



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

Université Abbes Laghrou-Khenchela
Faculté des Science de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Moléculaire et Cellulaire

Mémoire

En vue de l'obtention de diplôme : **Master Académique**

Filière : **Sciences Biologiques**

Option : **Microbiologie Appliqué**

Thème :

**Activité Antibactérienne de *Lactococcus*
*lactis***

Présenté par :

HARRATH Ikram

Devant les membres de jury :

<u>L'ensignant</u>	<u>université</u>	<u>Le rôle</u>
<u>M. ZERAIB. AZZEDINE</u>	<u>Abess laghrou</u>	<u>Président</u>
<u>M.BOUSSAAN ABDELHALIM</u>	<u>Abess laghrou</u>	<u>Encadreur</u>
<u>M.MAZOUZ LAKHDAR</u>	<u>Abess laghrou</u>	<u>Examineur</u>

Année Universitaire :

2022\2023

Remerciements

Tout d'abord, je tiens à remercier, le bon Dieu de nous avoir procuré la patience et la force d'accomplir Ce modeste travail, je voulons exprimer nos profonds respects et remerciements à mon

promoteur **Dr. BOUSSAA. A.**

pour son aide précieuse et surtout pour tous ses conseils et ses remarques qui j'est permis de réaliser ce travail,

Un grand remerciement à **Dr. MAZOUZ. L.** *d'avoir accepté de*
présider

le jury de mon mémoire.

Un grand remerciement également à **Dr. ZERAB. A.** *d'avoir*
accepté

d'examiner ce travail.

Nous profitons aussi de cette occasion pour adresser nos remerciements à toute ma famille qui j'ont toujours encouragé et soutenus tout au long des années de mon étude.

À la fin mon remerciements s'adressent aussi à tous ceux qui font contribué de près ou de loin pour la réalisation de ce travail.

Dédicace

Tout d'abord, je tiens à remercier DIEU le plus puissant de m'avoir donné la force et le courage de mener à bien ce modeste travail. Je tiens à dédier ce travail à : À ma tendre mère qui n'a jamais cessé de m'encourager pour atteindre au succès et mon très cher père (Allah Yerhamou) À mon chers frères *Salah et Walid* et ma sœur *Samira* aucun langage ne saurait exprimer mon respect et ma considération pour votre soutien et encouragements. Je vous dédie ce travail en reconnaissance de l'amour que vous m'offrez quotidiennement et votre bonté exceptionnelle. Que Dieu le Tout Puissant vous garde et vous procure santé et bonheur.

Et mais amis: *Soumya et Lineb*

Et *SARA* je ne peux trouver les mots justes et sincères pour vous exprimer mon affection et mes pensées, vous êtes pour moi des sœurs et des amies sur qui je peux compter.

RÉSUMÉ

Cette étude avait pour objectif de mettre en évidence le pouvoir antibactérien des souches de *Lactococcus lactis* qui sont *Lactococcus lactis subsp lactis* et *Lactococcus subsp cermoris* vis -à-vis des cinq bactéries pathogènes in vitro. La recherche de l'action antibactérienne a été réalisée suivant la méthode de diffusion sur gélose par les cylindres de gélose qui montre deux souches bactériennes inhibent par *Lactococcus lactis subsp lactis* sont *E. coli* et *B. cereus*. Une caractérisation de l'agent inhibiteur a été réalisée après élimination de l'effet des acides organiques (neutralisation du surnageant à pH 6.5) et un effet peroxydé d'hydrogène par incubation anaérobie le résultat montre l'absence de zones d'inhibitions *B. cereus* et *E. coli* testée par *Lactococcus lactis subsp lactis* donc l'activité qui montre par la méthode des cylindres d'agar font penser que cause par les acides organiques ou les peroxydes d'hydrogène.

Ces résultats suggèrent que l'utilisation de ces deux souches de *Lactococcus lactis subsp lactis* pourrait être utilisée comme agent antibactérien naturel pour lutter contre les infections de source alimentaire cause par *E. coli* et *B. cereus*.

Mots clés : *Lactococcus lactis*, activité antibactérienne, bactéries lactiques.

Summary

The aim of this study was to highlight the antibacterial power of two *Lactococcus lactis* strains which are *Lactococcus lactis subsp lactis* and *Lactococcus subsp cermoris* against the five pathogenic bacteria in vitro. The search for the antibacterial action was carried out using the agar diffusion method using agar cylinders, which shows two bacterial strains inhibited by *Lactococcus lactis subsp lactis*: *E. coli* and *B. cereus*. A characterization of the inhibiting agent was carried out after elimination of the effect of organic acids (neutralization of the supernatant at pH 6.5) and a hydrogen peroxide effect by anaerobic incubation the result shows the absence of zones of inhibition *B. cereus* and *E. coli* tested by *Lactococcus lactis subsp lactis* therefore the activity which shows by the agar cylinder method suggests that caused by organic acids or hydrogen peroxides.

These results suggest that the use of these two strains of *Lactococcus lactis subsp lactis* could be used as a natural antibacterial agent to resist food borne infections caused by *E. coli* and *B. cereus*.

Keywords: *Lactococcus lactis*, antibacterial activity, lactic acid bacteria.

ملخص

الهدف من هذه الدراسة هو تسليط الضوء على القوة المضادة للبكتيريا لسلاسل *Lactococcus lactis* وهي *Lactococcus lactis subsp lactis* و *Lactococcus subsp cermoris* ضد البيكتيريا الضارة. تم إجراء البحث عن التأثير المضاد للبكتيريا باستخدام طريقة انتشار الجيلوز باستخدام أسطوانات الجيلوز والتي أظهرت تثبيط الاشريشية القولونية *باسيليس سيريس* بواسطة *Lactococcus lactis subsp lactis* تم إجراء تحديد للعامل المثبط بعد القضاء على تأثير الأحماض العضوية (تحديد المادة الطافية عند درجة الحموضة 6.5) وتأثير بيروكسيد الهيدروجين عن طريق الحضانة اللاهوائية، وأظهرت النتيجة عدم تثبيط وجود تثبط للسلاسلتين السابقتين وبالتالي فإن النشاط الذي يظهر بواسطة طريقة أسطوانة الجيلوز وهذا يشير إلى أن النشاط المثبط ناتج عن الأحماض العضوية أو لبيروكسيد الهيدروجين. يمكن استغلال هذا النشاط المضاد للبكتيريا لمحاربة التسممات الغذائية الناتجة عن تلوث الاطعمة بالاشريشية القولونية و *باسيليس سيريس* باستخدامها كعامل حفظ طبيعي.

الكلمات المفتاحية: نشاط مضاد للبكتيريا, بيكتيريا حمض اللاكتيك *Lactococcus lactis subsp lactis*,

Table de métiars

Dédicaces	
Remerciements	
المخلص	
Résumé	
Abstract	
Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE	2
Introduction générale	
CHAPITRE I: GENERALITE SUR <i>Lactococcus lactis</i>	
1. Introduction	4
2. Historique et taxonomie	4
3. Caractères de <i>Lactococcus lactis</i>	
3.1. Caractères générales	5
3.2. Caractères métaboliques	6
3.3. Caractères génomiques	6
3.4. Résistance aux antibiotiques	7
3.5. Pouvoir pathogène	7
5. Habitat	7
6. Application	8
6.1. Production de produits laitiers	8
6.2. Utilisation comme probiotique	8
6.3. Bioconservation des aliments	8
6.4. Production des vaccins	8
7. Perspectives d'avenir	9
CHAPITRE II : ACTIVITE ANTIBACTERIENNE	
1. Le concept d'activité antibactérienne	11
2. Mécanisme d'activité antibactérienne chez <i>Lactococcus lactis</i>	11
2.1. Production des acides organiques	12
2.2. Production du peroxyde d'hydrogène	12
2.3. Production de la dioxyde de carbone (CO ₂)	13
2.4. Production du diacétyl	13
3. Production des bactériocines	13
3.1. Généralité et définition	13
3.2. Propriétés des bactériocines	14
3.3. Les facteurs influençant la biosynthèse de bactériocines	14
3.4. Les bactériocines produites par les bactéries lactiques	14
3.5. Classification des bactériocines	15
3.6. Spectre d'activité de bactériocines des bactéries lactiques et mode d'action	16
3.7. Les facteurs de production des bactériocines par les bactéries lactiques	17
3.8. Immunité	18
3.9. Résistance aux bactériocines	18
4. La nisine	18
5. Domaines d'utilisation de bactériocines	19

PARTIE EXPERIMENTALE	
Matériels et Méthodes	
1. Matériel biologiques	21
1.1. Origines d'isolats de <i>Lc. lactis</i>	21
1.2. Les bactéries indicatrices	21
2. Méthodes expérimentales	22
2.1. Repiquage et vérification des Souches de <i>Lc. lactis</i>	22
3.2. Mise en évidence de l'activité antibactérienne	22
3.2.2. Préparation de la suspension des bactéries indicatrices	22
3.3. Tests d'évaluation d'activité antibactérienne	22
4. Identification des substances responsables de l'activité antibactérienne	23
4.1. Préparation de surnagent des souches testées	23
4.2. Méthode des disques	23
Résultats et discussions	
1. Les résultats	26
1.1. Lecteur de l'activité antibactérienne	26
1.2. Identification des substances responsables de l'activité antibactérienne	27
2. discussion des résultats	28
Conclusion générale	31
Références bibliographiques	
Annexes	

Liste des abréviations

% :	Pourcentage
°C :	Degré celsius
µg :	Microgramme
µL :	Microlitre
ADN :	Acide déoxyribonucléique
ARNr :	ADN ribosomal
<i>B. cereus</i> :	<i>Bacillus cereus</i>
CDC :	Centers for Disease Control and Prevention
CO₂ :	Dioxyde de carbone
<i>E. coli</i> :	<i>Escherichia coli</i>
GC% :	Pourcentage de guanine et cytosine
Gram - :	Gram négatif
Gram + :	Gram positif
H :	Heure
H₂O₂ :	Peroxyde d'hydrogène
<i>K.pneumoniae</i> :	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
kDa :	Kilodalton
<i>Lc.</i>	<i>Lactococcus</i>
M17 :	Milieu de Terzaghi et Sandine
MH :	Miller Hinton
MRS :	Milieu de Man, Rogosa et Sharpe
N :	Normalité
NaCl :	Chlorure de sodium
NADH :	nicotinamide adénine dinucléotide réduit
NaOH :	Hydroxyde de sodium
O₂ :	Dioxygène
PCR :	Polymerase Chain Reaction
OH :	Hydroxyle
<i>S. aureus</i> :	<i>Staphylococcus aureus</i>
Spp :	Plusieurs espèces non précisée
Subsp :	Sous espèce
pH :	Potentiel hydrogène
Tr :	Tour

Liste de tableaux

Tableau 01: Métabolites antimicrobiens sécrétés par les bactéries lactiques autres que les bactériocines(Suskovicet <i>al.</i> , 2010).	
Tableau 02: Certain bactériocines produites par les bactéries lactiques.	
Tableau 03 : les souches testées.	
Tableau 04 : les souches indicatrices.	
Tableau 05: Valeurs des diamètres des zones d'inhibition dues à l'activité antibactérienne de Lc5 et Lc6.	

