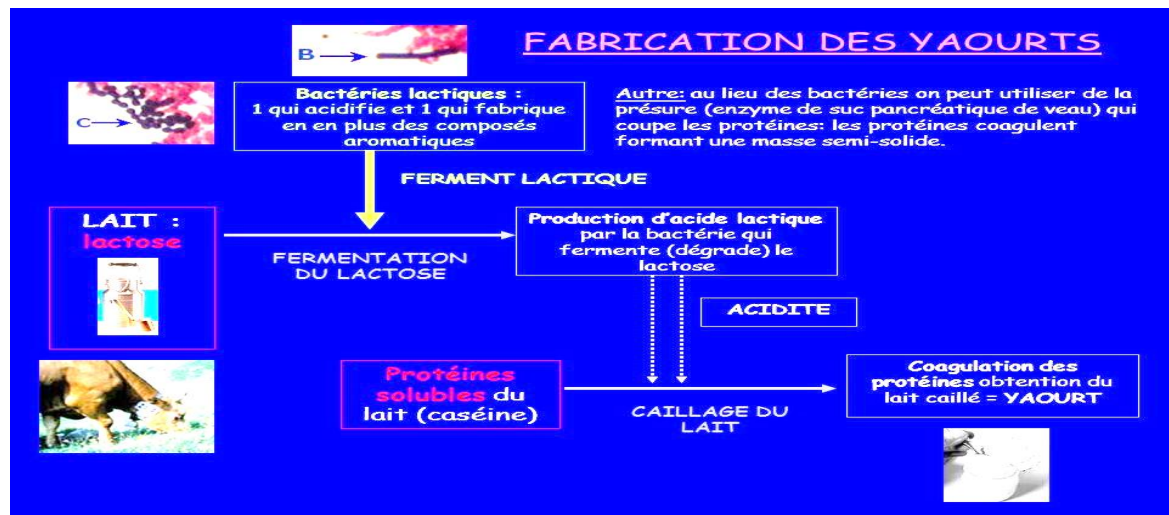


Figure 02: Rôle industriel des bactéries lactiques dans la fabrication des yaourts (Bangar et al., 2021)



Figure 03: Rôle des bactéries lactiques dans la fabrication des fromages (Bangar et al., 2021).

1.4.2. Application des bactéries lactiques dans le domaine technologique

La production d'acide lactique est une des principales fonctions des bactéries lactiques en technologie laitière, car cet acide organique permet de concentrer et de conserver la matière sèche du lait, en intervenant comme coagulant et antimicrobien. Le métabolisme est du type homo-fermentaire, il peut être également utilisé pour produire du bioplastique. Les bactéries lactiques peuvent être également utilisées pour produire du biocarburant à partir de matières premières telles que le lactose et les déchets agricoles (John et al., 2011; Benameur et al., 2013).

1.4.3. Applications agro-alimentaires des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques sont présentes dans les phytomicrobiomes de plusieurs espèces végétales et peuvent exercer des activités de biocontrôle telles que la production d'espèces réactives de l'oxygène, les bactériocines, la colonisation compétitive et l'altération de la réponse immunitaire des plantes (Gajbhiye et Kapadnis, 2016; Konappa et al., 2016; Lamont et al., 2017). Leur présence dans le phytomicrobiome influence les processus et les goûts de la fermentation au levain de la farine de blé dur et du lait dérivé de vaches nourries à l'ensilage (Kalac, 2011; Minervini et al., 2015). Une meilleure compréhension de la dynamique du phytomicrobiome dans la transformation des matières premières et des aliments pourrait guider de nouvelles applications ou techno-fonctionnalités dans l'industrie alimentaire. Dans l'ensemble, l'agro-industrie est un champ d'application prometteur des bactéries lactiques et, alors que l'utilisation d'OGM dans l'agriculture biologique est actuellement hors de question (Börner et al., 2019).

1.5. Les bactéries lactiques des végétaux

La fermentation lactique est utilisée non seulement pour conserver les produits laitiers, mais aussi pour conserver toutes sortes de légumes: choux, betteraves, carottes, haricots, oignons, etc. Les BL représentent souvent la microflore indigène des légumineuses. Par conséquent, dans la production de légumineuses fermentées, la fermentation est induite non seulement par inoculation de la matière première avec les bactéries lactiques, mais également par fermentation spontanée. L'utilisation des BL induit des changements dans les propriétés organoleptiques, fonctionnelles et technologiques des légumineuses (Cichońska et Ziarno, 2022). La fermentation lactique des végétaux est spontanée lorsque les conditions de salage et de température sont adéquates, et elle se caractérise par l'évolution des populations des différentes espèces bactériennes. Parmi les bactéries lactiques qui s'y retrouvent, *Leuconostoc mesenteroides* initie la fermentation alors que *Lactobacillus plantarum* la termine généralement (Savard, 2000).

La fermentation se déroule ensuite en trois étapes :

- ❖ Pré-fermentation, qui dure 2-3 jours, au cours desquels divers micro-organismes se développent, provoquant la pourriture et le ramollissement des légumes.
- ❖ La fermentation, qui commence lorsque les bactéries lactiques prennent le dessus sur d'autres microbes.

- ❖ La conservation lorsque le pH descend en dessous de 4. Les micro-organismes indésirables ne peuvent plus se développer et de nouveaux arômes sont libérés (**Burillard et al., 2015**). Le tableau ci-dessous (**Tableau I**) répertorie les différentes souches de bactéries lactiques isolées à partir de différentes sortes de légumes.

Tableau I: Bactéries lactiques isolées à partir de légumes.

Types de légume	Bactéries lactiques impliquées	Référence
Olives de table	<i>Weissella</i> , <i>Leuconostoc</i> et <i>Pediococcus</i> <i>L.pentosus</i> , <i>L.plantarum</i> , <i>L.paraplantarum</i> , <i>L.parafarraginis</i> , <i>Pediococcus sp.</i> , <i>Lc.mésentéroïdes</i>	(Bautista-Gallego et al., 2020)
Chou (choucroute)	<i>L. plantarum</i> , <i>L.pentosus</i> , <i>Lc.mesenteroides</i> , <i>L.brevis</i> , <i>L.sakei</i> , <i>L.curvatus</i> , <i>L.Paraplantarum</i> , <i>L.coryniformi</i> , <i>P.pentosaceus</i> , <i>Lc.citreum</i> , <i>Lc.argentine</i> , <i>Weissella sp.</i> , <i>Leuc. mésenteroids</i> , <i>Lb.plantaire</i> , <i>Lb.bref</i> , <i>Lb. Fermentum</i> .	(Bintsis, 2018; Bautista-Gallego et al., 2020)
Carotte	<i>Leuconostac spp.</i> , <i>Lactococcus spp.</i>	(Knez et al., 2023)
Brocoli	<i>W. minor</i> , <i>Leuconostoc mesenteroides</i> , <i>L. plantarum</i> , <i>E. sulfurous</i> .	(Swain et al., 2014)
betteraves	<i>Lacticaseibacillus rhamnosus cek-R1</i> , <i>Lacticaseibacillus paracasei subsp. paracasei cek-R2</i> et <i>Lentilactobacillus otakiensis cek-R3</i> . <i>Lactiplantibacillus</i> : <i>plantarum</i> , <i>pentosus</i> ; <i>Lacticaseibacillus</i> : <i>rhamnosus</i> , <i>paracasei</i> ;	(Knez et al., 2023)
Autres légumes fermentés	<i>E. thailandicus</i> , <i>E. casseliflavus</i> , <i>Lc. lactis</i> , <i>Lc. mesenteroides</i> , <i>W.hellenica</i> , <i>L.pentosus</i> , <i>L. plantarum</i> , <i>L. paraplantarum</i> , <i>L. brevis</i> , <i>L. citrtreum</i> , <i>L. alimentarius</i> , <i>L. paracasei</i> , <i>L. buchneri</i> , <i>P. ethanolidurans</i> .	(Bautista-Gallego et al., 2020)

*L'activité
antibactérienne des
bactéries lactiques*

2. Chapitre 02 : L'activité antibactérienne des bactéries lactiques

2.1. Propriétés inhibitrices des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques produisent de nombreux composés antimicrobiens qui sont utilisés dans la fermentation et la bio-conservation des aliments dans lesquels cette flore se développe. Ils inhibent la croissance de certains micro-organismes grâce à la synthèse de molécules antimicrobiennes telles que les acides organiques, notamment l'acide lactique, le peroxyde d'hydrogène et les bactériocines (**Labioui et al., 2005 ; Jasniwski, 2008**). 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 coliformes (**Julliard et al., 1987**).

2.1.1. Production des métabolites inhibiteurs

Les bactéries lactiques sont connues pour produire des substances qui inhibent la croissance d'autres micro-organismes au cours de leur croissance. Cette fonction est utilisée pour détruire les bactéries nuisibles ou pathogènes dans la fabrication des aliments (**Leveau et al., 1993**). Les bactéries lactiques produisent de nombreux métabolites aux propriétés antibactériennes en plus des bactériocines tels que les acides organiques (lactique, acétique), le diacétyl, le dioxyde de carbone (**Belarbi, 2011 ; Bamidele et al., 2019**) (**Tableau II**).

Tableau II : métabolites antimicrobiens de faible masse molaire sécrétés par les bactéries lactiques autres que les bactériocines (Léonard, 2013).

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

2.1.1.1. Peroxyde d'hydrogène

Les bactéries lactiques typiques non catalase contiennent un noyau hème pour décomposer le peroxyde d'hydrogène en oxygène et en eau. Le peroxyde d'oxygène (H₂O₂) peut s'accumuler et inhiber la croissance microbienne par l'oxydation des lipides membranaires et la consternation des structures des protéines cellulaires (Zalan et al., 2005) (Tableau III). Il bloque l'action de plusieurs enzymes importantes impliquées dans la glycolyse, telles que l'hexokinase.

2.1.1.2. Dioxyde de carbone

Le dioxyde de carbone est principalement produit par les BL hétérofermentaires (Tableau III). Il peut inhiber efficacement la croissance d'une variété de micro-organismes responsables de la détérioration des aliments, en particulier les bactéries psychrophiles à Gram négatif (Ammor et al., 2006).

Tableau III: Mécanismes d'action du dioxyde de carbone et de peroxyde d'hydrogène produits par les BL (Yap *et al.*, 2021).

Substances antimicrobiennes	Source	Mécanismes d'action
CO₂	Un sous-produit de la fermentation des BL hétérofermentaires	<p>-Interagit avec les membranes cellulaires en réduisant le pH interne et externe.</p> <p>-Inhibe la décarboxylation enzymatique par une accumulation de CO₂ en créant un environnement anaérobie qui empêche efficacement la croissance microbienne aérobie en provoquant un dysfonctionnement de la perméabilité et produit de l'acide carbonique.</p>
H₂O₂	Métabolite produit par les BL en présence d'oxygène	<p>-Un agent oxydant puissant qui oxyde les groupements sulfhydryles et détruit l'activité enzymatique bactérienne.</p> <p>-Provoque la peroxydation des lipides membranaires et des protéines cellulaires en augmentant ainsi la perméabilité de la membrane cellulaire ce qui induit à la perte de composants et la mort cellulaire.</p> <p>-Agit comme précurseur des radicaux libres bactériens tels que les radicaux superoxydes (O⁻²) et hydroxyle (OH⁻), qui endommagent l'ADN.</p>

2.1.1.3. Diacétyle

Il est synthétisé par différents genres de bactéries lactiques tels que *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Lactobacillus* et *Pédiocoque*. Le diacétyle (C₄H₆O₂) est l'un des composants aromatiques essentiels du beurre. Il a des propriétés antibactériennes contre les levures, les bactéries gram-négatives et les bactéries gram-positives non lactiques, mais ces dernières y sont moins sensibles (Smaoui, 2010).

2.1.1.4. Acides organiques

L'activité antimicrobienne des BL est associée à la production d'acides organiques, principalement des acides lactique et acétique, mais aussi des acides formique, propionique, butyrique, phényllactique, hydroxy-phényllactique et indole-3-lactique, entre autre. La production d'acides organiques acidifie le milieu, limitant ainsi la croissance de certaines bactéries, dont les bactéries indésirables. Une exposition prolongée à des environnements acides peut tuer de nombreux types de bactéries, y compris les ferments lactiques. Le principal produit du métabolisme des bactéries lactiques est l'acide lactique (**kostinek et al., 2006; Coelho et al., 2022**).

Selon que l'aldolase est utilisée dans le processus de production d'acide lactique, les fermentations lactiques peuvent être divisées en fermentation d'acide homolactique et fermentation d'acide hétérolactique (**figure 04**).

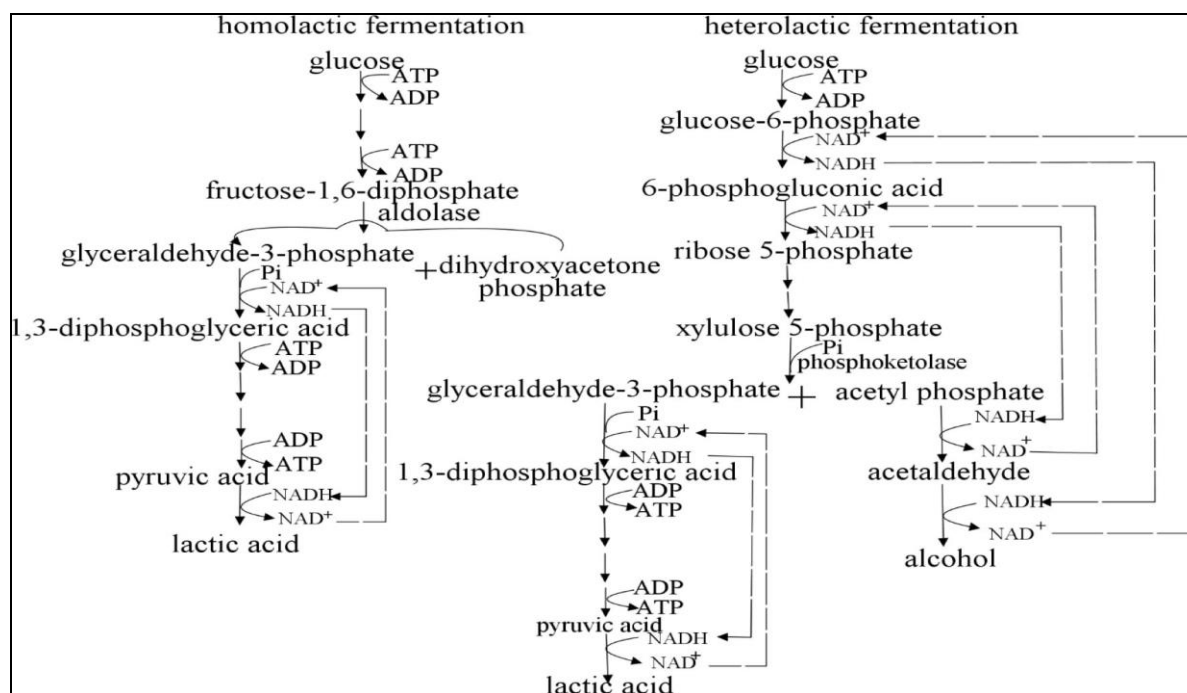


Figure 04: Fermentation homolactique et fermentation hétérolactique. *Lactococcus spp* effectue une fermentation homolactique, tandis que *Lactobacillus* et *Leuconostoc spp* effectuent une fermentation hétérolactique. (1) Dans le processus de fermentation de l'acide lactique pure, les bactéries lactiques utilisent le glucose comme source de carbone pour produire du pyruvate par glycolyse, puis produisent de l'acide lactique sous l'action du lactate déshydrogénase. En théorie, 1 mole de glucose produit 2 moles d'acide lactique. (2) Chez les bactéries lactiques de type fermentation hétérolactique, le glucose peut être décomposé en acide lactique, éthanol, CO₂ (dans *Leuconostoc*, etc.) par la voie de la phosphocétolase (PK). En théorie, 1 mole de glucose produit 1 mole d'acide lactique. (3) Par la voie du pentose phosphate (PP), le glucose 6-phosphate est converti en dioxyde de carbone, ribulose 5-phosphate et NADPH (Wang et al., 2021).

2.1.1.5. Bactériocine

2.1.1.5.1. Définition

Les bactériocines sont un groupe diversifié de peptides antimicrobiens cationiques et hydrophobes composés de 20 à 60 acides aminés (Hernández-González et al., 2021). Différentes définitions de la bactériocine ont été données au fil du temps. Cependant, la définition la plus largement acceptée est celle de Klaenhammer (1993) qui a défini les bactériocines comme des protéines, ou des complexes protéiques, qui ont une activité bactéricide contre des espèces proches de la souche productrice (Dortu et Thonart, 2009). La

majorité des bactériocines produites par les bactéries lactiques ont été caractérisées par la définition initiale d'un inhibiteur protéique, l'estimation de la masse moléculaire (via la rétention dans les membranes de dialyse, l'ultrafiltration, le dimensionnement moléculaire ou la spectrométrie de masse) et la détermination des souches sensibles (**Klaenhammer, 1993**). Les bactéries lactiques produisent des bactériocines qui ont une activité dirigée contre les bactéries Gram+. Aucune bactériocine produite par les bactéries lactiques actives contre les bactéries gram-négatives n'a été décrite car la membrane externe des bactéries gram-négatives ne leur permet pas d'accéder à la membrane interne, où elles sont actives (**Dortu et Thonart, 2009**).