Liste de figures

Figure 1: Taxonomie et approche historique de <i>Lactococcus lactis</i> (Hylckamaet <i>al.</i> , 2006).	
Figure 2: <i>Lactococcus lactis</i> grossissement 20000X par micrographie électronique à balayage par Joseph A. Heintz, Université du Wisconsin-Madison (https://bioinfo.bact.wisc.edu/themicrobialworld/Lactococcus.html).	
Figure 03: Séquence et structure de lantibiotiques de type A (Nisine), B (Mersacidine) et d'un lantibiotique (Lacticine 3147 A1 et A2) (Dortu et Thonart, 2008).	
Figure 04: Mode d'action des bactériocines vis-à-vis de bactéries à Gram positif (A) et des bactéries à Gram négatif (B) (Cotter <i>et al.</i> , 2013).	
Figure 05: A) Montage de filtration sous vide.	
Figure 06: Technique de cylindre d'agar.	
Figure 07: Zones d'inhibitions de Lc5 vis-à-vis de <i>E. coli</i> (a) et <i>B. cereus</i> (b).	
Figure 08: Les résultat de Lc5 et Lc6 vis-à-vis de <i>Enterococcus spp</i> (a), <i>k. pneumoniae</i> (b) et <i>S. aureus</i> (c).	

INTRODUCTION

Introduction

Parmi les matières premières agricoles, le « lait » est la source d'un nombre important de produits hautement diversifiée. Cette diversité est en relation avec sa composition, mais aussi avec l'intervention des microorganismes. En effet, le lait est un milieu propice au développement des microorganismes, qu'ils soient d'intérêt technologique, neutres ou responsables d'altérations ou même dangereux pour la santé humaine (Michel *et al.*, 2001).

La qualité et la salubrité du lait sont fortement influencées par le taux de contamination par des agents pathogènes tels que *Staphylococcus spp*, *Escherichia coli*, *Salmonella spp*, *Klebsiella spp*, *Campylobacter jejuni*, *Bacillus cereus* et *Listeria monocytogenes* qui ont été signalés à plusieurs reprises avec une fréquence élevée de contamination dans le lait (Ismail *et al.*, 2019; Oliver *et al.*, 2005; Tetili *et al.*, 2017).

Les bactéries pathogènes sont à l'origine de diverses pathologies et d'intoxications alimentaires, malgré l'application des techniques modernes de transformation des aliments, les toxi-infections alimentaires sont à la base de 6,5 à 33 millions de maladies humaines et plus de 9000 morts chaque année dans le monde (Bayoub *et al.*, 2009).

Lactococcus lactis est l'une des bactéries lactiques qui ont retenu l'attention en tant qu'organismes bénéfiques. Les bactéries lactiques créent un environnement à faible pH, en fermentant plusieurs nutriments, et produisent des facteurs antimicrobiens, qui peuvent empêcher la contamination par des bactéries pathogènes. De plus, l'interaction entre les bactéries lactiques et la muqueuse intestinale de l'hôte sont associées à des effets immunostimulants et immunomodulateurs (Suzuki et Suzuki *, 2021), en plus, cette bactérie utilisée dans de nombreuses cultures de départ pour fermenter les aliments et ainsi empêcher la croissance d'agents pathogènes ou de bactéries de détérioration en produisant plusieurs substances antimicrobiennes (Ito *et al.*, 2003; Bragason *et al.*, 2020).

Plusieurs bactéries lactiques sont connues comme productrices de bactériocines qui sont des substances antimicrobiennes de nature peptidique (Diep et Nes., 2002), mais actuellement seule la nisine produite par *Lactococcus lactis* est autorisée par certains pays dans le domaine alimentaire comme agent conservateur (Khemariya, 2016).

À travers cette étude nous contribuons à :

- Investigation du pouvoir antibactérien des souches de *Lactococcus lactis* isolées à partir du fromage traditionnel (Djben).
- Poursuivre les autres travaux menés par l'Université de Khenchela pour valoriser les ressources et les produits de la région.

CHAPITRE I:
GENERALITE SUR
LACTOCOCCUS
LACTIS

1. Introduction

En raison de son énorme importance industrielle, *Lactococcus lactis* a fait l'objet de nombreuses études. Ceux-ci ont à aboutir à l'élucidation de la physiologie et de la biologie moléculaire de nombreux traits pertinents pour les applications industrielles, y compris la production de composés aromatiques les xopolysaccharides pertinents pour le développement de la texture, et les facteurs qui influencent la croissance et la stabilité des cellules (Van Hylckama Vlieg^{1,2} *et al.*, 2006). De plus, grâce à la disponibilité d'un vaste ensemble moléculaire boîte à outils et efforts récents de séquençage du génome, *Lactococcus lactis* a acquis une position forte en tant qu'organisme modèle à la fois pour les bactéries Gram positives à faible GC % et, en particulier, pour les bactéries lactiques (Kok *et al.*, 2000; Mierau *et al.* 2005).

2. Historique et taxonomie

La taxonomie de *Lactococcus lactis* est représentée dans une perspective historique fondée sur la description de *Bacterium lactis* par Lister en 1878. La bactérie *Lactococcus lactis* du siècle suivant a été recalciifiée en *Streptococcus lactis* et *Lactobacillus xylosus*. Dans 1985, une reclassification complète, publiée par Schleifer *et al.* (1985) qui a introduit l'espèce *Lactococcus lactis* comprenant une combinaison des souches précédentes définies comme *Streptococci* et *Lactobacillus*.

Lactococcus lactis, la sous-espèce *lactis* diffère des *cremoris* par son phénotype à cause de sa capacité de production ammoniacale à partir de l'arginine, chez *Lactococcus lactis*, la sous-espèce *lactis* diffère de *cremoris* par son phénotype à cause de sa capacité de production d'ammoniac de l'arginine, l'adaptation avec la température élevée et avec les concentrations de NaCl, et la fermentation du maltose. Le *biovar diacetylactis* de *Lactococcus lactis* est reconnu pour son aptitude à la fermentation du citrate. Plusieurs études portant sur l'hybridation ADN-ADN, la séquence d'ARNr 16S, la séquence génique et la PCR. Les analyses d'empreintes digitales montrent qu'il existe deux lignées génomiques (Delgado et Mayo, 2004; Moriet *et al.*, 2004).

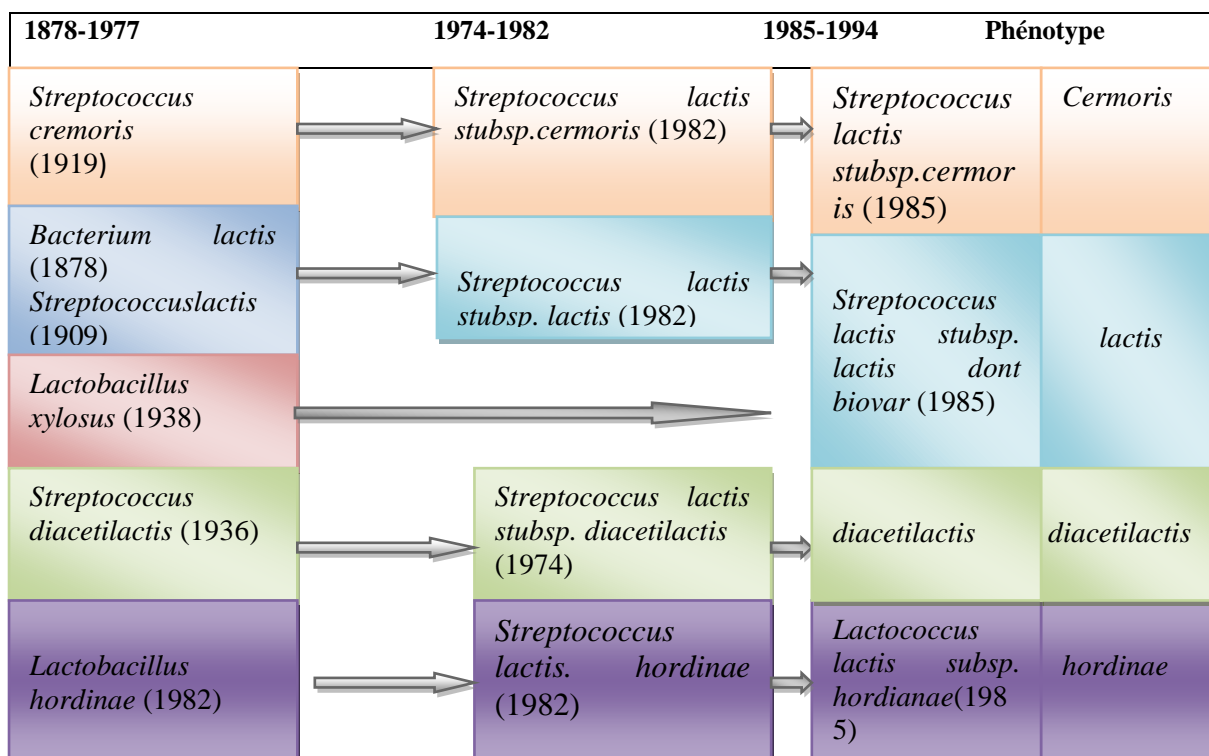


Figure 3: Taxonomie et approche historique de *Lactococcus lactis* (Hylckamaet al., 2006).

3. Caractères de *Lactococcus lactis*

3.1. Caractères générales

Lactococcus lactis est une bactérie à faible pourcentage de guanine et de cytosine (environ 38 %), en forme d'ovule associé à des paires ou des chaînes de longueur variable, Gram + et non sporulant catalase négative, non mobile. Elle est mésophile et sa croissance optimale est de 30°C. Son métabolisme est anaérobie facultatif et il est capable de se multiplier aérobie en présence d'hème (Duwatet al., 2001; Khemariya1*et al.,2017).

Lc. lactis a de multiples auxotrophes selon l'origine de la souche, ce sont des effets synergiques des protéases, des peptidases et des systèmes transporteurs de peptides, qui lui permettent de prendre les acides aminés fondamentaux à partir de l'environnement (Oxaran, 2012).

La détermination des besoins nutritifs de *Lactococcus lactis* montre que la souche isolée d'un milieu laitier est auxotrophique pour neuf acides aminés et cinq vitamines. D'autre part, la souche isolée à partir d'un milieu végétal nécessite six acides aminés et cinq vitamines pour sa croissance (Loubière et al.,1996).

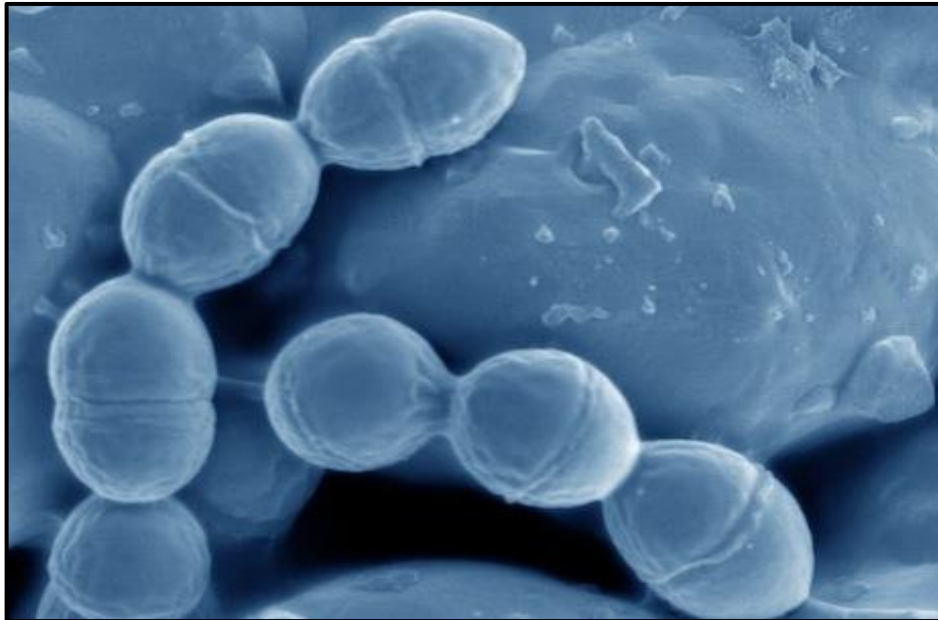


Figure 4: *Lactococcus lactis* grossissement 20000X par micrographie électronique à balayage par Joseph A. Heintz, Université du Wisconsin-Madison(<https://bioinfo.bact.wisc.edu/themicrobialworld/Lactococcus.html>).

3.2. Caractères métaboliques

Lc. lactis est souvent adopté comme modèle pour les bactéries anaérobies facultatives Gram positives et faibles en GC %, grâce à sa simplicité de culture *in vitro* et son simple métabolisme. Les propriétés métaboliques de *Lc. lactis* affectent la qualité des produits laitiers fermentés, rendant leur étude essentielle d'un point de vue économique. *Lc. lactis* peut fonctionner aérobie et anaérobie, produisant exclusivement de l'acide lactique (L+). Le métabolisme de *Lc. lactis* comprend 621 réactions et 509 métabolites. Il a besoin de glucose, arginine, méthionine, glutamate et valine pour se développer. La production d'acide lactique par *Lactococcus lactis* est anaérobie et utilise des glucides tels que le fructose, le glucose et le lactose comme sources de carbone. Les sources de carbone ont un impact variable sur le taux de croissance. Le glucose, le mannose, le galactose, le saccharose, le lactose et la glucosamine ont un taux de croissance équivalent, tandis que le fructose et le mannitol ont un taux plus faible (Roussel, 2015; Khemariya, 2016).

3.3. Caractères génomiques

Le génome de *Lc. lactis* est un chromosome circulaire de 2, 365, 589 paires de bases, dans lequel 86 % du génome code pour une protéine, 1,4 % pour l'ARN, 12,6 % pour une région non codante, 64,2 % des gènes codent pour des protéines fonctionnelles connues et

20,1 % pour gènes pour une protéine connue avec des fonctions inconnues (Khemariya *et al.*, 2016).

Les souches de *Lc. lactis* présentent également une grande diversité, les plasmides. Dans les lactocoques, on dénombre plus de 200 plasmides dont seulement 86 ont été séquencés. Souches naturelles de *Lc. lactis* spp peuvent contenir 04 ou 07 plasmides. Ces plasmides fournissent des fonctions différentes la plupart du temps d'intérêt technologique cette diversité plasmidique qui est à l'origine de la diversité des capacités métaboliques des différentes souches (Roussel, 2015).

3.4. Résistance aux antibiotiques

Lc. lactis agit comme un réservoir de gènes de résistance aux antimicrobiens ces gènes de résistance aux antibiotiques peuvent être efficacement transférés à d'autres agents pathogènes soit par la chaîne alimentaire, soit dans le tractus gastro-intestinal de l'homme et des animaux qui résident dans le corps de l'hôte (Salyers *et al.*, 2004).

Lc. lactis de qualité alimentaire doit être caractérisé pour garantir l'absence de résistance acquise aux antimicrobiens pour être un potentiel probiotique et pourrait être utilisé dans différentes formulations pour la consommation humaine et animale (Liasiet *et al.*, 2009).

4. Pouvoir pathogène

Le premier cas d'infection humaine (endocardite à *Lc. lactis cremoris*) a été rapporté en Europe, en 1955. Un deuxième cas a été rapporté en 1974, toujours sur le même continent, et ce n'est qu'en 1985 qu'un premier cas (endocardite à *Lc. lactis lactis*) fut décrit dans la littérature anglo-saxonne. En 1995, 39 souches de lactocoques isolées de cas d'infections humaines avaient été transmises au CDC d'Atlanta (Mofredj *et al.*, 2007).

5. Habitat

Dans la nature, *Lc. lactis* occupe une niche liée aux surfaces végétales ou animales et au tractus gastro-intestinal animal de même que dans les organes génitaux, et respiratoires des humains et des animaux. Sa présence chez les humains ou les animaux est accidentelle parce qu'ils ne se produisent normalement pas en nombre important dans les selles ou le sol (Khemariya *et al.*, 2017).

On pense qu'il est en état inactif à la surface des plantes et qu'il se multiplie dans le tractus gastro-intestinal après avoir été avalé par un ruminant. En revanche, les espèces «domestiquées» de *Lc. lactis*, utilisée par l'industrie laitière comme starters dans la fermentation du fromage, vit dans une niche différente, qui est définie par des considérations

technologiques, telles que la croissance rapide et la production rapide d'acide lactique dans le lait (Bolotin, 2001; Mannoet al., 2018).

Il est intéressant de noter que *Lc. lactis* aurait été identifiée dans quelques rares cas d'infection. mais la plupart de ces rapports ne reposent que sur des critères d'identification rudimentaires tels que des profils fermentaires établis (Güzet al., 2006; Uchidaet al.,2011).

6. Application

6.1. Production de produits laitiers

Groupe de streptocoques N'a été intégré au genre Vagococcus. Le genre comprend cinq espèces mais parmi les espèces de ce genre seulement *Lc. lactis* utilisée dans la technologie laitière comme la production de lait aigre, la crème, le beurre, les fromages frais et de nombreuses variétés de productions de fromages à pâte semi-dure(Samarzijaet al., 2001).

6.2. Utilisation comme probiotique

Lactococcus lactis joue un rôle vital dans les secteurs alimentaires, laitier et sanitaire. De plus, il y a un intérêt croissant envers les avantages possibles pour la santé de l'activité probiotique de cet organisme qui est généralement spécifique à l'espèce et à la souche et dépend de la survie dans le tractus gastro-intestinal avec un nombre suffisant (Khemariya1 et al., 2017).

6.3. Bioconservation des aliments

La nisine est une bactériocine largement caractérisée produite par certaines souches de *Lc. lactis ssp. lactis* qui est utilisé comme bioconservateurs(Suganthiet al., 2012) elle est disponible dans le commerce en tant qu'additif alimentaire E234 et Nisaplin(Khemariya1 et al., 2017).

La nisine est la seule bactériocine licenciée comme bon conservateur de qualité alimentaire. Il inhibe la croissance des bactéries d'altération Gram positive telle que *Listeria*, *Staphylococcus* et *Mycobacterium*, et des bactéries sporulées *Bacillus* et *Clostridium*. On attribue aussi la propriété de conservation de *Lc. lactis* à ses métabolites antimicrobiens, dont l'éthanol, le peroxyde d'hydrogène, le diacétyle et les acides organiques(Suskovicet al., 2010).

6.4. Production des vaccins

Lc. lactis a été rapporté qu'il était utilisé comme système d'administration de vaccin contre l'infection à *Helicobacter pylori*(Lee et al., 2001), Il a été fabriqué comme vaccin

vivant contre la brucellose en ciblant et en produisant l'antigène *Brucella abortus* L7/L12 dans *Lc. lactis* (Ribeiro *et al.*, 2002).

7. Perspectives d'avenir

Lc. lactis du fromage au lait cru s'est avéré coder pour la résistance à la tétracycline mais aussi pour de nombreux gènes qui peuvent être bénéfiques dans les fermentations laitières (Fallico *et al.*, 2011). En guérissant la souche de l'antibiotique codant pour le plasmide sans génétique modification, la souche pourrait être utilisée dans des fermentations sans crainte de disséminer la résistance aux antibiotiques (Cavanagh *et al.*, 2014).

Récemment, un isolat non laitier de *Lactococcus* s'est avéré posséder des pili de surface avec la capacité de se lier aux cellules épithéliales intestinales humaines (Meyrand *et al.*, 2013). L'ajout d'organismes de ces environnements à d'autres, plus largement consommés des produits comme le fromage, peut aider à maintenir la diversité naturelle du microbiote intestinal.

De même, les composés antimicrobiens naturels produits à partir de souches non laitières peuvent améliorer la durée de conservation des produits alimentaires sans ajout d'additifs ou conservateurs (Cavanagh *et al.*, 2014).

CHAPITRE II:

ACTIVITE

ANTIBACTERIENNE

1. Le concept d'activité antibactérienne

La majorité des denrées peuvent être considérées comme des environnements constitués de divers microorganismes, qui n'existent pas en tant qu'individus séparés n'interagissant pas, mais qui existent plutôt au niveau communautaire, formant ainsi les communautés microbiennes complexes de l'aliment (**Dutton et Wolfe, 2014**). Ces microorganismes comprennent les bactéries endogènes présentes initialement dans la matière première, des bactéries exogènes qui sont issues de l'environnement de production avec éventuellement, présence de bactéries pathogènes ou d'altération, les interactions entre ces bactéries et leur environnement déclenché un type d'interaction négative sont la compétition pour les nutriments et l'espace par un mécanisme dit l'activité antibactérienne cette interaction consiste à fabriquer des métabolites inhiber les autres bactéries présentes dans leur environnement (**Ramia, 2018**).