2.1.1.5.2. Classification

Les bactériocines produites par les bactéries lactiques sont réparties en quatre classes (**Klaenhammer, 1993**) (**Figure 05 et Tableau IV**), ces quatre classes sont :

❖ **Classe I : lantibiotiques**

Ce sont des petits peptides hydrophobes de taille inférieure à 5 kDa, en général, les peptides de classe I ont typiquement de 19 à plus de 50 acides aminés. Elles sont caractérisées par leurs acides aminés inhabituels, tels que la lanthionine, la méthyl-lanthionine, la déhydrobutyrine et la déhydroalanine. Elles peuvent être divisées en deux classes : classe Ia, qui incluent la nisine, sont constituées de peptides cationiques et hydrophobes qui forment des pores dans les membranes cibles et ont une structure flexible par rapport à la classe Ib plus rigide. Les bactériocines de classe Ib, qui sont des peptides globulaires, n'ont pas de charge nette ou une charge nette négative (**Cleveland et al., 2001**).

❖ **Bactériocines de classe II**

La classe II constitue un groupe relativement hétérogène de bactériocines de bas poids moléculaire (moins de 10 kDa). Ce sont typiquement des peptides thermostables et non modifiés, ne contenant pas de lanthionine. La maturation des bactériocines de classe II ne nécessite pas d'enzyme de modification post-traductionnelle à l'exception d'une peptidase leader et/ou d'un transporteur (**Pérez-Ramos et al., 2021**). Elles sont caractérisées par la présence d'un site de traitement Gly-Gly dans le précurseur de la bactériocine, la présence d'hélices amphiphiles avec des degrés variables d'hydrophobicité et une stabilité thermique (**Zamaroczy et Chauleau, 2011**). Cette classe est divisée en trois sous-groupes :

- **Sous-classe IIa** : sont des monomères et ont une séquence consensus N-terminale Tyr-Gly-Asn-Gly-Val-Xaa-Cys. Ils sont actifs notamment contre *Listeria monocytogenes* tels que la pédiocine PA-1 et la sakacine A, contiennent entre 27 et 48 acides aminés et ont toutes une partie N-terminale hydrophobe contenant la séquence consensus YGNGV ainsi qu'un pont disulfure et une partie C-terminale moins conservée, hydrophobe ou amphiphile qui détermine la spécificité d'action (**Dortu et Thonart, 2009; Negash et al., 2021**).
- **Sous-classe IIb** : Complexes de prations constitués de deux peptides protéiques pour avoir une activité. Deux types de bactériocines de classe IIb: le type E (Enhancing) où la fonction d'un des deux peptides est d'augmenter l'activité de l'autre et le type S (Synergy) où les deux peptides sont complémentaires (**Dortu et Thonart, 2009; Zamaroczy et Chauleau, 2011**).
- **Sous-classe IIc** : peptides activés par un thiol nécessitant des résidus de cystéine réduits pour leur activité (**Zamaroczy et Chauleau, 2011**).

❖ **Bactériocines de classe III**

Les bactériolysines sont de grandes protéines antimicrobiennes thermolabiles. Ils ont une structure de type domaine, dans laquelle différents domaines ont des fonctions de translocation, de liaison aux récepteurs et d'activité létale. Ils comprennent cinq domaines produits par les bactéries lactiques qui ont été génétiquement caractérisés, dont l'helvéticine J de *Lactobacillus helveticus*, la zoocine A de *Streptococcus zooepidermicus*, l'entérolysine A produite par *Enterococcus faecalis*, la millericine B produite par *Streptococcus milleri* et la linocine M18 produite par une souche de *Brevibacterium*. (**Rea-Mary et al., 2001**).

❖ **Bactériocines de classe IV**

Protéines complexes composées d'une ou de plusieurs fractions chimiques, soit lipidiques, soit glucidiques (**Zamaroczy et Chauleau, 2011**) Ils ont besoin d'une portion de glucides ou de lipides pour fonctionner. Aucune bactériocine de cette classe n'a été décrite (**Dortu et Thonart, 2009**).

Tableau IV : Classification des bactériocines (Hernández-González et al., 2021)

Classe de bactériocine	Sous-classes	Propriétés moléculaires
Classe Lantibiotique	Ia. Lanthipeptides	Les petites bactériocines thermostables (<5 kDa), présentent une modification post-traductionnelle, entraînant la formation d'acides aminés atypiques lanthionine et méthyllanthionine.
	Ib. Bactériocines globulaires et inflexibles	
	Ic. Sactipeptides	
Classe Non lantibiotique	IIa. De type pédiocine	Bactériocines petites et flexibles (<10 kDa), à structure hélicoïdale amphiphile. Ces peptides ne contiennent pas de résidus d'acides aminés modifiés et sont résistants au pH et à la chaleur.
	IIb. Deux peptides	
	IIc. Leader moins	
	IId. Non de type pédiocine Un seul peptide	
Classe III	IIIa. Bactériolysines	Bactériocines de haut poids moléculaire (>30 kDa), peptides thermolabiles et non modifiés.
	IIIb. Non lytique	

(a) Classification de Klaenhammer en 1993

Classe I :	Lantibiotiques
Classe II :	Peptides non modifiés
Sous-classe IIa :	Pseudo-pédiocines
Sous-classe IIb :	Bactériocines à deux composants
Sous-classe IIc :	Bactériocines activées par un thiol
Classe III :	Peptides de haut poids moléculaire thermolabiles
Classe IV :	Bactériocines complexes

(b) Classification de Cotter et Collaborateurs en 2005b

Classe I :	Lantibiotiques
Sous-classes :	11
Classe II :	Non-lantibiotiques
Sous-classe IIa :	Pediocin-like ou anti-listeria
Sous-classe IIb :	Bactériocines à deux composants
Sous-classe IIc :	Bactériocines cycliques (ancienne classe IV)
Sous-classe IId :	Peptides linéaires
Classe III :	Bactériolysines

Classe IIc éliminée. Les classes II, III et IV restaurées dans la classe II

Réarrangement de la classe des lantibiotiques et de la classe II

Classe IV devient les peptides cycliques

Les peptides cycliques transférés dans la classe IV

Classe I :	Lantibiotiques
Sous-classe Ia :	Linéaires
Sous-classe Ib :	Globulaires
Sous-classe Ic :	Multi-composantes
Classe II :	Peptides non-modifiés
Sous-classe IIa :	Pseudo-pédiocines
Sous-classe IIb :	Hétérogènes
Sous-classe IIc :	Multi-composantes
Classe III :	Protéines de haut poids moléculaires
Sous-classe IIIa :	Bactériolytiques
Sous-classe IIIb :	Non-lytiques
Classe IV :	Peptides cycliques

(c) Classification de Heng et Tagg en 2006**Figure 05: Classification universelle des bactériocines (Taale, 2016).**

2.1.1.5.3. Mode et mécanisme d'action

L'étude du mode d'action des bactériocines est limitée principalement aux colicines. Elles se fixent spécifiquement sur des récepteurs de la membrane externe des cellules sensibles et agissent principalement de 2 façons: clivage enzymatique de l'ADN ou de l'ARNr16S, et formation de canaux voltage-dépendants dans la membrane plasmique (**Hechard et al., 1993**). Les bactériocines affectent différentes fonctions essentielles de la cellule vivante (transcription, traduction, réplication et biosynthèse de la paroi cellulaire), mais la plupart d'entre elles agissent en formant des canaux membranaires ou des pores qui détruisent le potentiel énergétique des cellules sensibles (**Oscáriz et al., 2001**). Le mode d'action diffère d'une bactériocine à une autre (**Figure 06**). De plus, le mécanisme d'action de la bactériocine se décompose en trois étapes : lier le peptide à la membrane de la cellule cible; l'introduction de bactériocines dans la membrane cytoplasmique avec le recrutement de plusieurs peptides antimicrobiens pour la formation de pores et, finalement, la formation de pores conduisant à la fuite d'importants composés (**Taale et al., 2016**). Les bactériocines contenant des lantibiotiques et des non-lanthionines semblent affecter la barrière de perméabilité membranaire en formant des canaux ou des pores membranaires remplis d'eau (**Figure 06**). De plus, avant la formation des pores, toutes les bactériocines ne contenant pas de lanthionine semblent interagir avec les protéines réceptrices associées à la membrane, encore une fois en contraste direct avec les bactériocines de type lantibiotiques, qui semblent ne pas avoir une telle exigence (**Jack et al., 1995**). Les lantibiotiques agissent en perturbant la biosynthèse de la paroi cellulaire de leurs bactéries cibles, ou/et en formant un pore dans leurs membranes. Il convient de noter qu'il a été démontré que les lantibiotiques se lient au lipide II et interfèrent avec le transport des sous-unités de peptidoglycane du cytoplasme dans la paroi cellulaire et inhibent par conséquent la formation de la paroi cellulaire. Ils peuvent également utiliser le lipide II comme molécule d'amarrage pour initier la formation de pores et conduire à une mort cellulaire rapide (**Pérez-Ramos et al., 2021**).

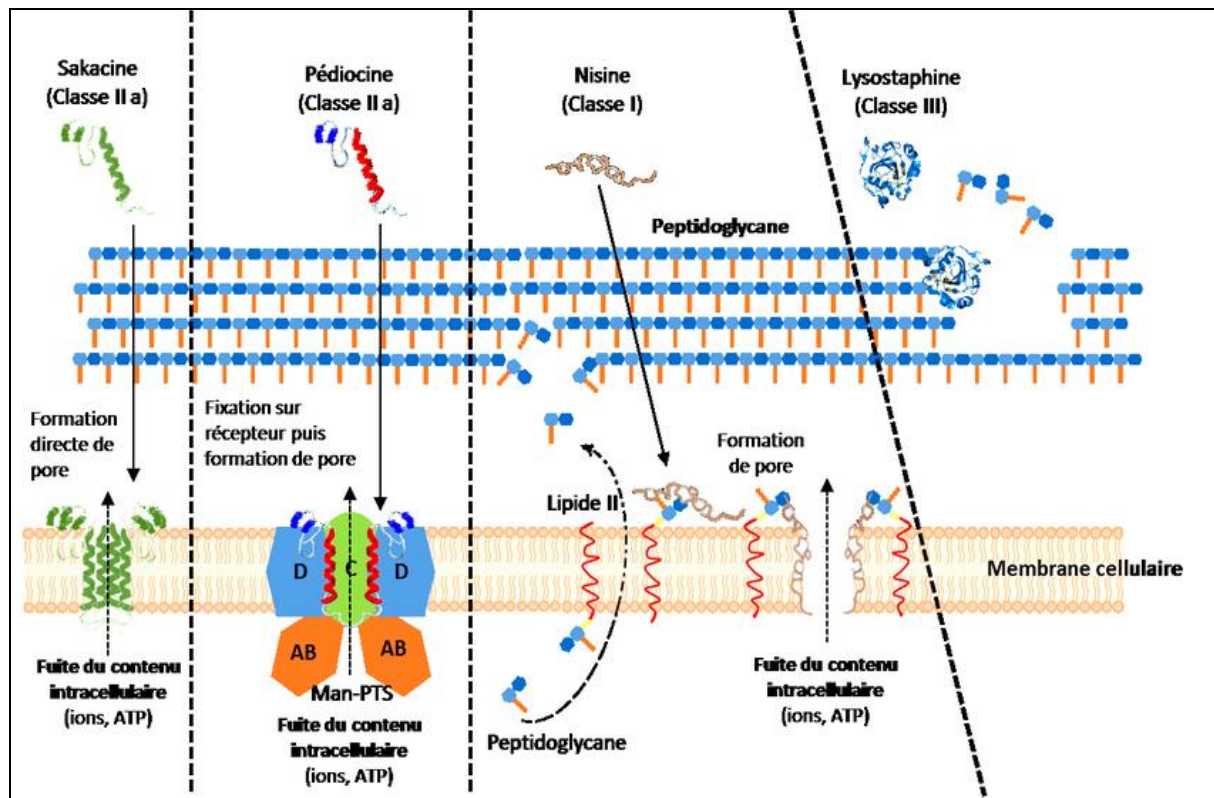


Figure 06: Schéma montrant les principaux mécanismes d'action des bactériocines produites par les bactéries à Gram positives (Fernandez, 2014).

2.1.1.5.4. Applications

Les bactériocines des bactéries lactiques ont des utilisations dans différents domaines

❖ Domaine agricole

La protection des végétaux contre les phytopathogènes ainsi que la préservation des semences sont soumises à l'exploitation des bactériocines en agriculture. Dans ce cas, des agents antibactériens et antifongiques seront combinés pour lutter contre les ravageurs des plantes (Smaoui, 2010).

❖ Domain alimentaire

La bactériocine a été incorporée dans différents aliments en suivant diverses techniques telles que : trempage direct des aliments dans une solution de bactériocine. Les cultures de bactéries lactiques productrices de bactériocines peuvent être utilisées dans des stratégies de technologie d'obstacle pour réduire les maladies d'origine alimentaire (Gautam et Sharma, 2009). Comme alternative à l'ajout de bactériocines aux aliments, les bactériocines peuvent être produites directement dans les aliments à la suite d'une culture

starter ou d'une activité de Co-culture. Plusieurs études ont en effet indiqué que les cultures starter ou Co-cultures BL sont capables de produire leurs bactériocines dans les matrices alimentaires, et par conséquent de présenter une activité inhibitrice vis-à-vis de la détérioration des aliments sensibles ou des bactéries pathogènes. Ce dernier trait a principalement été documenté pour les saucisses fermentées, les légumes et olives fermentés et les produits laitiers (De Vuyst et al., 2007).

❖ Domain médical et de soins personnels

Plusieurs cas d'infections causées par des implants biomédicaux contaminés ont été signalés. La nisine, adsorbée sur des surfaces silanisées, a empêché la croissance de *Listeria monocytogenes*. Dans une étude distincte, les auteurs ont enduit des cathéters intraveineux en téflon FEP de nisine et inséré les dispositifs dans les veines jugulaires de moutons. Dans une expérience similaire, des tubes de trachéotomie en PVC ont été enduits et placés dans les voies respiratoires supérieures de poneys. L'endotrachéale des tubes recouverts de nisine ont empêché la colonisation de *S. aureus*, *S. epidermidis* et *Streptococcus faecalis*. Les auteurs ont cependant conclu que l'activité antimicrobienne de la nisine pouvait être de courte durée *in vivo*, car les cathéters intra vasculaires introduits chez les moutons contrôlaient l'infection bactérienne pendant seulement 5 h (Dicks et al., 2011).

2.1.1.5.5. Facteurs influençant l'activité des bactériocines

Dans le processus d'application alimentaire, la composition du produit est l'un des premiers facteurs qui peuvent réduire ou perdre complètement l'activité des bactériocines en raison de la capacité des bactériocines à s'adsorber aux ingrédients du produit, limitant ainsi la capacité de dissolution et de diffusion, la dégradation par la protéase et l'interaction avec les additifs. Les traitements appliqués aux produits peuvent former des éléments secondaires qui limitent l'activité inhibitrice des bactériocines, en effet un traitement thermique excessif peut dégrader les bactériocines existantes. La température de stockage peut également réduire l'activité de la bactériocine (Galvez et al., 2007). Un autre facteur limitant l'action de la bactériocine est la flore native, principalement sa concentration, la présence de bactéries résistantes, la présence de microorganismes producteurs de protéases qui dégradent la bactériocine et l'état physiologique de cette flore. Des états physiologiques statiques ou stressants ainsi que la formation de spores peuvent entraîner une résistance accrue. De plus, dans les produits solides, les bactéries forment des biofilms plus résistants aux bactériocines (Schöbitz et al., 2003). D'autre part, il est important de considérer les effets des bactériocines

sur la flore alimentaire bénéfique. Si elle est sensible aux bactériocines, son déséquilibre peut conduire au développement de micro-organismes résistants aux bactériocines, provoquant des maladies et/ou des altérations néfastes pour la santé. Ces phénomènes peuvent entraîner :

- Absolument aucune activité antibactérienne,
- Inhiber partiellement les bactéries cibles,
- Une diminution de la concentration initiale des bactéries cibles en dessous de la limite détectable, suivie d'une recroissance lors du stockage, phénomène dit de « rebond»,
- Effets inacceptables sur l'état de santé et/ou la qualité sensorielle (**Bouttefroy et al., 2000; Vignolo et al., 2000; Schöbitz et al., 2003; Kouakou et al., 2008**).

Partie expérimentale

Matériel et méthodes

1. Matériel et méthodes

Cette étude a été réalisée dans le laboratoire de microbiologie à Campus el Hamma de l'université Abbès Laghrour, Khenchela, durant la période Février--Avril de l'année universitaire 2022/2023. L'objectif de ce travail est d'évaluer l'activité antibactérienne de souches de bactéries lactiques isolées à partir de végétaux fermentés vis-à-vis des bactéries pathogènes.

1.1. Echantillons

Les légumes lacto-fermentés (l'artichaut, chou-fleur, carotte, chou, navet) retenus dans le cadre de cette étude ont été récoltés de la wilaya de Khenchela.

1.2. Les souches pathogènes (indicatrices)

Pour la mise en évidence l'activité antibactérienne des souches lactiques, cinq (05) bactéries indicatrices de références ont été utilisées : *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 4352 et *Bacillus cereus* ATCC11778. Ces souches nous ont été fournies par le centre de biotechnologie de Constantine. Elles ont été purifiées et conservées sur gélose nutritive inclinée à +4°C. Avant leur utilisation dans les tests d'antagonisme, elles sont activées par transfert sur bouillon nutritif et incubées 16 à 18 heures à 37 °C.

1.3. Préparation des végétaux lacto-fermentés

- ❖ Choisir un bocal en verre propre et hermétique.
- ❖ Couper les légumes en tranches très fines : l'artichaut, chou-fleur, carotte, chou, navet.
- ❖ Mélanger 1L d'eau avec 30 g de sel naturel qui permet de dégorger les légumes pour avoir une saumure naturelle riche en nutriments qui vont nourrir les bactéries. Verser la saumure dans le bocal qui contient les légumes à faible concentration de l'eau (l'artichaut, chou-fleur) séparément. Recouvrir les légumes jusqu'à ce que le niveau de préparation soit au moins à 1cm du haut du bocal (**Photographie 01**).



Chou-fleur



L'artichaut

Photographie 01: Légumes contenant un faible taux d'humidité

- ❖ Mélanger 20 g de sel avec 1kg de reste légumes comprenant un fort taux d'humidité (carotte, chou, navet) (**Photographie 02**) dans un bocal séparément (le NaCl permet d'améliorer la saveur et d'empêcher la croissance de micro-organismes nuisibles). Étant donné que les légumes restent exposés à la solution saline tout au long de la durée de conservation du produit, la capacité des bactéries à se développer et à rester viables dans cet environnement est hautement souhaitable (**Sáez et al., 2018**).
- ❖ Fermez le bocal et laissez à température ambiante durant 7 jours.



Carotte

Chou

Navet

Photographie 02: Légumes contenant un fort taux d'humidité

La figure 07 ci-dessus présente les différentes étapes de fabrication de choucroute (chou) lactofermenté dès la récolte jusqu'à le conditionnement.

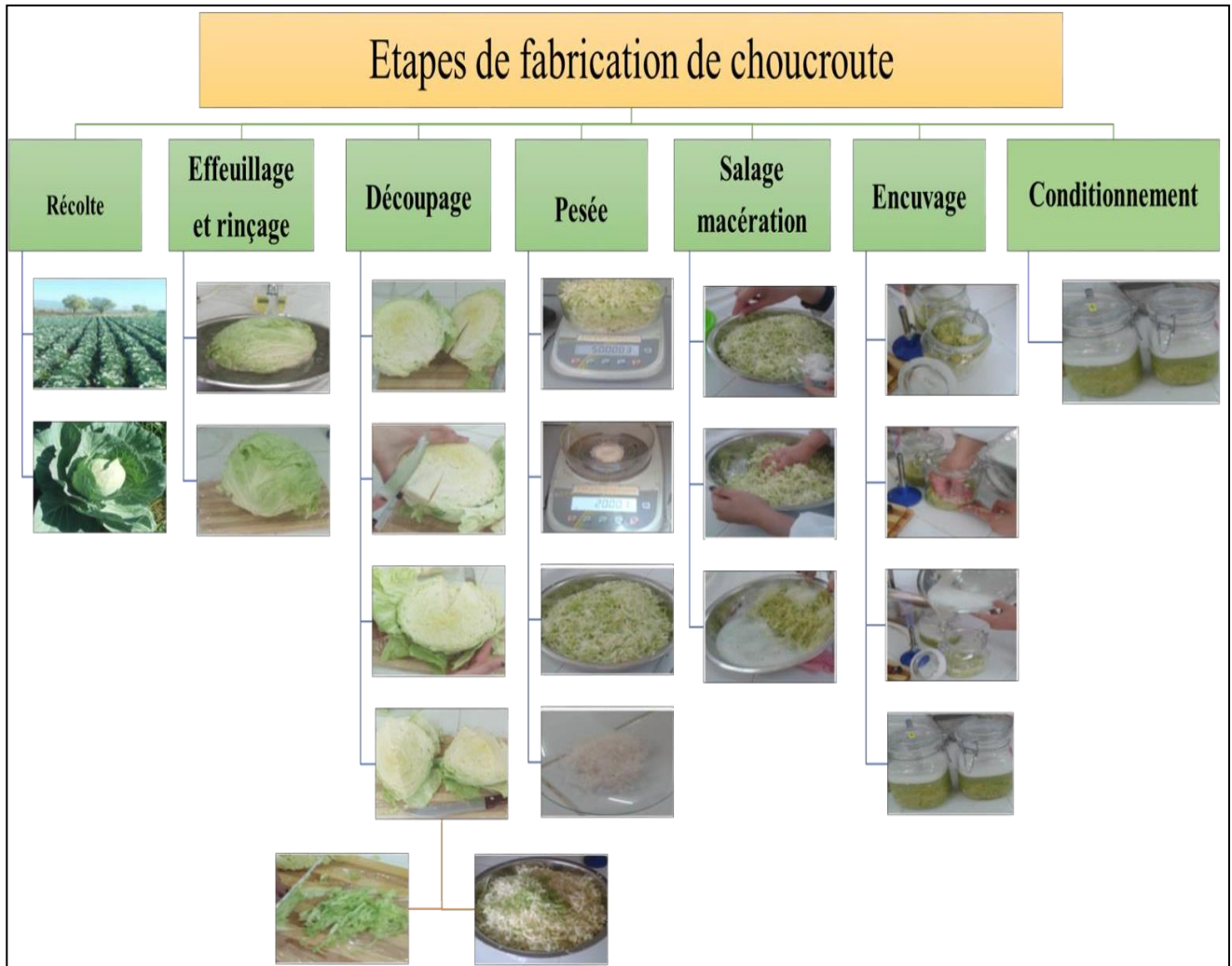
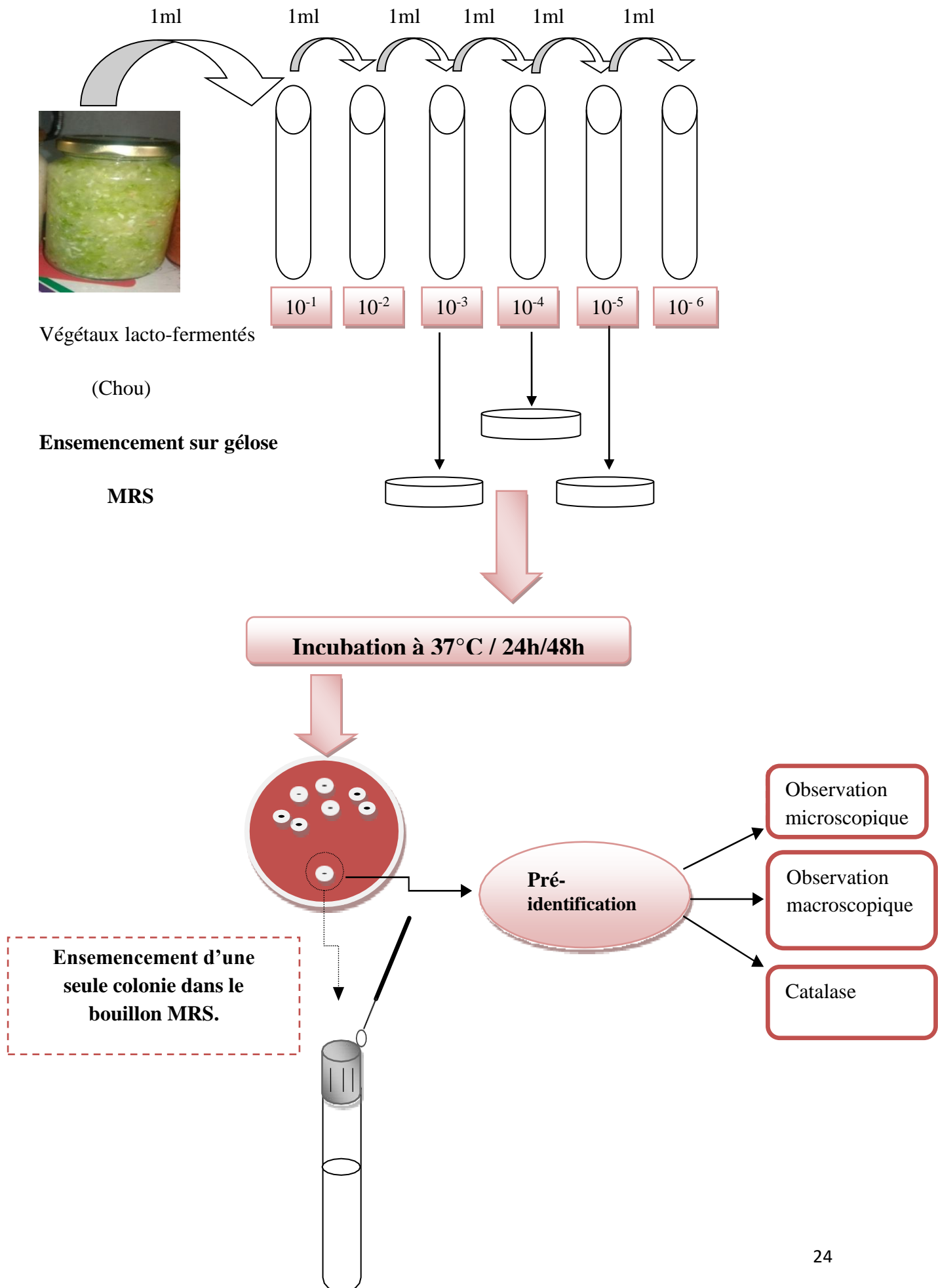


Figure 07 : Etapes de fabrication de la choucroute (Prescott et *al.*, 1999).

1.4. Isolement et dénombrement des bactéries lactiques

Pour isoler les bactéries lactiques (BL), à l'aide d'une micropipette on prélève 1mL de jus du légume lacto-fermenté et on l'introduit dans un tube à essai contenant 9 ml d'eau physiologique stérile, on obtient alors la dilution 10^{-1} , à partir de cette dernière on refait la même opération pour aboutir à la dilution 10^{-6} (Yu et *al.*, 2012)

Après homogénéisation, un volume de 0,1mL des dilutions 10^{-3} , 10^{-4} et 10^{-5} a été étalé en surface sur milieu MRS préalablement stérilisé, coulé dans des boîtes de Pétri. Les boîtes de Pétri ont été incubées en anaérobiose à 37°C durant 24 à 48h (Figure 08) (Zhao et *al.*, 2020).



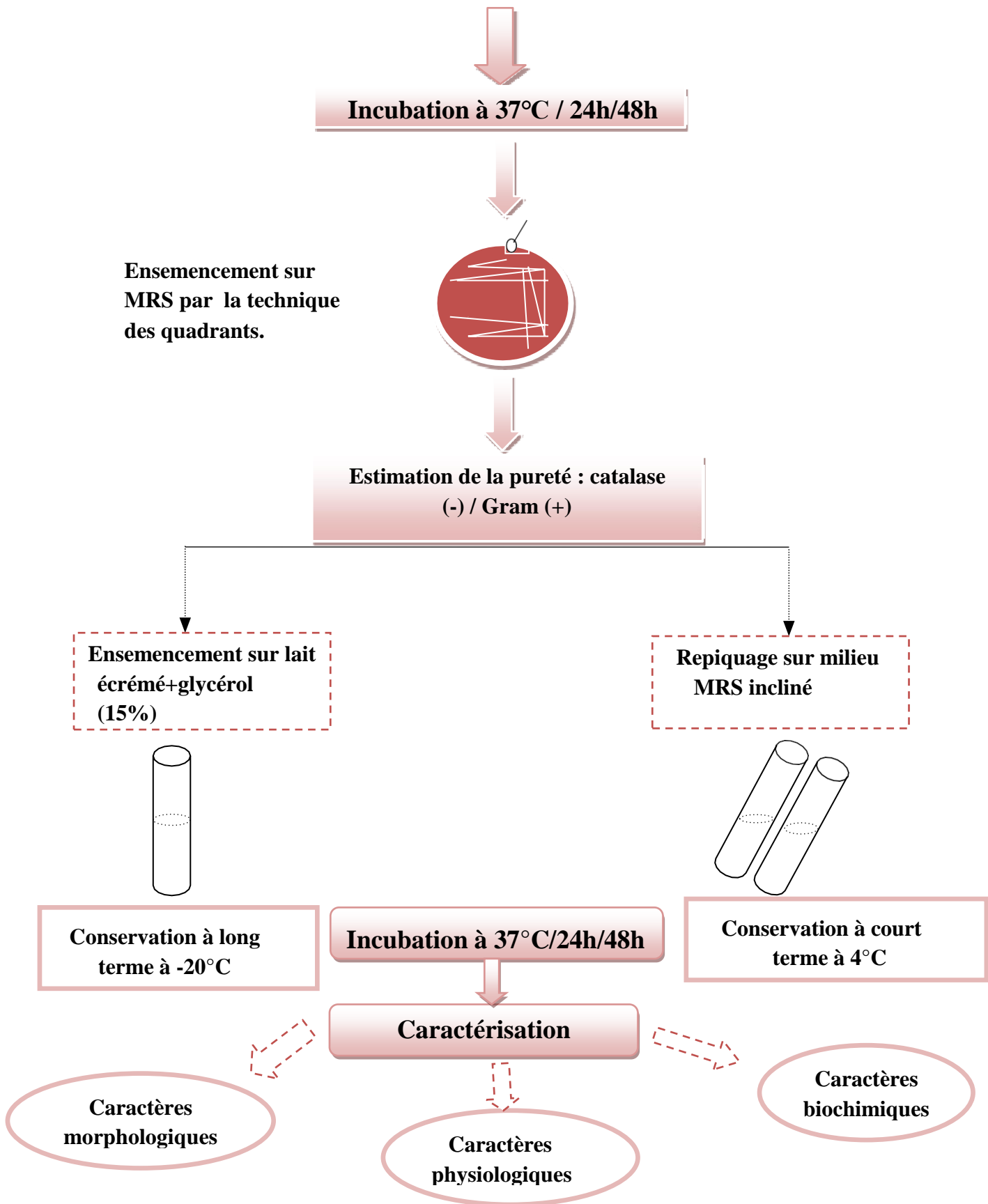


Figure 08 : schéma représentant les étapes d'isolement et de caractérisation des bactéries lactiques.

1.5. Purification et sélection des bactéries lactiques

La purification des souches en gélose (MRS) a été réalisée par la méthode de culture en stries jusqu'à l'obtention de colonies très différenciées et homogènes. La pureté des souches a été déterminée par la coloration de Gram avec une recherche de catalase après chaque repiquage. Les bactéries à gram positif et catalase négative (BL) sont retenues (**Karam et Karam, 2006**).

1.6. Conservation des bactéries lactiques

1.6.1. Conservation à courte durée

La conservation des isolats purifiés a été réalisée par ensemencement sur gélose MRS incliné et incubation à 30°C pendant 18 heures, les tubes ont été conservés à +4°C. Le renouvellement des cultures a été réalisé toutes les trois semaines (**Saidi et al., 2004**).

1.6.2. Conservation à longue durée

A partir de cultures jeunes (18-48 heures) sur milieu liquide (MRS bouillon), les souches ont été congelées à -20°C dans 70% lait écrémé et 30% glycérol (**Badis et al., 2005**).

1.7. Caractérisation des souches isolées

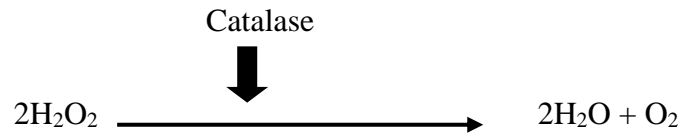
1.7.1. Coloration de Gram

Ce type de coloration permet de séparer les bactéries en deux grandes catégories: les bactéries Gram (+) et les bactéries Gram (-). Cette méthode est basée sur la différence de la paroi chez les deux grands groupes des bactéries, forte proportion de lipides chez les Gram (-) et faible proportion chez les Gram (+) (**Moumene, 2015**). Les bactéries Gram positives apparaissent en violet alors que les Gram négatives apparaissent en rose (**Smith et Hussey, 2005**). Le protocole est le suivant :

- ❖ Réaliser un frottis sur une lame propre et préalablement dégraissée.
- ❖ Recouvrir le frottis de violet cristal et laisser agir 1 minute; rincer à l'eau distillée.
- ❖ Verser du lugol et le laisser agir pendant 60 seconds; rincer à l'eau distillée.
- ❖ Décolorer à l'alcool entre 15 et 30 secondes (selon les auteurs); rincer à l'eau distillée
- ❖ Recolorer avec de la fuchsine de Ziehl pendant 1 minute.
- ❖ Rincer à l'eau et observer à l'immersion $\times 100$ (**Camille, 2014**).