2. Mécanisme d'activité antibactérienne chez *Lactococcus lactis*

Lactococcus lactis est l'une des bactéries lactiques qui utilisées habituellement en tant que ferments pour développer certaines caractéristiques organoleptiques, peuvent également avoir un rôle comme agent de conservation des denrées à cause de leur capacité de compétition avec les bactéries d'altération dans les milieux de fermentation ce pouvoir et résulte de production de métabolites de natures peptidiques et de natures non peptidiques tels: le dioxyde de carbone, le peroxyde de carbone les acides organiques et les bactériocines (tableau 01) (**Léonard, 2013; Ajaout al., 2021**).

Tableau 01: Métabolites antimicrobiens sécrétés par les bactéries lactiques autres que les bactériocines (**Suskovic et al., 2010**).

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

2.1. Production des acides organiques

Les principaux produits du métabolisme des bactéries lactiques sont les acides organiques produits par la voie homofermentaire ou par la voie hétérofermentaire. Grâce à cette production d'acides organiques, les bactéries lactiques diminuent le pH du milieu dans lequel elles se multiplient en inhibant une partie de la flore qui s'y développe (Najett, 2018) et *Lactococcus lactis* est l'une de ces bactéries qui produit les acides organiques (Suskovice *et al.*, 2010).

2.2. Production du peroxyde d'hydrogène

Le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) provient des bactéries lactiques en présence d'oxygène. Le peroxyde d'hydrogène présente un effet antimicrobien qui peut être expliqué par la production de radicaux libres tels que le groupement super oxyde (O₂) et le groupement hydroxyle (OH) capable d'endommager l'ADN bactérien (Leonard, 2013).

Le peroxyde d'hydrogène est produit par *Lc. Lactis* en présence d'une flavoprotéine oxydase ou d'une NADH peroxydase. Celui-ci ne possède pas de catalase typique contenant un noyau d'hématome pour décomposer l'eau oxygénée en oxygène et en eau. Il peut s'accumuler et inhiber différents micro-organismes par oxydation des groupes sulfhydriles de protéines, provoquant la dénaturation de beaucoup d'enzymes et peroxydation de la lipase de membrane (Zalanet *et al.*, 2005).

Le peroxyde d'hydrogène peut aussi agir à l'égard de bactéries à catalase positive (Ito *et al.*, 2003). L'action bactéricide de H₂O₂ dépend des concentrations et des facteurs environnementaux tels que le pH et la température (Nair *et al.*, 2017).

2.3. Production de la dioxyde de carbone (CO₂)

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

2.4. Production du diacétyle

Le diacétyle est un composé aromatique produit par les bactéries lactiques telles que *Lactococcus lactis* par fermentation du citrate. Cette molécule est caractérisée par une large activité antimicrobienne à des concentrations allant de 200 à 1000 µg mL⁻¹ (**Doleyres, 2003; Lanciottiet al., 2003**). La production de diacétyle par les différentes souches de bactéries lactiques dépend du milieu, du PH et de la température d'incubation (**Leonard, 2013**). Le diacétyle (2,3-butanedione) est métabolisé à partir du citrate ou du pyruvate par *Lactococcus lactis* particulièrement (**Hassan et Frank, 2001**).

3. Production des bactériocines**3.1. Généralité et définition**

Différentes définitions des bactériocines ont été données au cours du temps et l'une de ces définitions et les bactériocines sont des peptides antimicrobiens ribosomiques d'origine chromosomique ou plasmidique de poids moléculaire faible et amphipathique produite par les bactéries Gram positif et les bactéries Gram négatif. Les bactéries utilisent dans le cadre de la compétition contre d'autres bactéries de la même espèce (spectre étroit) ou contre des bactéries d'autres genres (large spectre) (**Taaleet al., 2016**). Elles agissent à de très faible concentration, de l'ordre de la pico ou de la nano mol / L (**Sapatneka et al., 2010**).

Les bactériocines peuvent être classées comme antibiotiques, mais ce n'est pas le cas. La principale différence entre les bactériocines et les antibiotiques est qu'elles limitent leur activité aux souches d'espèces apparentées à l'espèce productrice et particulièrement aux souches de la même espèce. Les antibiotiques, en revanche, ont un spectre d'activité plus large et même si leur activité est restreinte, cela ne montre aucun effet préférentiel sur les souches étroitement apparentées. De plus, les bactériocines sont synthétisées par les ribosomes et produites au cours de la phase primaire de croissance, bien que les antibiotiques soient généralement des métabolites secondaires (**Zacharof^a et Lovitt^b, 2012**).

3.2. Propriétés des bactériocines

Propriétés des bactériocines les bactériocines produites par les bactéries lactiques ont de nombreuses propriétés qui les rendent utilisables comme bioconservateurs, parmi lesquelles (Galvez *et al.*, 2007):

- Considérées comme "GRAS" (Generally Recognized as Safe).
- Inactives et non toxiques contre les cellules eucaryotes.
- Généralement thermostables et tolérantes aux variations du pH.
- Possède un spectre d'activité relativement large.
- Mode d'action généralement bactéricide (membrane cytoplasmique).
- Sensibilité aux protéases et digestibilité dans le tractus intestinal.
- Elles peuvent agir en synergie avec d'autres bactériocines, et même avec des antibiotiques.

3.3. Les facteurs influençant la biosynthèse de bactériocines

De nombreux facteurs affectent la production de bactériocine, y compris le PH, la température, atmosphère, certains ingrédients (NaCl, nitrite), biomasse cellulaire, phase de croissance et la compétition avec d'autres micro-organismes. Ces facteurs peuvent interagir pour améliorer ou réduire la production, comme la tension de nitrite et d'oxygène. De plus, les conditions optimales pour la bactériocine la production peut ne pas coïncider avec celles de la croissance. En revanche, la production de bactériocines est généralement faible dans les monocultures, et la présence d'autres bactéries peuvent agir comme un signal de stress qui déclenche leur synthèse(Fernandez a *et al.*, 2023; Papagianni et Sergelidis, 2013).

3.4. Les bactériocines produites par les bactéries lactiques

Les bactériocines produites par les bactéries lactiques sont des substances antimicrobiennes de poids moléculaire variable (Dortu et Thonart, 2009).La majorité des bactériocines produites par les bactéries lactiques ont le même mode d'action, basée sur la formation de pores dans la membrane de la bactérie cible(Najett, 2017).

Tableau 02: Certain bactériocines produites par les bactéries lactiques.

Bactériocine	Souche productrice	Référence
Nisine F	<i>Lactococcus lactis</i> F10	Taale, 2016
Nisine A	<i>Lactococcus lactis</i>	Bhartiet al., 2015;
Nisin Z	<i>subsp lactis</i>	Taale, 2016
Lactococcin A		
Lactococcine MMFII		
Nisin U	<i>Streptococcus urberis</i>	Bhartiet al., 2015
Lactacin F	<i>Lctobacillius spp.</i>	Bhartiet al., 2015

3.5. Classification des bactériocines

Les bactériocines produites par les bactéries lactiques sont réparties en quatre classes comme proposées par **Klaenhammer (1993)**:

La classe I: Regroupant les bactériocines modifiées post-traditionnellement appelé lantibiotiques et sont des peptides de taille inférieure à 5 kDa. Les lantibiotiques peuvent être divisés en deux types:

- **La classe Ia:** Comprend des peptides cationiques hydrophobes allongés contenant jusqu'à 34 acides aminés.
- **La classe Ib:** Comprend les peptides globulaires chargés négativement ou sans charge nette et contenant jusqu'à 19 acides aminés (**Twomey et al., 2002**).

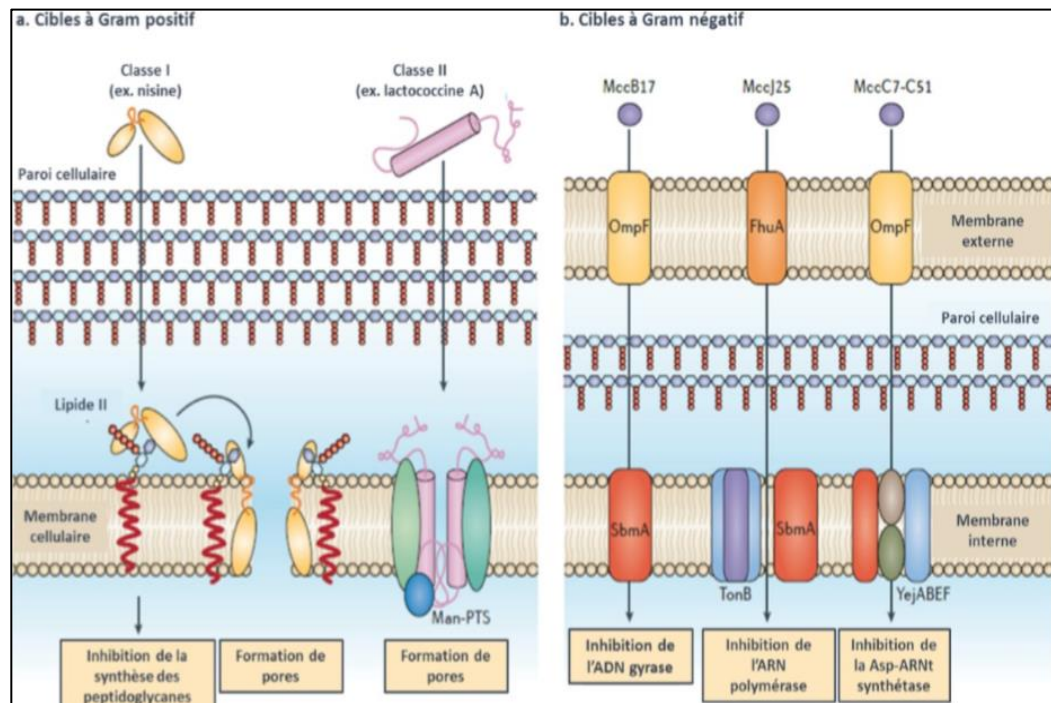


Figure 04: Mode d'action des bactériocines vis-à-vis de bactéries à Gram positif (A) et des bactéries à Gram négatif (B) (Man-PTS : Mannose phototransférase ; Mcc : Microcine ; TonB : Récepteur de la membrane externe ; OmpF : protéine de la membrane externe F ; FhuA : Récepteur de sidérophore fer ; SbmA : Péptide transporteur de la membrane interne ; yejABEF : ABC Transporteur (Cotter *et al.*, 2013).