1.7.2. Test de la catalase

Les enzymes catalase décomposent le peroxyde d'hydrogène en oxygène (qui est visualisé par la formation de bulles) et en molécules d'eau (Goa *et al.*, 2022).



Le test consiste à déposer une goutte d'eau oxygénée (10 volumes) sur une lame de verre où un petit échantillon de colonies sera dissocié. La souche est dite catalase positive si un dégagement gazeux est observé et le contraire indique l'absence de l'enzyme catalase.

Les bactéries lactiques ne contiennent pas l'enzyme catalase et sont désignées catalase négative (Oluwajoba, 2014).

1.7.3. Test de croissance à différentes températures (15 et 37°C)

Ce test est réalisé pour les cocci et les bacilles, il permet de différencier les souches thermophiles des mésophiles, ce test est réalisé en bouillon MRS. La croissance est appréciée par un trouble du milieu après 24 heures à 72 heures (jusqu'à une semaine) à 15 et 37 °C en comparaison avec un tube témoin non ensemencé (Hassaine, 2013).

1.7.4. Test de croissance en présence de 2,5 ; 4 et 6,5 % de Na Cl

Ce test permet de savoir si les bactéries ont la capacité de croître dans un milieu hypersalé, ce qui permet classiquement de distinguer les entérocoques et les cocci. La méthode consiste à ensemencer ces bactéries dans des tubes de milieu MRS à 2,5 ; 4 et 6,5% de NaCl et les incuber à 30°C pendant 24 à 72 heures. Après incubation, la croissance de ces bactéries se manifeste par un trouble du milieu en comparaison avec un tube témoin non ensemencé (Hassaine, 2013).

1.7.5. Test de croissance à un milieu hyperalcalin

Ce test est réalisé uniquement pour les cocci en milieux MRS dont le pH est ajusté à 9,6. La croissance est appréciée par un trouble du milieu après 24 heures à 72 heures en comparaison avec un tube témoin non ensemencé (Hassaine, 2013).

1.7.6. Test de thermorésistance à 63.5°C pendant 30 minutes

Des tubes contenant 10 ml de MRS liquide sont inoculés par les souches isolées, ensuite les tubes sont déposés dans un bain marie à 63,5°C pendant 30 min, après refroidissement brusque, elles sont incubées à 30°C \pm 1° C pendant 48 à 72 h. Un résultat positif se traduit par un trouble (**Badis et al., 2005**).

1.7.7. Culture sur milieu lait Sherman

Ce test a pour but d'indiquer la capacité des bactéries lactiques à pousser en présence du bleu de méthylène (BM) dont la coloration est bleue en conditions oxydantes et incolore en milieu réduit, notant que la décoloration du BM est d'autant plus rapide que le nombre de bactéries est élevé (**Delarras, 2007**).

Il permet aussi de différencier entre les Streptocoques et Lactocoques ; ces derniers utilisent l'oxygène présent dans le bleu de méthylène donnant ainsi une couleur blanche au milieu (**Devriese et Pot, 1995**). Les isolats purifiés sontensemencés dans 2 séries de tubes contenant chacun 9 mL de lait écrémé stérilisé et additionné de 1mL de BM à 0.1% et 0.3% (**Guiraud, 1998**). Après incubation à 30°C pendant 48h, on note les observations relatives à la réduction du BM et à la coagulation du lait.

1.7.8. Urée-Indole

Une suspension dense de bactéries est introduite dans 0,5 ml de milieu Urée-Indole, l'incubation se fait à 30°C \pm 1°C pendant 24 à 48 h. Un virage de milieu au rouge violacé ou au rouge rose indique une réaction d'uréase positive. Deux gouttes de réactif de Kovacs sont additionnées. L'apparition d'un anneau rouge indique une réaction d'indole positif (**Marchal et al., 1991**).

1.7.9. Clark et Lubs

Deux tubes contenant chacun 0,5 ml de milieu Clark et Lubs sontensemencés à l'aide d'une anse, après incubation à 30°C \pm 1°C pendant 18 à 48 h, on ajoute deux gouttes de réactif VP dans l'un des deux tubes et deux gouttes de réactif RM dans l'autre.

- ❖ En présence d'une base forte VP II et d'alpha-naphtol VPI, l'acétone donne une coloration rouge en milieu très oxygéné. La présence de l'acétone se traduit par un virage du milieu a rose rougeâtre.

- ❖ Une teinte rouge indique une réaction RM positive (**Marchal et al., 1991**).

1.8. La Recherche d'une activité antibactérienne

1.8.1. Préparation des suspensions bactériennes

Pour avoir une activité antibactérienne, il est nécessaire de préparer des pré-cultures jeunes des souches cibles et des souches indicatrices. A partir de gélose MRS, nous avons ensemencé chacune des souches lactiques dans des tubes à essai contenant 10 ml du bouillon MRS. Les tubes sont incubés à 37°C pendant 18 à 24 heures.

Pour l'obtention des suspensions des souches pathogènes (indicatrices), des tubes à essai contenant 9 ml d'eau physiologique par tube ont été préparés, puis inoculés par les colonies des souches pathogènes jeunes (*Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Bacillus cereus*) afin d'avoir une concentration finale d'environ 0.5 Mc Farland.

1.8.2. Préparation des surnageants

Les cultures bactériennes jeunes ont été soumises à une centrifugation à 10.000 G /15min, ensuite les surnageants obtenus ont été filtrés par la pompe sous vide avec les filtres de 0.45µm et récupérés dans des tubes stériles.

1.8.3. Diffusion en puits

La gélose de Mueller Hinton (MH) a été répartie dans les boîtes de Pétri. Après solidification du milieu, les boîtes ont été ensemencées par un écouvillon qu'on trempe dans la suspension bactérienne jeune de la souche pathogène. Puis elles ont laissées sécher pendant 5min environs, et après, des puits de 6 mm de diamètre ont été confectionnés stérilement sur cette couche basale du milieu MH. Ces puits ont été remplis par 100µl de l'extrait des cultures de bactéries lactiques à tester. Les boîtes de pétri ont été ensuite incubées à 37°C pendant 18h à 24h. En fin d'incubation, les zones d'inhibition ont été observées autour des puits, pour les différentes souches sélectionnées vis-à-vis des germes cibles testés. La lecture de l'activité a été faite par la mesure du diamètre d'inhibition autour du puits, exprimée en mm (**figure 09**) (**Alegria et al., 2010**).

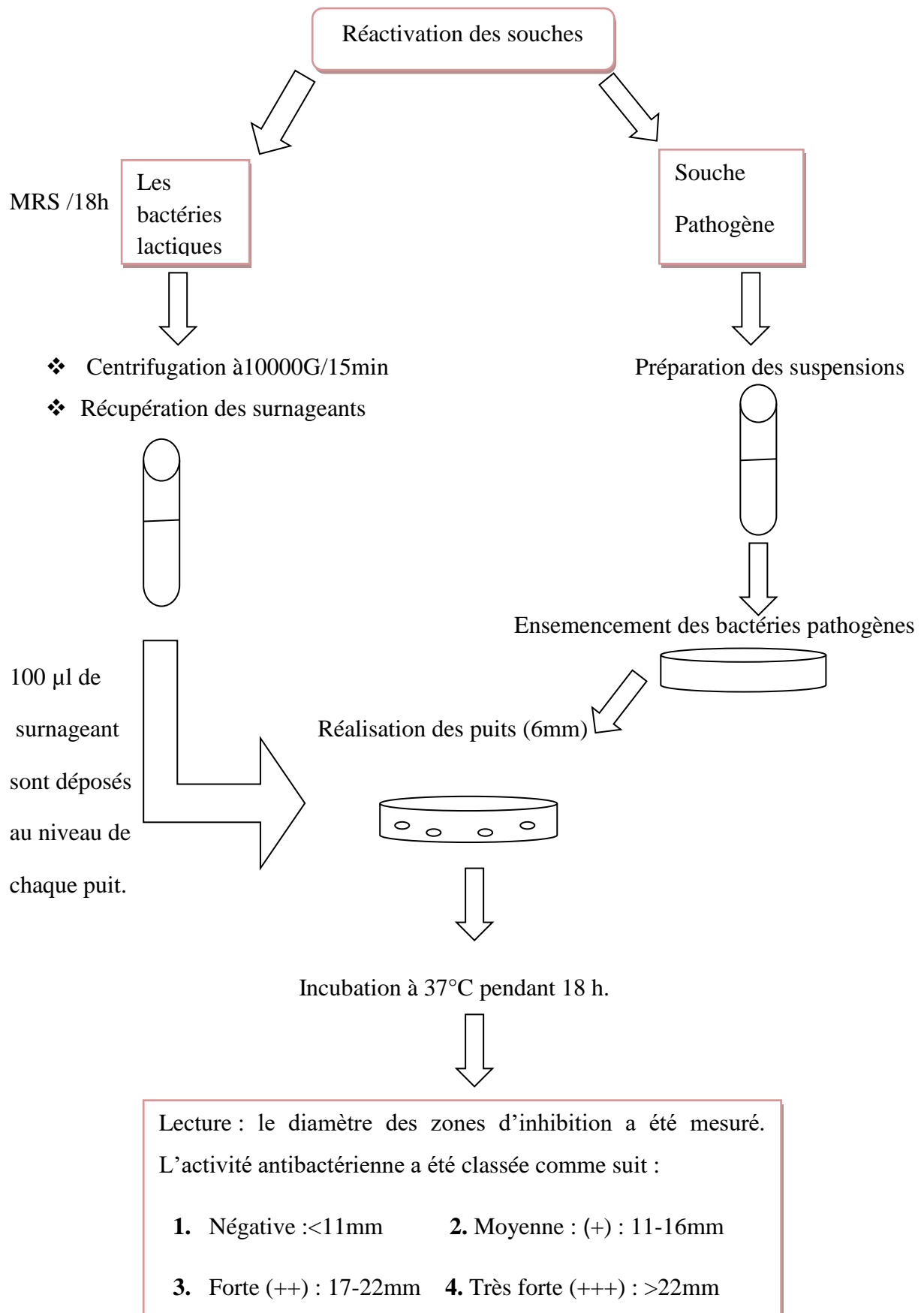


Figure 09 : Les étapes de la recherche de l'activité antimicrobienne.

Résultats et discussion

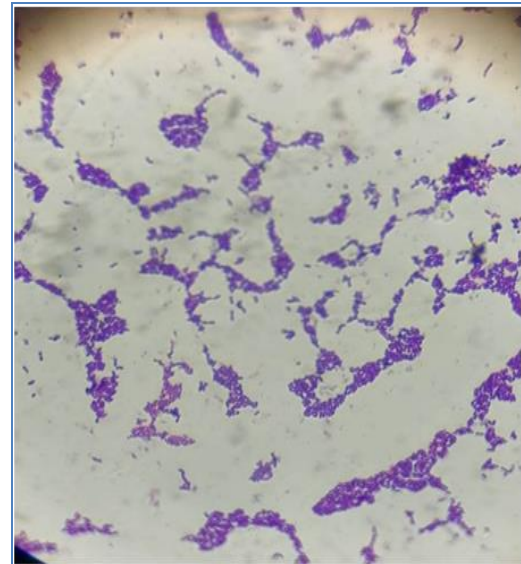
1. Résultats et discussion

2.1. Isolement des bactéries lactiques

Les espèces présumées des BL (catalase- et Gram+) ont été isolées sur gélose MRS. Les isolats ont été ensuite caractérisés microscopiquement pour distinguer les bacilles des cocci (**Photographie 03**)



Bacilles



Cocci

Photographie 03: Observation microscopique après coloration de Gram au grossissement x100

2.1.1. Caractères morphologiques et cultureux

L'aspect des colonies des souches isolées sur gélose MRS est différent d'une souche à une autre. L'examen macroscopique montre la présence des colonies de différentes tailles, de couleur blanchâtre, crémeuses, et de forme circulaire à contour régulier, une deuxième forme de colonie irrégulière, érodée, de couleur crème a été observée.

Sur le plan microscopique les isolats (BL1, BL2, BL3, BL4, BL5, BL7, BL9) ont apparu sous forme de bacilles des fois allongés ; isolés ou regroupés en paires (diplobacilles) ou bien on chaînettes de 3 à 5 éléments. Par contre BL 6 et BL 8 ont apparu sous forme de cellules sphériques isolées (cocci) ou regroupées en paires (diplocoques) ou en longues chaînettes ou à chaîne courte (**Tableau V**).

Tableau V: Caractéristiques morphologiques des BL isolées à partir d'échantillons.

	Origine de prélèvement	Gram	Forme	Disposition/apparence cellulaire
BL1	Chou	+	Bacille	Bacilles simples, diploïdes et à chaîne courte
BL2	Chou	+	Bacille	Bacilles simples, diploïdes et à longue chaîne
BL3	Artichaut	+	Bacille	Bacilles isolés, diploïdes, tétraploïdes et à chaîne courte
BL4	Chou	+	Bacille	Bacilles en longue chaîne
BL5	Chou-fleur	+	Bacille	Bacilles diploïdes et tétraploïdes
BL6	Chou-fleur	+	Cocci	Coques simples, diploïdes et à chaîne courte
BL7	Artichaut	+	Bacille	Bacilles isolés, diploïdes, tétraploïdes
BL8	Artichaut	+	Cocci	Diploïdes, tétraploïdes et à chaîne courte
BL9	carotte	+	Bacille	Bacilles diploïdes, tétraploïdes et à chaîne courte

Les résultats obtenus sont cohérents avec les études de **Szutowska et Gwiazdowska, (2021)** qui ont évalué le potentiel probiotique de 80 isolats de bactéries lactiques (Bacille et Cocci) obtenus à partir de jus de chou fermenté.

Par ailleurs, au cours de l'étude réalisée par **Mokhtari et al. (2016)** 5 cocci et 2 bacilles ont été isolés à partir de l'échantillon d'El-Hammoum. Dans une étude similaire (**Gaamouche et al. (2014)**) ont isolé 65 souches de bactéries lactiques à partir des olives vertes de table fermentées qui ont été collectées des marchés locaux.

Selon les travaux de **Linares-Morales et al. (2020)**, un total de 76 souches de BL a été isolé à partir d'une grande variété de légumes. La majorité de ces souches ont été isolées à partir des piments chilaca (10 isolats), de la goyave (8 isolats), des pommes vertes, des piments et du maïs (6 isolats) et des oranges (5 isolats). D'autres isolats présumés des BL ont été également obtenus à partir de courgettes, de pêches, de pommes rouges, de poires et de tomates vertes (4 isolats). Cependant, les bactéries lactiques ont été moins fréquemment isolées des grenades, de la laitue, des mandarines, des concombres, des poivrons, des raisins, des germes de soja et des fleurs de nopal. Selon **Fessard et Remize, (2019)**, la population des BL isolée à partir de fruits et légumes est plus élevée, un total de 77 isolats a été obtenu: 24 à partir de 6 échantillons différents des papayes (*Carica papaya*), 47 isolats à partir de 5 échantillons différents tranches du chou mariné (*Brassica oleracea var. capitata*) et 6 isolats à partir des tomates (*Lycopersicon culentum*). (**Emerenini et al. (2013)**) ont rapporté au cours de leur étude, que parmi 22 isolats obtenus à partir de fruits frais et qui appartenaient à la famille des BL, huit isolats présentaient une similitude de 99 à 100 % avec *L.plantarum*. Trois isolats présentaient une similitude de 99 à 100 % avec *W. confusa*. Un isolat s'est avéré avoir une correspondance de similarité de 100 % avec *L. paraplantarum*. Quatre isolats ont donné une similitude de 99 à 100 % avec *W. cibaria*. Quatre isolats se sont révélés avoir une similitude de 99 à 100 % avec *W. paramesenteroides*. Un isolat était trouvé pour avoir 99% de similarité avec la souche *L. paramesenteroides* et un isolat a partagé 99% similitude avec *L. pentosus*.

2.1.2. Caractères biochimiques et physiologiques

Les tests préliminaires pour l'identification des isolats sont basés sur les caractéristiques physiologiques et biochimiques de ces bactéries (**Tableau VI**).

2.1.2.1. Recherche de catalase

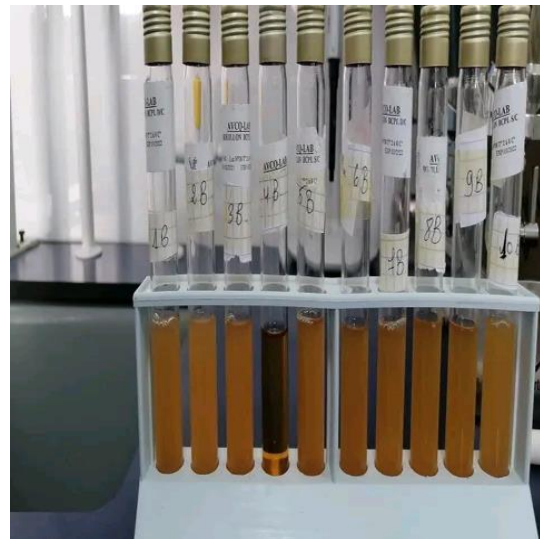
L'absence des dégagements gazeux pour toutes les 9 souches isolées indique que ces bactéries sont des souches catalase négative.

2.1.2.3. La croissance aux différentes températures

La variation de la température d'incubation pour différents isolats est une norme de sélection physiologique pour identifier et pour mettre en évidence leurs capacités biotechnologiques. Les 9 souches (BL1, BL2, BL3, BL4, BL5, BL6, BL7, BL8, BL9) poussent bien à 15°C et 37°C (**Photographie 04**).



T=15°C



T=37°C

Photographie 04 : La croissance à différentes températures

2.1.2.4. La croissance à différentes concentrations de NaCl

La culture du milieu MRS à différentes concentrations de NaCl (2,5 %, 4 % et 6,5 %) entraîne une turbidité visible à l'œil nu, les résultats suivants ont été obtenus (**Photographie 05**). A concentration 2,5 % de NaCl, nous avons noté que toutes les souches poussent à cette concentration ; alors qu'à la concentration de 4 % toutes les souches poussent excepté l'isolat BL7.

La croissance bactérienne à concentration de 6.5 ‰ a été marquée comme positive (+) pour BL1, BL2, par contre, aucune croissance bactérienne n'a été enregistrée pour les isolats BL3, BL4, BL5, BL6, BL7, BL8, BL9.



2.5 ‰ NaCl

4 ‰ NaCl

6.5 ‰ NaCl

Photographie 05: La croissance à différentes concentrations de NaCl

2.1.2.5. La croissance à un milieu hyperalcalin

Le résultat positif se traduit par un trouble. Les deux isolats sous forme de coque (BL 6 et BL 8) ont été capables de pousser dans le milieu hyperalcalin (**Photographie 06**).



Photographie 06: La croissance à un milieu hyperalcalin

2.1.2.6. Test de thermorésistance à 63,5°C pendant 30 minutes

Parmi les 09 souches isolées, seulement les isolats BL1, BL2, BL7 ont été thermorésistantes où on a observé une croissance sur bouillon MRS après un traitement thermique pendant 30 minutes à 63,5°C (**Photographie 07**).



Photographie 07: la croissance bactérienne après un traitement thermique pendant 30 minutes à 63,5°C.

2.1.2.7. Culture sur milieu lait Sherman

Tous les isolats sous forme de cocci (BL6 et BL8) ne réduisaient pas le bleu de méthylène à 0.1% et 0.3%. (**Tableau VI**). Les lactocoques réduisent le bleu de méthylène avec coagulation, en revanche les streptocoques thermophiles sont sensibles à ce colorant.

2.1.2.8. Urée-Indole

Les bactéries qui possèdent de l'uréase transforment l'urée en carbone d'ammonium. D'après notre étude, on constate que tous les isolats possèdent une uréase qui transforment l'urée en carbonate d'ammonium, entraînant une alcalinisation qui provoque une coloration rouge violacé du milieu, et produisent l'indole excepté pour BL1 et BL4 qui ne produisaient pas d'indole.

2.1.2.9. La production d'acétoïne

La production d'acétoïne a été testée sur le milieu de Clark et Lubs. Après incubation, la tolérance est marquée par une couleur rouge cerise (présence d'acétoïne). Tous les isolats ne produisaient pas d'acétoïne exceptée pour la souche BL4 qui était acétoïne + (**Tableau VI**).

Tableau VI: Caractéristiques biochimiques et physiologiques des BL isolées à partir d'échantillons.

		BL 1	BL 2	BL 3	BL 4	BL 5	BL 6	BL 7	BL 8	BL 9
Catalase		-	-	-	-	-	-	-	-	-
Test de croissance à différentes températures	15°C	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	37°C	+	+	+	+	+	+	+	+	+
La croissance à différentes concentration de NaCl	2,5%	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	4%	+	+	+	+	+	+	-	+	+
	6,5%	+	+	-	-	-	-	-	-	-
La croissance à un milieu hyperalcalin		+	+	+	+	+	+	+	+	+
Test de thermorésistante à 63°C pendant 30 minutes		+	+	-	-	-	-	+	-	-
Culture sur milieu le lait Sherman	0.1%	NT	NT	NT	NT	NT	-	NT	-	NT
	0.3%	NT	NT	NT	NT	NT	-	NT	-	NT
Urée-Indole	Uré	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Ind	-	+	+	-	+	+	+	+	+
Clark et Lubs	VP1	Ace-	Ace+	Ace-	Ace-	Ace-	Ace-	Ace-	Ace-	Ace-
	VP2	Ace-	Ace+	Ace-	Ace-	Ace-	Ace-	Ace-	Ace-	Ace-

BL: bactéries lactiques, **+**: réaction positive, **-** : réaction négative, **Ace+:** présence d'acétone,

Ace- : Absence d'acétone, **Ind:** Indol, **Uré:** Uréase, **NT** : Non testé.

2.2. Activité antibactérienne

Les bactéries lactiques sont caractérisées par la production de différents composés antimicrobiens tels que : le peroxyde d'hydrogène, les acides organiques, les acides gras à courte chaîne, les bactériocines et le diacétyl (Armas *et al.*, 2017; Reuben *et al.*, 2020). L'évaluation de l'activité antimicrobienne des isolats lactiques a été étudiée vis-à-vis de cinq souches indicatrices, à savoir *E. coli*, *B. cereus*, *K. pneumoniae*, *S. aureus* et *P.aeruginosa*.

Neuf isolats de BL obtenus des légumes fermentés ont été criblés pour leur activité antimicrobienne vis-à-vis des souches pathogènes. Les résultats illustrés dans le **tableau VII** montrent que les neuf isolats étaient actifs contre les souches testées avec une activité antimicrobienne plus ou moins importante et variable d'une souche à une autre.

2.2.1. *Escherichia coli* ATCC 25922

Pour *Escherichia coli*, l'isolat de bactéries lactiques le plus actif était BL1 avec une moyenne de diamètre de zone d'inhibition de 15 mm, suivi de BL2 avec une moyenne de diamètre de zone d'inhibition de 14.75 mm, et BL3, BL4, BL5, BL6, BL7, BL8, et BL9 avec des moyennes de diamètre des zones d'inhibition de 11.5, 11, 10.66, 10.66, 12.66, 13 et 13.25 mm, respectivement (**Figure 10; Photographie 08**).

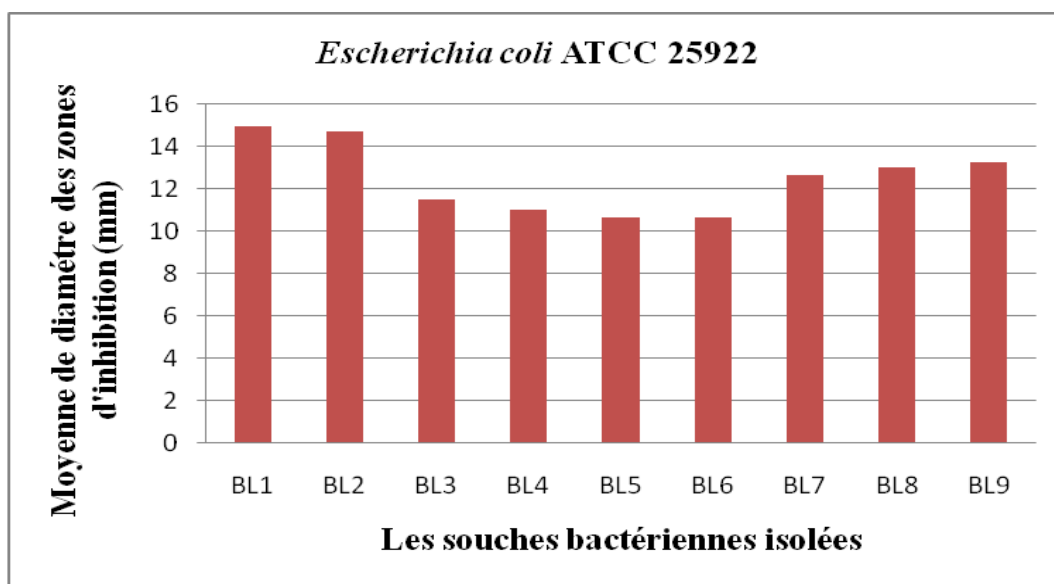
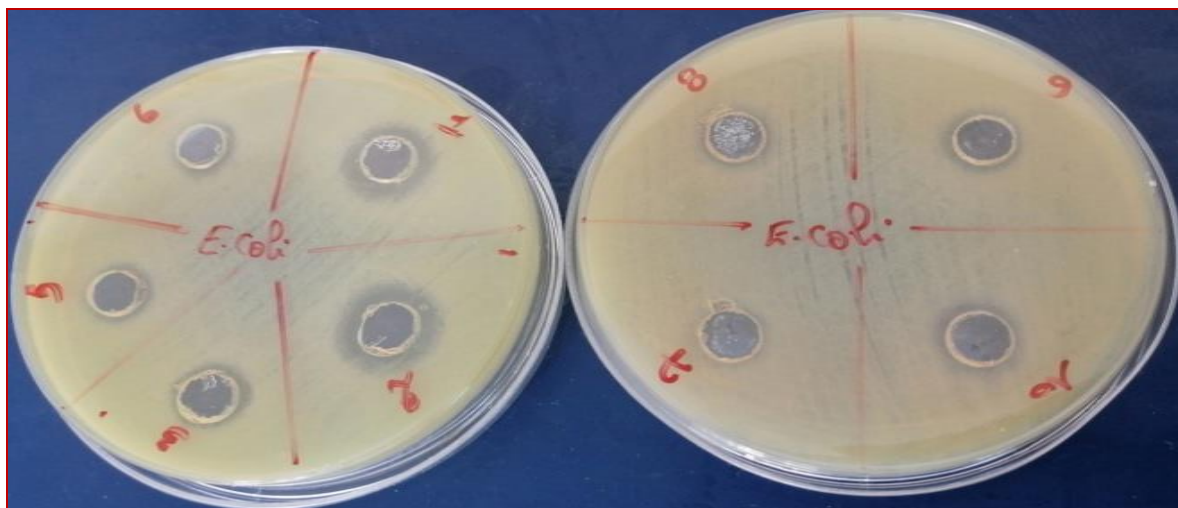


Figure 10 : Moyenne de diamètre des zones d'inhibition des isolats de BL vis-à-vis d'*E.coli*.



Photographie 08: L'activité antibactérienne des isolats vis-à-vis d '*E.coli*.

2.2.2. *Staphylococcus aureus* ATCC25923

L'isolat de bactéries lactiques le plus actif vis-à-vis de *Staphylococcus aureus* était BL1 avec une moyenne de diamètre de zone d'inhibition de 18.33 mm, suivi de BL2 avec une moyenne de diamètre de zone d'inhibition de 17.33 mm, et BL3, BL4, BL5, BL6, BL7, BL8, et BL9 avec moyenne de diamètre des zones d'inhibition de 13.33, 13.66, 13.33, 12.5, 14.66, 14.66 et 15 mm, respectivement (**Figure 11; Photographie 09**).

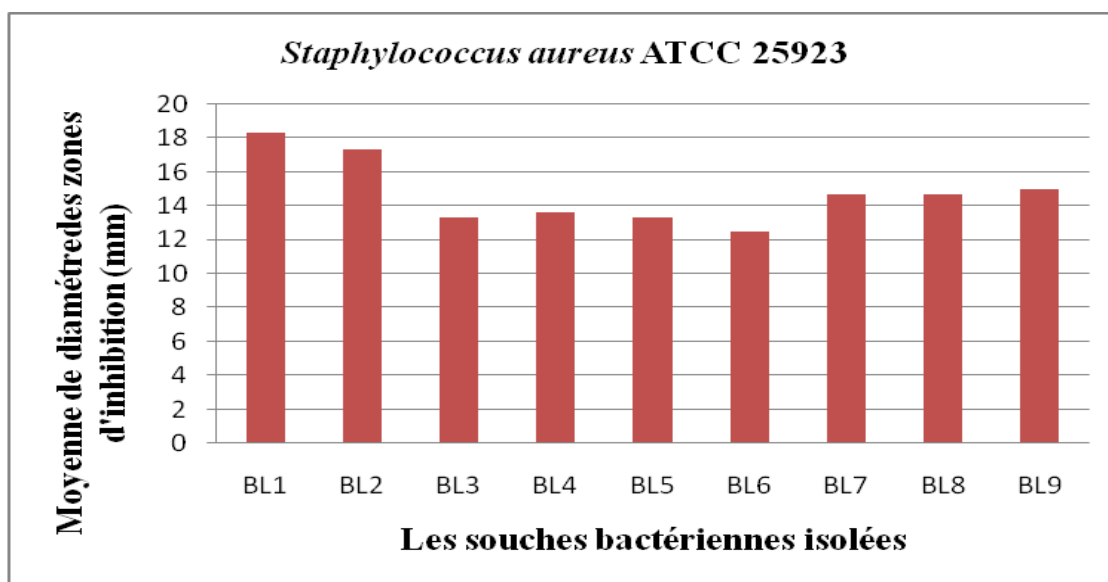
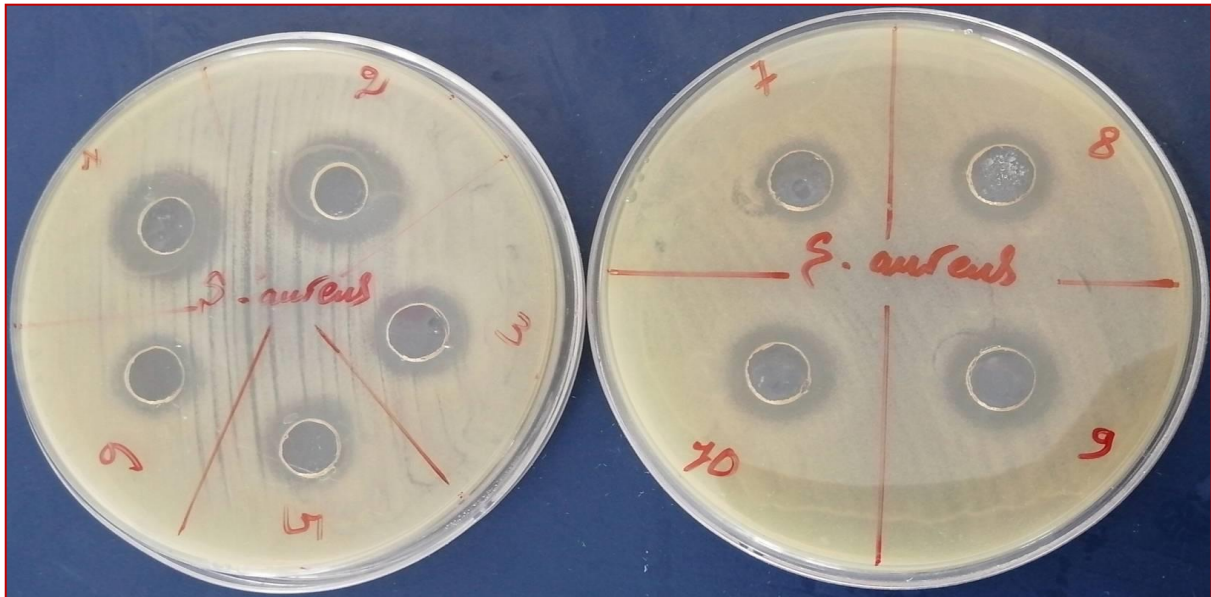


Figure 11 : Moyenne de diamètre des zones d'inhibition des isolats de BL vis-à-vis de *S. aureus*.



Photographie 09: L'activité antibactérienne des isolats vis-à-vis de *S. aureus*.

2.2.3. *Bacillus cereus* ATCC11778

Pour *Bacillus cereus* la moyenne de diamètre des zones d'inhibition était de 14.75, 15, 12, 11.5, 13, 11, 11.75, 12.25 et 11.75 mm pour BL1, BL2, BL3, BL4, BL5, BL6, BL7, BL8 et BL9 respectivement (**Figure 12; Photographie 10**).