3.7. Les facteurs de production des bactériocines par les bactéries lactiques

Les bactériocines sont initialement des pro-peptides biologiquement inactifs qui deviennent plus tard. Elles existent sous forme peptidique puis altération post-traductionnelle. Généralement leur fabrication est régulée par un système de détection de quorum sensing, qui est un mécanisme de déclenchement expression génique en fonction de la densité de population bactérienne dans le milieu de culture (Dillenseger, 2019).

Les bactériocines sont généralement produites à la fin de la phase exponentielle et au début de la phase stationnaire de croissance. Elles peuvent ensuite être dégradées par les protéases produites par la bactérie lactique producteur certaines facteurs peut à un influencer les bactéries productrices est (Savijokiet *al.*, 2006):

- La souche productrice.
- La température.
- Le pH.
- La composition du milieu.
- La technologie de fermentation employée.

3.8. Immunité

Les souches productrices de bactériocines ont développé un système de protection contre leur propre produit, appelé immunité. Chaque bactériocine possède un système immunitaire qui est généralement exprimé de manière concomitante avec les gènes structurels de la bactériocine (**Rai et Chikindas, 2011**).

Pour les bactériocines des bactéries lactiques, deux types de systèmes immunitaires ont été décrits. Un système dépend de l'immunité spécifique Lan I, bien que le second système dépende d'un transporteur ABC multicomposant séparé Lan EFG.

La protéine Lan I est très probablement attachée à l'extérieur de la membrane cytoplasmique. Il fournit une immunité aux cellules productrices (**Zacharof et lovitt, 2012**).

3.9. Résistance aux bactériocines

Il existe pour les bactériocines trois types de résistants (**Jasniewski, 2008**) :

- **Les résistants naturels:** c'est-à-dire les souches qui sont insensibles à une bactériocine donnée sans adaptation particulière.
- **Les résistants induits :** qui sont produits lorsqu'une souche naturellement sensible à une bactériocine présente un phénotype de résistance lié à une adaptation.
- **Souches dites immunisées :** c'est-à-dire celles qui produisent une protéine d'immunité simultanément à une bactériocine, cas de toutes les bactéries productrices de peptides antibactériens.

4. La nisine

Est une bactériocine de la classe de l'antibiotique. Cette substance est un métabolite primaire de *Lc. Lactis*, produit à l'état naturel dans les plants verts et le lait cru. Onze gènes sont impliqués dans la biosynthèse de cette molécule.

La nisine a un large spectre d'activité, cette dernière inhibée la plupart des bactéries à Gram positif (**Parada, 2007**). La nisine caractérisée par certaines propriétés biochimiques spéciales telles que (**Amira, 2018**) :

- Un peptide cationique.
- Très soluble à pH acide.
- Elle est thermostable.
- A une action bactéricide.

5. Domaines d'utilisation de bactériocines**Domaines alimentaires**

Les bactériocines peuvent être appliquées sous une forme purifiée, semi-purifiées ou sous la forme d'un concentré obtenu après fermentation d'un substrat alimentaire. Les bactéries productrices peuvent également être appliquées dans les produits alimentaires pour leurs avantages qui les rendent aptes pour la conservation des aliments qui sont (Galvez *et al.*, 2007; Najett, 2017) :

- Généralement reconnues comme des substances sûres.
- Ne sont pas actives et non toxiques sur les cellules eucaryotes.
- Deviennent inactivées par voie digestive les protéases, ayant peu d'influence sur le microbiote intestinal.
- Généralement tolérants au pH et à la chaleur.
- Leur spectre est relativement large, contre de nombreuses bactéries d'altération.
- Présente un mode d'action bactéricide.

Malgré le grand nombre de bactériocines identifiées à ce jour, la nisine est actuellement la seule que de nombreux pays ont autorisée à utiliser comme additif alimentaire (E234) (Leonard, 2013).

Le typage bactérien

La capacité des bactériocines à inhiber certaines souches d'une même espèce productrice et quelquefois des souches d'autres espèces a été largement employé pour identifier des espèces de divers genres bactériens. La majorité des techniques basait sur l'inhibition de souches dites indicatrices ou de souches sensibles à la bactériocine. Cette approche a été employé avec succès avec certaines bactéries Gram négatives telles que *Pseudomonas aeruginosa* (Najett, 2017).

Domaines médicale

Quelques lantibiotiques sont utilisées comme alternatives des antibiotiques telle l'utilisation de lantibiotique pour remplacer l'usage habituel de l'érythromycine et la nisine peut être utilisée dans le traitement des ulcères gastriques vu sa stabilité aux pH acides et son activité contre *Helicobacter pylori* (Najett, 2017).

Les études montrer qu'elle sont même actives sur les bactéries résistantes des antibiotiques et sur les bactéries en forme planctoniques sur forme de biofilms (Dillenseger, 2019).

CHAPITRE III :
MATÉRIELS ET
MÉTHODES

L'ensemble de ce travail a été réalisé au complexe de laboratoire pédagogique, Université Abbes Laghrour, Khenchela.

Ce travail porte sur la mise en évidence l'activité antibactérienne de deux souches de *Lactococcus lactis*

1. Matériel biologiques

1.1. Origines d'isolats de *Lc. lactis*

Origines d'isolats de *Lactococcus lactis*(les souches testés)fournissent par notre encadrent Dr. Boussaa. Il s'agit de deux isolat (Tableau 01) on été isolé a partis de fromage traditionnelle.

Tableau01:Les souches testés

La souche	Code
<i>Lactococcus lactis subsp lactis</i>	Lc 5
<i>Lactococcus lactis subsp cermoris</i>	Lc 6

1.2. Les bactéries indicatrices

Elles sont constituées de bactéries de coloration à Gram positive et une bactéries de coloration à Gram négatif (Tableau 02).

Tableau 02 : les souches indicatrices

Bactérie	Gram	Catalase
<i>E. coli</i>	-	+
<i>K.pneumoniae</i>	-	+
<i>S. aureus</i>	+	+
<i>Enterococcus spp</i>	+	-
<i>B. cereus</i>	+	+

Figure 06 :Technique de cylindre d'agar: milieu M17 ensemencé par *Lactococcus lactis subsp cermoris* (1); MH ensemencé par une bactérie indicatrice (2).

2. Méthodes expérimentales

2.1. Repiquage et vérification des Souches de *Lc. lactis*

Les colonies utilisées sont sous forme congelé en culture pure. Elles sont activées par repiquage dans milieux de croissance M17 et incubées à 30°C pendant 24h. Avant leur utilisation, un examen microscopique est nécessaire pour identifier les souches.

3.2. Mise en évidence de l'activité antibactérienne

3.2.2. Préparation de la suspension des bactéries indicatrices

- Chaque culture des bactéries indicatrices ces doits était ensemencée en stries sur une gélose nutritive pour obtenir des colonies isolées.
- Après une incubation d'une nuit à une température 37°C, choisir 04 à 05 colonies bien isolées avec une anse de platine et les transférer dans un tube de 09 ml de l'eau physiologique.
- Agiter la suspension bactérienne pour que la turbidité avoisine celle du standard McFarland 0,5. Cette comparaison peut être faite plus facilement si les tubes sont observés contre une fiche de papier blanc avec lignes noires.
- Si c'est nécessaire, la turbidité peut être diminuée en ajoutant plus d'eau physiologique stérile.
- Une dilution à 10⁻¹ est effectuée, pour avoir 10⁷ cellules/mL.

3.3. Tests d'évaluation d'activité antibactérienne

Pour évaluer l'activité antibactérienne on applique une méthode de diffusion sur Agar est la méthode de cylindre de gélose elle consiste selon **Balouiri *et al (2016)** :

- Faire une culture sur la surface de gélose M17 des souches Lc5 et Lc6 par stries serrées dans la gélose.
- Après incubation pendant 24h à 37°C un cylindre de gélose est découpé aseptiquement avec un embout.
- Dans des boîtes de Pétri contenant du Müller Hinton solide et ensemencé par les souches teste par écouvillonnage, déposer à la surface de la gélose les disques de gélose.
- Mettre les boîtes à 4°C pendant 4 h pour assurer la diffusion des substances responsables de l'activité antibactérienne, enfin incuber les boîtes à 37°C pendant 24 h.

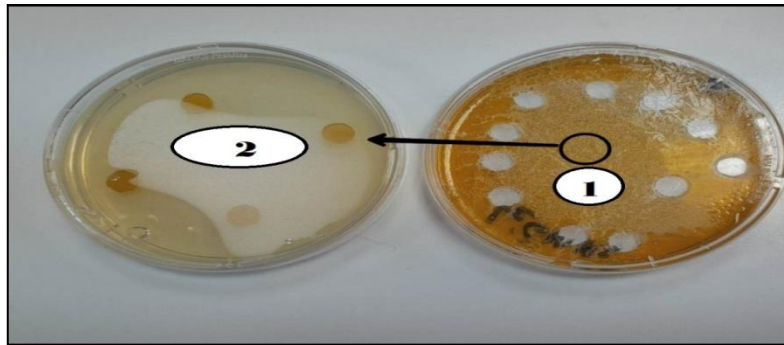


Figure 06: Technique de cylindre d'agar: milieu M17 ensemencé par *Lactococcus lactis* subsp *cremoris* (1); MH ensemencé par une bactérie indicatrice (2).

4. Identification des substances responsables de l'activité antibactérienne

4.1. Préparation de surnageant des souches testées

Les souches Lc 5 et Lc 6 sont ensemencées dans du milieu MRS liquide et incubées pendant 18h à 30°C en conditions anaérobies pour éliminer l'effet de peroxyde. Après incubation, une centrifugation est réalisée à 1000 tr/min pendant 20 min à 5°C, cette centrifugation est suivie par une filtration à l'aide d'un filtre de diamètre 0,2 µm, subir un ajustement le pH de surnageant à 6,5 par la soude (NaOH) 1N afin d'éliminer l'effet des acides organiques (Metlef et Dilmi-Bouras, 2009; Hassina, 2018).