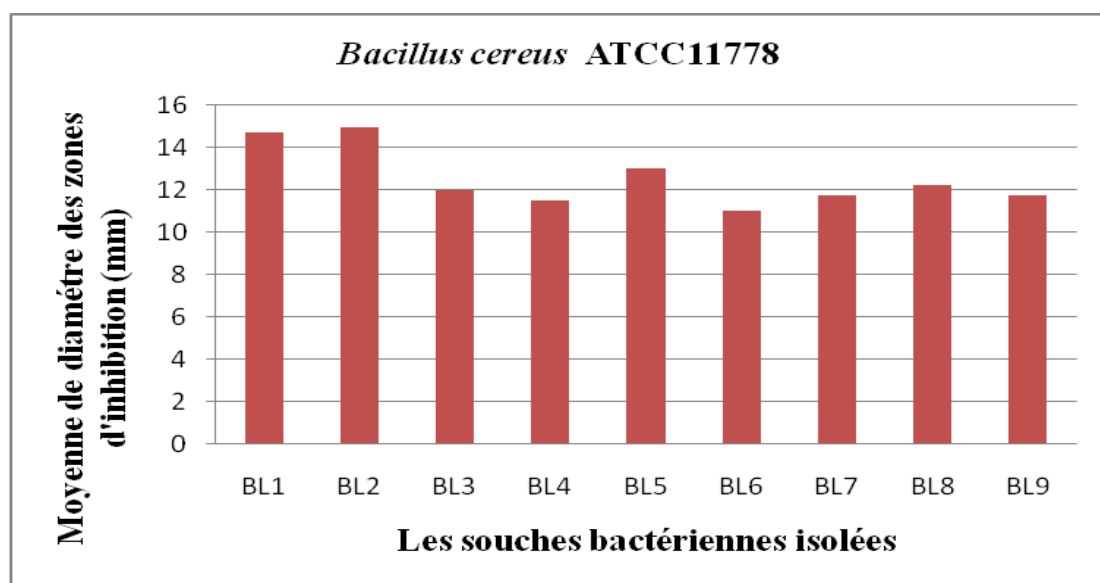


Figure 12 : Moyenne de diamètre des zones d'inhibition des isolats de BL vis-à-vis de *Bacillus cereus*.



Photographie 10: L'activité antibactérienne des isolats vis-à-vis de *Bacillus cereus*.

2.2.4. *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

La plus grande activité inhibitrice vis-à-vis de *Pseudomonas aeruginosa* a été enregistrée pour BL1 avec une moyenne de diamètre de zone d'inhibition qui correspond à 15 mm, suivi par BL2 et BL8 avec une moyenne de diamètre de zone d'inhibition de 14 mm, et BL3, BL4, BL5, BL6, BL7, et BL9 avec des moyennes de diamètre des zones d'inhibitions de 12.7, 13.5, 13.66, 13, 12 et 13 mm respectivement (**Figure13; Photographie 11**).

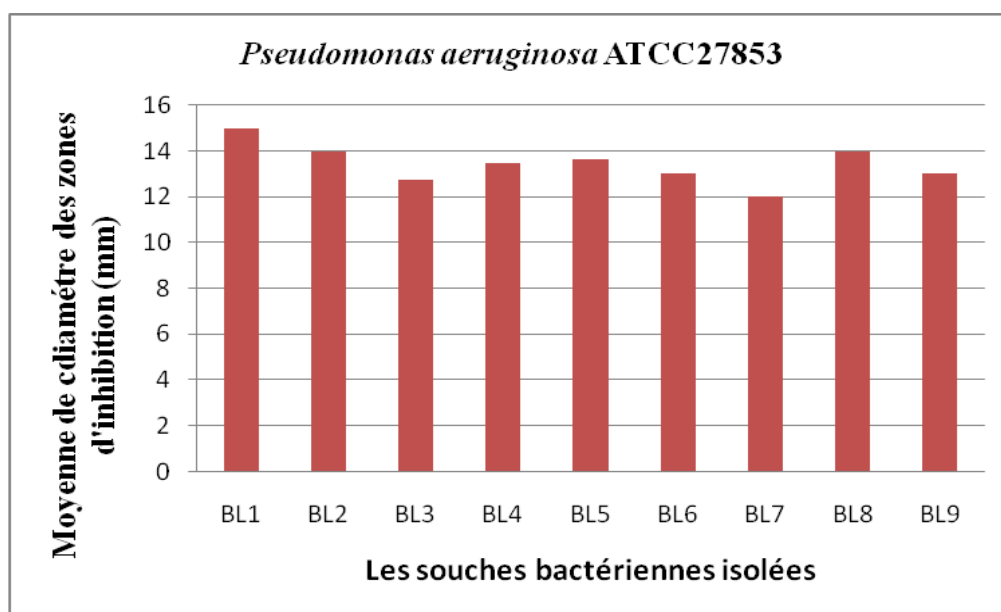
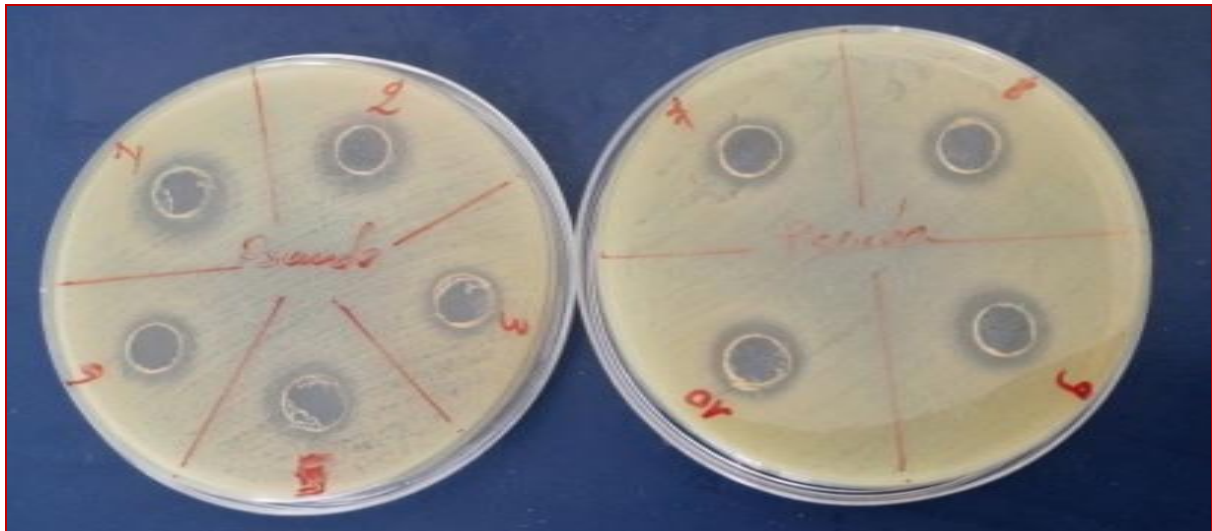


Figure 13 : Moyenne de diamètre des zones d'inhibition des isolats de BL vis-à-vis de *Pseudomonas aeruginosa*



Photographie 11: L'activité antibactérienne des isolats vis-à-vis de *Pseudomonas aeruginosa*

2.2.4. *Klebsiella pneumoniae* ATCC 4352

Quant au *Klebsiella pneumoniae*, la plus forte activité inhibitrice a été enregistrée pour BL8 avec une moyenne de diamètre de zone d'inhibition de 15 mm tandis que la plus faible activité inhibitrice a été attribuée à BL2 et BL4 avec une moyenne de diamètre des zones d'inhibition de 12 mm (**Figure 14; Photographie 12**).

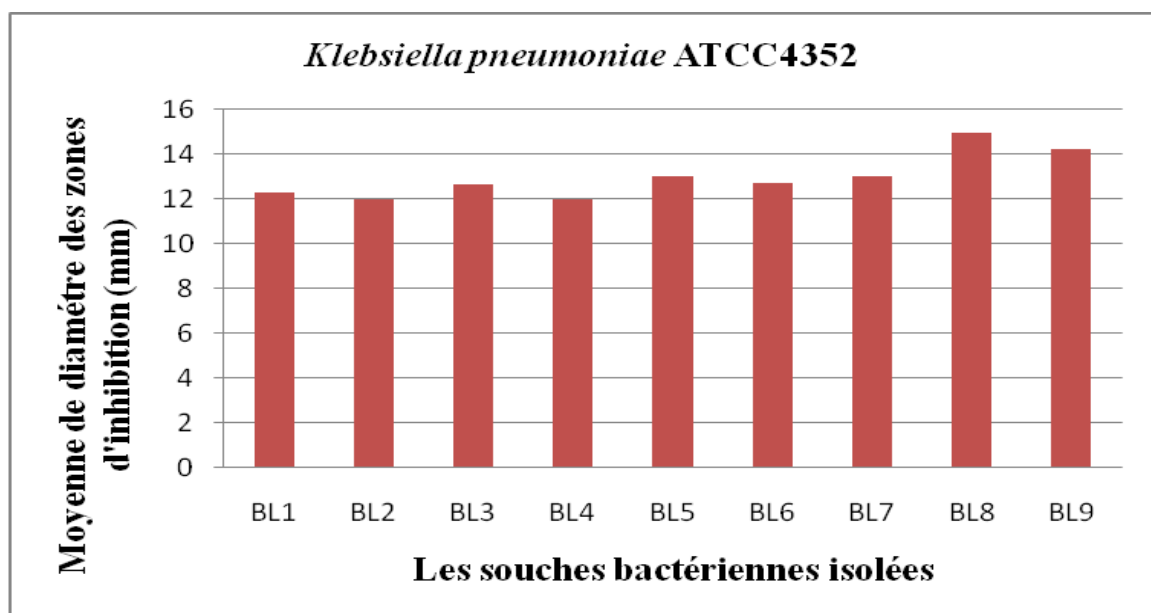
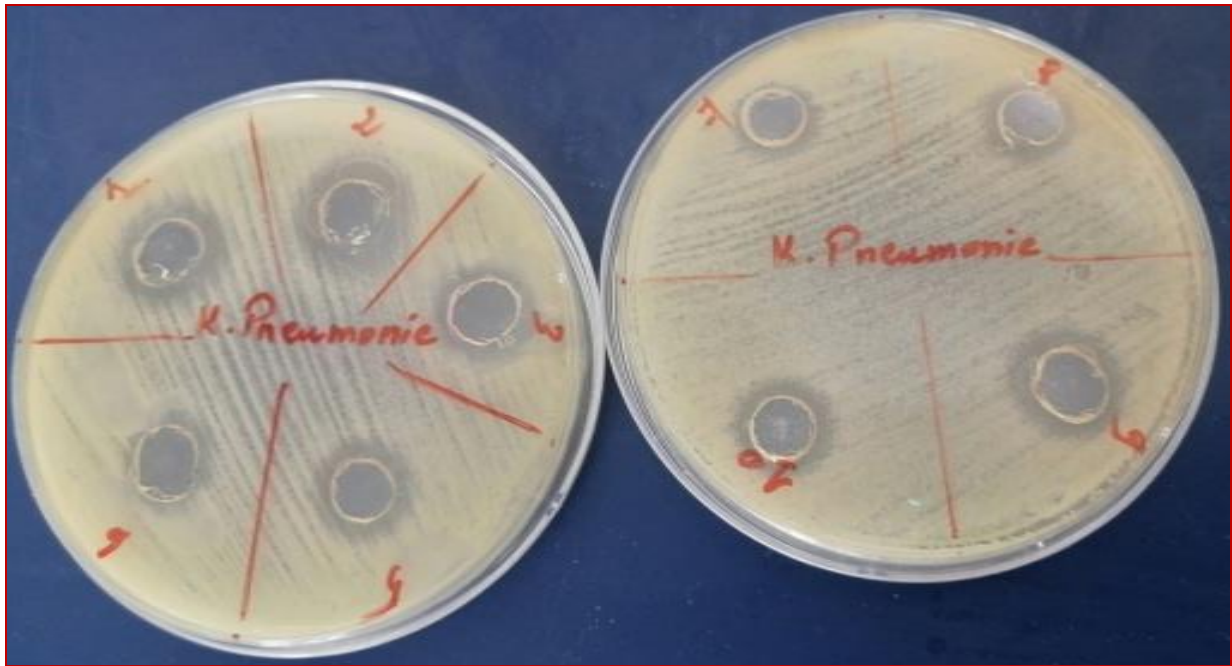


Figure 14: Moyenne de diamètre des zones d'inhibition des isolats de BL vis-à-vis de *K. pneumoniae*.



Photographie 12: L'activité antibactérienne des isolats vis-à-vis de *K. pneumoniae*.

Tableau VII : Résultats de l'antagonisme des isolats vis-à-vis des bactéries pathogènes :
moyenne de diamètres des zones d'inhibition en mm.

	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
BL 1	15 mm ±0,81	18,33 mm ±0,57	14,75 mm ±0,5	15 mm ±0	12,33 mm ±0,57
BL 2	14,75 mm ±0,95	17,33 mm ±1,15	15 mm ±1	14 mm ±0,81	12 mm ±0
BL 3	11,5 mm ±0,57	13,33 mm ±0,57	12 mm ±0,81	12,75 mm ±0,5	12,66 mm ±0,57
BL 4	11 mm ±0	13,66 mm ±0,57	11,5 mm ±1,29	13,5 mm ±0,57	12 mm ±0,81
BL 5	10,66 mm ±0,57	13,33 mm ±0,57	13 mm ±1,82	13,66 mm ±0,57	13 mm ±0,81
BL 6	10,66 mm ±0,57	12,5 mm ±0,57	11 mm ±1,15	13 mm ±0,81	12,75 mm ±1,5
BL 7	12,66 mm ±0,57	14,66 mm ±1,52	11,75 mm ±0,5	12 mm ±0,81	13 mm ±0,57
BL 8	13 mm ±1	14,66 mm ±0,57	12,25 mm ±0,5	14 mm ±0,81	15 mm ±0
BL 9	13,25 mm ±0,95	15 mm ±0	11,75 mm ±1,70	13 mm ±0	14,25 mm ±0,95

Plusieurs travaux ont été menés sur l'effet inhibiteur des bactéries lactiques isolées à partir de végétaux lacto-fermentés sur la croissance de différentes souches pathogènes ou responsables d'altération telles que *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* et *Bacillus cereus* (**Gaamouche et al., 2014**; **Roy et Rai, 2017**; **Sakandar et al., 2019**; **Linares-Morales et al., 2020**; **Mohamad et al., 2022**; **Bellil et al., 2022**; **Fadare et al., 2023**).

Nos résultats sont inférieurs à ceux rapportés par **Bellil et al. (2022)** au cours de leurs travaux qui ont abouti à l'obtention de quarante-huit isolats à partir de différents échantillons des légumes fermentés en enregistrant des valeurs de zones d'inhibition qui atteignaient 30 mm pour *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27653 et pour *Enterobacter cloacae* ATCC 13047. Alors que pour *Enterococcus gilvus* LMG 13600 et *Staphylococcus intermedius* CECT 1205, les isolats ont montré des zones d'inhibition de 28 et 15 mm respectivement.

Au cours de la recherche réalisée par **Gaamouche et al. (2014)**, 65 isolats ont été obtenus à partir d'olives de table fermentées et criblés pour leur pouvoir antagoniste. Leurs résultats ont indiqué que 40 isolats présentaient une activité antibactérienne vis-à-vis de *L. monocytogenes* dont 35 souches présentaient un large spectre d'inhibition résultant d'excellents diamètres de zones d'inhibition qui étaient supérieurs à 15 mm. Parmi ces isolats, 8 souches ont montré un effet antibactérien à l'égard d'*Escherichia coli* O157 qui a été moins important par rapport à celui exercé sur *L. monocytogenes*.

Roy et Rai, (2017) ont isolé et caractérisé des bactéries lactiques à potentiel probiotique à partir de cornichons. Toutes les souches ont montré une activité antimicrobienne à l'égard de trois micro-organismes indicateurs de type Gram positif et Gram négatif, leurs résultats ont indiqué des zones d'inhibition allant de 12 mm à 45 mm. Le diamètre de la zone d'inhibition vis-à-vis de *B. cereus*, *E. coli* et *S. Typhimurium* variaient de 12 à 34 mm, 16-40 mm et 30-45 mm, respectivement. Les microorganismes à Gram négatif étaient plus sensibles.

Fadare et al. (2023) ont rapporté que les cinq isolats obtenus à partir de chou fermenté ont montré une activité antimicrobienne vis-à-vis des bactéries pathogènes testés (*Salmonella Typhi*, *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*).

(Sakandar et al., 2019) ont isolé, à partir de douze échantillons de fleurs et de fruits trois souches de *Lactobacillus kunkeei* (JNGBKS6, JNGBKS7 et JNGBKS8) comme deux souches de *Fructobacillus fructosus* (JNGBKS2 et JNGBKS4), deux souches de *F.*

pseudoficulneus (JNGBKS1 et JNGBKS3) une souche de *F. durionis* (JNGBKS5). Leur effet antagoniste qui a été évaluée vis-à-vis d'*E. coli*, *S. typhimurium* et *S. aureus* a montré que l'activité inhibitrice maximale a été enregistrée chez les souches de *L. kunkeei* à l'égard des trois souches pathogènes indicatrices, tandis que l'activité inhibitrice la plus faible (4 mm) a été observée chez *F. durionis* JNHBKS5.

Mohamad et al., (2022) ont rapporté que les isolats des BL obtenus à partir de *Spondias dulcis* mariné ont été capables d'inhiber la croissance de toutes les souches pathogènes d'origine alimentaire et de créer une zone d'inhibition ce qui prouve leur potentiel précoce d'avoir des propriétés antibactériennes. Dans cette étude, les isolats BLS1 et BLS2 ont exercé un effet antagoniste à l'égard de 10 souches pathogènes à Gram positif et à Gram négatif avec des diamètres d'inhibition de (5-10 mm) pour *B. cereus*, (11-17mm) pour *E. faecalis*, (+17mm) pour *L. innocua*, (+17mm) pour *L. monocytogenes* et (+17mm) pour *S. aureus*, (11-17mm) pour *C. mytjensii*, (11-17mm) pour *E. coli* et (+17mm) pour *S. Poona*, *S. Typhimurium* et *V. parahaemolyticus*.