4.2. Méthode des disques

On teste l'activité des surnageant vis-à-vis des bactéries indicatrices par la méthode des disques (Metlef et Dilmi-Bouras, 2009; Najett, 2018) qui consiste selon Tadesse et al., (2004) à :

- Dans des boîtes de Pétri contenant du Müller Hinton solide et ensemencé par les souches teste par écouvillonnage.
- Laisser sécher les boîtes pendant 30 min, après séchage, déposer à la surface de la gélose des disques en papier-filtre, trois disques pour chaque souche.
- Déposé 100 µl de surnageant neutralisé dans les disques.
- Mettre les boîtes à 4°C pendant 15 min pour assurer la diffusion des substances responsables de l'activité antibactérienne, enfin incubé les boîtes à 37°C pendant 24 h.
- La lecture se fait par la recherche des zones d'inhibitions et la mesure de leurs diamètres

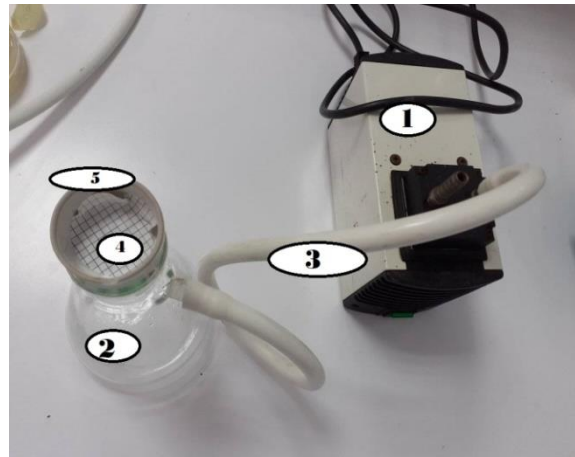


Figure 05:A)Montage de filtration sous vide, pompe à vide (1); Fiole à vide (2); Tuyau à air (3); filtre de diamètre 0,2µm (4); un entonnoir Büchner (5).

CHAPITRE IV :
RÉSULTATS ET
DISCUSSIONS

1. Les résultats

1.1. Lecteur de l'activité antibactérienne

Les souches Lc5 et Lc6 sont testées pour mise en évidence l'activité antibactérienne vis-à-vis de 05 bactéries pathogènes (*E. coli*, *S.aureus*, *B.cereus*, *Enterococcus spp*, *k. pneumoniae*).

Le résultat positif se traduit par l'apparition des zones d'inhibition au tour les cylindre de gélose et au tour leur surnagent. Les résultats de l'interaction entre les souches testée et les souches indicatrices montrées dans le tableau et les figures suivants après incubation 24 h à 37°C sur milieu MH et les résultats sont exprimés en (mm), par mesure de la distance entre la limite de la colonie bactérienne et le début de la zone d'inhibition de la souche pathogène. L'inhibition est notée positive lorsqu'elle est supérieure à 01 mm (Najatt, 2018), Les diamètres des zones d'inhibition apparaissant autour de ces spots ont été mesurés ainsi leur moyennes et écart-types ont été calculé.

Tableau 01: Valeurs des diamètres des zones d'inhibition dues à l'activité antibactérienne de Lc5 et Lc6.

B. testée		
B.indicateurs	Lc5	Lc6
<i>E. coli</i>	14	0
<i>S.aureus</i>	0	0
<i>Enterococcus spp</i>	0	0
<i>k. pneumoniae</i>	0	0
<i>B.cereus</i>	20	0

Le diamètre de cylindre de gélose: 08mm

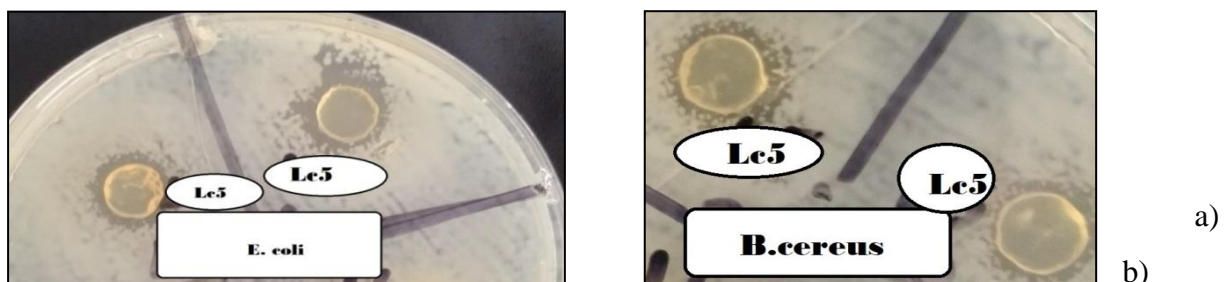


Figure 07: Zones d'inhibitions de Lc5 vis-à-vis de *E. coli* (a) et *B. cereus* (b).



a)



b)



c)

Figure 08: Les résultats de Lc5 et Lc6 vis-à-vis de *Enterococcus spp* (a), *k. pneumoniae*(b) et *S. aureus* (c).

La souche de *Lactococcus lactis subsp lactis* (Lc5) possède un effet inhibiteur contre *E. coli* avec une zone d'inhibition de diamètre 14 mm et contre *B. cereus* avec une zone d'inhibition de diamètre 20 mm (figure 01) mais aucun résultat avec les autres bactéries indicatrices, et *Lactococcus lactis subsp cermoris* (Lc6) montre des résultats négatifs vis-à-vis des tous les bactéries indicatrices.

1.2. Identification des substances responsables de l'activité antibactérienne

L'effet inhibiteur des *Lactococcus lactis* vis-à-vis des bactéries est dû à plusieurs facteurs tels que : l'acide organique, peroxyde d'hydrogène ou encore des composés protéiques tel que les bactériocines (Suskovice *al.*, 2010). Pour déterminer la nature du facteur inhibiteur il est nécessaire de travailler dans des conditions expérimentales éliminant l'influence des acides organiques et le peroxyde d'hydrogène donc ce qui évite la

formation du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂), ces conditions selon Najett, (2018) consiste à:

- la culture bactérienne des souches testée a fine de la production de surnagent est réalisée se fait en anaérobiose.
- La neutralisation des pH des surnageant pour éliminel'effet de l'acidité.

Les résultats sont négatifs, aucune zone d'inhibition pour Lc5 et Lc6 vis-à-vis *E. coli* et *B. cereus*, ça signifiée pas d'activité antibactérienne.

2. discussion des résultats

Sur la base des résultats obtenus, il s'avère que l'isolats de *Lactococcus lactis subsp lactis* possèdent une activité antibactérienne contre *E. coli* et *B. cereus* avec spectre d'action variant ces résultats sont similaires aux résultats de Roslandet al.(2003)et Metlef, Dilmi-Bouras, (2009).Cependant une absence d'inhibition est remarquée avec *Lactococcus lactis subsp lactis*(Lc5) contre *S. aureus*, *Enterococcus spp* et *K. pneumoniae* et *Lactococcus* et dans le cas de *lactis subsp cermoris* (Lc6) vis-à-vis tous les bactéries indicatrices ces résultats sont identiquesà celle de :

- Suzuki et Suzuki,(2021) leur recherche montre des résultats négatifs pour le test d'activité antibactérienne de *Lactococcus Lactis* vis-à-vis *Staphylococcus* et *Enterococcus*.
- Bragasonet al. (2020) montre la présence de *k. pneumoniae* dans des échantillons de lait de camail stérile ensemence par deux souches de *Lactococcus lactis* et dans *k. pneumonia*.

Ces résultats indiquent que nos *Lactococcus lactis subsp lactis* est capable de synthétiser des substances ayant une activité antibactérienne.

Les résultats obtenus pour l'identification des substances responsables de l'activité antibactérienne par le surnagent neutralisée et l'incubation en conditions anaérobies montre l'absence des zones d'inhibition donc cette inhibition est effectuée par les acides organiques ou peroxydes d'hydrogène.

Ce résultat est correspondant les résultats de :

- Roslandet al. (2005) on a découvert que *Bacillus cereus* était inhibé par des souches de *Lactococcus lactis* Ils ont admis que cette inhibition était due à la production d'acides organiques qui ont contribué à cette inhibition.
- Roslandet al. (2003) qui indique l'inhibition de *Bacillus cereus* dans le lait écrémé par *Lactococcus lactis* uniquement à la production d'acides organiques et à la diminution du pH.

- **Itoet al. (2003)** qui ont étudié le potentiel de *Lactococcus lactis* à inhiber les bactéries nuisibles (bien que quelques bactéries à catalase positive) par la production de peroxyde d'hydrogène une activité antimicrobienne efficace.

Donc l'effet de bactériocines est absent ce résultat est décrit par plusieurs études qui montrent la production et l'action des bactériocines est effecteur sous plusieurs facteurs, l'une de ces études l'étude de:

- **Nielsen et al. (2003)** on signalait que la production de bactériocine ne peut être décelée que dans les milieux solides pour de nombreuses souches productrices.
- **Holoet al. (2002)** à noter que la production de bactériocines par les bactéries lactiques en milieu liquide est difficile à démontrer en raison de leur faible production dans ces milieux.
- **Aggag et Khelil, (2013)** qui a constaté que la température optimale de la production de bactériocine est de 37°C donc la température est un autre facteur de l'apparence d'effet de bactériocines.
- **Luoet al.(2011)** qui démontré que seules cinq souches sur un total de 256 souches de bactéries lactiques testées ont produit des bactériocines. Donc la production des bactériocines diffère selon les souches.

C'est-à-dire l'absence de l'effet de bactériocines dans notre expérience est expliqué par l'absence facteurs de production et fonctionnement des bactériocines.

CONCLUSION GÉNÉRALE

Conclusion générale

L'étude de l'activité antibactérienne de deux souches de *Lactococcus lactis* pure. L'étude vis-à-vis des espèces pathogènes donné les résultats suivants :

L'espèce *Lactococcus lactis subsp lactis*(Lc5) fait révéler une activité inhibitrice très importante à l'égard de deux espèces *E. coli* et *B. cereus* mais cette activité est nulle vis-à-vis *S. aureus*, *k. pneumoniae*, *Enterococcus ssp*. Les substances responsables de l'activité inhibitrices sont les acides organiques et les peroxydes d'hydrogène. Aucune activité antibactérienne chez la souche *Lactococcus lactis subsp cermoris* (Lc6) vis-à-vis les cinq souches indicateurs.

Ces résultats plaident en faveur de l'utilisation de *L. lactis subsp lacis* comme probiotique peut être bénéfique comme un moyen d'éviter les infections dues à la contamination des produits alimentaires dus à la consommation de lait et de produits laitiers fermenter contaminés par *E. coli* et *B. cereus*. Cependant, il est important de suivre les normes de sécurité alimentaire pour éviter tout risque et de bien étiqueter les produits pour informer les consommateurs sur leur contenu et leurs avantages potentiels pour la santé.