Au cours de l'étude réalisée par **Linares-Morales et al. (2020)**, les bactéries lactiques isolées de fruits et de légumes frais ont montré une activité antimicrobienne principalement vis-à-vis des bactéries Gram-positives (*B. cereus*, *L. monocytogenes*), BL (*L. lactis*, *L. casei*), des moisissures (*A. niger*, *F. oxysporum*, *P. expansum*) et des levures (*S. cerevisiae*, *C. albicans*, *C. tropicalis*). Cependant aucune activité inhibitrice n'a été enregistrée à l'égard des bactéries Gram-négatives.

L'activité antimicrobienne des BL potentiellement probiotiques est due à la production de substances inhibitrices telles que les bactériocines, le peroxyde d'hydrogène, l'éthanol, l'acide formique, les acides gras et le diacétyl (**De Vuyst et Leroy, 2007; Reuben et al., 2019**). En revanche, les agents antimicrobiens les plus importants et les mieux caractérisés produits par les BL sont les acides lactique et acétique (**Šušćković et al., 2010**). L'effet inhibiteur des acides organiques est principalement causé par la forme non dissociée de la molécule, qui diffuse à travers la membrane cellulaire vers le cytosol plus alcalin et interfère avec les fonctions métaboliques essentielles. Les effets toxiques de l'acide lactique et acétique comprennent la réduction de pH intracellulaire et la dissipation du potentiel membranaire (**Lindgren et Dobrogosz, 1990; Šušćković et al., 2010**).

De plus, certaines espèces de BL sont capables de produire du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et peuvent inhiber les bactéries pathogènes dépourvues de catalase (**Mitchell et al., 2015**). L'effet antibactérien de H_2O_2 peut être dû à l'oxydation du groupe sulfhydryle, qui dénature certaines enzymes, et à la peroxydation des lipides membranaires, augmentant ainsi la perméabilité membranaire et étant également un précurseur de la production de radicaux libres bactéricide comme le superoxyde et l'hydroxyle (OH^\cdot) qui peuvent endommager l'ADN (**Şanlıbaba et Güçer, 2016**).

L'éthanol produit par les BL hétéro-fermentaires est généré à partir de la voie de la glycolyse (**Elshagabee et al., 2016**). Il affecte la fluidité et l'intégrité de la membrane, entraînant la mort des cellules bactériennes en raison de la fuite de la membrane plasmique (**Vieco-Saiz et al., 2016**).

La production de dioxyde de carbone est principalement associée à l'hétérofermentation des hexoses, mais certaines voies métaboliques produisent également cette molécule comme sous-produit (**Fugaban et al., 2022**). Le mécanisme d'action du dioxyde de carbone en tant que composé antimicrobien est encore inconnu. En créant un environnement anaérobie, le CO_2 inhibe la décarboxylation enzymatique et en s'accumulant dans la bicouche lipidique membranaire, le CO_2 contribue au dysfonctionnement de la perméabilité. Il s'est avéré très efficace pour inhiber la croissance des micro-organismes responsables de la détérioration des aliments, en particulier les bactéries psychotropes à Gram négatif (**Srivastava et al., 2017**).

Le diacétyle (2,3-butanedione) est un métabolite volatil du métabolisme du citrate produit par les BL. Il peut également inhiber les micro-organismes pathogènes en pénétrant les membranes bactériennes ciblées et en interférant avec les fonctions métaboliques essentielles. L'activité antagoniste du diacétyle passe par le blocage du site catalytique des enzymes responsables de l'utilisation de l'arginine, rendant les cellules incapables de synthétiser les protéines essentielles (**De Souza et Dias, 2017**). L'activité antimicrobienne du diacétyle est plus efficace contre les bactéries Gram-négatives (**Fugaban et al., 2022**).

Les bactériocines produites par les bactéries lactiques présentent également une activité bactéricide au-delà des espèces étroitement apparentées. Il a été démontré que la nisine de bactériocine de classe I et certaines des bactériocines de classe II sont des peptides actifs sur la membrane qui détruisent l'intégrité de la membrane cytoplasmique via la

formation de canaux membranaires (**Sablon et al., 2000**). La perméabilisation induite par la bactériocine des membranes cellulaires pour divers ions a clairement un effet néfaste sur les cellules, car elle détruit la force motrice des protons par dissipation du potentiel électrique transmembranaire et/ou du gradient de pH transmembranaire (**Sablon et al., 2000; Oppegård et al., 2007**). Leur mécanisme d'action de classe III implique la lyse des cellules sensibles en catalysant l'hydrolyse de la paroi cellulaire (**Bharti et al., 2015**). L'insertion de la bactériocine est généralement suivie de l'inhibition de la synthèse d'ADN dans une bactérie Gram positive. L'inhibition de la synthèse des protéines et de l'ARN est connue pour être peu affectée (**Lahiri et al., 2022**).

CONCLUSION

Conclusion

Les BL sont connues depuis longtemps pour leurs propriétés fonctionnelles dans le système de fermentation, où divers métabolites produits au cours de ce processus contribuent à la sécurité et à l'intégrité des produits alimentaires fermentés et jouent un rôle essentiel dans la formation des propriétés organoleptiques. Elles jouent également un rôle important dans la conservation des aliments telle que les légumes fermentés. Dans cette étude, l'objectif principal de notre travail était d'isoler des bactéries lactiques à partir d'échantillons de légumes lacto-fermentés et d'évaluer leur effet d'antagonisme vis-à-vis des souches bactériennes pathogènes ou impliquées dans les toxi-infections et les altérations alimentaires.). Au total, 09 isolats de BL (catalase négative et Gram+) ont pu être obtenus dont 07 isolats ont apparu sous forme de bacilles et 02 isolats sous formes coques. Les résultats de l'évaluation de leur activité antibactérienne ont montré que les neuf isolats (BL1, BL2, BL3, BL4, BL5, BL6, BL7, BL8, BL9) obtenus à partir des légumes fermentés (l'artichaut, chou-fleur, carotte, chou, navet) ont exercé un effet inhibiteur vis-à-vis des bactéries indicatrices testées (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* et *Bacillus cereus*). De ce fait, la bio-conservation par les bactéries lactiques est une alternative aux conservateurs chimiques très prometteuse dans les produits fermentés car elles produisent des composés antimicrobiens (acides organiques, peroxyde d'hydrogène, diacétyl et bactériocines) et elles sont généralement reconnues sans risques dans l'alimentation.

*Références
bibliographiques*

A

- ❖ **Alegría, Á., Delgado, S., Roces, C., López, B. et Mayo, B. (2010).** Bacteriocins produced by wild *Lactococcus lactis* strains isolated from traditional, starter-free cheeses made of raw milk. *International journal of food microbiology*, 143(1-2), 61-66.
- ❖ **Ammor, S., Tauveron, G., Dufour, E., et Chevallier, I. (2006).** Antibacterial activity of lactic acid bacteria against spoilage and pathogenic bacteria isolated from the same meat small-scale facility: 1—Screening and characterization of the antibacterial compound. *Food control*, 17(6), 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.
- ❖ **Arrijoja-Bretón, D., Mani-López, E., Palou, E., et López-Malo, A. (2020).** Antimicrobial activity and storage stability of cell-free supernatants from lactic acid bacteria and their applications with fresh beef. *Food Control*, 115, 107286.
- ❖ **Ayivi, R. D., Gyawali, R., Krastanov, A., Aljaloud, S.O., Worku, M., Tahergorabi, R., et Ibrahim, S. A. (2020).** Lactic acid bacteria: Food safety and human health applications. *Dairy*, 1(3), 202-232.

B

- ❖ **Badis, A., Guetarni, D., Kihal, M., Ouzrout, R. 2005.** Caractérisation phénotypique des Bactéries lactiques isolées à partir de lait de chèvre de deux populations locales "Arabia et Kabyle». *Scien et Tech*, 23 : 30-37.
- ❖ **Bamidele, T. A., Adeniyi, B. A., et Smith, S. I. (2019).** In vitro, acidic, non-proteinaceous antifungal activities of lactic acid bacteria isolated from salad vegetables against human pathogenic *Candida albicans*. *African Journal of Clinical and Experimental Microbiology*, 20(2), 137-142.
- ❖ **Bangar, S. P., Sharma, N., Kumar, M., Ozogul, F., Purewal, S. S., and Trif, M.(2021).** Recent developments in applications of lactic acid bacteria against mycotoxin production and fungal contamination. *Food Bioscience*, 44, 101444.
- ❖ **Bautista-Gallego, J., Medina, E., Sánchez, B., Benítez-Cabello, A., et Arroyo-López, F.N. (2020).** Role of lactic acid bacteria in fermented vegetables. *Grasas y Aceites*, 71(2), e358-e358.

- ❖ **Belarbi F. (2011).** Isolement et sélection des souches de bactéries lactiques productrices des métabolites antibactériennes, Magistère : Microbiologie alimentaire et industrielle, Faculté des sciences, université d’Oran.
 - ❖ **Bellil, Y., Bellil, W. C., Benabbou, T. A., Benmechernene, Z. et Kihal, M.(2022).** Valorisation des bactéries lactiques bioactives naturellement présentes dans les légumes fermentés. *International Journal of Natural Resources and Environment*: Vol. 4, No. 1, pp. 23-28 (2022).
 - ❖ **Benameur, S., Larem, R. et Laggoune, S. E. (2013).** *Application des bactéries lactiques dans le domaine industriel* (Doctoral dissertation, université de jijel).
 - ❖ **Laggoune, S. E. (2013).** Application des bactéries lactiques dans le domaine industriel (Doctoral dissertation, université de jijel).
 - ❖ **Bharti, V., Mehta, A., Singh, S., Jain, N., Ahirwal, L. et Mehta, S. (2015).** Bacteriocin: a novel approach for preservation of food. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 7(9), 20-29.
 - ❖ **Bintsis, T. (2018).** Lactic acid bacteria: their applications in foods. *J. Bacteriol. Mycol*, 6(2), 89-94.
 - ❖ **Börner, R. A., Kandasamy, V., Axelsen, A. M., Nielsen, A. T. et Bosma, E. F.(2019).** Genome editing of lactic acid bacteria: opportunities for food, feed, pharma and biotech. *FEMS microbiology letters*, 366(1), fny291.
 - ❖ **Bouttefroy A. et Millière J.B., 2000.** Nisin-curvaticin 13 combinations for avoiding the regrowth of bacteriocin resistant cells of *L. monocytogenes* ATCC15313. *Int. J. Food Microbiol.*, **62**, 65-75.
 - ❖ **Burillard L., Dumas V., Glaz M., Kouyoumdjian L., Lobrot S., Logier D., Mallot N., et Marchan C.(2015).** Les fermentations alimentaires. Synthèse bibliographique (Université de Lorraine)
 - ❖ **Buruleanu, L., Nicolescu, C. L., Bratu, M. G., Manea, I., et Avram, D. (2010).** Study regarding some metabolic features during lactic acid fermentation of vegetable juices. *Rom. Biotechnol. Lett.*, 15, 5177-5188.
- C**
- ❖ **Camille, D. (2014).** Pratique en microbiologie de laboratoire? Recherche de bactéries et de levures-moisissures. *Lavoisier*.
 - ❖ **Castellone, V., Bancalari, E., Rubert, J., Gatti, M., Neviani, E. et Bottari, B. (2021).** Eating fermented: Health benefits of LAB-fermented foods. *Foods*, 10(11), 2639.

- ❖ **Cichońska, P. et Ziarno, M. (2022).** Legumes and legume-based beverages fermented with lactic acid bacteria as a potential carrier of probiotics and prebiotics. *Microorganisms*, 10(1), 91.
- ❖ **Cichońska, P., Ziębicka, A. et Ziarno, M. (2022).** Properties of Rice-Based Beverages Fermented with Lactic Acid Bacteria and Propionibacterium. *Molecules*, 27(8), 2558.
- ❖ **Cleveland, J., Montville, T. J., Nes, I. F., et Chikindas, M. L. (2001).** Bacteriocins: safe, natural antimicrobials for food preservation. *International journal of food microbiology*, 71(1), 1-20.
- ❖ **Coelho, M. C., Malcata, F. X., et Silva, C. C. (2022).** Lactic acid bacteria in raw-milk cheeses: From starter cultures to probiotic functions. *Foods*, 11(15), 2276.

D

- ❖ **Davidson, B. E., Kordias, N., Dobos, M. et Hillier, A. J. (1996).** Genomic organization of lactic acid bacteria. *Antonie van Leeuwenhoek*, 70(2-4), 161–183.
- ❖ **De Filippis, F., Pasolli, E., et Ercolini, D. (2020).** The food-gut axis: lactic acid bacteria and their link to food, the gut microbiome and human health. *FEMS microbiology reviews*, 44(4), 454-489.
- ❖ **De Souza, J. V. et Dias, F. S. (2017).** Protective, technological, and functional properties of select autochthonous lactic acid bacteria from goat dairy products. *Current Opinion in Food Science*, 13, 1-9.
- ❖ **De Vuyst, L. et Leroy, F. (2007).** Bacteriocins from lactic acid bacteria: production, purification, and food applications. *Microbial Physiology*, 13(4), 194-199.
- ❖ **Delarras, C. (2007).** *Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire*. Éd. Tec et doc-Éd. médicales internationales.
- ❖ **Devriese, L. A. et Pot, B. (1995).** The genus enterococcus. *The genera of lactic acid bacteria*, 327-367.
- ❖ **Dicks, L. M. T., Heunis, T. D. J., Van Staden, D. A., Brand, A., Noll, K. S., et Chikindas, M. L. (2011).** Medical and personal care applications of bacteriocins produced by lactic acid bacteria. *Prokaryotic antimicrobial peptides: from genes to applications*, 391-421.
- ❖ **Diop, M. B., Destain, J., Tine, E., et Thonart, P. (2010).** Les produits de la mer au et le potentiel des bactéries lactiques et des bactériocines pour la conservation. *Base*.
- ❖ **Dortu, C., et Thonart, P. (2009).** Les bactériocines des bactéries lactiques: caractéristiques et intérêts pour la bioconservation des produits alimentaires. *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*, 13(1)

- ❖ **Drider, D. et Hervé, P. (2009).** Bactéries lactiques: physiologie, métabolisme, génomique et applications industrielles: *Economica*.

E

- ❖ **Eck A et Gillis J.C. (1997).** Les levains lactiques. Le fromage. *Tec et Doc Lavoisier*. Pp: 175-194.
- ❖ **Elshagabee, F. M., Bockelmann, W., Meske, D., De Vrese, M., Walte, H. G., Schrezenmeir, J. et Heller, K. J. (2016).** Ethanol production by selected intestinal microorganisms and lactic acid bacteria growing under different nutritional conditions. *Frontiers in microbiology*, 7, 47.
- ❖ **Emerenini, E., Afolabi, O. R., Okolie, P. I. et Akintokun, A. K. (2013).** Isolation and molecular characterization of lactic acid bacteria isolated from fresh fruits and vegetables using nested PCR analysis. *British Microbiology Research Journal*, 3(3), 368-377.

F

- ❖ **Fadare, O. S., Anyadike, C. H., Momoh, A. O. et Bello, T. K. (2023).** Antimicrobial properties, safety, and probiotic attributes of lactic acid bacteria isolated from Sauerkraut. *African Journal of Clinical and Experimental Microbiology*, 24(1), 61-72.
- ❖ **Fernandez, B. (2014).** *Activité biologique et impact sur le microbiote intestinal des bactéries lactiques bactériocinogènes* (Doctoral dissertation, Université Laval)
- ❖ **Fessard, A. et Remize, F. (2019).** Genetic and technological characterization of lactic acid bacteria isolated from tropically grown fruits and vegetables. *International journal of food microbiology*, 301, 61-72.
- ❖ **Fugaban, J. I. I., Holzapfel, W. H. et Todorov, S. (2022).** The Overview of natural by-products of beneficial lactic acid bacteria as promising antimicrobial agents. *Applied Food Biotechnology*, 9(2), 127-143.

G

- ❖ **Gaamouche, S., Arakrak, A., Bakkali, M. et Laglaoui, A. (2014).** Antimicrobial activity of lactic acid bacteria and bacteriocins isolated from a traditional brine table olives against pathogenic bacteria. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci*, 3(11), 657-666.
- ❖ **Gajbhiye, M. H. et Kapadnis, B. P. (2016).** Antifungal-activity-producing lactic acid bacteria as biocontrol agents in plants. *Biocontrol science and technology*, 26(11), 1451-1470.
- ❖ **Galvez A., Abriouel H., Lopez R.L. et Ben Omar N., 2007.** Bacteriocin-based strategies for food biopreservation. *Int. J. Food Microbiol.*, 120(1-2), 51-70.

- ❖ **Gautam, N. et Sharma, N. (2009).** Bacteriocin: safest approach to preserve food products. *Indian Journal of Microbiology*, 49, 204-211.
- ❖ **Gebbers, J. O. (2007).** Atherosclerosis, cholesterol, nutrition, and statins—a critical review. *GMS German Medical Science*, 5.
- ❖ **Goa, T., Beyene, G., Mekonnen, M. et Gorems, K. (2022).** Isolement et caractérisation des bactéries lactiques du lait fermenté produit dans la ville de Jimma, au sud-ouest de l'Éthiopie, et évaluation de leur activité antimicrobienne contre des bactéries pathogènes sélectionnées. *Journal international des sciences alimentaires*.
- ❖ **Guiraud, R. (1998).** Mesozoic rifting and basin inversion along the northern African Tethyan margin: an overview. *Geological Society, London, Special Publications*, 132(1), 217-229.

H

- ❖ **Hassaine O, 2013.**Caractéristiques d'intérêt technologiques de souches de bactériesLactiques isolées de lait camelin du sud algérien.Thèse de doctorat en biotechnologie.Université d'oran.
- ❖ **Hechard, Y., Renault, D., Cenatiempo, Y., Letellier, F., Maftah, A., Jayat, C., et Delfour, A. (1993).** Les bactériocines contre *Listeria*: une nouvelle famille de protéines? *Le Lait*, 73(2), 207-213.
- ❖ **Hernández-González, J. C., Martínez-Tapia, A., Lazcano-Hernández, G., García-Pérez, B. E., et Castrejón-Jiménez, N. S. (2021).** Bacteriocins from lactic acid bacteria. A powerful alternative as antimicrobials, probiotics, and immunomodulators in veterinary medicine. *Animals*, 11(4), 979.

J

- ❖ **Jack, R. W., Tagg, J. R., et Ray, B. (1995).** Bacteriocins of gram-positive bacteria. *Microbiological reviews*, 59(2), 171-200.
- ❖ **Jasniewski J. (2008).** Etude des mécanismes d'action de bactériocines de la sous-classe Iia, Thèse:Procédés Biotechnologiques et Alimentaires, Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie et des Industries Alimentaires, Institut National Polytechnique de Lorraine, France,p 155.
- ❖ **John, R. P., Anisha, G. S., Nampootheri, K. M., & Pandey, A. (2011).** Micro andmacroalgal biomass: a renewable source for bioethanol. *Bioresource technology*, 102(1), 186-193.

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

K

- ❖ **Kalač, P. (2011).** The effects of silage feeding on some sensory and health attributes of cow's milk: A review. *Food Chemistry*, 125(2), 307-317.
- ❖ **Karam, H. Z., et Karam, N. E. (2006).** Bactéries lactiques du lait de chamelle d'Algérie: mise en évidence de souches de *Lactococcus* résistantes au sel. *Tropicicultura*, 24(3), 153-156.
- ❖ **Klaenhammer et Todd R. (1993).** "Genetics of bacteriocins produced by lactic acid bacteria." *FEMS microbiology reviews*, 12(1-3): 39-85
- ❖ **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
- ❖ **Knez, E., Kadac-Czapska, K., et Grembecka, M. (2023).** Effect of Fermentation on the Nutritional Quality of the Selected Vegetables and Legumes and Their Health Effects. *Life*, 13(3), 655.
- ❖ **Konappa, N. M., Maria, M., Uzma, F., Krishnamurthy, S., Nayaka, S. C., Niranjana, S. R. et Chowdappa, S. (2016).** Lactic acid bacteria mediated induction of defense enzymes to enhance the resistance in tomato against *Ralstonia solanacearum* causing bacterial wilt. *Scientia Horticulturae*, 207, 183-192.
- ❖ **König, H et Fröhlich, J.(2017).** Développement de méthodes permettant la détection et la quantification de microorganismes d'altération du vin.-paris: Université de Bourgogne de Microbiologie et Parasitologie, Vol. 225, pp.3-41
- ❖ **Kostinek M., Specht I., Vinod A., Aedward., Ulrich Schillinger U., Hertel C., Wilhelm H., Holzapfel., Charles M. A. P.et Franza. (2006).** Diversity and technological properties of predominant lactic acid bacteria from fermented cassava used for the preparation of Gari, a traditional African food. *Systematic and Applied Microbiology*, 28: 527–540.
- ❖ **Kouakou P. et al., 2008.** Enhancing the antilisterial effect of *L. curvatus* CWBI-B28 in pork meat and cocultures by limiting bacteriocin degradation. *Meat Sci.*, 80(3), 640-648.

L

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

- ❖ **Lahiri, D., Nag, M., Sarkar, T., Ray, R. R., Shariati, M. A., Rebezov, M. et Domínguez, R. (2022).** Lactic acid bacteria (LAB): Autochthonous and probiotic microbes for meat preservation and fortification. *Foods*, 11(18), 2792.
 - ❖ **Lamont, J. R., Wilkins, O., Bywater-Ekegård, M. et Smith, D. L. (2017).** From yogurt to yield: Potential applications of lactic acid bacteria in plant production. *Soil Biology and Biochemistry*, 111, 1-9.
 - ❖ **Léonard, L. (2013).** Evaluation du potentiel bioprotecteur de bactéries lactiques confinées dans une matrice polymérique. (Doctoral dissertation, Dijon).
 - ❖ **Leveau J.Y., Boiux M. et De Roissart H.B., (1993).** La flore lactique : technique d'analyse et de contrôle dans les industries agro alimentaires. 2e Ed., *Tec & Doc, Lavoisier*. Paris. 3 : 2-40.
 - ❖ **Li, L. et Han, N. S. (2018).** Application of lactic acid bacteria for food biotechnology. *Emerging areas in bioengineering*, 2, 375-398.
 - ❖ **Linares-Morales, J. R., Cuellar-Nevárez, G. E., Rivera-Chavira, B. E., Gutiérrez-Méndez, N., Pérez-Vega, S. B. et Nevárez-Moorillón, G. V. (2020).** Selection of lactic acid bacteria isolated from fresh fruits and vegetables based on their antimicrobial and enzymatic activities. *Foods*, 9(10), 1399.
 - ❖ **Lindgren, S. E. et Dobrogosz, W. J. (1990).** Antagonistic activities of lactic acid bacteria in food and feed fermentations. *FEMS microbiology reviews*, 7(1-2), 149-163.
- M**
- ❖ **Marchal, N., Bourdon, J.L. et Richard, C.L. 1991.** Les milieux de culture pour l'isolement et l'identification biochimique des bactéries .3 ème Ed. , Doin éditeurs, Paris
 - ❖ **Marth, E. H. et Steele, J. (2001).** Metabolism Starter Cultures: simple. In *Applied Dairy Microbiology* (pp. 227-262).
 - ❖ **Melini, F., Melini, V., Luziatelli, F., Ficca, A. G. et Ruzzi, M. (2019).** Health-promoting components in fermented foods: an up-to-date systematic review. *Nutrients*, 11(5), 1189.
 - ❖ **Minervini, F., Celano, G., Lattanzi, A., Tedone, L., De Mastro, G., Gobbetti, M. et De Angelis, M. (2015).** Lactic acid bacteria in durum wheat flour are endophytic components of the plant during its entire life cycle. *Applied and environmental microbiology*, 81(19), 6736- 6748.
 - ❖ **Miranda, C., Contente, D., Igrejas, G., Câmara, S. P., Dapkevicius, M. D. L. E., et Poeta, P. (2021).** Role of exposure to lactic acid bacteria from foods of animal origin in human health. *Food08-- s*, 10(9), 2092.

- ❖ **Mitchell, C., Fredricks, D., Agnew, K., et Hitti, J. (2015).** Hydrogen-peroxide producing lactobacilli are associated with lower levels of vaginal IL1 β , independent of bacterial vaginosis. *Sexually transmitted diseases*, 42(7), 358.
- ❖ **Mohamad, N. I., Manan, M. A. et Sani, N. A. (2022).** The Antibacterial Activity of Lactic Acid Bacteria from Pickled Spondias dulcis (Ambarella) against Foodborne Pathogens. *Trends in Sciences*, 19(5), 2896-2896.
- ❖ **Mokhtari, S., Kheroua, O., et Saidi, D. (2016).** Isolation and Identification of Lactic Acid Bacteria from Algerian durum wheat (*Triticum durum*) natural fermented in underground silos Matmora "El-Hammoum" and their antimicrobial activity against pathogenic germs. *J Nutr Health Sci*, 3(4), 1-12.
- ❖ **Moumene M, (2015).** Isolement et identification des bactéries lactiques et étude de l'effet antagoniste vis-à-vis des germes pathogènes. Thèse de doctorat en sciences biologiques. Université 8 mai 1945-Guelma.

N

- ❖ **Negash A. W., et Tsehai, B. A. (2020).** Current applications of bacteriocin. *International Journal of Microbiology*. 4374891(2020), p.7

O

- ❖ **Oluwajoba S., Akinyosoye F. et Oyetayo V. (2014).** Sensibilité aux antibiotiques et schéma d'adhérence des cellules épithéliales intestinales des bactéries lactiques homo-fermentantes (LAB) isolées de Kunu-Zaki, une boisson céréalière nigérienne à fermentation spontanée. *Journal britannique de recherche en microbiologie*, 4 (12), 1311.
- ❖ **Oppegård, C., Rogne, P., Emanuelsen, L., Kristiansen, P. E., Fimland, G. et Nissen-Meyer, J. (2007).** The two-peptide class II bacteriocins: structure, production, and mode of action. *Microbial Physiology*, 13(4), 210-219.
- ❖ **Orla-jansen, S. H. (1919).** the lactic acid bacteria in biology of microorganisms on grapes, in must and in wine. König H. ET Frohlich J. (2009) Springer Ed, Allemagne, p3-29.
- ❖ **Oscáriz, Juan C. et Antonio G. Pisabarro. (2001).** "Classification and mode of action of membrane-active bacteriocins produced by gram-positive bacteria." *International Microbiology*, (4): 13-19.

P

- ❖ **Pérez-Ramos, A., Madi-Moussa, D., Coucheney, F. et Drider, D. (2021).** Current knowledge of the mode of action and immunity mechanisms of LAB-bacteriocins. *Microorganisms*, 9(10), 2107.

- ❖ **Prescott. L., Harley. L. et K lein.D.(1999).** Microbiologie by the MC. Graw-Hill companies, Inc, Paris. p 986. ISBN: 2-8041-4256-6.

R

- ❖ **Rakinet, M., Vukasinovic, M., Siler-Marinkovic, S. et Maksimovic, M. (2007).** Contribution of lactic acid fermentation to improved nutritive quality vegetable juices enriched with brewer's yeast autolysate. *Food chemistry*, 100(2), 599-602.
- ❖ **Rea-Mary, C., Ross, R. P., Cotter, P. D. et Hill, C. (2001).** Classification of bacteriocins from Gram-positive bacteria. *Prokaryotic antimicrobial peptides: From genes to applications*, 29-53.
- ❖ **Reuben, R. C., Roy, P. C., Sarkar, S. L., Alam, R. U. et Jahid, I. K. (2019).** Isolation, characterization, and assessment of lactic acid bacteria toward their selection as poultry probiotics. *BMC microbiology*, 19, 1-20.
- ❖ **Roy, A. et Rai, C. (2017).** Isolation and characterization of lactic acid bacteria with probiotic potential from pickles. *Bioscience Discovery*, 8(4), 866-875.

S

- ❖ **Sablon, E., Contreras, B., et Vandamme, E. (2000).** Antimicrobial peptides of lactic acid bacteria: mode of action, genetics and biosynthesis. *New Products and New Areas of Bioprocess Engineering*, 21-60.
- ❖ **Sáez, G. D., Flomenbaum, L. et Zárata, G. (2018).** Lactic acid bacteria from argentinean fermented foods: isolation and characterization for their potential use as starters for fermentation of vegetables. *Food technology and biotechnology*, 56(3), 398.
- ❖ **Saidi N., Guessas B., Bensalah F., Badis A., Hadadji M., Henni D.E., Salminen S., Gorbach S., Lee Y.K et Benno Y. (2004).** Human studies on probiotics: what is scientifically proven today. In: *Lactic acid bacteria: microbiological and functional aspects* (Salminen S., Wright A.V. et Ouwehand A.). 3e Ed., Marcel Dekker, Inc. New York. 515-530.
- ❖ **Sakandar, H. A., Kubow, S. et Sadiq, F. A. (2019).** Isolation and in-vitro probiotic characterization of fructophilic lactic acid bacteria from Chinese fruits and flowers. *Lwt*, 104, 70-75.
- ❖ **Şanlıbaba, P. et Güçer, Y. (2015).** Antimicrobial activity of lactic acid bacteria. *J. Int. Sci. Publ*, 3, 451-457.
- ❖ **Savard, T., CHAMPAGNE, C. P. et BEAULIEU, C. (2000).** Influence des proportions de *Leuconostoc mesenteroides* dans l'inoculum sur la fermentation d'un mélange de légumes à base de carottes. *Sciences des aliments*, 20(6), 603-610.

- ❖ **Schöbitz R., Suazo V., Costa M. et Ciampi L., 2003.** Effects of a bacteriocin-like inhibitory substance from *Carnobacterium piscicola* against human and salmon isolates of *Listeria monocytogenes*. *Int. J. Food Microbiol.*, 84, 237-244.
- ❖ **Shareck, J., Choi, Y., Lee, B. et Miguez, C. B. (2004).** Cloning vectors based on cryptic plasmids isolated from lactic acid bacteria: their characteristics and potential applications in biotechnology. *Critical reviews in biotechnology*, 24(4), 155-208.
- ❖ **Smaoui, S. (2010).** *Purification et caractérisation de biomolécules à partir de microorganismes nouvellement isolés et identifiés* (Doctoral dissertation).
- ❖ **Smith, A. C. et Hussey, M. A. (2005).** Gram stain protocols. *American Society for Microbiology*, 1, 14.
- ❖ **Srivastava, S., Srivastava, A., Chandra, N. et Kumar, S. (2017).** Antimicrobial Metabolites of Probiotic Bacteria: Its properties and Diversity. *Research & Reviews in Biotechnology & Biosciences*.4(2),49-56
- ❖ **Šušković, J., Kos, B., Beganović, J., Leboš Pavunc, A., Habjanič, K. et Matošić, S. (2010).** Antimicrobial activity—the most important property of probiotic and starter lactic acid bacteria. *Food Technology and Biotechnology*, 48(3), 296-307.
- ❖ **Swain, M. R., Anandharaj, M., Ray, R. C., et Rani, R. P. (2014).** Fermented fruits and vegetables of Asia: a potential source of probiotics. *Biotechnology research international*.
- ❖ **Szutowska, J. et Gwiazdowska, D. (2021).** Probiotic potential of lactic acid bacteria obtained from fermented curly kale juice. *Archives of Microbiology*, 203(3), 975-988.

T

- ❖ **Taale, E., Savadogo, A., Zongo, C., Tapsoba, F., Karou, S. D. et Traore, A. S. (2016).** Les peptides antimicrobiens d'origine microbienne: cas des bactériocines. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 10(1), 384-399.

V

- ❖ **Vieco-Saiz, N., Belguesmia, Y., Raspoet, R., Auclair, E., Gancel, F., Kempf, I. et Drider, D. (2019).** Benefits and inputs from lactic acid bacteria and their bacteriocins as alternatives to antibiotic growth promoters during food-animal production. *Frontiers in microbiology*, 10, 57.
- ❖ **Vignolo G. et al., 2000.** Combined effect of bacteriocins on the survival of various *Listeria* species in broth and meat system. *Curr. Microbiol.*, 41, 410-416.

W

- ❖ Wang, Y., Wu, J., Lv, M., Shao, Z., Hungwe, M., Wang, J. et Geng, W. (2021). Metabolism characteristics of lactic acid bacteria and the expanding applications in food industry. *Frontiers in bioengineering and biotechnology*, 9, 612285.

Y

- ❖ Yap, P. C., MatRahim, N. A., AbuBakar, S., et Lee, H. Y. (2021). Antilisterial potential of lactic acid bacteria in eliminating *Listeria monocytogenes* in host and ready-to-eat food application. *Microbiology Research*, 12(1), 234-257.
- ❖ Yu, J., Gao, W., Qing, M., Sun, Z., Wang, W., Liu, W. et Zhang, H. (2012). Identification and characterization of lactic acid bacteria isolated from traditional pickles in Sichuan, China. *The Journal of General and Applied Microbiology*, 58(3), 163-172.

Z

- ❖ Zalán, Z., Németh, E., Baráth, Á. Et Halász, A. (2005). Influence of growth medium on hydrogen peroxide and bacteriocin production of *Lactobacillus* strains. *Food Technology and Biotechnology*, 43(3), 219-225.
- ❖ Zamaroczy, M., et Chauleau, M. (2011). Colicin killing: foiled cell defense and hijacked cell functions. *Prokaryotic Antimicrobial Peptides: From Genes to Applications*, 255-287.
- ❖ Zhao, X., Hu, R., He, Y., Li, S., Yang, J., Zhang, J., et Xue, T. (2022). Screening of isolated potential probiotic lactic acid bacteria from Sichuan pickle for cholesterol lowering property and triglycerides lowering activity. *Food Science and Technology*, 42.