RÉFÉRENCES

BIBLIOGRAPHIQUES

A

Ajao, O., Banwo, K., Ogunremi, O., Sanni, A. (2021). Antimicrobial properties and probiotic potentials of lactic acid bacteria isolated from raw beef in Ibadan, Nigeria. *Journal of Microbiology, Biotechnology and food sciences*, 8(2), 770-773.

Amira, S. (2018). Etude d'une bactériocine (type nisine) produite par deux souches de bactéries lactiques (*Lactococcus lactis* subsp. *lactis*) isolées à partir des laits camelin et caprin et essai d'application dans la bioconservation des viandes (Doctoral dissertation).

B

Balouiri, M., Sadiki, M., Koraichi Ibnsouda, S. (2016). Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis.*, 6(2), 71-79.

Balouiri, M., Sadiki, M., Koraichi Ibnsouda, S. (2016). Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis.*, 6(2), 71-79.

Bayoub, K., Doumandji, A., Soukri, A. (2009). Contribution à l'étude des bactériocines produites par des bactéries lactiques marocaines et algériennes isolées de différents milieux. *Recherche Agronomique*, 23, 74-84.

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

Bolotin, A., Wincker, P., Mauger, S., Jaillon, O., Malarne, K., Weissenbach, J., Ehrlich, S.D., Sorokin, A. (2001). The complete genome sequence of the lactic acid bacterium *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* IL1403. *Genome research*, 11(5), 731-753.

Bragason a, E., Berhe b, T., Dashe b, D., Sorensen c, K., Guya b, M.E., Hansen a*,E.B. (2020). Antimicrobial activity of novel *Lactococcus lactis* strains against *Salmonella* Typhimurium DT12, *Escherichia coli* O157:H7 VT- and *Klebsiella pneumoniae* in raw and pasteurised camel milk. *International Dairy Journal.*, 111, 6.

Bragason, E., Berhe, T., Dashe, D., Sørensen, K. I., Guya, M. E., & Hansen, E. B. (2020). Antimicrobial activity of novel *Lactococcus lactis* strains against *Salmonella* Typhimurium DT12, *Escherichia coli* O157: H7 VT- and *Klebsiella pneumoniae* in raw and pasteurised camel milk. *International Dairy Journal*, 111, 6.

C

Cavanagh, D., Kilcawley, K. N., O'Sullivan, M. G., Fitzgerald, G. F., McAuliffe, O. (2014). Assessment of wild non-dairy lactococcal strains for flavour diversification in a mini-Gouda type cheese model. *Food research international*, 62, 432-440.

Références Bibliographie

Cotter, P. D., Ross, R. P., & Hill, C. (2013). Bacteriocins: a viable alternative to antibiotics?. *Nature Reviews Microbiology*, 11(2), 95-105.

D

Delgado, S., Mayo, B. (2004). Phenotypic and genetic diversity of *Lactococcus lactis* and *Enterococcus* spp. strains isolated from Northern Spain starter-free farmhouse cheeses. *Int J Food Microbiol*, 90, 309-319.

Diep, D.B., Nes, I.F.(2002). Ribosomally synthesized antibacterial peptides in Gram positive bacteria. *Current Drug Targets*, 3, 107–122.

Dillenseger, H.L. (2019). Les bactériocines : comme alternative aux traitements antibiotiques. *Sciences pharmaceutiques (Université Bordeaux)*.

Doleyres, Y. (2003). Production en continu de ferments lactiques probiotiques par la technologie des cellules immobilisées (Doctoral dissertation, Université Laval).

Dortu, C., & Thonart, P. (2009). Les bactériocines des bactéries lactiques: caractéristiques et intérêts pour la bioconservation des produits alimentaires. *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*, 13(1), 143-154.

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

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

Duwat, P., Sourice, S., Cesselin, B., Lamberet, G., Vido, K., Gaudu, P., Le Loir, Y., Violet, F., Loubiere P., Gruss, A. (2001). Respiration capacity of the fermenting bacterium *Lactococcus lactis* and its positive effects on growth and survival. *Journal of Bacteriology*, 183 (15), 4509-4516.

F

Fallico, V., McAuliffe, O., Fitzgerald, G. F., & Ross, R-P. (2011). Plasmids of raw milk cheese isolate *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar *diacetylactis* DPC3901 suggest a plant-based origin for the strain. *Applied and environmental microbiology*, 77(18), 6451-6462.

Fernández, M., Hospital, X. F., Caballero, N., Jiménez, B., Sánchez-Martín, V., Morales, P., Haza, A.I., Hierro, E. (2023). Potential of selected bacteriocinogenic lactic acid bacteria to control *Listeria monocytogenes* in nitrite-reduced fermented sausages. *Food Control*, 150, 109724.

G

Gálvez, A., Abriouel, H., López, R. L., BenOmar, N. (2007). Bacteriocin-based strategies for food biopreservation. *Int. J. Food Microbiol.*, 120, 51-70.

Güz, G., Yeğın, Z. A., Doğan, I., Hizel, K., Bali, M., & Sindel, S. (2006). Portal vein thrombosis and liver abscess due to *Lactococcus lactis*. *The Turkish journal of gastroenterology: the official journal of Turkish Society of Gastroenterology*, 17(2), 144-147.

H

Hassan, A. N., & Frank, J. F. (2001). Starter cultures and their use. *Applied dairy microbiology* (. 171-226). CRC Press.

Holo, H., Faye, T., Brede, D.A., Nilsen, T., Ødegård, I., Langsrud, T., Brendehaug, J., Nes, I. (2002). Bacteriocins of propionic acid bacteria, *Lait.*, 82, 59-68.

I

Ismaili, M. A., Saidi, B., Zahar, M., Hamama, A., & Ezzaier, R. (2019). Composition and microbial quality of raw camel milk produced in Morocco. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 18(1), 17-21.

Ito, A., Sato, Y., Kudo, S., Sato, S., Nakajima, H., & Toba, T. (2003). The screening of hydrogen peroxide-producing lactic acid bacteria and their application to inactivating psychrotrophic food-borne pathogens. *Current Microbiology*, 47, 0231-0236.

J

Jasnieski, J. (2008). Etude de mecanisme d'action des bacteriocine de la sous classe Iia. Thèse de doctorat. Université Nancy.

K

Khemariya P, Singh S, Nath G, Gulati AK. (2016) A review on industrially important *Lactococcus lactis*: general information, metabolism and genotypic identification tools. Anchor Academic Publishing, New York.

Khemariya, P., Singh, S., Nath, G., & Gulati, A. K. (2017). Probiotic *Lactococcus lactis*: A review. *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology*, 5(6), 556-562.

Klaenhammer, T.R. (1993). Genetics of bacteriocins produced by lactic acid bacteria. *FEMS Microbiol. Rev.*, 12(1-3), 39-85.

Références Bibliographie

Kok, J., Buist, G., Zomer, AL., van Hijum, SA., Kuipers, OP. (2005). Comparative and functional genomics of lactococci. *FEMS Microbiology Reviews*, 29, 411-433.

L

Lanciotti, R., Patrignani, F., Bagnolini, F., Guerzoni, M. E., Gardini, F. (2003). Evaluation of diacetyl antimicrobial activity against *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* and *Staphylococcus aureus*. *Food Microbiology*, 20: 537-543.

Lee, M-H., Roussel, Y., Wilks, M., Tabaqchali, S. (2001). Expression of *Helicobacter pylori* urease subunit B gene in *Lactococcus lactis* MG1363 and its use as a vaccine delivery system against *H. pylori* infection in mice. *Vaccine*, 19(28-29), 3927-35.

Léonard, L. (2013). Evaluation du potentiel bioprotecteur de bactéries lactiques confinées dans une matrice polymérique (Doctoral dissertation, Dijon).

Liasi, SA., Azmi, TI., Hassan, MD., Shuhaimi, M., Rosfarizan, M., Ariff, AB. (2009). Antimicrobial activity and antibiotic sensitivity of three isolates of lactic acid bacteria from fermented fish product, Budu. *Malay J Microbiol*, 5, 33-37.

Loubière, P., Novak, L., Coccagn-Bousquet, M., Lindley, N. D. (1996). Besoins nutritionnels des bactéries lactiques: interactions entre flux de carbone et d'azote. *Le Lait*, 76(1-2), 5-12.

Luo, F., Feng, S., Sun, Q., Xiang, W., Zhao, J., Zhang, J., Yang, Z. (2011). Screening for bacteriocin-producing lactic acid bacteria from kurut, a traditional naturally-fermented yak milk from Qinghai-Tibet plateau. *Food Control.*, 22, 50-53.

M

Manno, M. T., Zuljan, F., Alarcón, S., Esteban, L., Blancato, V., Espariz, M., & Magni, C. (2018). Genetic and phenotypic features defining industrial relevant *Lactococcus lactis*, *L. cremoris* and *L. lactis* biovar. *diacetylactis* strains. *Journal of biotechnology*, 282, 25-31.

Merand, M., Guillot, A., Goin, M., Furlan, S., Armalyte, J., Kulakauskas, S., Cortes-Perez, N-G., Thomas, G., Chat, S., Pechoux, C. (2013). Surface proteome analysis of a natural isolate of *Lactococcus lactis* reveals the presence of pili able to bind human intestinal epithelial cells. *Mol. Cell. Proteomics*, 12, 3935-1451.

Metlef., S, Dilimi-Bouras., A. (2009). Effet antagoniste de *Lactococcus lactis*, souches extremophiles locales, sur des espèces de la flore intestinale résidente. *Revue Nature et Technologie.*, 1, 33-44.

Michel, V., Hauwuy, A., & Chamba, J. F. (2001). La flore microbienne de laits crus de vache: diversité et influence des conditions de production. *Le Lait*, 81(5), 575-592.

Références Bibliographie

Mofredj, A., Bahloul, H., &Chanut, C. (2007). Lactococcus lactis: un pathogène opportuniste?. Médecine et maladies infectieuses, 37(4), 200-207.

Mofredj, A., Beldjoudi, S., Farouj, N. (2006). Pleurésie purulente à Lactococcus lactis cremoris. Rev Mal Respir, 23, 6-485.

Mori, S., Mori, K., Suzuki, I., Kasumi, T. (2004). Phylogenetic Analysis of Lactococcus lactis subspecies Based on Decoding the Sequence of the pepT Tripeptidase Gene, the pepV Dipeptidase Gene and 16S rRNA. System Appl Microbiol, 27, 414–422.

N

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

Najett, M. M. (2018). Effet antagoniste des bactéries lactiques isolées à partir du lait de vache vis-à-vis de Salmonella sp (Doctoral dissertation, UNIVERSITE ABDELHAMID IBN BADIS MOSTAGANEM).

Nascimento, M.S., Moreno, I., Kuaye, A.Y. (2008). Applicability of bacteriocin-producing Lactobacillus plantarum, Enterococcus faecium and Lactococcus lactis ssp. lactis as adjunct starter in Minas Frescalcheesemaking. International Journal of Dairy Technology, 61(4), 352-357.

Nigmatova, K., Morovsky, M., Pristas, P., Teather, R.M., Holo, H., Javorsky, P. (2007). Production of enterolysin A by rumen Enterococcus faecalis strain and occurrence of enlA homologues among ruminal Gram-positive cocci. J. Appl. Microbiol, 102(2), 563-569.

Nilsen, T., Nes, I. F., Holo, H. (2003). Enterolysin A, a cell wall-degrading bacteriocin from Enterococcus faecalis LMG 2333. Applied and environmental microbiology, 69(5), 2975-2984.

O

Oliver, S. P., Jayarao, B. M., & Almeida, R. A. (2005). Foodborne pathogens in milk and the dairy farm environment: food safety and public health implications. Foodborne Pathogens & Disease, 2(2), 115-129.

Oxaran David, V. (2012). Caractérisation fonctionnelle des sortases de Lactococcus lactis: de l'ancrage de protéines à la biogénèse de pili (Doctoral dissertation, Paris 11).

P

Papagianni M. (2003). Ribosomally synthesized peptides with antimicrobial properties: biosynthesis, structure, function and applications. *Biotechnol. Adv*, 21(6), 465-499.

Papagianni, M., Sergelidis, D. (2013). Effects of the presence of the curing agent sodium nitrite, used in the production of fermented sausages, on bacteriocin production by *Weissellaparamesenteroides* DX grown in meat simulation medium. *Enzyme and microbial technology*, 53(1), 1-5.

Parada, J. L., Caron, C. R., Medeiros, A. B. P., Soccol, C. R. (2007). Bacteriocins from lactic acid bacteria: purification, properties and use as biopreservatives. *Brazilian archives of Biology and Technology*, 50, 512-542.

R

Rai, M., &Chikindas, M. (Eds.). (2011). *Natural antimicrobials in food safety and quality* (39). Boston: CABI.

Ramia, N. (2018). *Compétition par interférence et diversité génétique à l'échelle intraspécifique chez la bactérie lactique Carnobacteriummaltaromaticum* (Doctoral dissertation, Université de Lorraine).

Ribeiro, LA., Azevedo, V., Le Loir, Y., Oliveira, S-C., Dieye, Y., Piard, J-C., Gruss, A., Langella, P. (2002). Production and targeting of the *Brucellaabortus* antigen L7/L12 in *Lactococcus lactis*: a first step towards food-grade live vaccines against brucellosis. *Appl Environ Microbiol*, 68(2), 910-916.

Richard, C., Canon, R., Naghmouchi, K., Bertrand, D., Prévost, H., Drider, D. (2006). Evidence on correlation between number of disulfide bridge and toxicity of class II bacteriocins. *Food Microbiol*, 23(2), 175-183.

Rosland, E., Andersen Borge, G.I., Langsruda, T., Sorhauga, T. (2003). Inhibition of *Bacillus cereus* by strains of *Lactobacillus* and *Lactococcus* in milk. *I. J. Food Microbiol.*, 89, 205- 212.

Roussel, C. (2015). *Compréhension des mécanismes physiologiques et génétiques impliqués dans l'activité réductrice de Lactococcus lactis* (Doctoral dissertation, Université de Bourgogne).

S

Salyers A.A., Gupta A, Wang Y. (2004). Human intestinal bacteria as reservoirs for antibiotic resistance genes. *Trends Microbiol*, 12, 412-416.

Références Bibliographie

- Samaržija, D., Antunac, N., & Havranek, J. L.** (2001). Taxonomy, physiology and growth of *Lactococcus lactis*: a review. *Mljekarstvo*, 51(1), 35-48.
- Sapatnekar, N. M., Patil S. N., Aglave, B.A.** (2010). Extraction of Bacteriocin and Study of Its Antagonistic Assay . *International Journal of Biotechnology and Biochemistry*, 6, 865-870.
- Savijoki, K., Ingmer, H., & Varmanen, P.** (2006). Proteolytic systems of lactic acid bacteria. *Applied microbiology and biotechnology*, 71, 394-406.
- Schleifer, KH., Kraus, J., Dvorak, C., Kilpper-Balz, R., Collins, MD., Fisher, W.** (1985). Transfer of *Streptococcus lactis* and related streptococci to the genus *Lactococcus* gen. Nov. *SystApplMicrobiol*, 6, 183-195.
- Suganthi, V., Selvarajan, E., Subathradevi, C., Mohanasrinivasan, V.** (2012). Lantibioticinisin: Natural preservative from *Lactococcus lactis*. *Int res J Pharma*, 3 (1),13-19.
- Suskovic, J., Kos, B., Beganovic, J., Pavunc, A-L., Habjanic, K., Matosic, S.** (2010). Antimicrobial Activity-The most important property of probiotic and starter lactic acid bacteria. *FdTechnolBiotechnol*, 48(3), 296-307.
- Suzuki, A., Suzuki, M.** (2021). Antimicrobial activity of *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* isolated from a stranded cuvier's beaked whale (*Ziphiuscaviostris*) against gram-positive and-negative bacteria. *Microorganisms*, 9(2), 243.

T

- Taale, E., Savadogo, A., Zongo, C., Tapsoba, F., Karou, S. D., Traore, A. S.** (2016). Les peptides antimicrobiens d'origine microbienne: cas des bactériocines. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 10(1), 384-399.
- Tadesse, G., Ephraim, E., Ashenafi M.** (2004). Assessment of the antimicrobial activity of lactic acid bacteria isolated from borde of Shamita, traditional Ethiopian fermented beverage, on some food borne pathogens and effect of growth medium in the inhibitory activity. *Food Safety.*, 5, 13-20.
- Tetili, F., Bendali, F., Perrier, J., & Sadoun, D.** (2017). Anti-staphylococcal enterotoxinogenesis of *Lactococcus lactis* in algerian raw milk cheese. *Food Technology and Biotechnology*, 55(4), 511.
- Twomey, D., Ross, R. P., Ryan, M., Meaney, B., & Hill, C.** (2002). Lantibiotics produced by lactic acid bacteria: structure, function and applications. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 82, 165-185.

U

Uchida, Y., Morita, H., Adachi, S., Asano, T., Taga, T., & Kondo, N. (2011). Bacterial meningitis and septicemia of neonate due to *Lactococcus lactis*. *Pediatrics International*, 53(1), 119-120.

V

van HylckamaVlieg, JE., Rademaker, JL., Bachmann, H., Molenaar, D., Kelly, WJ., Siezen RJ. (2006). Natural diversity and adaptive responses of *Lactococcus lactis*. *Curr Opin Biotechnol*, 17(2), 183–190.

Velly, H. (2014). Etude de l'évolution de l'état physiologique de *L. lactis* TOMSC161 au cours de la fermentation et de son incidence sur la résistance à la lyophilisation et au stockage (Doctoral dissertation, Paris, AgroParisTech).

W

Wolfe, B. E., & Dutton, R. J. (2014). Towards an ecosystem approach to cheese microbiology. *Cheese and Microbes*, 311-321.

Z

Zacharof, M. P., & Lovitt, R. W. (2012). Bacteriocins produced by lactic acid bacteria a review article. *Apcbee Procedia*, 2, 50-56.

Zhang, S., Stewart, G. C. (2001). Staphylococcal enterotoxins. *Staphylococcus aureus Infection and Disease*, 117-136.

Les sites web :

Todar, K.(2010). *Lactococcus lactis* grossissement 20000X par micrographie électronique à balayage. <https://bioinfo.bact.wisc.edu/themicrobialworld/Lactococcus.html>.

ANNEXE

Bouillon MRS (Man Rogosa et Sharpe, 1960)

Composition :

Peptone	10g
Extrait de viande	10g
Extrait de levure.....	5g
Glucose	20g
Tween 80.....	1ml
Phosphate dipotassique	2g
Acétate de sodium.....	5g
Citrate de sodium	2 g
Sulfate de magnésium	0.2g
Sulfate de manganèse	0.05g
Eau distillée.....	1000 ml pH6.5

Autoclaver à 120°C/20m

M17 (Terzaghi et Sandine, 1975)

Tryptone.....	2,50 g
Peptone pepsique de viande	2,50 g
Peptone papainique de soja	5,00 g
Extrait autolytique de levure.....	2,50 g
Extrait de viande	5,00 g
Lactose	5,00 g
Glycérophosphate de sodium	19,00 g
Sulfate de magnésium	0,25 g
Acide ascorbique	0,50g
Agar bactériologique.....	15,00 g

pH: 7,1 ± 0,2.

Gélose nutritive (GN)

Peptone.....	15g
Extrait de levure.....	3g
NaCl	6g
Agar	15g
Eau distillée.....	1000ml

PH 7.5±0.2 Autoclavage à 121°C pendant 15min

Annexe

Eau physiologie :

NaCl 9g

Eau distillée 1000 ml

Autoclaver à 120°C/20mn

RÉSUMÉ

Cette étude avait pour objectif de mettre en évidence le pouvoir antibactérien des souches de *Lactococcus lactis* qui sont *Lactococcus lactis subsp lactis* et *Lactococcus subsp cermoris* vis -à-vis des cinq bactéries pathogènes in vitro. La recherche de l'action antibactérienne a été réalisée suivant la méthode de diffusion sur gélose par les cylindres de gélose qui montre deux souches bactériennes inhibent par *Lactococcus lactis subsp lactis* sont *E. coli* et *B. cereus*. Une caractérisation de l'agent inhibiteur a été réalisée après élimination de l'effet des acides organiques (neutralisation du surnageant à pH 6.5) et un effet peroxydé d'hydrogène par incubation anaérobie le résultat montre l'absence de zones d'inhibitions *B. cereus* et *E. coli* testée par *Lactococcus lactis subsp lactis* donc l'activité qui montre par la méthode des cylindres d'agar font penser que cause par les acides organiques ou les peroxydes d'hydrogène.

Ces résultats suggèrent que l'utilisation de ces deux souches de *Lactococcus lactis subsp lactis* pourrait être utilisée comme agent antibactérien naturel pour lutter contre les infections de source alimentaire cause par *E. coli* et *B. cereus*.

Mots clés : *Lactococcus lactis*, activité antibactérienne, bactéries lactiques.